



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FISIOLOGÍA VEGETAL**

## **TOLERANCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN TOMATES SEMICULTIVADOS**

**MARÍA DOLORES RAMÍREZ VILLA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

Montecillo, Texcoco, Edo. de México

2018

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe María Dolores Ramírez Villa, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. Nicacio Cruz Huerta, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis

Torelancia a bajas temperaturas en tomates semicultivados

y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 6 de noviembre de 2017

Ma. Dolores Ramírez V.

Firma del  
Alumno (a)



Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **TOLERANCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN TOMATES SEMICULTIVADOS** realizada por la alumna **MARÍA DOLORES RAMÍREZ VILLA** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

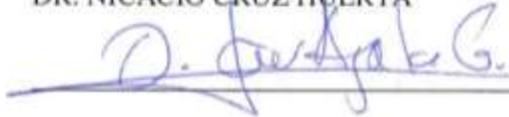
**DOCTORA EN CIENCIAS**  
**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**  
**FISIOLOGÍA VEGETAL**  
**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO



DR. NICACIO CRUZ HUERTA

ASESOR



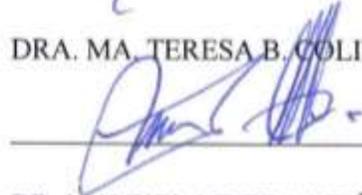
DR. OSCAR JAVIER AYALA GARAY

ASESORA



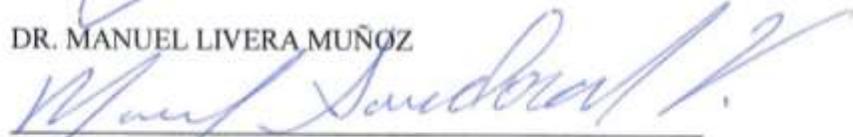
DRA. MA. TERESA B. COLINAS LEÓN

ASESOR



DR. MANUEL LIVERA MUÑOZ

ASESOR



DR. MANUEL SANDOVAL VILLA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2018

## TOLERANCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN TOMATES SEMICULTIVADOS

María Dolores Ramírez Villa, Dra.  
Colegio de Postgraduados, 2018

### RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una especie sensible a la temperatura baja por su origen subtropical. Existen algunas colectas de tomates semicultivados en los que se ha observado tolerancia a baja temperatura. La presente investigación se realizó con el objetivo de identificar el intervalo de baja temperatura y tiempo de exposición en que las plántulas de tomate sobreviven en menos del 50% a un choque térmico y evaluar los efectos fisiológicos en las plántulas sobrevivientes. En la primera fase se utilizaron plántulas de tomate comercial (Eterno Hyb, El Cid F1, Floradade, Rio Grande) para definir la combinación de temperatura y tiempo de exposición a la cual sobreviven menos del 50% de las plantas. Los resultados indican que en el tratamiento de -2 °C durante 2 h se encontró el mayor porcentaje de sobrevivencia (88%), mientras que a -4 °C durante 2 h el porcentaje fue el más bajo (34%). La sobrevivencia en el tratamiento a -4 °C (2 h) fue 2.6 veces menor que en el tratamiento a -2 °C (2 h). En la segunda fase se utilizaron plántulas de 18 familias de tomate semicultivado y se sometieron a -4 °C durante 2 h, combinación de temperatura y tiempo de exposición definida en la primera fase porque sobrevivieron menos del 50% de las plántulas. Se encontró que el contenido relativo de agua disminuyó un 10% con el tratamiento a baja temperatura (80%) en comparación con las plantas testigo (88%). La tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> solo se afectó el primer día después de haber aplicado el tratamiento de baja temperatura con 6.64 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, comparado con 11.34 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> en el testigo. Los resultados de la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub>, la eficiencia cuántica máxima y la fuga electrolítica indican que no hubo daño fisiológico a nivel de aparato fotosintético ni a nivel de integridad de membranas en las plántulas. Existe disminución en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y del contenido relativo de agua, sin embargo, las plántulas se recuperan en menos de 48 horas posteriores al choque térmico. De lo anterior se concluye que los tomates semicultivados presentan características de tolerancia a baja temperatura y se podrían utilizar para el mejoramiento genético de la especie.

**Palabras clave:** sobrevivencia, estrés, fotosíntesis, fluorescencia de clorofila *a* y permeabilidad de membrana.

## LOW TEMPERATURE TOLERANCE IN SEMICULTIVATED TOMATOES

María Dolores Ramírez Villa, Dra.  
Colegio de Postgraduados, 2018

### ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a species widely considered sensitive to low temperature because of its tropical origin. Low temperature tolerance has been observed in some semi-cultivated tomato landraces. This research was carried out with the objective of identifying the range of low temperature and duration at which tomato seedlings survive less than 50%, and later to evaluate some physiological effects in surviving seedlings of semi-cultivated tomatoes after being treated with such thermal shock. In the first stage, commercial tomato seedlings were exposed to several intensities of low temperature and exposure times to determine the combination of temperature and duration at which seedlings survived less than 50%. Results showed that treatment of -2 °C during 2 h had the highest survival rate (88%), whereas -4 °C during 2 h had the lowest (34%), and therefore, the former combination was chosen for the following stage since survival rate was less than 50%. Survival rate of treatment -4°C during 2 h was 2.6 times lower than the one in treatment -2 °C during 2 h. In the second stage, seedlings of 18 semi-cultivated tomato families were exposed at -4 °C during 2 h. Relative water content in seedlings after low temperature treatment (80%) decreased 10% compared to the control (88%). CO<sub>2</sub> assimilation rate was only affected the first day after applying the low temperature treatment with 6.64 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> compared to the control, with 11.34 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. CO<sub>2</sub> assimilation rate, maximum quantum yield and electrolyte leakage results indicate that there was no physiological damage in the seedlings, neither at the photosynthetic apparatus level nor at the membrane integrity level. After low temperature exposure, CO<sub>2</sub> assimilation rate and relative water content decreased, but seedlings recovered in less than 48 h after thermal shock. From the above, it is concluded that surviving semi-cultivated tomatoes show low-temperature tolerance traits that could be included in a tomato breeding program.

**Key words:** survival, stress, photosynthesis, chlorophyll fluorescence and membrane permeability.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme brindado los recursos económicos para realizar mis estudios de doctorado.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por haberme apoyando económicamente con la beca tesis de licenciatura y posgrado

Al Colegio de Postgraduados por darme la formación académica y profesional en el grado de doctorado.

Al Dr. Porfirio Ramírez Vallejo† por haberme brindado el material vegetal para mi investigación.

Al Dr. Nicacio Cruz Huerta por su dirección y paciencia en el trabajo de investigación, por compartirme sus experiencias, por su amistad e impulsarme a ser una mejor persona en lo personal y profesional.

Al Dr. Oscar Javier Ayala Garay por su apoyo y observaciones en mi investigación, por sus consejos y por su amistad.

A mis asesores: Dra. María Teresa Colinas León, Dr. Manuel Livera Muñoz y Dr. Manuel Sandoval Villa, por sus valiosas aportaciones, por compartir sus conocimientos para el desarrollo y culminación del trabajo de investigación.

Al Dr. Víctor A. González Hernández por compartirme sus conocimientos, al Dr. Marcos Jiménez Casas por sus consejos, al Dr. J. Jesús Vargas Hernández por permitirme utilizar la cámara prototipo, al Dr. Javier López Upton por darme las facilidades de acceso al vivero forestal, a la Dra. Cecilia Peña Valdivia por permitirme utilizar sus equipos y laboratorio y por guiarme en mi investigación, al Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón por autorizarme el uso del colorímetro, al Dr. Ramiro Maldonado Peralta y la M. C. Delfina Salinas Vargas por su apoyo y amistad.

Al personal del Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal por su ayuda en la realización de los experimentos.

A todos los que de manera directa e indirecta me ayudaron en la realización de la investigación.

## DEDICATORIA

Con amor,  
cariño y  
admiración  
para mi familia.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>LISTA DE CUADROS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
1.1. Justificación .....	3
1.2. Objetivos.....	4
1.2.1. Objetivo general .....	4
1.2.2. Objetivos particulares.....	4
1.3. Hipótesis general.....	4
1.4. Literatura citada .....	5
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>8</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>8</b>
2.1. Generalidades del tomate.....	8
2.1.1. Origen e importancia económica.....	8
2.1.2. Clasificación botánica .....	8
2.1.3. Clasificación taxonómica .....	9
2.1.4. Descripción botánica .....	10
2.1.5. Requerimientos térmicos del tomate .....	11
2.2. Tomates nativos de México .....	12
2.3. Temperaturas bajas y heladas .....	13
2.3.1. Definición de temperatura baja .....	13
2.3.2. Sensibilidad de las plantas al frío .....	14
2.3.3. Clasificación de las heladas.....	14
2.3.4. Elementos meteorológicos que afectan la formación de heladas .....	16
2.4. Tomates silvestres tolerantes a temperaturas bajas.....	18
2.5. Efectos de la temperatura baja en las plantas .....	19
2.5.1. Efectos fisiológicos .....	20
2.5.2. Efectos en variables bioquímicas .....	24

2.5.3. Mecanismos para minimizar los daños por bajas temperaturas en plantas ....	25
2.6. Cuantificación del daño por bajas temperaturas .....	25
2.7. Literatura citada .....	26
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>39</b>
<b>EFFECTO DE BAJAS TEMPERATURAS EN TOMATES COMERCIALES Y SEMICULTIVADOS .....</b>	<b>39</b>
3.1. Resumen.....	39
3.2. Introducción .....	40
3.3. Materiales y métodos .....	42
3.3.1. Descripción de la cámara .....	42
3.3.2. Caracterización de la cámara prototipo .....	43
3.3.3. Determinación de umbrales de temperatura letal .....	44
3.3.4. Variables evaluadas .....	45
3.3.5. Diseño experimental y análisis estadístico .....	45
3.4. Resultados y discusión.....	46
3.4.1. Caracterización de la cámara.....	46
3.4.2. Determinación de umbrales de temperatura que causan daños por frío.....	46
3.5. Conclusiones .....	51
3.6. Literatura citada .....	51
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>55</b>
<b>CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE TOMATES SEMICULTIVADOS A BAJA TEMPERATURA .....</b>	<b>55</b>
4.1. Resumen.....	55
4.2. Introducción .....	55
4.3. Materiales y métodos .....	56
4.3.1. Ubicación del experimento.....	56
4.3.2. Material vegetal .....	57
4.3.3. Cultivo de las plántulas .....	57
4.3.4. Tratamientos .....	57
4.3.5. Variables medidas .....	58
4.3.6. Análisis estadístico .....	60

4.4. Resultados y discusión.....	60
4.4.1. Respuesta fisiológica de tomates semicultivados a estrés por frío.....	60
4.4.2. Respuestas bioquímicas de tomates semicultivados a estrés por frío .....	80
4.5. Conclusiones.....	80
4.6. Literatura citada .....	80
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>86</b>
<b>DISCUSIÓN GENERAL .....</b>	<b>86</b>
Literatura citada .....	90
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>92</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 3.1. Tipo de fruto y hábito de crecimiento de las variedades comerciales. ....	44
Cuadro 3.2. Temperatura del aire y hoja en cuatro tratamientos a diferente intensidad y duración de estrés por baja temperatura. ....	50
Cuadro 4.1. Efecto del tiempo después de tratamiento sobre la asimilación del CO <sub>2</sub> , conductancia estomática y la transpiración en tomate semicultivado. ....	62
Cuadro 4.2. Efecto promedio del tiempo después de tratamiento en la máxima eficiencia cuántica ( $F_v'/F_m'$ ), rendimiento cuántico del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), la disipación fotoquímica (qP) de la clorofila a, y temperaturas de medición en plántulas de tomate semicultivado.....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Cámara de baja temperatura modelo M1212 (Manufacturas Ind. Universo, México, 2013).....	43
Figura 3.2. Caracterización vertical (A); temperatura objetivo 2 °C y horizontal (B); temperatura objetivo 1 °C de la temperatura en la cámara prototipo. ....	47
Figura 3.3. Sobrevivencia de plántulas de tomate sometidas a diferentes intensidades y duración. Promedio de cuatro variedades comerciales.....	49
Figura 4.1. Fechas con temperaturas máximas mayores a 32°C y mínimas menores a 10°C registradas durante el periodo de crecimiento de las plántulas de tomates semicultivados. ....	61
Figura 4.2. Efecto de los tratamientos en la tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> de tomate semicultivado, durante 14 días. ....	63
Figura 4.3. Asimilación de CO <sub>2</sub> de cinco familias de tomate semicultivado, durante 14 días después de tratamiento.....	64
Figura 4.4. Efecto de los tratamientos en la conductancia estomática de tomate semicultivado, durante 14 días. ....	65
Figura 4.5. Efecto del tratamiento de temperatura en la transpiración de tomate semicultivado, durante 14 días. ....	66
Figura 4.6. Efecto de los tratamientos en la fluorescencia inicial (Fo', A), fluorescencia máxima (Fm', B) y fluorescencia estable (Fs, C) en tomate semicultivado, durante 14 días.....	67
Figura 4.7. Efecto promedio del tratamiento en la máxima eficiencia cuántica (Fv'/Fm') de la clorofila a, en plantas de tomate semicultivado, durante 14 días. ....	69
Figura 4.8. Efecto promedio del tratamiento en la disipación fotoquímica (qP) de la clorofila a, en plántulas de tomate semicultivado, durante 14 días. ....	70
Figura 4.9. Temperatura del aire en las plántulas de dos tratamientos en tomate semicultivado, medida durante 14 días.....	71
Figura 4.10. Temperatura de la hoja en las plántulas en tomate semicultivado, sometido a dos tratamiento y medida durante 14 días. ....	72
Figura 4.11. Efecto de la familia en el contenido relativo de agua de tomates semicultivados. ....	73
Figura 4.12. Efecto de la interacción tratamiento por familia en el contenido relativo de agua de tomates semicultivados.....	74
Figura 4.13. Promedio de conductividad eléctrica del medio acuoso con tejido foliar vivo de tomate semicultivado, mantenido por 3 horas. ....	75
Figura 4.14. Promedio de conductividad eléctrica por familia por tratamiento de baja temperatura en tejido foliar vivo de tomate semicultivado. ....	76

Figura 4.15. Distribución de las lecturas máximas de conductividad eléctrica durante el tiempo de medición en un medio acuoso de tejido vivo o muerto de tomate semicultivado. ....	77
Figura 4.16. Promedio de conductividad eléctrica del medio acuoso en el tejido foliar muerto mantenido por 3 horas en las familias de tomate semicultivado. ....	78
Figura 4.17. Promedio de la conductividad eléctrica en tejido foliar muerto en las familias de tomate semicultivado y por tratamiento de baja temperatura. ....	79

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN GENERAL

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la segunda hortaliza más cultivada a nivel mundial y la tercera producida en México, después del chile verde y la papa. La disponibilidad de nuevos tipos y variedades, nuevos métodos de cultivo y la creciente demanda de hortalizas han incentivado su producción en los años recientes. El volumen cosechado a nivel mundial en 2014 fue de 223.47 millones de toneladas en una superficie de 6 millones de hectáreas (FAO, 2017). China se mantiene como el principal productor, con 52.5 millones de toneladas en el mismo año (FAO, 2017). Estados Unidos es el principal importador mundial (1.5 millones de toneladas en 2014), en tanto que México es el principal exportador y proveedor externo de esta hortaliza para ese país, con más del 90% del volumen importado (FIRA, 2016, 2017). En 2014, México ocupó el décimo lugar en producción de tomate a nivel mundial aportando el 2.07% (FAO, 2017), siendo Sinaloa, Michoacán, Zacatecas, Baja California y San Luis Potosí los principales estados productores en el 2016, con el 57% de la superficie y el 56% de la producción nacional (SIAP, 2017).

En años recientes el territorio nacional ha experimentado episodios de bajas temperaturas y con frecuencia en las regiones con altitud superior a 1800 msnm han sido heladas (0°C o menos) que cada año son más drásticas y frecuentes (Valerio, 2013). Esto ha afectado en gran medida la producción de tomate. Este cultivo disminuye su potencial de rendimiento cuando se establece en ambientes con temperaturas del aire que oscilan entre una temperatura mínima (8-12 °C) y una óptima (25-27 °C) (Schwarz *et al.*, 2010), por lo que su cultivo se ve condicionado a zonas donde la temperaturas no sean una limitante, y si lo es, es necesario protegerlo de temperaturas bajas extremas que afectan su producción. Por lo anterior, el cultivo del tomate en invernadero, se ha incrementado.

Para mantener la producción de la especie o para incrementarla es necesario el estudio y aprovechamiento de los materiales silvestres (Benavides *et al.*, 2011). Esto permitirá una mejor adaptación de la especie a lugares y condiciones ambientales donde aún no se produce o la producción es mínima. El tomate cultivado puede sufrir de estrés por frío en todas las etapas de

crecimiento y desarrollo. Las plantas que se han adaptado a los climas subtropicales y tropicales, tales como: maíz, arroz y tomate, generalmente tienen poca tolerancia al frío y no se pueden aclimatar a bajas temperaturas (Zhang *et al.*, 2004).

El estrés por baja temperatura es importante porque afecta la producción (Yadav, 2010). Cuando la temperatura ambiente se desvía de la óptima, ocurren cambios fisiológicos, bioquímicos, metabólicos y moleculares dentro de la planta. Esta es una respuesta para mantener la homeostasis celular durante estas condiciones adversas para lograr su crecimiento y desarrollo. Bajo condiciones estresantes, las plantas experimentan progresivamente procesos celulares anormales, alterados o disfuncionales, hasta que se alcanzan temperaturas cardinales para la sobrevivencia (Guy *et al.*, 2008).

Existen varios factores que determinan la reacción de las plantas ante el estrés. Por ejemplo, cierta tolerancia a bajas temperaturas puede ser inducida por la exposición anterior a temperaturas por debajo de la óptima, y se conoce como tolerancia a las bajas temperaturas o aclimatación al frío. La capacidad de aclimatación de las plantas a una mayor resistencia de un factor de estrés se determina por su capacidad para mantener sus procesos fisiológicos dentro de niveles razonables, a una mayor variación de este factor (Valladares *et al.*, 2007). La trascendencia de estos efectos depende de la capacidad genética de la planta, de responder la intensidad y duración del estrés y si ocurre solo o en combinación con otros factores, cambios de temperatura, edad, estado de hidratación de la planta y la época del año (Chaves *et al.*, 2009; Pennisi *et al.*, 2016).

A la fecha, ya existen algunas investigaciones sobre la tolerancia a temperaturas bajas en tomates silvestres y domesticados. Por ejemplo, Van der Ploeg *et al.* (2007) evaluaron el efecto de la temperatura baja en el cultivar MoneyMaker y en los parientes silvestres *L. hirsutum* y *L. pennellii*. El cultivar MoneyMaker presentó una reducción más severa en su tasa relativa de crecimiento cuando la temperatura estuvo por debajo de los 20 °C, mientras que dicha tasa en *L. hirsutum* y *L. pennellii* disminuyó a temperaturas por debajo de los 16 °C; concluyendo que estas especies silvestres presentan posibilidades para el mejoramiento de la tolerancia a bajas temperaturas. Esto ofrece una gran oportunidad para aumentar la tolerancia de genotipos a bajas temperaturas (Ntatsi *et al.*, 2013).

Un estudio realizado por Chen *et al.* (2015) en el cual sometieron a frío dos especies de tomate: *S. lycopersicum* y *S. habrochaites* y observaron la respuesta a través de la medición de variables como: concentración de malondialdehído (MDA), de prolina, actividad de peroxidasa (POD), y catalasa (CAT) en las hojas, y concluyeron que *S. habrochaites* exhibió un marchitamiento menos severo que *S. lycopersicum* después de 10 días de tratamiento a 4 °C y el estrés por frío causó un aumento significativo de MDA, de prolina, actividad de POD y CAT en estas plantas.

Nosenko *et al.* (2016) sometieron ocho poblaciones de *S. chilense* a temperatura baja ( $0\text{ °C} < T < 10\text{ °C}$ ) y temperatura de congelación ( $T \leq 0\text{ °C}$ ), para evaluar la tolerancia a un rango de bajas temperaturas en donde se monitoreó la tasa de crecimiento de las plantas en forma gradual a la disminución de la temperatura, la eficiencia de la fotosíntesis ( $F_v/F_m$ ) en plantas aclimatadas (durante 14 días bajo temperaturas gradualmente decrecientes de 19/22 °C a 10/12 °C noche/día) y no aclimatadas (19/22 °C de temperatura noche/día). Se observó una disminución significativa en la tasa de crecimiento a bajas temperaturas en comparación con las plantas testigo y también encontraron que la eficiencia de la fotosíntesis en plantas aclimatadas a baja temperatura disminuyó en 3% en comparación con la reducción del 17% en las plantas no aclimatadas.

La cuantificación de la conductividad eléctrica en un medio acuoso se ha empleado como método indirecto para el cálculo del índice de daño en la estabilidad y permeabilidad de la membrana. Adicionalmente se usa para ponderar la tolerancia o sensibilidad a condiciones de estrés abiótico y biótico en diversos organismos cultivados (Rohde *et al.*, 2004). Por otra parte, el estudio de fotosíntesis y la fluorescencia de la clorofila *a* se ha aprovechado para la investigación de la resistencia o susceptibilidad de las plantas a diversas condiciones adversas (Rungrat *et al.*, 2016).

## 1.1. JUSTIFICACIÓN

Como consecuencia de su origen tropical, el tomate es sensible al frío, pues temperaturas menores a 10 °C provocan diversos desordenes en la planta (Ntatsi *et al.*, 2014). Las condiciones climáticas adversas provocan estrés abiótico en los cultivos, lo que ocasiona factores limitantes de la disminución de la productividad agrícola. El frío ha afectado el 57% de la superficie terrestre en el mundo, por lo tanto, lo convierte en un factor ambiental que: disminuye la fotosíntesis, aumenta la permeabilidad de la membrana y afecta las relaciones hídricas en la planta (Meena *et al.*, 2017).

En la actualidad en México se cuenta con genotipos nativos que presentan tolerancia al frío (Javier-Espinosa, 2016); sin embargo, se desconoce su comportamiento fisiológico y bioquímico. Además, la información sobre los mecanismos de tolerancia a bajas temperaturas es escasa, por lo que se convierte en un tema relevante para el desarrollo y conservación de materiales nativos tolerantes al frío y su posible incorporación en programas de mejoramiento para el desarrollo de materiales adaptados a bajas temperaturas.

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo general**

Identificar familias de tomates semicultivados tolerantes a bajas temperaturas en el estado de plántula y caracterizarlas fisiológicamente.

### **1.2.2. Objetivos particulares**

Identificar la combinación de temperatura y tiempo de exposición en la que las plántulas de tomate sobreviven en menos del 50%.

Identificar familias de tomate semicultivado contrastantes en sobrevivencia a un choque térmico con temperatura letal definida previamente en tomates de variedades comerciales.

Caracterizar fisiológica y bioquímicamente los tomates semicultivados sobrevivientes a temperaturas bajas.

## **1.3. HIPÓTESIS GENERAL**

Existen familias de tomates semicultivados con tolerancia a temperatura baja. La mayor está asociada con una menor pérdida de agua en el tejido foliar, menor daño en el aparato fotosintético y menor índice de daño en la permeabilidad de las membranas.

#### 1.4. LITERATURA CITADA

- Benavides G. A., C. J. Cisne, L. D. Querol y C. J. C. Morán. 2011. Germoplasma de tomate silvestre (*Lycopersicum* spp.) en la reserva de recurso genéticos de Apacunca, Chinandega. La Calera Revista Científica 11(17):33-40.
- Chaves M. M., Flexas J. and Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103:551-560.
- Chen H., X. Chen, D. Chen, J. Li, Y. Zhang and A. Wang. 2015. A comparison of the low temperature transcriptomes of two tomato genotypes that differ in freezing tolerance: *Solanum lycopersicum* and *Solanum habrochaites*. *BMC Plant Biology* 15:132-147.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2017. Cultivos y productos de ganadería. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize> (27 de julio de 2017).
- FIRA, Fideicomiso Institucional en Relación con la Agricultura. 2016. Panorama Agroalimentario. Tomate Rojo. 35 p. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama\\_Agroalimentario\\_Tomate\\_Rojo\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf) (Consulta marzo 20, 2017).
- FIRA, Fideicomiso Institucional en Relación con la Agricultura. 2017. Panorama Agroalimentario. Tomate Rojo. 24 p. Disponible en: <https://www.fira.gob.mx/InfEspDtoXML/abrirArchivo.jsp?abreArc=65310> (Consulta marzo 20, 2017).
- Guy C., F. Kaplana, J. Kopka, J. Selbig and D. K. Hinch. 2008. Metabolomics of temperature stress. *Physiologia Plantarum* 132:220–235.
- Javier-Espinosa D. M. 2016. Regeneración *in vitro* vía organogénesis de *Solanum lycopersicum* Mill tolerante a bajas temperaturas. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 91 h.
- Meena K. K., A. M. Sorty, U. M. Bitla, K. Choudhary, P. Gupta, A. Pareek, D. P. Singh, R. Prabha, P. K. Sahu, V. K. Gupta, H. B. Singh, K. K. Krishanani and P. S. Minhas. 2017. Abiotic

- stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. *Frontiers in Plant Science* 8(172):1-25.
- Nosenko T., K. B. Böndel G. Kumpfmüller and S. Wolfgang. 2016. Adaptation to low temperatures in the wild tomato species *Solanum chilense*. *Molecular Ecology* 25:2853–2869.
- Ntatsi G., D. Savvas, G. Ntatsi, H. P. Kläring and D. Schwarz. 2014. Growth, yield, and metabolic responses of temperature-stressed tomato to grafting onto rootstocks differing in cold tolerance. *Journal American Horticultural Science* 139(2):230-243.
- Ntatsi G., D. Savvas, U. Druege and D. Schwarz. 2013. Contribution of phytohormones in alleviating the impact of sub-optimal temperature stress on grafted tomato. *Scientia Horticulturae* 149:28-38.
- Pennisi B., P. Thomas and E. Stallknecht. 2016. Effects of low temperature on plants. Department of Horticulture. UGA Extension. University of Georgia. 1-8.
- Rohde P., D. K. Hinch and A. G. Heyer. 2004. Heterosis in the freezing tolerance of crosses between two *Arabidopsis thaliana* accessions (Columbia-0 and C24) that show differences in non-acclimated and acclimated freezing tolerance. *Plant Journal* 38(5):790-9.
- Rungrat T., M. Awlia, T. Brown, R. Cheng, X. Sirault, J. Fajkus, M. Trtilek, B. Furbank, M. Badger, M. Tester, B. J. Pogson, J. O. Borevitz and P. Wilsona. 2016. Using phenomic analysis of photosynthetic function for abiotic stress response gene discovery. *The Arabidopsis Book* 14: e0185. doi:10.1199/tab.0185.
- Schwarz D., Y. Roupahel, G. Colla and J. H. Venema. 2013. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stress. Thermal stress, water stress and organic pollutants. *Science Horticulture* 127:162-171.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2017. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx> (5 de septiembre de 2017).

- Valerio M. 2013. Efecto de heladas sobre cultivos en el norte de México. *Hortalizas*. Recuperado de <http://www.hortalizas.com/proteccion-de-cultivos/efecto-de-heladas-sobre-cultivos-en-el-norte-de-mexico/> (3 de mayo de 2013).
- Valladares F., E. Gianoli, and J. M. Gómez. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176:749-763.
- Van-der-Ploeg A. E., E. Heuvelink and J. V. Henk. 2007. Wild relatives as a source for suboptimal temperature tolerance in tomato. *Acta Horticulturae* 761:127-134.
- Yadav Y. S. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30:515–527.
- Zhang X., S. G. Fowler, H. Cheng, Y. Lou, S. Y. Rhee and E. J. Stockinger. 2004. Freezing sensitive tomato has a functional CBF cold response pathway, but a CBF regulon that differs from that of freezing-tolerant *Arabidopsis*. *Plant Journal* 39:905–19.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. GENERALIDADES DEL TOMATE

##### 2.1.1. Origen e importancia económica

El tomate es originario de América del Sur, a lo largo de la costa y Los Andes hasta el centro de Ecuador, región que actualmente comprende el norte de Chile, y parte de Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia, Perú y las Islas Galápagos. En consecuencia, las especies silvestres de tomate crecen en una variedad de hábitats que van desde el nivel del mar en la costa del Pacífico hasta los 3,300 m de altitud y por tanto, es un centro de variabilidad importante (Bai y Lindhout, 2007; Bergougnoux, 2014). Sin embargo, la domesticación y el cultivo se llevaron a cabo por las tribus indígenas que habitaron México, donde se originó el nombre de tomate (Giordano y Silva, 2000), lo cual se apoya en las evidencias lingüísticas, arqueológicas, y etnobotánicas (Rick y Robes, 1975; Rick, 1978).

El tomate es la segunda hortaliza más cultivada en el mundo. En 2014, se produjeron 223.47 millones de toneladas en 6 millones de hectáreas de superficie cosechada (FAO, 2017). México ocupó el décimo lugar en producción de tomate a nivel mundial, aportando el 2.07% de la producción mundial (FAO, 2017). En 2016, México produjo 3.35 millones de toneladas en 51,299 hectáreas, con un rendimiento promedio de 65.29 t ha<sup>-1</sup>. Esta hortaliza se cultiva en todos los estados y destacan Sinaloa, Michoacán, Zacatecas, Baja California y San Luis Potosí en el 2016, con el 57% de la superficie y el 56% de la producción nacional (SIAP, 2017).

##### 2.1.2. Clasificación botánica

El nombre botánico latino para la planta de tomate es "planta de amor". Como el tomate pertenece a la familia de las Solanáceas, conocida como la familia *Nightshade* "mortal", en el pasado se le atribuyó una falsa reputación de ser tóxica. De hecho, la hoja del tomate sí es tóxica y no la fruta

o el tomate, que es la parte comestible. En 1753 el tomate fue colocado en el género *Solanum* por Linnaeus como *Solanum lycopersicum* L. (derivación, 'lyco', lobo, más 'persicum', melocotón, es decir, "melocotón lobo") (Shukla *et al.*, 2013). Sin embargo, en 1768, Philip Miller reemplazó el género, y lo llamó *Lycopersicon esculentum*. Este nombre entró en amplio uso, pero estaba infringiendo las reglas de nomenclatura de la planta. Técnicamente, la combinación *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst sería correcta, pero este nombre (publicado en 1881) casi nunca se ha utilizado. Por lo tanto, se decidió conservar el bien conocido *Lycopersicon esculentum*, convirtiéndolo en el nombre correcto para el tomate cuando se coloca en el género *Lycopersicon* (Shukla *et al.*, 2013).

Sin embargo, la evidencia genética (Peralta y Spooner, 2001) ha demostrado ahora que Linnaeus estaba correcto en la colocación del tomate en el género *Solanum*, haciendo que el nombre de Linnaeus fuera correcto: si las especies de *Lycopersicon* se excluyen de *Solanum*, *Solanum* se deja como un taxón parafilético. A pesar de esto, es probable que la colocación taxonómica exacta del tomate sea polémica durante algún tiempo, con ambos nombres encontrados en la literatura. En lo sucesivo en este documento, el nombre científico usado será *Solanum lycopersicum* L.

### **2.1.3. Clasificación taxonómica**

El tomate cultivado, *Solanum lycopersicum* L., pertenece a la diversa familia *Solanaceae*, que incluye más de 3,000 especies, ocupando una amplia variedad de hábitats (Knapp, 2002). A pesar de que hay más de 7,000 variedades de tomates, todos ellos representan sólo una especie de tomate que se cultiva, *S. lycopersicum*. Las solanáceas contienen varias especies de uso económico, como alimento (tomates, papas, chiles y berenjenas) y como ornamentales (petunias) (Peralta y Spooner 2001, 2005; Spooner *et al.*, 2005; Peralta *et al.* 2006, 2008).

La clasificación botánica es como sigue:

Reino: Planta

Subreino: Traqueobionta

Superdivisión: Espermatofita

División: Magnoliofita

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: *Solanaceae*

Género: *Solanum L.*

Especie: *Solanum lycopersicum L.*

#### **2.1.4. Descripción botánica**

La raíz es vigorosa y crece a una profundidad de 50 cm o más. La raíz principal produce raíces densas laterales y adventicias (Naika, 2005).

El tallo es sólido, grueso, velludo y glandular. Su hábito de crecimiento varía de rastrero a erecto y cuando se cultiva con tutores crece de 2 a 4 m de altura (Naika, 2005).

Las hojas son ovaladas a oblongas, cubiertas de pelos glandulares. La hoja está dispuesta espiralmente, su tamaño oscila entre 15 y 50 cm de largo y de 10 a 30 cm de ancho. Aparecen pequeños pinnados entre los folíolos más grandes (Naika, 2005).

La flor es bisexual, regular y de 1.5-2 cm de diámetro. El tubo del cáliz es corto y peludo, los sépalos son persistentes. Por lo general, la flor tiene 6 pétalos de hasta 1 cm de longitud, color amarillo cuando madura, y 6 estambres, y anteras con de color amarillo brillante en el contorno. El estilo tiene una punta estéril alargada. El ovario es superior y con 2-9 compartimientos. Las flores principalmente se autopolinizan, pero en parte también presentan polinización cruzada. Las abejas y los abejorros son los polinizadores más importantes. Las flores se disponen en inflorescencias de 6 a 12 flores con peciolo de 3-6 cm de longitud. Crecen frente a frente o entre las hojas (Naika, 2005).

El fruto es una baya carnosa, globular a oblata en forma y de 2-15 cm de diámetro. La fruta inmadura es verde y con tricomas. Los frutos maduros varían de amarillo, naranja a rojo. Por lo general es redondo, liso o surcado (Naika, 2005).

Las semillas son numerosas, tienen vellosidades, de color marrón claro con 3-5 mm de largo y 2-4 mm de ancho. El embrión está enrollado en el endospermo. El peso aproximado de 1000 semillas es de 2.5–3.5 g (Naika, 2005).

### 2.1.5. Requerimientos térmicos del tomate

El cultivo se puede sembrar en diferentes condiciones, pero las más adecuadas son altitudes hasta de 1800 m, con baja humedad y alta luminosidad. En regiones con altitudes de 500-900 m, la planta de tomate puede ser cultivada todo el año. En altitudes menores de 300 m se cultiva en verano (Fontes y Silva, 2002). Entre los diversos factores climáticos, la temperatura es primordial. La temperatura óptima es entre 18 y 28 °C porque se presenta mayor tasa de asimilación neta, es decir, mayor eficiencia de crecimiento (Jones *et al.*, 1991).

La temperatura es un factor principal que afecta la tasa de desarrollo de la planta (Hatfield y Prueger, 2015). Su efecto sobre las plantas varía con las especies, las variedades, el estado de desarrollo, las condiciones climáticas y el estado fitosanitario (Bastida-Tapia, 2006). La temperatura afecta la fotosíntesis, la respiración, las actividades enzimáticas, la división y el crecimiento de las células, la capacidad de absorción de las raíces y la disponibilidad de nutrientes (Gil-Vázquez *et al.*, 2003). En tomate, la temperatura ideal durante la germinación es de 16-29 °C (Jones *et al.*, 1991); la temperatura menor de 5 °C y mayor de 40 °C inhibe la germinación. La temperatura óptima para el crecimiento del tomate es de 22±7 °C (Bastida-Tapia, 2006); mientras que para el desarrollo del fruto, el intervalo óptimo de temperatura es de 18 a 22 °C (Leopold y Scott, 1952). Para el cuajado del fruto la temperatura óptima es de 24 °C durante el día y 14-17 °C en la noche. Las altas y bajas temperaturas presentan un efecto negativo sobre la síntesis de carotenoides en el fruto; el intervalo óptimo para la formación de licopeno se encuentra entre 10 y 30 °C (Vogele, 1937; Went *et al.*, 1942; Rosales, 2008).

La planta detiene su crecimiento entre los 10 y 12 °C y se hiela a -2 °C. Las temperaturas menores a 6 °C pueden ser mortales para la planta. Sin embargo, existen genotipos silvestres de tomate que pueden soportar bien temperaturas menores a las anteriormente citadas (Wolf *et al.*, 1986).

Los cultivos solanáceos suculentos como papa, tomate y chile son generalmente más vulnerables a las heladas y al daño por frío. Los genotipos cuentan con cera superficial, pelo epidérmico denso, escamas protectoras y otras características que reducen el daño por heladas (Nagarajan y Nagarajan, 2010).

## 2.2. TOMATES NATIVOS DE MÉXICO

La diversidad de tomate tiene una gran importancia, ya que como mencionan Tucker *et al.* (2007), la comunidad del tomate tiene un excelente paquete de recursos genéticos, contando con una extensa variación que todavía está presente y se encuentra en forma aprovechable en las especies silvestres.

Además de las reservas del germoplasma mejorado, una fuente importante de recursos genéticos se encuentra en poblaciones nativas. Estas poblaciones han sido sometidas a un largo proceso de modificación genética por la interacción directa con factores bióticos (plagas, enfermedades y malezas), abióticos (salinidad, sequía y otros) y humanos (cultivo, manejo y uso). Esta condición les ha permitido jugar un papel importante en la producción agrícola, particularmente en ambientes marginales, donde los cultivares mejorados pierden sus ventajas competitivas (Camacho-Villa *et al.*, 2006).

La diversidad encontrada en las poblaciones nativas probablemente se deba a la naturaleza del proceso de selección por parte de los agricultores tradicionales, principalmente mediante selección masal, que está enfocada a la búsqueda de adaptación a ambientes locales, físicos, sociales y culturales (Cleveland *et al.*, 1994). Las numerosas poblaciones criollas, aunque son de uso local o regional, son muy apreciadas por su mayor calidad organoléptica en relación con frutos de híbridos modernos de tomate (Parisi *et al.*, 2008).

En México la especie *S. lycopersicum*, incluyendo a la variedad *cerasiforme*, es la única encontrada, en la que existe una amplia diversidad de formas silvestres y cultivadas. Las formas silvestre y cultivada de esta especie son encontradas en lugares donde la temperatura y la disponibilidad de agua son favorables para su desarrollo. Además, se encuentran muchas formas transicionales entre dicha especie y la variedad *cerasiforme*, así como también dentro de los mismos tipos cultivados (Jenkins, 1948).

## 2.3. TEMPERATURAS BAJAS Y HELADAS

### 2.3.1. Definición de temperatura baja

La temperatura es una indicación del contenido de energía térmica de la materia. El contenido de energía térmica de la planta afecta muchos procesos fisiológicos, y la medición y control de la temperatura son fundamentales en todos los estudios biológicos (Hicklenton y Heins, 1997). La temperatura es tan importante que determina la adaptación de las especies a diferentes lugares dado que altera diversas funciones vitales. Entre los procesos afectados están la velocidad de las reacciones químicas, los cambios de estado del agua (hielo-líquido-vapor), cambios en la estructura y actividad de las macro moléculas, las funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática (Fernández y Johnston, 2006).

La temperatura baja (TB) o estrés por frío es otro factor ambiental importante que a menudo afecta el crecimiento de las plantas y la productividad de los cultivos y que provoca pérdidas sustanciales en los cultivos (Xin y Browse, 2000; Sanghera *et al.*, 2011). El estrés por frío se puede clasificar como baja temperatura ( $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y temperaturas de congelación ( $<0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Las plantas de clima templado han desarrollado un repertorio de mecanismos adaptativos, como latencia de la semilla y de los brotes, sensibilidad al fotoperiodo, vernalización, superenfriamiento (prevención de la formación de hielo en las células del parénquima hasta la temperatura homogénea de nucleación del hielo,  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). En la aclimatación al frío, las plantas adquieren tolerancia a la congelación por exposición previa a temperaturas subóptimas, bajas y superiores a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Chinnusamy *et al.*, 2010). Tanto las temperaturas bajas como las de congelación se denominan conjuntamente baja o fría: los daños causados por el estrés por frío pueden ir desde lesiones por baja temperatura y lesiones por congelamiento, hasta asfixia y muerte de la planta (Sanghera *et al.*, 2011).

Las heladas son fenómenos meteorológicos que suceden cuando la temperatura de la masa de aire más próxima al suelo desciende por debajo de los  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las heladas por radiación se presentan particularmente en las noches de invierno por una fuerte pérdida radiativa, y suelen acompañarse de una inversión térmica junto al suelo, donde se presentan los valores mínimos, de temperaturas que puede descender a los  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  o aún más. Desde el punto de vista agroclimático, es importante considerar a dicho fenómeno, dados sus efectos en el sector agrícola (Engelbert, 1997).

### **2.3.2. Sensibilidad de las plantas al frío**

Las plantas se agrupan en cuatro categorías de sensibilidad a la congelación: (1) frágiles; (2) ligeramente resistentes; (3) moderadamente resistentes; y (4) muy resistentes (Levitt, 1980). Las plantas frágiles son aquellas que no han desarrollado la evitación de la congelación intracelular (i. e., muchas plantas tropicales). Las plantas ligeramente resistentes incluyen muchos de los árboles frutales subtropicales, árboles caducifolios, y cultivos hortícolas que son sensibles a la baja temperatura hasta los  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las plantas moderadamente resistentes incluyen aquellas que pueden acumular suficientes solutos para resistir el daño por temperaturas tan bajas como  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , principalmente evitando el daño por deshidratación, pero son menos capaces de tolerar temperaturas más bajas. Las plantas muy resistentes son capaces de evitar la congelación intracelular, así como el daño debido a la desecación de las células (Snyder y de Melo-Abreu, 2010). A pesar de que las categorías de sensibilidad a la congelación dan una información general sobre el frío que un órgano de una planta puede tolerar antes de que ocurra el daño por baja temperatura, el endurecimiento y el estadio fenológico son importantes (Snyder y de Melo-Abreu, 2010).

### **2.3.3. Clasificación de las heladas**

#### **a) Por su aspecto visual**

Atendiendo a la apariencia de los cultivos expuestos a las bajas temperaturas del aire se tienen dos tipos de heladas: la blanca y la negra. El contenido de humedad en las masas de aire determina estos tipos de heladas. La helada blanca se origina cuando estas masas de aire son húmedas; en cambio, cuando tienen poco contenido de vapor de agua, se forma la helada negra.

*Helada blanca.* Para que se presente esta helada es indispensable que el aire cercano al follaje y las flores tengan temperaturas iguales o menores que  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , de esta manera, el aire alcanza la temperatura del punto de rocío, ya que con ello existe condensación y de inmediato el vapor de agua del aire pasa al estado sólido para formar hielo. Este último forma capas de color blanco sobre la superficie de las plantas y en objetos expuestos; se observan principalmente en las mañanas despejadas y sin viento (Snyder y de Melo-Abreu, 2010).

*Helada negra.* Se desarrolla cuando el aire tiene poco vapor de agua (humedad baja) y la temperatura del punto de rocío es inferior a 0 °C; de modo que existe escasa condensación y nula formación de hielo sobre la planta. Sin embargo, los cultivos son dañados y al día siguiente las plantas presentan una coloración negruzca, por la congelación de la savia de las plantas o del agua de sus tejidos. Este tipo de helada ocurre al congelarse el agua, incrementar su volumen, que deriva en el rompimiento y quemaduras en el follaje. Estas heladas causan daños más severos que las blancas. Si la temperatura del punto de rocío está por debajo del punto de congelación (menor que 0 °C), el vapor de agua que contiene el aire cambia directamente a hielo sin pasar por el estado líquido, presentándose el proceso llamado sublimación regresiva o inversa (Snyder y de Melo-Abreu, 2010).

#### **b) Por la época en que ocurren**

De acuerdo con la estación del año en que se presentan, se tienen tres clases de heladas:

*Heladas primaverales.* Este tipo de helada afecta principalmente a los cultivos de ciclo anual (como el maíz, tomate), cuando se encuentran en la etapa de brotación de ramas o con pocos días de nacimiento.

*Heladas otoñales.* También llamadas heladas tempranas, son perjudiciales para los cultivos porque pueden interrumpir bruscamente el proceso de formación de botones y flores y la maduración de frutos, y por tanto la reducción de la producción agrícola. Se forman por la llegada de las primeras masas de aire frío sobre el país provenientes del Polo Norte, durante los meses de septiembre y octubre.

*Heladas invernales.* Se forman durante el invierno si la temperatura ambiente disminuye notablemente. Estas heladas afectan principalmente a los árboles perennes con frutos y especies forestales, especialmente cuando se hace más intenso el frío. Ellas ocurren cuando las plantas se encuentran en periodo de reposo, lapso en el que las plantas disponen de mayores posibilidades para soportar bajas temperaturas (Matías *et al.*, 2014).

### **c) Por su origen climatológico**

*Heladas por radiación.* Son el resultado de la intensa radiación de onda larga, que provoca la baja temperatura de la superficie de la tierra debido a la pérdida de energía durante las noches tranquilas y claras. Estas heladas tienen como característica una inversión de temperatura, donde la temperatura se incrementa con la altura, y a unos 15 metros sobre el suelo suele ser superior en 4-5 °C respecto a la temperatura superficial (Dalezios, 2017). Los lugares más propensos a la formación de heladas por radiación son los valles, las cuencas y las hondonadas próximas a las montañas. Ello se debe a la acumulación del aire frío que desciende durante la noche. El aire frío llega al fondo del valle, mientras que el aire caliente se eleva. Esta situación favorece la inversión térmica (Dalezios, 2017).

*Helada por advección.* Esta clase de heladas se forma cuando llegan grandes masas de aire frío de origen continental a una región hasta de 100 km<sup>2</sup>, ubicada en las partes bajas de las montañas, en las cañadas o en valles. Se presentan indistintamente en el día o noche. Estas heladas van acompañadas de vientos moderados a fuertes (velocidades mayores de 15 km/h) y durante ellas no existe inversión térmica. Los daños en los cultivos se deben al continuo movimiento de aire frío sobre ellos, por lo que es muy difícil protegerlos contra las heladas (Matías *et al.*, 2014).

*Helada por evaporación.* Las heladas causadas por evaporación se originan debido a los vientos secos sobre una superficie húmeda, donde la temperatura del viento está por encima de la temperatura de congelación, pero la baja temperatura por debajo de la congelación se produce debido a la pérdida de calor latente (Mendoza, 1979).

#### **2.3.4. Elementos meteorológicos que afectan la formación de heladas**

El estado de la atmósfera se manifiesta a través de elementos del tiempo, como son temperatura, precipitación, humedad, dirección y velocidad del viento, presión atmosférica, nubosidad, radiación solar y visibilidad. Estos varían de un lugar a otro y a lo largo del tiempo. Los principales elementos del tiempo que influyen en la formación de las heladas son viento, nubosidad, humedad atmosférica y radiación solar (Matías, Fuentes y García, 2014).

*Viento:* es fundamental para que se desarrolle una helada, pues cuando hay corrientes de aire se mezcla el aire frío, que se encuentra cercano al suelo, con el más caliente que está en niveles superiores, lo que hace más difícil el desarrollo de una helada por radiación. Por tanto, una de las condiciones que favorece la ocurrencia de heladas es la ausencia de viento. La temperatura del aire disminuye conforme aumenta su distancia con la superficie del suelo. Sin embargo, cuando existe una inversión térmica la temperatura es mayor conforme aumenta la elevación. Diversas condiciones meteorológicas producen la inversión térmica; cuando presenta esta, las capas de aire son arrastradas por otras corrientes descendentes más frías. Este fenómeno se manifiesta en los valles, principalmente en invierno y está asociado con los cielos despejados y temperaturas bajas cercanas a la superficie de la tierra.

*Nubosidad:* las nubes son extensos conjuntos de pequeñas gotas de agua y/o cristales de hielo suspendidos en el aire. Se forman cuando el vapor de agua presente en el aire llega a los niveles altos de la atmósfera y se condensa porque la temperatura es más baja. Cuando el cielo está cubierto por nubes, estas disminuyen la pérdida de calor del suelo por radiación hacia la atmósfera y devuelven parte de ese calor a la tierra. Para que ello ocurra, la temperatura del aire en movimiento debe ser mayor a la del punto de rocío (la temperatura a la cual el aire no admite más humedad). Cuando sigue descendiendo la temperatura puede llegar a los 0 °C y el vapor de agua que contiene produce una capa delgada de hielo en la superficie de la tierra, que se conoce como escarcha blanca. Si en la noche el cielo está despejado, la pérdida de calor desde la superficie de la tierra es continua. Así disminuye el calor de la tierra y con ello se favorece la ocurrencia de las heladas por radiación.

*Humedad atmosférica:* cuando disminuye la temperatura a los 0 °C o aún más, y la velocidad del viento es baja, y el vapor de agua contenido en el aire, se condensa. Si la humedad es abundante, esta produce una nevada y cuando tiene poco contenido de humedad, se forma la helada. Una alta humedad atmosférica reduce la posibilidad de ocurrencia de heladas. Cuando se presenta una helada, sobre los cuerpos de agua en objetos del terreno se pueden formar varias capas de hielo.

*Radiación solar:* la fuente principal de la energía que recibe la atmósfera terrestre es el sol. En el interior del sol ocurre la fusión nuclear: dos núcleos de hidrógeno se fusionan y dan origen a uno de helio y se produce una pérdida de masa que se transforma en energía. Esta energía del sol se transfiere al exterior como ondas electromagnéticas (la radiación solar). Una cantidad de radiación

solar es absorbida por la superficie de la tierra y otra es devuelta desde su superficie a la atmósfera (radiación reflejada). Durante el día, el suelo retiene el calor y durante la noche lo pierde; estos procesos dependen de la nubosidad y viento que existan sobre ciertas regiones del planeta. Cuando los días son más cortos y las noches más largas, aumenta la ocurrencia de heladas, pues por ello existe menor acumulación de calor en el suelo y mayor tiempo para que el suelo irradie la energía a la atmósfera (Snyder y de Melo-Abreu, 2010).

#### **2.4. TOMATES SILVESTRES TOLERANTES A TEMPERATURAS BAJAS**

El tomate es típico de un gran grupo de plantas cultivadas, cuya variación genética se ha visto gravemente agotada durante la domesticación y la generación de nuevas variedades. Estas observaciones se aplican a los cultivos en gran parte auto polinizados fuera de su área natural (Rick, 1986). El desgaste extremo de la variabilidad genética, tal como se ha analizado por las aloenzimas, se ha encontrado en los cultivares más antiguos de Europa y Norteamérica. Por otro lado, se encuentran niveles más altos de variabilidad genética en los cultivares primitivos en las regiones de origen de *Lycopersicon* y mucho más en las especies silvestres (Rick y Fobes, 1975; Rick, 1976).

Se ha demostrado que variantes existentes de *S. hirsutum* en altitudes de 3000-3200 m poseen tolerancia a la baja temperatura, y sirven como fuente de germoplasma para diversos programas de mejoramiento. Sus respuestas en diferentes etapas de crecimiento no están necesariamente correlacionadas; ya que algunas accesiones que funcionan bien en una etapa pueden no hacerlo en otra (Herner y Kamps, 1983; Kemp, 1968).

Posiblemente especies como *S. lycopersicoides*, *S. rickii* y *S. chilense* crecen en sitios aún más fríos que *S. hirsutum*, y de hecho, *S. lycopersicoides* ha demostrado mayor tolerancia a baja temperatura (Rick, 1986).

Los genotipos de tomate con tolerancia al frío pueden brindar una serie de ventajas para el cultivo. Por ejemplo, mayor rapidez de crecimiento, lo que se podría convertir en mayor precocidad, adaptabilidad, uso eficiente del agua, y mejor rendimiento y calidad en comparación con variedades sin resistencia al frío (Foolad y Lin, 2001).

## 2.5. EFECTOS DE LA TEMPERATURA BAJA EN LAS PLANTAS

Los efectos de las temperaturas bajas (TB) varían de una especie a otra. El tiempo de exposición y la temperatura a la que es expuesta la especie influyen de manera importante en la fisiología de cualquier planta. Sin embargo, la aparición de síntomas de lesión depende de la sensibilidad de una planta al estrés por frío y varía de planta a planta. La lesión inducida por el estrés por frío en las plantas puede aparecer después de 48 a 72 h de exposición al estrés (Shilpi y Narendra, 2005).

Chanta *et al.* (2015) mencionan que cuando las plantas que crecen a temperaturas relativamente cálidas (25 a 35 °C), se exponen a temperatura baja de 10-15 °C, ocurre daño por frío: el crecimiento se desacelera, aparece decoloración o lesiones en las hojas y el follaje. Si la temperatura de las raíces baja, las plantas pueden marchitarse.

Según Skog (1998), el potencial de los síntomas de daño por frío pueden ser lesiones superficiales, pérdida de agua, desecación o arrugamiento, decoloración interna, descomposición del tejido, interrupción del fruto para madurar, maduración irregular o lenta, senescencia acelerada y la producción de etileno, acortamiento del almacenamiento o vida de anaquel, cambios en la composición, pérdida de crecimiento o capacidad de brotación, marchitamiento y el aumento en la pudrición debido a la fuga de los metabolitos de la planta, que fomentan el crecimiento de microorganismos, especialmente hongos.

Un efecto característico de las temperaturas bajas en las plantas sensibles es la desaceleración del crecimiento. El efecto es más pronunciado en las especies y variedades sensibles en comparación con las especies tolerantes (Ting *et al.*, 1991; Rab y Saltveit, 1996a; Venema *et al.*, 1999). Además, se presenta un retraso en el desarrollo y se alarga la temporada del cultivo (Skrudlik y Koscielniak, 1996). Al mismo tiempo, se retrasa la diferenciación apical, se reduce el número de órganos de la planta, cambia la estructura de las raíces, flores y frutos y se reduce el llenado de las semillas (Buis *et al.*, 1988, Barlow y Adam, 1989; Rab y Saltveit, 1996b; Skrudlik y Koscielniak, 1996; Lejeune y Bernier, 1996).

Las TB causan cambios citofisiológicos en las plantas sensibles que se manifiestan como múltiples desorganizaciones ultraestructurales de las células (Kratsch y Wise, 2000). El efecto dañino de frío es a menudo la destrucción de las membranas de las células, lo que lleva a la pérdida de la

compartimentación celular (Gutiérrez *et al.*, 1992). Se ha demostrado hinchazón y ruptura del plasmalema, destrucción del retículo endoplasmático y las vesículas de las membranas y cambios en el aparato de Golgi (Tao *et al.*, 1991; Marangoni *et al.*, 1990; Yoshida *et al.*, 1989). Tras la baja temperatura, la mayor parte de cambios notables se muestran en la estructura de las mitocondrias su hinchazón y degeneración (Gutiérrez *et al.*, 1992), el acortamiento de crestas y una disminución de su número, que debería conducir a una reducción de la fosforilación oxidativa (Desantis *et al.*, 1999; Yin *et al.*, 2009). Las temperaturas frías también perturban la formación de plastidios, causan hinchazón y cambios estructurales en los cloroplastos, destrucción de las membranas de los cloroplastos, desintegración de grana y la reducción del número de ribosomas (Ikeda y Toyama, 1987).

### **2.5.1. Efectos fisiológicos**

#### **a) Fotosíntesis, intercambio de gases y fluorescencia de clorofila *a***

La fotosíntesis se reduce dramáticamente en toda la planta después de su exposición a temperaturas nocturnas frías, es decir, de 1 a 12 °C por un periodo de 12 a 24 horas (Bjorn *et al.*, 1981). La tasa de fotosíntesis se reduce fuertemente por debajo de 18 °C (Ramalho *et al.*, 2003), mientras que, temperaturas alrededor de 4 °C reducen drásticamente el rendimiento fotosintético (Silva *et al.*, 2004). La temperatura baja (1-10 °C) afecta directamente el sistema fotosintético de las plantas tropicales y subtropicales. Sus efectos varían dependiendo de si se presenta en luz u oscuridad. La respuesta de la fotosíntesis a baja temperatura en luz ha sido ampliamente estudiada utilizando diferentes técnicas (Brüggemann *et al.*, 1992; Hu *et al.*, 2008), y sus efectos son típicamente mayores y, por lo tanto, probablemente enmascara los efectos inducidos por las bajas temperaturas solas.

Las TB pueden alterar los organelos clave de la fotosíntesis, incluyendo cloroplasto y membranas tilacoidales, provoca aumento de volumen de plastidios y laminillas tilacoidales, vesiculación de los tilacoides, acumulación de gotas de lípidos y, en última instancia, desorganización completa del plastidio (Kratsch y Wise, 2000; Ishikawa, 1996).

La TB también interrumpe los sistemas incluyendo el transporte de electrones, el metabolismo del ciclo del carbono y conductancia estomática (gs). En medio del aparato fotosintético, el PSII es el principalmente dañado por el estrés a temperaturas bajas. Además, la TB reduce la actividad enzimática de asimilación del carbono y estromal; tal es el caso de la ATP sintasa, enzima del Ciclo de Calvin, y restringe la regeneración de Rubisco y limita la fotofosforilación (Allen y Ort, 2001). Otro impacto de la exposición a temperaturas bajas es la disminución de la exportación de carbono de las hojas, lo que resulta en la acumulación de carbohidratos solubles (Strand *et al.*, 2003).

Las especies tolerantes al frío como trigo y espinaca tienen la capacidad de mantener la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> alta, mientras que las especies sensibles al frío no tienen esta capacidad (Yamori *et al.*, 2010). Gusta y Wisniewski (2013) indicaron que la energía es un factor esencial para impulsar la aclimatación y que los azúcares tienen efectos importantes sobre la tolerancia a la congelación de las plantas, además de la capacidad de recuperación de la fotosíntesis bajo condiciones de estrés. Dahal *et al.* (2012) reportaron una correlación significativa entre la acumulación de azúcares y el desarrollo de la tolerancia al frío en las plantas. El momento de la aclimatación y desactivación al frío, el inicio y cancelación de la latencia, así como el momento de la producción de los brotes, desempeñan un papel integral en el ciclo de vida de las plantas leñosas y su adaptación al ambiente externo (Ríos *et al.*, 2014; Wisniewski *et al.*, 2015). Varios cambios fisiológicos y biológicos se producen durante la aclimatación al frío, comenzando con una reducción de la tasa de crecimiento y el contenido de agua de diversos tejidos vegetales (Levitt, 1980). A través del proceso de aclimatación al frío, la reprogramación de la expresión génica y diversas modificaciones en el metabolismo tienen lugar (Chinnusamy *et al.*, 2010). La aclimatación también induce un aumento en la producción de antioxidantes, ácido abscísico (ABA) y osmolitos compatibles tales como azúcares solubles y prolina (Lynch y Steponkus 1987; Koster y Lynch 1992; Chen y otros 1993; Kishitani *et al.*, 1994; Uemura y Steponkus 1994; Murelli *et al.*, 1995; Nomura *et al.*, 1995; Dörffling *et al.*, 1997; Tao *et al.*, 1998).

Sin embargo, el aumento de la tolerancia al frío obtenido por aclimatación no es estático. Depende de la estación y se pierde rápidamente cuando las plantas se exponen a temperaturas cálidas (desaclimatación). Wanner y Junttila (1999) también reportaron que la aclimatación al frío es un proceso que requiere actividad fotosintética. La luz juega un papel importante en la aclimatación

al frío y se requiere intensidad lumínica moderada a alta para un proceso suficiente de aclimatación al frío. Ivanov *et al.* (2012) reportaron que la intensidad de la luz y la temperatura ambiente podrían integrarse en la alternancia de los electrones en los cloroplastos que induce a la vía de transducción de señales, y el balance energético en los cloroplastos podría desempeñar un papel en la detección de la temperatura ambiente. Sin embargo, una señal en el plastidio contribuye al ritmo de la expresión de factores de transcripción (CBF: C-repeat Binding Factor) y paralelamente la expresión de genes de respuesta al frío (COR: Cold Responsive) (Norén *et al.*, 2016).

El proceso fotosintético se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila a, b y carotenoides) de los complejos antena de la membrana fotosintética. Parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer trabajo químicamente útil, y la otra parte es disipada principalmente por calor y en menor grado reemitida como energía luminosa de menor energía (fluorescencia). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento de uno de ellos, resultara en la disminución de los otros dos. Por lo tanto, a través de la medición de la fluorescencia de la clorofila a se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y disipación térmica de la energía absorbida (Maxwell y Johnson, 2000).

## **b) Membranas celulares en las plantas**

El daño de membrana en las células vegetales se sabe que ocurre en virtud de diversos tipos de estrés ambientales. Los valores de fuga de solutos han sido utilizados para monitorear los daños resultantes de la congelación, refrigeración, desecación, choque osmótico y tratamiento de tolueno (Siminovitch *et al.*, 1964). Mediante el estudio de la dinámica de la pérdida de solutos, se puede estimar no sólo la extensión del daño, sino también el momento de daño y reparación, así como las condiciones que causaron el daño. En el caso de daño por frío, se ha supuesto que la temperatura baja *per se* es una condición de estrés que provoca fugas (Willing y Leopold, 1983).

La permeabilidad de la membrana aumenta la fuga de iones, permite la entrada de aniones y cationes indeseables en la célula, obstruye el intercambio de iones esenciales, dificulta la ósmosis y los procesos de difusión, entre otros. Todos los fenómenos son responsables de interrumpir la homeostasis celular (Farooq *et al.*, 2009). La conversión del agua celular en hielo es una razón importante para la rotura celular por estrés por frío. Al principio, la formación de hielo ocurre en

el apoplasto con baja concentración de solutos, esto crea un diferencial de potencial hídrico entre citoplasma y el apoplasto y resulta en la migración de agua citoplasmática o citosólica no congelada al apoplasto. Esta agua da una presión que es la causa de la ampliación de los cristales de hielo existente y la presión hacia la pared y la membrana celulares que conduce a la ruptura celular (Mckersie y Bowley, 1997; Olien y Smith, 1997).

### **c) Contenido relativo de agua (CRA)**

La mayoría de las plantas herbáceas poseen en su composición del 80 al 90% de agua en peso fresco. El agua realiza las siguientes funciones: a) responsable del mantenimiento de la turgencia en la planta, permitiendo que las partes verdes permanezcan sin marchitarse; b) es el vehículo de que se valen los solutos celulares para moverse de una parte a otra de la planta, ya que es un excelente disolvente e interviene en reacciones como la fotosíntesis; y c) como regulador térmico, interviene en la transpiración, frenando el calentamiento excesivo de los órganos vegetales cuando están expuestos a la radiación solar. Para saber el estado hídrico de las plantas, es decir el grado de marchitez, o bien la turgencia de un tejido vegetal, se recurre al parámetro CRA (Contenido Relativo de Agua) referido a la máxima turgencia (Vela, 1998).

El contenido de agua relativo de la hoja se usa comúnmente para describir el estado del agua de la planta en un momento dado (Stocker, 1929; Barrs, 1968; Kramer, 1969). Es una variable sensible, que responde rápidamente a condiciones ambientales tales como temperatura, luz, humedad y suministro de agua (Slatyer, 1962). El CRA se correlaciona estrechamente con las actividades fisiológicas de una planta y del estado del agua en el suelo (Munné-Bosch y Peñuelas, 2004; Ozkur *et al.*, 2009) y es un rasgo confiable.

Existen importantes diferencias entre especies en el grado de tolerancia a los distintos ambientes, es difícil establecer parámetros objetivos que definan al estrés y su magnitud en forma general. Sin embargo, a pesar de las limitaciones señaladas (Schulte, 1992), es claro que el potencial hídrico y el CRA son las formas más objetivas de cuantificar el estatus hídrico de la planta (Hsiao, 1973).

Sólo con el fin de poder comparar diferentes estudios, Hsiao (1973) definió tres grados de estrés:

- Estrés leve: disminución del CRA en un 8-10 % respecto a plantas bien regadas bajo leve demanda evaporativa.
- Estrés moderado: disminución del CRA entre un 10 y un 20%.
- Estrés severo: disminución del CRA mayor a un 20%.

## 2.5.2. Efectos en variables bioquímicas

### a) Ácido salicílico

El ácido salicílico (SA) es un compuesto fenólico de siete carbonos que está presente naturalmente y es una molécula de señalización sintetizada endógenamente en plantas.

La vía del ácido shikímico y la vía del ácido malónico son las dos principales vías que se sabe están implicadas en la síntesis de compuestos fenólicos de las plantas. La vía del ácido shikímico participa en la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos vegetales. Simplemente convierte los precursores de carbohidratos simples derivados de la glucólisis y la vía de las pentosas fosfato a los aminoácidos aromáticos incluyendo el precursor de SA, fenilalanina (Herrmann y Weaver, 1999). La vía más común en las plantas para la síntesis de SA es la vía de fenilalanina. El ácido cinámico se produce a partir de fenilalanina por la acción de la enzima fenilalanina amoniolasa (PAL). El ácido cinámico es hidroxilado para formar ácido cumárico seguido de la oxidación de la cadena lateral, y además hidroxilado forma el ácido salicílico. En la tercera vía, la biosíntesis de SA en plantas ha sido reportada de ácido shikímico, a través del ácido coránico y ácido cumárico (Horváth *et al.*, 2007; An y Mou, 2011).

El ácido salicílico se encuentra naturalmente en las plantas, y desempeña un papel importante en el crecimiento y tolerancia al estrés (Noreen *et al.*, 2009; Purcarea y Cachiță-Cosma, 2010). Participa también en las señales internas que regulan la respuesta defensiva de las plantas frente a plagas y patógenos (Girling *et al.*, 2008) y a factores abióticos (Khan *et al.*, 2010; Ogawa *et al.*, 2010). El SA se acumula en los tejidos de las plantas bajo el impacto de factores abióticos desfavorables, contribuyendo al aumento de la resistencia de las plantas a la salinización (Ding *et al.*, 2002). Existen pruebas de que esta hormona regula procesos tales como germinación de la

semilla, crecimiento vegetativo, fotosíntesis, respiración, termogénesis, formación de flores, producción de semillas, senescencia y un tipo de muerte celular que no está asociado con la respuesta de hipersensibilidad. Además, el SA puede desempeñar un papel en el mantenimiento de la homeostasis celular de las reacciones redox a través de la regulación de la actividad enzimática antioxidante y la inducción de la vía respiratoria alternativa (Rivas-San Vicente y Plasencia, 2011).

### **2.5.3. Mecanismos para minimizar los daños por bajas temperaturas en plantas**

Las temperaturas bajas son uno de los estreses abióticos más dañinos que afectan a las plantas. Las plantas se han adaptado a las variaciones de la temperatura mediante un ajuste de su metabolismo durante otoño, aumentando su contenido de una gama de compuestos crioprotectores para maximizar su tolerancia al frío (Ramakrishna y Aswathanarayana, 2011). En el proceso de criopreservación, los cambios ambientales, incluyendo las lesiones osmóticas, la desecación y la temperatura baja pueden imponer una serie de resistencias en las plantas. Durante el invierno, el metabolismo de las plantas se redirige hacia la síntesis de moléculas crioprotectoras tales como: azúcares alcohol (sorbitol, ribitol, inositol) azúcares solubles (sacarosa, rafinosa, estaquiosa, verbascosa), y compuestos nitrogenados de bajo peso molecular (prolina, glicina, betaína) (Janska *et al.*, 2010). Las temperaturas bajas aumentan la producción de compuestos fenólicos y su posterior incorporación en la pared celular, ya sea como suberina o lignina (Griffith y Yaish, 2004).

## **2.6. CUANTIFICACIÓN DEL DAÑO POR BAJAS TEMPERATURAS**

No hay una forma universal de caracterizar el grado de estrés térmico que sufre una planta (Tambussi, 2004). Sin embargo, una de los principales centros de atención en la cuantificación del estrés por frío son las membranas celulares. Una forma de evaluar el grado de daño es la medición de la liberación de iones mediante conductividad eléctrica de los tejidos o la fuga de varios compuestos de las células (Lee *et al.*, 1997; Sutka, 2003). Otras formas de uso bastante extendido son la estimación de algún indicador de daño (pérdida de clorofila, necrosis, muerte de plantas) (Janowiak y Dörffling, 1996).

En los estudios de fotoinhibición asociada a las temperaturas bajas, actualmente la forma más utilizada para cuantificar el grado de daño en el aparato fotosintético es la medición del rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm en hojas aclimatadas tanto a oscuridad como a luz) (Tsonev *et al.*, 2003).

La tolerancia al frío se determina exponiendo las plantas a una temperatura lo suficientemente baja como para causar daño y determinando ya sea la temperatura que causa la muerte del 50% de las plantas (LT<sub>50</sub>) o el porcentaje de plantas sobrevivientes. La comparación de la capacidad de las plantas para el rebrote después de un período de recuperación también son métodos ampliamente utilizados (Sutka, 2003).

## 2.7. LITERATURA CITADA

- Allen D. J. and D. R. Ort. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants. *Trends in Plant Science* 6:36-42.
- An C. and Z. Mou. 2011. Salicylic acid and its function in plant immunity. *Journal Integrative Plant Biology* 53:412–428.
- Bai Y. and P. Lindhout. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany* 100:1085-1094.
- Barlow P. W. and J. S. Adam. 1989. Anatomical disturbances in primary roots of *Zea mays* following periods of cool temperature. *Environmental and Experimental Botany* 29(3):323–336.
- Barrs H. D. 1968. Determination of water deficits in plant tissue. *In*: Kozlowski T. T. (ed). *Water Deficits and Plant Growth*. Academic Press, New York. pp. 235–368.
- Bastida-Tapia A. 2006. Manejo y operación de invernaderos agrícolas. Universidad Autónoma Chapingo, México. 238 p.

- Bergougnoux V. 2014. The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology Advances* 32(1):170-189.
- Bjorn M., R. O. Donald, and J. S. Boyer. 1981. Impairment of photosynthesis by chilling-temperatures in tomato. *Plant Physiology* 68:329-334.
- Brüggemann W., T. A. van-der-Kooij, and P. R. van-Hasselt. 1992. Long-term chilling of young tomato plants under low light and subsequent recovery. *Planta* 186:179–187.
- Buis R., H. Barthou, and B. Roux. 1988. Effect of temporary chilling on foliar and caulinary growth and productivity in soybean (*Glycine max*). *Annals of Botany* 61(6):705–715.
- Camacho-Villa T. C., N. Maxted, M. Scholten, and B. Ford-Lloyd. 2006. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources* 3:373-384.
- Chanta A. J., E. W. Gonzáles y B. D. Sevilla. 2015. Fisiología de las plantas a bajas temperaturas. Tesis profesional. Lambayeque. Perú. 25 p.
- Chen H. H., P. H. Li and M. L. Brenner. 1993. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant Physiology* 71:362–365.
- Chinnusamy V., J. K. Zhu and R. Sunkar. 2010. Gene regulation during cold stress acclimation in plants. *Methods in Molecular Biology* 639:39–55.
- Cleveland D. A., D. Soleri and S. E. Smith. 1994. Do folk crop varieties have a role in sustainable agriculture? *BioScience* 44(11):740-751.
- Dahal K., K. Kane, W. Gadapati, E. Webb, L. V. Savitch, J. Singh, P. Sharma, F. Sarhan, F. J. Longstaffe and B. Grodzinski. 2012. The effects of phenotypic plasticity on photosynthetic performance in winter rye, winter wheat and *Brassica napus*. *Plant Physiology* 144:169–188.
- Dalezios R. N. and T. N. Panagiotis. 2017. Frost and heatwaves. *In: Dalezios R. N. (ed). Environmental Hazards. Methodologies for risk assessment and management. IWA Publishing, London. UK. pp. 250-253.*

- Desantis A., P. Landi and G. Genchi. 1999. Changes of mitochondrial properties in maize seedlings associated with selection for germination at low temperature. Fatty acid composition, cytochrome C oxidase, and adenine-nucleotide translocase activities. *Plant Physiology* 119(2):743–754.
- Ding C. K., C. Y. Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2002. Jasmonate and salicylate induce expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895-901.
- Dörffling K., H. Dörffling, G. Lesselich, E. Luck, C. Zimmermann, G. Melz and H. U. Jürgens. 1997. Heritable improvement of frost tolerance in winter wheat by *in vitro*-selection of hydroxyproline-resistant proline overproducing mutants. *Euphytica* 93:1–10.
- Engelbert P. 1997. The complete weather resource. Vol. 2: Weather Phenomena UXL. 550 p.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2017. Cultivos y productos de ganadería. Disponible en: (<http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize>) (27 de julio de 2017).
- Farooq M. A., T. A. Wahid, D. J. Lee and K. H. M. Siddique. 2009. Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches. *Crop and Pasture Science* 60:501-516.
- Fernández G. y M. Johnston. 2006. Crecimiento y temperatura. *In* F. A. Squeo, L. Cardemil (Ed), Fisiología vegetal, Universidad de La Serena, La Serena, Chile, 100 p.
- Fontes P. C. R y D. J. H. Silva. 2002. Produção de tomate de mesa. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. Brasil. 195 p.
- Foolad M. R. and G. Y. Lin. 2001. Genetic analysis of cold tolerance during vegetative growth in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. *Euphytica* 122: 105-111.
- Gil-Vázquez I., F. Sánchez-del-Castillo, e I. Miranda-Velázquez. 2003. Producción de jitomate en hidroponía bajo invernadero: manual de manejo. Serie de Publicaciones Agribot. Chapingo, México. 90 p.

- Giordiano L. B. e J. B. C. Silva. 2000 Tomato para processamento industrial. Embrapa comunicação para transferencia de tecnología. Brasilia, DF. Brasil. 331 p.
- Girling R. D., R. Madison, M. Hassall, G. M. Poppy and J. G. Turner. 2008. Investigation into plant biochemical wound-responses pathways involved in the production of aphid-induced plant volatiles. *Journal of Experimental Botany* 59:3077-3085.
- Griffith M. and M. W. F. Yaish. 2004. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends Plant Science* 9:399-405.
- Gusta L.V. and M. Wisniewski. 2013. Understanding plant cold hardiness: an opinion. *Physiologia Plantarum* 147:4–14.
- Gutiérrez M., M. M. Sola, L. Pascual, M. I. Rodríguez-García and A. M. Vargas. 1992. Ultrastructural changes in cherimoya fruit injured by chilling. *Food Structure* 11(4):323–332.
- Hatfield J. L. and J. H. Prueger. 2015. Temperature extremes: effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes* 10:4-10.
- Herner R. C. and T. Kamps. 1983. Chilling tolerance of wild tomato species. Proc. 4th Tomato Qual. Workshop. University Florida. Vegetable Crops Research Report 1:26-37.
- Herrmann K. M. and L. M. Weaver. 1999. The shikimate pathway. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:473–503.
- Hicklenton P. R. and R. D. Heins. 1997. Temperature. *In*: R. W. Langhans, T. W. Tibbitts (Eds), Plant growth chamber handbook. North Central Regional Research Publication, United States of America, pp. 219-219.
- Horváth E., M. Pál, G. Szalai, E. Páldi and T. Janda. 2007. Exogenous 4- hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biology Plant* 51:480-487.
- Hsiao T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review Plant Physiology* 24:519-570.

- Hu W. H., X. S. Song, K. Shi, X. J. Xia, Y. H. Zhou and J. Q. Yu. 2008. Changes in electron transport, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase isoenzymes in chloroplasts and mitochondria of cucumber leaves as influenced by chilling. *Photosynthetica* 46:581–588.
- Ikeda T. and S. Toyama. 1987. Studies on ultrastructure and function of photosynthetic apparatus in rice cells. II. Effect of low temperature on early development of rice plastids. *Japanese Journal of Crop Science* 56(4):632–640.
- Ivanov A., D. Rosso, L. Savitch, P. Stachula, M. Rosembert, G. Oquist, V. Hurry and N. Hüner. 2012. Implications of alternative electron sinks in increased resistance of PSII and PSI photochemistry to high light stress in cold-acclimated *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research* 113:191–206.
- Janowiak F. and K. Dörffling. 1996. Chilling tolerance of 10 maize genotypes as related to chilling-induced changes in ACC and MACC contents. *Journal of Agronomy and Crop Science* 177(3):175–184.
- Janska A., P. Marsik, S. Zelenkova and J. Ovesna. 2010. Cold stress and acclimation-what is important for metabolic adjustment? *Biology Plant* 12:395-405.
- Jenkins J. A. 1948. The origin of the cultivated tomato. *Economic Botany* 2(4):379-392.
- Jones J. B., R. E. Stall and T. A. Zittler. 1991. *Compendium of tomato diseases*. APS Press, Saint Paul, Minnesota, USA. 100 p.
- Kemp G. A. 1968. Low-temperature growth response of the tomato. *Canadian Journal of Plant Science* 48:281-286.
- Khan N. A., S. Syeed, N. Masood, R. Nazar and N. Iqbal. 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology* 1(1): (doi:10.4081/pb.2010.e1).

- Kishitani S., K. Watanabe, S. Yasuda, K. Arakawa and T. Takabe. 1994. Accumulation of glycine betaine during cold acclimation and freezing tolerance in leaves of winter and spring barley plants. *Plant Cell & Environment* 17:89–95.
- Knapp S. 2002. *Solanum* section *Geminata*. *Flora Neotropica* monograph 84. The New York Botanical Garden Press. 404 p.
- Koster K. L. and D. V. Lynch. 1992. Solute acclimation and compartmentation during the cold-acclimation of Puma Rye. *Plant Physiology* 98:108–113.
- Kramer P. J. 1969. *Plant and Soil Water Relationships: A Modern Synthesis*. McGraw-Hill, New York. 482 p.
- Kratsch H. A. and R. R. Wise. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell & Environment* 23:337-350.
- Lee H. L., V. Padmanabhan and S. Whang. 1997. The bullwhip effect in supply chain. *Sloan Management Review* 38(3):93-102.
- Lejeune P. and G. Bernier. 1996. Effect of environment on the early steps of ear initiation in maize (*Zea mays* L.). *Plant, Cell & Environment* 19(2):217–224.
- Leopold A. C. and F. I. Scott. 1952. Physiological factors in tomato fruit-set. *American Journal of Botany* 39(5): 310-317.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses: Vol. 1. Chilling, freezing and high temperature stresses*. 2nd ed. Academic Press, New York, NY. 471 p.
- Lynch D. V. and P. L. Steponkus. 1987. Plasma-membrane lipid alternation associated with cold-acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* cv. Puma). *Plant Physiology* 83:761–767.
- Marangoni A. G., Z. Butuner, J. L. Smith and D. W. Stanley. 1990. Physical and biochemical changes in the microsomal membranes of tomato fruit associated with acclimation to chilling. *Journal of Plant Physiology* 135(6):653–661.

- Matías-Ramírez L. G., O. A. Fuentes-Mariles y F. García-Jiménez. 2014. Heladas. México, Centro Nacional de Prevención de Desastres. 39 p.
- Maxwell K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51:659-668.
- Mckersie B. D. and S. R. Bowley. 1997. Active oxygen and freezing tolerance in transgenic plants. *In: Li P. H, Chen T. H. H. (eds) Plant Cold Hardiness. Molecular Biology, Biochemistry and Physiology. Plenum Press: New York. pp. 203-214.*
- Mendoza G. J. 1979. Prácticas para evitar algunos efectos meteorológicos nocivos para la agricultura. Departamento de Irrigación, Chapingo. 40 p.
- Munné-Bosch S. and J. Peñuelas. 2004. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* 166(4):1105–1110.
- Murelli C., F. Rizza, F. M. Albini, A. Dulio, V. Terzi and L. Cattivelli. 1995. Metabolic changes associated with cold-acclimation in contrasting cultivars of barley. *Physiologia Plantarum* 94:87–93.
- Nagarajan S. and S. Nagarajan. 2010. Abiotic tolerance and crop improvement. *In: Pareek A., Sopory S. K., Bohnert H. J. and Govindjee (eds). Abiotic Stress Adaptation in Plants. Physiological, Molecular and Genomic Foundation. Springer. The Netherlands, USA. pp:1-11*
- Naika S., J. van-Lidt-de-Jeude, M. de Goffau, M. Hilmi and B. van-Dam. 2005. Cultivation of tomato: production, processing and marketing. Agromisa. Netherlands. 93 p.
- Nomura M., Y. Muramoto, S. Yasuda, T. Takabe and S. Kishitani. 1995. The acclimation of glycinebetaine during cold-acclimation early and late cultivars of barley. *Euphytica* 83:247–250.

- Noreen S., M. Ashraf, M. Hussain and A. Jamil. 2009. Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany* 41:473-479.
- Norén L., P. Kindgren, P. Stachula, M. Rühl, M. E. Eriksson, V. Hurry and Å. Strand. 2016. Circadian and plastid signaling pathways are integrated to ensure correct expression of the CBF and COR genes during photoperiodic growth. *Plant Physiology* 171:1392–1406.
- Ogawa T., T. Ara, K. Aoki, H. Suzuki and D. Shibata. 2010. Transient increase in salicylic acid and its glucose conjugates after wounding in *Arabidopsis* leaves. *Plant Biotechnology* 27:205-209.
- Olien C. R. and M. N. Smith. 1997. Ice adhesions in relation to freeze stress. *Plant Physiology* 60:499-503.
- Ozcur O., F. Ozdemir, M. Bor and I. Turkan. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environment and Experimental Botany* 66(3):487–492.
- Parisi M., B. D’Onofrio, A. Pentangelo, G. Villari and I. Giordano. 2008. Morphology, productivity and characterization of the traditional ecotype pomodoro di Sorrento originating from the Campania region, southern Italy. *Acta Horticulturae* 789:205-209.
- Peralta I. E. and D. M. Spooner. 2001. Granule-Bound Starch Synthase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* [Mill.] Wettst. subsection *Lycopersicon*). *American Journal Botany* 88:1888–1902.
- Peralta I. E. and D. M. Spooner. 2005. Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. sect. *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.). *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 104:227-257.
- Peralta I. E., D. M. Spooner and S. Knapp. 2008. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sections *Lycopersicoides*, *Juglandifolia*, *Lycopersicon*; Solanaceae). *Monographs in Systematic Botany* 84:1–186

- Peralta I. E., S. Knapp and D. M. Spooner. 2006. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. Feature article. Report of the Tomato Genetics Cooperative 56:6–12.
- Purcarea C. and D. Cachiță-Cosma. 2010. Studies regarding the effects of salicylic acid in maize (*Zea mays* L.) seedling under salt stress. Studia Universitatis “Vasile Goldiș”, Seria Științele Vieții 20:63-68.
- Rab A. and M. E. Saltveit. 1996a. Differential chilling sensitivity in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. Physiologia Plantarum 96(3):375–382.
- Rab A. and M. E. Saltveit. 1996b. Sensitivity of seedling radicles to chilling and heat shock-induced chilling tolerance. Journal of the American Society for Horticultural Science 121(4):711–715.
- Ramakrishna A. and R. Aswathanarayana. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signal Behavior 6(11):1720-1731.
- Ramvalho J. C., V. L. Quartin, E. Leitão, P. S. Campos, M. L. C. Carelli, J. I. Fahl and M. A. Nunes. 2003. Cold acclimation ability and photosynthesis among species of the tropical Coffee genus. Journal Plant Biology 5:631-641.
- Rick C. M. 1976. Natural variability in wild species of *Lycopersicon* and its bearing on tomato breeding. Genetica Agraria 30:249-259.
- Rick C. M. 1986. Germplasm resources in the wild tomato species. Acta Horticulturae 190:39-47.
- Rick C. M. and J. F. Fobes. 1975. Allozyme variation in the cultivated tomato and closely related species. Bulletin of the Torrey Botanical Club 102(6):376-384.
- Rick, C. M. 1978. The Tomato. Scientific American 239(2): 76-87.
- Ríos G., C. Leida, A. Conejero y M. L. Badenes. 2014. Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. Frontiers Plant Science 5:247. (doi:10.3389/fpls.2014.00247).
- Rivas-San-Vicente M. and J. Plasencia. 2011. Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany 62:3321–3338.

- Rosales V. M. A. 2008. Producción y calidad nutricional en frutos de tomate cherry cultivados en dos invernaderos mediterráneos experimentales: respuestas metabólicas y fisiológicas. Tesis doctoral. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Fisiología Vegetal. 212 p.
- Sanghera G. S., S. H. Wani, W. Hussain and N. B. Singh. 2011. Engineering cold stress tolerance in crop plants. *Current Genomics* 12:30-43.
- Schulte P. J. 1992. The units of currency for plant water status. *Plant, Cell & Environment* 15(1):7-10.
- Shilpi M. and T. Narendra. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.
- Shukla P., K. Bajpai, S. Tripathi, Kumar, Sunil and G. K. Gautam. 2013. A Review on the taxonomy, ethnobotany, chemistry and pharmacology of *Solanum lycopersicum* Linn. *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences* 8:521-527.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2017. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola (<http://www.siap.gob.mx>) (5 de septiembre de 2017).
- Silva E. A., F. M. Damatta, C. Ducatti, A. J. Regazzi and R. S. Barros. 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. *Field Crops Research* 89: 349–357.
- Siminovitch D., H. Therrien, F. Gfeller and B. Rheaume. 1964. The quantitative estimation of frost injury and resistance. *Canadian Journal of Botany* 42:637-40.
- Skog L. J. 1998. Factsheet: Chilling injury of horticultural crops, Horticultural Research Institute of Ontario, University of Guelph. Guelph, Canada. 328 p.
- Skrudlik G. and J. Koscielniak. 1996. Effects of low-temperature treatment at seedling stage on soybean growth, development and final yield. *Journal of Agronomy and Crop Science* 176(2):111–117.

- Slatyer R. O. 1962. Internal water balance of *Acacia aneura* F. Muell in relation to environmental conditions. UNESCO Arid Zone Research 16:137-146.
- Snyder L. R. y J. P. de Melo-Abreu. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. 233 p.
- Spooner D. M., I. E. Peralta and S. Knapp. 2005. Comparison of AFLPs to other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst. subsection *Lycopersicon*]. Taxon 54:43–61.
- Stocker O. 1929. Das Wasserdefizit von Gefäßpflanzen in verschiedenen Klimazonen. Planta 7:382-387.
- Strand A., C. H. Foyer, P. Gustafsson and V. Hurry. 2003. Increased expression of sucrosephosphate synthase in transgenic *Arabidopsis thaliana* results in improved photosynthetic performance and increased freezing tolerance at low temperatures. Plant, Cell & Environment 26:23-535.
- Sutka J. G. 2003. Abiotic stresses/Cold stress. In: Thomas B., D. Murphy and B. Murray. (Eds). Encyclopedia of applied plant sciences. San Diego, California, Academic Press. pp. 1-9.
- Tambussi E. A. 2004. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Doctoral. Barcelona, España. 59 p.
- Tao W. K., J. Simpson and S. T. Soong. 1991. Numerical simulation of a subtropical squall line over the Taiwan Strait. Monthly Weather Review 119:2699-2723.
- Thomashow M. F. 2010. Molecular basis of plant cold acclimation: insights gained from studying the CBF cold response pathway. Plant Physiology 154:571–577.
- Ting C. S., T. G. Owens and D. W. Wolfe. 1991. Seedling growth and chilling stress effect on photosynthesis in chilling-sensitive and chilling tolerant cultivars of *Zea mays*. Journal of Plant Physiology 137(5):559–564.

- Tsonev T., V. Velikova, K. Georgieva, P. F. Hyde and H. G. Jones. 2003. Low temperature enhances photosynthetic down-regulation in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Annual Botany* 91:343–352.
- Tucker G., P. Walley and G. Seymour. 2007. Tomato. *In*: Pua E. C. and M. R. Davey (Eds.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Transgenic Crops IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 59:163-180.
- Uemura M. and P. L. Steponkus. 1994. A contrast of the plasma-membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance. *Plant Physiology* 104:479–496.
- Vela C. M. G. 1998. Relaciones agua-planta. *Agrotécnica* 7:71-75.
- Venema J. H., F. Posthumus, M. de Vries and P. R. van Hasselt. 1999. Differential response of domestic and wild *Lycopersicon* species to chilling under low light: growth, carbohydrate content, photosynthesis and the xanthophyll cycle. *Physiologia Plantarum* 105(1):81–88.
- Vogele A. C. 1937. Effect of environmental factors upon the color of tomato and the watermelon. *Plant Physiology* 12:929-955.
- Wanner L. A. and O. Juntila. 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 120:391–400.
- Went F. W., A. L. LeRosen and L. Zechmeister. 1942. Effect of external factors on tomato pigments as studied by chromatographic methods. *Plant Physiology* 17(1):91-100.
- Willing R. P. and A. C. Leopold. 1983. Cellular expansion at low temperature as a cause of membrane lesions. *Plant Physiology* 71:118-121.
- Wolf S. D. Yakir, M. A. Stevens and J. Rudich. 1986. Cold temperature tolerance of wild tomato species. *Journal American Society Horticultural Science* 11:960-964.
- Xin Z. and J. Browse. 2000. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant, Cell & Environment* 23:893-902.

- Yamori W., K. Noguchi, K. Hikosaka and I. Terashima. 2010. Phenotypic plasticity in photosynthetic temperature acclimation among crop species with different cold tolerances. *Plant Physiology* 152:388–399.
- Yin G., H. Sun, X. Xin, G. Qin, Z. Liang and X. Jing. 2009. Mitochondrial damage in the soybean seed axis during imbibition at chilling temperatures. *Plant and Cell Physiology* 50(7):1305–1318.
- Yoshida S., C. Matsuura and S. Etani. 1989. Impairment of tonoplast H<sup>+</sup>-ATPase as an initial physiological response of cells to chilling in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilc heck). *Plant Physiology* 89(2):634–642.

## CAPÍTULO III

### EFECTO DE BAJAS TEMPERATURAS EN TOMATES COMERCIALES Y SEMICULTIVADOS

#### 3.1. RESUMEN

Las condiciones climáticas adversas inducen estrés abiótico en las plantas y como consecuencia limitan la producción de cultivos importantes como tomate, papa y chile, por tal motivo, el desarrollo de materiales capaces de tolerar condiciones desfavorables realiza su investigación. El presente estudio se realizó con el objetivo de encontrar los umbrales de intensidad y duración de un evento de baja temperatura, en el cual las plántulas son capaces de tolerar el daño por frío, este trabajo se dividió en dos fases, en la primera fase se identificó la temperatura y tiempo de exposición letal que resisten las plántulas. Los tratamientos fueron  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h),  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (4 h),  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h) y  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h), de cuatro híbridos comerciales, se cuantificó el porcentaje de sobrevivencia y la temperatura de la hoja. En la segunda fase, se aplicó el umbral de intensidad y duración que se eligió en base al tratamiento que permitió menos del 50% de sobrevivencia en los materiales comerciales. El tratamiento seleccionado en la primera fase  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h), se evaluó en 14 genotipos de tomates semicultivados. Los resultados muestran que la temperatura y tiempo de exposición afectan la sobrevivencia de las plántulas de tomate, pues la exposición a  $-2^{\circ}\text{C}$  (2 h) causó el mayor porcentaje de sobrevivencia 88, mientras que  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h) produjo el menor porcentaje 34 de sobrevivencia en variedades comerciales. El comportamiento de la sobrevivencia a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 h produjo 61% de sobrevivencia en las familias de tomate semicultivado mientras que el porcentaje de sobrevivencia para variedades comerciales fue de 34. La temperatura foliar fue mayor que la temperatura del aire tanto en variedades comerciales como en familias de tomate semicultivado.

**Palabras clave:** *Solanum lycopersicum*, temperatura foliar, estrés por frío, sobrevivencia e intervalo de temperatura y tiempo.

### 3.2. INTRODUCCIÓN

Entre los diversos tipos de estrés ambiental, la baja temperatura es uno de los factores más importantes que limitan la productividad y la distribución geográfica de muchas especies, incluyendo importantes cultivos agrícolas (Allen y Ort, 2001). El término bajas temperaturas se refiere al intervalo entre 0 y 15 °C que no es de congelación; las temperaturas en este intervalo son comunes en la naturaleza y pueden dañar muchas especies de plantas (Theocharis *et al.*, 2012). Con el fin de hacer frente a tales condiciones, varias especies de plantas tienen la capacidad de aumentar su grado de tolerancia a las bajas temperaturas que no son de congelación, y a este fenómeno se le conoce como aclimatación al frío (Theocharis *et al.*, 2012). Por otro lado, la tolerancia al frío es la capacidad de una planta para tolerar temperaturas bajas (0-15 °C) sin lesiones o daños (Somerville, 1995). Tanto la aclimatación y como la tolerancia al frío implican una serie de procesos bioquímicos, metabólicos y moleculares (Thomashow, 1999; Larkindale *et al.*, 2005; Kotak *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007). Las especies que presentan lesiones visuales a temperaturas por encima de 15 °C se denominan muy sensibles al frío (Raison y Lyons, 1986). Un número de plantas tropicales y subtropicales, tales como arroz, maíz, tomate, pepino, algodón, soya, etc., que crecen en las latitudes más altas no han adquirido una resistencia sustancial al frío, a pesar de la larga historia de cultivo en regiones templadas (Lukatkin *et al.*, 2012).

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una hortaliza de clima cálido. La condición óptima para los procesos de floración, cuajado y fructificación son temperaturas diurnas entre 23-25 °C, temperaturas nocturnas entre 14-17 °C, humedad relativa de 70% e intensidad luminosa elevada. Las condiciones ambientales diferentes a las antes mencionadas pueden causar problemas en la culminación de dichos procesos. Así, temperaturas superiores a 30 °C reducen el cuajado e inhiben el desarrollo del color normal del fruto y temperaturas inferiores a 10 °C retrasan la germinación de semillas, inhiben el desarrollo vegetativo, reducen el cuajado de los frutos y afectan negativamente la maduración del fruto (Castellanos *et al.*, 2009).

Las plantas sensibles a bajas temperaturas al ser expuestas a frío suelen mostrar síntomas de escasez de agua debido a la disminución de la conductancia hidráulica de la raíz a las hojas y al descenso de los potenciales de turgencia (Aroca *et al.*, 2003), lo cual parece estar relacionado con la disminución de la respiración (Taiz y Zeiger, 2002). La baja temperatura afecta a las plantas en

cada etapa de su ciclo de vida a partir de la germinación hasta la madurez. El daño por frío es un problema grave durante la germinación y el crecimiento de plántulas en muchas especies. Por ejemplo, la temperatura óptima para la germinación de semillas de arroz es entre 20 y 35 °C, en tanto que la temperatura de 10 °C se cita como el valor mínimo crítico por debajo del cual el arroz no germina (Yoshida, 1981). Hay muchos informes sobre correlación positiva entre la germinación en baja temperatura y el desarrollo de las raíces en una etapa temprana; y entre la germinación a baja temperatura y el establecimiento de las plántulas (Nahar *et al.*, 2012).

Kratsch y Wise (2000) señalan que la severidad del daño por las bajas temperaturas está en función de variables, como la intensidad lumínica y el tiempo de exposición a bajas temperaturas, además de la especie. Los síntomas por este tipo de estrés son similares en muchas especies, incluido el tomate. La edad de la planta juega un rol importante en la capacidad de resistir al estrés, viéndose incrementada su tolerancia a medida que avanza en edad (Tadeo, 2000). La resistencia al frío se determina exponiendo las plantas a una temperatura lo suficientemente baja como para causar daño y determinando la temperatura que causa la muerte del 50% de las plantas (LT<sub>50</sub>) o el porcentaje de plantas que sobreviven (Sutka, 2003).

Para evitar la disminución del rendimiento debido a bajas temperaturas, la producción de tomate en invernadero se ha convertido en crucial. No obstante, los altos costos de energía requeridos para la calefacción del invernadero, el aumento de los precios de la energía y el interés ambiental sobre la emisión de CO<sub>2</sub> durante la combustión de combustibles fósiles están forzando a la industria de invernadero a mejorar su eficiencia energética y a buscar enfoques alternativos para mejorar la tolerancia de las plantas (Ntatsi *et al.*, 2014). Un aumento en la tolerancia podría reducir considerablemente el costo del combustible (Venema *et al.*, 2008) y minimizar las pérdidas de la producción en regiones frías donde no se cuentan con alta tecnología (invernaderos) y se produce a campo abierto. La reducción de 1 °C en la temperatura óptima conduciría a un ahorro del 8% en los costos de energéticos (Elings *et al.*, 2005). Una posible estrategia sería la introducción de nuevos cultivares tolerantes. Desafortunadamente, la muy baja diversidad genética de los cultivares existentes (Venema *et al.*, 2008) en combinación con las limitaciones en la metodología de mejoramiento ha llevado a este enfoque a fallar hasta la fecha.

La familia *Solanaceae* incluye muchos parientes silvestres de la especie de tomate cultivada *S. lycopersicum* con diferentes grados de tolerancia a las tensiones bióticas y abióticas. Sin embargo, *S. lycopersicum* se caracteriza por una baja diversidad de genotipos con respuestas al estrés por frío (Schwarz *et al.*, 2010). Javier-Espinosa (2016) determinó que tres colectas de tomate silvestre tipo Cherry presentan tolerancia al frío a una temperatura congelante de  $-8^{\circ}\text{C}$  y dicha tolerancia está asociada con su origen genético. La sobrevivencia se comportó inversamente proporcional al tiempo de exposición.

Por tales razones, se considera la necesidad de aprovechar los recursos genéticos nativos. Sin embargo, se desconocen la temperatura y tiempo de exposición que ocasionan daño por frío. Para ello se caracterizó el comportamiento de una cámara prototipo para aplicar bajas temperaturas y conocer y evaluar las fluctuaciones de temperatura y posteriormente precisar la estabilidad de la temperatura para su uso como un equipo confiable en la evaluación de la intensidad y duración del estrés térmico. Por lo anterior, los objetivos de este estudio fueron caracterizar la estabilidad térmica de una cámara de para aplicar bajas temperaturas, identificar la combinación de temperatura y tiempo de exposición en la que las plántulas de tomate sobreviven menos del 50%, e identificar las familias de tomate semicultivado contrastantes en sobrevivencia a un choque térmico con temperatura letal definida previamente en tomates comerciales, bajo la hipótesis de que al menos algunas familias presentan mayor sobrevivencia que los tomates comerciales cuando se exponen a las mismas condiciones de baja temperatura.

### **3.3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.3.1. Descripción de la cámara**

Se utilizó una cámara prototipo Modelo M1212 (Manufacturas Ind. Universo, México, 2013). Las dimensiones interiores son 92 cm de ancho, 92 cm de largo y 95 cm de altura, y las paredes tienen 6.35 cm de fibra de vidrio como aislante térmico. La baja temperatura se logra con un compresor<sup>1</sup> (Danfoss® Mod. SC15CLX.2, 115V~60Hz, 1 HP, R404A/R507; <http://www.danfoss.mx>) y un sistema de aire forzado en el interior (Figura 3.1). El control de la cámara permite programar la

---

<sup>1</sup> [http://files.danfoss.com/technicalinfo/dila/06/SC15CLX2\\_R404A-R507\\_115V\\_60Hz\\_10-03\\_Cj54i222.pdf](http://files.danfoss.com/technicalinfo/dila/06/SC15CLX2_R404A-R507_115V_60Hz_10-03_Cj54i222.pdf); 1/08/2017

temperatura inicial ( $^{\circ}\text{C}$ ), la duración de la temperatura inicial (min), la velocidad de descenso de la temperatura por hora ( $^{\circ}\text{C h}^{-1}$ ), el tiempo de duración de la rampa de descenso de la temperatura (min), la temperatura final ( $^{\circ}\text{C}$ ), el tiempo de duración de la temperatura final (min), la histéresis (diferencia de temperatura para encender y apagar la refrigeración, se mantuvo constante en  $\pm 0.5$   $^{\circ}\text{C}$ ) y la frecuencia (min) de registro de datos de temperatura (se mantuvo constante en 5 min).



Figura 3.1. Cámara de baja temperatura modelo M1212 (Manufacturas Ind. Universo, México, 2013).

### 3.3.2. Caracterización de la cámara prototipo

Para conocer la estabilidad de la temperatura del aire dentro de la cámara sin plantas, se hicieron mediciones de temperatura en dos sentidos: a diferentes alturas y a una misma altura en varias secciones, para cubrir de manera general el volumen de la cámara. La cámara se programó y la temperatura se registró cada 5 min con sensores de temperatura con precisión  $\pm 0.35$   $^{\circ}\text{C}$  de 0 a 50  $^{\circ}\text{C}$  conectados a un almacenador de datos (data logger) modelo U12-012 (Onset® HOBO®). Para medir la variación en el sentido vertical, se colocaron seis sensores al centro de la cámara a diferentes alturas (desde 15 y hasta 90 cm con intervalos de 10 a 15 cm) durante 3 d. La medición en sentido horizontal se hizo a 30 cm, que corresponde a la altura aproximada del dosel de plántulas de tomate y se colocaron ocho sensores durante 3 d. Cada día se consideró una repetición. La temperatura final fue de 2  $^{\circ}\text{C}$  para las diferentes alturas, y de 1  $^{\circ}\text{C}$  para los sensores colocados a la

misma altura. Los parámetros de medición fueron: temperatura inicial: 10 °C, duración de la temperatura inicial: 120 min, velocidad de descenso de la temperatura: 2 °C h<sup>-1</sup>, tiempo de duración de la rampa de descenso de la temperatura: 240 min, tiempo de duración de la temperatura final: 120 min.

### 3.3.3. Determinación de umbrales de temperatura letal

Para determinar el intervalo de temperatura y tiempo de exposición letal, plántulas de tomate se sometieron a cuatro condiciones de temperatura y tiempo exposición: 1) -2 °C durante 2 h; 2) -2 °C durante 4 h; 3) -3 °C durante 2 h y 4) -4 °C durante 2 h, en ausencia de luz.

En la primera fase se utilizaron plántulas de dos híbridos y dos variedades comerciales: El Cid F1, Eterno F1, Río Grande y Floradade (Cuadro 3.1). Se usaron plántulas en un estado de 5-6 hojas verdaderas. Las semillas fueron sembradas en charolas de unicel de 77 cavidades (170 cm<sup>3</sup> por cavidad), con turba orgánica (*peat moss*) como sustrato; se regaron solo con agua hasta la aparición de la primera hoja verdadera y posteriormente se fertilizaron cada dos días con solución nutritiva (Ultrasol® inicial, 0.75 g L<sup>-1</sup>).

Cuadro 3.1. Tipo de fruto y hábito de crecimiento de las variedades comerciales.

Variedad	Empresa	Tipo de fruto	Hábito de crecimiento
Floradade	Agrosad	Bola	Determinado
Río Grande	Battle	Saladette	Determinado
El CID F1	Harris Moran	Saladette	Indeterminado
Eterno F1	Caloro	Saladette	Indeterminado

Con la temperatura seleccionada en la primera fase (-4 °C durante 2 h), se evaluaron 18 familias de tomate semicultivado, colectadas en los estados de Puebla y Guerrero (Centro Sur de México) en el proyecto "Valoración Integral de la Diversidad de Poblaciones Nativas de Jitomate Mexicano (*Lycopersicon esculentum* Mill.)" liderado por el Dr. Porfirio Ramírez Vallejo<sup>†</sup>. Las familias fueron identificadas como: 94-2(1), 83-2, 127-2, 56-1, 119-6, 97-8, 131-2, 129-1, 130-1, 102-2, 92-2, 100-1, 90-1, 65-1, 55-1, 53-2, 78-2, 130-2. Las plántulas fueron crecidas como fue descrito anteriormente, pero en charolas de plástico de 50 cavidades, con 55 cm<sup>3</sup> de volumen por cavidad.

### **3.3.4. Variables evaluadas**

En la cámara, se registraron las temperaturas del aire en los diferentes puntos de interés, y se registró la temperatura a la salida del sistema de aire forzado.

En las plantas se midieron las siguientes variables:

*Porcentaje de sobrevivencia.* Se cuantificó el número de plantas vivas por cada genotipo después de la exposición de baja temperatura.

*Temperatura de la hoja.* La temperatura de la hoja se registró con un termopar tipo T (Onset® HOBO®). La sonda se colocó en contacto con el haz de la hoja, en la segunda hoja de arriba hacia abajo. La temperatura se registró cada 5 min.

*Temperatura del aire a nivel del dosel.* Se midió dentro de la cámara durante el tratamiento de las plántulas, con un sensor de temperatura (Onset® HOBO® U12-012) colocado a la altura del dosel. La temperatura se registró cada 5 min.

### **3.3.5. Diseño experimental y análisis estadístico**

Para la caracterización de la cámara, se analizó la temperatura registrada una vez que la cámara alcanzó la temperatura objetivo. Se calcularon promedios y desviaciones estándar de la temperatura de la cámara, para cada punto registrado. También se hizo una prueba de medias entre los diferentes puntos medidos.

El primer experimento con las plantas, se analizó como un diseño factorial (cuatro variedades, cuatro regímenes de temperatura) completamente al azar con tres repeticiones. La unidad experimental fue un grupo de 8 a 10 plántulas; se calcularon medias y desviaciones estándar. En la segunda etapa, los datos se analizaron como bloques completos al azar, con tres repeticiones. Las familias de tomate semicultivado: 56-1, 130-1, 92-2 y 65-1 se eliminaron del análisis de resultados debido a que presentaron baja tasa de germinación o no sobrevivieron al tratamiento. Se realizaron análisis de varianza y comparaciones de medias por el método de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para calcular diferencias en la variable de sobrevivencia con el programa SAS (Statistical Analysis System) v. 9.4. Para comparar la temperatura del aire y de la hoja se utilizó una prueba de t.

### **3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.4.1. Caracterización de la cámara**

Una vez que se alcanzó la temperatura objetivo en la cámara, a los 30 cm de altura esta varió 0.5 °C en promedio, en distintos puntos (Figura 3.2B). La variación se manifestó por encima de la temperatura objetivo, la cual fue de 1 °C. En el monitoreo vertical de la temperatura, esta varió de 2.06 a 2.48 °C, presentando diferencias significativas (Figura 3.2A). La variación horizontal está dentro de los estándares de la industria de cámaras de crecimiento vegetal, que es de  $\pm 0.5$  °C de la temperatura objetivo (Conviron, 2009). Varias empresas que ofrecen equipos para control de temperatura reportan la precisión del control de temperatura entre 0.5 y 1 °C. La empresa Conviron (<http://www.conviron.com>) reporta para sus modelos de cámaras de crecimiento PGW36 y BDW120 una precisión de 0.5 °C, en tanto que Terra Universal, Inc. (<https://www.terrauniversal.com/>) reporta para el modelo 1695 una estabilidad de  $\pm 0.5$  °C en tanto que el modelo 2148 tiene la precisión es de  $\pm 1$  °C.

#### **3.4.2. Determinación de umbrales de temperatura que causan daños por frío**

##### **Sobrevivencia de las variedades comerciales**

Se presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para el porcentaje de sobrevivencia por tratamiento. La sobrevivencia a -4 °C (2 h) fue menor del 50% (Figura 3.3).

No hubo diferencias significativas en porcentaje de sobrevivencia por variedad comercial en los distintos tratamientos, expresa que los genotipos comerciales sobreviven de la misma manera, sin embargo, Floradade mostró el mayor porcentaje de sobrevivencia con 74.6% opuesta a Río Grande que fue la más sensible con 59.92%. El factor tiempo no presentó diferencias significativas para los tratamientos -2 °C (2 h) y -2 °C, (4 h) a la misma temperatura.

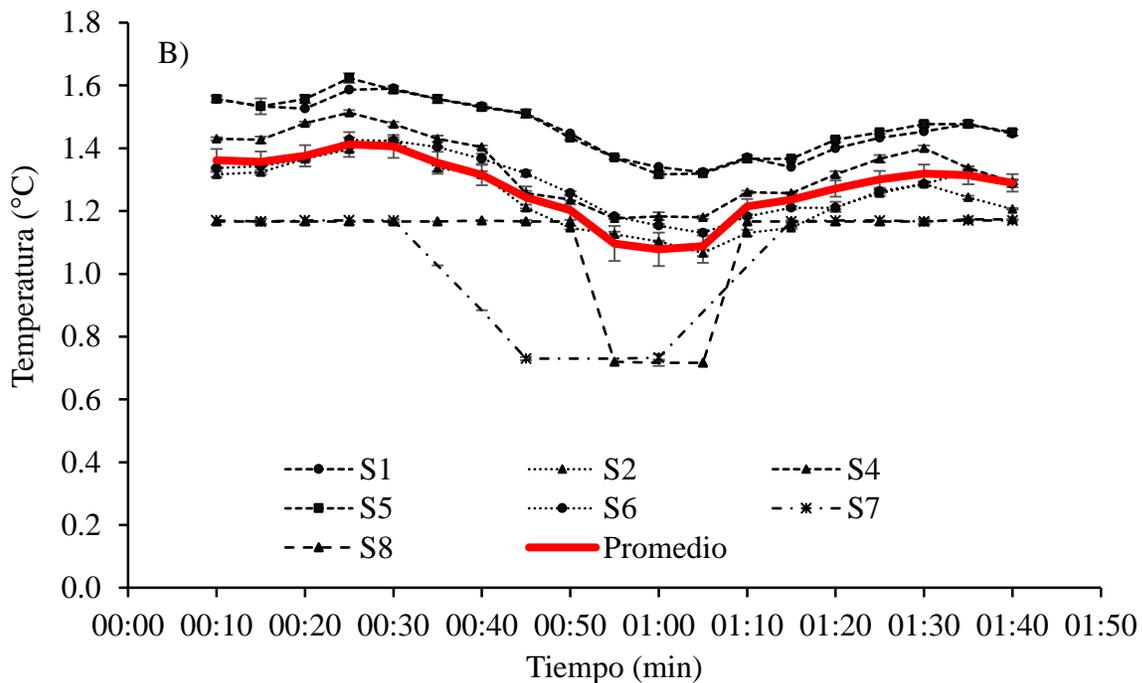
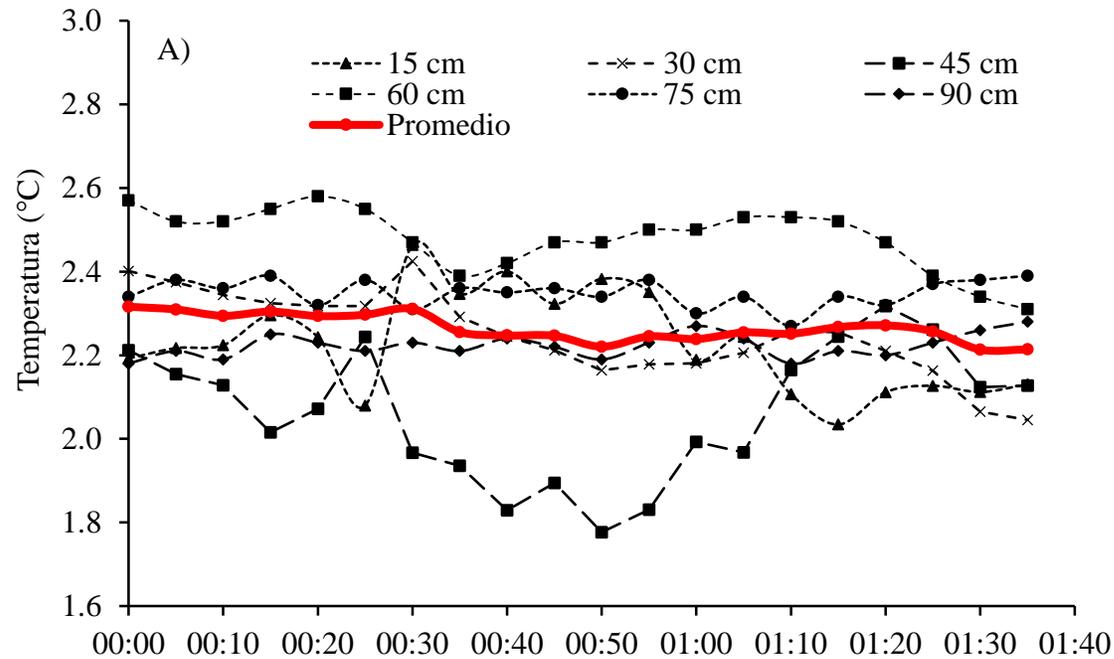


Figura 3.2. Caracterización vertical (A); temperatura objetivo 2 °C y horizontal (B); temperatura objetivo 1 °C de la temperatura en la cámara prototipo.

La distribución de los sensores dentro de la cámara de simulación de baja temperatura se hizo en base a la posición del condensador que se encuentra en la parte media superior a una altura de 70 cm. S1: atrás-izquierda; S2: centro-centro; S4: centro-izquierda; S5: frente-centro; S6: atrás-derecho, S7: centro-derecha; S8: frente-derecho.

Munir *et al.* (2016) encontraron que el porcentaje de sobrevivencia en plantas transgénicas y nativas a 4 °C durante 3 d y un testigo (25 °C) se redujo en las plántulas de tomate a temperatura baja, sin embargo, las líneas transgénicas mostraron un porcentaje de sobrevivencia significativamente mayor (52.7%) en comparación con las plantas nativas.

La sobrevivencia de las plantas a temperaturas de congelación depende de su capacidad de aclimatación al frío (McKhann *et al.*, 2008). La adaptación y aclimatación depende de la especie de planta, sin embargo, las plántulas que son tolerantes o resistentes tienden a activar ciertos mecanismos de defensa a este tipo de estrés, por ejemplo; los órganos de las células tolerantes a temperatura de congelamiento acumulan solutos con bajo peso molecular, así como cambios biológicos como la reducción de fotosíntesis, transporte celular y la fluidez de la membrana (Thomashow, 1999; Ouellet, 2007; Sandve *et al.*, 2011). El impacto del estrés térmico es una función compleja de intensidad, duración y tasa de cambio de temperatura (Wahid *et al.*, 2007; Thakur *et al.*, 2010). Así, Miedema (1982) indica que el estado de desarrollo de la planta, genotipo, estatus y estabilidad del agua en la planta, además del superenfriamiento del agua (fenómeno que se presenta cuando el agua líquida se enfría rápidamente por debajo de la temperatura de fusión (0 °C) sin la formación de hielo) (Rihan *et al.*, 2017) está involucrados en los daños ocasionados por temperatura baja. La selección del tratamiento -4 °C (2 h) para la evaluación de la tolerancia a baja temperatura en las familias de tomate semicultivado, obedece a la respuesta de sobrevivencia de menos del 50% que tuvieron las variedades comerciales. En marzo, 2013 se registraron temperaturas menores a 0 °C durante 8 horas y concretamente de -6 a -8 °C durante 2.5 horas. Los registros de temperatura se tomaron de una estación meteorológica del Colegio de Postgraduados indican que la temperatura a la intemperie fue de -7 °C, mientras que al abrigo fue de -3.5 °C, por lo tanto, dentro del invernadero se presume pudo haber estado entre -4 y -5 °C en el ciclo invierno-primavera 2012-2013.

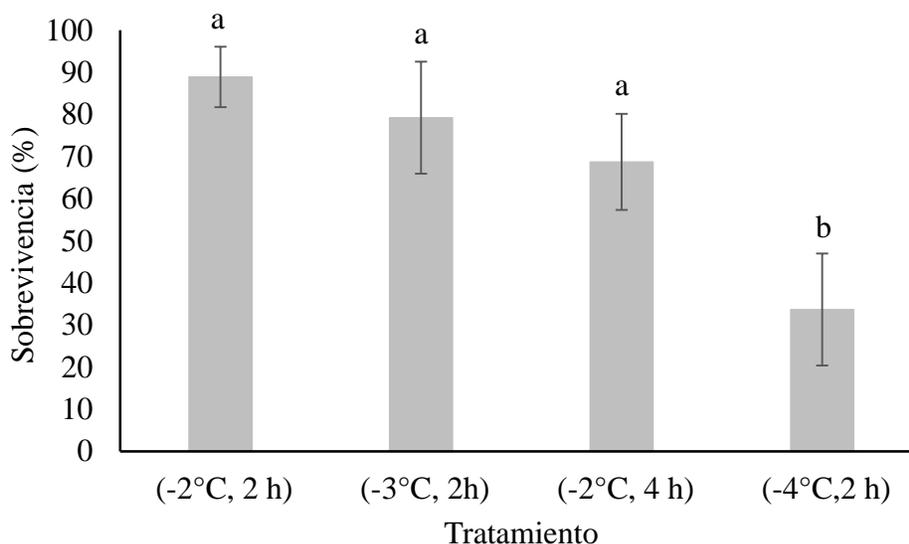


Figura 3.3. Sobrevivencia de plántulas de tomate sometidas a diferentes intensidades y duración. Promedio de cuatro variedades comerciales.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche, con la temperatura y duración indicadas en el tratamiento. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales ( $p \leq 0.05$ ). DHS: 25.20; CV: 34.18%.

### Temperatura de la hoja en las variedades comerciales

La temperatura de la hoja presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). La temperatura foliar solo mostró discrepancias respecto a la del aire en el tratamiento a  $-4^\circ\text{C}$  (2 h), de por medio, dentro de cada tratamiento no hay diferencia significativa entre la temperatura del aire y la hoja (Cuadro 3.2). Este comportamiento se puede explicar por la menor capacidad calórica que tienen las hojas que, por tanto, se calientan y enfrían más rápido que el aire húmedo circundante (Jiménez, 1996).

### Sobrevivencia en familias de tomate semicultivado

El tratamiento de  $-4^\circ\text{C}$  (2 h) no reflejó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la sobrevivencia, sin embargo, de las catorce familias de tomate semicultivado, las familias 102-2, 90-1 y 94-2(1) presentaron el mayor porcentaje de sobrevivencia con 61, entre tanto, las familias 127-2, 53-2 y 55-1 obtuvieron porcentajes de sobrevivencia de entre 53-54%. El resto de las familias 83-2, 119-6, 97-8, 131-2, 129-1, 100-1, 78-2, 130-2 quedaron fuera, ya que tuvieron 0% de sobrevivencia.

Cuadro 3.2. Temperatura del aire y hoja en cuatro tratamientos a diferente intensidad y duración de estrés por baja temperatura.

Tratamiento	Temperatura (°C)	
	Aire	Hoja
<b>-2°C (2 h)</b>	-1.71a	-1.97a
<b>-2°C (4 h)</b>	-1.70a	-1.91a
<b>-3 °C (2 h)</b>	-2.99b	-2.87b
<b>-4°C (2 h)</b>	-3.50b	-3.54c
<b>DHS</b>	1.01	0.39
<b>CV (%)</b>	-15.66	-12.47

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche, con la temperatura y duración indicada en el tratamiento. DHS: Diferencia honesta significativa; CV: Coeficiente de variación.

### Temperatura foliar de familias de tomate semicultivado

Para esta variable no hubo efecto del tratamiento. La temperatura foliar fue de  $-3.66$  °C y la del aire  $-3.45$  °C. La temperatura de la hoja depende del intervalo de transpiración, intensidad de radiación neta, temperatura del ambiente y de la presión de vapor (Hicklenton y Heins, 1997).

La evaporación del agua es un proceso endotérmico y con frecuencia hace que la temperatura del dosel de la planta sea menor que la temperatura del aire (Mahan y Upchurch, 1988). La temperatura de las hojas se determina por el equilibrio entre la ganancia y la pérdida de energía. Las características físicas de la interacción de la planta con su entorno han sido desarrolladas y explicadas por Campbell (1981) quien ha declarado que la temperatura de la hoja no es controlada directamente por la planta, sin embargo, si controla de manera pasiva y poco dinámica pérdida y almacenamiento de energía por la hoja.

### 3.5. CONCLUSIONES

La caracterización de la cámara prototipo de simulación de baja temperatura (modelo U12-012) mostró tener una precisión y estabilidad de la temperatura semejante a los equipos comerciales fabricados para este fin.

En tomate comercial la combinación de -4 °C durante 2h resultó en menos del 50% de sobrevivencia.

Las familias de tomate semicultivado presentaron en promedio 58% de sobrevivencia mientras que las variedades comerciales obtuvieron 34%, ambas expuestas a -4 °C durante 2h.

### 3.6. LITERATURA CITADA

Allen D. J. and D. R. Ort. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants. *Trends in Plant Science* 6:36-42.

Aroca R., P. Vernieri, J. J. Irigoyen, M. Sánchez-Díaz, F. Tognoni and A. Pardossi. 2003. Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling induced water stress. *Plant Science* 165:671-679.

Campbell G. S. 1981. Fundamentals of radiation and temperature relations. *In: Lange O. L. et al.*, (eds) *Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Plant Ecology I*, No. 12a. Springer, New York. pp 20-36.

Castellanos J, C. Borbón, H. Godoy, F. Delgadillo, F. Ponce, G. Valenzuela, J. Arévalo, J. Silles, J. Muñoz, J. Corrales, J. Ojodeagua, J. Velasco, J. García, J. Mera, J. Tehuacatl, J. Báez, M. Vargas, P. Bujanos, R. García, R. Vázquez, R. Contreras, R. Villalobos y S. V. Vázquez. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Celaya, México. Intagri, S.C. 458 p.

Conviron. 2009. PGW36 Walk-in Plant Growth Data Sheet. Canada, Conviron: 8. Available online at: <http://datasheets.globalspec.com/pdf/viewpdf?partId={C8676EB1-A0C8-408B-AA6E-2CCBB5B2EE55}&vid=119913&comp=2116&r=1&from=detail> (Jul/2017).

- Elings A., F. L. K. Kempkes, R. C. Kaarsemaker, M. N. A. Ruijs, N. J. Van de Braak, and T. A. Dueck. 2005. The energy balance and energy-saving measures in greenhouse tomato cultivation. *Acta Horticulturae* 691:67–74.
- Hicklenton P. R. and R. D. Heins. 1997. Temperature. *In*: Langhans, R. W and Tibbitts, T. W. (Eds.) *Plant Growth Chamber Handbook*. North Central Regional Research Publication No. 340. Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Special Report No. 99.
- Javier-Espinosa D. M. 2016. Regeneración *in vitro* vía organogénesis de *Solanum lycopersicum* Mill tolerante a bajas temperaturas. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 75 p.
- Jiménez O. F. 1996. Relación entre la temperatura del aire y la temperatura de la hoja más joven formada del plátano (*Musa* AAB). Un análisis aplicado a la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). *CORBANA* 46(21):115-127.
- Kotak S., J. Larkindale, U. Lee, P. von Koskull-Doring, E. Vierling and K. D. Scharf. 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 310–316.
- Kratsch H. A. and R. R. Wise. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell & Environment* 23: 337-350.
- Larkindale J., J. D. Hall, M. R. Knight and E. Vierling. 2005. Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiology* 138:882–888.
- Lukatkin A. S., A. Brazaitytė, Č. Bobinas and P. Duchovskis. 2012. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Žemdirbystė=Agriculture* 99(2):111-124.
- Mahan J. R and D. R. Upchurch. 1988. Maintenance of constant leaf temperature by plants I. Hypothesis limited homeothermy. *Environmental and Experimental Botany* 28(4):351-357.

- McKhann H., C. Gery, A. Berard, S. Leveque, E. Zuther, D Hinch, S. De Mita, D. Brunel and E. Teoule. 2008. Natural variation in CBF gene sequence, gene expression and freezing tolerance in the Versailles core collection of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 8:105.
- Miedema P. 1982. The effects of low temperature on *Zea mays*. *Advances in Agronomy* 35:93-128.
- Munir S., H. Liu, Y. Xing, S Hussain, B. Ouyang, Y. Zhang, H. Li and Z. Ye. 2016. Overexpression of calmodulinlike (ShCML44) stress-responsive gene from *Solanum habrochaites* enhances tolerance to multiple abiotic stresses. *Scientific Reports* 31772(6):1-20.
- Nahar K., J. K. Biswas and A. M. M. Shamsuzzaman. 2012. Cold stress tolerance in rice plant: Screening of genotypes based on morphophysiological traits. Berlin: LAP Lambert Academic.
- Ntatsi G., K. Hans-Peter, S. Dimitrios and D. Schwarz. 2014. Growth, yield, and metabolic responses of temperature-stressed tomato to grafting onto rootstocks differing in cold tolerance. *Journal American Society Horticulture Science* 139(2):230–243.
- Ouellet F. 2007. Cold acclimation and freezing tolerance in plants. *Encyclopedia of life sciences*, John Wiley y Sons. Ltd. [www.els.net](http://www.els.net).
- Raison J. K and J. M. Lyons. 1986. Chilling injury: a plea for uniform terminology. *Plant, Cell and Environment* 9:685–686.
- Rihan H. Z., Mohammed Al-Issawi and Michael P. Fuller. 2017. Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance. *Journal of Plant Interactions* 12(1):143-157.
- Sandve S. R., A. Kosmala, H. Rudi, S. Fjellheim, M. Rapacz, T. Yamada *et al.*, 2011. Molecular mechanisms underlying frost tolerance in perennial grasses adapted to cold climates. *Plant Science* 180:69–77.
- SAS. 2017. Statistical Analysis System, Software version 9.4, SAS Institute, Cary, NC USA.

- Schwarz D., Y. Rouphael, G. Colla and J. H. Venema. 2010. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stress. Thermal stress, water stress and organic pollutants. *Science Horticulture* 127:162–171.
- Somerville C. 1995. Direct tests of the role of membrane lipid composition in low temperature-induced photoinhibition and chilling sensitivity in plants and cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92:6215–6218.
- Tadeo F. 2000. Fisiología de las Plantas y el Estrés. *In: Azcón-Bieto y F. Talón. (Eds). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Barcelona, McGraw-Hill. pp. 481-490.*
- Thakur P., S. Kumar, J. A. Malik, J. D. Berger and H. Nayyar. 2010. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 67: 429–443.
- Theocharis A., C. Clement and E. A. Barka. 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta* 235:1091–1105.
- Thomashow M. F. 1999. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Biology* 50:571–599.
- Venema J. H., P. Linger, A. W. Van-Heusden, P. R. Van-Hasselt and W. Brüggemann. 2008. The inheritance of chilling tolerance in tomato (*Lycopersicon* spp.). *Plant Biology* 7:118–130.
- Wahid A, S. Gelani, M. Ashraf and M. R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 61:199–223.
- Yoshida S. 1981. Physiological analysis of rice yield. *Fundamentals of rice crop science. Los Banos: International Rice Research Institute* 231-251.
- Zhu J., C. H. Dong and J. K. Zhu. 2007. Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. *Current Opinion in Plant Biology* 10:290–295.

## CAPÍTULO IV

### CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE TOMATES SEMICULTIVADOS A BAJA TEMPERATURA

#### 4.1. RESUMEN

Actualmente los fenómenos de baja temperatura se presentan con mayor frecuencia e intensidad, debido al cambio climático. Por ello, es necesario conocer los efectos fisiológicos que ocasiona el estrés por frío en las plántulas de tomates semicultivados. En consecuencia, se desarrolló un estudio donde se evaluaron 18 familias de tomates semicultivados, tratadas a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 h y las variables medidas fueron contenido relativo de agua (CRA), conductividad eléctrica del tejido vivo y muerto, índice de daño, fotosíntesis, conductancia estomática, transpiración, fluorescencia de Chl *a* (fluorescencia máxima ( $F_m'$ ), estable o basal ( $F_s$ ) e inicial ( $F_o$ ), eficiencia fotosintética ( $F_v'/F_m'$ ), eficiencia fotoquímica ( $qP$ ), rendimiento cuántico del fotosistema II ( $\Phi_{PS2}$ ), y temperatura del aire y hoja). Los resultados revelaron que el CRA fue 10% menor en las familias sometidas a baja temperatura en comparación con el testigo. El CRA reflejó diferentes grados de pérdida de agua según la familia de tomate semicultivado. En plántulas sobrevivientes no se detecta daño fisiológico a nivel de aparato fotosintético, ni a nivel de integridad de membranas. Existe disminución de tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  y del contenido relativo de agua, sin embargo, las plántulas se recuperan en menos de 48 horas posteriores al choque térmico.

**Palabras clave:** Permeabilidad de membrana, tomate, estrés, fotosíntesis, variables fisiológicas.

#### 4.2. INTRODUCCIÓN

El tomate se origina en regiones subtropicales. La temperatura óptima económica actual ( $T$ ) para el cultivo en invernadero es  $19\text{-}20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Van der Ploeg y Heuvelink, 2005). A  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  se afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate al acortar los entrenudos, reducir la expansión de la hoja, el número de hojas y el peso total de las hojas frescas mientras aumenta el contenido de

materia seca y el espesor de las hojas derivado del aumento en el almacenamiento de almidón (Venema *et al.*, 1999). El daño por frío ocurre cuando las plantas de tomate están expuestas a estas temperaturas durante un largo período de tiempo. Dependiendo de la intensidad y la duración de la exposición a las temperaturas frías, fotosíntesis, respiración, integridad de la membrana, relaciones del agua y equilibrio hormonal de las plantas pueden verse afectadas (Van der Ploeg y Heuvelink, 2005).

De hecho, la temperatura por debajo del intervalo óptimo perjudicará la fluidez y permeabilidad de la membrana celular, dando como resultado una fuga de iones (Abbas, 2012). Por lo tanto, los componentes y estructuras celulares se modifican por la exposición a baja temperatura que resulta, por ejemplo, en el hinchamiento de las mitocondrias y la interrupción en la acumulación de lípidos en las proteínas y la desnaturalización y estabilidad de proteínas (Kratsch y Wise, 2000, Siddiqui y Cavicchioli, 2006). Además, la deshidratación celular causada por el estrés de la baja temperatura se atribuye a una menor absorción de agua por las raíces (Yadav, 2010) y a la inhibición del cierre estomático (Wilkinson *et al.*, 2001). La baja temperatura reduce no sólo la absorción del agua, sino también la absorción de nutrientes, causando así estrés osmótico (Chinnusamy *et al.*, 2007). Además, la temperatura baja (10 °C) provoca la peroxidación de lípidos de membrana insaturados (Theocharis *et al.*, 2012), aumentando así la permeabilidad de la membrana a nutrientes e iones que dan lugar a fugas electrolíticas (Gao *et al.*, 2008), además la fotosíntesis se puede restringir (Theocharis *et al.*, 2012) así como los mecanismos involucrados (Allen y Ort, 2001), y finalmente se reduce el rendimiento.

El objetivo de esta investigación fue caracterizar fisiológica y bioquímicamente las familias de tomate semicultivados sobrevivientes a una condición de baja temperatura.

### **4.3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.3.1. Ubicación del experimento**

El experimento se llevó a cabo en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, localizado a 2250 m de altitud, 19° 30' 45" latitud norte y 98° 52' 47" longitud oeste.

### **4.3.2. Material vegetal**

La investigación se llevó en diciembre 2016 y enero 2017, en condiciones de invernadero, se usaron plántulas de tomate de 18 familias de tomate semicultivados de colectas de Puebla y Guerrero e identificadas como: 94-2(1), 83-2, 127-2,56-1, 119-6, 97-8, 131-2, 129-1, 130-1, 102-2, 92-2, 100-1,90-1, 65-1, 55-1, 53-2, 78-2 y 130-2, por el Dr. Porfirio Ramírez Vallejo<sup>†</sup> del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo 33±2 dds (días después de la siembra).

### **4.3.3. Cultivo de las plántulas**

Las semillas se sembraron en tres grupos y cada grupo a su vez se dividió en tres subgrupos de seis familias por repetición para facilitar su manejo en la cámara de bajas temperaturas, en el período de noviembre 2016 a enero 2017. Las semillas se sembraron en charolas de germinación forestal de 50 cavidades, con las medidas 27x54 y dimensiones de la cavidad: lado superior 50x50 mm, lado inferior 22x22 mm, profundidad 50 mm y volumen de 55 mL, se utilizó turba (*peat moss*) como sustrato y a profundidad de 3 mm.

Se sembraron 30 semillas por familia, 5 semillas para el testigo y 10 semillas para someterlas a tratamiento con tres repeticiones por variante. Las charolas se mantuvieron húmedas mediante riego con agua y una vez que salió la primera hoja verdadera se fertilizó con Ultrasol® inicial con fórmula 15-30-15 hasta la aparición de la cuarta hoja verdadera.

### **4.3.4. Tratamientos**

A los 33±2 dds, las plántulas de tomates semicultivados de 18 accesiones diferentes: (94-2(1), 83-2, 127-2,56-1, 119-6, 97-8, 131-2, 129-1, 130-1, 102-2, 92-2, 100-1,90-1, 65-1, 55-1, 53-2, 78-2 y 130-2) se trataron con una temperatura y tiempo de exposición -4 °C (2 h), más un testigo sin estrés térmico. Se registró la temperatura del invernadero durante el crecimiento de las plántulas.

#### **4.3.5. Variables medidas**

##### **Fotosíntesis, intercambio de gases y fluorescencia de clorofila *a***

La fotosíntesis, respiración, transpiración y la fluorescencia de la clorofila *a* se midieron con un analizador infrarrojo de gases no dispersivo, de canal abierto y absoluto LI-6400-XT portátil. Los parámetros que se utilizaron para la determinación de la fluorescencia: media (intensidad: 5, modulación: 20 kHz, filtro: 1, ganancia: 10) y destello (tipo: rectangular, duración: 0.8 s, intensidad: 8, modulación: 20 kHz, filtro: 50). La fluorescencia de clorofila *a* se determinó en una hoja de tres plantas por familia adaptadas a luz, se ocuparon hojas que estuvieran completamente extendidas (hojas recientes).

##### **Contenido relativo de agua (CRA)**

Se extrajo una hoja por plántula por triplicado, posteriormente se tomó el peso fresco de la hoja (PF) y luego se trasladaron a cajas petri con agua destilada por 3 h, tiempo determinado previamente para que el tejido alcance el peso turgente (PT), finalmente para el peso seco (PS) las muestras se mantuvieron en una estufa a 70 °C durante 48 h. Con estos datos se calcula el CRA de acuerdo a (Barrs and Weatherley 1962):

$$\text{CRA} = (\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS}) \times 100$$

##### **Conductividad eléctrica del medio**

Las hojas (foliolos) se cosecharon (entre las 9 y 10 am), se lavaron con agua destilada. De las hojas se obtuvieron con un sacabocados cinco círculos, cada uno con un área de 3.1 cm<sup>2</sup>, se enjuagaron brevemente con agua destilada para eliminar los residuos de la zona de corte, y se pesaron en una balanza analítica (Santorius Handy; H51) con precisión de ±0.0001 g, se colocaron en 5 mL de agua desionizada. Los vasos de precipitado (10 mL) que contenían el tejido en agua se mantuvieron en un agitador orbital, con agitación ligera (120 rpm), a 25±2 °C, por 3 h. Cada 30 min se midió la conductividad eléctrica en 100 µL del medio acuoso con un conductímetro (Horiba B-771). A esta condición de medición se le denominó conductividad eléctrica del tejido vivo (CEtv).

Después de 3 h el tejido vegetal se extrajo del medio acuoso, las muestras se envolvieron en un segmento de papel aluminio y se introdujo en nitrógeno líquido. El tejido se transfirió a 5 mL de agua desionizada y se cuantificó la conductividad eléctrica del medio acuoso en la forma descrita para el tejido vivo. A esta condición de medición se le nombró conductividad eléctrica del tejido muerto (CEtm). Con la finalidad de estandarizar los valores de la conductividad eléctrica, para calcular Id, todos los valores se ajustaron a 100 mg de tejido. Por lo tanto, la conductividad del tejido vivo y muerto se expresó en  $\mu\text{S cm}^{-1}$  por 100 mg de tejido.

### **Cálculo del índice de daño**

La funcionalidad e integridad de las membranas se cuantificó indirectamente mediante los cambios en la conductividad eléctrica del medio acuoso de acuerdo con la metodología descrita en varios estudios (Murray *et al.* 1989; Sánchez-Urdaneta *et al.* 2003; Binotti *et al.* 2008). Se utilizaron los datos de la máxima conductividad del medio acuoso para el tejido foliar vivo y muerto. Para esto se calculó el índice de daño (Id) con la metodología descrita por Prášil y Zámecník (1998). Con los datos de la máxima conductividad del medio se calculó el índice de daño con la siguiente igualdad:

$$\text{Id (\%)} = 100 \times (\text{Rt}-\text{Ro})/(\text{100}-\text{Ro})$$

Donde Id: índice de daño, Rt y Ro: relación de la conductividad eléctrica del medio acuoso con tejido vivo y la conductividad eléctrica del medio acuoso con el mismo tejido muerto después de una inmersión en nitrógeno líquido, de plantas testigo (Ro) y de plantas tratadas con baja temperatura (Rt).

### **Cuantificación de Ácido Salicílico (AS)**

Se determinó mediante la metodología propuesta por Warriier *et al.* (2013), donde se inició con la preparación de dos soluciones estándar de ácido salicílico, una en agua y otra en cloroformo, ambas a una concentración de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$ . Las muestras de hoja (100 mg) por familia por tratamiento se congelaron en nitrógeno líquido y se maceraron hasta pulverizar, posteriormente se dejaron a temperatura ambiente para descongelar y se les añadió 1 mL de cada solución estándar después se centrifugaron a 10,000g durante 10 min. El sobrenadante se almacenó en hielo para la medición

de AS. Se mezclaron 100  $\mu\text{L}$  del sobrenadante con cloruro férrico 0.1% recién preparado hasta alcanzar 3.0 mL y se determinó el complejo formado entre el ion  $\text{Fe}^{3+}$  y AS, que es de color violeta por espectrofotometría, midiendo la absorbancia del complejo en la región visible (a 540 nm). Esta medición se realizó por triplicado.

#### **4.3.6. Análisis estadístico**

Para el análisis de resultados se utilizó un diseño factorial completamente al azar. El número de repeticiones para realizar el análisis se definió en base al número de veces que sobrevivió cada familia al tratamiento en la fase experimental del capítulo anterior, lo que redujo las familias analizadas. Se realizaron análisis de varianza, comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con el programa SAS (Statistical Analysis System) v. 9.4.

### **4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.4.1. Respuesta fisiológica de tomates semicultivados a estrés por frío**

##### **Temperatura durante el desarrollo de las plántulas**

En la Figura 4.1 se presentan tres periodos de temperatura donde se superaron los 40 °C, el primero de ellos fue del 28 de noviembre al 2 de diciembre de 2016, el segundo fue el 4 de febrero de 2017 y el último fue del 18 al 26 de febrero de 2017. Se tiene documentado que Chen *et al.* 1981 encontraron que los genotipos tolerantes y susceptibles al calor (frijol, papa, tomate y soya) no difirieron en el tiempo de muerte por calor cuando las plantas se cultivaron a temperaturas 20/15 °C día/noche; sin embargo, las diferencias se volvieron drásticas después de que las plantas se aclimataron a temperaturas superiores a 30 °C durante 24 horas. El tiempo de muerte por calor fue una función de la temperatura de aclimatación con una temperatura de aclimatación óptima entre 35 y 37 °C. La velocidad de aclimatación al calor fue rápida.

En la época invernal hasta antes del 16 de diciembre de 2016 se presentaron con mayor frecuencia temperaturas mínimas consecutivas (10 °C), seguidas por un periodo del 28 de diciembre de 2016 al 10 de enero de 2017 y posteriormente a esta fecha fueron esporádicas estas temperaturas, siendo

menor la aclimatación al frío (Figura 4.2). Zhou *et al.* (2012) encontraron que la aclimatación al frío aumenta la tolerancia de la planta de tomate a una baja temperatura más severa y en este proceso a menudo se observa una acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en las plantas, entre tanto, Barrero-Gil *et al.* (2016), indican que las plantas de tomate aumentan significativamente su tolerancia al frío después de estar expuestas durante varios días a temperaturas de crecimiento inferiores a las óptimas (4 °C durante 4 días).

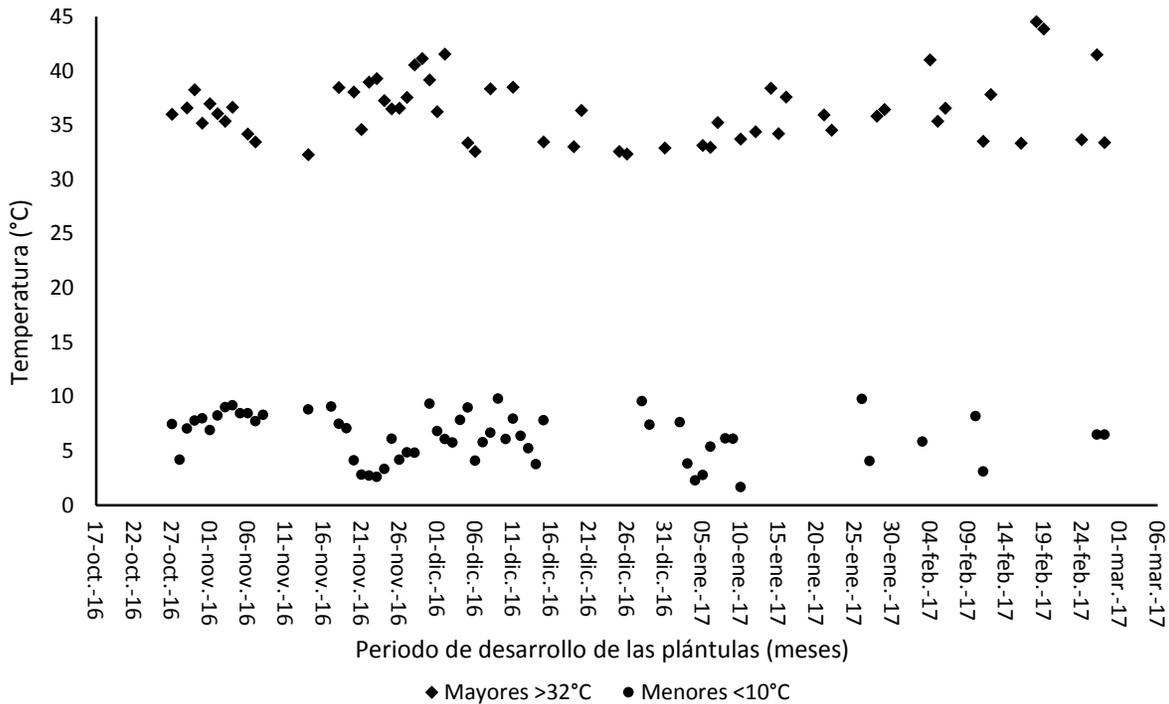


Figura 4.1. Fechas con temperaturas máximas mayores a 32°C y mínimas menores a 10°C registradas durante el periodo de crecimiento de las plántulas de tomates semicultivados.

### Asimilación de CO<sub>2</sub>

La asimilación de CO<sub>2</sub> presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), teniendo una tendencia ascendente días después del tratamiento a -4 °C (2 h), siendo menor las primeras horas después del tratamiento a baja temperatura con 9  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , mientras que, para el día 14 la asimilación de CO<sub>2</sub> presentó 21  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Efecto del tiempo después de tratamiento sobre la asimilación del CO<sub>2</sub>, conductancia estomática y la transpiración en tomate semicultivado.

Variable	Días después del tratamiento				CV	R <sup>2</sup>
	1	3	7	14		
Asimilación de CO <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	9c	17b	17b	21a	29	0.70
Conductancia estomática ( $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	0.14c	0.21bc	0.35b	0.56a	66	0.62
Transpiración ( $\text{mmol}\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	4.8c	9.7b	11.5ab	13.6a	42	0.32

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33\pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4\text{ }^\circ\text{C}$  durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Los promedios fueron a través de dos tratamientos y cinco familias de tomate nativo. Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

En la Figura 4.2 la asimilación de CO<sub>2</sub> entre tratamientos mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Un día después del tratamiento las plantas expuestas a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  (2 h) mostraron menor tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> respecto a su similar testigo ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ). Las plantas sometidas a temperatura fría redujeron 41% su tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> comparadas con su similar sin tratamiento, entre tanto, el día 14 las plantas tratadas con frío presentaron 10% menos tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>.

La fotosíntesis después del frío en condiciones de oscuridad se ve afectada principalmente por la interferencia con el metabolismo de los carbohidratos, inhibición de la actividad de Rubisco y cierre estomático, con un incremento simultáneo en la disipación de la energía como calor en los tilacoides (Allen y Ort, 2001).

Existen diferencias significativas para las familias de tomate tratadas a baja temperatura (Figura 4.3) en las cuales las familias 83-2, 55-1, 131-2 y 56-1 mostraron efectos similares entre sí, siendo diferente solo la familia 100-1 el primer día después del tratamiento. La tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> las familias tuvo una tendencia ascendente durante el seguimiento después de haber dado el tratamiento de baja temperatura.

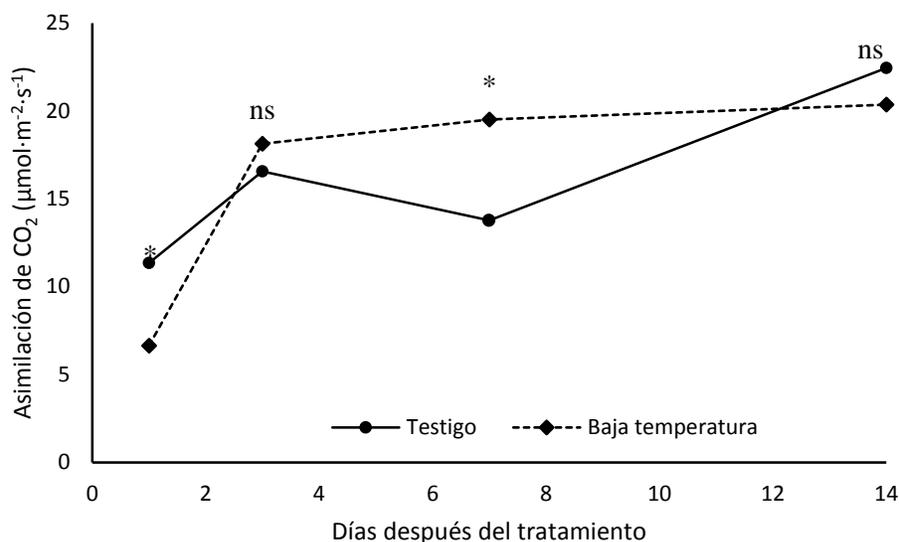


Figura 4.2. Efecto de los tratamientos en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> de tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante 33±2 días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche (-4 °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Efecto promedio de cinco familias. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); ns: no hay diferencia significativa.

### Conductancia estomática

La tendencia del comportamiento de la conductancia estomática fue de manera ascendente, es decir, el primer día después del tratamiento se presentó la conductancia estomática más baja, esto indica que debido a la baja temperatura hubo mayor cierre estomático, como medida fisiológica para evitar la deshidratación de las células y la acumulación de energía para su posterior recuperación (Cuadro 4.1). Para el día 1 las plantas presentaron una conductancia estomática 4 veces menor que el día 14 (Figura 4.4).

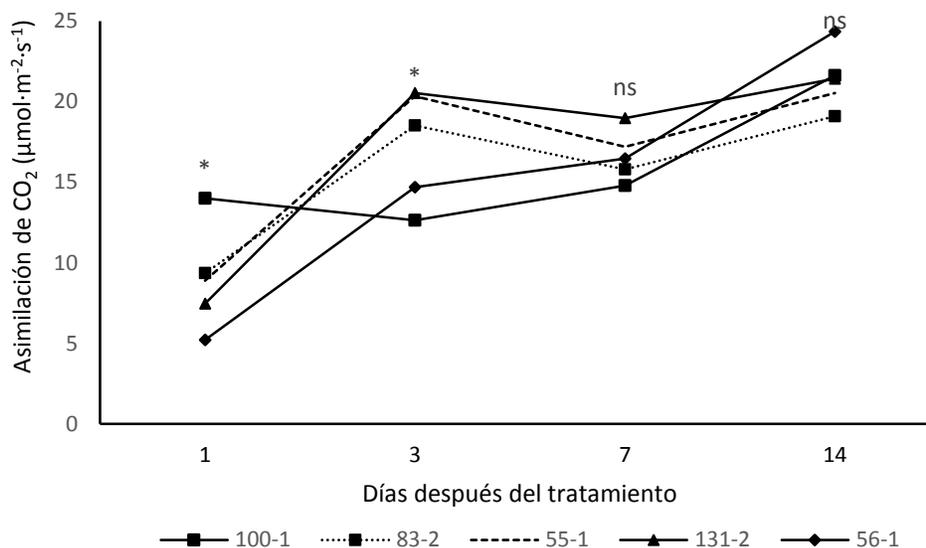


Figura 4.3. Asimilación de CO<sub>2</sub> de cinco familias de tomate semicultivado, durante 14 días después de tratamiento.

Valores promedio de plantas crecidas en invernadero durante 33±2 días y posteriormente tratadas con baja temperatura durante una noche (-4 °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo) . \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); ns: no hay diferencia significativa.

La baja temperatura puede afectar a las enzimas y canales iónicos responsables del mantenimiento activo del potencial osmótico de las células (Ilan *et al.*, 1995). Uno de los efectos directos del frío es reducir los procesos fotosintéticos (DeLucia, 1986; Day *et al.*, 1990; Sassenrath *et al.*, 1990) pues podría aumentar el CO<sub>2</sub> interno en la cavidad estomatal, lo que podría reducir indirectamente la apertura estomática. Sin embargo, los aumentos del CO<sub>2</sub> interno no se observan a menudo en respuesta a la temperatura reducida, o se producen a temperaturas mucho más frías que las necesarias para reducir la conductancia (Day *et al.*, 1991).

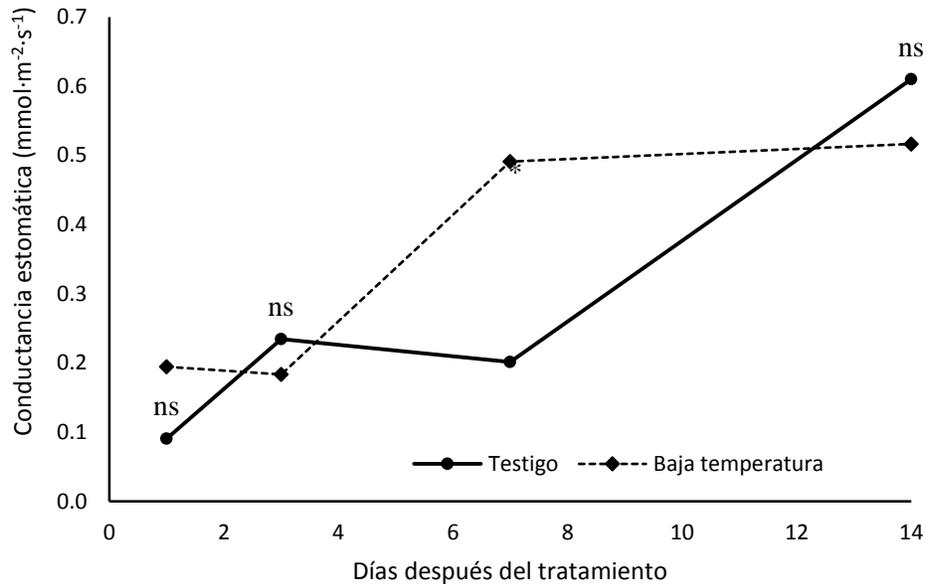


Figura 4.4. Efecto de los tratamientos en la conductancia estomática de tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Efecto promedio de cinco familias. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); ns: no hay diferencia significativa.

## Transpiración

La transpiración presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). La transpiración varió entre 4.8 y  $13.6 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , lo que representó una pérdida de agua del 65% del día 1 al 14 después del tratamiento y mantuvo un comportamiento ascendente (Cuadro 4.1).

El día 1, la transpiración tuvo una variación de entre  $3.56$  y  $6.04 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , para las plantas tratadas con la baja temperatura y el testigo respectivamente, mientras que, para el día 14 en el tratamiento de baja temperatura  $12.96 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y en el testigo se presentó  $14.26 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , por lo que, la transpiración aumentó en el testigo para el día 1 comparada con la registrada el día 14 en 2.3 veces y para la baja temperatura para los mismos días en 3.6 veces, aunque se observa que la transpiración va aumentando a través del tiempo no fue significativo el incremento solo en el día 7 fue significativo (Figura 4.5).

La transpiración es afectada por distintos factores ambientales entre los cuales se encuentra la temperatura ya que, cuando el aire es caliente retiene más agua y crea una mayor fuerza motriz para impulsar el movimiento del agua fuera de la planta, incrementando las tasas de transpiración, contrariamente a lo que ocurre cuando el aire es frío pues disminuye la fuerza motriz para la transpiración, por ende la transpiración decrece (Graham *et al.*, 2003; Nobel, 1991; Salisbury y Ross, 1992; Taiz y Zeiger, 2002).

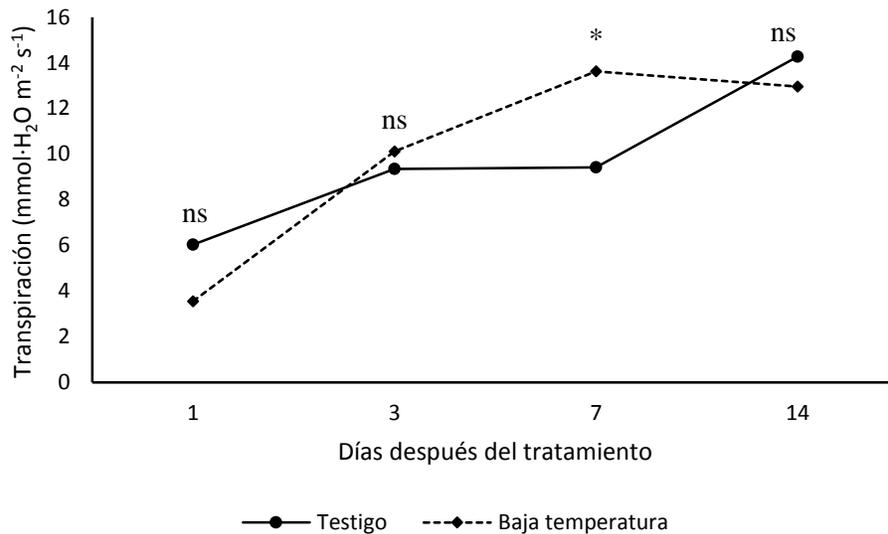


Figura 4.5. Efecto del tratamiento de temperatura en la transpiración de tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Efecto promedio de cinco familias. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

### Fluorescencia de la clorofila *a*

La baja temperatura, afectó los parámetros de la fluorescencia pues presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). La fluorescencia inicial ( $F_0'$ ) mantuvo un ligero descenso del 8.2% en las plántulas testigo (25 °C), entre tanto, los genotipos tratados a temperatura baja ( $-4$  °C (2 h)) tuvieron una disminución del 37% del 1 a 14 días después de aplicar el tratamiento (Figura 4.6A). La fluorescencia máxima ( $F_m'$ ) desarrolló un ligero aumento del 8% desde el inicio del seguimiento hasta el final en los dos tratamientos evaluados (Figura 4.6B). La fluorescencia estable

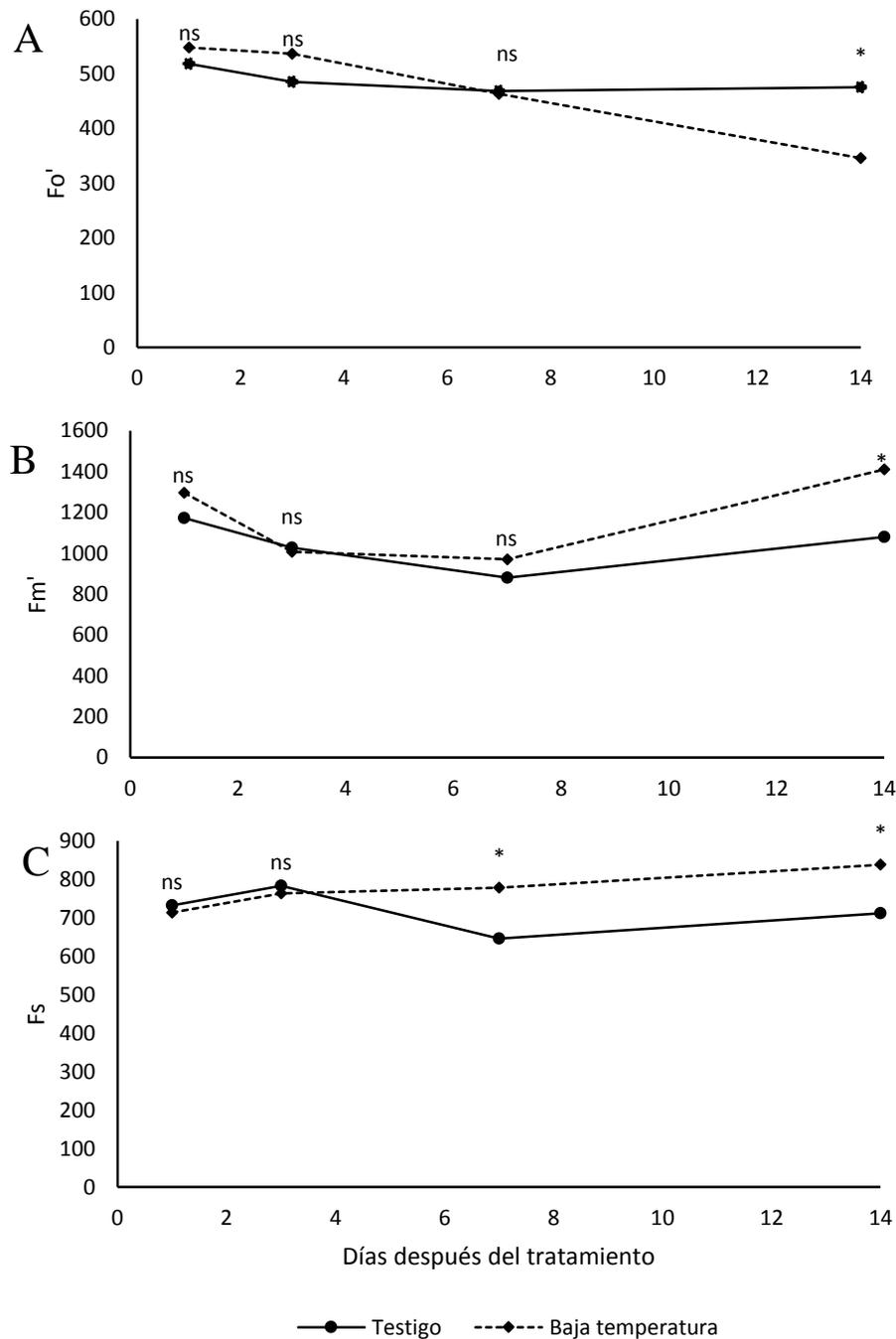


Figura 4.6. Efecto de los tratamientos en la fluorescencia inicial ( $F_o'$ , A), fluorescencia máxima ( $F_m'$ , B) y fluorescencia estable ( $F_s$ , C) en tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Efecto promedio de cinco familias. Mediciones realizadas en hojas adaptadas a luz. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

(Fs) en plantas tratadas presentó un ligero aumento del 15% constante, mientras que, su similar testigo un aumento casi imperceptible del 3% días después del tratamiento (Figura 4.6C).

Ante condiciones adversas debida a estrés, se modifican las proporciones del reparto de energía entre estos procesos incrementándose la fluorescencia (González *et al.*, 2008). La diferencia entre los niveles anteriores de Fo y Fm, determina la fluorescencia variable (Fv). Considerando estos parámetros entre sí, la relación entre Fv/Fm lo que permite establecer situaciones de plantas no estresadas cuando su valor se encuentra entre 0.75 y 0.85 (Bjorman y Demmig, 1987).

En el Cuadro 4.2 se muestran las variables de fluorescencia de clorofila en donde existió diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). La relación Fv'/Fm' oscilaron en un intervalo de 0.48-0.65 en el tiempo de seguimiento después del tratamiento, por lo tanto, hubo un aumento del 17% a través del tiempo. El comportamiento Fv'/Fm se vio influenciado en gran proporción por los valores que se presentaron en la Fm' (fluorescencia máxima).

Cuadro 4.2. Efecto promedio del tiempo después de tratamiento en la máxima eficiencia cuántica (Fv'/Fm'), rendimiento cuántico del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), la disipación fotoquímica (qP) de la clorofila a, y temperaturas de medición en plántulas de tomate semicultivado.

Variable	Días después del tratamiento				CV	R <sup>2</sup>
	1	3	7	14		
Fv'/Fm'	0.54b	0.49b	0.48b	0.65a	22	0.54
$\Phi_{PSII}$	0.37a	0.24b	0.22b	0.36a	33	0.60
qP	0.67a	0.50bc	0.46c	0.57b	22	0.59
Temperatura hoja (°C)	31bc	35a	32b	29c	11	0.57
Temperatura aire (°C)	32b	38a	36a	36a	10	0.50

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante 33±2 días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche (-4 °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Las mediciones de fluorescencia se realizaron en hojas adaptadas a luz.

El rendimiento cuántico del fotosistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), tuvo una disminución los días 3 y 7 después del tratamiento, se puede atribuir a la restauración en la habilidad de los centros de reacción para realizar el transporte de electrones (Francisco-Francisco y Benavides-Mendoza, 2014).

La disipación fotoquímica (qP) mostró un descenso del 15% del inicio al final de la medición, por tanto, qP cuantifica la capacidad fotoquímica del PSII, y corresponde a la cantidad de centros de reacción del PSII abiertos (Rohaček, 2002). Los resultados muestran que existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Los valores de la temperatura de la hoja oscilaron entre 29-35 °C, entre tanto, la temperatura del aire presentó valores de entre 32-38 °C, siendo mayores los de la temperatura del aire.

La máxima eficiencia cuántica ( $F_v'/F_m'$ ) presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Tanto las plantas tratadas como tuvieron el mismo comportamiento el primer día de medición, al final del lapso de tiempo los dos tratamientos muestran ascensos en la  $F_v'/F_m'$ . Este parámetro provee un estimado de la eficiencia máxima de la fotoquímica del fotosistema II a una densidad dada de flujo fotónico de la radiación fotosintéticamente activa, el cual representa la eficiencia operativa del fotosistema II si todos los centros correspondientes fueron abiertos (quinona Q oxidada) (Baker, 2008) (Figura 4.7).

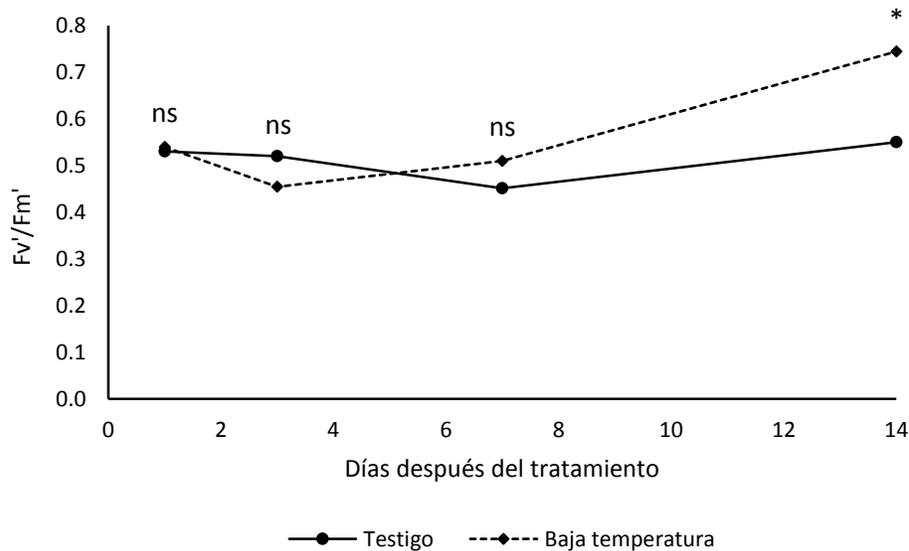


Figura 4.7. Efecto promedio del tratamiento en la máxima eficiencia cuántica ( $F_v'/F_m'$ ) de la clorofila a, en plantas de tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

La disipación fotoquímica mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), entre el testigo (25 °C) y el tratamiento de baja temperatura (-4 °C (2 h)) teniendo un comportamiento muy similar. El 1 d el tratamiento de temperatura fría presento mayor qP que su similar sin estrés térmico (Figura 4.8).

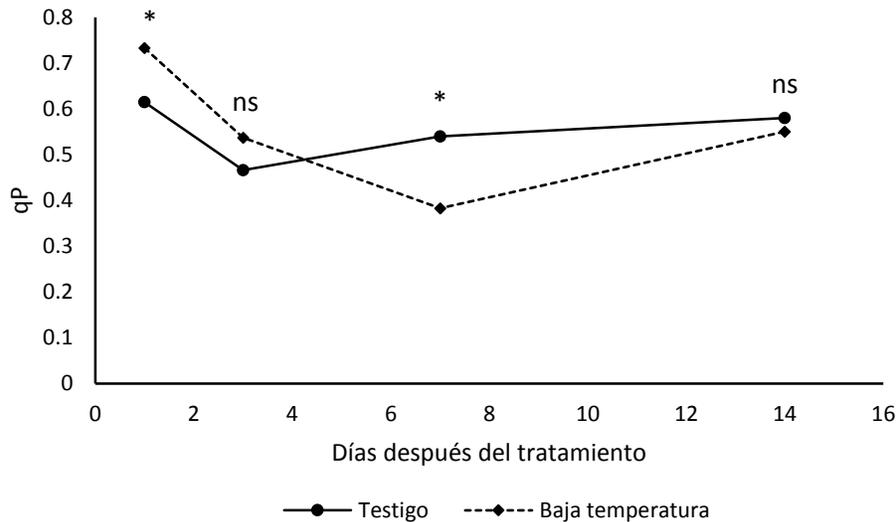


Figura 4.8. Efecto promedio del tratamiento en la disipación fotoquímica (qP) de la clorofila a, en plántulas de tomate semicultivado, durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche (-4 °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

### Temperatura del aire y hoja

En la Figura 4.9, la temperatura del aire mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). La temperatura del aire del testigo aumento constantemente en un 11%, mientras que, la temperatura foliar tuvo un aumento del 9.3%. La temperatura de las hojas, brotes y frutos puede diferir significativamente de la temperatura ambiente. La diferencia dependerá de las condiciones atmosféricas, vegetación local y características del dosel (incluyendo la altura y el porcentaje de cubierta) y condiciones del suelo (Kalma *et al.*, 1992).

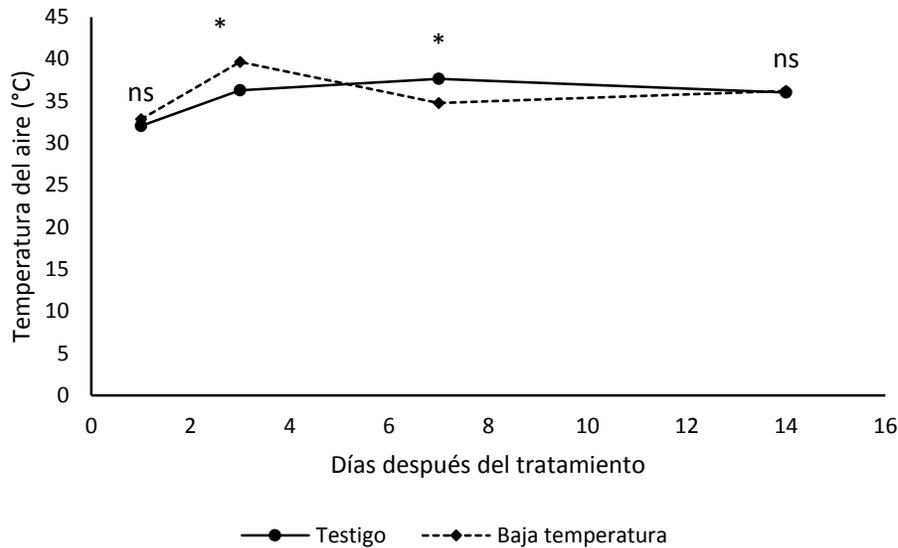


Figura 4.9. Temperatura del aire en las plántulas de dos tratamientos en tomate semicultivado, medida durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

La temperatura foliar presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 4.10). La temperatura de la hoja en el testigo mantuvo un ligero descenso de la temperatura al final del seguimiento días después de haber aplicado el tratamiento de un 10%, mientras que, la temperatura de la hoja de las plantas que se sometieron a temperatura fría fue del 14%.

### Contenido relativo de agua (CRA)

El CRA es la expresión más usada para medir el nivel de agua en un tejido. Es la medida del contenido de agua respecto al total que este puede almacenar, se expresa como porcentaje y permite conocer el estado hídrico de la planta. Se relaciona con el potencial hídrico y sus componentes, potencial de presión y solutos, son función del volumen de agua del protoplasma (Argentel *et al.*, 2006).

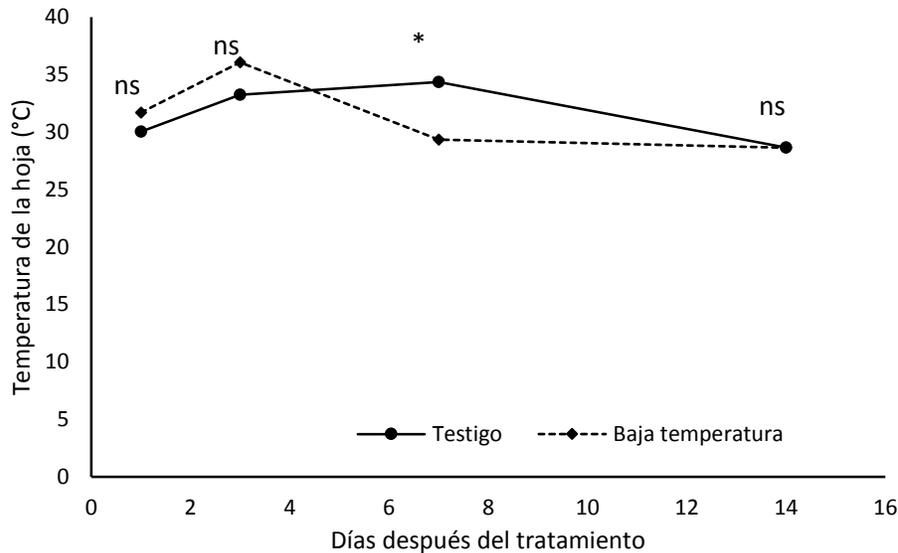


Figura 4.10. Temperatura de la hoja en las plántulas en tomate semicultivado, sometido a dos tratamientos y medida durante 14 días.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa. \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

El CRA varió significativamente ( $p \leq 0.05$ ) por tratamiento, familia y por la interacción tratamiento por familia. El contenido relativo de agua fue afectado principalmente el tratamiento, ya que este factor explicó 41% de la variación debida a los tratamientos. Por su parte, el efecto de la familia aporta el 32 % y la interacción tratamiento por familia el 28 %, respectivamente.

El contenido relativo de agua refleja que las plantas del tratamiento sometido a baja temperatura  $-4$  °C (2 h) muestra 80.16% de CRA, es decir pierde 10% más de agua que el testigo (88.17%). Pearce (2001) sugiere que la baja temperatura afecta a las plantas al causar deshidratación en la célula a través de la cristalización del agua celular. La temperatura afecta el agua dentro de la célula a los diversos procesos metabólicos que lleva a cabo la planta como: tasa de fotosíntesis, oxígeno disuelto y otros gases, conductividad eléctrica y salinidad, reacciones de óxido-reducción, pH y densidad del agua.

El efecto del factor familia que engloba el 32% de variación, mostró que la familia 56-1 es la que presenta menor pérdida hídrica (89.69%), contraria a la familia 83-2 que fue la más afectada por

la baja temperatura pues presentó un CRA de 77.87% (Figura 4.11). Lo que refleja que el contenido relativo de agua fue 11% más bajo en la familia más afectada.

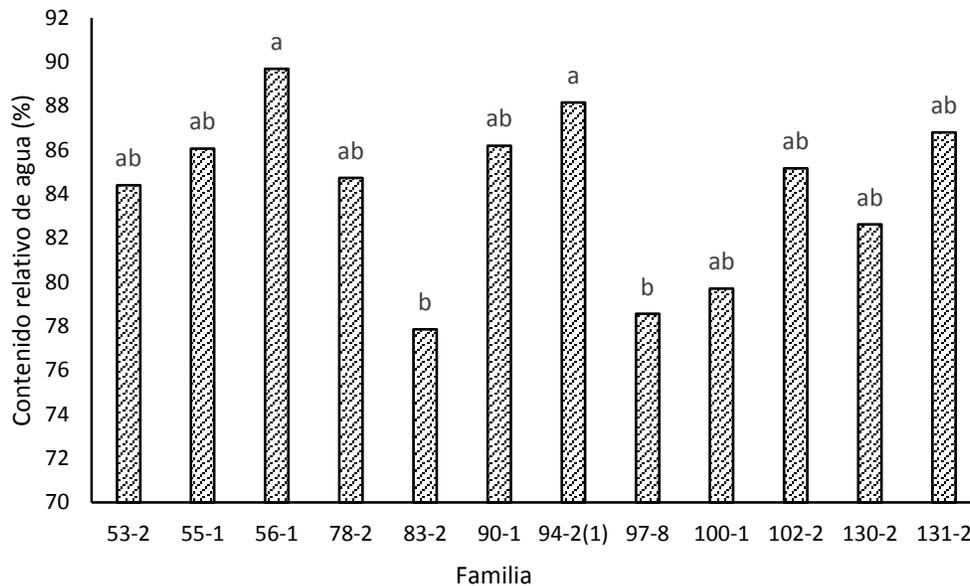


Figura 4.11. Efecto de la familia en el contenido relativo de agua de tomates semicultivados.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Efecto promedio de plantas testigo y plantas tratadas. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

Para el contenido relativo de agua en la interacción temperatura por familia que explica el 28% de la variación, solo hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en las familias: 83-2, 90-1, 97-8, 100-1 y 130-2. El contenido relativo de agua es afectado directamente por la temperatura y en menor grado por la familia, contrario a las siete familias restantes que no presentaron diferencias significativas, es decir, que el CRA no es afectado por la temperatura (Figura 4.12).

El porcentaje de pérdida de agua en las familias de tomate que presentaron diferencias oscilan entre 7-23%, cuyo menor valor corresponde a familia 130-2 y la mayor pérdida de agua la presentó la familia 83-2, respectivamente.

Las plantas sensibles al frío son afectadas en todos los componentes hídricos y las causas de pérdida de agua, resultado del fuerte marchitamiento. Esto se basa en dos factores principales: caída rápida de la capacidad de las raíces para absorber el agua y transportarla a los brotes y capacidad reducida para cerrar los estomas en respuesta al déficit hídrico subsecuente. El

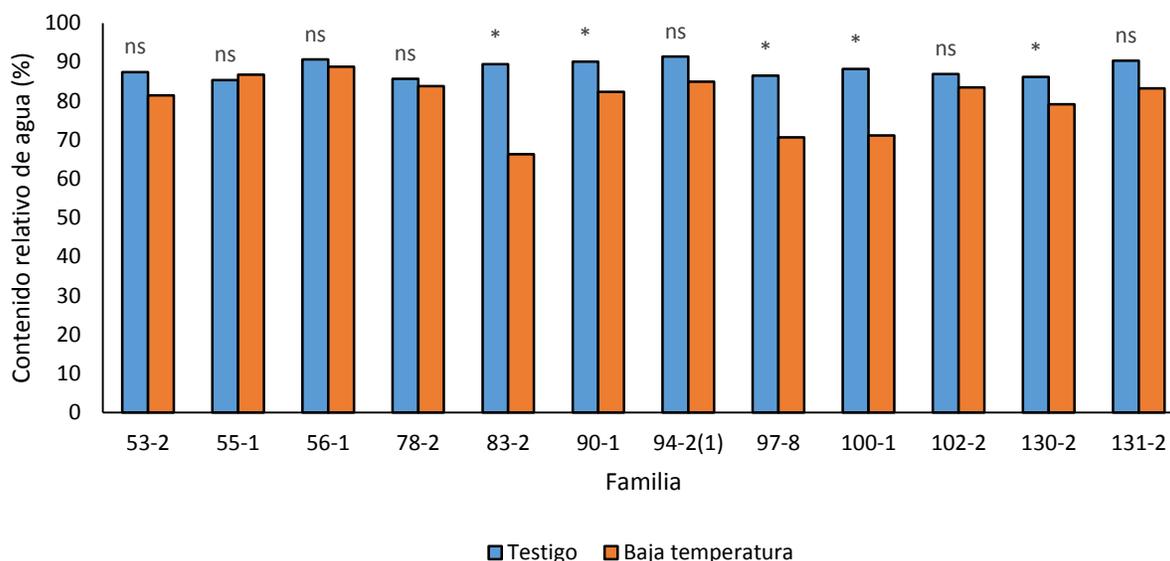


Figura 4.12. Efecto de la interacción tratamiento por familia en el contenido relativo de agua de tomates semicultivados.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). \*Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), ns: no hay diferencia significativa.

suministro insuficiente de agua provoca una rápida caída del potencial hídrico de las hojas durante las primeras horas de la baja temperatura. El grado de daño por frío de las plantas puede reducirse mediante la prevención de la perturbación del régimen de agua (Lukatsin *et al.*, 2012).

### Conductividad eléctrica de tejido vivo

El comportamiento de la liberación de electrolitos en el medio acuoso del tejido vivo de los tratamientos de tomate semicultivado presentó dos fases de liberación de electrolitos, una acelerada en los primeros 30 min y otra lenta en las 2.5 h restantes. La liberación inicial de electrolitos los primeros 30 min, fue tipo lag (período de tiempo en el que se da la adaptación), en promedio se mantuvo en cero, el incremento acelerado se llevó a cabo entre los 30 y 60 min. En la segunda fase la conductividad eléctrica (CE) del medio acuoso continuó aumentando gradualmente en ambos tratamientos. En la segunda fase de liberación de electrolitos se obtuvo la conductividad eléctrica máxima en ambos tratamientos (Figura 4.13).

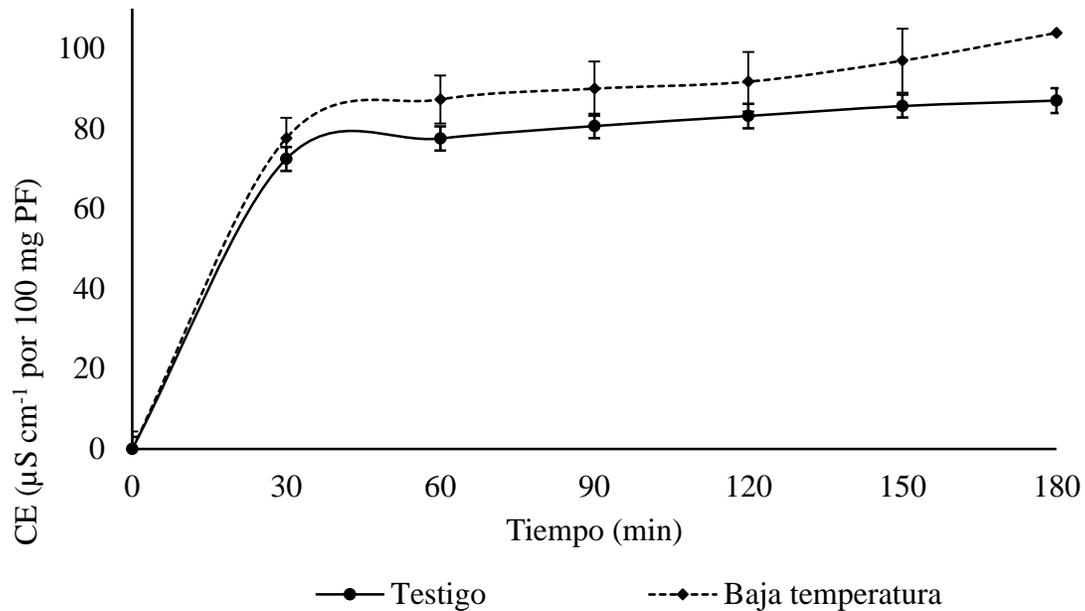


Figura 4.13. Promedio de conductividad eléctrica del medio acuoso con tejido foliar vivo de tomate semicultivado, mantenido por 3 horas.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Se colocaron cinco círculos de  $3.1 \text{ cm}^2$  en 5 mL de agua desionizada, los resultados se ajustaron a 100 mg de tejido.

La liberación lenta de electrolitos y el incremento paulatino de la conductividad eléctrica del medio a temperaturas bajas en tejidos vivos están asociados a los procesos físico-químicos pasivos de difusión de iones en el apoplasto (González y Barrett, 2010), los cambios más lentos de la conductividad eléctrica del medio en la segunda etapa se atribuyen a la actividad funcional del plasmalema (Kocheva *et al.* 2005), y la tasa de salida de electrolitos puede indicar la pérdida de control de su permeabilidad (Murray *et al.*, 1989; Vásquez-Tello *et al.* 1990).

En la primera fase, la conductividad eléctrica a baja temperatura 130-2 presentó el valor más alto de CE en el medio acuoso de tejido vivo, mientras que la menor conductividad la presentó la familia 78-2. Comparando esta familia con su similar (testigo) la familia 78-2 obtuvo el valor más alto y la 94-2(1) (Figura 4.14). Estadísticamente la conductividad eléctrica del tejido vivo en medio acuoso no presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en las familias por los tratamientos.

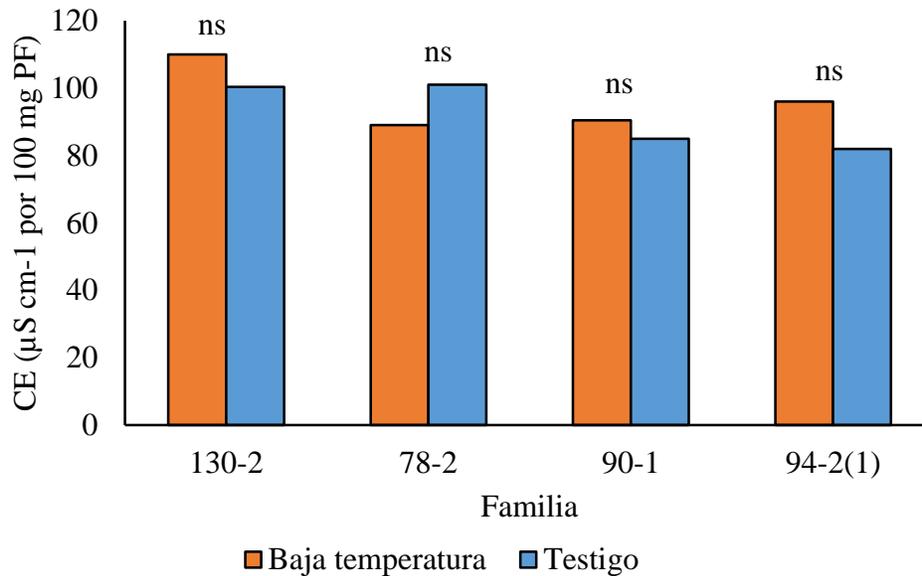


Figura 4.14. Promedio de conductividad eléctrica por familia por tratamiento de baja temperatura en tejido foliar vivo de tomate semicultivado.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Se colocaron cinco círculos de  $3.1 \text{ cm}^2$  en 5 mL de agua desionizada, los resultados se ajustaron a 100 mg de tejido. ns: no hay diferencia significativa.

Estos resultados sugieren que el tejido foliar vivo de familias de los tomates semicultivados de la presente investigación reaccionan parcialmente a las temperaturas ( $25$  °C y  $-4$  °C) y son una evidencia indirecta de que los electrolitos liberados al medio difieren cantidad, tipo o ambos.

La conductividad máxima del tejido foliar sometidos a los dos tratamientos de temperatura contrastó en las familias de tomate semicultivado, lo que sugiere que el efecto de la temperatura es dependiente de los cultivares (Figura 4.14).

En la Figura 4.15, el tejido vivo presentó las máximas lecturas de conductividad eléctrica después de los 120 min (25%), en cambio, al minuto 180 se presentaron las máximas lecturas de conductividad eléctrica 59%, es relevante conocer estos resultados para entender el comportamiento de la conductividad eléctrica y de este modo identificar los tiempos de medición en futuras investigaciones.

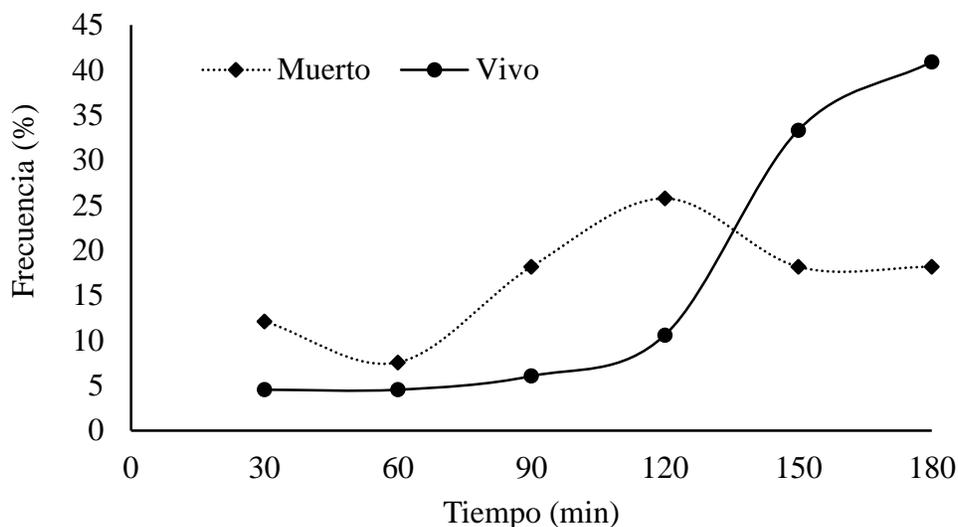


Figura 4.15. Distribución de las lecturas máximas de conductividad eléctrica durante el tiempo de medición en un medio acuoso de tejido vivo o muerto de tomate semicultivado.

En cambio, el tejido muerto presentó las máximas lecturas de conductividad eléctrica en el minuto 120 con un 63%, es decir, que para identificar las lecturas máximas de conductividad eléctrica tanto en tejido vivo como muerto es importante realizar las mediciones a partir del minuto 120 (Figura 4.15).

### Conductividad eléctrica del tejido muerto

En la Figura 4.16, la fuga de electrolitos para el tejido foliar muerto también mostró dos fases y no presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), donde es importante mencionar que esta variable fue independiente de la temperatura a la que fueron tratadas las familias de tomate semicultivado.

La fase lag, que se identificó del minuto 0-30 y la fase log que mantuvo a partir del minuto 31-180. El tratamiento de baja temperatura mostró valores ligeramente más altos que las plántulas del testigo, sin embargo, estadísticamente no hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ; Figura 4.16).

La tasa de salida de electrolitos e incremento de la conductividad del medio en la primera etapa es acelerada y varias veces mayor en los tejidos dañados respecto a los tejidos intactos y completamente funcionales (Knorr, 1994). Los valores extremos en este caso son los de los tejidos

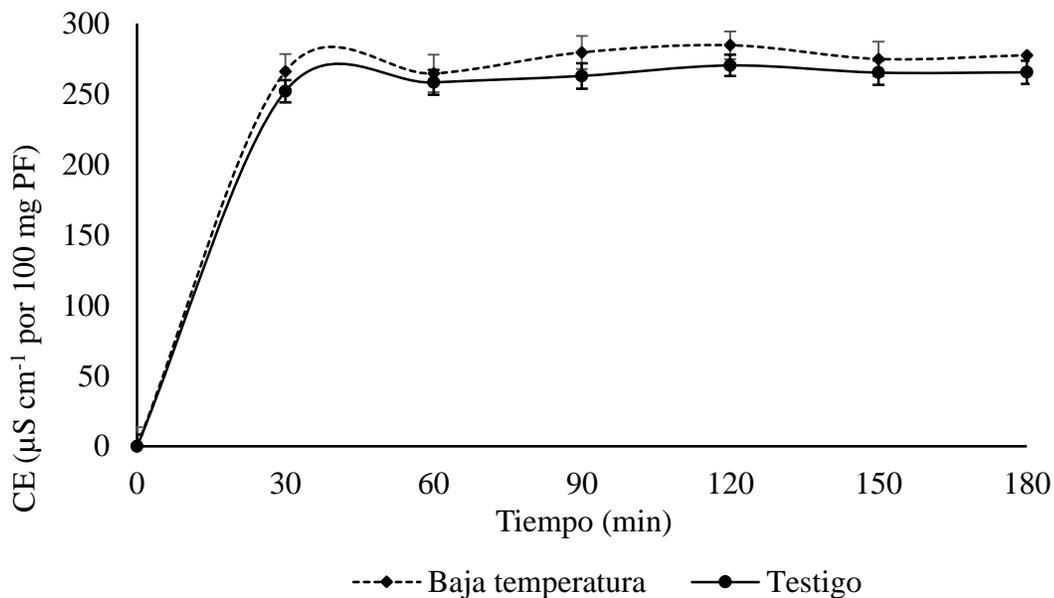


Figura 4.16. Promedio de conductividad eléctrica del medio acuoso en el tejido foliar muerto mantenido por 3 horas en las familias de tomate semicultivado.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Se colocaron cinco círculos de  $3.1 \text{ cm}^2$  en 5 mL de agua desionizada, los resultados se ajustaron a 100 mg de tejido.

vivos sin daño aparente y los de los tejidos muertos, como se observó en el presente estudio. Los tejidos que presentan diferencias en la cinética de liberación de electrolitos y cambio de la conductividad eléctrica del medio.

La conductividad eléctrica del tejido muerto en las familias de tomates semicultivados en los tratamientos estudiados no presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Se destaca que la familia 90-1 obtuvo el mínimo valor de conductividad eléctrica para la baja temperatura ( $301.5 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 100 \cdot \text{mg}^{-1}$ ), mientras que, esta misma familia en el testigo obtuvo el valor mínimo ( $251.33 \cdot \text{mg}^{-1} 100 \cdot \text{mg}^{-1}$ ) (Figura 4.17).

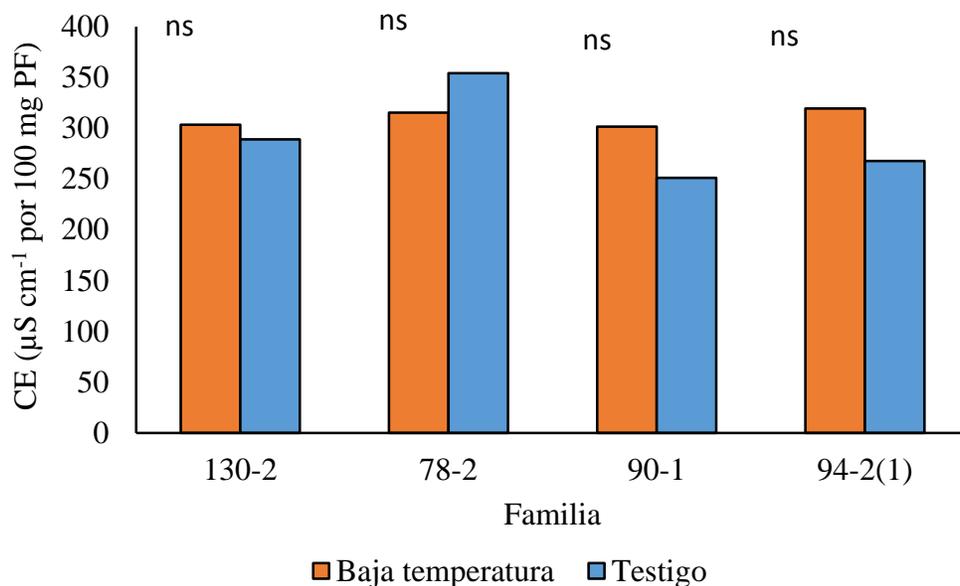


Figura 4.17. Promedio de la conductividad eléctrica en tejido foliar muerto en las familias de tomate semicultivado y por tratamiento de baja temperatura.

Las plantas fueron crecidas en invernadero durante  $33 \pm 2$  días, y posteriormente fueron tratadas con baja temperatura durante una noche ( $-4$  °C durante 2 h) o no sometidas a dicho tratamiento (testigo). Se colocaron cinco círculos de  $3.1 \text{ cm}^2$  en 5 mL de agua desionizada, los resultados se ajustaron a 100 mg de tejido. ns: no hay diferencia significativa.

### Índice de daño

La cuantificación del índice de daño de las familias de tomate semicultivado no mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Además, refleja que no hubo daño en la permeabilidad de las membranas, pues este no fue detectado con los cambios de los valores de conductividad eléctrica, es importante mencionar que de las familias analizadas dentro de cada accesión las plántulas que sobrevivieron sí presentan tolerancia a baja temperatura sometidas a  $-4$ °C durante 2h pues solo presentan una lesión parcial en la permeabilidad de membrana. Verlinden (2006) señaló que las disminuciones de la fluidez de las membranas condujeron a su disfunción y aceleró la liberación no selectiva de iones, con lo que la senescencia concluye con la muerte celular y de los tejidos.

El estrés por frío frecuentemente daña la membrana celular en las plantas (Mahajan y Tuteja, 2005), lo que puede determinarse por la pérdida relativa de electrolitos (Campos *et al.*, 2003). Así, Munir *et al.* (2016) encontró un incremento en las plantas tratadas con estrés por frío ( $4$  °C (3 d))

en la fuga relativa electrolítica, sin embargo, fue significativamente más baja en las plantas transgénicas de tomate que en el tipo nativo (*Solanum habrochaites*).

#### **4.4.2. Respuestas bioquímicas de tomates semicultivados a estrés por frío**

##### **Ácido salicílico**

El contenido de esta sustancia termogénica en las poblaciones de tomates semicultivados no fue significativa, ya que se encontraron cantidades similares mínimas en las plantas tratadas y en las que fungieron como testigos.

### **4.5. CONCLUSIONES**

En plántulas sobrevivientes no se detecta daño fisiológico a nivel de aparato fotosintético, ni a nivel de integridad de membranas. Existe disminución de tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y del contenido relativo de agua, sin embargo, las plántulas se recuperan en menos de 48 horas posteriores al choque térmico.

### **4.6. LITERATURA CITADA**

- Abbas S. M. 2012. Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 8:268–286.
- Allen D. J. and D. R. Ort. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants. *Trends in Plant Science*. 6:36-42.
- Argente L., L. González, C. Ávila y R. Aguilera. 2006. Comportamiento del contenido de agua y la concentración de pigmentos fotosintéticos de variedades de trigo cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos tropicales* 27(3): 49-53.
- Baker N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review Plant Biology* 59:89-113.

- Barrero-Gil J., R. Huertas, J. L. Rambla, A. Granell and J. Salinas. 2016. Tomato plants increase their tolerance to low temperature in a chilling acclimation process entailing comprehensive transcriptional and metabolic adjustments. *Plant, Cell and Environment* 39:2303-2318.
- Barrs H. and P. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Science* 15:413-428.
- Binotti F. da S. F., K. Iwamoto H., E. Duarte C., C. Zaratín A., M. E. de Sá and O. Arf. 2008. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. *Acta Scientiarum Agronomy* 30(2): 247-254.
- Björkman O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170:489-504.
- Campos P. S., V. L. Quartín, J. C. Ramalho and M. A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal Plant Physiology* 160:283–292.
- Chen H. H., Z. Y. Shen and P. H. Li. 1981. Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop Science Society of America* 22(4):719-725.
- Chinnusamy V., J. Zhu and J. K. Zhu. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends Plant Science* 12:444–451.
- Conviron. 2009. PGW36 Walk-in Plant Growth Data Sheet. Canada, Conviron: 8. Available online at: <http://datasheets.globalspec.com/pdf/viewpdf?partId={C8676EB1-A0C8-408B-AA6E-2CCBB5B2EE55}&vid=119913&comp=2116&r=1&from=detail> (Jul/2017).
- Day T. A., E. H. DeLucia and W. K. Smith. 1990. Effect of soil temperature on stem sap flow, shoot gas exchange and water potential of *Picea engelmannii* (Parry) during snowmelt. *Oecologia* 84:474–481.
- Day T. A., S. A. Heckathorn and E. H. DeLucia. 1991. Limitations of photosynthesis in *Pinus taeda* L. (Loblolly pine) at low soil temperatures. *Plant Physiology* 96:1246–1254.

- DeLucia E. H. 1986. Effect of soil temperature on net photosynthesis, stomatal conductance and carbohydrate concentration in Engelmann spruce (*Picea engelmannii* Parry ex Engelm) seedlings. *Tree Physiology* 2:143–154.
- Francisco-Francisco N. y A. Benavides-Mendoza. 2014. Impacto de la salinidad y la temperatura diurna sobre la fluorescencia de la clorofila en fresa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 5(1):157-162.
- Gao C., D. Xing, L. Li and L. Zhang. 2008. Implication of reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction in the early stages of plant programmed cell death induced by ultraviolet-C overexposure. *Planta* 227:755–767.
- Ghobadi M., S. Taherabadi, M.E. Ghobadi, G.R. Mohammadi and S. Jalali-Honarmand. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Industrial Crops and Products* 50(0):29-38.
- González M. E. and D. M. Barrett. 2010. Thermal, high pressure, and electric field processing effects on plant cell membrane integrity and relevance to fruit and vegetable quality. *Journal of Food Science* 75(7): 121-130.
- González-M. S., V. H. Perales y M. O. A. Salcedo. 2008. 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.
- Graham L. E., J. M. Graham and L. Wilcox. W. 2003. *Plant biology*. Prentice Hall, Pearson Education, inc. Upper Saddle River. 497 p.
- Ilan N., N. Moran and A. Schwartz. 1995. The role of potassium channels in the temperature control of stomatal aperture. *Plant Physiology* 108:1161–1170.
- Kalma, J. D., Laughlin, G. P., Caprio, J. M., Hamer, P. J. C. 1992. *The Bioclimatology of Frost: Its Occurrence, Impact and Protection (Advances in Bioclimatology)*. Berlin; New York: Springer-Verlag. pp 139.

- Knorr D., A. Angersbach, M. N. Eshtiaghi, V. Heinz and D. U. Lee. 2001. Processing concepts based on high intensity electric field pulses. *Trends in Food Science and Technology* 12: 129–35.
- Kocheva K. V., G. V. Georgiev and V. K. Kochev. 2005. A diffusion approach to the electrolyte leakage from plant tissues. *Physiologia Plantarum* 125: 1-9.
- Kratsch H. A. and R. R. Wise. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environment* 23:337–350.
- Lukatkin A. S., A. Brazaityté, C. Bobinas and P. Duchovskis. 2012. Chilling injury in chilling – sensitive plants: a review. *Žemdirbystė=Agriculture* 99(2):111-124.
- Mahajan S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139–158.
- Munir S., H. Liu, Y. Xing, S. Hussain, B. Ouyang, Y. Zhang, H. Li and Z. Ye. 2016. Overexpression of calmodulinlike (ShCML44) stress-responsive gene from *Solanum habrochaites* enhances tolerance to multiple abiotic stresses. *Scientific Reports* 31772(6):1-20.
- Murray M. B., J. N. Cape and D. Fowler. 1989. Quantification of frost damage in plant tissues by rates of electrolyte leakage. *New Phytologist* 113: 307-311.
- Nobel P. S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press, Inc., San Diego, CA. 635 p.
- Pearce R. S. 2001. Plant freezing and damage. *Annals of Botany* 87:417-424.
- Prášil I., and J. Zámečník. 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. *Environmental and Experimental Botany* 40: 1-10
- Rohaček K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* 40(1), 13-29.

- Salisbury F. B. and C. W. Ross. 1992. Plant physiology. 4th edition. Wadsworth publishing CO., Belmont, CA. 682 p.
- Sánchez-Urdaneta A., B., C. B. Peña-Valdivia, C. Trejo, J. R. Aguirre R., E. Cárdenas y A.B. Galicia J. 2003. Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado bajo déficit de humedad. *Interciencia* 28(10): 597-603.
- SAS. 2017. Statistical Analysis System, Software version 9.4, SAS Institute, Cary, NC USA.
- Sassenrath G. F., D. R. Ort and A. R. Portis. 1990. Impaired reductive activation of stromal bisphosphatases in tomato leaves following low temperature exposure at high light. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 282:302–308.
- Siddiqui K. S. and R. Cavicchioli. 2006. Cold-adapted enzymes. *Annual Review of Biochemistry* 75:403–433.
- Taiz L. and E. Zeiger. 2002. Plant physiology. 3rd edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA. 690 p.
- Theocharis A., C. Clement and E. A. Barka. 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta* 235:1091–1105.
- Van der Ploeg A. and E. Heuvelink. 2005. Influence of sub-optimal temperature on tomato growth and yield: A review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80:652–659.
- Vásquez-Tello A., Y. Zuily-Fodil, A. T. T. Pham and J. B. Vieira Da Silva. 1990. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological test for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *Journal of Experimental Botany* 41(228): 827-832.
- Venema J. H., F. Posthumus, M. de Vries and P. R. van Hasselt. 1999. Differential response of domestic and wild *Lycopersicon* species to chilling under low light: growth, carbohydrate content, photosynthesis and the xanthophyll cycle. *Physiologia Plantarum* 105(1):81–88.
- Verlinden S. 2006. Flower senescence. *In*: Jordan, B.R. (Ed.). *The Molecular Biology and Biotechnology of Flowering*. CABI Publishing. pp:150-177.

- Warrier R. R., M. Paul and M. V. Vineetha. 2013. Estimation of salicylic acid in eucalyptus leaves using spectrophotometric methods. *Genetics and Plant Physiology* 3(1-2):90-97.
- Wilkinson S., A. L. Clephan and W. J. Davies. 2001. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid. *Plant Physiology* 126:1566–1578.
- Yadav S. K. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30:515–527.
- Zhou J., J. Wang, K. Shi, X. X. Jian, Y. Z. Hong and J. Y. Quan. 2012. Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 60:141-149.

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN GENERAL

En la naturaleza, el estrés por baja temperatura causa efectos adversos en la sobrevivencia y fisiología de plántulas de tomate. En este estudio se realizaron algunas evaluaciones para determinar el comportamiento de familias de tomate semicultivado que se considera tiene tolerancia al frío.

La caracterización de la cámara de simulación de bajas temperaturas, sirvió para comprobar y verificar la precisión de la temperatura de manera horizontal y vertical, obteniendo que en el plano horizontal varía  $\pm 0.5$  °C, mientras que perpendicularmente se modifica  $\pm 0.6$  °C, respectivamente. La variación horizontal se encuentra dentro de los modelos de cámaras de crecimiento vegetal, que es de  $\pm 1$  de la temperatura objetivo. Varias empresas que ofrecen equipos para control de temperatura reportan la precisión del control de temperatura entre 0.5 y 1 °C. La empresa Conviron (<http://www.convion.com>) reporta para sus modelos de cámaras de crecimiento PGW36 y BDW120 una precisión de 0.5 °C, en tanto que Terra Universal, Inc. (<https://www.terrauniversal.com/>) reporta para el modelo 1695 una estabilidad de  $\pm 0.5$  °C en tanto que el modelo 2148 tiene la precisión es de  $\pm 1$  °C.

La sobrevivencia de las variedades comerciales de tomate en los distintos tratamientos resultó que a -2 °C (2 h) produjo un porcentaje sobrevivencia de 88, entre tanto, -4 °C (2 h) mostró 34% de sobrevivencia, por consiguiente, la temperatura de exposición en condiciones de frío afecta el porcentaje de sobrevivencia, reflejado en una reducción del 61% de las plántulas que sobreviven. De los cuatro genotipos de tomates comerciales que se utilizaron no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de sobrevivencia por tratamiento.

La intensidad y duración de exposición a la temperatura baja (-4 °C (2 h)) no produjo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la sobrevivencia de tomates semicultivados, sin embargo, de las catorce familias evaluadas, las accesiones 102-2, 90-1 y 94-2(1) presentaron el mayor porcentaje de sobrevivencia con 61, entre tanto, las familias 127-2, 53-2 y 55-1 obtuvieron el menor porcentaje

de sobrevivencia de entre 53-54%, entretanto, la combinación -4 °C durante 2h ocasionó que los tomates semicultivados sobrevivieran 44% más que las variedades cultivadas.

Por su parte, Munir *et al.* (2016) encontraron que el porcentaje de sobrevivencia en plantas transgénicas y nativas a 4 °C durante 3 d y un testigo (25 °C) se redujo en las plántulas de tomate a temperatura baja, sin embargo, las líneas transgénicas mostraron un porcentaje de sobrevivencia significativamente mayor (52.7%) en comparación con las plantas nativas. Barrero-Gil *et al.* (2017) concluyen que, de acuerdo con sus hallazgos, la exposición a 10 °C durante 4 días induce a la aclimatación al frío del tomate, aumentando sustancialmente ( $\geq 50\%$ ) el tiempo que las plantas de tomate pueden sobrevivir a una baja temperatura prolongada (4 °C). No obstante, a pesar de esta tolerancia aumentada a 4 °C, las plantas de tomate aclimatadas por frío todavía son sensibles a las temperaturas de congelación. La sobrevivencia de las plantas a temperaturas de congelación depende de su capacidad de aclimatación al frío (McKhann *et al.*, 2008). Sin embargo, en la aclimatación al frío, las plantas adquieren tolerancia al estrés con la exposición previa a temperaturas subóptimas, bajas y no de congelación; varias especies de plantas difieren de su capacidad para enfrentar el estrés por frío, que se rige por cambios en la expresión genética para alterar su metabolismo, fisiología y crecimiento (Chinnusamy *et al.*, 2010).

Las plantas sometidas a baja temperatura redujeron 41% su tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> comparadas con su similar sin tratamiento, entre tanto, el día 14 las plantas tratadas con frío presentaron 10% menos de asimilación de CO<sub>2</sub>. Zhou *et al.* (2012) indicaron que la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> no fue detectable en las plantas durante el tratamiento de frío. Después de una recuperación de 1 d en condiciones óptimas, la asimilación de CO<sub>2</sub> de las plantas tratadas con temperatura fría fue 60.8% menor respecto al testigo. Por su parte, Munir *et al.* (2016) analizaron plantas de tomate transgénico y nativo bajo condiciones de estrés por frío (4 °C) por 3 d y testigo (25 °C) y encontraron que las plantas testigo presentaron mayor tasa asimilación de CO<sub>2</sub> que las plántulas a 4 °C, además las líneas transgénicas tuvieron una tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> del 86.11% más alta que las plantas silvestres bajo estrés por frío.

El primer día las plantas bajo condición de baja temperatura presentaron una conductancia estomática 2 veces mayor que las plantas testigo, esto nos indica que debido a la baja temperatura hubo mayor cierre estomático, como medida fisiológica para evitar la pérdida de agua de las células

y la acumulación de energía para su posterior recuperación Zhou *et al.* (2012) encontraron que la conductancia estomática fue el doble en plantas testigo en comparación con las plantas tratadas. Por su parte, Munir *et al.* (2016) obtuvieron que las plantas de tomate nativo tuvieron 1165.09% menor conductancia estomática en relación a las líneas transgénicas en condiciones de estrés térmico a 4 °C por 3 d. El cierre estomático se convierte en una de las primeras y más importantes respuestas de la planta cuando está sometida a condiciones de estrés. Sin embargo, el cierre estomático conlleva a la disminución de la fijación de CO<sub>2</sub>, que bajo condiciones de luminosidad puede generar sobreexcitación de los centros de reacción del fotosistema II (PSII) (Ahmed *et al.*, 2009) y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Ghobadi *et al.*, 2013).

La transpiración fue 41% menor en las plántulas tratadas con temperatura fría que su similar sin tratamiento térmico, para el primer día de medición, por otro lado, Munir *et al.* (2016) encontraron que la transpiración fue significativamente más alta (126.21%) en líneas de tomates transgénico que las plantas del tipo nativo, estas últimas tuvieron valores de transpiración en las plantas tratadas a temperatura fría (4 °C (3 d)) de 0.25 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, en cambio las plantas nativas testigo (25 °C por 3 d) tuvieron valores de 2.7 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. La velocidad de transpiración es más rápida cuando la temperatura del aire está entre 20 °C y 30 °C (Moore *et al.*, 2013). A estas temperaturas, las aberturas estomáticas son generalmente mayores. En general, los estomas se cierran a temperaturas alrededor de 0 °C y aumentan progresivamente en la abertura hasta aproximadamente 30 °C (Devlin, 1975).

La disipación fotoquímica presentó un aumento del 16% en las plántulas con tratamiento térmico comparadas con el testigo, un día después haber dado el tratamiento, sin embargo, el comportamiento de la qP presenta un descenso que le atribuye a que las plántulas presentaron fotoinhibición. Zhou *et al.* (2012) demostraron que las plantas de tomate son sensibles al frío, incluso bajo intensidades de luz moderadas, ya que encontraron fuertes disminuciones en la asimilación de CO<sub>2</sub> y Fv/Fm después de la condición de frío, porque la disminución en la asimilación de CO<sub>2</sub> se produjo concomitantemente con disminuciones en el Fv/Fm, Φ<sub>PSII</sub>, NPQ y qP, la reducción observada en la fotosíntesis fue principalmente atribuible a la fotoinhibición durante el proceso de frío. Esta fotoinhibición produjo una reducción en ambas atenuaciones fotoquímicas (qP) y atenuación no fotoquímica (NPQ). Se tiene documentado que los valores para el rendimiento cuántico del fotosistema II es casi constante para muchas especies de plantas bajo

diferentes condiciones es de 0.83 (Björkman y Demmig 1987), comparando los resultados obtenidos en esta investigación (0.22-0.37) las plantas se encuentran por debajo de los reportados en la literatura.

El contenido relativo de agua refleja que el tratamiento sometido a baja temperatura  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 h) muestra 80.16% de CRA, es decir pierde 10% más de agua que el testigo (88.17%). Las familias de tomates semicultivados 83-2, 90-1, 97-8, 100-1 y 130-2 mostraron una respuesta negativa ante la exposición a la condición térmica, ya que fueron las accesiones que mayor pérdida de agua presentaron. Darcansoy *et al.* (2013) mostraron que dieciséis horas de estrés por frío causan una reducción significativa en el contenido relativo de agua del control y grupos de tratamiento no aclimatados ( $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (16 h)) cuando se compararon con plantas no sometidas a estrés ( $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 16 h). Las plantas expuestas al estrés por frío a menudo muestran síntomas de estrés hídrico debido a la inhibición inducida por el frío de la absorción de agua y la pérdida de agua. La pérdida de agua se relaciona principalmente con la pérdida de las propiedades de la membrana o la transición de las membranas desde un estado fluido normal a un estado semicristalino restringido, menos fluido (Wright, 1974).

El daño en la permeabilidad de la membrana fue cuantificado mediante la conductividad eléctrica del tejido vivo y muerto en medio acuoso. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la estabilidad de la membrana no fue dañada, pues los valores de conductividad eléctrica no se vieron alterados, por lo tanto, para las temperaturas analizadas ( $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2h) y testigo ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) no se detectó daño alguno en la permeabilidad y estabilidad de la membrana. El estrés por frío frecuentemente daña la membrana celular en las plantas (Mahajan y Tuteja, 2005), lo que puede determinarse por la pérdida relativa de electrolitos (Campos *et al.*, 2003). Así, Munir *et al.* (2016) encontró un incremento en las plantas tratadas con estrés por frío ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (3 d)) en la fuga relativa electrolítica, sin embargo, fue significativamente más baja en las plantas transgénicas de tomate que en el tipo nativo (*Solanum habrochaites*).

## LITERATURA CITADA

- Ahmed C.B., B. B. Rouina, S. Sensoy, M. Boukhris and F.B. Abdallah, 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany* 67: 345-352.
- Barrero-Gil J., R. Huertas, J. L. Rambla, A. Granell and J. Salinas. 2016. Tomato plants increase their tolerance to low temperature in a chilling acclimation process entailing comprehensive transcriptional and metabolic adjustments. *Plant, Cell and Environment* 39:2303-2318.
- Björkman O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170:489-504.
- Campos P. S., V. L. Quartin, J. C. Ramalho and M. A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal Plant Physiology* 160:283–292.
- Conviron. 2009. PGW36 Walk-in Plant Growth Data Sheet. Canada, Conviron: 8. Available online at: <http://datasheets.globalspec.com/pdf/viewpdf?partId={C8676EB1-A0C8-408B-AA6E-2CCBB5B2EE55}&vid=119913&comp=2116&r=1&from=detail> (Jul/2017).
- Chinnusamy V., J. K. Zhu and R. Sunkar. 2010. Gene regulation during cold stress acclimation in plants. *Methods Molecular Biology* 639:39–55.
- Darcansoy Ö. İ., D. K. Aksoy, F. S. Iffet and M. Haberal. 2013. Hydrogen peroxide pretreatment of roots enhanced oxidative stress response of tomato under cold stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 35(6):1905-1913.
- Devlin R. 1975. *Plant physiology*. New York, N.Y: D. Van Nostrand Company. 600 p.
- Ghobadi M., S. Taherabadi, M.E. Ghobadi, G.R. Mohammadi and S. Jalali-Honarmand. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower

- (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Industrial Crops and Products* 50(0):29-38.
- Mahajan S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139–158.
- McKhann H., C. Gery, A. Berard, S. Leveque, E. Zuther, D Hinch, S. De Mita, D. Brunel and E. Teoule. 2008. Natural variation in CBF gene sequence, gene expression and freezing tolerance in the Versailles core collection of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 8:105.
- Moore R., W. D. Clark and D. S. Vodopich. 2003. *Botany*. 2nd ed. New York. McGraw-Hill Companies, Inc. pp 496-520.
- Munir S., H. Liu, Y. Xing, S. Hussain, B. Ouyang, Y. Zhang, H. Li and Z. Ye. 2016. Overexpression of calmodulinlike (ShCML44) stress-responsive gene from *Solanum habrochaites* enhances tolerance to multiple abiotic stresses. *Scientific Reports* 31772(6):1-20.
- Wright M. 1974. The effect of chilling on ethylene production, membrane permeability, and water loss of leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 120:63–69.
- Zhou J., J. Wang, K. Shi, X. X. Jian, Y. Z. Hong and J. Y. Quan. 2012. Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 60:141-149.

## **CONCLUSIONES GENERALES**

En tomate comercial la combinación de  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2h resulto en menos del 50% de sobrevivencia.

Las familias de tomate semicultivado presentaron en promedio 58% de sobrevivencia mientras que las variedades comerciales obtuvieron 34%, ambas expuestas a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2h.

En plántulas sobrevivientes no se detecta daño fisiológico a nivel de aparato fotosintético, ni a nivel de integridad de membranas. Existe disminución de tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  y del contenido relativo de agua, sin embargo, las plántulas se recuperan en menos de 48 horas posteriores al choque térmico.