

INFLUENCIA DE LA ALTA TEMPERATURA EN LOS TEJIDOS RADICULARES DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Ofelia Sam[✉], Pilar Sánchez-Testillano, María J. Coronado y María C. Risueño

ABSTRACT. Qualitative changes of root tissues, as a result of high temperature (38°C for 1.5 h) were studied in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings with different heat tolerance degrees. Seven days after rice seeds started to germinate, the heat treatment was applied to rootlets of each variety, which were isolated in pots containing water and later put on the stove for 1.5 h at 38°C, whereas the control treatment consisted of leaving the other group of rootlets under laboratory conditions while applying high temperature. Afterwards, rootlet samples were taken and processed through light microscopy, including epon resin and 2 µm-wide sections were cut and stained with toluidine blue, observed and photographed under a microscope with a digital camera. Longitudinal sections of rootlets showed that high temperature increased vacuole size and expanded cell walls, among other disorders; such changes became more evident at the heat stress tolerant variety.

Key words: shock, heat stress, tomato, plant anatomy, radicle, plant tissue

RESUMEN. Los cambios cualitativos en los tejidos radiculares, como consecuencia de la alta temperatura empleada en este trabajo (38°C durante 1.5 horas), fueron estudiados en plántulas de dos variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), con diferentes grados de tolerancia a altas temperaturas. A los siete días de puestas a germinar las semillas de arroz, se aplicó el tratamiento de alta temperatura a las radículas de cada variedad, que fueron puestas en recipientes con agua, por separado, y colocadas en la estufa durante 1.5 h a 38°C y el tratamiento control consistió en dejar al otro grupo de radículas en las condiciones del laboratorio durante la aplicación de la alta temperatura; a continuación se tomaron las muestras de radículas, que fueron procesadas para microscopía de luz, incluidas en resina epon y se realizaron cortes de 2 µm de grosor, los que fueron teñidos con azul de toluidina, observados y fotografiados en un microscopio con cámara digital acoplada. En las secciones longitudinales de las radículas, se pudo apreciar que la alta temperatura provocó aumento en el tamaño de las vacuolas y dilatación de las paredes celulares, entre otras alteraciones; estos cambios se hicieron más evidentes en la variedad considerada como tolerante a ese estrés.

Palabras clave: shock, estrés térmico, tomate, anatomía de la planta, radícula, tejidos vegetales

INTRODUCCIÓN

La carencia de la capacidad de locomoción en las plantas como medio de respuesta a los cambios en su entorno, hace que ellas estén expuestas irremediablemente a diferentes estrés ambientales, por lo que deben adaptarse a estos para poder subsistir y el más común de este tipo de estrés es el de temperatura (1).

Cada especie de planta tiene su propio óptimo de temperatura para crecer y su distribución de forma natural está determinada por esa característica entre otras.

En relación con esto, la Genética Clásica ha tenido importantes éxitos y se han logrado variedades adapta-

das a regiones con otras características, incrementando su tolerancia a determinado estrés (2).

Como se conoce, los estrés influyen activamente sobre el rendimiento y funcionamiento (3) de las plantas, inhibiendo usualmente el crecimiento (4), la división celular, influyendo en la síntesis proteica (5) y de otros compuestos, que afecta la morfología (6) y ultraestructura (7) y, en el caso del estrés de alta temperatura, actúa directamente sobre la anatomía y la integridad de las subestructuras celulares (8).

Aunque se han realizado algunos estudios anatómicos de plantas de tomate, estos no resultan suficientes, sobre todo en raíces sometidas a estrés de altas temperaturas, pues en la literatura consultada no se encuentran las relacionadas con este cultivo, por lo que cualquier aporte en esta temática resulta novedoso.

Tomando en consideración que no existe suficiente información de las características anatómicas de las variedades de tomate mejoradas, ni del efecto que el estrés de altas temperaturas produce sobre las raíces de esas

Dr.C. Ofelia Sam, Investigadora Titular del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32700; Dra. Pilar Sánchez-Testillano; Dra. María J. Coronado y Dra. María C. Risueño, Investigadoras del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), CSIC, C/Ramiro de Maeztu no. 9, 28 040 Madrid, España.

✉ osam@inca.edu.cu, sam_morejon@yahoo.com

plantas, se realizó el presente trabajo, con el objetivo de describir cualitativamente las modificaciones que el choque térmico produce en las raíces de plantas de dos variedades de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon semillas de las variedades Campbell-28 cv., considerada como susceptible a las altas temperaturas y Mariela, variedad cubana mejorada para época no óptima del cultivo; una vez desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3 %, durante 10 min., se pusieron a germinar en placas Petri con papel de filtro y agua corriente en las condiciones del laboratorio (28°C día/18°C noche), a los siete días después de puestas a germinar, se separaron las radículas de cada variedad en dos grupos en recipientes con agua.

Uno de esos grupos (de cada variedad) se dejó en las condiciones del laboratorio, como tratamiento control y los otros se pusieron en incubadora durante 1.5 horas a 38°C, considerado como tratamiento de alta temperatura. Para este tratamiento se trató de emplear un tiempo suficiente para que se produjeran cambios evidentes en esas células sin llegar a provocar su muerte, basado en el trabajo realizado en hojas (8).

Se tomaron las muestras de ambos tratamientos, que consistieron en secciones de 3 mm de longitud, a partir del ápice de la radícula hacia la base de esta, de cinco radículas por tratamiento de cada variedad. Las raíces fueron tratadas según la metodología empleada en el Centro de Investigaciones Biológicas para este tipo de tejido y que consiste en fijarlas en formaldehído al 4 % toda la noche a 4°C; después se lavaron tres veces durante cinco minutos en PBS, se comenzó la deshidratación en serie creciente de etanol, comenzando por 30 % durante una hora en cada uno, hasta absoluto, después se pasó a etanol/óxido de Propileno (1:1, v/v), óxido de Propileno absoluto y se comienza la infiltración con óxido de Propileno/resina epón (1:1) con agitación y a la temperatura ambiente por 45 min. Posteriormente se pasa a resina epón puro a 4°C y con agitación toda la noche y, por último, se incluye con resina epón en cápsulas de gelatina, donde permanecen en estufa a 60°C toda la noche.

Las secciones semifinas (2 µm de grosor) se obtuvieron con cuchillas de vidrio en un Ultratome LKB, se montaron en portaobjetos, se tiñeron con azul de toluidina al 0.05 % y fueron fotografiadas con cámara digital Olympus acoplada al microscopio de la misma marca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se presenta una radícula de plántulas del tratamiento control en sección longitudinal (variedad Mariela), donde se muestran las características propias de la especie *Lycopersicon esculentum* en la llamada zona de crecimiento activo, la que se ubica sobre el meristemo radicular, en el que se pueden apreciar las células que

darán origen a los demás tejidos, de acuerdo con la posición que ocupan en esa zona, dando lugar a la endodermis, al cilindro central y a las demás capas epidérmicas y corticales, las que se señalan en la propia figura. Todo ello es válido para ambas variedades.

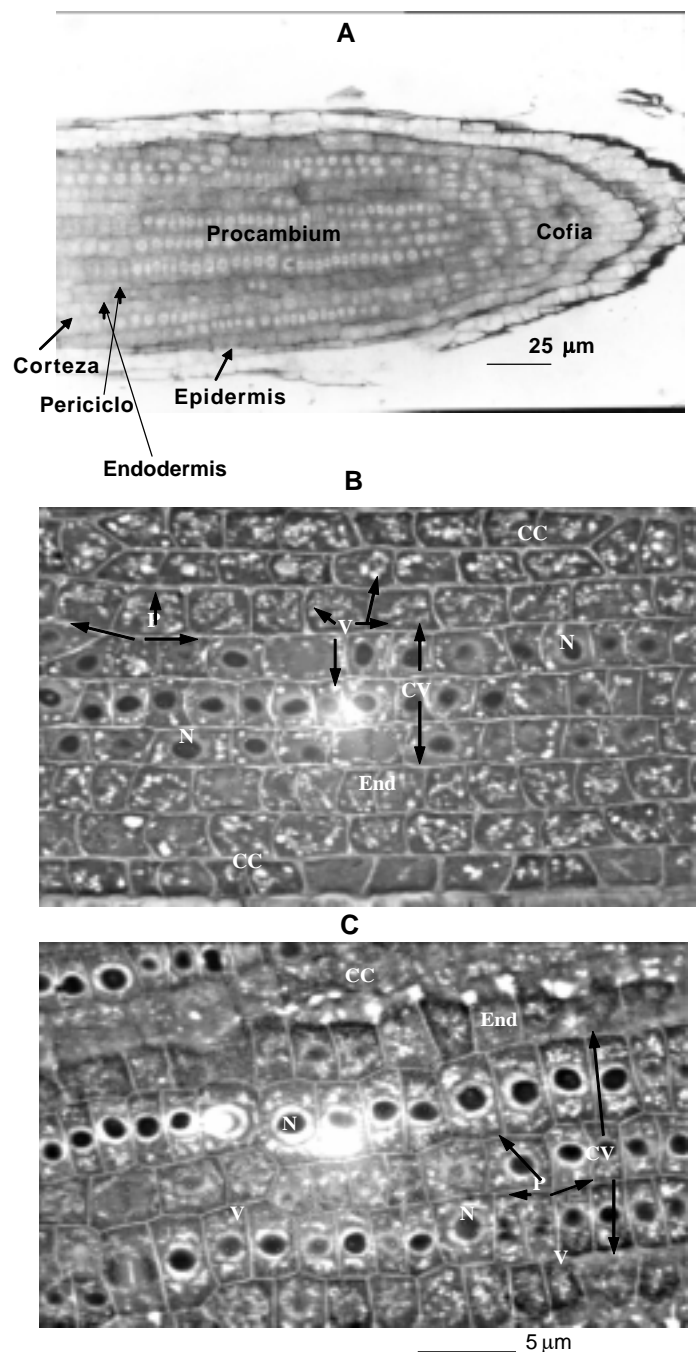


Figura 1. Secciones longitudinales de radículas de las plántulas del tratamiento control de las dos variedades de tomate. A) Mariela, se aprecia la morfología radicular propia de la especie, B) Campbell-28 cv. y C) Mariela, mostrando las características histológicas de la zona de crecimiento de ambas variedades. V-vacuolas, N-núcleo, P-pared celular, CV-cilindro vascular, End-endodermis, CC-células corticales

En las secciones longitudinales de las radículas de plántulas del tratamiento control, de las dos variedades, Campbell-28 cv. (Figura 1B) y Mariela (Figura 1C), se puede ver la similitud en la anatomía de las radículas de las plántulas de ambas variedades.

En la Figura 2 se presentan los tejidos radiculares en secciones longitudinales de las plántulas bajo tratamiento de alta temperatura. Al comparar las características de estas células con las correspondientes a las del tratamiento control, se ven las vacuolas muy aumentadas de tamaño, siendo este el rasgo más distintivo entre las células del tratamiento control y las del testigo en ambas variedades; en algunas células el tratamiento de alta temperatura hizo que el núcleo se contrajera, además se ven los espacios intercelulares y la dilatación de las paredes, lo que resultó más evidente en las radículas de las plántulas de la variedad Mariela (Figura 2B), considerada con tolerancia a altas temperaturas.

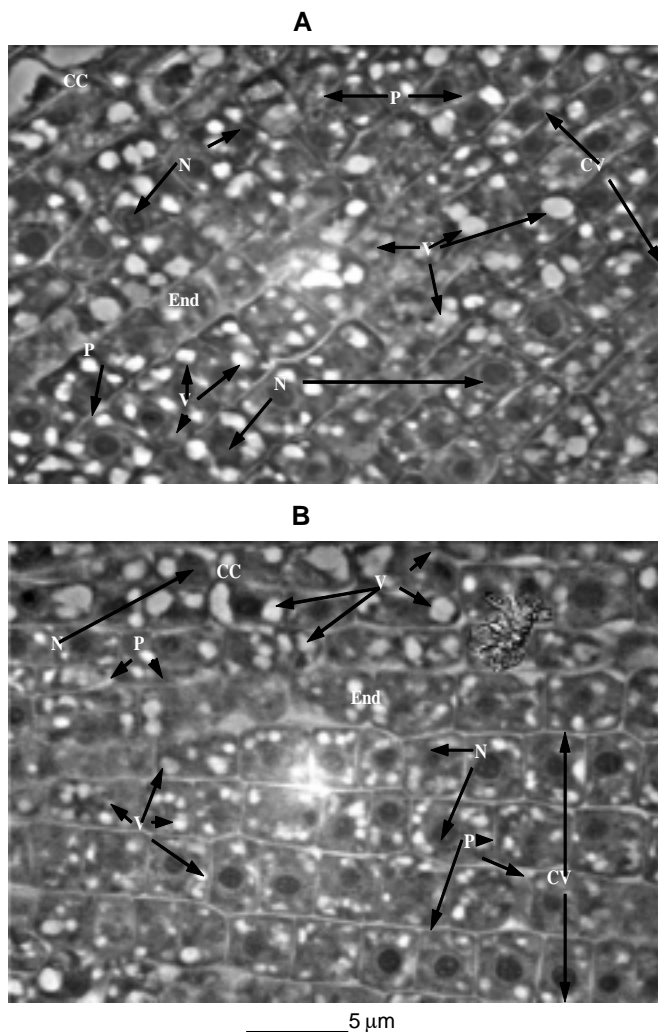


Figura 2. Secciones longitudinales de radículas de las plántulas del tratamiento de alta temperatura, mostrando los cambios ocasionados en los tejidos de las dos variedades. A) C-28 y B) Mariela. Nótese el aumento de tamaño de las vacuolas y los espacios intercelulares

En relación con las vacuolas vegetales, se sabe que son organelos muy sensibles a los estrés y también son ácidas y con frecuencia líticas; constituyen el sitio donde se alojan muchas enzimas hidrolíticas. Las vacuolas varían en su morfología y composición, según el tejido y su estado de desarrollo, actúan como compartimentos almacenadores de iones, azúcares, aminoácidos y metabolitos; son muy importantes en la formación de vasos y traqueidas, por lo que la dinámica vacuolar es esencial para que las plántulas puedan vencer los estrés de sequía o invasión de patógenos (9).

Con el análisis histológico, se puede comprobar que el agrandamiento de las células vegetales es regulado (10) mediante un proceso celular altamente específico y señala que, por ejemplo, las células meristemáticas pueden dar lugar a vasos xilemáticos amplios, que se rodean inmediatamente de células parenquimáticas adyacentes muy pequeñas, dispuestas a su alrededor y que la expansión celular está también regulada coordinadamente a nivel de organismo completo por estímulos externos, como la luz, temperatura, gravedad y disponibilidad de agua, así como también por factores internos, como las giberelinas, auxinas y otras hormonas del crecimiento, con lo que este análisis permite corroborar la acción de esos factores sobre los cambios en la anatomía y el funcionamiento a nivel celular.

También es conocido como aspecto muy importante a destacar, por el papel que juegan las membranas en la integridad celular (11), que estas son dañadas por el estrés de calor, al incrementarse el nivel de sustancias dañinas que reducen la supervivencia; estos niveles pueden ser atenuados por pretratamientos de calor y fueron estudiados en *Arabidopsis* con la participación del calcio y otras sustancias, y en plantas de papa se observó un efecto similar de atenuar el deterioro que el estrés de calor produce en la expansión celular (12).

En el caso del tomate, una temperatura de 38°C en los tejidos radiculares repercutió de forma severa en las vacuolas, paredes celulares y ligeramente en el aspecto del núcleo de las plántulas de las dos variedades en estudio y pudiera considerarse que los cambios a nivel subcelular que fueron descritos para los tejidos foliares de plantas de estas dos variedades sometidas a un tratamiento similar de alta temperatura (8), pero a 40°C, pudieran producirse también en los tejidos radiculares, con lo que se corroboraría lo que había sido descrito para otro cultivo (13), en tejidos meristemáticos radiculares sometidos a un choque térmico.

REFERENCIAS

1. Iba, K. Acclimative response to temperature stress in higher plant approaches of gene engineering for temperature tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002, vol. 53, p. 225-245.
2. Sasaki, T. Science of the rice plant (Genetics). *Nobunryo*, 1997, vol. 3, p. 534-549.

3. Sinsawat, V.; Lepner, J.; Stamp, P. y Fracheboud, Y. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L) grown at control or high temperature. *J. Environ. And Exp. Botany*, 2004, vol. 521, no. 2.
4. Ajayi, A. E. y Olofayo, A. A. Evaluation of two temperature stress indices to estimate grain sorghum yield and evapotranspiration. *Agron. J.*, 2004, vol. 96, p. 1282-1287.
5. Schoffl, F.; Panikulangara, T. J.; Eggers-Schumacher, G.; Wunderlich, M. y Stransky, H. Galactinol synthase 1, a novel HSF-target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in arabidopsis. *Plant. Physiol.*, 2004, vol. 136, no. 2.
6. Smertenko, A.; Drábek, P.; Viklický, V. y Opatrná, Z. Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. *Plant Cell Envir.*, 1997, vol. 20, p. 1534-1542.
7. Rao, D.; Momcovic, I; Kobayashi, S.; Callenger, E. y Ristic, Z. Chaperone activity of recombinant maize chloroplast protein synthesis, elongation. *Eur. J. Biochem.*, 2004, vol. 271, p. 3684-3692.
8. Sam, O.; Núñez, M.; Ruiz-Sánchez, M. C.; Dell'Amico, J.; Falcón, V.; Rosa, M. C. de la y Seoane, J. Effect of brassinosteroid analogue and high temperature stress on leaf ultrastructure of *Lycopersicon esculentum*. *Biología Plantarum*, 2001, vol. 44, no. 2, p. 213-218.
9. Raikhel, N. V. Botany: Voluminous, varied and vital. *Science*, 2000, vol. 288, p. 2138.
10. Cosgrove, D. J. Relaxation in high-stress environment: the molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *The Plant Cell*, 1997, vol. 9, p. 1031-1041.
11. Larkindale, J. y Kinght, M. R. Production against heat stress-induced oxidative damage in arabidopsis. involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plan Physiol.*, 2002, vol. 128, p. 682-695.
12. Kleinhenz, M. D. y Palta, J. P. Root zone calcium modulates the response of potato plants to heat stress. *Physiologia Plantarum*, 2002, vol. 115, no. 1, p. 111-118.
13. Risueño, M. C. /et al./. Effect of supraoptimal temperatures on meristematic cell nucleoli. *J. Microscopie*, 1973, vol. 16, p. 87-94.

Recibido: 29 de agosto de 2005

Aceptado: 27 de noviembre de 2006

Cursos de Verano

Precio: 320 CUC

Las Oligosacarinas reguladoras de los mecanismos de defensa, del desarrollo y la diferenciación de las plantas

Coordinador: Ms.C. Humberto Izquierdo Oviedo

Ms.C. Alejandro Falcón

Fecha: agosto

Duración: 40 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (47) 86-3773
Fax: (53) (47) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu