

UNIVERSIDAD PARA EL DESARROLLO ANDINO

Anti hatun yachay wasi iscay simikuna yachachiypi umalliq

R.Nª148-202-CONAFU / Rest. R.Nª112-2003-CONAFU



FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS AGRARIAS

TESIS

**RESPUESTA FISIOLÓGICA DE DOS VARIEDADES DE PAPAS
NATIVAS DE HUANCAVELICA “PUKA PUQYA” Y “YURAQ
KUCHILLO PAKI” FRENTE A ESTRÉS TÉRMICO.**

PARA OBTAR EL TITULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

HUAMÁN ARANGO, Magdalena

ASESOR:

M. Sc. LÓPEZ PORTILLA, Demetrio Factor

CO-ASESOR:

Ph.D. MERINO MÉNDEZ, Carlos

LIRCAY - ANGARAES – HUANCAVELICA

2017

UNIVERSIDAD PARA EL DESARROLLO ANDINO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS AGRARIAS

RESPUESTA FISIOLÓGICA DE DOS VARIEDADES DE PAPAS NATIVAS
(*Solanum tuberosum sp. andigena*) DE HUANCVELICA "PUKA PUQYA"
Y "YURAQ KUCHILLO PAKI" FRENTE A ESTRÉS TÉRMICO

TESIS

PRESENTADA A LA DIRECCIÓN DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE
CIENCIAS AGRARIAS COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

APROBADO POR:


PRESIDENTE:


Dr. Edgar Amador Espinoza Montesinos

JURADO :


Mg. Sc. Carlos Hernán Portales Ceballos

JURADO :


Mg. Karla Inés Zúñiga Chambilla

ASESOR :


M. Sc. Demetrio Factor López Portilla

ÍNDICE GENERAL

CAPITULO I.....	17
1. REVISION DE LITERATURA.....	17
1.1. Antecedentes.....	17
1.2. Bases teóricas.	20
1.2.1. Origen.	20
1.2.2. Diversidad.....	23
1.2.3. Taxonomía y morfológica.....	24
1.2.4. Fenología de la papa.	39
1.2.5. Capacidad de aclimatación a bajas temperaturas y fuentes de tolerancia a heladas en papas.	41
1.2.6. Mejoramiento genético convencional versus ingeniería genética para la tolerancia a heladas.....	44
1.2.7. Estrés en plantas.	47
1.2.8. Efectos de bajas temperaturas en la fotosíntesis.....	51
1.2.9. Efectos de bajas temperaturas en la tasa de transpiración.	57
1.2.10. Efectos de las bajas temperatura sobre el coeficiente de conductancia estomática.	67
1.3. Definición de términos.	68
1.3.1. Tasa de fotosíntesis neta.	68
1.3.2. Tasa de transpiración.	68
1.3.3. Conductancia estomática.	68
1.4. Hipótesis.	68
1.4.1. Hipótesis general	68
1.4.2. Hipótesis específicas.....	69

1.4.3. Variables.....	70
CAPITULO II	71
2. METODOLOGÍA	71
2.1. Tipo y nivel de investigación.....	71
2.2. Método de la investigación.....	71
2.3. Diseño de la investigación.....	71
2.3.1. Ubicación.....	71
3.2.1. Propagación de material biológico.	72
3.2.2. Estrés térmico.	74
3.2.3. Medición de variables.....	74
3.2.4. Analisis estadístico de Prueba de “t” de Student.	77
3.2.5. Población y muestras.	77
3.2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos de la respuesta fisiológica. .	77
CAPITULO III	79
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	79
3.1. Tasa de fotosíntesis neta.	79
3.2. Tasa de transpiración.	82
3.3. Conductancia estomática.	86
CONCLUSIONES	89
RECOMENDACIONES	90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
ANEXOS.....	109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de especies <i>Solanum</i> con capacidad de tuberización según tolerancia a heladas y capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (adaptado de Chen y Li 1980 y Vega et al., 2000*).	40
Tabla 2. Respuesta de tasa de fotosíntesis neta de variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.....	77
Tabla 3. Respuesta de tasa de transpiración de las variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.....	81
Tabla 4. Respuesta de conductancia estomática de las variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1, Planta de papa con todas sus partes	26
En la figura 2, se muestra el hábito de crecimiento erecto de la papa	27
En la figura 3, se presenta el sistema radicular fibroso y profundo de la papa.....	28
En la figura 4, se presenta las características del tallo de papa.....	29
En la figura 5, se presenta los estolones de papa	30
En la figura 6, se presenta los tubérculos de la papa	31
En la Figura 7, se presenta las partes de tubérculo al hacer un corte transversal	33
En la figura 8, se muestran los brotes en el tubérculo de papa	34
En la Figura 9, se presenta las hojas compuestas de papa y sus partes	35
En la Figura 10, se muestra las partes de una flor y su inflorescencia de la papa	36
En la Figura 11, se presenta las partes de un fruto y partes de la semilla botánica de papa	37
En la Figura 12, se puede observar el ciclo fenológico del cultivo de papa	39
En la figura 13, se muestra propagación del material biológico a base de esquejes provenientes de una planta madre, tratamiento de esquejes con enraizante	71
En la figura 14, se muestra trasplante de plántulas enraizadas a macetas para el desarrollo de área foliar	71
En la figura 15, se cosecho a los foliolos para realizar toma de lecturas con el analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System de papas ensayadas antes y después del estrés térmico	72
Figura 16, Tasa de fotosíntesis neta de variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) sin estrés y con estrés	78

Figura 17, Tasa de fotosíntesis neta de variedad “Puka Puqya” (tolerante a heladas) sin estrés y con estrés	78
Figura 18, Tasa de transpiración de variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) sin estrés y con estrés	81
Figura 19, Tasa de transpiración de variedad “Puka Puqya” (tolerante a heladas) sin estrés y con estrés.....	82
Figura 20, Coeficiente de conductancia estomática de la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” susceptible a heladas sin estrés y con estrés	85

DEDICATORIA

A quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a un Hijo: Amor, a quienes sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme, quienes son mis Padres Juan y Catalina (quien me ilumina desde el cielo), donde la ilusión de su existencia ha sido convertirme en persona de provecho. A quienes nunca podré pagar todos los desvelos ni aun con las riquezas más grandes del mundo.

AGRADECIMIENTO

- "Agradezco al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad - Innóvate Perú de acuerdo al Contrato 120-FINCyT-IA-2013, por haber financiado la realización de la presente tesis".
- A mi asesor, M. Sc. LÓPEZ PORTILLA Demetrio Factor, y Co asesor Ph. D. MERINO MÉNDEZ Carlos, por las recomendaciones brindadas durante el desarrollo de la tesis. A Lic. Diana Martínez por su preocupación y apoyo constante.
A Dr. Edgar Neyra Valdez por haberme brindado su apoyo en el análisis estadístico.
- A mis queridos Padres por hacer posible la culminación de mis estudios superiores con el apoyo moral y económico que me brindaron para lograr lo que más anhelo en mi vida, ser Profesional.
- A la Universidad Para el Desarrollo Andino, a la madre Luz María Álvarez Fernandine, a los Docentes y Administrativos que me apoyaron en mi formación Profesional.
- Agradezco a todos aquellas personas que me brindaron su apoyo incondicional para la realización de la tesis.

RESUMEN EN QUECHUA (CHINTI)

Kay maskariyqa UDEApa poqochinanpim ruwakurqa. Iskay rikchaq papam wiñachinapi tarpusqa karqa, sapiyoq muhumanta, chaymi soqta wiñachinapi karqa Yuraq Kuchillu Paki ancha imapapas imananan eqoyaq, chaymanta soqtañataq Puka Puqya ancha qaqay qaqay mana imapapas imananan. Chay wiñanakunam qasachiqman winasqa karqa (-8°C) ancha chiripi.

Chay iskayninmi Anti Poqorinanpaq Yachay Wasip kitinpi kachkan, chaymi Lirkay kiti, Anqaray pacha, Wanka Willka suyupi

Kay maskariyqa imaynas chay papakuna kanman ancha chiripi huknipi karqa Yuraq Kuchillu imapapas imananan hukninñataq Puka Puqya ancha qari qari mana imapapas imananan, imaynam ancha chiriman chuqasqa kasqanman hina.

Yaqa kimsa killayoc kachkaptinmi ancha chiriman churasqa karqa chay CI-340 paskaririq puyusqa Handheld Photosynthesis System sutichasqa, chaypim ñawinchana karqa 261 kutikama wañunayaqkunata ichataq mana wañunayaqkunatapas.

Sapa ñawinchaymi tinkurqa kimsa foliolos kama. Kay ñawinchaymi karqa hayka fotosíntesistaq kanman yachanapaq, hayka humpaytaq hayka harkaqa rapikunapi kanman sapa kaqllapi.

Chay llapa ima orqosqam kayqa paskarisqa chay atipachi “t” chayan chanin 05 pachakaman. Kay maskariypam tukuynin kayna kan: Tupuynin fotosíntesis kan Yuraq Kuchillu Pakipa llapa imapa imananan chaymanta Puka Puqya qaqay qaqay mana imapapas imananan aypan anchata hinaspa pisichin 48 pachakaman aypanankama.

Tupuynin humpayninpawan rapikunapa harkaqa qaran kay Yuraq Kuchillu Paki mana imapapas imanananpam pisirun anchata; Puka Puqya mana imapapas imanananpañataq mirarqon anchata ancha chikiman qasaman churasqa kasqan rayku.

Hinaptinqa, ancha allin llapa imankuna kapuqninman hina kutichiqqa kanancha chiki qasaman churasqa kaqmi akllasqa kanan ancha tupuynin humpayniyoq ichataq llapa rapipa harkaqa yurankuna qaqay kananpaq.

Chanin rimay: Fotosíntesis tupuy, transpiración tupuy, conductancia estomatica, fotoinhibicion.

RESUMEN

La helada es una importante limitación que ejerce el medio ambiente sobre la producción de papa en las áreas cultivadas tradicionalmente por los agricultores.

Ante los efectos del cambio climático es importante identificar material genético tolerante a heladas de las variedades de papa nativa.

La presente investigación se realizó en el invernadero de la Universidad Para el Desarrollo Andino, en la cual se cultivó dos variedades de papa en macetas a partir de esquejes enraizados, de las cuales tres fueron cultivadas con la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y tres con la variedad “Puka Puqya” (tolerante). En laboratorio se introdujo las macetas en una congeladora para ser sometidas al estrés por bajas temperaturas (-8°C).

Ambos recintos están ubicados en el campus universitario de la Universidad Para el Desarrollo Andino, situado en el distrito de Lircay, provincia de Angaraes, Región Huancavelica.

El objetivo de la presente investigación fue determinar las características o respuestas fisiológicas de dos variedades de papa “Yurac Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) cuando son sometidas al estrés por heladas.

Aproximadamente a los tres meses de edad las plantas fueron sometidas a un estrés por bajas temperaturas y con un equipo analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System se tomó en cada variedad un total de 261 lecturas con y sin estrés.

Cada lectura correspondió a una lectura de tres folíolos reunidos. Estas lecturas sirvieron para determinar la tasa fotosíntesis netas, tasa de transpiración y conductancia estomáticas por modelos.

Los datos fueron analizados por la prueba de “T” a un nivel de significación del 0.05 %. Las conclusiones de la presente investigación fueron: la tasa de fotosíntesis neta tanto en la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (suceptible) y la variedad “Puka Puqya” (tolerante) son afectadas significativamente y la fotosíntesis en ambas variedades disminuye hasta alcanzar el 48 %.

La tasa de transpiración y la conductancia estomática en la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (suceptible) disminuyeron significativamente; mientras en la variedad “Puka Puqya” (tolerante) aumentaron significativamente cuando fueron sometidas al estrés térmico por bajas temperaturas.

Las mejores características o respuestas fisiológicas para seleccionar variedades de papa nativa tolerantes a las heladas serian la tasa de transpiración y conductancia estomática después de ser sometidas al estrés térmico.

Palabras claves: Tasa de fotosíntesis, tasa de transpiración, conductancia estomática, fotoinhibición.

ABSTRACT

The present research was carried out in the greenhouse where potting was grown and from rooted cuttings of two varieties of potatoes, of which 3 pots were cultivated with the variety "Yuraq Kuchillo Paki" (susceptible) and 3 pots were cultivated with the variety "Puka Puqya" (tolerant) and in the laboratory the pots were introduced in a freezer to be subjected to stress by low temperatures (-8°C). Both are located in the university campus of the University for Andean Development of the University for the Andean Development, located in the District of Lirkay, Province of Angaraes, and Region Huancavelica.

The objective of the present investigation was to determine the characteristics or physiological responses of two varieties of potato "Yurac Kuchillo Paki" (susceptible) and "Puka Puqya" (tolerant) when subjected to stress due to low temperatures. Approximately three months Old plants were subjected to low temperature stress and with a CI-340 Handheld Photosynthesis System gas analyzer equipment was taken in each variety a total of 261 readings with and without stress. Each reading corresponded to a reading of three foliols gathered. These readings were used to determine the net rate of photosynthesis, transpiration rate and, stomatal conductance by models. Data were analyzed by the "t" test at a significance level of 5 percent. The conclusions of the present investigation were: the net photosynthesis rate in both the "Yuraq Kuchillo Paki" variety (suctible) and the "Puka Puqya" (tolerant) variety are significantly affected and the would be the rate of transpiration and stomatal conductance after being subjected to thermal stress.

Keywords: Rate of photosynthesis, transpiration rate and, stomatal conductance, fotoinhibicion.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático amenaza con aumentar progresivamente el número de personas con la disnutrición en las próximas décadas, debido a los nuevos inconvenientes causados en la agricultura y la alimentación por este fenómeno. La temperatura alrededor del mundo podría incrementarse hasta 6°C en el 2050, desencadenando una serie de amenazas en la agricultura y alimentación.

Entre éstas amenazas se encuentran heladas, sequías e inundaciones cada vez más severas y frecuentes, aumento en la población de insectos y aparición de enfermedades (GIPB, 2009). Algunos de los impactos más fuertes del cambio climático se sentirán en los “pequeños agricultores” o de “agricultura de subsistencia” de países en desarrollo (Morton, 2007). La producción de los cultivos bajo el efecto del cambio climático principalmente heladas que ocasionarán presentará reducción en su rendimiento, incremento en el costo de producción y consecuentemente hambre y desplazamiento.

El desarrollo de cultivares adaptados o tolerantes a estas amenazas son esenciales para contribuir a la seguridad alimentaria de una población creciente que requiere incrementos significativos en la producción de alimentos (Polanía *et al.*, 2009). El mejoramiento convencional y la selección asistida con marcadores ofrecen una oportunidad para incrementar significativamente la generación de nuevos genotipos adaptados a sequía; sin embargo, el uso de marcadores para mejorar características complejas es aún uno de los retos para los mejoradores de cultivos (Sorrells, 2007). Una constante que nunca cambiará es que el progreso en los programas de mejoramiento depende de la selección precisa de los genotipos poco frecuentes que poseen atributos nuevos o mejorados (Sorrells, 2007); esto significa que una precisa caracterización fenotípica seguirá siendo uno de los pilares del mejoramiento.

Las plantas, son organismo ectotermos poiquitermos, es decir, su temperatura depende de las condiciones ambientales puesto que no poseen un mecanismo termorregulador por lo tanto responden de forma completamente diferente cuando se encuentran expuestas a cambios de temperatura. La temperatura influye en forma determinante en las plantas y afectan diversos procesos metabólicos y fisiológicos. Así como la temperatura es fundamental para los

diferentes procesos metabólicos y fisiológicos también puede ser una barrera importante para el adecuado crecimiento y desarrollo de las plantas. En este sentido las temperaturas bajas son particularmente importantes por los daños que puedan provocar a las plantas, incluso pueden llegar a ser letales cuando alcanza temperaturas de congelamiento.

Las plantas tienen un desarrollo óptimo cuando las variaciones térmicas y valores extremos de temperaturas no ejercen ningún efecto negativo sobre las funciones fisiológicas. En su contraparte cuando las plantas se encuentran bajo condiciones fuera de lo normal (en términos de temperatura) pasan a una situación de estrés, en este caso estrés por bajas temperaturas. Debe indicarse que bajo situaciones de estrés por bajas temperaturas las plantas pueden sufrir daño durante y después del episodio de frío. En el caso del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), los daños fisiológicos cuando están sometidos a bajas temperaturas por debajo del punto de congelamiento del agua en variedades susceptibles pueden producir cambios en la bioquímica y biofísica de las membranas celulares, síntesis proteica, modificaciones en la conformación de las enzimas, cambios en la ultraestructura de los mitocondrios y cloroplastos, deshidratación, entre otros que afecta la tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática; mientras que las variedades tolerantes de papa tienen mecanismos de amortiguación que impiden el daño fisiológico y son afectadas en una menor medida que las plantas susceptibles y a veces responden favorablemente al estrés por bajas temperaturas y superan eficazmente este episodio.

Algunos programas de mejoramiento para adaptación las heladas en papa han incluido algunas características fisiológicas como criterios de selección, entre los que están: la tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y coeficiente de conductancia estomática se identificaran las más significativas y de mayor importancia para ser incorporadas como herramientas en un programa de mejoramiento genético de papa (*Solanum tuberosum* L)

Por ello que la presente investigación es de importancia porque usando dos variedades de papa nativa como una variedad susceptible de papa nativa “Yuraq Kuchillo Paki” y una variedad tolerante de papa nativa “PukaPuqya” sometidas a un estrés inducido por bajas temperaturas permita seleccionar cuales son las características fisiológicas en estudio más

relevantes para seleccionar papas nativas tolerantes a las heladas en un programa de mejoramiento genético de papa.

CAPITULO I

1. REVISION DE LITERATURA

1.1. Antecedentes

Los efectos de las bajas temperaturas en las plantas incluyen cambios en la bioquímica y biofísica de las membranas, en la síntesis proteica, modificaciones conformacionales en enzimas, en la ultraestructura de mitocondrias y cloroplastos (Kratsch y Wise, 2000) y en los metabolismos fotosintético y respiratorio (Nilsen y Orcutt, 1996) además de disminución del crecimiento y alteraciones en el desarrollo (Allen y Ort, 2001). Uno de los efectos mejor caracterizados de las bajas temperaturas es la disminución de la fluidez de las membranas. El frío produce la llamada ‘separación de fases’, que si se prolonga en el tiempo, impide a la biomembrana mantener los gradientes iónicos y el metabolismo comienza a sufrir alteraciones. Finalmente, la muerte de la célula puede sobrevenir si el daño se acentúa. En este sentido, ha recibido considerable atención el papel de la insaturación de lípidos de membrana en la tolerancia a bajas temperaturas y de hecho éste ha sido considerado como uno de los factores críticos entre los mecanismos de tolerancia por frío (Nishida y Murata, 1996).

Es importante destacar que el estrés por bajas temperaturas es un síndrome complejo y difícilmente puede ser separado completamente de otros tipos de estrés. Es frecuente observar un déficit hídrico asociado a las bajas temperaturas. Este fenómeno puede tener diversas causas, entre otras, la disminución de la conductividad hidráulica de las raíces y alteraciones en el grado de control estomático (Allen y Ort, 2001) conduciendo a un desbalance entre captación de agua y transpiración. Las plantas sometidas a bajas temperaturas muestran una caída (al menos transitoria) en el potencial hídrico y el contenido relativo de agua (RWC) (Vernieri et al., 2001). De hecho, la respuesta de aclimatación al estrés hídrico asociado a bajas temperaturas está recibiendo considerable atención en la actualidad (Vernieri et al., 2001).

El daño inducido por bajas temperaturas varía ampliamente según las especies, tanto en magnitud como en la escala temporal en la que los primeros síntomas aparecen. En algunas especies estos daños pueden aparecer durante el episodio de estrés, en otras, en cambio, en el período posterior de recuperación, en que las plantas son sometidas a temperaturas ‘normales’ para la especie (Nilsen y Orcutt 1996).

La variabilidad en el grado de daño también puede observarse a nivel celular, donde unos componentes son más dañados que otros. Se ha señalado que los cloroplastos parecen ser las organelas más sensibles a las bajas temperaturas (Nilsen y Orcutt 1996). . Los procesos fotosintéticos que ocurren a nivel tilacoidal (transporte de electrones, fotofosforilación) como en el estroma cloroplástico pueden ser alterados por bajas temperaturas (Tambusi, 2004).

En comparación al estrés por déficit hídrico, los mecanismos de tolerancia al estrés térmico son menos conocidos aunque están recibiendo considerable atención en la actualidad. Las plantas han tenido diversas respuestas de las han sido vinculadas a una mejor tolerancia al frío. Quizás el rasgo más característico es que el nivel de insaturación de los lípidos de la membrana, un mayor nivel de insaturación de las membranas protege al Fotosistema II (PSII) de la fotoinhibición, acelerando el proceso de reemplazo de proteínasD1a nivel del centro de reacción de este fotosistema (Nishida y Murata, 1996). Otros mecanismos han sido propuestos como posibles mecanismos de tolerancia, aunque poseen menos apoyo experimental. Entre otros ha sido propuesto el ácido abscisico (ABA) como un regulador que incrementaría la tolerancia al frío (Xin y Li, 1992). Presumiblemente, el ABA podría actuar en forma indirecta a través de la mejora del estatus hídrico (Pérez de Juan et al., 1997) o bien mediando otro tipo de respuestas (tal como cambios a nivel de las membranas (Janowiak y Dörffling, 1996). También las poliaminas están siendo estudiadas en este sentido, aunque aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual pueden incrementar la tolerancia al frío (Lee et al, 1997).

Finalmente debe mencionarse el papel de diversos antioxidantes en la tolerancia al frío, un tema intensamente estudiado en la actualidad (por ejemplo Iannelli y col. 1999; Paytonet al., 2001; Kang y Saltveit, 2002; Tambusi, 2004)

En papa en estrés por luz sometido a bajas temperaturas el daño causado por congelamiento se intensifica (Steffen y Palta, 1989) y puesto que las heladas usualmente ocurre en la mañana con un cielo despejado el daño por heladas viene a ser más fuerte. Para evitar este daño que puede ser letal en presencia de luz y bajas temperaturas, las especies de papa han desarrollado mecanismos de utilización del balance de energía y suministro de energía para la fotosíntesis, siendo este muy reducido por disminución en la cantidad de clorofila en *Solanum commersonii* (Steffen et al, 1974; Griffith et al, 1974), así como en *S.tuberosum* (Steffen et al, 1985). El desarrollo de las plantas en una baja temperatura puede incrementar la tolerancia por un estrés de luz en *Solanum tuberosum*, *Solanum commersonii*; aunque *Solanum commersonii* tiene una mejor tolerancia a la totoinhibición (Steffen y Palta, 1989^a, Steffen et al, 1995).

Además, tanto en papas silvestres y cultivadas tienen la capacidad de ajustar el balance de energía ante estas condiciones.

Tanto en condiciones de luz limitada y luz en el punto de saturación se ha encontrado que las reacciones fotosintéticas son más sensibles por estrés por congelamiento que aquellas reacciones que se desarrollan en la respiración dentro del mitocondria. Aparentemente los daños por bajas temperaturas por luz se localizan más en el cloroplasto que en los mitocondrias (Steffen y Palta, 1989a; Steffen et al, 1989)

En un estudio que comparó la actividad fotosintética entre *Solanum acaule* y *Solanum tuberosum*, luego de un periodo de aclimatación a bajas temperaturas, encontrándose una correlación positiva entre la actividad fotosintética y la capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (Steffen y Palta, 1989). Además, en *Solanum tuberosum*, se ha observado una importante disminución de la actividad fotosintética

a bajas temperaturas e incluso con daños irreversibles en el sistema fotosintético (Seppänen y Coleman, 2003).

En papa cultivadas (*Solanum tuberosum* L), así como en papas silvestres *Solanum comensoni* (tolerante) y *Solanum acaule* (resistente) a las heladas sufren una fotoinhibición en presencia y ausencia de luz, cuando son expuestas a una bajas temperatura de congelamiento (Hetherington et al, 1983; Steffen y Palta, 1986; 1989 a, b; Steffenet al, 1989, 1995; Griffith et al, 1995), (Steffen y Palta 1986) comparó la capacidad fotosintética de *Solanum acaule* (resistente a heladas) y *Solanum tuberosum* (susceptible a heladas) después que se aclimataron al frío y encontraron una correlación positiva en la actividad fotosintética a baja temperatura mostrando una buena capacidad de aclimatación. Sin embargo, en ambas especies de papa la actividad fotosintética se reduce.

1.2. Bases teóricas.

1.2.1. Origen.

Las primeras papas cultivadas probablemente fueron seleccionadas entre 6.000 y 10.000 años atrás, al norte del lago Titicaca, en los Andes del sur de Perú. Allí, a partir de las especies silvestres *Solanum bukasovii*, *Solanum canasense* y *Solanum multissectum*, pertenecientes al complejo *Solanum brevicaulis*, se cree que se originó *Solanum stenotomum*, que es considerada la primera papa domesticada. Esta, a su vez, habría dado origen a *Solanum andigena* a través de repetidos procesos de poliploidización sexual en diferentes zonas de cultivo, con la consiguiente hibridación interespecífica e intervarietal que permitió ampliar la diversidad y adaptabilidad genética de la papa de los Andes. Los cultivares de papas chilenas se derivaron posteriormente por hibridación de poblaciones andinas cultivadas con la especie silvestre *Solanum tarijense*. En el siglo XVI, la papa migró a Europa y se dispersó por todo el orbe. Actualmente las papas cultivadas que se siembran en el mundo son conocidas colectivamente bajo el nombre de *Solanum tuberosum* (Rodríguez, 2010).

Históricamente se ha discutido de forma amplia acerca de la especie o especies que dio (dieron) origen a la papa cultivada. Teniendo en cuenta sus rasgos morfológicos y fitogeográficos, planteó que la primera papa cultivada fue *Solanum stenotomum*, teniendo a *Solanum leptophyes* y *Solanum canasense* como posibles ancestros. La *Solanum stenotomum* agrupa un conjunto de plantas diploides que florecen y tuberizan bajo condiciones de días cortos, y que no presentan brotación del tubérculo al momento de la cosecha (Huamán y Spooner, 2002; Ghislan et al., 2006).

Posteriormente, Hawkes (1990) favoreció a *Solanum leptophyes* como único ancestro, por estar distribuida a la misma altitud y en la misma región ecogeográfica que *Solanum stenotomun* (cerca al lago Titicaca). Esta última se cultivó intensivamente en esa región, y estuvo ligada al desarrollo de la cultura Tiwanaku, la cual posteriormente se diseminó en distintas direcciones, incluyendo Argentina y Chile (Morales, 2007).

Autores como Ugent (1970) y Huamán y Spooner (2002) proponen que *Solanum stenotomum* proviene de las especies *Solanum brevicaule*, *Solanum bukasovii*, *Solanum canasense*, *Solanum coelestipetalum*, *Solanum gourlayi*, *Solanum leptophyes*, *Solanum multidissectum*, *Solanum multiinterruptum* y *Solanum spgazzinii*, pertenecientes al complejo *Solanum brevicaule*.

Por su parte, Bukasov (1971) propuso a *Solanum canasense*, *Solanum leptophyes*, *Solanum brevicaule*, *Solanum bukasovii*, *Solanum candolleanum* y *Solanum sparsipilum* como ancestros de *Solanum stenotomum*, mientras Ochoa (1990) plantea que los ancestros serían *Solanum brevicaule*, *Solanum bukasovii* y *Solanum canasense*. Sin embargo, en su mayoría, estas especies silvestres se relacionan entre sí, y aún existe controversia sobre su clasificación taxonómica (Hawkes 1990; Ochoa, 1990; Van den Berg et al., 1998; Sukhotu et al., 2006). La diferencia entre estas hipótesis resulta de la controversia acerca de la taxonomía de un grupo de especies silvestres

ancestrales, ya que *Solanum bukasovii*, *Solanum canasense* y *Solanum multidissectum* fueron consideradas por (Ochoa 1999) como una sola especie. La hipótesis de (Hawkes 1990) ha sido controvertida con base en el análisis de sitios de restricción de DNA nuclear y cloroplástico (Sukhotu et al., 2005; Sukhotu y Hosaka, 2006). Estos autores plantean que *Solanum stenotomum* se originó a partir de las especies silvestres *Solanum bukasovii*, *Solanum canasense* y *Solanum multidissectum*, las cuales tienen en común el haplotipo s-ctdna. En este punto coinciden con Hawkes al considerar a *Solanum stenotomum* como la primera papa domesticada en Perú, la cual posteriormente se habría dispersado hacia Bolivia. Para determinar la variabilidad de las poblaciones primitivas diploides cultivadas de *Solanum stenotomum* y de sus ancestros silvestres, (Sukhotu et al. 2006) utilizaron marcadores de alta resolución para DNA cloroplástico (ctdna). Esta técnica les permitió encontrar cinco haplotipos básicos (w, t, c, s y a), todos los cuales, excepto t, se encuentran en *Solanum stenotomum* (Hosaka et al., 1988; Hosaka, 1995). Este haplotipo, predominante en *Solanum tuberosum subsp. Solanum tuberosum*, fue probablemente incorporado por *Solanum tuberosum subsp. Andigena* durante su migración a las costas meridionales de Chile, a partir de poblaciones de *Solanum tarijense* (Hosaka, 2003; Hosaka, 2004; Sukhotu et al., 2006).

Las papas del grupo Andigena (andigenum) (*Solanum tuberosum L. subsp. andigena* Hawkes) (Hawkes, 1990) o grupo *Andigena* (Huamán y Spooner, 2002; Spooner et al., 2007), constituyen un grupo importante de cultivares nativos seleccionados por agricultores andinos, que se cultiva a lo largo de los Andes en alturas que varían entre 2.000 y 4.000 msnm, y forman tubérculos bajo condiciones de día corto (Hawkes, 1990; Sukhotu y Hosaka, 2006). *Solanum andigena* proviene de *Solanum stenotomum* a través de repetidos procesos de poliploidización sexual ocurridos en diversos lugares, con la consiguiente hibridación interespecífica e intervarietal a través de cruces ($4x \times 4x$) y/o ($2x \times 4x$ ó $4x \times 2x$) (Sukhotu y Hosaka, 2006).

La tetraploidización sexual en papa ha sido sugerida por la capacidad que tiene la papa diploide y las especies con ella relacionadas, de producir granos de polen $2n$ (Iwanaga y Peloquin, 1982; Wantabe y Peloquin, 1989; Werner y Peloquin, 1991), siendo ésta considerada como la forma más probable de poliploidización de la papa (Den Nijs y Peloquin, 1977; Mendiburu y Peloquin, 1977). (Ghislain et al. 2006), afirman que la papa que crece en los Andes contiene mezclas de especies silvestres y cultivadas con diferentes niveles de ploidía. Esto es explicable si se tiene en cuenta que los genotipos diploides con gametos no reducidos son frecuentes tanto en especies silvestres como cultivadas, lo cual facilita la transferencia de genes entre diferentes niveles de ploidía.

1.2.2. Diversidad

La papa silvestre, así como la cultivada (*Solanum* L. sect. Petota), crece desde el suroccidente de Estados Unidos hasta el sur de Chile (Rodríguez et al., 2009). Posee un rico pool de genes, constituido por 190 especies silvestres que forman tubérculos (Spooner y Salas, 2006), de las cuales el 70% son diploides ($2n = 2x = 24$), y el resto poliploides, principalmente divididas entre tetraploides ($2n = 4x = 48$) y hexaploides ($2n = 6x = 72$) (Spooner et al., 2005, 2008; Hijmans et al., 2007), con una presencia escasa de triploides y pentaploides (Hijmans et al., 2007). A diferencia de otros cultivos, la papa presenta un pool genético secundario extremadamente grande, compuesto por especies silvestres cercanas que forman pequeños tubérculos comestibles (Van den Berg y Jacobs, 2007). Actualmente, las distintas variedades cultivadas se encuentran agrupadas dentro de la especie *Solanum tuberosum* L. (Spooner et al., 2007; Andre et al., 2007).

La mayoría de las especies silvestres presenta estolones largos, al final de los cuales se produce un tubérculo (Hijmans et al., 2002), aunque algunas especies de la serie Piruana los tienen a lo largo del estolón (Salas et al., 2001). El tamaño de los tubérculos varía desde unos pocos mm (*Solanum clarum*, *Solanum morelliforme*) hasta tamaños similares a los de las especies

cultivadas (*Solanum burtonii*, *Solanum candolleanum*). Su forma varía también, desde tubérculos globosos hasta tubulares, ya sean rectos o curvos, y con muchas morfologías intermedias (Hijmans et al., 2002).

Una de las tendencias morfológicas de la domesticación de la papa fue la reducción en la longitud de los estolones, lo que favoreció la concentración de los tubérculos al pie del tallo (Hijmans et al., 2002; Spooner et al., 2005). En la domesticación pudo estar implicada la selección de tubérculos menos tóxicos y con menores niveles de glicoalcaloides. Los agricultores andinos mantuvieron una variedad más amplia de formas de tubérculos, colores de piel y pulpa comparado con los observados en las especies silvestres (Simmonds, 1995). Posteriormente seleccionaron poblaciones de madurez temprana (precocidad), periodo de dormancia adecuado y resistencia a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico (Bradshaw, 2007), buscando siempre tubérculos de mejor sabor y mayor tamaño.

1.2.3. Taxonomía y morfológica

1.2.3.1. Taxonomía.

Las papas cultivadas se encuentran en las siguientes categorías:

Reino	:	Plantae
División	:	Magnolophita.
Clase	:	Magnoliopsida.
Subclase	:	Asteridae.
Orden	:	Solanales
Familia	:	Solanáceas.
Género	:	Solanun
Subgénero	:	Pachistemonun (5 secciones).
Sección	:	Petota. (2 subsecciones).
Subsección	:	Potatoe
Especies	:	8 especies cultivadas. 200 especies silvestres.

1.2.3.2. Especies cultivadas.

Las especies cultivada de papa epresentan un valioso recurso para el desarrollo de nuevas variedades, sus formas indígenas contienen una amplia variabilidad genética, se conservan desde tiempos prehispánicos y se cultiva preferentemente en la región de los andes de Sudamérica (Programa de Investigación y Proyección social – La Molina y Universidad Nacional Agraria La Molina, 1987).

Las principales especies cultivadas son:

Solanum stenotomun (STN)

Especie cultivada de gran antigüedad; originaria inicialmente a partir de la selección continua de los productos de recombinación genética de un complejo de especies silvestres diploides, han desempeñado un papel importante en el origen de las especies cultivadas. Algunos de los cultivares en el Perú y pertenecientes a esta especie son: “Pitiquiña”, “Durazno”, Iscu phuru”, “Chichi huichi”, “Poccoya”, Clavel juiti”, etc.

Solanum phureja (PHU).

Especie diploide derivada de *S. stenotomun*. Se caracteriza fundamentalmente por el carácter aperiódico (ausencia de reposo) de sus tubérculos. Se cultiva en los valles abrigados y en las vertientes orientales de los andes y es de ciclo vegetativo corto por lo que se le conoce como “Chaucha”. En el Perú se tiene variaciones de Phureja. Los tubérculos pueden ser redondos o largos, rojos o amarillos a los que siempre se denominan como “Chauchas”.

Solanum goniocalyx (GON).

Derivada igualmente de *Solanum stenotomun*. Se caracteriza por el color amarillo intenso o particularmente “yema de huevo” de la pulpa de los tubérculos. El clon o variedad “amarilla” es su

representante por excelencia. Otras denominaciones a las plantas y clones de esta especie en el Perú son: “Runtush”, “Zapallo”, “Luntus”, etc.

Solanum x ajanhuiri.

Originaria con carácter hibrodogénico a partir de *S. stenotomun* el cual se ha hibridado con una especie silvestre muy resistente a heladas *Solanum megistacrolobum*. En el Perú se denomina “Yari”, “Ajahuire” o “Kakahbiri” a los clones de esta especie, se cultivan preferentemente desde el centro del Perú en las zonas del altiplano Puneño.

***Solanum x juzepszikii* (JUZ).**

Triploide seleccionado de la especie tetraploide silvestre *S. acaule* con la cultivada *Solanum stenotomun*. Se cultiva en las partes altas del centro del Perú hasta el noroeste argentino, sus tubérculos son muy amargos. Se le consume deshidratado en forma de “chuño” o “moraya”. Los nombres nativos se les conoce en la sierra peruana son “Kanchalle”, “Mallcu”, “Puca chariquito ruckiu, etc.

***Solanum x chaucha* (CHA).**

Triploide hibrodogénico de alta calidad culinaria; originado de una hibrigación natural y selección de cruces entre la subespecie tetraploide andigena y la diploide *Solanum stenotomun*. Probablemente algunos clones de chaucha son alotriploides y autotriploide de los clones de *Solanum stenotomun*. En el Perú tenemos un numeroso número de clones de esta especie, algunos de los nombres más conocidos son “Huario”, “Capiah”, “Ritipasisan”, “Lomo”, “Amarillo de tarma”, etc.

Solanum tuberosum

Sub especie *tuberosum* (TUB), tetraploide originado por selección de *Solanum andigena* y de otras formas nativas que crecen en el sur de Chile. Esta sub especie se siembra en todo el mundo y especialmente en los países no tropicales. Adaptado a las condiciones de fotoperiodo largo. Las variedades más conocidas son “Russet Burbank”, “Kathadin”, “Red Pontiac”, “Bintje”, “King Edward y entre otras.

La sub especie andigena (ADG), es un tetraploide andino , adaptado al fotoperiodo corto y originario de las hibridaciones, duplicación crecomosómica y selección de especies diploides cultivadas, especialmente de *Solanum stenotomun* y especies silvestres especialmente de *Solanum sparsipilum* y otras. El 70 % de las papas cultivadas del Perú pertenecen a esta subespecie. Existen una gran variedad de atributos y características. Algunos de los conocidos son: “Huanghalina”, “Casa Blanca”, “Chata Blanca de Huasahuasi”, “Cellohuaccoto”, “Huayruro”, “Compis”, “Yana imilla”, “Ccusi”, “Pacusa”, “Cellohuaccoto”, “Lamellina”, entre otras.

***Solanum x curtilobum*.**

Especie pentaploide de origen híbrido: sus tubérculos pertenecen al grupo de papas amargas y de plantas de buena tolerancia a las heladas. Se ha originado del cruce natural entre *S. x juzepszikii* que a los gametos $n=3X=36$ cromosomas con la subespecie subespecie andigena como polinizador que aportó $n=2X=24$ cromosomas. Algunos nombres de variedades más comunes en el Perú son los clones “Rucki”, “Choquepito”, “Ocucuri”, “Huaña”, “Yuracc-huaña”, etc.

1.2.3.3. Botánicas y morfológicas

Botánica sistemática es la identificación organizada, clasificación y denominación de las plantas de acuerdo con un sistema de reglas.

Todas las plantas incluidas en un grupo, comparten un número de atributos (caracteres) similares, tales como forma y estructuras.

Morfología es el estudio de la forma y la estructura de las plantas

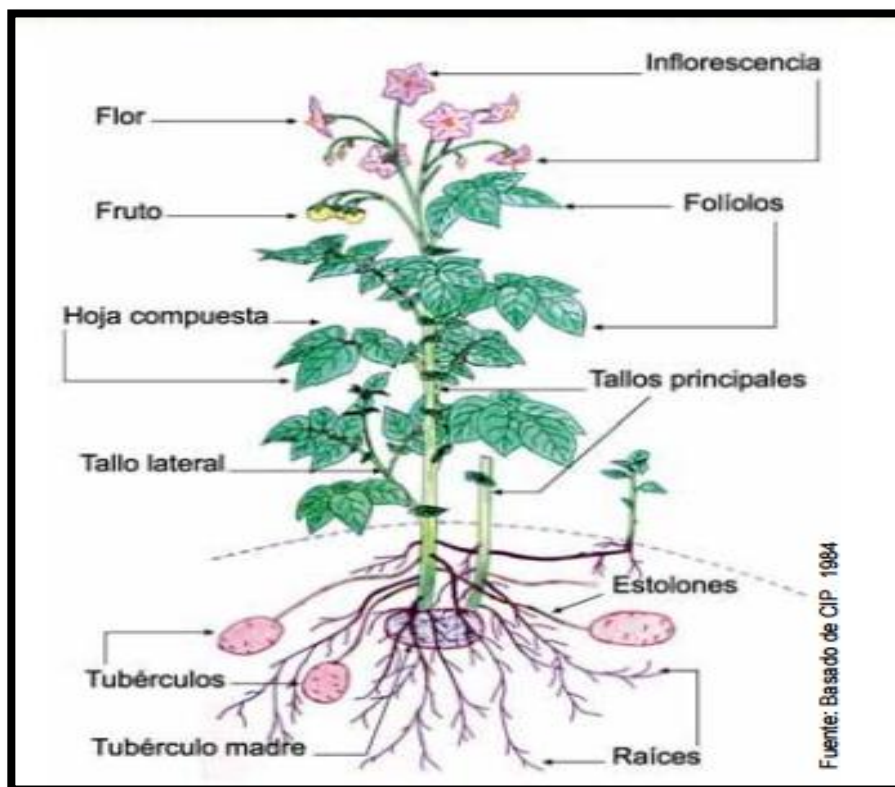


Figura 1, Planta de papa con todas sus partes.

Fuente: INIA-Chile (2009)

Hábito de crecimiento.

La papa es una planta herbácea. Su hábito de crecimiento varía entre las especies y dentro de cada especie. Cuando todas las hojas (o casi todas) se encuentran cerca de la base o en la base de tallos cortos, y están cerca del suelo, se dice que la planta tiene hábito de crecimiento arrosetado o semiarrosetado.

Entre las demás especies se pueden encontrar los siguientes hábitos de crecimiento:

- Rastrero (Tallos que crecen horizontalmente sobre el suelo).
- Decumbente (Tallos que se arrastran pero que levantan el ápice).

- Semierecto y erecto.



En la figura 2, se muestra el hábito de crecimiento erecto de la papa.

Fuente : INIA-CHILE

Raíz.

Las plantas de papa pueden desarrollarse a partir de una semilla o de un tubérculo. Cuando crecen a partir de una semilla, forman una delicada raíz axonomorfa con ramificaciones laterales. Cuando crecen de tubérculos, primero forman raíces adventicias en la base de cada brote y luego encima de los nudos en la parte subterránea de cada tallo. Ocasionalmente se forman raíces también en los estolones.

Las plantas de papa pueden desarrollarse a partir de una semilla o de un tubérculo. Cuando crecen a partir de una semilla, forman una delicada raíz axonomorfa con ramificaciones laterales. Cuando crecen de tubérculos, primero forman raíces adventicias en la base de cada brote y luego encima de los nudos en la parte subterránea de cada tallo.

Ocasionalmente se forman raíces también en los estolones. En comparación con otros cultivos, la papa tiene un sistema radicular débil, por lo cual necesita un suelo de muy buenas condiciones físicas y químicas para su desarrollo. El tipo de sistema radicular varía de delicado y superficial a fibroso y profundo.

En comparación con otros cultivos, la papa tiene un sistema radicular débil, por lo cual necesita un suelo de muy buenas condiciones físicas y químicas para su desarrollo.

Las hojas aisladas, tallos y otras partes de la planta pueden formar raíces, especialmente cuando han sido sometidos a tratamientos con hormonas. Esta habilidad de las diferentes partes de la planta de papa para formar raíces es aprovechada en las técnicas de multiplicación rápida.



En la figura 3, se presenta el sistema radicular fibroso y profundo de la papa.
Fuente : El autor.

Tallos.

El sistema de tallos de la papa consta de tallos aéreos, estolones y tubérculos. Las plantas provenientes de semilla verdadera tienen sólo

un tallo, principal mientras que las provenientes de tubérculos-semilla pueden producir varios tallos.

Los tallos laterales son ramas de los tallos principales. En el corte transversal, los tallos de papa presentan formas entre circulares y angulares. A menudo, en los márgenes angulares se forman alas o costillas. Las alas pueden ser rectas, onduladas o dentadas.

El tallo generalmente es de color verde y algunas veces puede ser de color marrón-rojizo o morado. Los tallos pueden ser sólidos o parcialmente tubulares debido a la desintegración de las células de la médula. Las yemas que se forman en el tallo a la altura de las axilas de las hojas pueden desarrollarse para llegar a formar tallos laterales, estolones, inflorescencias y, a veces, tubérculos aéreos.



En la figura 4, se presenta las características del tallo de papa.
Fuente : (INIA-Chile 2009).

Estolones.

Morfológicamente descritos, los estolones de la papa son tallos laterales que crecen horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas de la parte subterránea de los tallos. Los estolones largos son

comunes en las papas silvestres y el mejoramiento de la papa tiene como una de las metas obtener estolones cortos.

Los estolones pueden formar tubérculos mediante un agrandamiento de su extremo terminal. Sin embargo, no todos los estolones llegan a formar tubérculos.

Un estolón no cubierto con suelo, puede desarrollarse en un tallo vertical con follaje normal.



En la figura 5, se presenta los estolones de papa.
Fuente: INIA-CHILE (2009).

Tubérculos.

Los tubérculos de papa son tallos modificados y constituyen los principales órganos de almacenamiento de la planta de papa.

Un tubérculo tiene dos extremos: el basal, o extremo ligado al estolón, que se llama talón, y el extremo expuesto, que se llama extremo apical o distal. Los ojos se distribuyen sobre la superficie del tubérculo siguiendo una espiral, se concentran hacia el extremo apical y están ubicados en las axilas de hojas escamosas llamadas «cejas».

Dependiendo de la variedad, las cejas pueden ser elevadas, superficiales o bien profundas. Cada ojo contiene varias yemas.



En la figura 6, se presenta los tubérculos de la papa
Fuente: El autor.

Los ojos del tubérculo de papa corresponden a los nudos de los tallos; las cejas representan las hojas, y las yemas del ojo representan las yemas axilares. Las yemas de los ojos pueden llegar a desarrollarse para formar un nuevo sistema de tallos principales, tallos laterales y estolones. Generalmente, cuando el tubérculo ha madurado, las yemas de los ojos están en un estado de reposo y, por ello, no pueden desarrollarse. Al cabo de cierto tiempo, dependiendo

de la variedad, las yemas del ojo apical son las primeras en salir del reposo. Esta característica se llama dominancia apical. Más tarde, las yemas de los otros ojos se desarrollan para convertirse en brotes. En la mayoría de las variedades comerciales la forma del tubérculo varía entre redonda, ovalada y oblonga. Además de estas formas, algunos cultivares primitivos producen tubérculos de diversas formas irregulares.

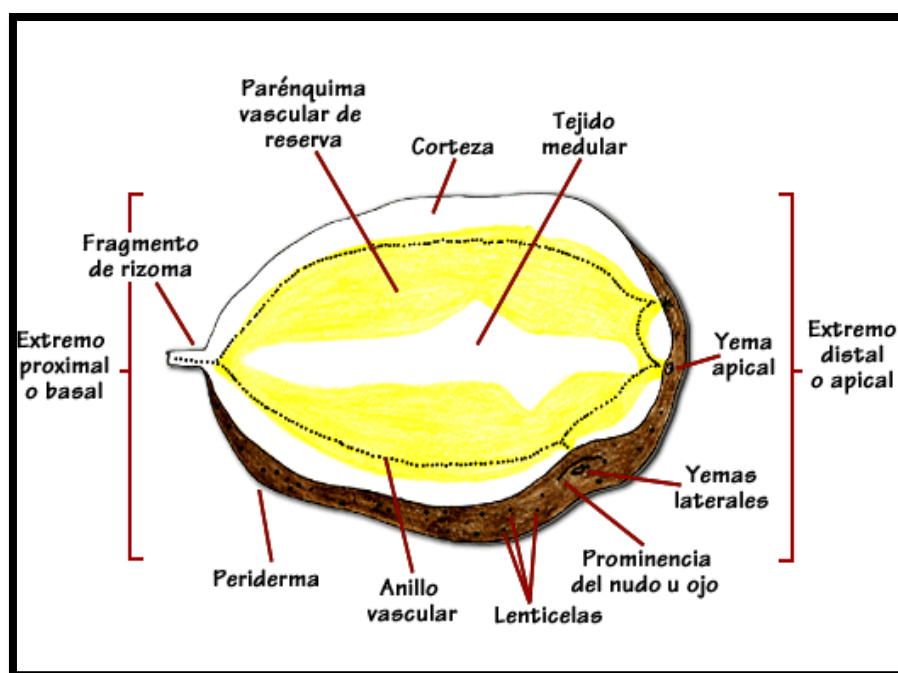
En un corte longitudinal el tubérculo muestra los elementos siguientes desde el exterior hacia el interior: peridermo o piel, corteza, sistema vascular, parénquima de reserva y tejido medular o médula.

El peridermo o la piel es una delgada capa protectora en el exterior del tubérculo. Su color puede variar entre blanco crema, amarillo, naranja, rojo o morado. Algunos tubérculos tienen dos colores. Cuando se exponen a la luz por unos días, se tornan normalmente de color verdoso. La piel es generalmente suave y en algunas variedades es tosca o áspera y sale fácilmente al frotarla cuando el tubérculo no ha madurado. Por eso, el daño de la piel es frecuente cuando se cosechan tubérculos antes de su madurez.

En la superficie de la piel se encuentran distribuidas las lenticelas (poros respiratorios) por las cuales se efectúa el intercambio de gases entre el tubérculo y el ambiente. En condiciones húmedas, las lenticelas aumentan de tamaño y se ven como puntos blancos prominentes. La corteza está inmediatamente debajo de la piel. Es una banda delgada de tejido de reserva que contiene principalmente proteínas y almidones. El sistema vascular conecta los ojos del tubérculo entre sí y al tubérculo con otras partes de la planta. Dentro del anillo vascular se encuentra el parénquima de reserva, que es el tejido principal de almacenamiento y ocupa la mayor parte del

tubérculo. La médula constituye la parte central del tubérculo. Todos los elementos de la corteza a la médula, constituyen la carne del tubérculo, la cual en las variedades comerciales es normalmente de color blanco, crema o amarillo pálido. Sin embargo, algunos cultivares primitivos también producen tubérculos cuya carne es color amarillo oscuro, rojo, morado o bicolor

La papa es una planta suculenta, herbácea y anual por su parte aérea y perenne por sus tubérculos (tallos subterráneos) que se desarrollan al final de los estolones que nacen del tallo principal, y a veces de varios tallos, según el número de yemas que hayan brotado del tubérculo.



En la Figura 7, se presenta las partes de tubérculo al hacer un corte transversal.
Fuente: (INIA-CHILE 2009).

Brotos.

Los brotes crecen de las yemas que se encuentran en los ojos del tubérculo y el color es una característica varietal importante. Los brotes pueden ser blancos, parcialmente coloreados en la base o el ápice, o casi totalmente coloreados. Los brotes blancos, cuando se

exponen indirectamente a la luz, se tornan verdes. El extremo basal del brote forma normalmente la parte subterránea del tallo y se caracteriza por la presencia de lenticelas. Después de la siembra, esta parte rápidamente produce raíces y luego estolones o tallos laterales. El extremo apical del brote da origen a las hojas y representa la parte del tallo donde tiene lugar el crecimiento del mismo.

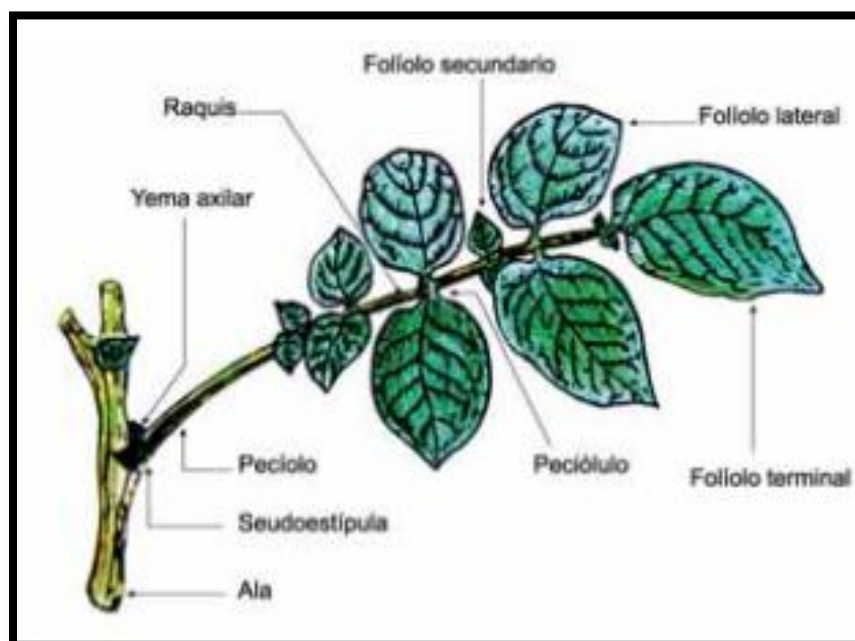


En la figura 8, se muestran los brotes en el tubérculo de papa
Fuente: El autor

Hojas.

Las hojas están distribuidas en espiral sobre el tallo. Normalmente, las hojas son compuestas, es decir, tienen un raquis central y varios folíolos. Cada raquis puede llevar varios pares de folíolos laterales primarios y un folíolo terminal. La parte del raquis debajo del par inferior de folíolos primarios se llama pecíolo. Cada folíolo puede estar unido al raquis por un pequeño pecíolo llamado peciólulo, o puede estar unido directamente, sin peciólulo, y en este caso se llama folíolo sésil. La secuencia regular de estos folíolos primarios puede estar interceptada por la presencia de folíolos secundarios pequeños.

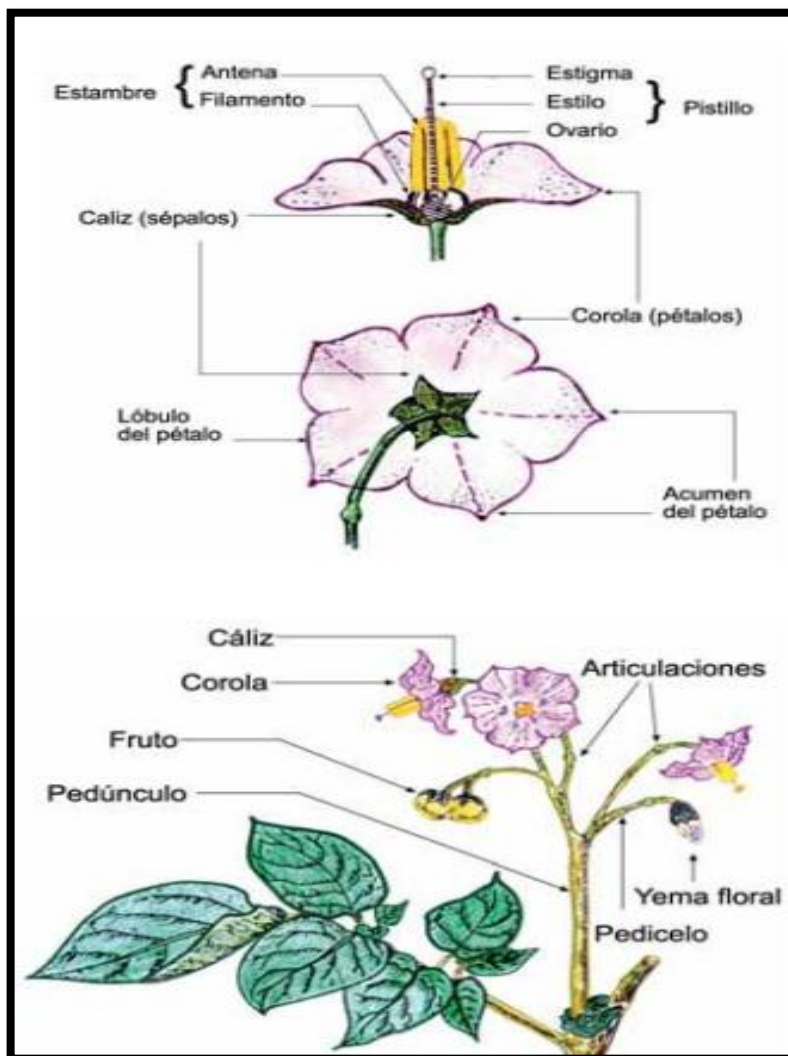
En la base de cada pecíolo se encuentran dos hojuelas laterales llamadas pseudoestípulas. Desde el punto de inserción del pecíolo pueden extenderse hacia abajo, las alas o costillas del tallo.



En la Figura 9, se presenta las hojas compuestas de papa y sus partes.
Fuente: INIA-Chile (2009).

Inflorescencia y la flor de papa.

El pedúnculo de la inflorescencia está dividido generalmente en dos ramas, cada una de las cuales se subdivide en otras dos ramas. De esta manera se forma una inflorescencia llamada cimosa. De las ramas de las inflorescencias salen los pedicelos, en cuyas puntas superiores se encuentran los calices. Cada pedicelo tiene una coyuntura o articulación en la cual se desprenden del tallo las flores o los frutos. Esta articulación es pigmentada en algunas variedades cultivadas. Las flores de la papa son bisexuales (tienen ambos sexos), y poseen las cuatro partes esenciales de una flor: cáliz, corola, estambres y pistilo.



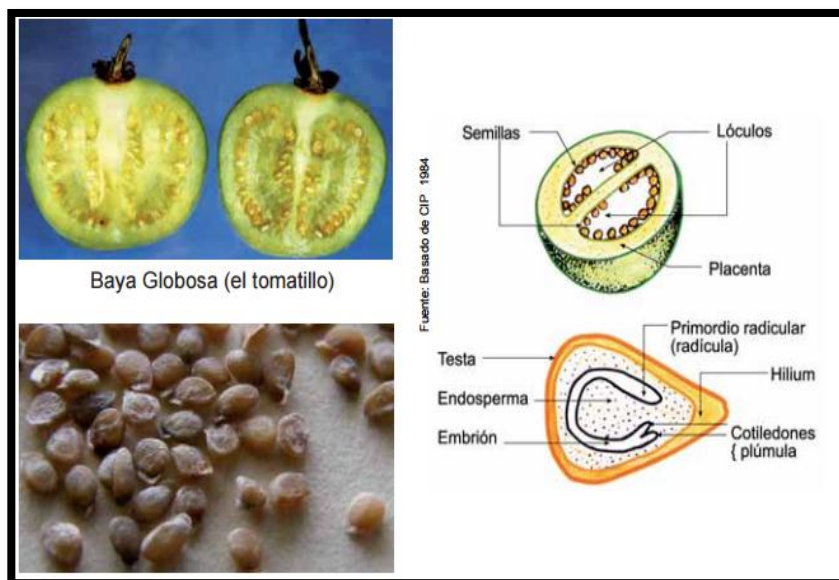
En la Figura 10, se muestra las partes de una flor y su inflorescencia de la papa.
Fuente: INIA-Chile (2009).

Frutos.

Al ser fertilizado, el ovario se desarrolla para convertirse en un fruto llamado baya, que contiene numerosas semillas. El fruto generalmente es esférico, pero en algunas variedades son ovoides o cónicos. Normalmente, el fruto es de color verde, y en algunas variedades cultivadas tienen puntos blancos o pigmentados, o franjas o áreas pigmentadas

El número de semillas por fruto llega a más de 200 según la fertilidad de cada cultivar. Las semillas son planas, ovaladas y pequeñas (1.000-1.500 semillas/gramo). Cada semilla está envuelta

en una capa llamada testa que protege al embrión y un tejido nutritivo de reserva llamado endosperma. Las semillas son también conocidas como semilla verdadera o botánicas, para distinguirlas de los tubérculos-semillas, usados para la producción.



En la Figura 11, se presenta las partes de un fruto y partes de la semilla botánica de papa.

Fuente: INIA-Chile (2009).

1.2.4. Fenología de la papa.

El cultivo de la papa presenta diversas fases o etapas, en cada una de ellas se deben considerar acciones de manejo, así como observarlas para determinar qué hacer con respecto al manejo de plagas que se presenten.

Dormancia o reposo de la semilla

Es el período que transcurre entre la cosecha y la brotación. Para el tubérculo semilla, esta etapa dura de 2 a 3 meses y para la semilla sexual entre 4 a 6 meses. La dormancia puede ser rota o inducida por heridas o alguna enfermedad en el tubérculo; en estos casos la brotación ocurre en menor tiempo. También puede inducirse por tratamiento químico, utilizando el ácido giberélico en dosis de 1 a 5 ppm.

Brotación

Ocurre cuando comienzan a emerger las yemas de los tubérculos; dura de dos a tres meses, luego la papa está apta para sembrarse; es ideal que los tubérculos presenten por lo menos tres brotes cortos, fuertes y que tengan una longitud de 0.5 a 1 cm.

Emergencia

Los brotes emergen a los 10-12 días de tubérculos, y de 8 a 12 días de semilla sexual, cuando son plantados en el campo y tienen las condiciones adecuadas de temperatura y humedad en el suelo, para su desarrollo.

Desarrollo de tallos

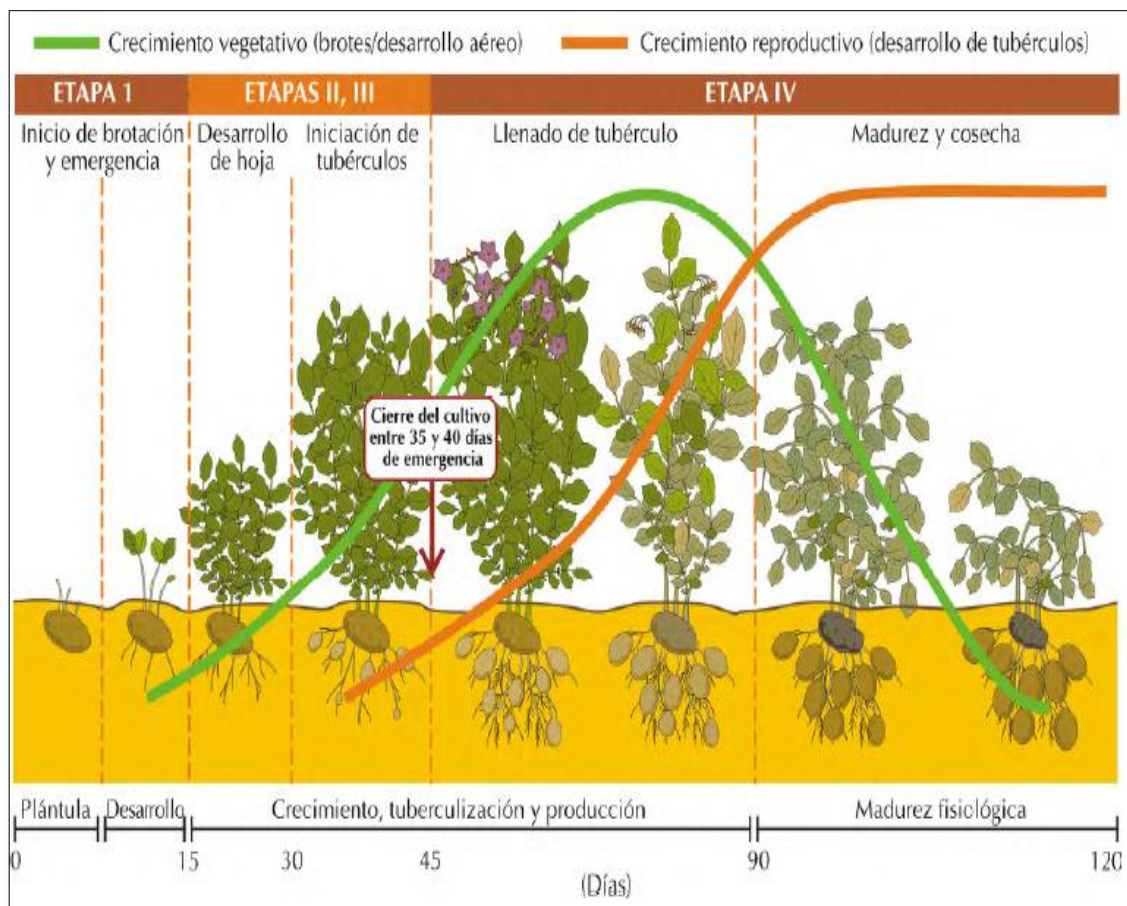
En esta etapa, hay crecimiento de follaje y raíces en forma simultánea; dura entre 20 a 30 días.

Tuberización y floración.

La floración es señal de que la papa comienza a emitir estolones o que inicia la tuberización. En variedades precoces, esto ocurre a los 30 días después de la siembra; en variedades intermedias, entre los 35 a 45 días; y en las tardías entre 50 a 60 días. Esta etapa dura unos 30 días.

Desarrollo de los tubérculos.

Los tubérculos alcanzan la madurez fisiológica a los 75 días en variedades precoces; 90 días para intermedias y 120 días para variedades tardías. En esta etapa los tubérculos pueden cosecharse y almacenarse.



En la Figura 12, se puede observar el ciclo fenológico del cultivo de papa
Fuente: INIA - CHILE (2016).

1.2.5. Capacidad de aclimatación a bajas temperaturas y fuentes de tolerancia a heladas en papas.

A pesar que la mayoría de las variedades cultivadas de papas son sensibles a temperaturas inferiores a -2.5°C , algunas especies silvestres tienen la capacidad de sobrevivir a heladas de -5°C e incluso incrementar su tolerancia a temperaturas tan bajas como -10°C , previo periodo de aclimatación a bajas temperaturas (Chen y Li, 1980; Costa y Li, 1992; Vega y Bamberg, 1995). Esta capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (CA) (por su sigla en inglés, Cold Acclimation) se caracteriza por la habilidad que tienen algunas especies de incrementar la tolerancia a temperaturas aún más bajas luego de estar expuestas por un corto tiempo a temperaturas entre 0°C y 4°C .

En el cuadro 1 se clasifican diferentes especies de papas según su respuesta a bajas temperaturas destacando *Solanum acaule*, *Solanum commersonii*, *Solanum multidissectum* y *Solanum chomatophilum* con tolerancias entre -4.5°C a -11.5°C. Estudios posteriores de (Vega et al. 2000), reclasificaron a *Solanum megistacrolobum* y *Solanum sanctaerosae* sugiriendo que estas especies también tendrían capacidad de aclimatación al frío (CA), reportando un aumento en su tolerancia a heladas desde -3.7°C a -6.3°C y de -3.8°C a -5.6°C, respectivamente.

Tabla 1. Clasificación de especies *Solanum* con capacidad de tuberización según tolerancia a heladas y capacidad de aclimatación a bajas temperaturas (adaptado de Chen y Li 1980 y Vega et al., 2000*).

Categoría	Especie	LT50 (°C) sin Aclimatación	LT50 (°C) Con aclimatación
Tolerantes a heladas, con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. acaule</i>	-6.0	-9.0
	<i>S. commersonii</i>	-4.5	-11.5
	<i>S. multidissectum</i>	-4.0	-8.5
	<i>S. chomatophilum</i>	-5.0	-8.5
Tolerantes a heladas, sin capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. bolviense</i>	-4.5	-4.5
Sensible a Heladas, con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. oplocense</i>	-3.0	-8.0
	<i>S. polytrichon</i>	-3.0	-6.0
	<i>S. megistacrolobum*</i>	-3.7	-6.3
	<i>S. sanctae-rosae*</i>	-3.8	-5.6
Sensible a Heladas, sin capacidad de aclimatación a bajas temperaturas	<i>S. brachistotrichum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. cardiophyllum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. fendleri</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. jamesii</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. kurtzianum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. microdontum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. pinnatisectum</i>	-2.5	-2.5
	<i>S. stonotonum</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. stoloniferum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. sucrense</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. tuberosum</i>	-3.0	-3.0
	<i>S. venturii</i>	-3.5	-3.5
	<i>S. vernei</i>	-3.5	-3.5
<i>S. verrucosum</i>	-3.0	-3.0	

NT50: temperatura letal a la cual el 50% de las muestras mueren

Fuente: INIA-CHILE (2016).

La capacidad de CA está asociada a cambios anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares en plantas; entre estos últimos destaca la expresión de genes relacionados por ejemplo con la producción de enzimas claves en la vía de síntesis de osmolitos, proteínas con funciones protectoras, enzimas antioxidantes, factores de transcripción (FT) y otras proteínas involucradas en la respuesta a estrés térmico (Thomashow, 1999). Otro de los factores responsable de la adaptación a bajas temperaturas es el incremento de los ácidos grasos insaturados en las membranas celulares a fin de mantener su fluidez (Somerville y Browse, 1991; Palta et al., 1993; Wada et al., 1994). A bajas temperaturas, se ha observado la síntesis ácidos grasos insaturados vía síntesis de enzimas del tipo desaturasas para evitar la pérdida de fluidez a bajas temperaturas y la desnaturalización de las proteínas (Thomashow, 1999).

Un estudio reciente que evaluó la sobre expresión del gen acyl-lipid-12-desaturasa en papas, sugirió que en conjunto con un incremento de los ácidos grasos insaturados en la membrana mejoraría la tolerancia a heladas (Amiri et al., 2010). La capacidad de aclimatación a bajas temperaturas en papas también ha sido relacionada con cambios en la ultra estructura de la hoja y particularmente en la empalizada; tempranamente se observó que aquellas especies de papas más tolerantes a bajas temperaturas tenían doble empalizada, sugiriéndolo incluso como un criterio indirecto de selección (Palta y Li, 1979; Tiwari y Garg, 1982; Tiwari et al., 1986). El índice de estomas también se ha propuesto como un criterio de selección en papas. Algunos estudios han reportado mayor número de estomas por área en aquellas especies más tolerantes a heladas (Palta y Li, 1979) y en híbridos de *Solanum commersonii* x *Solanum cardiophyllum* (Kleinhenz et al., 1995). Similares resultados fueron reportados en un estudio que comparó la respuesta a heladas entre líneas transgénicas de *Solanum commersonii* (35S: AtCBF1) y su control no transgénico; las líneas transgénicas en conjunto se mostraron con una mayor tolerancia a heladas presentaron una empalizada más gruesa y mayor número de estomas por área que el control (Pino et al.,

2006). Además, en algunas especies silvestres de papas, se ha asociado la tolerancia a heladas con la presencia de pigmentos antocianos tanto en hojas como en tallos (Estrada, 1982).

1.2.6. Mejoramiento genético convencional versus ingeniería genética para la tolerancia a heladas.

Uno de los desafíos de los mejoradores de papas, es transferir la capacidad de algunas papas silvestres para aclimatarse a bajas temperaturas y soportar heladas inferiores a -3°C . Se han realizado varios intentos por transferir este carácter a la papa cultivada vía mejoramiento genético convencional, con resultados no muy alentadores; básicamente porque la mayoría de las papas silvestres son sexualmente incompatibles con las papas cultivadas y además porque la tolerancia a heladas está regulada por varios genes. Como estrategia se ha recurrido a la fusión de protoplastos, al rescate de embriones y al uso de especies puentes para superar las barreras naturales propias de cruzamientos inter-específico. Sin embargo, se ha observado que “the linkage drag”, limita la introgresión de genes desde papas silvestres a la cultivada porque muchos caracteres exóticos e indeseables pueden ser transmitidos en conjunto con la tolerancia a heladas, tales como alto contenido de alcaloides y estolones largos (Estrada et al., 1993).

Algunos ejemplos de cruzamientos inter-específicos entre *Solanum tuberosum* x *Solanum commersonii* son los estudios de (Cardi et al. 1993a, b) y de (Nyman y Waara 1997). En ambos estudios, la mayoría de los híbridos mostraron un fenotipo similar a *S. tuberosum*, mayor vigor y mejoraron su capacidad de CA en diferentes grados. Sin embargo, varios de ellos fueron más sensibles a bajas temperaturas que *Solanum tuberosum*, mostrando además clorosis foliar. Asimismo, la mayoría de estos híbridos mostraron esterilidad masculina limitando su uso en los programas de mejoramiento genético (Cardi et al., 1993a; Nyman y Waara, 1997). Otro estudio en cruzamientos inter específicos entre *Solanum commersonii* y *Solanum*

tuberosum, mostró que el F₁ (triploide), presentó tolerancia a heladas y capacidad de CA similar a *Solanum commersonii*, pero con algunas pérdidas en las características agronómicas de *Solanum tuberosum*. Sin embargo, el seguimiento de los genotipos BC₁ (pentaploide) y BC₂ (tetraploide o cercano) mostró menor tolerancia a heladas que el F₁ (Carputo et al., 2000).

Otro estudio entre híbridos *Solanum commersonii* (5X) y *Solanum tuberosum* (4X), mostró que los valores LT₅₀ de los híbridos fluctuaron entre ambos padres, y sólo algunos de ellos mejoraron su tolerancia a heladas, superando los -3°C (Iovene et al., 2004). En otro estudio, la incorporación del citoplasma de *Solanum commersonii* no mejoró la tolerancia a heladas en papas sensibles a heladas como *Solanum brachistotrichum*, *Solanum cardiophyllum*, y *Solanum Pinnatisectum* (Bamberg et al., 2005). Por otra parte, un estudio tendiente a construir un mapa parcial de ligamiento entre cruzamientos de *Solanum commersonii* y *Solanum cardiophyllum*, indicó que la tolerancia a heladas y la capacidad de CA están bajo control genético independiente (Vega et al., 2003).

El mejoramiento convencional para incrementar la tolerancia a heladas y transmitir la capacidad de CA entre papas silvestres y cultivadas, además de las limitantes antes mencionada, requiere considerable tiempo en retrocruzas, en evaluaciones y en selección fenotípica (Pavek y Corsini, 2001; Iovene et al., 2004). Sin embargo, el uso de herramientas biotecnológicas modernas como la ingeniería genética y la genómica, prometen acelerar este proceso.

Los marcadores moleculares han sido una herramienta útil para alcanzar algunos objetivos del mejoramiento genético, permiten realizar un tipo de selección asistida a través de la relación de la variabilidad genotípica y fenotípica, acelerando el proceso de selección. Entre los principales marcadores moleculares están los del tipo AFLPs (polimorfismo en el largo de los fragmentos amplificados), RFLPs (polimorfismo en el largo de los fragmentos de restricción) y microsatélites (SSRs) entre otros, los cuales han

sido muy efectivos en la identificación de genes que controlan características simples, asociadas a uno o pocos genes. También destacan los marcadores del tipo SNPs (polimorfismos en una sola base), que se caracterizan por su abundancia en el genoma. Sin embargo, su identificación y evaluación fue inicialmente limitada por su alto costo. En los últimos años, la secuenciación a gran escala, así como la aplicación de la técnica de genotipado mediante secuenciación de nueva generación o GBS (por su sigla en inglés, Genotyping by Sequencing) permite genotipar un gran número de individuos mediante secuenciación masiva a bajo costo, obteniendo marcadores (SNPs de alta calidad) representativos por todo el genoma. Esta técnica permitirá genotipar las diferentes generaciones obtenidas (F1, F2..., Fn), en los programas de mejoramiento genético en forma efectiva. Por otra parte, estudios de Asociación del Genoma Completo o GWAS (por su sigla en inglés, Genome Wide Association Studies), permite realizar un análisis de asociación entre los SNPs y caracteres o rasgos de interés como la productividad, la calidad, y tolerancia a estrés abiótico, entre otros (Elshire et al., 2011; Davey et al., 2011).

Herramientas como estas, unida a la selección genómica (SG), prometen acelerar la obtención de variedades tolerantes a estrés abiótico. Respecto a los genes asociados a la tolerancia a heladas, el uso de la transgenia ha permitido introgresar algunos de estos genes a papa cultivada con resultados variables (ver Capítulo 1 y Tabla 1). Uno de los primeros intentos fue la transformación genética del cultivar Russet Burbank con un gen sintético AFP (por su sigla en inglés, Antifreezing Protein). Los resultados mostraron en las líneas transgénicas menor pérdida de electrolitos y mayor tolerancia a heladas con un LT50 entre -3.0oC a -3.5oC (Wallis et al., 1997).

Luego, el cultivar Desireé fue transformado con un gen de levadura del tipo invertasa (INVase) bajo el control del promotor B33 Patatín, las líneas transgénicas mostraron mejor comportamiento a bajas temperaturas debido a cambios en la relación de azúcares solubles (Deryabin et al., 2003).

El cultivar Desireé también ha sido transformado con el gen desaturasa (cambios en la conformación lipídica de la membrana e inducir tolerancia a heladas (De Palma et al., 2008). Estudios en el cultivar Desnitsa, usando como transgen el gen delta12-desaturasa (desA) proveniente de una cianobacteria y bajo un promotor constitutivo, mostraron un incremento en la tolerancia a heladas debido a un aumento de los ácidos grasos insaturados (Maali-Amiri et al., 2007; Demin et al., 2008; Amiri et al., 2010).

Algunos cultivares de papas también han sido transformados con FT del tipo DREB/CBF (DREB1b/ AtCBF1, DREB1c/AtCBF2, DREB1a/AtCBF3). Estudios en el cultivar Umatilla mostraron que la expresión de los FTs, AtCBF1 y AtCBF3, bajo control de un promotor inducible rd29A, mejoró la tolerancia a heladas sin causar efectos negativos en el fenotipo de la planta, mientras que la expresión de AtCBF1 y AtCBF3 bajo control de un promotor constitutivo mejoró la tolerancia a heladas, pero alteró el fenotipo de la mayoría de las líneas transgénicas (Pino et al., 2007; Pino et al., 2008).

El efecto de estos FT fue ratificado en el cultivar Desireé; el gen DREB1a/AtCBF3 bajo control del promotor inducible (rd29A), mostró consecuentemente mayor tolerancia a heladas en plantas in vitro (Behnam et al., 2007).

También la expresión constitutiva del gen DREB1b/AtCBF1 en el cv Desireé mejoró la tasa de sobrevivencia en plantas (en macetas) sometidas a -6oC durante 0, 15, 30 y 45 horas (Movahedi et al., 2012).

1.2.7. Estrés en plantas.

1.2.7.1. Conceptos de estrés en fisiología vegetal.

El concepto de estrés proviene de la física, que es la fuerza que actúa sobre el cuerpo. El cuerpo responde a una reacción proporcional a la fuerza que ha actuado sobre él. La reacción de la respuesta es la

tensión. En biología el estrés sería un factor extremo que afecta negativamente al organismo vivo. Por lo tanto, la definición biofísica del estrés involucra como una fuerza sobre el objeto en relación a su área sobre el cual se aplica (es decir que posee un significado equivalente a presión. Teniendo en cuenta estos conceptos, el estrés en el marco de la fisiología vegetal refleja la magnitud de la presión ambiental que fuerza al cambio en la fisiología de la planta (Nilsen y Orcutt, 1996). (Lewitt 1980) definió al estrés como cualquier factor ambiental potencialmente desfavorable para el crecimiento y desarrollo de los organismos vivos.

A menudo es muy difícil distinguir entre aquellas respuestas que repercuten negativamente en la planta y aquellos que poseen un efecto beneficioso. (Nilsen y Orcutt 1996) señalan que algunos factores ambientales pueden tener efectos simultáneamente. Por ejemplo, la marchitez producida por un déficit hídrico si bien tiene un efecto negativo en la tasa de asimilación del CO₂ también puede tener un efecto positivo para la planta, ya que permite una disminución de la absorción de la energía lumínica al cambiar el ángulo de exposición de la hoja evitando de este manera el daño a las hojas por quemaduras por exposición a altas temperaturas.

Entonces el término estrés en la fisiología vegetal tiene diferentes definiciones, y se puede definir al estrés como cualquier factor ambiental de origen biótico y abiótico que reduce la tasa de un proceso fisiológico (por ejemplo el crecimiento o fotosíntesis) por debajo de la tasa máxima que podría alcanzar (Lambers et al, 1998).

1.2.7.2. Tipos de estrés.

Existen variadas clasificaciones de estrés, pero en general estos se pueden clasificar como estreses bióticos y estreses abióticos (Azcon-Bieto y Tálon, 2008).

Los estrese bióticos son causados por la acción de otros seres vivos que pueden ser animales, plantas que pueden causar el estrés por competencia y alelopatía, microorganismo (bacterias y hongos) y otros agentes fitopatógenos como los virus y viroides.

Los estreses abióticos, depende del agente causal y pueden dividirse en físicos y químicos. Entre los factores fisicoquímicos se pueden mencionar el estrés por déficit y exceso de agua, temperaturas extremas (calor, frío o congelación), salinidad (en su componente osmótico) y la radiación ultravioleta. Entre los factores químicos destacan la contaminación atmosférica por metales pesados, toxinas, salinidad (en su componente iónico y tóxico) y deficiencia de nutrientes minerales.

1.2.7.3. Importancia del estudio del estrés en plantas.

Existen numerosas razones para estudiar la fisiología de las plantas bajo condiciones de estrés. Según (Tambussi 2004) entre los más importantes son:

- a. El conocimiento de los factores de estrés en plantas puede ser de gran importancia para la elaboración de modelos mecánicos de naturaleza predictiva (por ejemplo, el estudio de los posibles efectos del cambio climático).
- b. Desde la perspectiva ecofisiológica, de la interacción de las plantas con los factores ambientales es fundamental para comprender la distribución de las especies en diferentes ecosistemas.
- c. El rendimiento de los cultivos está fuertemente limitado por el impacto de los estreses ambientales (Nilsen y Orcutt, 1996).

Por otro lado, es crucial para comprender los procesos fisiológicos relacionados con especies y/o variedades de los cultivos al estrés a la hora de establecer programas de mejoramiento genético por métodos convencionales y biotecnológicos (Ali-Pid et al, 1990)

1.2.7.4. Fases de respuesta de las plantas al estrés.

Los ciclos de estrés/respuesta son situaciones que se dan en forma rutinaria a lo largo de la vida de las plantas. El concepto de estrés es relativo, ya que en una determinada situación medioambiental puede resultar estresante para una especie y no para otras (Azcón- Bieto y Talón, 2008).

En una escala temporal, la respuesta de las plantas al estrés puede dividirse en tres fases (Lambers et al., 1998).

- a. Fase de alarma: tiene un efecto inmediato que tiene un efecto perjudicial y puede ocurrir en segundos o días. Cuando en la planta ocurre el estrés, estas reaccionan disminuyendo o deteniendo sus funciones fisiológicas básicas y reducen su vigor. Esta relación está relacionada con la activación de los mecanismos que dispone la planta para hacer frente al estrés. Las plantas que no poseen mecanismos adecuados de defensa frente al estrés o en respuesta frente al estrés experimentan daños irreversibles y mueren. El desenlace es el mismo cuando la situación del estrés es muy intenso y supera la capacidad respuesta de la planta.
- b. Aclimatación (endurecimiento): es un ajuste morfológico y fisiológico realizada por la planta (como individuo) para compensar el funcionamiento de la misma después del estrés. Ocurre en periodo de tiempo un de 1 día a semanas. La activación de los mecanismos defensivos o de respuesta conduce al acomodo del metabolismo celular a las nuevas condiciones, a la activación de los procesos de reparación de la maquinaria celular dañada y a la expresión de las adaptaciones morfológicas.
- c. La adaptación: es una respuesta evolutiva que resulta del cambio genético de las poblaciones conduciendo a una compensación

morfológica y fisiológica. Ocurre en un periodo de tiempo mucho mayor que la aclimatación y tras de muchas generaciones.

La manifestación de la respuesta de las plantas frente a las condiciones adversas implica la puesta en marcha de una secuencia compleja de acciones (Azcón-Bieto y Talón, 2008). En primer lugar se produce la percepción de la planta al estímulo estresante, seguida del procesamiento de la señal del estrés percibido que implica tanto su amplificación como su integración a la ruta o rutas de transmisión de la información y finalmente tiene una regulación de la expresión genética.

El estímulo externo debe transformarse en una señal interna de naturaleza física y química a través de cascadas o rutas de transmisión de la señal al núcleo de la célula, donde se producen cambios en la expresión génica necesarios para hacer frente el estrés por la planta de este manera existen cambios en la turgencia que podrían intervenir en el sistema sensor del estrés osmótico, mientras que los elicidores en los cuales se encuentran las proteínas de transferencia de lípidos (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Las condiciones adversas induce a cambios transitorios en determinados niveles de iones (calcio) y moléculas (lípidos, especies reactivos de oxígeno, especies de antioxidantes, óxido nítrico), que advierten a la célula de ha sido detectada una señal de estrés, Las hormonas realizan una importante función en las rutas de transmisión intracelular de la señal del estrés. El ácido abscisico participa en forma activa en la señalización de muchas respuestas al estrés abiótico (Toumi et al., 2010).

1.2.8. Efectos de bajas temperaturas en la fotosíntesis.

La fotosíntesis es uno de los procesos más importantes que controlar el crecimiento y la producción de los cultivos, en el cual el CO₂ es asimilado

por las plantas en presencia de luz, agua, minerales para formar los carbohidratos simples y en el proceso es liberado el oxígeno (Taiz y Zeiger, 2006). Además es uno de los principales procesos relacionados con absorción y asimilación del nitrógeno, debido a que muchas proteínas y enzimas están involucradas en el proceso fotosintético (Evans, 1989). En este sentido algunas plantas son más eficientes que otras para producir la biomasa a partir del CO₂ de agua y el aire. La fotosintética se mide en unidades de gas carbónico asimilado o utilizado para la producción de materia seca de la planta. Como la respiración consume parte de los productos de la fotosíntesis, la medida más importante no es la fotosíntesis bruta sino la diferencia entre fotosíntesis bruta menos la respiración, llamada tasa de fotosíntesis neta, que se define como la velocidad de acumulación de la biomasa por unidad de superficie y por unidad de tiempo (Taiz y Zeiger, 2006).

Las temperaturas de congelamiento en papa producen pérdidas en rendimientos y del daño foliar. Las heladas inducen la formación de cristales de hielo a temperaturas de congelación. Se pueden formar cristales de hielo dentro del protoplasma causando el rompimiento y muerte celular, o también en los espacios extracelulares produciendo severa deshidratación celular (Palta y Li, 1980; Toivio - Kinnican et al., 1981; Steponkus, 1984). Muchos de los efectos del estrés por bajas temperaturas están relacionados con la variación en la fluidez de las membranas, temperaturas bajo 0°C disminuyen la semi-permeabilidad de la membrana debido a la desnaturalización de proteínas y alteración de la composición de lipídica de la membrana (Palta y Li, 1980). Un análisis comparativo entre *Solanum tuberosum* (sensible a heladas) y *Solanum commersonii* Dun (tolerante a heladas con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas) mostró diferencias en la estructura lipídica de la membrana luego de ser expuestas a bajas temperaturas, incluyendo un incremento de los ácidos grasos insaturados para aumentar su fluidez. Sugiriendo que esta capacidad sería un mecanismo de adaptación a bajas temperaturas en *S. commersonii* (Palta et al., 1993).

Además el estrés por bajas temperaturas produce efectos a diversos niveles del aparato fotosintético. En primer lugar, promueve el cierre estomático (Perera et al., 1995), lo cual puede provenir de (a) la existencia de déficit hídrico (Tambusi, 2004), (b) por aumento del carbono interno (C_i), debido a la disminución de la tasa de asimilación de este elemento y (c) por efectos directos de las bajas temperaturas en los estomas (Allen y Ort, 2001).

Las estomas son en la práctica válvulas variables que controlan la difusión de vapor de agua desde los espacios intercelulares hasta la atmósfera que rodea a la hoja. Por esta causa, inevitablemente, el cierre de la estoma y este gobierna la difusión del CO_2 (Bjorkman, 1981, Farquhar y Sharkey, 1982; Tichá, 1982, Salárova y Pospísilová, 1983).

La disminución de la tasa de fotosíntesis neta (o absorción neta de CO_2) puede ser explicada en parte por una caída de la concentración del CO_2 por el cierre estomático y una reducción de la conductancia estomática (Jarvis, 1971). El CO_2 penetra desde la atmósfera a través de las estomas a los lugares de carbonización. Este ingreso se puede dividir en dos fases:

- a) Una fase gaseosa. Es la transferencia del CO_2 molecular, desde el exterior de la hoja hacia los espacios intercelulares.
- b) Una fase líquida. Consiste en la transferencia de bicarbonato y CO_2 molecular (disuelto) desde los espacios intercelulares hasta los lugares de carbonización (Longtreth et al., 1980; Catak y Tichá, 1982; Farquhar y Sharkey, 1982).

La vía gaseosa está controlada principalmente por la conductancia estomática (Farquhar y Sharkey, 1982; Tichá, 1982, Solárova y Pospísilová, 1983). La fase líquida está regulada por la conductancia del mesófilo (residual o intracelular). Esta última conductancia considera las propiedades físicas, como morfológicas de las paredes celulares, plasmalema, citoplasma,

membranas cloroplásticas, así como la reacción de carbonización de la fotosíntesis (Jarvis, 1971; Longstreth et al., 1980, Catský y Tichá, 1982)

Particularmente importante es el estrés por bajas temperaturas en presencia de luz ('light-chilling'), situación que se produce, en mañanas frías y soleadas de regiones de clima de los andes o zonas templadas (Van Breusegem et al., 1999). En plantas sensibles, 'lightchilling' puede afectar severamente todos los componentes del aparato fotosintético, incluyendo el transporte electrónico tilacoidal, el ciclo reductivo del carbono y el control de la conductancia estomática (Allen y Ort 2001). Respecto al transporte electrónico, la combinación de bajas temperaturas y altas irradiaciones produce la llamada fotoinhibición crónica' (fotoinactivación), un daño permanente al fotosistema II (PSII) (Osmond y Grace, 1995). Las bajas temperaturas reducen las tasas de las reacciones metabólicas y limitan los destinos para la energía de excitación absorbida necesarios para la fijación de CO₂ y la fotorespiración. Cuando esto sucede, aumenta el potencial de daño al PSII, en particular la proteína D1 del centro de reacción de este fotosistema. Además, en estas condiciones es alterado el normal recambio de esta proteína, proceso probablemente vinculado a cambios en la fluidez de las membranas (Tambusi, 2004). De hecho, diversas evidencias muestran que este parece ser un punto crítico en la tolerancia al frío, en particular el grado de insaturación de los lípidos de membrana (Nishida y Murata 1996).

Además al recambio de la proteína D1 por bajas temperaturas han surgido otras hipótesis como la fotoinhibición por frío (Hull et al., 1997).

Un buen señal destacable es la fotoinactivación del fotosistema II (evaluada por una caída del parámetro relación entre la fluorescencia variable ($F_v = F_m - F_0$) y F_m en hojas aclimatadas a un período de oscuridad (*ca.* 30 min) (F_v/F_m), fenómeno que es típico del estrés por baja temperatura y que no se observa en condiciones de estrés hídrico.

También existe efectos primarios de las bajas temperaturas sobre la fotosíntesis por una inactivación de las enzimas del ciclo de Calvin – Benson en tres paso importantes en condiciones de bajas temperaturas la fotosíntesis es limitada debido a que la actividad de ribulosa-1,5 difosfatocarboxitasa oxigenada es reducida. La otra limitación que el Pi no se regenera debido que existe un retardo del ritmo circadiano de la actividad de la enzima sacarosa fosfato sintasa en el, pero esto no siempre ocurre depende de las especies de plantas y la temperatura que han tenido durante su crecimiento (Fasquihar et al, 1980; Kyle y Ohad, 1986; Shorky, 1985. Labote y Leegood, 1988: Wise, 1995; Jones, 1995; Strand, 1997, 1999; Kudohy y Smoike, 2002; Yamori et al, 2010b). La tercera limitación que influye en inhibición a bajas temperaturas es la falta de la regeneración y la carboxilación de la Ribulosa-1,5 difosfato. La regeneración de la ribulosa-1,5 difosfato también reduce el exceso de energía de excitación proporcionando un mayor flujo del transporte de electrones fotosintéticos por lo tanto evita la fotoinhibición (Hirasaka et al, 2006: Yumori et al, 2010b).

Por otro lado, el estrés en temperaturas de congelamiento, plantas pueden inducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno ROS (por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species) causando daño oxidativo (Thomashow, 1999; Pino, 2016). El estrés oxidativo ocurre en situaciones donde existe formación de especies de oxígeno reactivo y si excede la capacidad de las destrucción de estos radicales libres comienzan acumularse y la presencia prolongada de altos niveles de especies de oxígeno reactivo es dañino para las plantas debido es altamente reactivo y puede causar la inactivación de las enzimas, peroxidación de los lípidos, degradación de las proteínas y daño del ADN (Osada y Takahashi, 1982). Las moléculas de oxígeno reactivo son el superóxido (O_2^+), oxígeno single (O^+), peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y radicales oxhidrilos (OH^+) (McKersie y Lehen, 1994). Existen varios sitios de producción de las especies de oxígeno reactivos a nivel subcelular, el más conocido es aquel que se presenta en la reacciones que ocurren en la fase luminosa de la fotosíntesis a nivel del Fotosistema I y II en el cloroplasto y la

cadena de transporte de electrones en el mitocondria. Además existen formación espontanea de la formación de radicales libres y durante las actividades de formación de productos (McKersie y Leshan, 1994). En las plantas sometidas a las temperaturas de congelamiento las cuales pueden ocasionar fallas en la transferencia de electrones durante la fotosíntesis por oxidación de NADPH y a daños en los centros proteicos de reacción en los fotosistemas I y II, con la consecuente disminución de la eficiencia fotosintética (Steffen y Palta, 1989; O’Kane et al., 1996; McKersie et al., 2000, Pino, 2016).

Plantas cultivadas tolerantes a bajas temperaturas tienen mayores cantidades de enzimas fotosintéticas, tales como las enzimas fotosintéticas del ciclo de reducción de carbono (ciclo de Calvin - Benson), como la ribulosa-1,5-fosfatasa oxigenasa (Rubisco), sedoheptulosa -1,7 bifostasa y fructosa-1,6 bifosfatasa en el estroma (Holaday et al., 1992; Hurry et al, 1994, 1995: Strand et al, 1997, 1999; Yamori et al, 2005, 2011) y aquellas relacionadas con la síntesis de la sacarosa como la sacarosa fosfato sintasa y la frutosa-1,6 bifosfatasacitosólica (Guy et al, 1995; Holaday et al, 1992; Hurry et al, 1994, 1995; Strand et al, 1997, 1999). Se explica que grandes cantidades de enzimas podrían necesitarse para compensar la disminución de las actividades de las enzimas a bajas temperaturas y también puede lograrse una mayor eficiencia enzimática mostrando una mayor capacidad fotosintética (Yamori et al, 2006). Otra alteración importante que ocurre es un cambio en la composición de los ácidos grasos de la membrana permitiendo mantener la función celular a través de una mayor fluidez y estabilización de las proteínas fotosintéticas (Falcone et al, 2004). El incremento de la relación ácidos grasos insaturados/ácidos grasos saturados en respuesta a la aclimatación a las bajas temperaturas aceleran el flujo de paso del complejo citocromo b₆/f, plastoquinona, plastocianina originándose un aumento de la capacidad de estos compuestos por las membranas de los tilacoides (Murata y Los, 1997; Murakami et al, 2000; Sun et al, 2003).

1.2.9. Efectos de bajas temperaturas en la tasa de transpiración.

La transpiración es un proceso de evaporación o pérdida de agua en forma de vapor por las plantas, desde un tejido vivo hacia el exterior. Tal fenómeno puede tener lugar en cualquier parte del vegetal que esté expuesta al aire, pero son las hojas los órganos que lo realizan con mayor intensidad la transpiración. Las vías de transpiración en la planta son: 1) transpiración estomática: por los estomas; es una vía controlable por la planta representa alrededor del 90% del total de agua perdida, 2) Transpiración lenticelar: por las lenticelas y 3) transpiración cuticular: por la cutícula. Estas dos vías no son controlables por las plantas y representan no más 10 %, pero adquieren fundamental importancia cuando las estomas se encuentran cerrados (Gil, 1995: Barceló, 2000: Taiz y Zeiger, 2007).

La transpiración estomática es regulada por los estomas, los cuales se cierran cuando hay un déficit apreciable de agua en la planta y constituyen la vía más importante para el intercambio gaseoso entre el mesófilo y la atmósfera (Gil.1995: Barceló, 2000).

Se denomina estoma a la unidad conformada por un poro y las dos células oclusivas que lo rodean. Estas células oclusivas o guardianas se hallan en contacto con las células adyacentes de la epidermis y en muchos casos se ha comprobado la existencia de relaciones metabólicas muy estrechas entre estas (las células oclusivas y las adyacentes). Los estomas de las plantas dicotiledóneas poseen células oclusivas de forma arriñonada y su distribución en la lámina es al azar (Taiz y Zeiger, 2007).

Los estomas son importantes en la fisiología de las plantas, debido a que son responsables del intercambio de gases entre la atmósfera y la hoja y con ello evitan la excesiva pérdida de agua (Weeb y Baker, 2002; Fan et al., 2004). Estos también desempeñan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, de ahí la importancia de conocer el número, forma y factores que controlan su apertura o cierre (Sánchez y Aguirreola, 1996).

La transpiración ocurre por medio de los estomas que son células epidermales modificadas, rodeadas por otras células denominadas células guarda que al aumentar o disminuir su volumen modifican el grado de apertura del poro u ostiolo de los estomas y por lo tanto tasa de pérdida de agua en forma de vapor por medio de la transpiración. Los estomas pueden ser considerados como válvulas dirigidas hidráulicamente que operan en la parte aérea de las plantas (Roelfsema et al., 2005). Los estomas desempeñan un rol esencial en el control de la pérdida de agua por transpiración, pero además, son la vía de ingreso de CO₂ para la fotosíntesis (Damour et al., 2010).

El número de estomas en las diferentes especies vegetales es variable. Un investigador establece que el número de estomas varía un rango de 100 a 300 estomas/mm² en angiospermas (Esau, 1977).

La cantidad de estomas en la superficie adaxial (haz) en comparación con la abaxial (envés) es característica distintiva de diferentes especies. Las plantas con estomas en el haz son llamadas epiestomáticas, las que tienen en el envés son hipoestomáticas y aquellas con estomas en el haz y envés son anfiestomáticas (Gates, 1980; Larkin et al., 1996; Serna et al., 2002; Azcon-Bieto y Talón, 2008).

Las anfiestomáticas es común encontrarlas en ambientes áridos, y hojas con estomas solo en el envés es más común encontrarlas en plantas de hábitats mesofíticos (Parkhurst, 1978), por otro lado, es común encontrar hojas con estomas solo en la superficie adaxial en plantas acuáticas como el lirio de agua (Lawson, 2009).

Son diversos los factores que controlan la apertura y cierre de las estomas: la concentración de CO₂ en el interior de las hojas, humedad atmosférica, potencial hídrico de la hoja, temperatura y viento (Tibbitts, 1979; Comstock y Mecuccini, 1998; Cochard et al., 2002). En este sentido, (Long et al. 1994) y Smirnoff (1993), mencionan que en las regiones de clima mediterráneo las

diferentes especies se enfrentan de forma distinta a la falta de agua estival y adoptan estrategias fisiológicas (cierre de estomas), morfo-anatómicas (enrollamiento foliar, cambios en la reflexión, paraheliotropismo) o bioquímicas (Reacción de Mehler, ciclo Asada-Hallivell, fotorespiración).

La transpiración ocurre por medio de las estomas que son células epidermales modificadas, rodeadas por otras células denominadas células guarda que al aumentar o disminuir su volumen modifica el grado de apertura del poro u ostiolo de las estomas, y con esto la tasa de pérdida de agua en forma de vapor. Los estomas pueden ser considerados como válvulas dirigidas hidráulicamente que operan en la parte aérea de las plantas (Roelfsema et ál. 2005).

Los estomas desempeñan un rol esencial en el control de la pérdida de agua por transpiración, además es una vía de ingreso de CO₂ para la fotosíntesis (Damour et ál. 2010). El número y la densidad de los estomas pueden ser modificados por las plantas de acuerdo a las condiciones ambientales en las cuales se desarrollan (intensidad de luz, concentración ambiental de CO₂).

Los factores que influyen en la tasa transpiratoria y por tanto en la apertura estomática son el déficit de presión de vapor, que existe entre la atmósfera y las cavidades aéreas del mesófilo, la luz (calidad y cantidad), el CO₂ ambiental, la temperatura de la hoja, el estado hídrico del suelo y la presencia de contaminantes en el aire (Jones 1992; Lake et al., 2001).

Las plantas responden a este déficit con el cierre de estomas, por medio de la señal del ácido abscísico que se transfiere de la raíz a la parte aérea de la planta para evitar la pérdida de agua, y otros mecanismos como la acumulación de azúcares y osmolitos compatibles que disminuyen el potencial hídrico para mantener el gradiente (Yancey 2005). Esto trae consigo inevitablemente la disminución en el crecimiento. La respuesta de la conductancia estomática al ABA depende de si la especie es isohídrica o

anisohiprica; para especies isohipricas la sensibilidad de los estomas al ABA se relaciona negativamente con el potencial hdpico foliar; para especies anisohipricas, la regulaci3n estomática en condiciones de estr3s hdpico depende s3lo de la concentraci3n de ABA en el xilema (Damour et al., 2010).

La transpiraci3n est1 limitada por diferentes tipos de resistencia a la difusi3n del agua, dentro de las cuales est1n la resistencia estomática (dada por n3mero y geometría de los estomas), la resistencia cuticular (dada por la capa cerosa que recubre la epidermis), y la resistencia de la capa l3mite generada por el aire est1tico que se establece en la superficie foliar y controlada por la velocidad del viento (Larcher 2003; Taiz y Zeiger 2006).

La capacidad de una planta para regular la apertura estomática permite modular la tasa de transpiraci3n y los requerimientos del balance hdpico. Este balance se rompe cuando la tasa de absorci3n de agua por parte de la raíz es menor que la tasa de transpiraci3n (Schulze 1986).

Las bajas temperaturas tienen un efecto similar al estr3s por sequía debido a que agua presente en el suelo no son absorbidas por las raíces o bien se transporta lentamente por los vasos conductores generando un desbalance hdpico en la planta, disminuyendo el d3ficit de presi3n de vapor de agua (DPV) en la planta. Christmann et al., (2007) comprobaron que la seńal para el cierre estomático viene de las raíces. Se ha descubierto que muchas plantas son muy sensibles al d3ficit de presi3n de vapor (DPV) de agua hoja-aire (es decir la diferencia entre la presi3n de vapor a saturaci3n a la temperatura de la hoja y la presi3n de vapor actual del aire que rodea la hoja) (Agurto, 2015). Actualmente se carece de una adecuada comprensi3n del mecanismo involucrado en las de los mecanismos involucrados, pero se ha sugerido que cuando las c3lulas oclusivas y subsidiarias tiene una pobre conexi3n hidr1ulica con las c3lulas de la epidermis y las c3lulas del mes3filo pierden su turgencia al permitir la salida de agua del interior de la c3lula a los

espacios intercelulares y de allí se pierde en el medio ambiente ocurriendo a un cierre parcial los estomas (Agurto, 2015).

Algunas especies mantienen su potencial hídrico foliar constante durante el estrés hídrico, estas son llamadas especies isohídricas, mientras que otras no pueden mantenerlo constante y son llamadas anisohídricas (Damour et al., 2010).

Por otro lado, las estomas son muy sensibles a la concentración de CO_2 intracelular (C_i). Estos se abren cuando el C_i disminuye y se cierran cuando aumentan. El mecanismo de acción del incremento del CO_2 no se conoce, Este incremento del CO_2 intracelular se debe a una falta de reducción del CO_2 en azúcar dentro de las células. En un experimento en *Xanthium strumarium* sometido a estrés por frío reduce la conductancia estomática y la tasa de asimilación neta, incrementando la $p(\text{CO}_2)$ intercelular (Drake y Raschke, 1974).

Entonces es muy frecuente observar un déficit hídrico asociado a las bajas temperaturas. Este fenómeno puede tener diversas causas, como la disminución de la conductividad hidráulica de las raíces y alteraciones en el grado del control estomático conduciendo a un desbalance entre la captación de agua y la transpiración. Las plantas sometidas a bajas temperaturas muestran al menos una caída transitoria del potencial hídrico y disminución del de potencial hídrico de agua. Estos factores hacen las células estomáticas pierden turgencia y los estomas se cierran. El cierre de los estomas propician una mayor concentración de carbono interno en la cámara estomática estimulando al rápido cierre de los estomas, por esta razón disminuye la tasa de la transpiración (Agurto, 2015)

Una de las causas principales del daño por frío es cambio en la bioquímica y biofísica de las membranas. Uno de los efectos mejor caracterizados de las bajas temperaturas es la disminución de la fluidez de las membranas. El frío

produce la llamada ‘separación de fases’, que si se prolonga en el tiempo, impide a la biomembrana mantener los gradientes iónicos y agua adecuados en las plantas y su metabolismo comienza a sufrir alteraciones. Finalmente, la muerte de la célula puede sobrevenir si el daño se acentúa. En este sentido, ha recibido considerable atención el papel de la insaturación de lípidos de membrana en la tolerancia a bajas temperaturas y de hecho éste ha sido considerado como uno de los factores críticos entre los mecanismos de tolerancia por frío (Nishida y Murata 1996). La pérdida de las propiedades de la membrana derivada de los cambios de la fluidez. La doble capa lipídica es una estructura cuya fluidez depende de la temperatura y de su composición. Los lípidos son un componente importantes de las membranas celulares, los lípidos están formados por un esqueleto de glicerina y ácidos grasos. Los ácidos grasos pueden ser saturados e insaturados. A una misma temperatura ambiente, los ácidos grasos insaturados son más fluidos que los saturados. Por lo tanto, los ácidos grasos insaturados protegen a las membranas celulares y subcelulares. Entonces la fluidez de las biomembranas en relación con la temperatura depende de la relación ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados. Esto hace que la composición lipídica de la membrana dependa hasta cierto punto de la temperatura.

El grado de fluidez de una membrana es fundamental para el funcionamiento apropiado de los sistemas enzimáticos. Cuando la temperatura baja a un punto crítico se produce daños a la membrana que alteran su funcionalidad. Los principales daños que ocasionan las bajas temperatura son: gelificación, contracción, formación de grietas, aumento de permeabilidad y alteraciones en toda la actividad enzimática (Agurto et al., 2015).

Un descenso rápido de la temperatura no permite una adaptación de la composición lipídica de las membranas, por lo que estas se hacen cristalinas y menos fluidas, las propiedades físicas de los lípidos influyen enormemente en la actividad de las proteínas integrales, a medida que las membranas se hacen menos fluidas las proteínas no pueden funcionar normalmente, debido

a su alteración en su estructura primaria y secundaria (Agurto et al., 2015). El resultado de la pérdida de fluidez es inhibición de la ATPasa (síntesis de ATP), inhibición del transporte del soluto dentro y fuera de las células, salida del agua de las células.

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 (muchas plantas tropicales). Las plantas ligeramente resistentes incluyen muchos de los árboles frutales subtropicales, árboles caducifolios, y cultivos hortícolas que son sensibles al enfriamiento hasta los $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las plantas moderadamente resistentes incluyen aquellas que pueden acumular suficientes solutos para resistir el daño por heladas hasta 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 de evitar el daño debido a la desecación de las células.

En términos más prácticos el estrés por frío provoca una reducción en la velocidad de la absorción del agua y nutrientes por los cultivos, esto a su vez disminuye la velocidad de translocación interna de las soluciones internas. Se reduce la asimilación de sustancias nitrogenada y hace que las síntesis de proteínas sean lentas. Se afecta significativamente la asimilación del potasio y en menor medida del fósforo.

La planta tolerantes al estrés por bajas temperaturas produce ciertas moléculas orgánicas que contrarrestan el efecto de las heladas y estos son los llamados crioprotectores que son solutos compatibles u osmoprotectores son sustancias de bajo peso molecular, incluyen la mayoría de los solutos osmóticamente activos, y están presentes en todas las células. Frente a estrés abiótico, estos solutos compatibles cumplen un importante rol en la

protección de las plantas a nivel celular, manteniendo el ajuste osmótico y turgor de la célula. Actuarían como chaperonas, estabilizando enzimas, proteínas y membranas, destruyendo especies reactivas de oxígeno ROS (por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species) y estabilizando los complejos del fotosistema II. En términos generales, los solutos compatibles se clasifican en tres grupos: aminoácidos (ej. prolina), amino-cuaternarios (ej. glicina betaína, dimetilsulfoniopropionato), polioles (ej. manitol, sorbitol, mio-inositol) y azúcares solubles (ej. sacarosa, glucosa, trehalosa) (Chen y Murata, 2002; Wang et al., 2003; Hu et al., 2010). Debido a su naturaleza policatiónica pueden unirse y estabilizar a polímeros ricos en cargas negativas como el ADN, ARN, pectinas, fosfolípidos y proteínas.

Las acuaporinas, proteínas integrales de membrana, se han identificado en tantas tolerantes al estrés hídrico y son como canales importantes que ayudan a la rehidratación rápida gobernando la conductancia celular para recuperar el agua y la turgencia celular (Vandeleur et al., 2009; Alleve et al., 2010).

Los azúcares solubles y la síntesis de oligosacáridos derivados de la sacarosa, como los fructanos, actúan como osmoprotectores frente a estrés osmótico y fuente de reserva de carbono. Un estudio, en plantas transgénicas de tabaco y remolacha azucarera capaces de inducir acumulación de fructanos fueron más tolerantes a sequía que aquellas que no producían fructanos (Pilon-Smits et al., 1995; Pilon y Smits et al., 1999). Plantas transgénicas de papa y tabaco capaces de inducir trehalosa, mostraron mayor tolerancia a sequía respecto a sus controles (Chen y Murata, 2002). Otro estudio que comparó clones de papas tolerantes (397077.16) y susceptibles (Canchan) a sequía, mostró en el clon tolerante mayor síntesis de galactinol y rafinosa (Legay et al., 2011). Otros estudios *Solanum commersonii* (genotipo tolerante a heladas) y *Solanum tuberosum* (genotipo susceptible a heladas), reportaron un incremento en azúcares solubles totales en las hojas de *Solanum commersonii* al ser sometidas a bajas temperaturas y a sequía (Pino et al., 2008; Pino et al., 2013). Otro estudio reciente, mostró en *Solanum commersonii* una mayor

acumulación fructosa, glucosa y sucrosa bajo estrés abiótico respecto a su control susceptible (Folgado et al., 2013).

Aun cuando el rol específico de la prolina no está bien definido, se sugiere que cumpliría varias funciones durante el estrés abiótico. La acumulación de prolina se ha asociado a la estabilización tanto de proteínas como de membranas, como fuente de carbono, nitrógeno y energía durante la rehidratación celular (Kishor et al., 1995, 2005; Szabados y Savoure, 2010). La síntesis de prolina frente a estrés abiótico ha sido reportada en varias especies, como *Phaseolus vulgaris* L. (Andrade et al., 1995), *Nicotiana tabacum* (Kishor et al., 1995), tomate (Claussen, 2005), *Capsicum annuum* (Chaman, 2007), *Olea europaea* L. cv. Chemlali (Ahmed et al., 2008), moras y frambuesas (Orlikowska et al., 2009; Morales et al., 2013). En papa (*Solanum tuberosum* L.), se ha observado un aumento en la concentración de prolina a nivel de hoja en respuesta a déficit hídrico (Bansal y Na garajan, 1986). Otro estudio también en papas, reportó acumulación de prolina en plantas transgénicas capaces de sintetizar fructanos frente a estrés hídrico (Knipp y Honermeier, 2006). También se ha observado acumulación de prolina en *Solanum commersonii* y *Solanum tuberosum* genéticamente transformada con factores de transcripción del tipo CBF o DREB (por su sigla en inglés, C-Repeat Binding Factors/ Dehydration Responsive Element Binding) en respuesta a bajas temperaturas (Pino et al., 2008) y en respuesta a déficit hídrico in vitro (Pino et al., 2013). Además, se ha reportado acumulación de prolina en hojas, tempranamente en variedades de papas susceptibles a sequía y tardíamente en variedades de papas tolerantes a sequía (Schafleitner et al., 2007).

Ciertos polisacáridos grandes y proteínas facilitan la formación de cristales de hielo nucleales. La formación de los cristales de hielo normalmente es letal a los tejidos. Entonces una limitación de la formación de hielo contribuye a la tolerancia de las plantas a las heladas (Agurto, 2015).

En plantas tolerantes tienen mayor contenido de proteínas que limitan el crecimiento de los cristales anticoagulante. La síntesis de estas proteínas es inducida por las bajas temperaturas. Parece que los azúcares y proteínas anticoagulantes durante tienen efectos crioscópicos, este efecto permite estabilizar las proteínas de las membranas y están asociadas con plantas tolerantes por congelamiento. La formación de los cristales de hielo en los espacios intercelulares empieza entre -3 y -5°C .

Ciertas estrategias adaptativas de las plantas como las estrategias de fijación del carbono se relacionan también con la transpiración. Debido a que las plantas deben mantener sus estomas abiertos a expensas de la pérdida de agua, para poder acceder al CO_2 ambiental, estas han modificado el patrón tradicional de fijación de carbono para conservar el agua y ser más eficientes. Las plantas C_4 y CAM presentan diferencias anatómicas y metabólicas que les permiten disminuir la pérdida de agua con cambios en la apertura estomática (Lambers et ál. 1998). En tanto que las plantas C_3 y algunos subtipos de plantas C_4 , en referencia a las ventajas fotosintéticas que se presentan en un ambiente méxico (hábitat que no es muy húmedo o no es muy seco, pero utiliza una mediana cantidad de humedad), se ven reducidas con la sequía, debido a que las condiciones de déficit hídrico eliminan las diferencias en la conductancia estomática, igualando el uso eficiente del agua en ambas especies (Taylor et al., 2010).

El daño inducido por bajas temperaturas varía ampliamente según las especies, tanto en magnitud y escala temporal, durante los primeros síntomas aparecen algunas variedades y especies durante el estrés por bajas temperaturas de congelamiento, en otras en cambio, en el periodo posterior a la recuperación, en que las plantas son sometidas a temperaturas normales para la especie o variedad.

1.2.10. Efectos de las bajas temperatura sobre el coeficiente de conductancia estomática.

La conductancia estomática es la velocidad (cm s^{-1}) a la cual se produce el flujo de agua transpirada desde las hojas hacia la atmósfera a través de las estomas. En la medida que los estomas se mantengan abiertos la velocidad será mayor, al contrario al presentarse un estrés hídrico por bajas temperaturas los estomas tienden a cerrarse provocando una disminución drástica de la conductancia estomática (Riveros, 2002; Agurto, 2015).

Los estomas son formaciones de tejido epidérmico que se encuentran fundamentalmente en la epidermis de la hoja, éstos controlan el intercambio de gases (vapor de agua, CO_2 , O_2) entre los espacios aéreos del mesófilo y la atmósfera que rodea la hoja (Martín de Santa Olalla y De Juan Valero, 1993), desempeñando un papel primordial en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, de ahí la importancia de conocer los factores que regulan los procesos de abertura y cierre estomático (Sanchez - Díaz y Aguirreolea, 2000c).

Cuando todas las estomas están abiertas ocurre el máximo intercambio gaseoso entre el aire y la hoja. Esta última liberando oxígeno y vapor de agua y absorbe CO_2 desde el aire. En un sistema de producción agrícola se debe mantener en forma constante y máxima la transpiración. Si en el suelo se presenta un déficit de agua se produce un cierre parcial de los estomas disminuyendo la transpiración y por ende la asimilación de CO_2 lo que se traduce en una menor producción (Gurovich, 1989).

Los estudios relacionados con la conductancia estomática (y por ende la transpiración) revisten una gran importancia ya que la productividad está íntimamente relacionada con el consumo y la disponibilidad de agua más que cualquier otro factor. Por lo tanto, la capacidad de algunas plantas de mantenerse túrgidas bajo condiciones de estrés por agua es una característica beneficiosa para evitar la disminución en la producción,

puesto que bajo tales circunstancias el descenso del rendimiento puede estar relacionado con la reducción de la conductancia estomática (Agraria et al., 1995; Nogueira et al., 2001; Da Matta, 2004).

1.3. Definición de términos.

1.3.1. Tasa de fotosíntesis neta.

Es una medida de la ganancia real de carbono por la planta, como diferencia entre el CO₂ fijado en la fotosíntesis bruta y el desprendido en la respiración y fotorrespiración.

1.3.2. Tasa de transpiración.

La tasa de transpiración es una medida que comprende la evaporación del agua desde las células superficiales en el interior de los espacios intercelulares y su difusión fuera del tejido vegetal principalmente a través de los estomas y en menor medida través de la cutícula (Taiz y Zeiger, 2006).

1.3.3. Conductancia estomática.

La conductancia estomática es la velocidad (cm s⁻¹) a la cual se produce el flujo de agua transpirada desde las hojas hacia la atmósfera a través de las estomas. En la medida que los estomas se mantengan abiertos la velocidad será mayor, al contrario al presentarse un estrés hídrico por bajas temperaturas los estomas tienden a cerrarse provocando una disminución drástica de la conductancia estomática (Riveros, 2002).

1.4. Hipótesis.

1.4.1. Hipótesis general

Ho: El estrés térmico inducido por bajas temperatura (-8°C) no afecta las características fisiológicas como tasa de fotosíntesis neta, tasa de respiración y conductancia estomática en la variedad de papa “Yuraq

Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Hp: El estrés término inducido por bajas temperatura (-8°C) si afecta las características fisiológicas como tasa de fotosíntesis neta, tasa de respiración y conductancia estomática en la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

1.4.2. Hipótesis específicas.

Ho₁: El estrés térmico inducido (-8°C) no afecta a la tasa de fotosíntesis neta de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Hp₁: El estrés térmico inducido (-8°C) si afecta a la tasa de fotosíntesis neta de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Ho₂: El estrés térmico inducido (-8°C) no afecta a la tasa de transpiración de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Hp₂: El estrés térmico inducido (-8°C) si afecta a la tasa de transpiración de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Ho₃: El estrés térmico inducido (-8°C) no afecta a la conductancia estomática de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

Hp₃: El estrés térmico inducido (-8°C) no afecta a la conductancia estomática de la variedad de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (Susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya” (Tolerante).

1.4.3. Variables.

La presente investigación tiene las siguientes variables:

Y = Variable independiente.

Y = Estrés térmico inducido (-8 °C).

X = Variables dependientes.

X₁ = Tasa de fotosíntesis neta

X₂ = Tasa de transpiración.

X₃ = Conductancia estomática.

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y nivel de investigación

El tipo de investigación es aplicada, porque los resultados obtenidos en la presente investigación podrán ser utilizados como herramienta para seleccionar variedades de papa tolerantes a las heladas.

El nivel de investigación es analítico explicativo – experimental. Explicativo por se relaciona una causa y efecto, siendo la causa es el estrés térmico (-8°C) inducido por bajas temperaturas y como efecto son las respuestas fisiológicas como la tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática en la planta de papa y es experimental porque se ha manipulado a los tres variables dependientes.

2.2. Método de la investigación.

En la presente investigación se utilizó el método inductivo y deductivo. Es inductivo porque se obtiene conclusiones generales a partir de observaciones realizadas en invernadero y laboratorio; Es deductivo porque parte los datos generales aceptados como verdaderos sirven para deducir por medio del razonamiento lógico, varias suposiciones de las características fisiológicas de las variedades de papa ensayadas cuando son sometidas a un estrés térmico por baja temperatura, es decir; parte de las conclusiones previamente establecidas se utilizan como principios generales, para luego aplicarlo a casos individuales y comprobar así su validez.

2.3. Diseño de la investigación.

2.3.1. Ubicación

La presente investigación se realizó en los campos de la Universidad Para el Desarrollo Andino en dos etapas. La etapa I es en invernadero, el que consistió en trasplantar esquejes enraizados en seis macetas, de las cuales tres

macetas fueron designadas para la variedad “Yura Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y en resto de macetas se trasplantó los esquejes de la variedad Puka Puqya” (tolerante a heladas). En la etapa de laboratorio (Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Para el Desarrollo Andino) fue para medir tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática.

Ambos recintos están ubicados el distrito de Lircay, provincia de Angaraes, Región Huancavelica. Las coordenadas de ubicación y la altura son las siguientes:

- Latitud : 12°59’03”
- Longitud : 74°43’13”
- Altitud : 3271 m.s.n.m.

3.2.1. Propagación de material biológico.

El material biológico consistió en esquejes enraizados de plantas de la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y variedad “Puka Puqya” (tolerantes a heladas), a partir meristemos laterales de plantas madres. Estos meristemos laterales obtenidos fueron tarados con enraizante en polvo (auxina y ácido Naftilacético 4.000 ppm mezclados con un fungicida CAPTAN, que protege de ataques de hongos durante el enraizamiento).



En la figura 13, se muestra propagación del material biológico a base de esquejes provenientes de una planta madre, tratamiento de esquejes con enraizante.

Posteriormente se realizó la colocación de sustrato de arena desinfectada en bandejas, donde los esquejes fueron regados con agua hasta la aparición de las raíces. Cuando las raíces aparecieron se aplicó la solución nutritiva A y B aproximadamente cada 15 a 25 días hasta la para el desarrollo normal de las raíces. Cuando las raíces desarrollaron fueron trasplantadas en macetas con sustrato Premix® (Musgo Sphagnum + Vermiculita + Perlita + Nutrientes) siendo regados con riegos periódicamente hasta alcanzar una altura de 30 a 45 cm de tamaño, siendo el óptimo para los análisis.



En la figura 14, se muestra trasplante de plántulas enraizadas a macetas para el desarrollo de área foliar.

Cuando las plántulas alcanzaron su tamaño óptimo de 30-45 cm de altura y tres meses de edad, se cosechó a los folíolos para realizar toma de lecturas con el analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System de papas ensayadas antes y después del estrés térmico.



En la figura 15, se cosecho a los folíolos para realizar toma de lecturas con el analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System de papas ensayadas antes y después del estrés térmico.

3.2.2. Estrés térmico.

A los tres meses de edad las plantas tanto de la variedad “Yurag Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y variedad “Puka Puqya” (tolerantes a heladas) fueron sometidas a estrés térmico de bajas temperaturas (-8°C), para lo cual fueron colocadas en congeladora (Indumelab).

3.2.3. Medición de variables.

Para las lecturas se colocaron tres folíolos unidos de las variedades de papa ensayadas antes y después del estrés en el analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System. En total se hicieron un total 2621 lecturas por cada variedad de papa. Este analizador realiza lecturas de gran precisión en una cámara de gas el $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$.

Las fórmulas para calcular la tasa de fotosíntesis, tasa de transpiración neta y conductancia estomática fueron calculadas mediante siguientes modelos.

Descripción del equipo

El Sistema de medición de fotosíntesis: CI-340 *Handheld Photosynthesis System* permite la medición de tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática, interno en un solo equipo, al poseer un analizador de gas CO₂/H₂O la cámara. Este equipo es pequeño, rápido y preciso en la medición.

A continuación las fórmulas empleadas para el cálculo de las variables de interés en la respuesta fisiológica del estrés por heladas.

Velocidad de flujo de masa por unidad de área foliar (W)

(mol / m² / s) para un sistema abierto

$$W = V / 60 \times 273.15 / T_a \times P / 1.013 \times 1 / 22.41 \times 10000 / A$$

$$W = 2005.39 \times V \times P / T_a \times A$$

Donde *V*: Es el Caudal de volumen (litros / minuto)

T_a: temperatura del aire (K)

P: presión atmosférica (bar)

A: área foliar (cm²)

60: convierte en segundos minutos

22.41: Es el volumen de un mol de cualquier gas a una temperatura estándar de 273.15K y la presión estándar de 1,013 bar (litros / mol).

10000: convertidos en cm² m²

Tasa de fotosíntesis (P_n):

2a. *P_n*: tasa de fotosíntesis neta (mol / m² / s) para un sistema abierto

Donde C_oC_i : salida (entrada) la concentración de CO₂ (ppm o mol/m²/s).

$$P_n = -W \times (C_o - C_i) = -2005.39 \times V \times P/T_a \times A \times (C_o - C_i)$$

E : la tasa de transpiración (milimol / m² / s)

$$E = e_o - e_i/P - e_o \times W \times 103$$

$$e_o = h_{ro} \times e_s/100$$

$$e_i = h_{ri} \times e_s/100$$

$$e_s = 6.13753 \times 10^{-3} \times e^{T_a \times 18.564 - T_a/254.4} / T_a + 255.57$$

Donde $e_o e_i$: salida (entrada) de vapor de agua (bar)

P : presión atmosférica (bar)

e_s : vapor de agua saturado a la temperatura Del aire (bar)

$h_{ro} h_{ri}$: salida (entrada) de humedad relativa (%)

Conductancia estomática

C_{leaf} : conductancia estomática de la hoja (milimol / m² / s)

Donde e_{leaf} vapor de agua saturado a la temperatura foliar (bar)

$$C_{leaf} = W / e_{leaf} - e_o / e_o - e_i \times P - e_o / P - R_b W \times 1000$$

$$C_{e_{leaf}} = 6.13753 \times 10^{-3} \times e^{T_{leaf} \times 18.564 - T_{leaf} / 254.4} / T_{leaf} + 255.57$$

R_b : Resistencia de la capa límite de la hoja (m²s / mol) - 0,3 m²s / mol se usa.

Temperatura de la hoja debe ser obtenida a través del sensor de temperatura IR. Se recomienda utilizar el mejor valor promedio para este determinante la temperatura. Un ejemplo procedimiento podrá incluir una muestra de cinco valores en un período determinado de tiempo.

3.2.4. Analisis estadístico de Prueba de “t” de Student.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

Se analizara mediante el estadístico de prueba de “t” de student con un nivel de significancia del 0.05%

El análisis de prueba de t de estuden se realizo con el paquete estadístico SPS versión 5.1

3.2.5. Población y muestras.

Se utilizó como poblacion las variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y “Puka Puqya” (tolerante a heladas). Cada población estuvo representada por seis plantas de cada variedad.

La muestra estuvo representada por tres foliolos que se tomaron de cada planta para la lectura de tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática y realizando 261 lecturas por variedad.

3.2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos de la respuesta fisiologica.

Para obtener los datos de las respuestas fisiologicas se ha necesitado aplicar o recurrir a los siguientes.

En cada lectura se utilizó tres foliolos juntos que fueron introducidos en el analizador de gases CI-340 Handheld Photosynthesis System.

Se realizó 261 lecturas de cada variedad de papa “Yurag Kukillo Paki” (susceptible a heladas) y “Puka Puqya” (tolerante a heladas) antes y después de ser sometidas a estrés térmico (-8°C) por un periodo de duración de 1 hora.

Las lecturas fueron utilizadas para calcular por modelos de la tasa de fotosíntesis, tasa de respiración y conductancia estomática),

La recolección de datos se hizo en formatos diseñados especialmente para evaluar la tasa de fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática presentes en los Anexo 2, 3 y 4.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Tasa de fotosíntesis neta.

En la tabla 1, se presenta la significancia estadística a un nivel del 5 % de la tasa de fotosíntesis neta de dos variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y “Puka Puqya” (tolerante a heladas) antes y después del estrés térmico a bajas temperaturas.

La variedad “Yuraq Kuchillo Paki” antes del estrés tuvieron un promedio de 4,987 mol/m²/s y con estrés estrés térmico por bajas temperaturas, la tasa de fotosíntesis neta disminuyó estadísticamente en forma significati a 2,396 mol/m²/s, mientras que en la variedad tolerante “Puka Puqya” antes del estrés tuvieron un promedio de 2,882 mol/m²/s y después de ser sometidas al estrés la fotosíntesis neta disminuyó estadísticamente en forma significativa a 1,381 mol/m²/s.

De acuerdo a la prueba de “t” de Student a un nivel de significancia del 5%, la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (suceptible) y la variedad Puka Puqya (tolerante), son afectadas estadísticamente en forma significativa cuando son sometidas al estrés térmico por bajas temperaturas. En ambas variedades representa una caída de la fotosíntesis neta hasta el 48% (ver figura 16 y 17).

Tabla 2. Respuesta de tasa de fotosíntesis neta de variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.

Características Fisiológicas	Susceptible		Tolerantes	
	Sin estrés \bar{x}	Con estrés \bar{x}	Sin estrés \bar{x}	Con estrés \bar{x}
- Tasa de fotosíntesis neta (mol/m ² /s)	4.9865	2.3961	2.8828	1.3813
- Significancia estadística a la prueba de “t” (*)	a	b	a	B

* a,b letras iguales no existen diferencias estadísticas significativas.

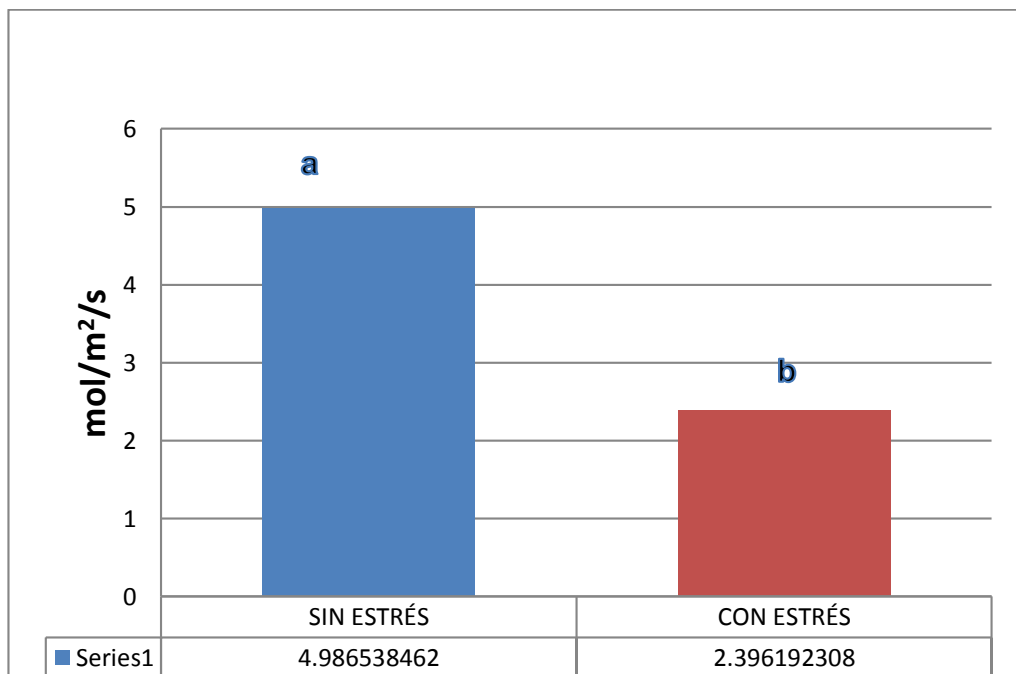


Figura 16, Tasa de fotosíntesis neta de variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) sin estrés y con estrés.

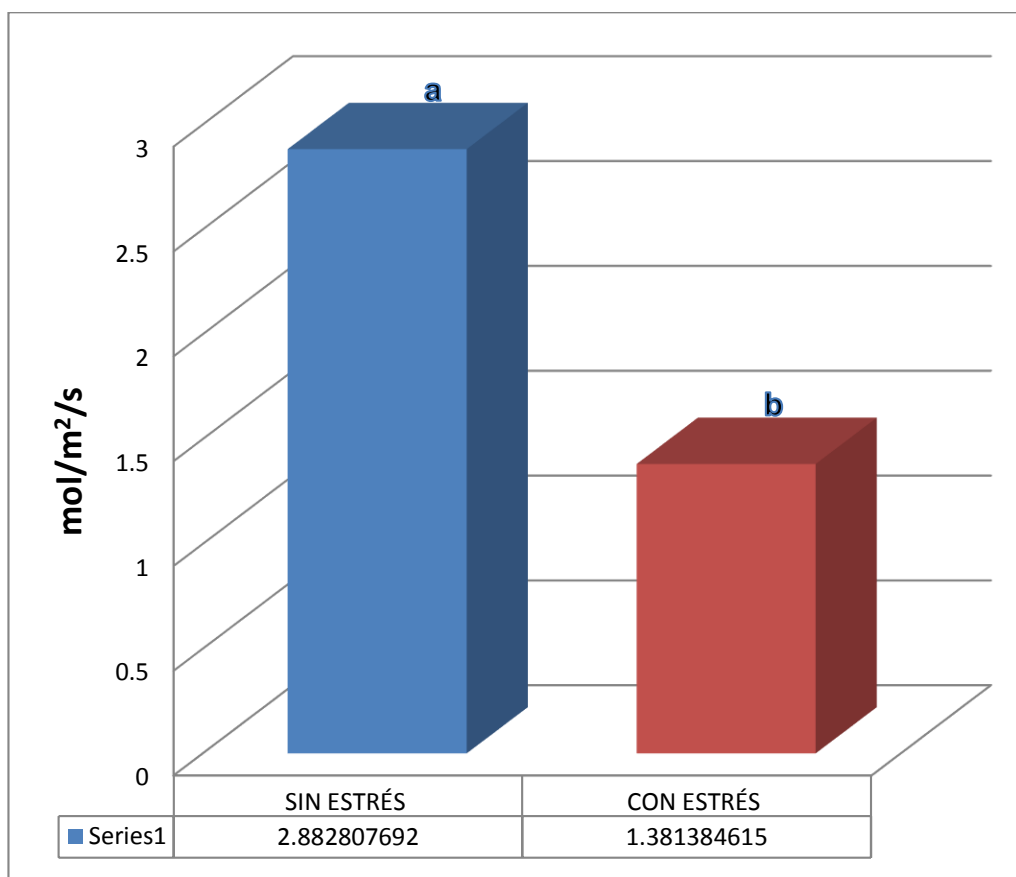


Figura 17, Tasa de fotosíntesis neta de variedad “Puka Puqya” (tolerante a heladas) sin estrés y con estrés.

La disminución de la tasa de fotosíntesis es debido al estrés por temperaturas bajo congelamiento que produce efectos directos e indirectos dentro de los efectos directos están, la temperatura de congelamiento en la papa producen pérdidas al afectar en el rendimientos y daño foliar. Las heladas inducen a la formación de cristales de hielo dentro del protoplasma, causando el rompimiento y muerte celular de la planta, o también puede afectar espacios extracelulares produciendo severa deshidratación celular (Palta y Li, 1980; Toivio-Kinnican et al., 1981; Steponkus, 1984). Muchos de los efectos del estrés por bajas temperaturas están relacionados con la variación en la fluidez de las membranas, temperaturas bajo 0°C disminuyen la semi-permeabilidad de la membrana debido a la desnaturalización de proteínas y alteración de la composición lipídica de la membrana (Palta y Li, 1980). Un análisis comparativo entre *Solanum tuberosum* (sensible a heladas) y *Solanum commersonii* Dun (tolerante a heladas con capacidad de aclimatación a bajas temperaturas) mostró diferencias en la estructura lipídica de la membrana luego de ser expuestas a bajas temperaturas, incluyendo un incremento de los ácidos grasos insaturados para aumentar su fluidez. Sugiriendo que esta capacidad sería un mecanismo de adaptación a bajas temperaturas en *Solanum commersonii* (Palta et al., 1993).

Las bajas temperaturas producen efectos indirectos a diversos niveles del aparato fotosintético. En primer lugar, promueve el cierre estomático (Perera et al., 1995), lo cual puede provenir de (a) la existencia de déficit hídrico (Tambusi, 2004), (b) por aumento del carbono interno (Ci), debido a la disminución de la tasa de asimilación de este elemento y (c) por efectos directos de las bajas temperaturas en los estomas (Allen y Ort, 2001).

Efectos indirectos de bajas temperaturas de congelamiento, son la inactivación de enzimas del ciclo de Calvin – Benson, que presenta en tres pasos importantes. Primero en condiciones de bajas temperaturas la fotosíntesis es limitada debido a que la actividad de la ribulosa -1,5 difosfatocarboxitasa oxigenada es reducida, segundo el Pi no se regenera debido a que existe un retardo del ritmo circadiano de la actividad de la enzima sacarosa fosfato sintasa, pero esto no siempre ocurre, depende de las especies de plantas y depende mucho de la temperatura que han tenido durante

su crecimiento (Fasquihar et al, 1980; Kyle y Ohad, 1986; Shorky, 1985. Labote y Leegood, 1988; Wise, 1995; Jones, 1995; Strand, 1997, 1999; Kudoohy y Smoike, 2002; Yamori et al, 2010a). La tercera limitación que influye en inhibición a bajas temperaturas es la falta de regeneración y lcarboxilación de la Ribulosa-1,5 difosfato. La regeneración de la ribulosa -1,5 difosfato también reduce el exceso de energía de excitación proporcionando un mayor flujo del transporte de electrones fotosintéticos por lo tanto evita la fotoinhibición (Hirasaka et al, 2006: Yumori et al, 2010b).

Por otro lado, el estrés por temperaturas de congelamiento, las plantas pueden inducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno ROS (Reactive Oxygen Species) causando daño oxidativo (Thomashow, 1999; Pino, 2016). Esta ocurre en situaciones donde existe formación de especies de oxígeno reactivo y exidencia de la capacidad de destrucción de estos radicales libres, comienzan acumularse. La presencia prolongada de altos niveles de (ROS) es dañina para las plantas por ser altamente reactivo y causar inactivación de enzimas, peroxidación de lípidos, degradación de proteínas y daño del ADN (Osada y Takahashi, 1982).

3.2. Tasa de transpiración.

En la tabla 3, se presenta la significancia estadística a un nivel de 5 % de la tasa de transpiración de dos variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y “Puka Puqya” (tolerante a heladas) antes y después del estrés térmico a bajas temperaturas.

De acuerdo a la prueba de “*t*” a un nivel de significación del 5%, la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) sin estrés tuvo una tasa de transpiración de 0.944 milimol/m²/s disminuyendo estadísticamente en forma significativa cuando ocurrió el estrés térmico por baja temperatura, cuyo valor fue 0,168 944 milimol/m²/s. En la variedad “Puka Puqya” (tolerante) sin estrés tuvo una tasa de transpiración de 0.114 milimol/m²/s. y cuando fueron sometidas al estrés térmico la tasa de transpiración incrementó estadísticamente en forma significativam alcanzando una tasa de transpiración de 0.084 milimol/m²/s (ver figura 18 y 19).

Tabla 3. Respuesta de tasa de transpiración de las variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.

Características fisiológicas	Susceptible		Tolerantes	
	Sin Estrés \bar{x}	Con estrés \bar{x}	Sin estrés \bar{x}	Con estrés \bar{x}
- Tasa de transpiración (milimol/m ² /s)	0.9441	0.1679	0.0139	0.0842
- Significancia estadística a la prueba de “t” (*)	a	b	b	A

* a,b letras iguales no existen diferencias estadísticas significativas.

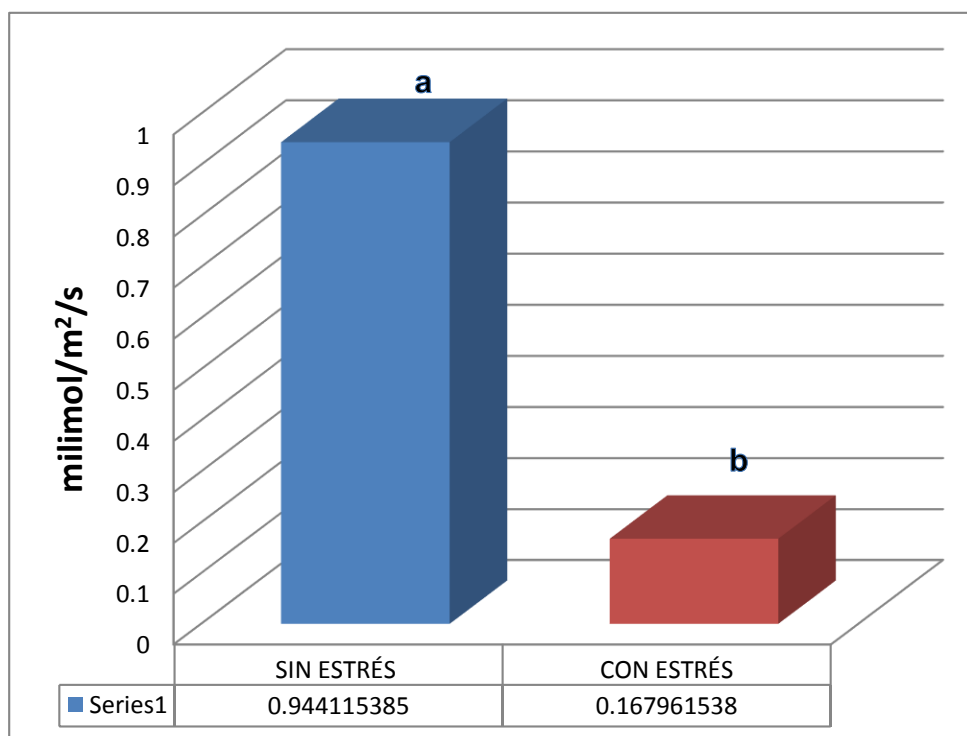


Figura 18, Tasa de transpiración de variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) sin estrés y con estrés.

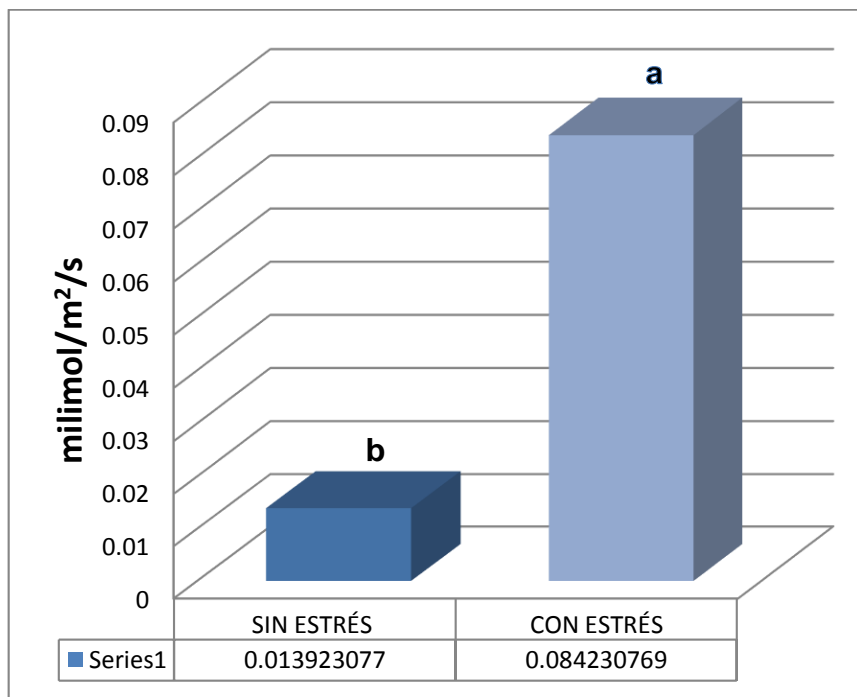


Figura 19, Tasa de transpiración de variedad “Puka Puqya” (tolerante a heladas) sin estrés y con estrés.

En una variedad susceptible cuando es sometida a un estrés por baja temperatura ocurre una la disminución de la conductividad hidráulica de las raíces y alteraciones en el grado del control estomático conduciendo a un desbalance entre la captación de agua y la transpiración. Las plantas sometidas a bajas temperaturas muestran al menos una caída transitoria del potencial hídrico y disminución del de potencial hídrico de agua. Estos factores hacen las células estomáticas pierden turgencia y los estomas se cierran. El cierre de los estomas propician una mayor concentración de carbono interno en la cámara estomática estimulando al rápido cierre de los estomas, por esta razón disminuye la tasa de la transpiración (Agurto, 2015).

La planta tolerantes al estrés por bajas temperaturas produce ciertas moléculas orgánicas que contrarrestan el efecto de las heladas y estos son los llamados crioprotectores que son solutos compatibles u osmoprotectores se caracterizan por ser sustancias de bajo peso molecular, incluyen la mayoría de los solutos osmóticamente activos, y están presentes en todas las células. Frente a estrés abiótico, estos solutos compatibles cumplen un importante rol en la protección de las

plantas a nivel celular, manteniendo el ajuste osmótico y turgor de la célula. Actuarían como chaperonas, estabilizando enzimas, proteínas y membranas, destruyendo especies reactivas de oxígeno ROS (por su sigla en inglés, Reactive Oxygen Species) y estabilizando los complejos del fotosistema II. En términos generales, los solutos compatibles se clasifican en tres grupos: aminoácidos (ej. prolina), amino-cuaternarios (ej. glicina betaína, dimetilsulfoniopropionato), polioles (ej. manitol, sorbitol, mio-inositol) y azúcares solubles (ej. sacarosa, glucosa, trehalosa) (Chen y Murata, 2002; Wang et al., 2003; Hu et al., 2010). Debido a su naturaleza policatiónica pueden unirse y estabilizar a polímeros ricos en cargas negativas como el ADN, ARN, pectinas, fosfolípidos y proteínas.

Las acuaporinas, proteínas integrales de membrana, se han identificado en tantas tolerantes al estrés hídrico y son como canales importantes que ayudan a la rehidratación rápida gobernando la conductancia celular para recuperar el agua y la turgencia celular (Vandeleur et al., 2009; Alleva et al., 2010).

Los azúcares solubles y la síntesis de oligosacáridos derivados de la sacarosa, como los fructanos, actúan como osmoprotectores frente a estrés osmótico y fuente de reserva de carbono. Un estudio, en plantas transgénicas de tabaco y remolacha azucarera capaces de inducir acumulación de fructanos fueron más tolerantes a sequía que aquellas que no producían fructanos (Pilon-Smits et al., 1995; Pilon y Smits et al., 1999). Plantas transgénicas de papa y tabaco capaces de inducir trehalosa, mostraron mayor tolerancia a sequía respecto a sus controles (Chen y Murata, 2002). Otro estudio que comparó clones de papas tolerantes (397077.16) y susceptibles (Canchan) a sequía, mostró en el clon tolerante mayor síntesis de galactinol y rafinosa (Legay et al., 2011). Otros estudios comparando *S. commersonii* (genotipo tolerante a heladas) y *S. tuberosum* (genotipo susceptible a heladas), reportaron un incremento en azúcares solubles totales en las hojas de *S. commersonii* al ser sometidas a bajas temperaturas y a sequía (Pino et al., 2008; Pino et al., 2013). Otro estudio reciente, mostró en *S. commersonii* una mayor acumulación fructosa, glucosa y sucrosa bajo estrés abiótico respecto a su control susceptible (Folgado et al., 2013).

Entonces el mayor contenido de estas sustancias crioprotectoras o osmoprotectoras en la variedad de papa “Puka Puqya” (tolerantes a las heladas) hace que la célula sea resistente a la deshidratación o bien no hay salida del agua de la células al exterior y las plantas mantienen su turgencia durante el estrés por bajas temperaturas el estoma no se cierre y por alguna razón no conocida incrementa significativamente la tasa de transpiración.

3.3. Conductancia estomática.

En la tabla 4, se presenta significancia estadística a un nivel del 5 % de la conductancia estomática de dos variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible a heladas) y “Puka Puqya” (tolerante a heladas) antes y después del estrés térmico a bajas temperaturas.

De acuerdo a la prueba estadística de “t” de Student a un nivel de significancia del 5%, se puede observar que sin estrés térmico la conductancia estomática en variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) tuvo 24,621 milimol/m²/s y cuando fueron sometidas al estrés térmico por bajas temperaturas la conductancia estomática disminuyó significativamente alcanzando 3.883 milimol/m²/s. En la variedad “Puka Puqya” (tolerante) sin estrés por bajas temperaturas la conductancia estomática fue 0.266 milimol/m²/s y con estrés incremento estadísticamente en forma significativa alcanzando un valor de 1.529 milimol/m²/s (ver figura 20 y 21).

Tabla 4. Respuesta de conductancia estomática de las variedades de papa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y “Puka Puqya” (tolerante) sin y con estrés térmico a bajas temperaturas.

Características fisiológicas	Susceptible		Tolerantes	
	Sin estrés	Con estrés	Sin estrés	Con estrés
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
- Conductancia estomática (milimol/m ² /s)	24.6209	3.8829	0.2657	1.5285
- Significancia estadística a la prueba de “t” (*)	a	b	b	A

* a,b letras iguales no existen diferencias estadísticas significativas.

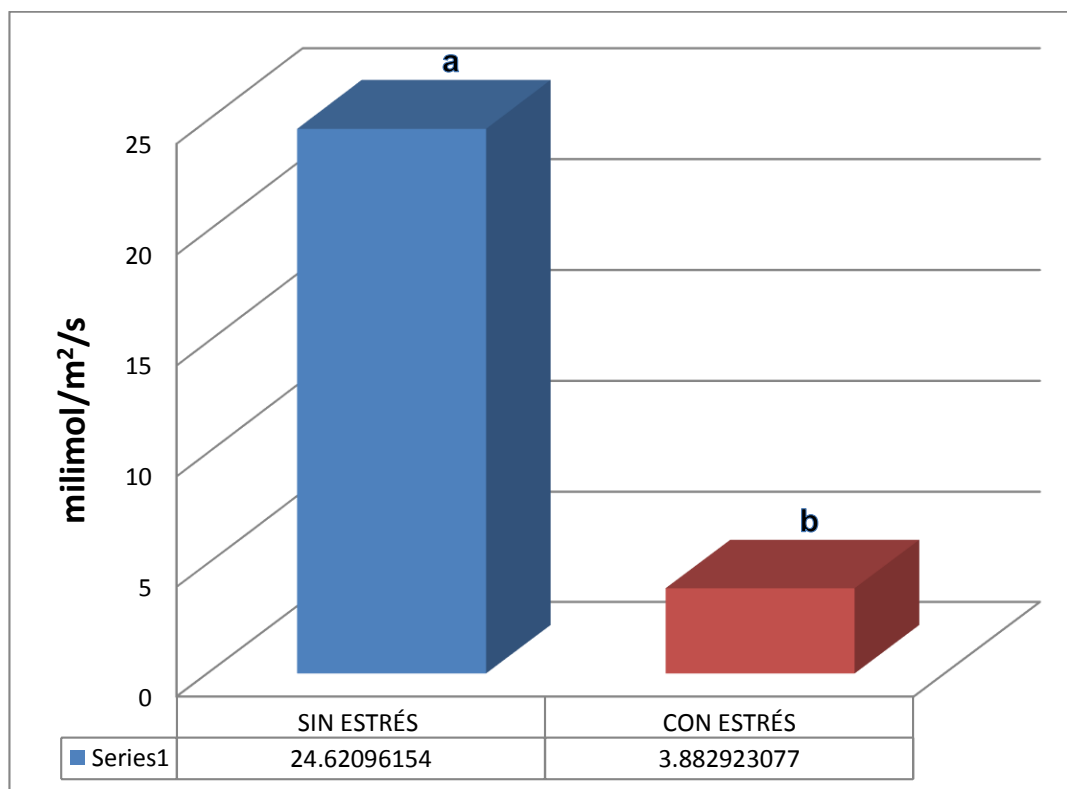


Figura 20, Coeficiente de conductancia estomática de la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” susceptible a heladas sin estrés y con estrés.

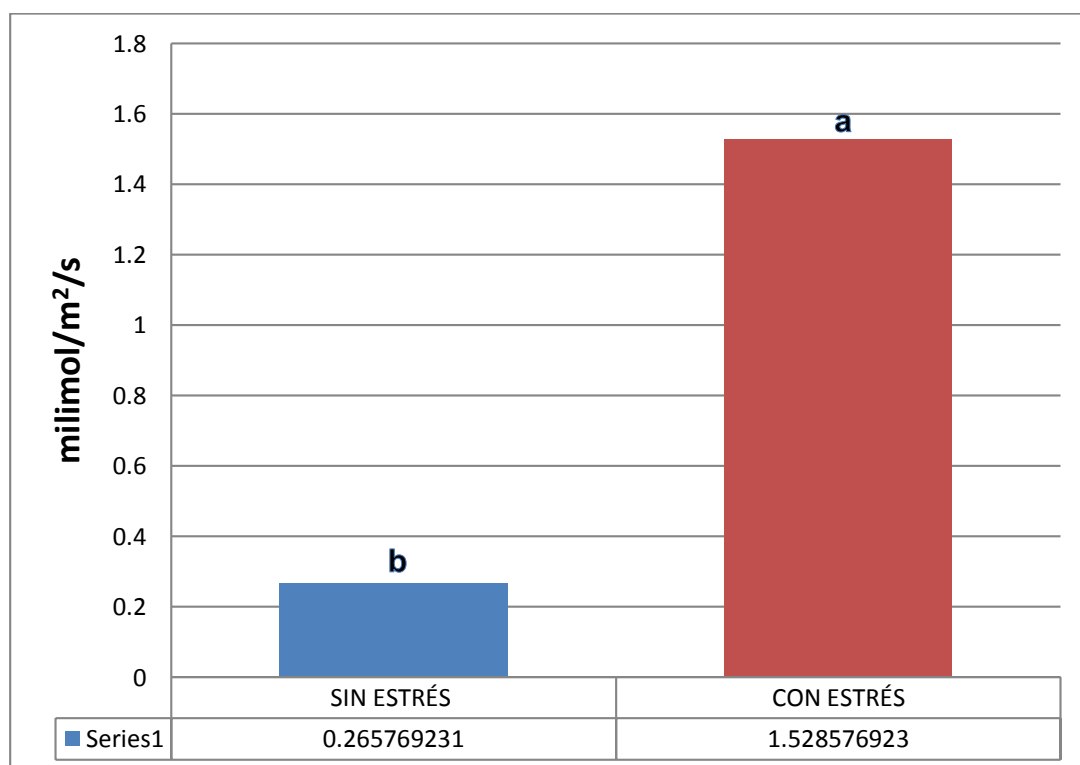


Figura 21, Coeficiente de conductancia estomática de la variedad “Puka Puqya” tolerante a heladas sin estrés y con estrés.

Cuado los estomas se mantengan abiertos la conductancia estomática será mayor, contrario al presentarse un estrés hídrico por bajas temperaturas los estomas tienden a cerrarse provocando una disminución drástica de la conductancia estomática (Riveros, 2002; Agurto, 2015).

Por lo tanto, la capacidad de algunas plantas al mantenerse túrgidas bajo condiciones de estrés por agua es una característica beneficiosa para evitar la disminución en la producción, bajo tales circunstancias el descenso del rendimiento puede estar relacionado con la reducción de la conductancia estomática (Agraria et al., 1995: Nogueira et al., 2001: Da Matta, 2004).

CONCLUSIONES

- Las dos variedades de papa nativa “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) y la variedad de papa “Puka Puqya (tolerante) después de ser sometidas al estrés térmico por bajas temperaturas disminuyeron significativamente su tasa de fotosíntesis neta en un 48%.
- La tasa de transpiración en la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) disminuyó significativamente cuando fue sometida al estrés térmico por bajas temperaturas; mientras que en la variedad “Puka Puqya” (tolerante) presenta efecto contrario, es decir la tasa de transpiración con estrés incremento estadísticamente en forma significativa.
- La conductancia estomática disminuyó significativamente en la variedad “Yuraq Kuchillo Paki” (susceptible) cuando fue sometida al estrés térmico por bajas temperaturas; mientras que la variedad “Puka Puqya” (tolerante) tiene una respuesta contraria, es decir, la conductancia estomática con estrés aumenta significativamente.
- Las mejores características fisiológicas para detectar plantas tolerantes a las heladas es la medición de la tasa de transpiración y conductancia estomática después de ser sometidas al estrés térmico de bajas temperaturas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar las respuestas fisiológicas antes, durante y después del estrés por bajas temperaturas y con un mayor número de variedades tolerantes y susceptibles.
- Se recomienda tomar como variable el rendimiento y otras características fisiológicas relevantes para estudiar las respuestas fisiológicas bajo un estrés inducido para ser utilizados como criterio de seleccionar papas tolerantes en programa de mejoramiento genético.
- Se recomienda evaluar la respuesta fisiológica de la planta a diferentes grado bajo cero (-2, -4, -6, -10, -12 y -15°C), para seleccionar variedades tolerantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Agurto, C., J. Eneque, W.Gonzales. B.D.Sevilla. Fisiología de las plantas a bajas temperaturas. Monografía. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque.
- Ahmed, C. B., Rouina, B. B., and Boukhris, M. (2008). Changes in water relations, photosynthetic activity and proline accumulation in one-year-old olive trees (*Olea europaea* L. cv. Chemlali) in response to NaCl salinity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 553-560.
- Ali Dib T, Monneveux P, Araus J.L (1990) Breeding durum wheat for drought tolerance. Analytical, synthetical approaches, and their connections. In ‘Symposium on Wheat breeding. Prospects and future approaches’ Varna, Bulgaria, pp. 1-33.
- Allen DJ, Ort DR (2001) Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warmclimate plants. *Trends in Plant Science* 6: 36-42.
- Alleva K, Marquez M, Villarreal N, Mut P, Bustamante C, Bellati J, Martínez G, Civello M, Amodeo G (2010) Cloning, functional characterization, and co-expression studies of a novel aquaporin (FaPIP2;1) of strawberry fruit. *J Exp Bot.*61: 3935–3945.
- Amiri, R. M., Yur’eva, N. O., Shimshilashvili, K. R., GoldenkovaPavlova, I. V., Pchelkin, V. P., Kuznitsova, E. I., Tsydendambaev, V. D., Trunova, T. I., Los, D. A., Jouzani, G. S., and Nosov, A. M. (2010). Expression of Acyl-lipid $\Delta 12$ -desaturase Gene in Prokaryotic and Eukaryotic Cells and Its Effect on Cold Stress Tolerance of Potato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(3), 289-297.
- Andrade, J. L., Larque-Saavedra, A., and Trejo, C. L. (1995). Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. *Phyton- Revista Internacional de Botánica Experimental*, 57(2), 149-158.
- Andre, C. M., Ghislain, M., Bertin, P., Oufir, M., Herrera, M. D. R., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., et al. (2007). Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(2), 366–78.

- Azcón-Bieto J, Talón M (2000) Fundamentos de Fisiología Vegetal. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 522 pp
- Bamberg, J. B., Palta, J. P., and Vega, S. E. (2005). *Solanum commersonii* cytoplasm does not improve freezing tolerance in substitution backcross hybrids with frost-sensitive potato species. American Journal of Potato Research, 82(3), 251-254.
- Barrientos, M., Mol, E., Peruzzo, G., Contreras, A., and Alberdi, M. (1994). Responses to cold of Chilean wild *Solanum* species. Environmental and Experimental Botany, 34(1), 47-54.
- Bansal, K. C., and Nagarajan, S. (1986). Leaf water content, stomatal conductance and proline accumulation in leaves of Potato (*Solanum tuberosum* L.) in response to water stress. Indian J. Plant Physiol, 29(4), 397-404
- Barceló C.J. 2000. Fisiología Vegetal., Ediciones Piramides, 9ªed, 5ª Imp, 568 págs.
- Bansal K. & Nagarajan S. (1986). Leaf water content, stomatal conductance and proline accumulation in leaves of Potato (*Solanum tuberosum* L.) in response to water stress. Indian J. Plant Physiol. 29, 397-404.
- Behnam, B., Kikuchi, A., Celebi-Toprak, F., Kasuga, M., Yamaguchi Shinozaki, K., and Watanabe, K. N. (2007). Arabidopsis rd29A:: DREB1A enhances freezing tolerance in transgenic potato. Plant Cell Reports, 26(8), 1275-1282.
- Bjorkman, O. (1981). Responses to different quantum flux densities. In: Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B., Ziegler, H. (eds.) Encyclopedia of plant physiology, Vol. 12.4. Physiological plant ecology. I, Responses to the physical environment. Springer-Verlag, Berlin, p. 57-107
- Bradshaw, J.E. 2007. Potato-breeding strategy. pp. 157-174. En: Vreugdenhil, D. (ed.). Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Elsevier, Amsterdam.
- Bukasov, S.M. 1971. Cultivated potato species. pp. 5-40. En: Bukasov, S.M. (ed.). Flora of cultivated plants. Vol. IX. Kolos, Leningra.
- Carazas, Y. 2007. Línea de base estrategias de mitigación en comunidades campesinas criadoras de alpaca. Lima: Soluciones Prácticas-ITDG.
- Cardi, T., Puite, K. J., Ramulu, K. S., D'Ambrosio, F., and Frusciante, L. (1993a). Production of somatic hybrids between frost tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: Protoplast fusion, regeneration and isozyme analysis. American Potato Journal, 70(11), 753-764.

- Cardi, T., D'Ambrosio, E., Consoli, D., Puite, K. J., and Ramulu, K. S. (1993b). Production of somatic hybrids between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 87(1-2), 193-200.
- Carputo, D., Cardi, T., Palta, J. P., Sirianni, P., Vega, S., and Frusciante, L. (2000). Tolerance to low temperatures and tuber soft rot in hybrids between *Solanum commersonii* and *Solanum tuberosum* obtained through manipulation of ploidy and endosperm balance number (EBN). *Plant Breeding*, 119(2), 127-130. doi: 10.1046/j.1439-0523.2000.00477.x.
- Chang, D. C., Sohn, H. B., Cho, J. H., Im, J. S., Jin, Y. I., Do, G. R., Kim, S.J., Cho, H.M., and Lee, Y. B. (2014). Freezing and Frost Damage of Potato Plants: a Case Study on Growth Recovery, Yield Response, and Quality Changes. *Potato Research*, 57(2), 99-110.
- Chaman, M.M.E. (2007). Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annum* L. inducido por NaCl. *Arnaldoa*, 14(2), 251- 258.
- Chen, T.H. H., and Li, P. H. (1980). Characteristics of cold acclimation and deacclimation in tuber-bearing *Solanum* species. *Plant Physiology*, 65(6), 1146-1148.
- Chen, T. H., and Murata, N. (2002). Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 250-257.
- Cheng, Y. J., Deng, X. P., Kwak, S. S., Chen, W., and Eneji, A. E. (2013). Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing choline oxidase in chloroplasts against water stress. *Botanical Studies*, 54(1), 30. doi:10.1186/1999-3110-54-30.
- Claussen W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant and Soil* 168: 241-248.
- Cochard, H., L. Coli, X. Le Roux, y T. Ameglio. 2002. Descifrando los efectos hidráulicos de plantas en el cierre de estomas durante el estrés hídrico en nogal. (En inglés) *Plant Physiol.* 128:282-290.
- Comstock, J., y M. Mencuccini. 1998. Control de la conductancia estomática por el potencial hídrico de la hoja en *Hymenoclea salsola* (T. y G.), un subarbusto del desierto. *Plant Cell Environ.* 21:1029-1038.

- Costa, A., and Li, P. H. (1992). Development of cold hardiness in *Solanum tuberosum* by abscisic acid and mefluidide. In: *Advances in Plant Hardiness*. Li, P.H. and Christersson, L. (Eds). CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 139-140.
- Christmann A, Hoffmann T, Teplova I, Grill E, Müller A (2005) Generation of active pools of abscisic acid revealed by in vivo imaging of water-stressed *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 137:209–219.
- Da Matta, FM. 2004. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research*. 86(2,3): 99–114.
- Damour G, Simonneau T, Cochard H, Urban L. 2010. An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, Cell & Environment* 33: 1419– 1438
- De Palma, M., Grillo, S., Massarelli, I., Costa, A., Balogh, G., Vigh, L., and Leone, A. (2008). Regulation of desaturase gene expression, changes in membrane lipid composition and freezing tolerance in potato plants. *Molecular Breeding*, 21(1), 15-26.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. a, Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., and Blaxter, M. L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews. Genetics*, 12(7), 499-510.
- Deryabin, A. N., Trunova, T. I., Dubinina, I. M., Burakhanova, E. A., Sabel'nikova, E. P., Krylova, E. M., and Romanov, G. A. (2003). Chilling tolerance of potato plants transformed with a yeast-derived invertase gene under the control of the B33 patatin promoter. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(4), 449-454.
- Drake, B. and Rascheke (1974) Prechilling of *Xantium strumarium* L reduces net photosynthesis and independently of stomatal conductance while sensitizing stomata to CO₂. *Plant Physiol*. 53:808 – 812.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. a, Kawamoto, K., Buckler, E. S., and Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.
- Estrada, N. (1982). Breeding wild and primitive potato species to obtain frost resistant cultivated varieties. In: *Plant Hardiness and Freezing Stress. Mechanism and Crop Implications*. Li, P.H. and Sakai, A. (Eds). Academic Press, New York, 615-633.
- Estrada, N., García, W., Carrasco, I., and Carrasco. E. (1993). Breeding potato for tolerance to frost and resistance to late blight. *American Potato Journal*, 70, 809-810.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd ed. John Wiley& Sons Inc., NY, USA.

- Evans J.R, Poorter H (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment* 24: 755-767.
- Fairlie, T. E., and Ortega, A. (1995). Efecto de la presencia de heladas simuladas en diferentes estados fenológicos y su impacto en el rendimiento de la papa cv Ccompis: estudio preliminar. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 7(8), 86-93.
- Falcone D.L., J.P Ogas and R Somerville. 2004. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of *Arabidopsis* with alterations in membrane lipid composition, *Plant Biology*, 4:17.
- Fan Z, JA Moore, DL Wenny. 2004. Growth and nutrition of container-grown ponderosa pine seedlings with controlled-release fertilizer incorporate in the root plug. *Annals of Forest Science* 61: 117-124.
- Farquhar G.D, Sharkey T.D (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33: 317-345.
- Farquhar G.D, Richards R.A (1984). Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use-efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* 11: 539-552.
- Folgado, R., Panis, B., Sergeant, K., Renaut, J., Swennen, R., and Hausman, J. F. (2013). Differential Protein Expression in Response to Abiotic Stress in Two Potato Species: *Solanum commersonii* Dun and *Solanum tuberosum* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 4912-4933.
- Gates, D.M. 1980. *Biophysical ecology*. Springer-Verlag New York Inc., NY, USA.
- Ghislain, M., Andrade, F., Rodriguez, F., Hijmans, R.J. y Spooner, D.M. (2006) Genetic analysis of the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. Phureja Group using RAPDs and nuclear SSRs. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1515-1527.
- Gil M.F. 1995. *Elementos de Fisiología Vegetal: Relaciones hídricas, nutrición mineral, transporte y metabolismo*. Editorial Mundi-Prensa, México, 1047 págs.
- **Griffith M, Ewart K.V.** (1995) Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. *Biotechnol Adv* 13: 375–402.
- Gurovich, I.A.. 1989. “Una nueva técnica para determinar necesidades de riego de huertos y parronales”. *Revista Aconex*, 26:21-26

- Guy CL, Huber J.L.A, Huber S.C (1992) Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiol* 99:1443–1448
- Hawkes, J.G. 1990. *The potato: evolution, biodiversity and genetic resources*. Belhaven Press, London.
- Hetherington, S.E., Smillie, R. M, Malagamba, P. & Huaman, Z 1983. Heat tolerance and cold tolerance of cultivated potatoes measured by the chlorophyll-fluorescence method. *Planta* 159: 119-124
- Hijmans, R. J. (1999). Estimating frost risk in potato production on the Altiplano using interpolated climate data. CIP Program Report, 1998, 373-380.
- Hijmans, R.J., D.M. Spooner, A.R. Salas, A. Guarino y J. de la Cruz. 2002. Atlas of wild potatoes. Systematic and eco geographic studies on crop gene pools 10. International Plant Genetic Resources Institute, Roma.
- Hijmans, R., T. Gavrilenko, S. Stephenson, J. Bamberg, A. Salas y D.M. Spooner. 2007. Geographic and environmental range expansion through polyploidy in wild potatoes (*Solanum* section *Petota*). *Global Ecol. Biogeogr.* 16, 485-495.
- Holaday AS, Martindale W, Alred R, Brooks AL, Leegood RC (1992) Changes in activities of enzymes of carbon metabolism in leaves during exposure of plants to low temperature. *Plant Physiol* 98:1105–1114
- Holaday AS, Martindale W, Alred R, Brooks AL, Leegood RC (1992) Changes in Activities of Enzymes of Carbon Metabolism in Leaves during Exposure of Plants to Low Temperature. *Plant Physiology* 98(3): 1105-1114.
- Hosaka, K., G.A. de Zoeten y R.E. Hanneman. (1988). Cultivated potato chloroplast DNA differs from the wild type by one deletion: vidence and implications. *TAG* 75, 741-745
- Hosaka, K. (1995). Successive domestication and evolution of the Andean potatoes as revealed by chloroplast DNA restriction endonuclease analysis. *TAG* 90, 356-363.
- Hosaka, K. 2003. T-type chloroplast DNA in *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* was conferred by some populations of *S. tarijense* Hawkes. *Amer. J. Potato Res.* 80, 21-32.
- Hosaka, K. 2004. Evolutionary pathway of t-type chloroplast DNA in potato. *Amer. J. Potato Res.* 81, 155-160.

- Hu, X. J., Zhang, Z. B., Xu, P., Fu, Z. Y., Hu, S. B., and Song, W. Y. (2010). Multifunctional genes: the cross-talk among the regulation networks of abiotic stress responses. *Biologia Plantarum*, 54(2), 213-223
- Huamán, Z. y D.M. Spooner. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *Amer. J. Bot.* 89, 947-965.
- Hull M R, Long S P, Jahnke L S (1997) Instantaneous and developmental effects of low temperature on the catalytic properties of antioxidant enzymes in two *Zea* species. *Australian Journal of Plant Physiology* 24: 337-343.
- Hurry VM, Malmberg G, Gardestroöm P, Oquist G (1994) Effects of a short-term shift to low temperature and of long-term cold hardening on photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and sucrose phosphate synthase activity in leaves of winter rye (*Secale cereale* L.). *Plant Physiol* 106:983–990.
- Jarvis, P.G. (1971) The estimation of resistance to carbón dioxide transfer. In: Sester, Z., Catsky, J., Jarvis, P.G. Ed. *Plant photosynthetic production Manual of Methods* Pp. 566 - 631, Dr W. Junk N.V. Publisherts The Hogue.
- Janowiak F, Dörffling K (1996) Chilling of maize seedlings: changes in water status and abscisic acid content in ten genotypes differing in chilling tolerance. *Journal of Plant Physiology* 147: 582-588.
- Jones, H. G. 1992. *Plants and Microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Iannelli MA, Van Breusegem F, Van Montagu MV, Inze D, Massacci A (1999) Tolerance to low temperature and paraquat-mediated oxidative stress in two maize genotypes. *Journal of Experimental Botany* 50 (333): 523-532.
- Iovene, M., Barone, A., Frusciante, L., Monti, L., and Carputo, D. (2004). Selection for aneuploid potato hybrids combining a low wild genome content and resistance traits from *Solanum commersonii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(6), 1139-1146.
- Iwanaga, M. y S.J. Peloquin. 1982. Origin and evolution of cultivated tetraploid potatoes via 2n gametes. *Theor. Appl. Genet.* 61, 161-169.

- Kang HM, Saltveit ME (2002) Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. *Plant, Cell and Environment* 25: 1233-1238.
- Kishor, P. K., Hong, Z., Miao, G. H., Hu, C. A. A., and Verma, D. P. S. (1995). Overexpression of Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology*, 108(4), 1387-1394.
- Khan, H., W. Link, T.J. Hocking and F.L. Stoddard, 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant Soil.*, 292: 205-217.
- Kleinhenzl, M. D.; J. B. Bamberg, and J. P. Palta. 1995. Use of stomatal index as a marker to screen backcross populations of two wild potato species segregating for freezing tolerance. *Amer. Jour. of Potato Res.* (72):4: 245-250.
- Knipp, G., and Honermeier, B. (2006). Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397
- Kleinhenz, M. D., Bamberg, J. B., and Palta, J. P. (1995). Use of stomatal index as a marker to screen backcross populations of two wild potato species segregating for freezing tolerance. *American Potato Journal*, 72(4), 243-250.
- Kratsch, H. A., & Wise, R. R. (2000). The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell and Environment*, 23, 337–350.
- Kyle, D.J.,I. Ohad 1986 :In: L.A. Staehlin, C.J. Arntzen (Eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, 19, Springer, Berlin (1986), pp. 468–475.
- Labate C.A, Leegood R.C (1988) Limitation of photosynthesis by changes in temperature. *Planta* 173: 519-527
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI (2001) Signals from mature to new leaves *Nature* 411, 154
- Lambers H, Stuart Chapin III F, Pons TL (1998) *Plant Physiological Ecology*. SpringerVerlag, New York.
- Larcher, W. (2004). *Physiological Plant Ecology*, 3th ed. *Ann. Bot.* 93 (5) 616-617.
- Larkin, J., N. Young, M. Prigge, y M. Marks.1996. El control de separación y el número de tricomas en *Arabidopsis*. (En inglés) *Development* 122:997-1005.

- Lawson, T. 2009. Fotosíntesis en células guarda y la función de los estomas. (En inglés) *New Phytol.* 181:13-34.
- Lawson T, Oxborough K, Morison JIL, Baker NR (2002) Responses of photosynthetic electron transport in stomatal guard cells and mesophyll cells in intact leaves to light, CO₂ and humidity. *Plant Physiology* 128: 52-62.
- Lee TM, Lur HS, Chu C (1997) Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels. *Plant Science* 126:1-10.
- Legay, S., Lefèvre, I., Lamoureux, D., Barreda, C., Luz, R. T., Gutierrez, R., Quiroz R., Hoffmann, L., Hausman, JF., Bonierbale, M., Evers, D., and Schafleitner, R. (2011). Carbohydrate metabolism and cell protection mechanisms differentiate drought tolerance and sensitivity in advanced potato clones (*Solanum tuberosum* L.). *Functional and Integrative Genomics*, 11(2), 275-291.
- Levitt, J. 1980. *Responses of Plants to Environmental Stresses*, Vol. 1 (2nd ed). New York NY: Academic Press. 497p.
- Long S.P, S Humphries & P.G Falkowski (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 633-662.
- Longstreth D.J, T.L Hartsock & P.S Nobel (1980) Mesophyll cell properties for some C₃ and C₄ species with high photosynthetic rates. *Physiology Plantarum* 48:494-498
- Maali-Amiri, R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Yur'Eva, N. O., Pchelkin, V. P., Tsydendambaev, V. D., Vereshchagin, A. G., Deryabin, A.N., Trunova, T.I., Los D.A., and Nosov, A. M. (2007). Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the $\Delta 12$ -desaturase gene from cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(5), 600-606.
- Martín de Santa Olalla, F.G. y de Juan Valero, J.A. 1993. En Martín de Santa Olalla, F.G. y de Juan Valero, J.A Editores, *Agronomía del Riego*. Editorial Mundi-Prensa. Universidad Castilla de la Mancha, España, 254 págs.
- McKersie, B. D., Murnaghan, J., Jones, K. S., and Bowley, S. R. (2000). Iron-superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance. *Plant Physiology*, 122(4), 1427-1438.
- Mckersie B.D, Leshem Y.Y (1994) *Stress and stress coping and cultivated plants*, pp. 15-49. Kluwer Academic Publishes, Dordrecht.

- Mendiburu, A.O., Peluquin, S.J. (1977). The significance of 2n gametes in potato breeding. *Theor. Appl. Genet.* 43:53-61.
- Morales, C. G., Pino, M. T., and del Pozo, A. (2013). Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent rehydration cycles in two raspberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162, 234-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.025>.
- Morton, J. F. (2007). The impact of climate change on smallholder and subsistence agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 19680-19685
- Movahedi, S., Tabatabaei, B. S., Alizade, H., Ghobadi, C., Yamchi, A., and Khaksar, G. (2012). Constitutive expression of Arabidopsis DREB1B in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance. *Biologia Plantarum*, 56(1), 37-42.
- Murakami Y, Tsuyama M, Kobayashi Y, Kodama H, Iba K (2000) Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. *Science* 287:476–479
- Murata N, Los DA (1997) Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiol* 115:875–879
- Nilsen ET, Orcutt DM (1996) *Physiology of plants under stress. Abiotic factors.* John Wiley & Sons, INC, New York.
- Nishida I, Murata N (1996) Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular. Biology* 47: 541-568.
- Nogueira RJMC, Moraes JAPM, Burity HA, Bezerra Neto E (2001) Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 13:75-87.
- Nyman, M., and Waara, S. (1997). Characterisation of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant relative *Solanum commersonii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(7), 1127-1132
- Ochoa, C.M. 1990. *The potatoes of South America: Bolivia.* Cambridge University Press, Cambridge.
- O'Kane, D., Gill, V., Boyd, P., and Burdon, R. (1996). Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. *Planta*, 198(3), 371-377
- Osmond CB, Grace SC (1995) Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? *Journal Experimental Botany* 46: 1351-1362.

- Orlikowska, T., Kucharska, D., and Horbowicz, M. (2009). The reaction of raspberry and blackberry cultivars to drought stress simulated in vitro by polyethylene glycol (PEG) 6000. In: I International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: BIOTECHFRUIT 2008, 337-342.
- Palta, J. P., and Li, P. H. (1979). Frost-hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several Solanum species. *Crop Science*, 19(5), 665-671.
- Palta, J. P., and Li, P. H. (1980). Alterations in membrane transport properties by freezing injury in herbaceous plants: Evidence against rupture theory. *Physiologia Plantarum*, 50(2), 169-175.
- Palta, J. P., Whitaker, B. D., and Weiss, L. S. (1993). Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of Solanum species. *Plant Physiology*, 103(3), 793-803.
- Parkhurst, D.F. (1978) The adaptive significance of stomatal on one or bth surfaces of leaves. *Journal of Ecology* 66:367 - 383
- Pavek, J.J. and D.L.Corsini (2001). Utilization of potato genetic resouces in variety. *Am. J. Potato. Res.* 78: 433.
- Payton .P, Webb .R, Kornyejev .D, Allen .R, Holaday A.S. (2001) Protecting cotton photosynthesis during moderate chilling at high light intensity by increasing chloroplastic antioxidant enzyme activity. *Journal of Experimental Botany* 52 (365): 2345-2354.
- Perera NH, Hartmann E, Holoday AS (1995) Regulation of cotton photosynthesis during moderate chilling. *Plant Science* 111: 33-143.
- Pérez de Juan J, Irigoyen JJ, Sánchez-Díaz M (1997) Chilling of drought-hardened and non-hardened plants of different chilling-sensitive maize lines. Changes in water relations and ABA contents. *Plant Science* 122: 71-79.
- Pilon-Smits, E. A., Ebskamp, M. J., Paul, M. J., Jeuken, M. J., Weisbeek, P. J., and Smeekens, S. C. (1995). Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology*, 107(1), 125-130.
- Pilon-Smits, E. A., Terry, N., Sears, T., and van Dun, K. (1999). Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(4), 313-317.
- Pino, M.T., Skinner, J.S., Jeknic, Z., Park, E.J., Hayes, P.M., and Chen, T.H.H. (2006). Ectopic Overexpression of AtCBF1 in Potato Enhances Freezing Tolerance. In: *Cold*

- Hardiness in Plants: Molecular Genetics, Cell Biology, and Physiology. Chen, T.H.H., Uemura M., and Fujikawa, S. (Eds.). ISBN 0-851-99059-2 CABI International, Oxon, UK, 103- 123.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Park, E. J., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. H. (2007). Use of a stress inducible promoter to drive ectopic AtCBF expression improves potato freezing tolerance while minimizing negative effects on tuber yield. *Plant Biotechnology Journal*, 5(5), 591-604.
 - Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F., and Chen, T.H.H. (2008). Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. *Plant, Cell and Environment*, 31(4), 393-406.
 - Pino, M. T., Ávila, A., Molina, A., Jeknic, Z., and Chen, T.H.H. (2013). Enhanced in vitro drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Cien. Inv. Agr*, 40, 171-184.
 - Pino, M.T. (2016). Estrés hídrico y térmico en papas, avances y protocolos. Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 331. 148p.
 - Polanía J A., I. M. Rao, S. Beebe y R. García (2009), Desarrollo y distribución de raíces bajo estrés por sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en un sistema de tubos con suelo; *Agronomía Colombiana* 27(1), 25-32
 - RIVEROS, R. 2002. Efectos del riego deficitario controlado sobre la producción y la calidad del fruto en uva de mesa (sultana). Tesis Ing. Agr. Santiago. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 54 p.
 - Rodriguez, F., W. Feinan, A. Cécile, S. Tanksley y D.M. Spooner. 2009. Do potatoes and tomatoes have a single evolutionary history, and what proportion of the genome supports this history? (en línea) *BMC Evolutionary Biology* 9(191), <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/9/191>; consulta: marzo de 2010
 - Rodriguez, L.E.(2010) Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión Origins and evolution of cultivated potato. A review. *Agronomía Colombiana* 28(1), 9-17.
 - Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Forner, J.B., Forner-Giner, M.A. (2010) Citrus rootstock responses to water stress. *Scientia Hortic.* 126:95-102.
 - Roelfsema, M. R. G. y Hedrich, R. (2002). Studying guard cell in the intact plant: modulation of stomatal movement by apoplastic factors. *New Phytol.*, 153:425-431

- Salas, A., D.M. Spooner, Z. Huamán, R.V. Torres-Maita, R. Hoekstra, K. Schuler y R.J. Hijmans. 2001. Taxonomy and new collections of wild potato species in Central and Southern Peru in 1999. *Amer. J. Potato Res.* 78, 197-207.
- Sanchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. 2000a. El agua en la planta, p 17- 30. En: Azcón-Bieto, J y Talón, M. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Universitat de Barcelona. España. 515 p.
- Sanchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. 2000b. Movimientos estomáticos y transpiración, p 31-44. En: Azcón-Bieto, J y Talón, M. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Universitat de Barcelona. España. 515 p
- Sanchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. 2000c. Transporte de agua y balance hídrico en la planta, p 45-64. En: Azcón-Bieto, J y Talón, M. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Universitat de Barcelona. España. 515 p.
- Schafleitner, R., Gaudin, A., Rosales, R. O. G., Aliaga, C. A. A., and Bonierbale, M. (2007). Proline accumulation and real time PCR expression analysis of genes encoding enzymes of proline metabolism in relation to drought tolerance in Andean potato. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(1), 19-26.
- Schulze ED, Robichaux RH, Grace J, Rundel PW, Ehleringer JR (1987) Plant Water Balance. *Bioscience* 37, 30-37
- Seppänen, M. M., and Coleman, G. D. (2003). Characterization of genotypic variation in stress gene expression and photosynthetic parameters in potato. *Plant, Cell and Environment*, 26(3), 401-410.
- Serna, L., J. Torres-Contreras, y C. Fenoll. 2002. Análisis clonal del desarrollo y patrones de los estomas en hojas de Arabidopsis. (En inglés) *Dev. Biol.* 241:24-33.
- Simmons SR (1987) Growth, development and physiology. In 'Wheat and wheat improvement' (Heyne EG ed.). American Society of Agronomy Inc., Madison, pp. 77-113.
- Somerville, C., and Browse, J. (1991). Plant lipids: metabolism, mutants, and membranes. *Science*, 252(5002), 80-87
- Smirnoff N (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation.) *Tansley Review No. 52. New Phytology* 125: 27-58.
- Sorrells, M.E. 2007. Application of new knowledge, technologies, and strategies to wheat improvement. *Euphytica* 157:299-306.

- Spooner, D.M., K. McLean, G. Ramsay, R. Waugh y G. Bryan. 2005. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *PNAS* 102, 14694-14699.
- Spooner, D.M. y W.L.A. Hettterscheid. 2005. Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Zerega y H. Cross (eds.). *Darwin's harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops*. Columbia University Press, New York, NY.
- Spooner, D.M., J. Núñez, F. Rodríguez, P.S. Naik y M. Ghislain. 2005a. Nuclear and chloroplast DNA reassessment of the origin of Indian potato varieties and its implications for the origin of the early European potato. *Theor. Appl. Genet.* 110, 1020-1026.
- Spooner, D.M., J. Núñez, G. Trujillo, M. del R. Herrera, F. Guzmán y M. Ghislain. 2007. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *PNAS* 104(49), 19398-19403.
- Steffen, K.L. and Palta J.P. 1985. Effect of low temperatures on sun and shade plants from two potato species and their susceptibility to photoinhibition. *Plant Physiol.* 75 (Suppl) 115.
- Steffen, K. L., and Palta, J. P. (1989). Light stress following a frost episode influences the frost tolerance of a wild potato species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114, 656-661.
- Steponkus, P. L. (1984). Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 543-584.
- Strand, A., Hurry, V. and Gustafsson. & Gardstrom, P. (1997) Development of *Arabidopsis thaliana* leaves at low temperatures releases the suppression of photosynthesis and photosynthetic gene expression despite the accumulation of soluble carbohydrates. *The Plant Journal*, 12, 605–614.
- Sukhotu, T. y K. Hosaka. 2006. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome* 49, 636-647.
- Sung DY, Kaplan F, Lee KJ, Guy CL (2003) Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends Plant Sci* 8:179–187.
- Szabados, L., and Saviouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97.

- Tambussi, E.A. (2004) Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis para optar el grado de Doctor. Departament de Biologia Vegetal Universitat de Barcelona España.
- Tambussi EA, Bartoli CG, , Guiamet JJ, Beltrano J, Araus JL (2004a) Oxidative stress and photodamage at low temperatures in soybean (*Glycine max* L. Meer.) leaves. *Plant Science* 167: 19-26.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2006) *Plant physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood City, California, USA.
- Taylor SH, Ripley BS, Woodward FI, Osborne CP (2010) Drought limitation of photosynthesis differs between C3 and C4 grass species in a comparative experiment. *Plant, Cell and Environment* doi: 10.1111/j.1365- 3040.2010.02226.x
- Thomashow, M. F. (1999). Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 571-599.
- Tibbitts, T. W. (1979), Humidity and plants. *BioScience*, **29**, 358-363.
- Tiwari, S. P., and Garg, K. C. (1982). Inheritance of frost resistance in potato. *Current Science*, 51, 249–251.
- Tiwari, S. P., Sukumaran, N. P., and Khushu, C. L. (1986). PathCoefficient Analysis of Leaf-Anatomical Characters Affecting Frost Injury in Potato. *Plant Breeding*, 97(3), 272-274.
- Toivio-Kinnucan, M. A., Chen, H. H., Li, P. H., and Stushnoff, C. (1981). Plasma membrane alterations in callus tissues of tuberbearing *Solanum* species during cold acclimation. *Plant Physiology*, 67(3), 478-483
- Toumi I, Moschou P.N, Paschalidis K.A. Bossamama, B.Salem, Fnayon A.B., Gihowhel A.W. Mlikj. A., Roudelakis A. (2010). Abscisic acid signals reorientation of polyamide metabolism In: on stress response vla the polyamine a scales pathway in grapevine. *J. Plant Physiology* 167: 514-525.
- Ugent, D. 1970. The potato: what is the origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated? *Sci.* 170, 1161-1166
- Van Breusegem F, Slooten L, Stassart JM, Botterman J, Moens T, Van Montagu M, Inze D (1999) Effects of overproduction of tobacco MnSOD in maize chloroplasts on foliar tolerance to cold and oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 50: 71- 78.

- Vandeleur RK, Mayo G, Shelden MC, Gilliam M, Kaiser BN, Tyerman SD (2009) The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiol* 149:445–460.
- Van den Berg, R.G. y M.J. Jacobs. 2007. Capítulo 4: Molecular taxonomy. pp. 55-74. En: Vreugdenhil, D. (ed.). *Potato biology and biotechnology advances and perspectives*. Elsevier, Amsterdam.
- Van den Berg, R.G., J.T. Miller, M.L. Ugarte, J.P. Kardolus, J. Villand, J. Nienhuis y D.M. Spooner. 1998. Collapse of morphological species in the wild potato *Solanum brevicaulis* complex (sect. *Petota*). *Amer. J. Bot.* 85, 92-109.
- Vega, S. E., and Bamberg, J. B. (1995). Screening the US potato collection for frost hardiness. *American Potato Journal*, 72(1), 13-21.
- Vega, S. E., Palta, J. P., and Bamberg, J. B. (2000). Variability in the rate of cold acclimation and deacclimation among tuber-bearing *Solanum* (potato) species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(2), 205-211.
- Vega, S.E., Alfonso, H., Jung, G., Bamberg, J. B., and Palta, J. P. (2003). Marker-assisted genetic analysis of non-acclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity in a backcross *Solanum* population. *American Journal of Potato Research*, 80(6), 359-369.
- Vernieri P, Lenzi A, Figaro M, Tognoni F, Pardossi A. (2001) How the roots contribute to the ability of *Phaseolus vulgaris* L. to cope with chilling-induced water stress. *Journal of Experimental Botany* 52:2199–2206.
- Wada, H., Gombos, Z., and Murata, N. (1994). Contribution of membrane lipids to the ability of the photosynthetic machinery to tolerate temperature stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(10), 4273-4277
- Wallis, J. G., Wang, H., and Guerra, D. J. (1997). Expression of a synthetic antifreeze protein in potato reduces electrolyte release at freezing temperatures. *Plant Molecular Biology*, 35(3), 323-330.
- Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218 (1), 1-14.

- Watanabe, K. y S.J. Peloquin. 1989. Occurrence of 2n pollen and ps gene frequencies in cultivated groups and their related wild species in tuber-bearing Solanums. *Theor. Appl. Genet.* 78, 329-336.
- Werner, J.E. y S.J. Peloquin. 1991. Occurrence and mechanisms of 2n egg formation in 2x potato. *Genome* 34, 975-982.
- Wise R.R (1995) Chilling-enhanced photooxidation: The production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. *Photosynthesis Research* 45: 79-97.
- Yamamoto HY, Nakayama TOM, Chichester CO (1962) Studies on the light and dark interconversions of leaf xanthophylls. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 97: 168-173.
- Yamori W, Noguchi K, Terashima I (2005) Temperature acclimation of photosynthesis in spinach leaves: analyses of photosynthetic components and temperature dependencies of photosynthetic partial reactions. *Plant Cell Environ* 28:536–547
- Yamori W, Noguchi K, Hanba YT, Terashima I (2006a) Effects of internal conductance on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant Cell Physiol* 47:1069–1080
- Yamori W, Suzuki K, Noguchi K, Nakai M, Terashima I (2006b) Effects of Rubisco kinetics and Rubisco activation state on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant Cell Environ* 29:1659–1670.
- Yamori W, Nagai T, Makino A (2011a) The rate-limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C₃ crop species. *Plant Cell Environ* 34:764–777
- Yamori W, Sakata N, Suzuki Y, Shikanai T, Makino A (2011b) Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. *Plant J* 68:966–976
- Yamori W, Takahashi S, Makino A, Price GD, Badger MR, Von Caemmerer S (2011c) The roles of ATP synthase and the cytochrome b6/f complexes in limiting chloroplast electron transport and determining photosynthetic capacity. *Plant Physiol* 155:956–96

- Yancey, P.H. (2005).Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. [J Exp Biol.](#) 15:2819-30.
- Xin Z, Li PH (1992) Abscisic acid-induced chilling tolerance in maize suspension-cultured cells. *Plant Physiology* 99: 707-711.

ANEXOS

Anexo 2. Formato de recolección de datos de la tasa de fotosíntesis neta de la variedad susceptible y tolerante a heladas sin estrés y con estrés

N ^a	SUSCEPTIBLES		TOLERANTE	
	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
1	5.01	1.06	1.33	1.62
2	5.02	1.26	1.44	1.57
3	4.99	1.35	1.53	1.59
4	5.07	1.48	1.65	1.63
5	5.11	1.58	1.73	1.59
6	5.1	1.65	1.83	1.5
7	5.11	1.75	1.86	1.49
8	5.16	1.81	1.85	1.53
9	5.19	1.88	1.95	1.5
10	5.17	1.91	2.03	1.5
11	5.2	1.91	1.98	1.57
12	5.23	1.95	2	1.6
13	5.24	1.96	2.1	1.59
14	5.27	1.92	2.17	1.65
15	5.28	1.91	2.1	1.7
16	5.33	1.9	2.09	1.74
17	5.31	1.84	2.1	1.78
18	5.31	1.79	2	1.84
19	5.34	1.79	1.92	1.86
20	5.32	1.77	1.88	1.9
21	5.3	1.66	1.89	1.92
.
.
.
261	5.35	1.99	3.26	1.32

Anexo 3. Formato de recolección de datos de tasa de transpiración de variedad susceptible y tolerante a heladas sin estrés y con estrés

N ^a	SUSCEPTIBLES		TOLERANTE	
	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
1	0.60	0.21	0.04	0.07
2	0.59	0.21	0.05	0.06
3	0.61	0.2	0.06	0.06
4	0.61	0.2	0.07	0.06
5	0.61	0.19	0.08	0.06
6	0.61	0.16	0.04	0.06
7	0.61	0.16	0.06	0.09
8	0.63	0.18	0.05	0.1
9	0.63	0.18	0.04	0.06
10	0.63	0.18	0.04	0.06
11	0.63	0.17	0.05	0.07
12	0.64	0.17	0.06	0.07
13	0.64	0.16	0.05	0.08
14	0.64	0.18	0.05	0.06
15	0.64	0.19	0.04	0.06
16	0.67	0.16	0.04	0.07
17	0.66	0.15	0.05	0.02
18	0.66	0.14	0.05	0.01
19	0.66	0.16	0.05	0.05
20	0.65	0.18	0.07	0.07
21	0.66	0.16	0.07	0.06
.
.
.
261	1.28	0.25	0	0.08

Anexo 44. Formato de recolección de datos de conductancia estomática de variedad susceptible y tolerante a heladas sin estrés y con estrés.

N ^a	SUSCEPTIBLES		TOLERANTE	
	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
1	15.54	5.44	0.82	0.78
2	15.42	5.35	0.99	1.21
3	15.95	5.04	1.22	1.21
4	15.9	5.01	1.29	1.22
5	15.81	4.91	1.48	1.23
6	15.76	4.16	0.83	0.83
7	15.82	4.13	1.05	1.16
8	16.37	4.45	0.89	1.93
9	16.48	4.53	0.71	1.24
10	16.42	4.57	0.82	1.1
11	16.49	4.32	0.95	1.32
12	16.7	4.32	0	1.38
13	16.72	4.11	0	1.49
14	16.75	4.46	0.95	1.19
15	16.78	4.89	0.77	1.21
16	17.4	3.94	0.81	1.41
17	17.43	3.64	0.98	0.39
18	17.27	3.4	0.58	0.18
19	17.31	4.11	0.69	1.08
20	17.14	0	1.41	1.42
21	17.2	0	1.36	1.18
.
.
.
261	38.67	6.15	0	1.59

Anexo 5. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas de la Tasa de fotosíntesis neta de la variedad susceptible a heladas sin estrés y con estrés

	SUSCEPTIBLE	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	4,986538462	2,39619231
Varianza	0,300486813	0,11992019
Observaciones	260	260
Coeficiente de correlación de Pearson	0,16650512	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	69,88649909	
P(T<=t) una cola	2,1058E-170	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	4,2115E-170	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	

Anexo 6. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas de la tasa de fotosíntesis neta de la variedad tolerantes a heladas sin estrés y con estrés

	TOLERANTES	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	2,882807692	1,38138462
Varianza	0,202557723	0,13132086
Observaciones	260	260
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,38555088	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	35,70919818	
P(T<=t) una cola	2,4334E-102	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	4,8668E-102	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	

Anexo 7. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas de la tasa de transpiración de la variedad susceptible a heladas sin estrés y con estrés

	SUSCEPTIBLES	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	0,944115385	0,16796154
Varianza	0,037798828	0,00142015
Observaciones	260	260
Coefficiente de correlación de Pearson	0,684694194	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	73,25677198	
P(T<=t) una cola	1,905E-175	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	3,8101E-175	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	

Anexo 8. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas de la tasa de transpiración de la variedad tolerante a heladas sin estrés y con estrés

	CON ESTRÉS	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	0,013923077	0,08423077
Varianza	0,000343623	0,00041292
Observaciones	260	260
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,586460798	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	-32,74882814	
P(T<=t) una cola	2,29696E-94	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	4,59391E-94	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	

Anexo 9. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas del coeficiente de conductancia estomática de la variedad susceptible a heladas sin estrés y con estrés.

	SUSCEPTIBLES	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	24,62096154	3,88292308
Varianza	83,97099714	1,50823775
Observaciones	260	260
Coefficiente de correlación de Pearson	0,390825554	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	38,18613485	
P(T<=t) una cola	1,1033E-108	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	2,2066E-108	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	

Anexo 10. Prueba “t” para medias de dos muestras emparejadas del coeficiente de conductancia estomática de la variedad tolerante a heladas sin estrés y con estrés.

	CON ESTRÉS	
	SIN ESTRÉS	CON ESTRÉS
Media	0,265769231	1,52857692
Varianza	0,119724889	0,29794816
Observaciones	260	260
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,358978746	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	259	
Estadístico t	-27,37498797	
P(T<=t) una cola	1,02366E-78	
Valor crítico de t (una cola)	1,650758134	
P(T<=t) dos colas	2,04732E-78	
Valor crítico de t (dos colas)	1,969165556	