

Tolerancia de la progenie de frijol silvestre y domesticado a temperaturas extremas

Martha E. Morales Santos¹; Cecilia B. Peña-Valdivia^{2*} ; Antonio García-Esteva² ; Gisela Aguilar Benítez³ ; Rodolfo García Nava¹ 

¹ Programa de Recursos Genéticos y Productividad, Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. 56264. México.

² Programa de Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. 56264. México.

³ Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 78377. Altair 200, Colonia del Llano, San Luis Potosí, México.

LGAC-CP: Cambio Climático, Estrés en Plantas y Mitigación

Fisiología Vegetal para la Innovación en la Producción Agrícola Sustentable

* Autor para correspondencia: cecilia@colpos.mx

Problema

De acuerdo con los modelos predictivos, el cambio climático global impactará negativamente el desarrollo, la reproducción y el rendimiento en ecosistemas naturales y agrícolas. Esto debido a condiciones ambientales poco favorables para las plantas, particularmente por sequías, aumento de la temperatura media anual global y las olas de calor; además, los episodios atípicos de temperaturas bajas, precipitaciones y heladas siguen presentándose en diversas regiones globalmente. Los efectos de las temperaturas que generan estrés en las plantas depende de la duración y tiempo de exposición, la sensibilidad de las especies, la etapa de desarrollo en la que se encuentre la planta y de su adaptación a esa condición; las alteraciones se describen como estrés por frío o estrés por calor. Ambos inducen disfunción de los sistemas de membranas (plasmalema, tonoplasto, envoltura y tilacoide en los cloroplastos, mitocondrias, retículo endoplásmico y aparato de Golgi), que pierden la capacidad de mantener iones (como Na^+ , K^+ , Ca^{++} , PO_4^- y otros) y ciertas moléculas (como azúcares, aminoácidos y otras) dentro de los espacios celulares. Por esto, el contenido celular puede ser expulsado al medio en el que se encuentren los tejidos. Esa liberación, específicamente de los electrolitos, es equivalente a la conductividad eléctrica del medio en el que se encuentren los tejidos, la que se incrementa con el nivel de daño en las membranas y es una indicadora de resistencia o sensibilidad al estrés. Esa evaluación ha permitido identificar genotipos tolerantes o sensibles al estrés abiótico en soya (*Glycine max*), arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum*) y chile (*Capsicum annuum*) (Kovaleski y Grossman, 2021).

Cómo citar: Morales-Santos, M.E., Peña-Valdivia, C.B., García-Esteva, A., Aguilar-Benítez, G., García-Nava, R. (2024). Tolerancia de la progenie de frijol silvestre y domesticado a temperaturas extremas. *Agro-Divulgación*, 4(6). <https://doi.org/10.54767/ad.v4i6.431>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Diciembre 2024.

Agro-Divulgación, 4(6). Noviembre-Diciembre. 2024. pp: 89-99.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



Las temperaturas extremas afectan al cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), ya que alteran el establecimiento del cultivo, el ciclo completo de desarrollo y la productividad. Los frijoles silvestres han mostrado resistencia al estrés por calor, déficit de humedad y algunas plagas, en contraste con los domesticados. Sin embargo, la tolerancia de la progenie de estos últimos con los silvestres ha sido poco documentada.

Solución planteada

El efecto de la temperatura, entre 5 y 40 °C, en la permeabilidad de las membranas celulares de frijol domesticado, silvestre y su progenie fue evaluado en la cinética de liberación de electrolitos y los índices de daño en sus hojas.

Materiales evaluados

Plantas de las siguientes variantes de *P. vulgaris* L. fueron cultivadas en un invernadero de polietileno, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Municipio de Texcoco, Estado de México (19° 31' N, 98° 53' O; 2353 m de altitud); (a) domesticados (Figura 1): cultivares Bayo Mecentral y Negro Tacaná; (b) silvestres (Figura 2): Chihuahua, Durango Típico y S13 y (c) líneas derivadas de la cruce entre el cv. Negro Tacaná y el silvestre S13 (Figura 3), identificadas como 3.3, 11.1, 51b, 53b y 118b por el Dr. Jorge Acosta Gallagos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.



Figura 1. Semillas de frijol domesticado de los cultivares Bayo Mecentral y Negro Tacaná.



Figura 2. Semillas de frijol silvestre de las recolectas Chihuahua, Durango Típico y S13.

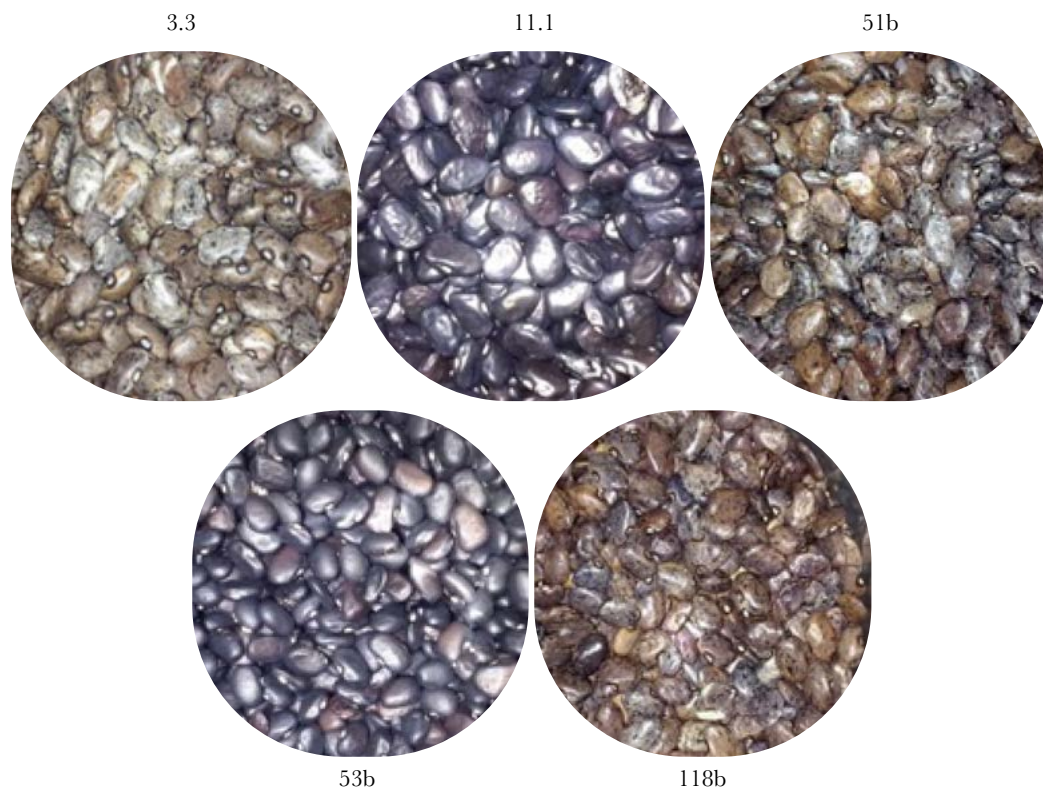


Figura 3. Semillas de líneas, 3.3, 11.1, 51b, 53b y 118b, derivadas de la cruce del cv. Negro Tacaná con el silvestre S13.

Las semillas (escarificadas con un corte en la testa, en el lado opuesto al micrópilo, con bisturí) fueron sembradas a 4 cm de profundidad en tezontle (tamaño de partícula ≤ 0.5 cm), contenido en charolas de material plástico (49×36×18 cm; 15 semillas por charola con seis repeticiones). El tezontle se mantuvo húmedo mediante riego con agua dos o tres veces por semana, desde la siembra hasta que las hojas primarias estuvieron completamente desplegadas. Luego las plantas se regaron con solución Steiner (presión osmótica de 0.018, 0.036, 0.054 MPa.) por 8 días, y durante el resto del cultivo el riego fue con dicha solución a 0.072 MPa.

Evaluación de la permeabilidad de las membranas celulares mediante la conductividad eléctrica (CE)

La liberación de electrolitos fue evaluada en el tejido foliar mediante la CE generada en el medio acuoso (Kovaleski y Grossman, 2021). La longitud y anchura del primer trifolio fueron registradas diariamente hasta su máximo crecimiento. Estos trifolios fueron cosechados (entre las 9 y 10 am), enjuagados con agua destilada y colocados individualmente en tubos de ensayo de vidrio. Los tubos se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Seedburo; Modelo ATTGPT-B; con luz blanca, equivalente a radiación fotosintéticamente activa de $18.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y temperatura constante de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 ± 1 °C durante 3 h. Después, cuatro círculos fueron obtenidos de los folíolos, con un sacabocados (0.636 cm^2), enjuagados brevemente con agua destilada (para eliminar los

residuos de la zona de corte) y pesados en una balanza analítica (Scentiech; SA120; precisión de ± 0.0001 g). Los círculos fueron colocados en vasos de vidrio con 5 mL de agua desionizada y con agitación orbital (120 rpm), a 25 ± 2 °C, durante 3 h. La CE del medio acuoso fue cuantificada al inicio (tiempo cero) y cada 30 min, en 100 μ L del medio, con un conductímetro (Horiba B-173); estos valores correspondieron a la CE del tejido vivo (CETV). Después de 3 h de lecturas, el tejido foliar fue extraído del medio acuoso, empaquetado con “papel aluminio” y congelado con nitrógeno líquido. El tejido se transfirió a 5 mL de agua desionizada y la CE del medio acuoso fue cuantificada en la forma descrita para el tejido vivo. Esta CE correspondió al total de electrolitos del tejido muerto (CETM). La conductividad fue expresada en μ S cm^{-1} 100 mg^{-1} de tejido.

Evaluación del daño en las membranas celulares

La funcionalidad e integridad de las membranas celulares fue cuantificada mediante el índice de daño (*Id*) con la siguiente ecuación:

$$Id(\%) = \left(\frac{CETV - CE0}{Rf - CE25} \right) \times 100$$

donde *Id*: índice de daño, *CETV*: CE del medio con el tejido vivo con cada temperatura entre 5 y 40 °C (excepto 25 °C), *CE0*: CE inicial (tiempo cero), *CE25*: CE con la temperatura óptima (25 °C) y *CETM*: CE del medio con el tejido muerto (Kovaleski y Grossman, 2021).

El estudio fue desarrollado con un diseño experimental completamente al azar, con 81 tratamientos (derivados de la combinación de nueve variantes y nueve temperaturas) y seis repeticiones, cada una representada por una planta. Los resultados fueron analizados con ANDEVA y comparación múltiple de medias de Tukey. Los resultados fueron graficados con el software SigmaPlot 11.00 (versión libre).

Alteraciones en la liberación de electrolitos por temperaturas extremas

La cinética de la liberación de electrolitos, equivalente a la CE del medio, del tejido vivo de las nueve variantes mostró dos fases, en cada una se identificó la CE mínima (a los 30 o 60 min) y la máxima (a las 3 h). La primera fase fue acelerada y en la segunda la CE se estabilizó o incrementó lentamente en la mayoría de los tratamientos (Figura 4A-B, Figura 5A-C, Figura 6A-D). La primera fase de las líneas 3.3 y 11.1 no fue acelerada y la liberación inicial de electrolitos, con las ocho temperaturas (de 5 a 40 °C), se presentó después de los primeros 30 min. La cinética de liberación de electrolitos del tejido vivo de ambos cultivos mostró que con 5 y 40 °C la CE inicial y la final fue significativamente ($P \leq 0.05$) menor comparada con el intervalo entre 10 y 35 °C. Además, únicamente en Bayo Mecentral las cinéticas no fueron diferentes con ambas temperaturas extremas. Con 5 y 40 °C la CE inicial en este cultivar fue $7.10 \mu\text{S cm}^{-1}$ 100 mg^{-1} e incrementó, en promedio, al triple o más con 10 a 35 °C. Sin embargo, la liberación máxima de electrolitos en Bayo Mecentral mostró los valores mayores ($22 \mu\text{S cm}^{-1}$ 100 mg^{-1}) con 15 y 35 °C y en Negro Tacaná ($23.5 \mu\text{S cm}^{-1}$ 100 mg^{-1}) fue con 25 °C (Figura 4A-B). Las diferencias indicaron efecto de la temperatura dependiente del cultivar.

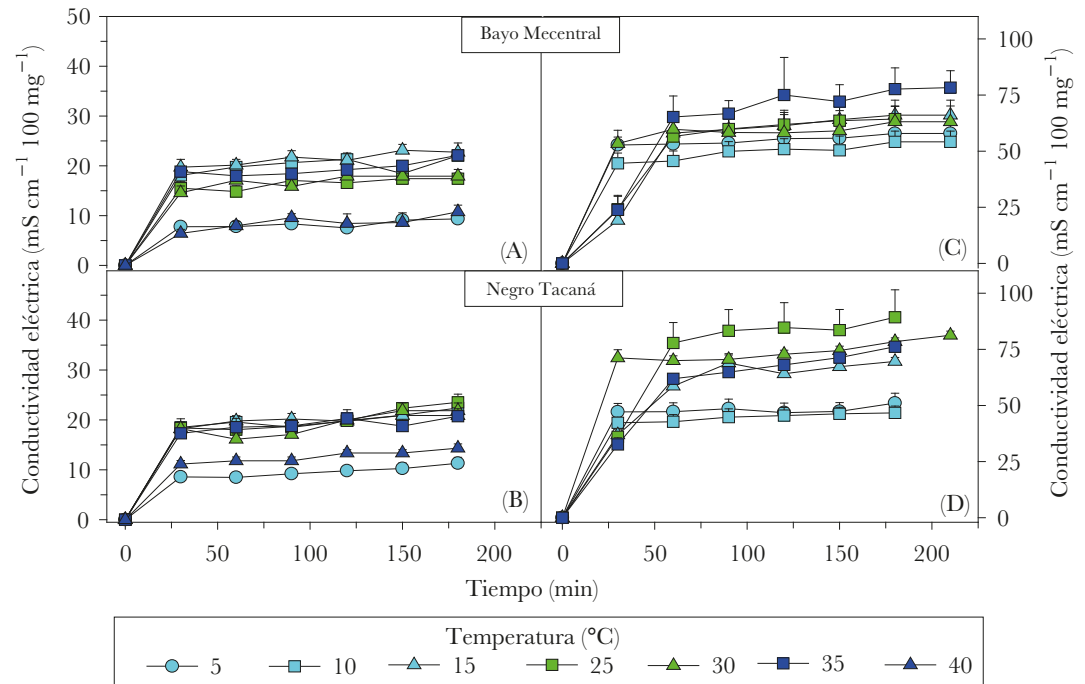


Figura 4. Conductividad eléctrica (+e.e.) del medio acuoso con tejido foliar vivo (A, B) o tejido muerto (C, D) de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) domesticado, previamente mantenido durante 3 h con las temperaturas señaladas (n=6).

Las variantes silvestres Chihuahua y Durango Típico no mostraron diferencias (8.0 a $13.8 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$) en la CE inicial entre las temperaturas, aunque no hubo una tendencia única. En contraste, en CE inicial S13 sí mostró un gradiente dependiente de la temperatura, con la CE menor con 5 y 40 °C ($10 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$) y las mayores (15 a $19 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$) con 15 , 30 y 35 °C. La CE máxima en algunos tratamientos de los frijoles silvestres no cambió respecto a CE inicial (Figura 5A-C). Este fue el caso de Durango Típico; en contraste S13 tuvo incrementos de hasta 30% con 25 a 35 °C (Figura 5A-C).

Lo anterior indica que el tejido foliar de las variantes silvestres del estudio fueron afectadas parcialmente diferente con las temperaturas entre 5 y 40 °C y es evidencia indirecta de que los electrolitos liberados al medio difieren en cantidad, tipo o ambos. La cinética de liberación de electrolitos de las líneas 3.3 y 11.1 fue atípica si se compara con las del resto de tratamientos; ya que, ambas tuvieron una fase lag, sin cambio en los primeros 30 min, otra fase de incremento acelerado entre los 30 o 60 min y luego la fase de liberación lenta que se extendió por 120 o 150 min. La CE inicial de las cuatro selecciones de la progenie fue menor con 35 °C. La fase lenta prácticamente no fue modificada por las temperaturas ($P > 0.05$) en las selecciones (Figura 6A-C).

La selección 3.3 con el incremento mayor con algunas temperaturas, comparada con las otras selecciones, mostró 19% de incremento de la CE entre la primera y tercera hora, con 10 y 35 °C (Figura 6A-B). La CE mayor de los tejidos foliares vivos de Negro Tacaná y de S13 con temperatura entre 10 y 35 °C fue de alrededor de $22 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$

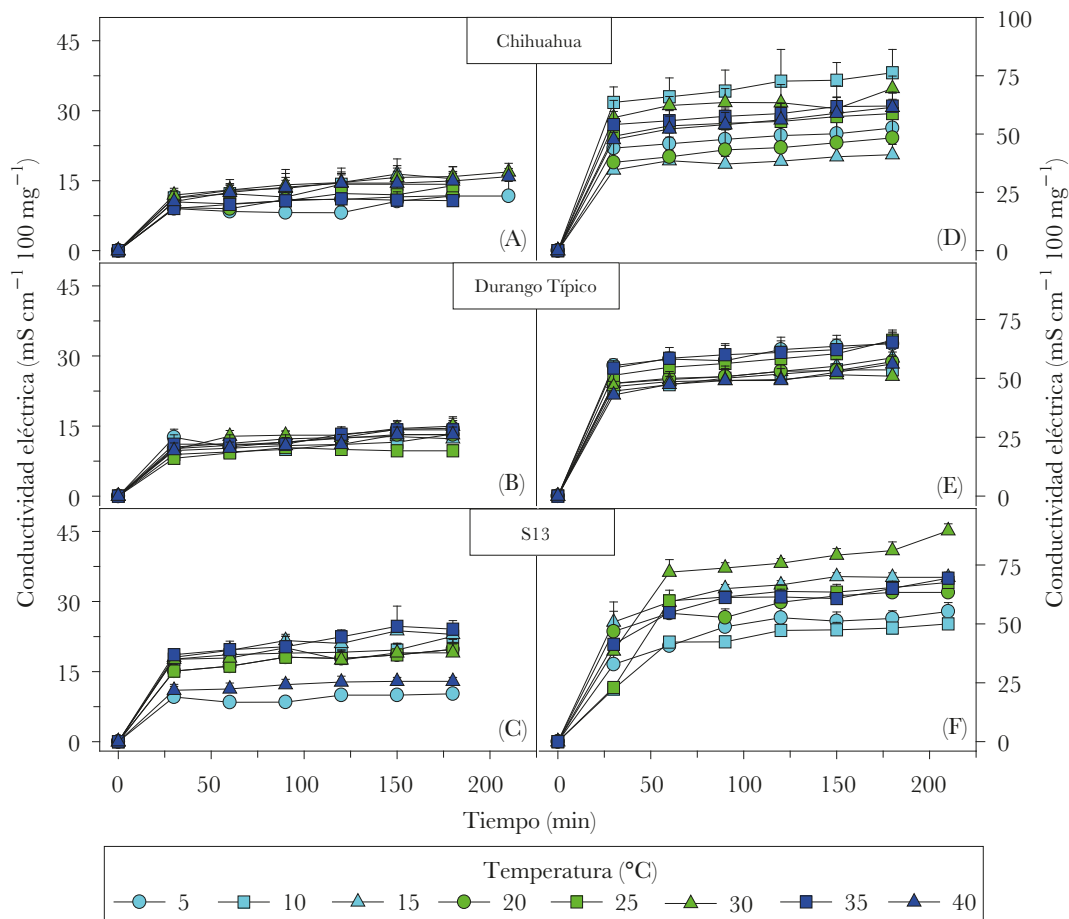


Figura 5. Conductividad eléctrica (+e.e.) del medio acuoso con tejido foliar vivo (A-C) o tejido muerto (D-F) de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, previamente mantenido durante 3 h con las temperaturas señaladas (n=6).

y ninguna de las selecciones de su progenie alcanzó esos valores; en promedio las cuatro selecciones mostraron 33% menos liberación de electrolitos comparadas con los progenitores (Figura 4-6). Estos resultados indican que la progenie de frijol silvestre y domesticado, puede expresar características excepcionales diferentes a las de los progenitores en la funcionalidad de las membranas celulares y su alteración por frío y calor. Además, los tejidos foliares de los cultivares mostraron más susceptibilidad a pérdida de funcionalidad de sus membranas y aumento de su permeabilidad por temperaturas extremas, en comparación con los silvestres y las selecciones.

Conductividad eléctrica del tejido por liberación total de electrolitos (tejido muerto)

La liberación de electrolitos del tejido muerto por congelación permite reconocer indirectamente el contenido total de estos en los tejidos; ya que, las membranas celulares habrán perdido totalmente su funcionalidad en el tejido después de descongelarse. Así, la liberación pasiva de electrolitos permite reconocer la pérdida de la funcionalidad de las membranas celulares en los tejidos muertos (Kovaleski y Grossman, 2021).

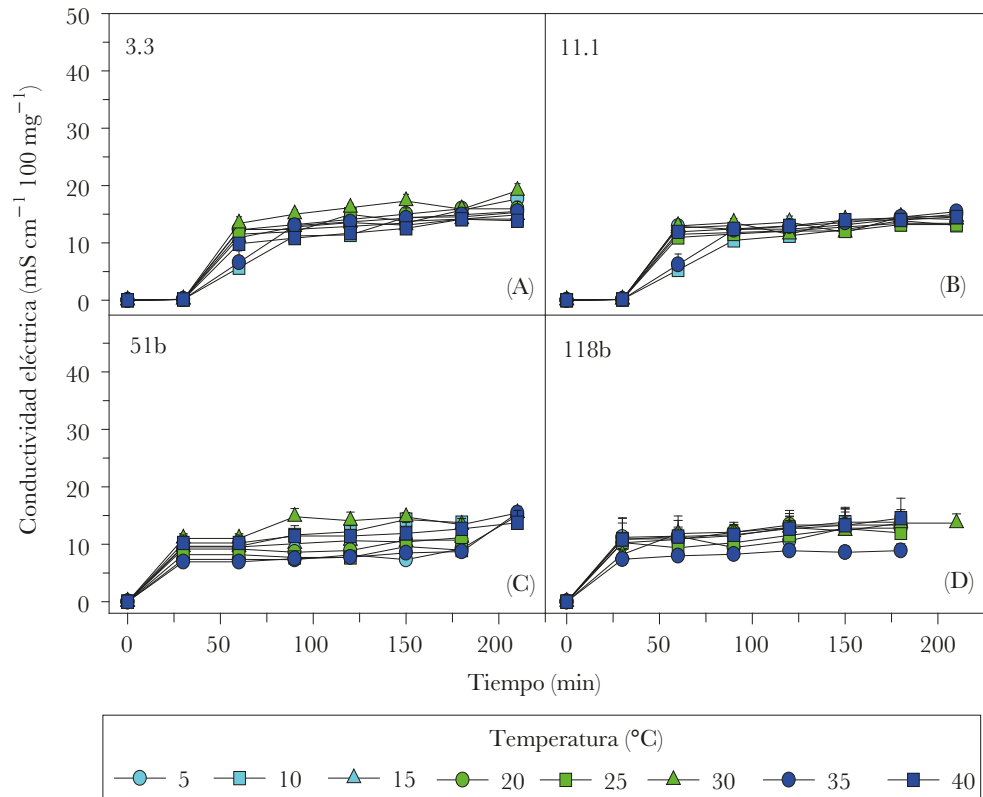


Figura 6. Conductividad eléctrica (+e.e.) del medio acuoso con tejido foliar vivo, previamente mantenido durante 3 horas con las temperaturas indicadas, de las líneas de la cruz del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre S13 y el domesticado Negro Tacaná (n=6).

La cinética de liberación total de electrolitos (en tejido muerto), independientemente de la temperatura a la que se expusieron previamente las hojas, mostró dos fases, la única excepción fue la progenie 3.3, con tres fases. En la mayoría de los tratamientos, la CE durante los primeros 30 o 60 min había alcanzado el valor máximo o cercano a él; por lo que, durante las siguientes 2.5 h el incremento fue lento cuando lo hubo. Los tratamientos en los que la fase inicial se alargó a 60 min fueron Bayo Mecentral, Negro Tacaná y S13 con temperaturas diferentes. Entre los tratamientos que mantuvieron sin cambio su CE en la segunda fase estuvieron Negro Tacaná con 5, 10, 15 y 30 °C y la línea 51b con 15 °C (Figura 4C-D, Figura 5D-F y Figura 7).

La línea 3.3 mostró al inicio una fase tipo lag, con incremento mínimo, que se extendió a 60 min con la mayoría de las temperaturas y el incremento en los siguientes 30 min, en la siguiente fase, fue significativo ($P \leq 0.05$) respecto al inicial. La CE inicial, en los tejidos previamente congelados, varió ampliamente ($P \leq 0.05$) dentro y entre las variantes y no se identificaron tendencias dependientes de la temperatura.

La variabilidad en CE máxima dentro de las variantes silvestres, en la mayoría de los tratamientos mantuvo las mismas tendencias que en la primera fase. La CE máxima del tejido muerto incrementó significativamente ($P \leq 0.05$) comparada con el tejido vivo, en todos los tratamientos. Los incrementos variaron sin una tendencia identificable, entre el doble, en el cv. Negro Tacaná con 10 °C, y cerca de siete veces, en el silvestre Durango

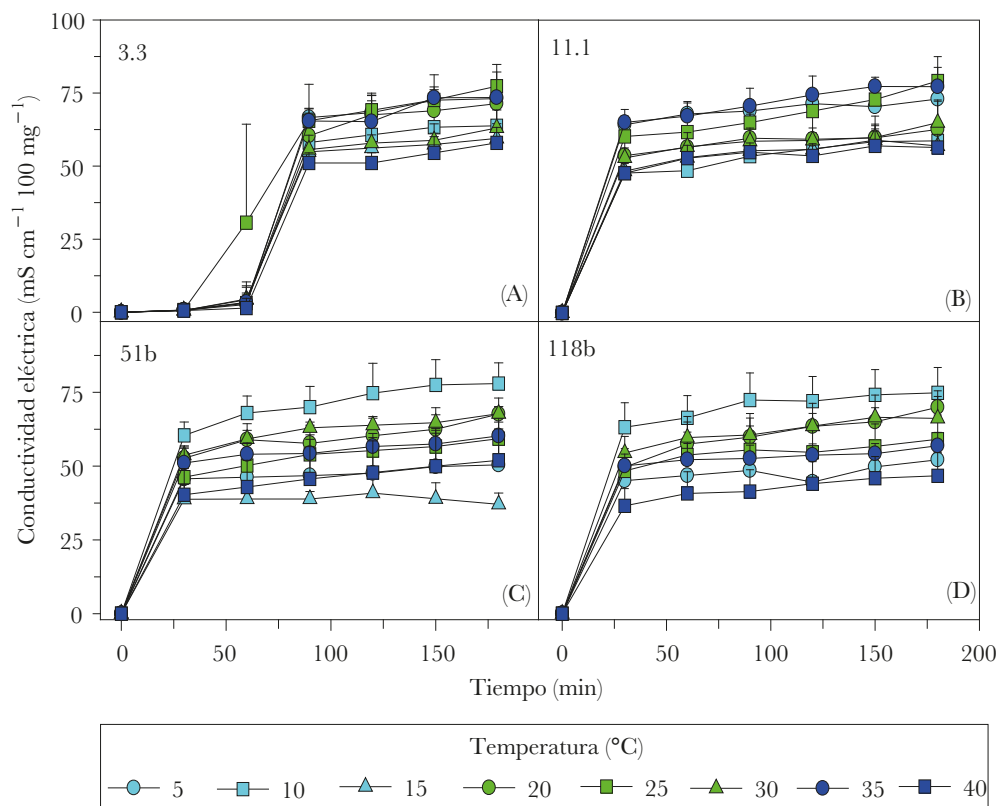


Figura 7. Conductividad eléctrica (+e.e.) del medio acuoso con tejido foliar muerto por congelación, después de haber permanecido durante 3 horas con las temperaturas indicadas, de las líneas de la cruz del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre S13 y el domesticado Negro Tacaná (n=6).

Típico con 25 °C y la selección 51b con 25 y 35 °C. Esto indica que, el tejido vivo de todos los tratamientos, aunque estuviera con estrés por frío o calor, mantuvo la funcionalidad parcial de sus membranas (Figura 4C-D, Figura 5D-F y Figura 7A-D).

Las dos fases de liberación de electrolitos se han documentado en raíz de frijol y de maíz, cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y hojas de café (*Coffea* sp.). La liberación lenta de electrolitos y el incremento paulatino de CE del medio por efecto de temperaturas bajas en tejidos vivos están asociados a los procesos físico-químicos pasivos de difusión de iones en el apoplasto. Los cambios lentos de CE en la segunda etapa se atribuyen a la actividad funcional de la membrana plasmática (o plasmalema) y la tasa de salida de electrolitos puede indicar pérdida de control de su permeabilidad. La impermeabilidad, o permeabilidad selectiva, es una de las funciones más relevante de las membranas celulares, por lo que su alteración conduce al funcionamiento incorrecto del tejido y puede causar su muerte. La cinética de liberación de electrolitos de los tejidos vivos mostró un gradiente de permeabilidad entre los tipos de frijol evaluados. Las membranas celulares foliares de la progenie mantuvieron parcialmente su permeabilidad selectiva (o impermeabilidad) independiente de la temperatura, al menos dos de las variantes silvestres mantuvieron parcialmente ese control y las de los frijoles domesticadas fueron las más alteradas o susceptibles al daño.

Índice de daño (Id)

Los índices de daño (Id) entre las variantes domesticadas, fluctuaron ($P \leq 0.05$) con las temperaturas. El cv. Bayo Mecentral mostró valores entre 5% con 40 °C y 13% con 10 y 15 °C; en general, los valores mayores se obtuvieron con las temperaturas menores. Esto indica que Bayo Mecentral es menos sensible a las temperaturas cálidas en comparación con las frías. El cv. Negro Tacaná mostró Id entre 1.2 y 10.35%; los valores mayores (alrededor de 10%) se obtuvieron con las temperaturas extremas (5 y 40 °C); los Id con valores intermedios (6%) correspondieron a temperaturas menos extremas (10 y 30 °C) y las moderadas (entre 15 y 30 °C) generaron los Id menores (entre 1 y 2%) en este cultivar. Esto indica que el tejido foliar del cv. Negro Tacaná es sensible al calor y al frío y reacciona diferente al cv. Bayo Mecentral que es mayormente sensible al frío (Figura 8A).

El Id del silvestre Chihuahua fluctuó entre 3 y 10% con 10 y 5 °C. Lo que indica estabilidad relativa de sus membranas celulares foliares a temperaturas entre 10 y 40 °C. Los Id del silvestre Durango Típico fueron mayores (8.3%) con las temperaturas extremas 5 y 40 °C, pero se observó un máximo que parece atípico a 30 °C; además, las fluctuaciones del Id de esta variante fueron poco pronunciadas, alrededor de 6 % con la mayoría de las temperaturas. La silvestre S13 fue la única que mostró un gradiente del Id relacionado con la temperatura; los mayores (10%) correspondieron a las temperaturas menores y disminuyeron (2%) con las temperaturas mayores (Figura 8B).

Los Id de las líneas de la cruz mostraron tendencias parcialmente parecidas entre sí. Con 20 °C se obtuvieron los Id menores (entre 2 y 3%) de las cuatro líneas. En contraste, con 15, 30 y 35 °C las líneas 3.3 y 51b incrementaron ($P \leq 0.05$) su Id (8% en 3.3 y 4% en 51b). Sin embargo, el efecto de las temperaturas extremas no mantuvo esa tendencia y la línea 3.3 presentó algunos Id menores con 5, 10, 40 °C.

Las líneas 11.1 y 118b mostraron estabilidad mayor en sus membranas y los Id se mantuvieron entre 1.7 y 4.1% en el primer caso y entre 2 y 6.6% en el segundo caso, independientemente de la temperatura (Figura 8C). En general entre las cuatro selecciones, las membranas celulares foliares de 51b reaccionaron mayormente a las temperaturas extremas y la línea 11.1 fue la más tolerante al frío y al calor (Figura 8C). Con excepción de la línea 51b, la progenie del frijol domesticado y silvestre mostró Id menores con todas las temperaturas (en promedio 4%) comparados con los domesticados (en promedio 7%) y los silvestres (en promedio 6%), con excepción de Durango Típico. La cuantificación de la alteración celular en los tejidos vegetales expresada como pérdida de la integridad de la membrana permite correlacionarla con los cambios que ocurren en la estructura y composición de la célula con su funcionalidad. Esto se comprobó con el incremento de la CE máxima de los tejidos muertos de todos los tratamientos, la que se triplicó o cuadruplicó respecto al tejido vivo. Los resultados experimentales comprobaron esa relación y que la relación fisiológica con la ultraestructura de la célula también puede utilizarse para medir el daño en los tejidos, aunque los síntomas no sean visuales. Las diferencias en las cinéticas de liberación de electrolitos y los Id entre las variantes de frijol de este estudio se basan en modificaciones complejas en la organización y características fisicoquímicas de los lípidos de todas las membranas celulares y en alteraciones en la funcionalidad de las proteínas de membrana encargadas del transporte de solutos a través de ellas. La liberación mayor de

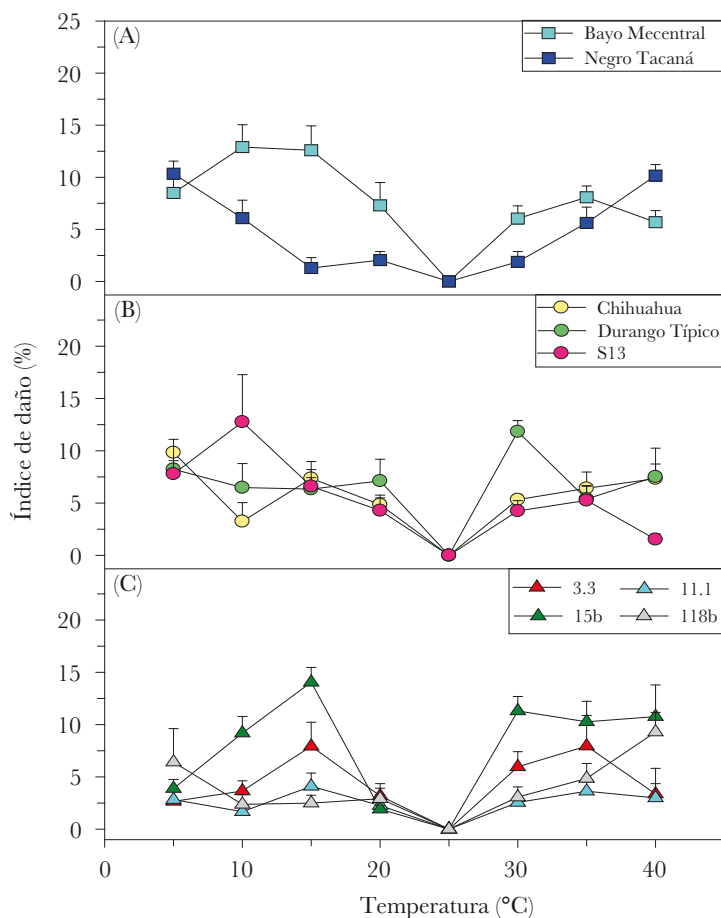


Figura 8. Índice de daño (+e.e.) de tejido foliar, mantenido por 3 horas a las temperaturas indicadas, de frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) domesticados (A), silvestres (B) y líneas de la cruce del silvestre S13 y el domesticado Negro Tacaná (n=6).

electrolitos a menudo se relaciona con la fluidez de la membrana; con temperaturas bajas su fluidez disminuye y estos cambios son dependientes de la composición lipídica. Debido a que la composición de lípidos del plasmalema y las otras membranas celulares es distinta dentro entre tejidos y dentro y entre especies, su fluidez y permeabilidad se afecta diferente por las temperaturas, pero los efectos sumados darán como resultado la inestabilidad o daño de los tejidos en la planta. Además de los lípidos, las proteínas en las membranas que están relacionadas con los procesos de transporte, como una de sus funciones principales, es el intercambio de solutos y modifican su funcionalidad por la temperatura y por los cambios de la fluidez de los lípidos.

El gradiente de los Id de los frijoles domesticados, silvestres y progenie por efecto de la temperatura mostró que las lesiones causadas por temperaturas extremas pueden ocurrir en las hojas de todas las variantes de frijol, pero los mecanismos y tipos de daños son diversos. Por lo que, el genotipo en dependencia de sus características bioquímicas, biofísicas y fisiológicas permite mantener la integridad de la membrana o reparar el daño causado por estrés por calor y frío en algunos de ellos.

Innovación, impactos e indicadores

| Nivel de Innovación | Descripción | Transferido | Impacto | | Indicador General de Políticas Públicas | Indicadores Específicos | Subindicador |
|-----------------------|---|------------------------------------|--|-------------------------------|---|-----------------------------------|--|
| | | | Sector | Ámbito | | | |
| Innovación sostenible | Estudio sobre la resistencia al estrés por calor, déficit de humedad y plagas, de frijoles silvestres y domesticados. | Productores. Comunidades Agrarias. | Primario: Agricultura, Secundario: Procesos de Investigación, Desarrollo e Innovación. | Social. Económico. Ambiental. | Económico. Responsabilidad ambiental. | Recursos naturales. Capacitación. | Aplicación de técnicas y conocimientos tecnológicos para el desarrollo social y económico. |

