

METODOS DE EVALUACION DE LA RESISTENCIA AL «STRESS»

Marta Carceller y Adela Fraschina (1)

INTRODUCCION

La disponibilidad de variedades resistentes permite la extensión de cultivos a amplias zonas afectadas por la sequía, salinidad del suelo, temperaturas extremas, etc. pero tanto la elección de cultivos apropiados para esos ambientes como los trabajos tendientes a mejorar las condiciones de resistencia, requieren contar con ensayos adecuados de esa evaluación.

Estos ensayos deben ser rápidos, simples y suficientemente confiables como para predecir el comportamiento a campo. En una primera aproximación, las pruebas deberán permitir examinar un elevado número de individuos y en caso necesario, pueden utilizarse otros métodos más precisos. El análisis de estos ensayos provee a su vez información importante para estudiar los mecanismos de resistencia.

Las situaciones de stress tales como las que derivan de la sequía, la salinidad y las temperaturas extremas que además suelen aparecer combinadas, tienen efectos múltiples sobre el vegetal. No se han

identificado con precisión efectos primarios o predominantes. Tal vez la sensibilidad de las membranas celulares sea crítica en todos los casos de stress pero inmediatamente deriva en innumerables consecuencias. Por otra parte los mecanismos de resistencia, ya sea para eludir o tolerar al stress o para recuperarse una vez desaparecido, son aún mucho más complejos y menos conocidos. Dentro de este cuadro se espera que los ensayos de evaluación contribuyan a identificar las características que confieren resistencia y que sea deseable incorporar por selección y por otra parte sirvan para comparar entre sí cultivos a fin de elegir los más apropiados para cada ambiente.

Existe un número considerable de ensayos que se han intentado con estos propósitos. A continuación se hace una revisión de algunos de ellos, en especial de aquellos con que hemos experimentado directamente.

(1) *Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía. UBA. Avda. San Martín 4453, 1417 - Buenos Aires.*

MÉTODOS EXPERIMENTALES

Ensayos de supervivencia

Algunas de las mayores dificultades al aplicar este tipo de ensayo surgen de la imposibilidad de reproducir en laboratorio condiciones que simulen o se asemejen a condiciones de campo o tan siquiera sean reproducibles. La influencia de una sequía, el efecto de baja temperatura, etc., pueden evaluarse solamente con datos muy precisos acerca de la marcha del estado hídrico de la planta (y no sólo las condiciones del agua en el suelo y la demanda atmosférica), la velocidad de enfriamiento y calentamiento, las temperaturas mínimas alcanzadas, etc. Para estos fines han sido diseñados complejos aparatos y técnicas.

Por otra parte la respuesta en un estado ontogénico (generalmente se usan plántulas) no es necesariamente la misma que en otros estados del desarrollo, ni tampoco puede esperarse igual respuesta a

campo, por ejemplo, al frío, si las condiciones de humedad, nutrición mineral, luz en que ha sido hecho el ensayo, han sido distintas de las que se producen en condiciones naturales.

De todos modos, los ensayos de recuento de sobrevivientes o la apreciación visual del daño, la búsqueda de "temperatura media letal" o el porcentaje de desecación que causa 50% de mortalidad, han sido útiles y parecen tener validez cuando se estima el efecto de distintos tipos de stress. Para evaluar cuantitativamente la supervivencia se hace uso, en algunos casos, de colorantes vitales.

Supervivencias a bajas temperaturas con cultivares de *Eragrostis curvula* (2). Dada la variabilidad de los resultados, debido a que las condiciones experimentales de trabajo eran difícilmente reproducibles se analizan según el método de ordenación por rangos, que permitió demostrar la superioridad de uno de los cultivares (Don Pablo) que resulta confirmada por observaciones a campo (Fig. 1).

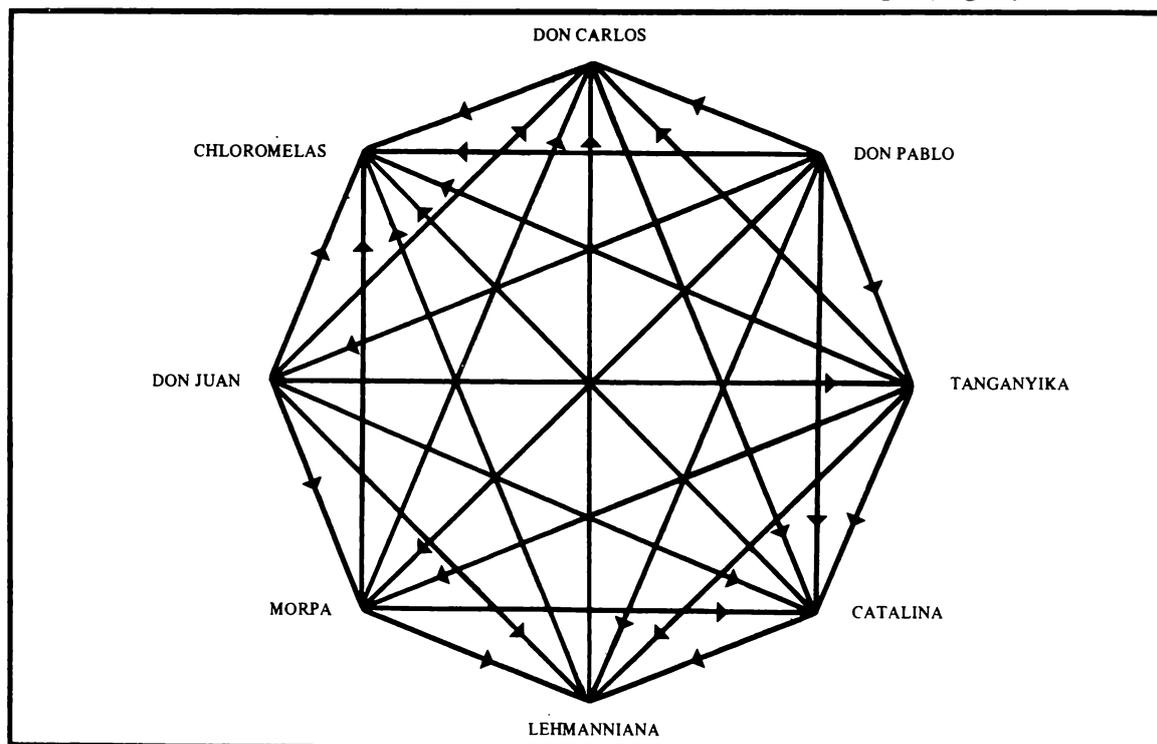


Figura 1: Comparación de la respuesta a bajas temperaturas, entre ocho cultivares de pasto llorón. El cultivar indicado por el sentido de la flecha se comportó como el menos resistente de todos, o de la mayoría de los ensayos en que fue confrontado.

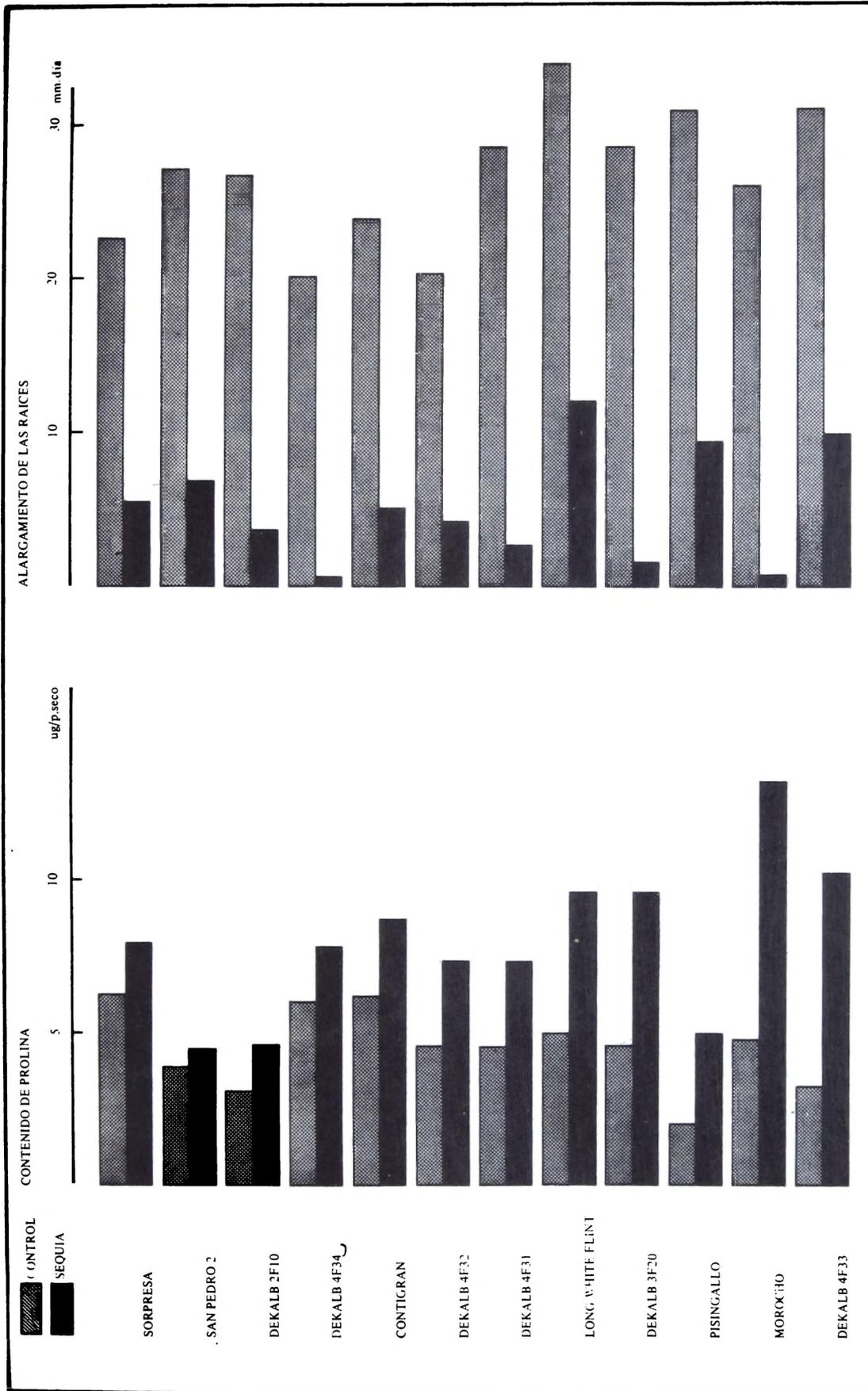


Figura 2: Contenido de prolina libre acumulada y medidas del alargamiento en ápices de 10 mm de raíces de 10 plántulas de maíz de cuatro días.

Acumulación de prolina

Se ha encontrado en variedades de algunas especies (arroz, sorgo y cebada) (1-5-6) que existe correlación entre la capacidad de acumular prolina libre en hojas sometidas a déficit hídrico y la resistencia a la sequía. En el caso de cebada algunos trabajos recientes contradicen resultados anteriores.

En nuestro caso, estudiamos el tenor de acumulación de prolina libre (7) en ápices de raíz primaria de plántulas jóvenes de maíz en condiciones de sequía, utilizamos un amplio espectro de híbridos, líneas y poblaciones de distinta procedencia.

Se encontró un amplio rango en los valores de prolina acumulada que va desde 1,2 veces (maíz dulce, cultivar Sorpresa) hasta tres veces el contenido normal (Dekalb 4F33) (Fig. 2). Sobre la base de los resultados obtenidos se pueden distinguir dos grupos que incluye a Sorpresa, San Pedro II, Dekalb 2F10, Dekalb 4F34 y Contigran en el grupo de baja acumulación y a Dekalb 4F32, Dekalb 4F31, Long White Flint, Dekalb 3F20, Abatí II, Inta, Pisingallo, Morocho y Dekalb 4F33 en el de alta acumulación. Como se ve en el gráfico no existe correlación entre la acumulación de prolina libre y el alargamiento de la raíz expresado como porcentaje del control. De todos modos es preciso tener en cuenta que el alargamiento celular, si bien es un carácter importante en la resistencia al stress porque permite mantener un ritmo de crecimiento considerable con potenciales agua bajos, no es única fuente de resistencia. Será pues necesario estudiar la correlación entre la acumulación de prolina y otros caracteres de resistencia.

Conductividad eléctrica de los exudados

Se trata de un método utilizado por

Dexter (3-4) con el cual se mide la conductividad eléctrica de los exudados de órganos o tejidos que han sido sometidos a stress. Este método ha mostrado buena correlación con el comportamiento a campo para stress por calor y sequía y ha recibido renovada atención por la importancia que se le asigna al funcionamiento de las membranas celulares en el daño por stress, ya que se trata de una medición directa del deterioro de las membranas a través de su capacidad de retener iones.

Lo hemos utilizado en maíz encontrando buena correlación con los valores de alargamiento radical (Cuadro 1) y en pasto llorón (Fig. 3) donde se evidencian

Cuadro 1: Ensayo de conductividad con algunos cultivares de maíz. C es el % de conservación = $(100 - \% \text{ daño en sequía}) / (100 - \% \text{ daño en control}) \cdot 100$. Los datos corresponden a productos de muestras de diez raíces.

Cultivar	C
San Pedro	87,62
Pisingallo	80,40
Dekalb 3F 20	70,75
Dekalb 4F 33	67,65
Dekalb 4F 34	59,17
Morocho	36,15

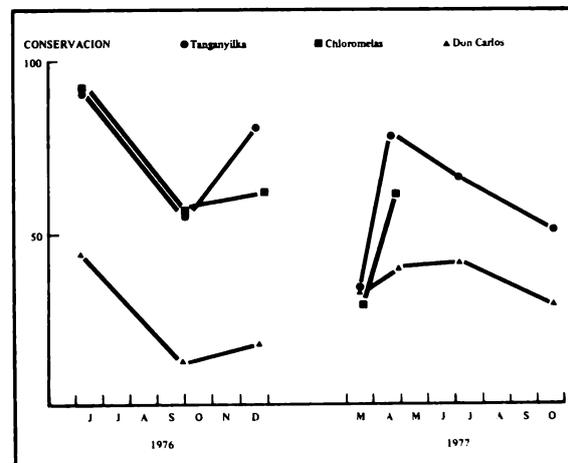


Figura 3: Porcentaje de conservación en ensayos de conductividad eléctrica, en secciones de hojas de plantas cultivadas a campo, en distintos meses del año.

las diferencias entre cultivares, en dos años sucesivos. En el segundo año la resistencia alcanzada fue menor, posiblemente porque las parcelas fueron fertilizadas con nitrógeno y siguieron creciendo activamente hasta otoño.

Otros ensayos que podrían citarse son estabilidad de clorofila (utilizado para resistencia al calor y sequía), cantidad de agua ligada y de proteínas solubles (para resistencia al frío), síntesis de fracciones protéicas específicas, características del protoplasma, etc.

CONCLUSIONES

Los ejemplos aquí presentados señalan la necesidad de comparar para cada especie en particular, diversos métodos de evaluación de la resistencia al stress con el fin de identificar los más sensibles.

Es indispensable, además, validar los resultados de las pruebas con ensayos en condiciones naturales, pero registrando con toda la precisión posible los factores que operan dichas condiciones.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1) Blum, A. and A. Ebercon. (1976) Genotypic responses in sorghum to

drought stress. III Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Sci.* 16: 428-431.

- 2) Covas, G. (1974). Los pastos sudfricanos en relación a la forrajicultura en La Pampa, con especial referencia al pasto llorón (*Eragrostis curvula*). Simposio sobre pasto llorón, Colegio de Ingenieros Agrónomos, Pcia. de La Pampa, Santa Rosa.
- 3) Dexter, S. T.; W. E. Tottingham and L. F. Graber. (1932). Investigation of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* 7: 63-78.
- 4) Dexter, S. T. (1956). The evaluation of crop plants for winter hardiness. *Ad. Agron.* 8: 203-239.
- 5) Mali, D. C. and S. L. Mehta. (1977). Effect of drought on enzymes and free proline in rice varieties. *Phytochemistry* 16: 1355-1358.
- 6) Marta Carceller y Adela Frascina. Acumulación de prolina libre en plántulas de maíz y su relación con la sequía. Turrialba, (en prensa).
- 7) Marta Carceller, M. Larrazábal, J. C. Duhart y A. Díaz. Resistencia al frío y a la sequía de distintos cultivares de *Eragrostis curvula*, *E. chloromelas*, *E. robusta* y *E. lehmanniana*. RIA (en prensa).