

## Temperatura óptima y etapa fenológica para determinar la termoestabilidad de la membrana celular en maíz y frijol

Optimum temperature and phenological stage for determining cellular membrane thermostability in corn and bean

Castro Nava S

**Resumen.** La necesidad de encontrar plantas tolerantes al calor obliga a buscar nuevas estrategias de medición de esta respuesta. La termoestabilidad de la membrana celular mediante la medición de la pérdida de electrolitos por daños ocasionados a la membrana es un criterio fisiológico de selección indirecto. Sin embargo, es necesario realizar adaptaciones al método original dependiendo de la especie. El objetivo del estudio fue probar tres niveles de temperatura en el método de termoestabilidad de la membrana celular en cultivares de maíz y frijol, y determinar en cuál de ellos se obtienen los mayores daños a la membrana celular. Esto permitiría identificar genotipos tolerantes a altas temperaturas, y establecer cuál es la mejor etapa fenológica para la selección. Dos cultivares de maíz (*Zea mays* L.) y dos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) fueron evaluados en las etapas vegetativa y floración, mediante la prueba de termoestabilidad de la membrana celular, modificando el tratamiento original de temperatura. Las temperaturas estudiadas fueron 40, 50 y 60 °C, con una duración del tratamiento de 60 min. Se determinó el porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC %) como indicador de su estabilidad a las altas temperaturas. Los resultados mostraron que la floración fue la etapa fenológica donde se obtuvieron mayores daños a la membrana celular en maíz y frijol como resultado de la exposición al calor. Es en esta etapa fenológica entonces donde es posible identificar los genotipos más tolerantes a la temperatura. La temperatura que generó mayores daños en la membrana celular difirió con la especie: 50 °C en maíz y 60 °C en frijol. Los resultados de este estudio confirman que el uso de la prueba de la estabilidad de la membrana celular a la temperatura en la etapa de floración en genotipos de maíz y frijol es un procedimiento conveniente para identificar genotipos tolerantes al calor en programas de mejoramiento genético.

**Palabras clave:** *Zea mays*; *Phaseolus vulgaris*; Tolerancia al calor; Membrana celular; Termoestabilidad; Etapa fenológica.

**Abstract.** Identification of plant tolerance to heat requires novel strategies for measuring plant responses to this stress. Leaf electrolyte leakage is an indirect method that can be utilized as selection criteria for heat tolerance in plants, but it has to be adapted to each species. The objectives of this study were to measure heat-induced leaf electrolyte leakage in corn and bean to determine heat tolerant genotypes, and also to establish the optimal developmental stage for use of electrolyte leakage as selection criteria. This study included two genotypes of corn (*Zea mays* L.), and other two of bean (*Phaseolus vulgaris* L.), measured during the vegetative and floral stages. Heat treatments included 40, 50, and 60 °C applied to leaf discs during 60 minutes. Electrolyte leakage, estimated as the relative percentage of damage to the cell membrane, was used as criteria for cellular membrane thermostability. Results showed that the greatest amount of membrane electrolyte leakage occurred during flowering for both corn and bean, and the amount of leakage correlated with the genotype tolerance to heat. The temperature which caused the greatest electrolyte leakage depended on the species, 50 °C for corn and 60 °C for bean. Our results indicate that use of membrane thermostability, measured as electrolyte leakage, is an effective criteria for identifying genotypes tolerant to heat damage during flowering in genetic improvement programs.

**Keywords:** *Zea mays*; *Phaseolus vulgaris*; Heat tolerance; Cell membrane; Thermostability; Phenological stage.

## Temperatura óptima y etapa fenológica para determinar la termoestabilidad de la membrana celular en maíz y frijol

Optimum temperature and phenological stage for determining cellular membrane thermostability in corn and bean

Castro Nava S

**Resumen.** La necesidad de encontrar plantas tolerantes al calor obliga a buscar nuevas estrategias de medición de esta respuesta. La termoestabilidad de la membrana celular mediante la medición de la pérdida de electrolitos por daños ocasionados a la membrana es un criterio fisiológico de selección indirecto. Sin embargo, es necesario realizar adaptaciones al método original dependiendo de la especie. El objetivo del estudio fue probar tres niveles de temperatura en el método de termoestabilidad de la membrana celular en cultivares de maíz y frijol, y determinar en cuál de ellos se obtienen los mayores daños a la membrana celular. Esto permitiría identificar genotipos tolerantes a altas temperaturas, y establecer cuál es la mejor etapa fenológica para la selección. Dos cultivares de maíz (*Zea mays* L.) y dos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) fueron evaluados en las etapas vegetativa y floración, mediante la prueba de termoestabilidad de la membrana celular, modificando el tratamiento original de temperatura. Las temperaturas estudiadas fueron 40, 50 y 60 °C, con una duración del tratamiento de 60 min. Se determinó el porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC %) como indicador de su estabilidad a las altas temperaturas. Los resultados mostraron que la floración fue la etapa fenológica donde se obtuvieron mayores daños a la membrana celular en maíz y frijol como resultado de la exposición al calor. Es en esta etapa fenológica entonces donde es posible identificar los genotipos más tolerantes a la temperatura. La temperatura que generó mayores daños en la membrana celular difirió con la especie: 50 °C en maíz y 60 °C en frijol. Los resultados de este estudio confirman que el uso de la prueba de la estabilidad de la membrana celular a la temperatura en la etapa de floración en genotipos de maíz y frijol es un procedimiento conveniente para identificar genotipos tolerantes al calor en programas de mejoramiento genético.

**Palabras clave:** *Zea mays*; *Phaseolus vulgaris*; Tolerancia al calor; Membrana celular; Termoestabilidad; Etapa fenológica.

**Abstract.** Identification of plant tolerance to heat requires novel strategies for measuring plant responses to this stress. Leaf electrolyte leakage is an indirect method that can be utilized as selection criteria for heat tolerance in plants, but it has to be adapted to each species. The objectives of this study were to measure heat-induced leaf electrolyte leakage in corn and bean to determine heat tolerant genotypes, and also to establish the optimal developmental stage for use of electrolyte leakage as selection criteria. This study included two genotypes of corn (*Zea mays* L.), and other two of bean (*Phaseolus vulgaris* L.), measured during the vegetative and floral stages. Heat treatments included 40, 50, and 60 °C applied to leaf discs during 60 minutes. Electrolyte leakage, estimated as the relative percentage of damage to the cell membrane, was used as criteria for cellular membrane thermostability. Results showed that the greatest amount of membrane electrolyte leakage occurred during flowering for both corn and bean, and the amount of leakage correlated with the genotype tolerance to heat. The temperature which caused the greatest electrolyte leakage depended on the species, 50 °C for corn and 60 °C for bean. Our results indicate that use of membrane thermostability, measured as electrolyte leakage, is an effective criteria for identifying genotypes tolerant to heat damage during flowering in genetic improvement programs.

**Keywords:** *Zea mays*; *Phaseolus vulgaris*; Heat tolerance; Cell membrane; Thermostability; Phenological stage.

## INTRODUCCIÓN

Las altas temperaturas frecuentemente limitan el crecimiento y la productividad en las plantas cultivadas (Rainey y Griffiths, 2005; Mittler, 2006; Barnabás et al., 2008). Para mantener estos parámetros, las plantas deben adaptarse a condiciones de estrés y ejercer mecanismos de tolerancia. Las altas temperaturas generalmente son acompañadas de poca disponibilidad de agua (Tester y Bacic, 2005). Por lo tanto, afectan negativamente el rendimiento de grano al reducir la duración de (1) las fases de desarrollo y (2) percepción de la luz, condiciones que se presentan en el Noreste de México. También tienen un efecto negativo sobre los procesos asociados con la asimilación de carbono (Stone, 2001).

Las plantas expuestas a calor excesivo, al menos 5 °C por arriba de sus condiciones óptimas de crecimiento, modifican sus respuestas celulares y metabólicas lo que les permite sobrevivir en esas condiciones (Guy, 1999). Un efecto de las altas temperaturas en las plantas cultivadas es la modificación de la función, composición y estructura de la membrana celular (Wang et al., 2003; Rahman et al., 2004; Barnabás et al., 2008). La rotura y daño de la membrana celular ocasiona la pérdida de electrolitos (aminoácidos, ácidos orgánicos, proteínas y otros solutos). Esta pérdida es una medida del daño ocasionado a la membrana celular, y por lo tanto es un factor importante en la tolerancia al calor (McDaniel, 1982).

Sullivan (1972) desarrolló una prueba para medir la tolerancia al calor, la cual determina la termoestabilidad de la membrana celular a través de la medición de la cantidad de electrolitos perdidos en discos de hojas, después de una exposición a un tratamiento de calor (>40 °C). Esta prueba se ha usado en soja (*Glycine max* L.: Martineau et al., 1979); papa (*Solanum tuberosum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill: Chen et al., 1982); trigo (*Triticum aestivum* L.: Saadalla et al., 1990a, 1990b, Fokar et al., 1998, Blum et al., 2001); chícharo (*Vigna unguiculata* L.: Ismail y Hall, 1999; Thiaw y Hall, 2004); algodón (*Gossypium hirsutum* L.: Rahman et al., 2004); sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench: Sullivan y Ross, 1979) y cítricos (ZhongHai et al., 1999). Un genotipo es tolerante al calor cuando la pérdida de electrolitos por las células de la muestra de tejido de la hoja es baja, debido a una alta termoestabilidad de la membrana (Blum, 1988). Los resultados obtenidos por la pérdida de electrolitos puede ser un criterio de selección indirecto para la tolerancia al calor (Blum et al., 2001; Rahman et al., 2004; Thiaw y Hall, 2004), aunque su efectividad dependerá de la magnitud de la variabilidad genética en una población.

Las características específicas de los lípidos que conforman la membrana celular varían con la especie (Blum, 1988). Debido a esto, la estabilidad de la membrana también cambia bajo un estrés por calor. Por esta razón, se han propuesto modificaciones al método indicado en el párrafo previo para algunos cultivos (Blum y Ebercon, 1981; Tahir y Singh, 1993), pero

no para maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Sin embargo, un inconveniente es que las modificaciones realizadas a dicho método para algunos cultivos han variado con la temperatura utilizada, desde 32 a 52 °C (Sullivan, 1972; Blum y Ebercon, 1981; Saadalla et al., 1990a; Saadalla et al., 1990b; Rahman et al., 2004), y el tiempo de exposición a la temperatura (de 15 a 60 minutos: Martineau et al., 1979; Ibrahim y Quick, 2001; Rahman et al., 2004). Además, es necesario considerar la etapa fenológica en la cual se aplica la metodología para obtener la máxima respuesta (Barnabás et al., 2008), dependiendo esto de la especie.

El objetivo del presente estudio fue probar tres niveles de temperatura en el método de termoestabilidad de la membrana celular en cultivares de maíz y frijol, y determinar en cuál de ellos se obtienen los mayores daños a la membrana celular. Esto permitiría identificar genotipos tolerantes a altas temperaturas, y establecer cuál es la mejor etapa fenológica para su selección.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAT) en Cd. Victoria, Tamaulipas, México durante el año 2010. Se estudiaron dos cultivares en cada una de las especies: maíz (C-3014 y C-3015) y frijol (Michoacán y Tam-001). Los cultivares de maíz son parte de la colección de criollos recolectados principalmente en el centro y sur de Tamaulipas (banco de germoplasma de la UAT). El cultivar Michoacán es una variedad comercial, mientras que Tam-001 es una variedad colectada en el municipio de Ocampo, Tamaulipas en el 2007 (también bajo resguardo en el banco de germoplasma). Esta última variedad ha sido sembrada desde hace poco más de 20 años en condiciones de secano y con fines de autoconsumo.

El material genético fue evaluado por la prueba de estabilidad de la membrana celular (TMC) a las altas temperaturas en invernadero y sin restricciones de luz. La siembra se realizó en una cama de siembra formada por un sustrato de arcilla y limo en una proporción 2:1. Para maíz se usaron surcos con una separación de 0,80 m, y una separación entre plantas de 0,25 m; para frijol los surcos tenían una separación de 0,75 m, y una separación entre plantas de 0,15 m. Se sembraron dos semillas por mata a 2 cm de profundidad para dejar una planta con dos hojas verdaderas y establecer una densidad de 50000 plantas/ha en maíz y 89000 plantas/ha en frijol.

Las plantas se desarrollaron en una temperatura de 30/25 ± 2 °C (día/noche) desde la emergencia hasta floración y la luz del sol fue la fuente de iluminación para ambas especies. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) alrededor del mediodía fue aproximadamente entre 1200 y 1800 μmol/m<sup>2</sup>·s. La humedad relativa varió entre 40 y 50% durante el experimento. La humedad del suelo se mantuvo al menos al 80% de la capacidad de campo durante todo el experimento dando riegos de auxilio continuos para evitar un estrés hídrico.

La termoestabilidad de la membrana celular se midió con el método propuesto por Sullivan (1972), pero modificando el tratamiento original de temperatura. Las temperaturas a estudiar fueron 40, 50 y 60 °C, con una duración del tratamiento de 60 min. Se evaluaron plantas en etapa vegetativa (cuarta hoja ligulada y tercer trifolio para maíz y frijol, respectivamente) y floración (50% de antesis y 50% del primer botón floral en maíz y frijol, respectivamente). Como las hojas de cada especie de diferente edad podrían mostrar respuestas diferentes, las muestras de tejido se tomaron en la hoja madura más joven en cada una de las etapas fenológicas. Las muestras de tejido foliar se extrajeron con un sacabocados (20 mm diámetro) entre las 12:00 y 14:00 h, se colocaron inmediatamente en tubos de ensayo con 10 mL de agua deionizada, y se llevaron al laboratorio. Los discos de tejido foliar se lavaron tres veces con agua deionizada para eliminar los electrolitos liberados al momento del corte. Se hicieron dos grupos de cinco discos de tejido con cuatro repeticiones: un grupo para el testigo y el otro para el tratamiento de calor. Después del lavado se agregaron 10 mL de agua deionizada a cada tubo. Los tubos se cubrieron con papel aluminio para evitar la desecación y la evaporación durante el tratamiento de calor.

El tratamiento de calor se hizo en un baño maría (Boekel Grant BB-1400) manteniendo el control a la temperatura de estudio por 1 h; el grupo de discos testigo se mantuvo a 25 °C también por 1 h. Terminado el tratamiento de temperatura se agregaron 10 mL de agua deionizada, y se dejó reposar en un refrigerador a 10 °C por 24 h para permitir la difusión de electrolitos. Después, las muestras se sacaron del refrigerador y se dejaron reposar por 1 h a 25 °C, y se leyó la conductividad eléctrica (CE) con un Digital Conductivity Meter (marca VWR con compensación de temperatura automática). Los tubos de ensayo se introdujeron en un autoclave (Felisa Modelo FE-399; Zapopan, Jalisco, México) a 120 °C por 10 min a una presión de 0,10 MPa para matar el tejido completamente y liberar todos los electrolitos. El tejido se dejó reposar 1 h a 25 °C y se realizó la segunda lectura de la CE. El porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC %), como indicador de la termoestabilidad de la membrana celular (TMC) se calculó con la fórmula siguiente:

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

Donde, T y C son los valores de CE de los tubos del tratamiento de temperatura y el testigo; los subíndices 1 y 2 representan las lecturas inicial y final, respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (2x2x2x3), considerando cuatro factores (especie, variedad, etapa fenológica y temperatura); la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (p=0,05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El daño a la membrana celular (DMC) se considera como un indicador de tolerancia al calor (Rahman et al., 2004). Daños menores reflejan alta termoestabilidad de la mem-

brana celular, mientras que grandes daños reflejan baja termoestabilidad. El análisis de varianza (Tabla 1) indicó que el DMC en este estudio fue similar (p>0,05) entre especies y entre variedades dentro de cada especie. La etapa fenológica y la temperatura de exposición variaron significativamente (p≤0,001) para dicha variable, con fluctuaciones de 2,7 a 89% y un promedio de 55,1%. Las interacciones especie x etapa, especie x temperatura, y etapa x temperatura fueron significativas (p≤0,01) para el DMC. Los valores de DMC indicaron una amplia diferencia en la tolerancia al calor entre etapas fenológicas, y dependieron del nivel de calor aplicado en la metodología.

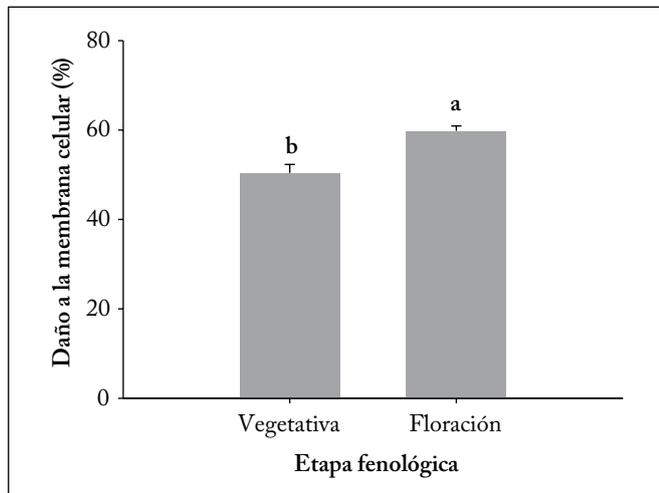
**Tabla 1.** Cuadrados medios, significancia y coeficiente de variación del daño a la membrana celular en genotipos de maíz y frijol evaluados en dos etapas fenológicas y tres tratamientos de calor. **Table 1.** Mean squares, significance and coefficient of variation of the damage to the cellular membrane in maize and bean genotypes evaluated in two phenological stages and three heat treatments.

Fuentes de variación	gl	Cuadrado Medio
Especies	1	2,0792 ns
Variedades (Especie)	2	152,0543 ns
Etapa fenológica	1	4236,9571 ***
Temperatura	2	105187,2908 ***
Especie x etapa fenológica	1	636,8547 **
Especie x temperatura	2	1857,5975 ***
Etapa fenológica x temperatura	2	4299,7368 ***
Error	180	68,0460
CV (%)	14,9	

ns = No significativo (p>0,05); \*\* = Significativo al 0,01 nivel de probabilidad; \*\*\* = Significativo al 0,001 nivel de probabilidad.  
ns = not significant (p>0.05); \*\* = Significant at the 0.01 probability level; \*\*\* = Significant at the 0.001 probability level.

La floración fue la etapa fenológica donde se obtuvo el mayor DMC en relación a la etapa vegetativa con una diferencia de 19% (Fig. 1). Los valores obtenidos para la etapa de floración en este estudio difieren de los obtenidos por Fokar et al. (1998) en trigo, quienes encontraron valores de DMC más altos en la etapa vegetativa (58,4%) en relación a la floración (52,6%). En este estudio, las células de plantas en etapa vegetativa fueron menos sensibles que las células de plantas maduras en ambientes con altas temperaturas, lo cual coincide con lo informado por Paulsen (1994). Por el contrario, los resultados obtenidos por Saadalla et al. (1990a) indican que los valores de DMC obtenidos en plántula y en floración están altamente asociados y son bastante consistentes. Esto significa que la determinación del DMC se podría realizar en cualquier etapa fenológica. Sin embargo, en un programa de mejoramiento de tolerancia al calor esto dependerá de los objetivos, del tiempo

disponible y del número de genotipos a evaluar. Los ensayos en plántulas son más económicos y requieren menor tiempo y espacio (Fokar et al. (1998).

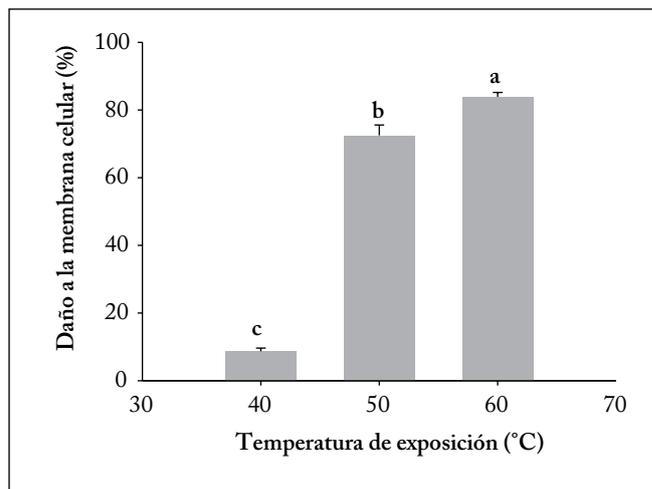


**Fig. 1.** Daño a la membrana celular determinado por el método de la termoestabilidad de la membrana celular en hojas de maíz y frijol en dos etapas fenológicas durante el 2010. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 1.** Damage to the cellular membrane determined by the method of the cellular membrane thermostability in leaves of maize and bean in two phenological stages during 2010. Different letters above histograms indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

De acuerdo a lo esperado, incrementos de la temperatura mayores que 40 °C provocaron incrementos en el DMC (Fig. 2), lo cual coincide con lo encontrado por Blum y Ebercon (1981), Bouslama y Shapaugh (1984) y Guy (1999). En este estudio, se encontró un incremento significativo del DMC de 6,4% por cada °C de incremento de la temperatura, al aumentar de 40 a 50 °C, y de 7,5 % por cada °C cuando la temperatura se incrementó de 40 a 60 °C. En cambio, cuando el incremento de la temperatura pasó de 50 a 60 °C hubo un incremento significativo del DMC de 1,1% por cada °C de incremento en la temperatura. El daño a la membrana celular provocado por la temperatura alta se da como resultado de modificaciones en la función de la misma (Barnabás et al., 2008). Independientemente de la especie y variedad, la temperatura que indujo un daño mayor a la membrana celular fue cuando el tejido foliar fue expuesto a 60 °C, con un daño promedio de 84% y una diferencia de 75% con respecto al tratamiento de 40 °C. De acuerdo a lo informado por Rahman et al. (2004), esto se debe a modificaciones en la composición y estructura de la membrana celular.

Las especies estudiadas tuvieron una marcada interacción ( $p \leq 0,01$ ) con la etapa fenológica (Fig. 3): en maíz el DMC



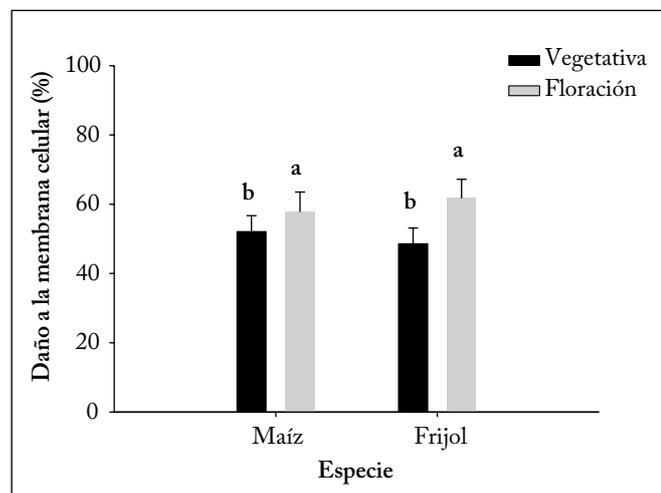
**Fig. 2.** Daño a la membrana celular del tejido foliar expuesto a tres temperaturas diferentes en genotipos de maíz y frijol durante 2010. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias significativas Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 2.** Damage to the cellular membrane of leaf tissue exposed to three different temperatures in maize and bean genotypes during 2010. Different letters above histograms indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

fue significativamente más alto en la etapa de floración (11%), mientras que en frijol esta situación fue más evidente (26%) en la etapa vegetativa. Esto sugiere que las células de frijol serían más sensibles que las de maíz a los cambios de temperatura en la etapa de floración. A las temperaturas estudiadas las plantas modificarían su respuesta celular y metabólica, lo que permitiría su supervivencia (Guy, 1999). Las especies en estudio también tuvieron una interacción significativa ( $p \leq 0,001$ ) con la temperatura de exposición (Fig. 4). En maíz, el DMC fue significativamente menor a 40 que a 50 ó 60 °C, con una diferencia de 73%. En frijol, el DMC fue significativamente ( $p \leq 0,01$ ) superior cuando se incrementó la temperatura de 40 °C a 50 y 60 °C, siendo estos incrementos de 55% y 76% para 50 °C y 60 °C, respectivamente; el DMC más alto se obtuvo a 60 °C con una diferencia de 21% con respecto a 50 °C.

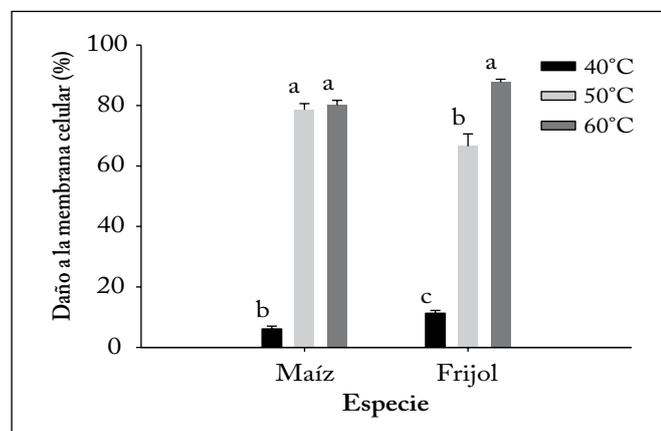
Por otra parte, el DMC más alto (86,1%) se alcanzó cuando se aplicó una temperatura de 50 °C en discos de hojas obtenidas durante la floración (Fig. 5), aunque la misma respuesta se obtuvo a 60 °C. Esto indica que hubo una mayor sensibilidad de las células en esta etapa fenológica, comparada con la etapa vegetativa, en donde la respuesta estuvo en función de la temperatura de exposición.

Los resultados de este estudio confirman que el uso de la prueba de la termoestabilidad de la membrana celular en genotipos de maíz y frijol es un procedimiento conveniente para identificar genotipos tolerantes al calor en la etapa de floración en programas de mejoramiento genético. Saadalla et al. (1990), informaron una conclusión similar.



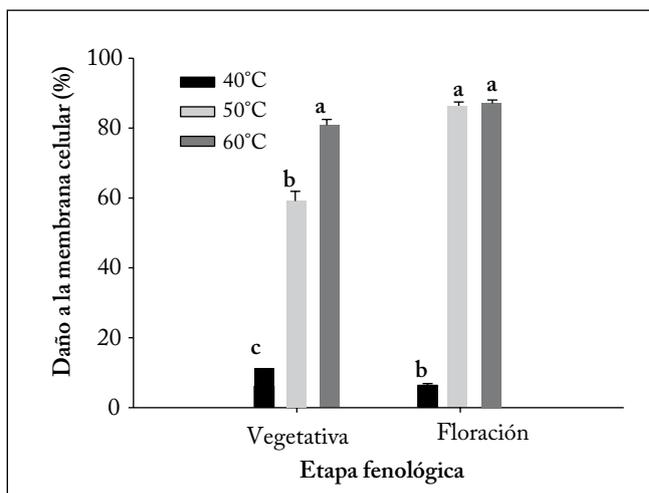
**Fig. 3.** Daño a la membrana celular en maíz y frijol en dos etapas fenológicas en respuesta al incremento de la temperatura de exposición del tejido foliar mediante el método de la termoestabilidad de la membrana celular. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada especie indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 3.** Damage to the cell membrane in maize and bean in two phenological stages in response to the increase of temperature exposure of the leaf tissue by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each species indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.



**Fig. 4.** Daño a la membrana celular del tejido foliar en maíz y frijol expuesto a tres temperaturas mediante el método de la termoestabilidad de la membrana celular. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada especie indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 4.** Damage to the cell membrane of leaf tissue in maize and bean exposed to three different temperatures by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each species indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.



**Fig. 5.** Daño a la membrana celular dentro de cada etapa fenológica en respuesta a tres temperaturas de exposición del tejido foliar mediante el método de la estabilidad térmica de la membrana celular a las altas temperaturas. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada etapa fenológica indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 5.** Damage to the cell membrane within each phenological stage in response to three temperature exposure of leaf tissue by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each phenological stage indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

## CONCLUSIONES

En maíz y frijol, la floración fue la etapa fenológica donde se obtuvieron mayores daños en la membrana celular debido a la exposición al calor. Es precisamente en esta etapa donde es posible identificar genotipos tolerantes a las altas temperaturas. La temperatura de exposición que causó mayores daños en la membrana celular difirió según la especie: 50 °C en maíz, y 60 °C en frijol.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Florencio Briones Encinia, Profesor de la Facultad de Ingeniería y Ciencias, por su colaboración en los análisis estadísticos, y a Paola Maldonado Martínez, alumna de licenciatura de la carrera de Ingeniero Agrónomo por su valiosa colaboración en la recolección de los datos.

## REFERENCIAS

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

- Blum, A. (1988). Plant breeding for stress environments. CRC Press, Boca Raton, Fl. 223 p.
- Blum, A. y A. Ebercon (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* 21: 43-47.
- Blum, A., N. Klueva y H.T. Nguyen (2001). Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. *Euphytica* 117: 117-123.
- Bouslama, M. y W.T. Schapaugh Jr. (1984). Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science* 24: 933-937.
- Chen, T.H.H., Z.Y. Shen y P.H. Lee (1982). Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop Science* 22: 719-725.
- Fokar, M., H.T. Nguyen y A. Blum (1998). Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. *Euphytica* 104:1-8.
- Guy, C. (1999). The influence of temperature extremes on gene expression, genomic structure, and the evolution of induced tolerance in plants. En: Lerner, H.R. (ed), pp. 497-548. Plant responses to environmental stresses. Marcel Dekker, New York. 730 p.
- Ismail, A.M. y A.E. Hall (1999). Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Science* 39: 1762-1768.
- Martineau, J.R., J.E. Specht, J.H. Williams y C.Y. Sullivan (1979). Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Science* 19: 75-78.
- McDaniel, R.G. (1982). The physiology of temperature effects on plants. En: Christiansen, M.N., and C.F. Lewis (eds), pp. 13-45. Breeding plants for less favorable environments. Wiley, New York. 459 p.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11: 15-19.
- Paulsen, G.M. (1994). High temperature responses of crop plants. En: Boote, J.M., J.M. Bennett, T.R. Sinclair, and G.M. Paulsen (eds), pp. 365-389. Physiology and determination of crop yield. ASA, CSSA and SSSA. Madison, Wisconsin. USA. 601 p.
- ur Rahman, H., S.A. Malik y M. Saleem (2004). Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability. *Field Crops Research* 85: 149-158.
- Rainey, K.M. y P.D. Griffiths (2005). Evaluation of *Phaseolus acutifolius* A. Gray plant introductions under high temperatures in a controlled environment. *Genetic Resource Crop Evolution* 52: 117-120.
- Saadalla, M.M., J.F. Shanahan y J.S. Quick (1990a). Heat tolerance in winter wheat: I. Hardening and genetic effects on membrane thermostability. *Crop Science* 30: 1243-1247.
- Saadalla, M.M., J.S. Quick y J.F. Shanahan (1990b). Heat tolerance in winter wheat: II. Membrane thermostability and field performance. *Crop Science* 30: 1248-1251.
- Stone, P. (2001). The effects of heat stress on cereal yield and quality. En: Basra, A.S. (ed), pp. 243-291. Crop responses and adaptation to temperature stress. Food Products Press, Binghamton, N. Y. 311 p.
- Sullivan, C.Y. (1972). Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. En: Rao, N.G.P., and L.R. House (eds), pp. 247-264. Sorghum in the seventies. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi, India. 638 p.
- Sullivan, C.Y. y W.M. Ross (1979). Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. En: Mussell, H., and R. Staple (eds), pp. 263-281. Stress physiology in crop plants. Wiley Interscience. John Wiley and Sons. New York. 510 p.
- Tahir, M. y M. Singh (1993). Assessment of screening techniques for heat tolerance in wheat. *Crop Science* 33: 740-744.
- Tester, M. y A. Bacic (2005). Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. *Plant Physiology* 137: 791-793.
- Thiaw, S. y A.E. Hall (2004). Comparison of selection for either leaf-electrolyte-leakage or pod set in enhancing heat tolerance and grain yield of cowpea. *Field Crops Research* 86: 239-253.
- Wang, W., B. Vinocur y A. Altman (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14.
- ZhongHai, S., M. XiangTao, Z.H. Sun y X.T. Ma (1999). Study on the thermostability of plasma membrane in citrus leaves. *J. Huazhong Agricultural University* 18: 375-377.

## INTRODUCCIÓN

Las altas temperaturas frecuentemente limitan el crecimiento y la productividad en las plantas cultivadas (Rainey y Griffiths, 2005; Mittler, 2006; Barnabás et al., 2008). Para mantener estos parámetros, las plantas deben adaptarse a condiciones de estrés y ejercer mecanismos de tolerancia. Las altas temperaturas generalmente son acompañadas de poca disponibilidad de agua (Tester y Bacic, 2005). Por lo tanto, afectan negativamente el rendimiento de grano al reducir la duración de (1) las fases de desarrollo y (2) percepción de la luz, condiciones que se presentan en el Noreste de México. También tienen un efecto negativo sobre los procesos asociados con la asimilación de carbono (Stone, 2001).

Las plantas expuestas a calor excesivo, al menos 5 °C por arriba de sus condiciones óptimas de crecimiento, modifican sus respuestas celulares y metabólicas lo que les permite sobrevivir en esas condiciones (Guy, 1999). Un efecto de las altas temperaturas en las plantas cultivadas es la modificación de la función, composición y estructura de la membrana celular (Wang et al., 2003; Rahman et al., 2004; Barnabás et al., 2008). La rotura y daño de la membrana celular ocasiona la pérdida de electrolitos (aminoácidos, ácidos orgánicos, proteínas y otros solutos). Esta pérdida es una medida del daño ocasionado a la membrana celular, y por lo tanto es un factor importante en la tolerancia al calor (McDaniel, 1982).

Sullivan (1972) desarrolló una prueba para medir la tolerancia al calor, la cual determina la termoestabilidad de la membrana celular a través de la medición de la cantidad de electrolitos perdidos en discos de hojas, después de una exposición a un tratamiento de calor (>40 °C). Esta prueba se ha usado en soja (*Glycine max* L.: Martineau et al., 1979); papa (*Solanum tuberosum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill: Chen et al., 1982); trigo (*Triticum aestivum* L.: Saadalla et al., 1990a, 1990b, Fokar et al., 1998, Blum et al., 2001); chícharo (*Vigna unguiculata* L.: Ismail y Hall, 1999; Thiaw y Hall, 2004); algodón (*Gossypium hirsutum* L.: Rahman et al., 2004); sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench: Sullivan y Ross, 1979) y cítricos (ZhongHai et al., 1999). Un genotipo es tolerante al calor cuando la pérdida de electrolitos por las células de la muestra de tejido de la hoja es baja, debido a una alta termoestabilidad de la membrana (Blum, 1988). Los resultados obtenidos por la pérdida de electrolitos puede ser un criterio de selección indirecto para la tolerancia al calor (Blum et al., 2001; Rahman et al., 2004; Thiaw y Hall, 2004), aunque su efectividad dependerá de la magnitud de la variabilidad genética en una población.

Las características específicas de los lípidos que conforman la membrana celular varían con la especie (Blum, 1988). Debido a esto, la estabilidad de la membrana también cambia bajo un estrés por calor. Por esta razón, se han propuesto modificaciones al método indicado en el párrafo previo para algunos cultivos (Blum y Ebercon, 1981; Tahir y Singh, 1993), pero

no para maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Sin embargo, un inconveniente es que las modificaciones realizadas a dicho método para algunos cultivos han variado con la temperatura utilizada, desde 32 a 52 °C (Sullivan, 1972; Blum y Ebercon, 1981; Saadalla et al., 1990a; Saadalla et al., 1990b; Rahman et al., 2004), y el tiempo de exposición a la temperatura (de 15 a 60 minutos: Martineau et al., 1979; Ibrahim y Quick, 2001; Rahman et al., 2004). Además, es necesario considerar la etapa fenológica en la cual se aplica la metodología para obtener la máxima respuesta (Barnabás et al., 2008), dependiendo esto de la especie.

El objetivo del presente estudio fue probar tres niveles de temperatura en el método de termoestabilidad de la membrana celular en cultivares de maíz y frijol, y determinar en cuál de ellos se obtienen los mayores daños a la membrana celular. Esto permitiría identificar genotipos tolerantes a altas temperaturas, y establecer cuál es la mejor etapa fenológica para su selección.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAT) en Cd. Victoria, Tamaulipas, México durante el año 2010. Se estudiaron dos cultivares en cada una de las especies: maíz (C-3014 y C-3015) y frijol (Michoacán y Tam-001). Los cultivares de maíz son parte de la colección de criollos recolectados principalmente en el centro y sur de Tamaulipas (banco de germoplasma de la UAT). El cultivar Michoacán es una variedad comercial, mientras que Tam-001 es una variedad colectada en el municipio de Ocampo, Tamaulipas en el 2007 (también bajo resguardo en el banco de germoplasma). Esta última variedad ha sido sembrada desde hace poco más de 20 años en condiciones de secano y con fines de autoconsumo.

El material genético fue evaluado por la prueba de estabilidad de la membrana celular (TMC) a las altas temperaturas en invernadero y sin restricciones de luz. La siembra se realizó en una cama de siembra formada por un sustrato de arcilla y limo en una proporción 2:1. Para maíz se usaron surcos con una separación de 0,80 m, y una separación entre plantas de 0,25 m; para frijol los surcos tenían una separación de 0,75 m, y una separación entre plantas de 0,15 m. Se sembraron dos semillas por mata a 2 cm de profundidad para dejar una planta con dos hojas verdaderas y establecer una densidad de 50000 plantas/ha en maíz y 89000 plantas/ha en frijol.

Las plantas se desarrollaron en una temperatura de 30/25 ± 2 °C (día/noche) desde la emergencia hasta floración y la luz del sol fue la fuente de iluminación para ambas especies. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) alrededor del mediodía fue aproximadamente entre 1200 y 1800 μmol/m<sup>2</sup>·s. La humedad relativa varió entre 40 y 50% durante el experimento. La humedad del suelo se mantuvo al menos al 80% de la capacidad de campo durante todo el experimento dando riegos de auxilio continuos para evitar un estrés hídrico.

La termoestabilidad de la membrana celular se midió con el método propuesto por Sullivan (1972), pero modificando el tratamiento original de temperatura. Las temperaturas a estudiar fueron 40, 50 y 60 °C, con una duración del tratamiento de 60 min. Se evaluaron plantas en etapa vegetativa (cuarta hoja ligulada y tercer trifolio para maíz y frijol, respectivamente) y floración (50% de antesis y 50% del primer botón floral en maíz y frijol, respectivamente). Como las hojas de cada especie de diferente edad podrían mostrar respuestas diferentes, las muestras de tejido se tomaron en la hoja madura más joven en cada una de las etapas fenológicas. Las muestras de tejido foliar se extrajeron con un sacabocados (20 mm diámetro) entre las 12:00 y 14:00 h, se colocaron inmediatamente en tubos de ensayo con 10 mL de agua deionizada, y se llevaron al laboratorio. Los discos de tejido foliar se lavaron tres veces con agua deionizada para eliminar los electrolitos liberados al momento del corte. Se hicieron dos grupos de cinco discos de tejido con cuatro repeticiones: un grupo para el testigo y el otro para el tratamiento de calor. Después del lavado se agregaron 10 mL de agua deionizada a cada tubo. Los tubos se cubrieron con papel aluminio para evitar la desecación y la evaporación durante el tratamiento de calor.

El tratamiento de calor se hizo en un baño maría (Boekel Grant BB-1400) manteniendo el control a la temperatura de estudio por 1 h; el grupo de discos testigo se mantuvo a 25 °C también por 1 h. Terminado el tratamiento de temperatura se agregaron 10 mL de agua deionizada, y se dejó reposar en un refrigerador a 10 °C por 24 h para permitir la difusión de electrolitos. Después, las muestras se sacaron del refrigerador y se dejaron reposar por 1 h a 25 °C, y se leyó la conductividad eléctrica (CE) con un Digital Conductivity Meter (marca VWR con compensación de temperatura automática). Los tubos de ensayo se introdujeron en un autoclave (Felisa Modelo FE-399; Zapopan, Jalisco, México) a 120 °C por 10 min a una presión de 0,10 MPa para matar el tejido completamente y liberar todos los electrolitos. El tejido se dejó reposar 1 h a 25 °C y se realizó la segunda lectura de la CE. El porcentaje relativo del daño a la membrana celular (DMC %), como indicador de la termoestabilidad de la membrana celular (TMC) se calculó con la fórmula siguiente:

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

Donde, T y C son los valores de CE de los tubos del tratamiento de temperatura y el testigo; los subíndices 1 y 2 representan las lecturas inicial y final, respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (2x2x2x3), considerando cuatro factores (especie, variedad, etapa fenológica y temperatura); la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (p=0,05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El daño a la membrana celular (DMC) se considera como un indicador de tolerancia al calor (Rahman et al., 2004). Daños menores reflejan alta termoestabilidad de la mem-

brana celular, mientras que grandes daños reflejan baja termoestabilidad. El análisis de varianza (Tabla 1) indicó que el DMC en este estudio fue similar (p>0,05) entre especies y entre variedades dentro de cada especie. La etapa fenológica y la temperatura de exposición variaron significativamente (p≤0,001) para dicha variable, con fluctuaciones de 2,7 a 89% y un promedio de 55,1%. Las interacciones especie x etapa, especie x temperatura, y etapa x temperatura fueron significativas (p≤0,01) para el DMC. Los valores de DMC indicaron una amplia diferencia en la tolerancia al calor entre etapas fenológicas, y dependieron del nivel de calor aplicado en la metodología.

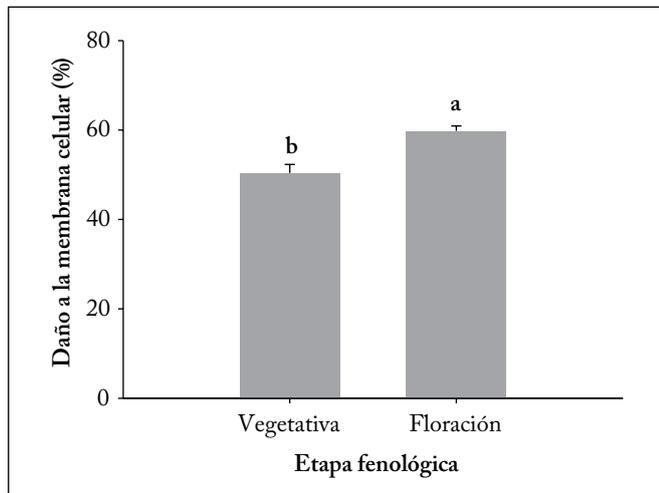
**Tabla 1.** Cuadrados medios, significancia y coeficiente de variación del daño a la membrana celular en genotipos de maíz y frijol evaluados en dos etapas fenológicas y tres tratamientos de calor. **Table 1.** Mean squares, significance and coefficient of variation of the damage to the cellular membrane in maize and bean genotypes evaluated in two phenological stages and three heat treatments.

Fuentes de variación	gl	Cuadrado Medio
Especies	1	2,0792 ns
Variedades (Especie)	2	152,0543 ns
Etapa fenológica	1	4236,9571 ***
Temperatura	2	105187,2908 ***
Especie x etapa fenológica	1	636,8547 **
Especie x temperatura	2	1857,5975 ***
Etapa fenológica x temperatura	2	4299,7368 ***
Error	180	68,0460
CV (%)	14,9	

ns = No significativo (p>0,05); \*\* = Significativo al 0,01 nivel de probabilidad; \*\*\* = Significativo al 0,001 nivel de probabilidad.  
ns = not significant (p>0.05); \*\* = Significant at the 0.01 probability level; \*\*\* = Significant at the 0.001 probability level.

La floración fue la etapa fenológica donde se obtuvo el mayor DMC en relación a la etapa vegetativa con una diferencia de 19% (Fig. 1). Los valores obtenidos para la etapa de floración en este estudio difieren de los obtenidos por Fokar et al. (1998) en trigo, quienes encontraron valores de DMC más altos en la etapa vegetativa (58,4%) en relación a la floración (52,6%). En este estudio, las células de plantas en etapa vegetativa fueron menos sensibles que las células de plantas maduras en ambientes con altas temperaturas, lo cual coincide con lo informado por Paulsen (1994). Por el contrario, los resultados obtenidos por Saadalla et al. (1990a) indican que los valores de DMC obtenidos en plántula y en floración están altamente asociados y son bastante consistentes. Esto significa que la determinación del DMC se podría realizar en cualquier etapa fenológica. Sin embargo, en un programa de mejoramiento de tolerancia al calor esto dependerá de los objetivos, del tiempo

disponible y del número de genotipos a evaluar. Los ensayos en plántulas son más económicos y requieren menor tiempo y espacio (Fokar et al. (1998).

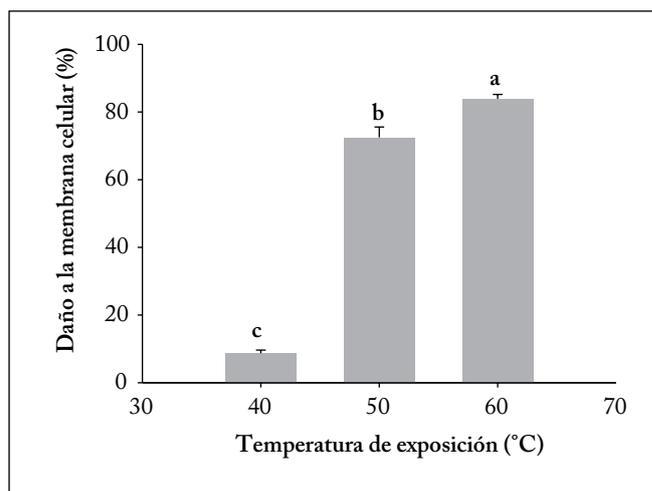


**Fig. 1.** Daño a la membrana celular determinado por el método de la termoestabilidad de la membrana celular en hojas de maíz y frijol en dos etapas fenológicas durante el 2010. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 1.** Damage to the cellular membrane determined by the method of the cellular membrane thermostability in leaves of maize and bean in two phenological stages during 2010. Different letters above histograms indicate significant differences (Tukey,  $p < 0,05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

De acuerdo a lo esperado, incrementos de la temperatura mayores que 40 °C provocaron incrementos en el DMC (Fig. 2), lo cual coincide con lo encontrado por Blum y Ebercon (1981), Bouslama y Shapaugh (1984) y Guy (1999). En este estudio, se encontró un incremento significativo del DMC de 6,4% por cada °C de incremento de la temperatura, al aumentar de 40 a 50 °C, y de 7,5 % por cada °C cuando la temperatura se incrementó de 40 a 60 °C. En cambio, cuando el incremento de la temperatura pasó de 50 a 60 °C hubo un incremento significativo del DMC de 1,1% por cada °C de incremento en la temperatura. El daño a la membrana celular provocado por la temperatura alta se da como resultado de modificaciones en la función de la misma (Barnabás et al., 2008). Independientemente de la especie y variedad, la temperatura que indujo un daño mayor a la membrana celular fue cuando el tejido foliar fue expuesto a 60 °C, con un daño promedio de 84% y una diferencia de 75% con respecto al tratamiento de 40 °C. De acuerdo a lo informado por Rahman et al. (2004), esto se debe a modificaciones en la composición y estructura de la membrana celular.

Las especies estudiadas tuvieron una marcada interacción ( $p \leq 0,01$ ) con la etapa fenológica (Fig. 3): en maíz el DMC



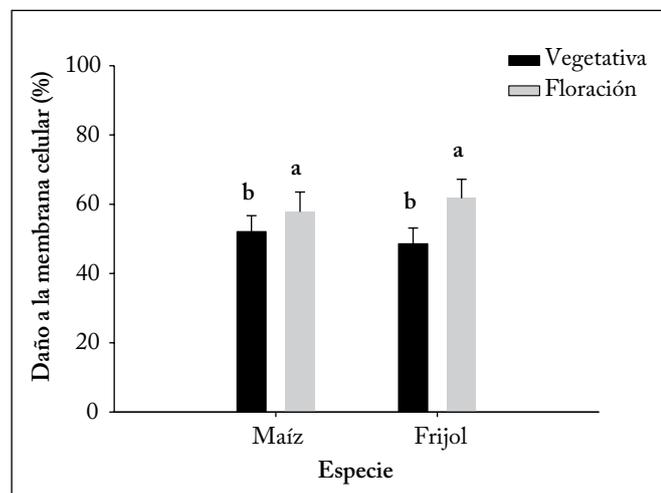
**Fig. 2.** Daño a la membrana celular del tejido foliar expuesto a tres temperaturas diferentes en genotipos de maíz y frijol durante 2010. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias significativas Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 2.** Damage to the cellular membrane of leaf tissue exposed to three different temperatures in maize and bean genotypes during 2010. Different letters above histograms indicate significant differences (Tukey,  $p < 0,05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

fue significativamente más alto en la etapa de floración (11%), mientras que en frijol esta situación fue más evidente (26%) en la etapa vegetativa. Esto sugiere que las células de frijol serían más sensibles que las de maíz a los cambios de temperatura en la etapa de floración. A las temperaturas estudiadas las plantas modificarían su respuesta celular y metabólica, lo que permitiría su supervivencia (Guy, 1999). Las especies en estudio también tuvieron una interacción significativa ( $p \leq 0,001$ ) con la temperatura de exposición (Fig. 4). En maíz, el DMC fue significativamente menor a 40 que a 50 ó 60 °C, con una diferencia de 73%. En frijol, el DMC fue significativamente ( $p \leq 0,01$ ) superior cuando se incrementó la temperatura de 40 °C a 50 y 60 °C, siendo estos incrementos de 55% y 76% para 50 °C y 60 °C, respectivamente; el DMC más alto se obtuvo a 60 °C con una diferencia de 21% con respecto a 50 °C.

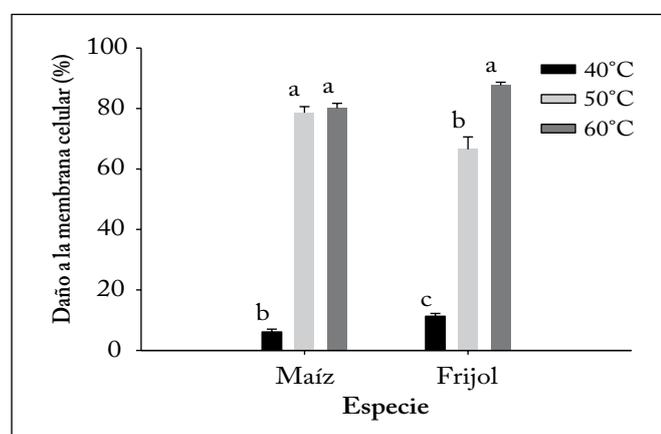
Por otra parte, el DMC más alto (86,1%) se alcanzó cuando se aplicó una temperatura de 50 °C en discos de hojas obtenidas durante la floración (Fig. 5), aunque la misma respuesta se obtuvo a 60 °C. Esto indica que hubo una mayor sensibilidad de las células en esta etapa fenológica, comparada con la etapa vegetativa, en donde la respuesta estuvo en función de la temperatura de exposición.

Los resultados de este estudio confirman que el uso de la prueba de la termoestabilidad de la membrana celular en genotipos de maíz y frijol es un procedimiento conveniente para identificar genotipos tolerantes al calor en la etapa de floración en programas de mejoramiento genético. Saadalla et al. (1990), informaron una conclusión similar.



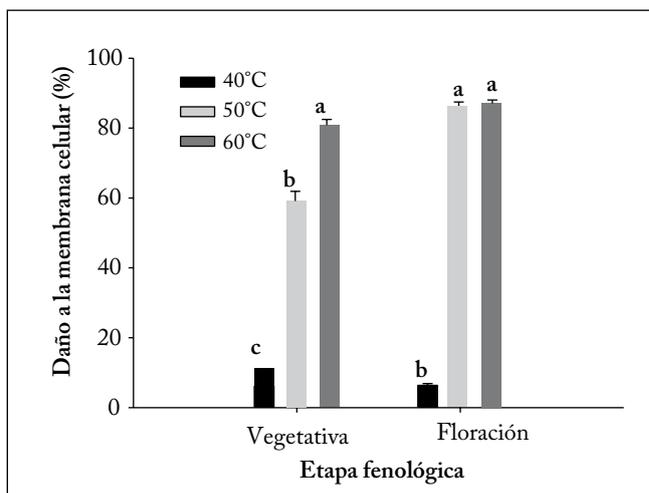
**Fig. 3.** Daño a la membrana celular en maíz y frijol en dos etapas fenológicas en respuesta al incremento de la temperatura de exposición del tejido foliar mediante el método de la termoestabilidad de la membrana celular. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada especie indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 3.** Damage to the cell membrane in maize and bean in two phenological stages in response to the increase of temperature exposure of the leaf tissue by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each species indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.



**Fig. 4.** Daño a la membrana celular del tejido foliar en maíz y frijol expuesto a tres temperaturas mediante el método de la termoestabilidad de la membrana celular. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada especie indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 4.** Damage to the cell membrane of leaf tissue in maize and bean exposed to three different temperatures by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each species indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.



**Fig. 5.** Daño a la membrana celular dentro de cada etapa fenológica en respuesta a tres temperaturas de exposición del tejido foliar mediante el método de la estabilidad térmica de la membrana celular a las altas temperaturas. Letras distintas sobre los histogramas dentro de cada etapa fenológica indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Las líneas verticales sobre los histogramas representan los errores estándar.

**Fig. 5.** Damage to the cell membrane within each phenological stage in response to three temperature exposure of leaf tissue by the method of the cellular membrane thermostability. Different letters above histograms within each phenological stage indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ). Vertical lines above histograms represent the standard errors.

## CONCLUSIONES

En maíz y frijol, la floración fue la etapa fenológica donde se obtuvieron mayores daños en la membrana celular debido a la exposición al calor. Es precisamente en esta etapa donde es posible identificar genotipos tolerantes a las altas temperaturas. La temperatura de exposición que causó mayores daños en la membrana celular difirió según la especie: 50 °C en maíz, y 60 °C en frijol.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Florencio Briones Encinia, Profesor de la Facultad de Ingeniería y Ciencias, por su colaboración en los análisis estadísticos, y a Paola Maldonado Martínez, alumna de licenciatura de la carrera de Ingeniero Agrónomo por su valiosa colaboración en la recolección de los datos.

## REFERENCIAS

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

- Blum, A. (1988). Plant breeding for stress environments. CRC Press, Boca Raton, Fl. 223 p.
- Blum, A. y A. Ebercon (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* 21: 43-47.
- Blum, A., N. Klueva y H.T. Nguyen (2001). Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. *Euphytica* 117: 117-123.
- Bouslama, M. y W.T. Schapaugh Jr. (1984). Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science* 24: 933-937.
- Chen, T.H.H., Z.Y. Shen y P.H. Lee (1982). Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop Science* 22: 719-725.
- Fokar, M., H.T. Nguyen y A. Blum (1998). Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. *Euphytica* 104:1-8.
- Guy, C. (1999). The influence of temperature extremes on gene expression, genomic structure, and the evolution of induced tolerance in plants. En: Lerner, H.R. (ed), pp. 497-548. Plant responses to environmental stresses. Marcel Dekker, New York. 730 p.
- Ismail, A.M. y A.E. Hall (1999). Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Science* 39: 1762-1768.
- Martineau, J.R., J.E. Specht, J.H. Williams y C.Y. Sullivan (1979). Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Science* 19: 75-78.
- McDaniel, R.G. (1982). The physiology of temperature effects on plants. En: Christiansen, M.N., and C.F. Lewis (eds), pp. 13-45. Breeding plants for less favorable environments. Wiley, New York. 459 p.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11: 15-19.
- Paulsen, G.M. (1994). High temperature responses of crop plants. En: Boote, J.M., J.M. Bennett, T.R. Sinclair, and G.M. Paulsen (eds), pp. 365-389. Physiology and determination of crop yield. ASA, CSSA and SSSA. Madison, Wisconsin. USA. 601 p.
- ur Rahman, H., S.A. Malik y M. Saleem (2004). Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability. *Field Crops Research* 85: 149-158.
- Rainey, K.M. y P.D. Griffiths (2005). Evaluation of *Phaseolus acutifolius* A. Gray plant introductions under high temperatures in a controlled environment. *Genetic Resource Crop Evolution* 52: 117-120.
- Saadalla, M.M., J.F. Shanahan y J.S. Quick (1990a). Heat tolerance in winter wheat: I. Hardening and genetic effects on membrane thermostability. *Crop Science* 30: 1243-1247.
- Saadalla, M.M., J.S. Quick y J.F. Shanahan (1990b). Heat tolerance in winter wheat: II. Membrane thermostability and field performance. *Crop Science* 30: 1248-1251.
- Stone, P. (2001). The effects of heat stress on cereal yield and quality. En: Basra, A.S. (ed), pp. 243-291. Crop responses and adaptation to temperature stress. Food Products Press, Binghamton, N. Y. 311 p.
- Sullivan, C.Y. (1972). Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. En: Rao, N.G.P., and L.R. House (eds), pp. 247-264. Sorghum in the seventies. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi, India. 638 p.
- Sullivan, C.Y. y W.M. Ross (1979). Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. En: Mussell, H., and R. Staple (eds), pp. 263-281. Stress physiology in crop plants. Wiley Interscience. John Wiley and Sons. New York. 510 p.
- Tahir, M. y M. Singh (1993). Assessment of screening techniques for heat tolerance in wheat. *Crop Science* 33: 740-744.
- Tester, M. y A. Bacic (2005). Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. *Plant Physiology* 137: 791-793.
- Thiaw, S. y A.E. Hall (2004). Comparison of selection for either leaf-electrolyte-leakage or pod set in enhancing heat tolerance and grain yield of cowpea. *Field Crops Research* 86: 239-253.
- Wang, W., B. Vinocur y A. Altman (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14.
- ZhongHai, S., M. XiangTao, Z.H. Sun y X.T. Ma (1999). Study on the thermostability of plasma membrane in citrus leaves. *J. Huazhong Agricultural University* 18: 375-377.