



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN BOTÁNICA

**CRECIMIENTO, INTERCAMBIO GASEOSO,
ACUMULACIÓN DE AZÚCARES Y PROLINA
EN *Reseda luteola* L. EN ESTRÉS HÍDRICO**

AZUCENA VALENCIA REYES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

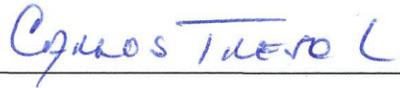
La presente tesis titulada: **CRECIMIENTO, INTERCAMBIO GASEOSO, ACUMULACIÓN DE AZÚCARES Y PROLINA EN *Reseda luteola* L. EN ESTRÉS HÍDRICO** realizada por la alumna: **Azucena Valencia Reyes**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Carlos Trejo López

ASESOR



Dr. Ebandro Uscanga Mortera

ASESOR



Dr. Daniel Padilla Chacón

ASESORA



Dra. Cecilia B. Peña Valdivia

ASESOR



M. C. Eloy Canales Sosa

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril de 2017

CRECIMIENTO, INTERCAMBIO GASEOSO, ACUMULACIÓN DE AZÚCARES Y PROLINA EN *Reseda luteola* L. EN ESTRÉS HÍDRICO

Azucena Valencia Reyes, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

En México, *Reseda luteola* L. es considerada una maleza; sin embargo, en otras partes del mundo es considerada medicinal y fuente de colorantes. Es una planta invernal en las partes altas de México cuando la precipitación es escasa. Por lo tanto, surge la pregunta de investigación ¿cuáles son las diferencias entre las plantas que crecen en déficit hídrico y las que crecen sin déficit hídrico?. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del déficit hídrico en el crecimiento, intercambio gaseoso, acumulación de azúcares y prolina de *Reseda luteola* L. La investigación se realizó en una cámara con ambiente controlado. Semillas de *R. luteola* se pusieron a germinar en cajas Petri y posteriormente las plántulas fueron trasplantadas a macetas y separadas en dos grupos. A los 30 días después del trasplante a un grupo se le suspendió el riego (déficit hídrico, dh) y al otro continuó el riego (testigo). Se realizaron muestreos cada 15 días. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar. A los 90 días después de la suspensión del riego: el Ψ_{Hsuelo} en la porción superior de la maceta (0-50 cm) fue 38 veces menor en el dh en comparación con el testigo, y en el estrato inferior (50-100 cm) fue nueve. El dh en el suelo disminuyó la conductancia estomática, transpiración, asimilación de CO₂, el área foliar, la biomasa fresca y seca del vástago, la longitud el sistema radical; sin embargo, aumento la longitud de la raíz principal. El dh aumentó la concentración de prolina y sacarosa, pero no el de glucosa y fructosa en la raíz.

Palabras clave: Estrés hídrico, *Reseda luteola* L., Prolina, Carbohidratos.

GROWTH, GASEOUS EXCHANGE, SUGAR AND PROLINE ACCUMULATION IN
Reseda luteola L. IN WATER STRESS

Azucena Valencia Reyes, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

In Mexico, *Reseda luteola* L. is considered a weed; however, in other parts of the world it is medicinal and dye source. It is a winter plant in the upper parts of Mexico when precipitation is scarce. Therefore, the research question was: what are the differences between plants that grow in water deficit and those that grow without water deficit?. The objective of this work was to determine the effect of water deficit on the growth, gas exchange, sugar accumulation and proline of *Reseda luteola* L. The research was carried out in a controlled environment chamber. Seeds of *R. luteola* were germinated in Petri dishes and later the seedlings were transplanted to pots and separated into two groups. At 30 days after transplanting the water in one group was withheld (water deficit, dh) and in the other the irrigation continued maintaining the soil close to field capacity (control). The treatments were distributed in a completely randomized design. At 90 days after water withheld: Ψ_{Hsuelo} in the upper portion of the pot (0-50 cm) was 38 times lower and in the lower stratum (50-100 cm) was nine times lower in the dh compared to the control. The dh in the soil decreased stomatal conductance, transpiration, CO₂ assimilation, leaf area, fresh and dry stem biomass, root length system; However, increase the length of the main root. The dh increased the concentration of proline and sucrose, but not that of glucose and fructose at the root.

Key words: Water stress, *Reseda luteola* L., Proline, Carbohydrates.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Balbina Reyes Lozano
Félix Valencia Espinosa

A MIS HERMANOS

Dalia, Félix y Alheli

A MI ESPOSO E HIJO

Jonathan Ramírez Galicia
Jonathan Ramírez Valencia

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional y Ciencia y Tecnología (CONACYT) y Colegio de Postgraduados, que juntos hicieron posible mis estudios de maestría y la realización de la presente investigación.

Al programa de Botánica, personal académico y administrativo por el apoyo y facilidades otorgadas durante mi estancia en el colegio.

Al Dr. Carlos Trejo López por su dirección, apoyo y confianza, así como sus valiosas enseñanzas y consejos para el buen desarrollo de la investigación.

Al Dr. Ebandro Uscanga Mortera por su confianza, apoyo y persistente guía en la ejecución de la presente investigación, por brindarme sus conocimientos y ser parte esencial de mi formación académica y personal.

Al Dr. Daniel Padilla Chacón por las apreciadas aportaciones a la presente investigación, sus comentarios y disposición brindada.

A la Dra. Cecilia Peña Valdivia por sus importantes aportaciones y acertadas sugerencias que contribuyeron a mejorar el presente trabajo de investigación.

Al M.C. Eloy Canales Sosa por ser parte fundamental de mi desarrollo académico y por las facilidades otorgadas para la realización de la presente investigación.

A los compañeros y amigos que compartieron agradables momentos y experiencias conmigo y a todas las personas que de una u otra forma fueron parte de esta etapa de mi vida.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	ix
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. <i>Reseda luteola</i> L.....	4
2.1.1. Origen y distribución	4
2.1.2. Sinonimia	4
2.1.3. Clasificación taxonómica	5
2.1.4. Morfología	6
2.1.5. Condiciones ambientales	6
2.1.6. Composición química	7
2.1.7. Importancia de <i>Reseda luteola</i> L.	8
2.2. Tipos de estrés	10
2.2.1. Déficit hídrico	11
2.2.2. Respuestas al déficit hídrico.....	13
2.3 Acumulación de prolina	15
2.4. Carbohidratos	17
2.4.1. Acumulación de carbohidratos en respuesta al estrés hídrico ...	17
III. OBJETIVOS	19
IV. HIPÓTESIS	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1. Ubicación del experimento	20
5.2. Material vegetal.....	20
5.3. Establecimiento del experimento.....	21
5.3.1. Suelo utilizado	21
5.3.2. Preparación de los tubos	21
5.3.3. Germinación	22
5.3.4. Trasplante	22

5.4. Tratamientos y diseño experimental.....	22
5.5. Mediciones y variables.....	23
5.5.1. Intercambio de gases	23
5.5.2. Área foliar, biomasa fresca y seca del vástago y biomasa seca de la raíz.....	24
5.5.3. Potencial de agua en vástago y suelo.....	24
5.5.4. Longitud de la raíz primaria y longitud del sistema radical	25
5.5.5. Cuantificación de prolina en vástago y raíz.....	25
5.5.6. Cuantificación de carbohidratos solubles: glucosa, fructosa y sacarosa en vástago y raíz.....	26
5.6. Análisis de datos	27
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
6.1. Potencial de agua en suelo	29
6.3. Intercambio de gases.....	32
6.4. Área foliar.....	36
6.5. Distribución de materia fresca y seca en vástago y raíz	38
6.6. Longitud de la raíz primaria y el sistema radical.....	42
6.7. Contenido de prolina en hojas y raíz	46
6.8. Contenido de azúcares solubles: glucosa, fructosa y sacarosa en vástago y raíz.....	52
VII. CONCLUSIONES.....	58
VIII. LITERATURA CITADA.....	59

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Mecanismos de respuesta al estrés hídrico.....	14
Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado.....	21

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Procesos y mecanismos de reacción frente a un tipo de estrés (Larcher, 1995).....	14
Figura 2. Potencial de agua en el suelo (Ψ_{Hsuelo}) \pm el error estándar, determinado en la parte media de dos estratos: superior (0-50 cm) e inferior (50-100 cm) en dos condiciones hídricas (riego y déficit hídrico, dh). La flecha (\uparrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).....	30
Figura 3. Potencial de agua en el vástago ($\Psi_{Hvástago}$) de <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).....	32
Figura 4. Conductancia estomática ($\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A), asimilación de CO_2 ($\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B), tasa transpiratoria ($\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (C) en hojas de <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).....	35
Figura 5. Área foliar por planta de <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).	37
Figura 6. Peso fresco de vástago (A), peso seco de vástago (B), peso seco por estratos de la raíz (C) y peso seco total de la raíz (D) por planta de <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n=5).....	40
Figura 7. Longitud de la raíz principal (A) y longitud del sistema radical (B) por planta de <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n=5).	44
Figura 8. Contenido de prolina ($\mu\text{moles g}^{-1}$ PS) en vástago (A), porción superior de la raíz (0-50 cm) (B) y porción inferior de la raíz (50-100 cm) (C) en <i>Reseda luteola</i> L. \pm el error estándar con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego, n=5.....	48

Figura 9. Acumulación de glucosa, fructosa y sacarosa ($\mu\text{moles g}^{-1}$ PS) en vástago (A), porción superior de la raíz (0-50 cm) (B) y porción inferior de la raíz (50-100 cm) (C) en *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit de humedad (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego, n=5..... 54

I. INTRODUCCIÓN

Durante la evolución, las plantas han desarrollado mecanismos de respuesta frente a estímulos ambientales, bióticos y abióticos de estrés (Nilsen y Orcutt, 1996). Los factores de estrés bióticos son diversos y complejos y se dan principalmente por la interacción entre las diferentes especies de organismos, que pueden alterar el funcionamiento o la homeostasis. La respuesta principal de las plantas al estrés abiótico es el incremento en la síntesis de compuestos secundarios (como terpenos, fenoles, alcaloides, betainas) que les permite resistir en mayor grado el efecto del agente causal de estrés (Silva, 2007). Los factores abióticos que generan estrés son todas aquellas variables del ambiente, como temperatura, irradiación, viento, agua, contaminantes y otros. La falta de agua es el factor de estrés más estudiado y con impacto negativo mayor en la vida y distribución de las plantas; en los sistemas agrícolas es el que tiene un impacto fundamental en la reducción del rendimiento de los cultivos (Boyer, 1996; Kirkham, 2005).

Las plantas han respondido al estrés hídrico desarrollando en su historia evolutiva adaptaciones morfológicas, anatómicas y celulares, que les permiten vivir constantemente en condiciones que propicia este estrés (Nilsen y Orcutt, 1996). Algunas de las respuestas son la modificación de la morfología de los estomas, la constitución de los tallos, el tipo de metabolismo (Roitsch, 1999), así como el incremento notorio de sustancias como la prolina, azúcares y otros compuestos (Nolte *et al.*, 1997; Verbruggen y Hermans, 2008). Este incremento se relaciona con el

mecanismo de ajuste osmótico, al cual, Turner y Jones (1992) definen como la habilidad de las plantas para acumular solutos activamente (cationes inorgánicos, ácidos orgánicos, aminoácidos y azúcares) en su citoplasma ante un déficit hídrico. Dicho proceso permite mantener un potencial de turgencia alto, a pesar del descenso en el potencial hídrico, lo que puede traer como consecuencia benéfica que la apertura del estoma, la expansión foliar, la transpiración y la fotosíntesis se mantengan funcionando por más tiempo (Lakso, 1979; Wang *et al.*, 1995).

Reseda luteola L. es una especie característica del paisaje invernal en las partes altas de México. Se ha registrado en 16 de los 33 estados de la República Mexicana (Villaseñor Ríos y Espinosa García, 1998). Florece en verano, pero en invierno cubre parcelas en descanso como si estuviera cultivada. Los nombres comunes usados en español son: gualda, acocote, mosquito, cola de zorro, gasparilla y reseda (Rzedowski, 1995). En México esta especie es considerada una maleza, sin embargo en otras partes del mundo es una fuente de colorantes y terapéuticos (Casetti *et al.*, 2009). El extracto de *Reseda luteola* L. contiene 40 % de flavonoides, que se han investigado como protectores solares, debido a sus propiedades anti-inflamatorias (Casetti *et al.*, 2009).

Llama la atención el éxito que tiene esta especie en su desarrollo, en particular en la época del año en la que la temperatura baja y la falta de agua son los principales factores de estrés. No tenemos información sobre algún estudio que se haya llevado a cabo en *R. luteola* L. tendiente a entender los mecanismos fisiológicos que le permiten

a la especie dominar el paisaje invernal y desarrollarse en condiciones ambientales y edáficas de estrés.

Lo anterior fue la motivación principal de esta investigación planteándonos la siguiente pregunta: ¿cuáles son los mecanismos fisiológicos en esta especie que le permiten crecer en condiciones limitantes de humedad? La hipótesis planteada es que las plantas de *R. luteola* L. modifican simultáneamente su morfología y homeostasis ante un déficit de humedad severo, de esta manera son notablemente exitosas en su supervivencia en esas condiciones.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. *Reseda luteola* L.

2.1.1. Origen y distribución

El género *Reseda* está distribuido ampliamente en el mundo, en el sur, oeste y centro de Europa, se extiende hasta Finlandia, Noruega, Suecia (Davis, 1965), Inglaterra (Abdallah y Wit, 1967), la cuenca del Mediterráneo, Asia Menor, suroeste de Asia (Tutin *et al.*, 1980), Irán (Davis, 1965), la ex Unión Soviética, Afganistán, Chile y los Estados Unidos (Harris *et al.*, 1995).

Reseda (*Reseda luteola* L., Familia Resedaceae) es una planta herbácea bienal o policárpica perenne, nativa de Euro-Asia y naturalizada en la región del Mediterráneo (Tutin *et al.*, 1980).

Reseda se presenta en las orillas de las carreteras y en los campos en barbecho, bordes de campo, zanjas, ruinas, edificios antiguos, paredes, laderas rocosas, laderas pedregosas abiertas, campos de cultivo y terreno perturbado en Europa occidental (Davis, 1965).

2.1.2. Sinonimia

Penas (1991) y The Plant List (2015) señala que en el mundo se puede encontrar a *Reseda luteola* con los siguientes nombres:

Arkopoda luteola (L.) Raf.

Luteola resedoides Fuss

Luteola tinctoria Webb & Berthel.

Reseda crispata Link

Reseda dimerocarpa (Müll.Arg.) Rouy & Foucaud

Reseda gussonei Boiss. & Reut.

Reseda pseudovirens Friv. ex Hampe

2.1.3. Clasificación taxonómica

De acuerdo a Penas (1991) la clasificación taxonómica de esta especie es la siguiente:

Superreino: Eukaryota

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Brassicales

Familia: Resedaceae

Género: *Reseda*

Especie: *R. luteola* L.

2.1.4. Morfología

Espinosa y Sarukhán (1997) describieron a *Reseda luteola* L. como una hierba anual, erecta, que mide de 30 a 150 cm de alto. Su tallo es cilíndrico, estriado, amarillento-verdoso, glabro, ramificado o sin ramificarse. Sus hojas están dispuestas en una roseta basal cuando es joven, son subsésiles, oblanceoladas o espatuladas, y por lo general desaparece cuando florece y fructifica, su longitud es 1.5 a 2 mm. Las hojas caulinares superiores son sésiles, oblongas, lineares o lanceoladas; de 2 a 12 cm de longitud y 0.4 a 1.5 cm de anchura; ápice romo o agudo, borde entero o sinuoso, base redondeada, nervadura broquidódroma. Su inflorescencia son racimos espiciformes de 10 a 45 cm de largo; las flores tienen pedúnculos de 1.5 a 2 mm de largo, con simetría radial, cuatro sépalos de 1.5 a 2 mm de largo, cuatro ó cinco pétalos laciniados amarillos o blanquecinos de 2 a 5 mm de largo con 20 a 30 estambres amarillos, ovario súpero unilocular, tricarpelar, estigma sésil (Valdés, 1993). Su fruto es una capsula subglobosa con protuberancias anchas y muy juntas entre sí, dehiscente por tres valvas. Las semillas son ovoideas de 0.7 a 1 mm de largo, de color pardo oscuro a negro, lisas, brillantes, sin carúncula y testa ligeramente reticulada. Su raíz es napiforme (Garmendia y González, 2010).

2.1.5. Condiciones ambientales

Para entender las características biológicas de una especie, es importante tener conocimientos sobre su hábitat (Doğan y Mert, 1998). *Reseda luteola* L. se desarrolla favorablemente en zonas templadas donde los inviernos alcanzan temperaturas cercanas a la congelación, la precipitación anual varía de 100 a 400 mm (Doğan, 2001) y la altitud va desde los 300 hasta los 2500 m (Davis, 1965).

Reseda luteola L. se considera vegetación herbácea nitrófila, de bordes de caminos. Crece con luz solar total o parcial, en ambientes húmedos a ligeramente secos, y suelos que contienen cantidades adecuadas de limo fértil, arcilla, o sitios arenosos o pedregosos. Además tolera suelos calcáreos con pH alto.

2.1.6. Composición química

El género *Reseda* representa una fuente de pigmentos amarillos para la tinción de textiles naturales, los constituyentes responsables de dicho color son flavonas (Cardon, 2007; Ferreira *et al.*, 2004), especialmente luteolina-7,3'-di-O-glucósido, luteolina-7-O-Glucoside (monoglucósido luteolina), luteolina aglicona (Cristea *et al.*, 2003; Marqués *et al.*, 2009) y luteolina (5, 7, 3', 4' tetrahidroxiflavona). Estas luteolinas son las más abundantes (Batirov *et al.*, 1979), pero puede contener otras siete, como la apigenina, agliconas y crisoeriol (Marqués *et al.*, 2009; Peggie *et al.*, 2008). Estos flavonoides se producen en los tejidos del vástago de la planta (Ferreira *et al.*, 2004).

Gibbs (1974) identificó rafinosa (un oligosacárido), glucósidos cianogénicos, glycobarbari de los glucósidos de aceite de mostaza, gluconasturtina, m-carboxifenil-ananina y leucoantocianinas en las semillas y las células mirosina de la mostaza, las cuales además se encuentran en diversas familias como las Brassicáceas.

Ferlay *et al.* (1993) reportó los lípidos existentes en las semillas y afirmó que el ácido linolénico representa 60 % de su contenido de ácidos grasos.

2.1.7. Importancia de *Reseda luteola* L.

Reseda proviene del latín *Resedo* que significa sosegar, calmar. En los alrededores de Italia es una planta conocida por aliviar las inflamaciones e infartos (Castroviejo *et al.*, 1986). El cultivo de *Reseda* para la producción de colorante representó la característica principal de la agricultura renacentista y el comercio en Italia y Francia durante los siglos XV y XVI (Epstain *et al.*, 1967) debido a que se utilizaba como una fuente de colorante natural para teñir alfombras decorativas, o de oración en los hogares occidentales (Doğan y Mert, 1998; Doğan *et al.*, 2002). Actualmente existe interés renovado por los pigmentos naturales, debido a que los consumidores han creado conciencia en los efectos nocivos que ocasiona la industria textil. Con el fin de reducir la contaminación se ha propuesto la sustitución parcial de colorantes sintéticos por naturales en la producción de textiles ya que puede representar una estrategia para reducir riesgos y contaminantes (Anliker *et al.*, 1988).

Las especies de la familia Resedaceae posee características benéficas para el ambiente. En un estudio realizado en Polonia se demostró que treinta especies de esa familia se han utilizado para mejorar la apicultura, entre ellas *R. lutea* L., *R. luteola* L., *Centaurea scabiosa* L., *C. rhenana* Bor. y *Cirsium oleraceum* (L.) Scop. Los investigadores recomiendan el uso de estas especies en suelos infértiles con el fin de aumentar la secreción de néctar (Doğan *et al.*, 2002; Jablonski y Koltowski, 2004). En Australia e Irán, los ganaderos han utilizado *R. lutea* L. para el pastoreo, como fuente de alimento seco en invierno y como fuente de alimentos frescos en primavera y verano (Doğan *et al.*, 2002; Moghaddam, 1997).

A pesar de las características benéficas del género *Reseda*, en algunos países se ha calificado como maleza (Doğan *et al.*, 2002). Para los cultivos de zanahoria (*Daucus carota* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) se califica como nociva en Inglaterra, Escocia (Forbes y Mathews, 1985), en los campos de Estados Unidos, Irán, Australia y Polonia (Bailey y Wicks, 1995). Esta especie se propaga fácilmente por semillas y por fragmentos de la raíz. El equipo agrícola para el barbecho de los campos de cultivo rompe sus raíces y así la planta se multiplica. La competencia con esta especie puede causar una pérdida de hasta 35 % del rendimiento de los cultivo (Abdallah y Wit, 1967). El control de esta planta es especialmente difícil debido al hecho de que sus raíces penetran profundamente en el suelo. Las combinaciones químicas que se utilizan contra *R. luteola* L. son numerosas, pero se ha encontrado que Metsulfuron produce resultados exitosos (Harris *et al.*, 1995).

Reseda luteola es una amenaza potencial para los cultivos de cucurbitáceas en Australia e Irán, ya que es un huésped potencial para el virus del mosaico de la sandía (Amiri y Ebrahim-Nesbat, 1997), aunque también se utiliza para prevenir la erosión debida al crecimiento rápido de sus raíces, las cuales alcanzan profundidades de 80 a 100 cm o hasta 400 cm en suelos muy sueltos, por esto se ha reportado como una especie usada contra la erosión (Doğan *et al.*, 2002).

Por otro lado se ha informado que las raíces de *R. lutea* tienen propiedades diuréticas y se ha utilizado como cicatrizante, sedante y sudorífico (Doğan, 2001).

2.2. Tipos de estrés

El estrés se puede definir como una alteración de las condiciones que son óptimas para la vida, estas alteraciones ocasionan cambios en todos los niveles funcionales de los organismos. Cada especie tiene un intervalo óptimo de desarrollo y por lo tanto se pueden identificar diferentes susceptibilidades a un estrés determinado (Hsiao, 1973; Larcher, 1995; Levitt, 1980). El estrés se expresa como el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen el estado particular del organismo diferente al observado bajo un intervalo de condiciones óptimas (Levitt, 1980).

Para identificar el nivel de estrés en el que se encuentren las plantas, es importante definir el nivel de aproximación en el cual se quiere trabajar; es decir, morfológico, anatómico, celular, bioquímico, fisiológico, u otro. Esto define las técnicas y variables

que se deben usar y determinar en la estimación y en su momento la explicación mecánica del efecto del estrés. Múltiples factores ambientales inducen estados de estrés en las plantas, estos se han clasificado en dos grupos: factores bióticos (interacciones negativas y perniciosas con otros organismos) y abióticos (factores físicos del ambiente, como falta o exceso de agua, temperaturas altas o bajas, radiación ultravioleta, déficit o toxicidad de nutrimentos y varios más) (Basurto *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2007).

El estrés por falta de agua es el factor abiótico que más impacta en la productividad de los ecosistemas, en particular, en los sistemas agrícolas es el que tiene relevancia y efecto negativo mayores en el rendimiento de los cultivos y por lo tanto, en la producción de alimentos (Boyer, 1996; Levitt, 1980).

2.2.1. Déficit hídrico

El déficit hídrico ocurre cuando la pérdida de agua por transpiración excede el agua absorbida por las raíces y puede ser una situación temporal o permanente dependiendo de la condición de humedad y suministro de agua en el suelo (Luna-Flores *et al.*, 2012). Desde principios de la década de 1960 se acordó utilizar el concepto de energía libre del agua (potencial de agua, Ψ_A) como una medida del estado hídrico del sistema suelo-planta-atmósfera, lo cual ha ayudado a determinar el umbral de afectación de los procesos fisiológicos y metabólicos diversos que ocurren en las plantas cuando existe una situación de déficit hídrico, además de conocer los

gradientes que determinan el flujo de agua en este sistema (Hsiao, 1973; Kramer y Boyer, 1995).

La intensidad y duración del estrés hídrico influye en los efectos y la capacidad de las plantas para resistirlo (Engelbrecht, 2001; Garau *et al.*, 2009; Taiz y Zeiger, 2006), entre los principales efectos del estrés hídrico en el crecimiento está la reducción en la altura, tallo, raíces, área foliar, peso foliar específico y biomasa de la planta (Engelbrecht, 2001; Farooqi *et al.*, 1994; Khurana y Singh, 2004). Asimismo, la eficiencia de uso de agua en la productividad (EUA) también se altera debido a los cambios en la biomasa total y en la evapotranspiración (Singh y Singh, 2006; Turner, 1986).

La disponibilidad del agua para que las plantas lleven a cabo adecuadamente sus funciones biológicas se ve afectada por las condiciones del ambiente, el agua actúa dentro de las células como disolvente, medio de transporte, donante de electrones en las reacciones bioquímicas, regulador de temperatura durante la evaporación y muchas otras funciones.

Las plantas durante su desarrollo experimentan algún grado de estrés por déficit hídrico. En los sistemas naturales, un déficit de agua puede ser el resultado de poca precipitación, capacidad limitada de retención de agua del suelo, salinidad excesiva, temperaturas extremas, altas o bajas, déficit de presión de vapor grande o combinación de estos factores (Bohnert *et al.*, 1995).

2.2.2. Respuestas al déficit hídrico

La resistencia al estrés se define como la capacidad de un organismo para resistir, evitar y escapar a los estímulos ambientales negativos o poder permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su fenotipo se vea modificado significativamente. El estudio de las respuestas de las plantas al estrés es un aspecto fundamental de la fisiología ambiental, con él se conoce cómo las plantas funcionan en sus ambientes naturales y cuáles son los patrones que determinan su distribución, supervivencia y crecimiento (Ackerly *et al.*, 2002; Kramer y Boyer, 1995; Lambers *et al.*, 1998).

En sistemas biológicos se ha adoptado el concepto físico de tensión-deformación (*stress strain*) para analizar los procesos que ocurren cuando una planta está sometida a una situación de estrés. El estrés biótico lo genera cualquier factor ambiental capaz de producir una deformación (*strain*) potencialmente nociva en un organismo (Levitt, 1980). La deformación o *strain* sería la extensión o compresión-respuesta al estrés-resultante de una tensión o *estrés* determinado al que está sometida la planta. La falta de agua o déficit hídrico sería la tensión o estrés que actuaría sobre las plantas, y toda tensión produce dos tipos de respuesta en los organismos: respuestas que tienden a evitar o prevenir la tensión (mecanismos de evasión), adaptarse a esa tensión, lo que le permite soportar o resistirla (mecanismos de tolerancia) (Levitt, 1980) (Figura 1).

En las plantas, las respuestas o mecanismos para afrontar esta situación, se han denominado estrategias, y son características de cada especie (Larcher, 1995).

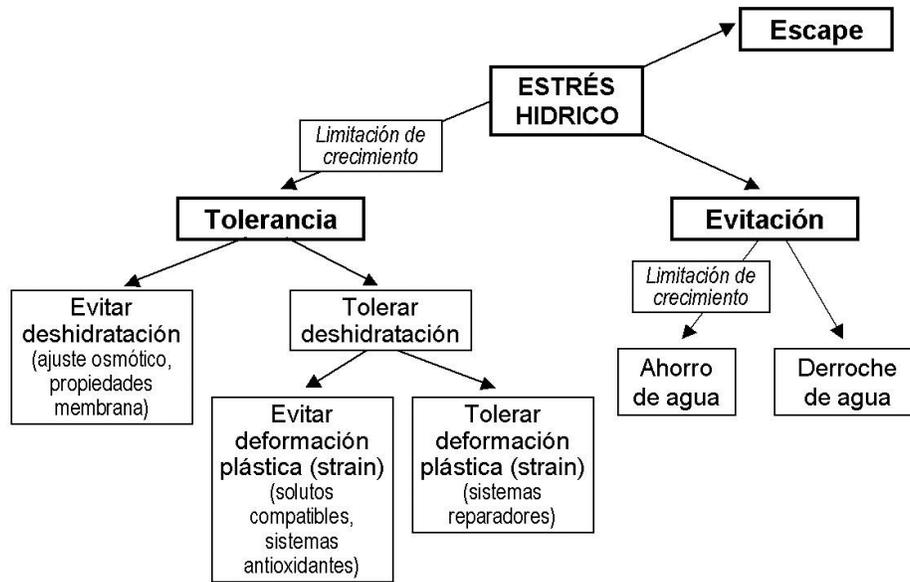


Figura 1. Procesos y mecanismos de reacción frente a un tipo de estrés (Larcher, 1995).

Diversos autores han realizado clasificaciones más o menos extensas en las cuales se definen las principales estrategias de las especies que pueden denominarse en general mecanismos de resistencia al déficit hídrico. El Cuadro 1 sintetiza los principales mecanismos de tolerancia (TOL) o evasión (EVA) del déficit hídrico (Boyer, 1996; Jones, 1992; Kozlowski *et al.*, 1991; Larcher, 1995; Levitt, 1980; Ludlow, 1987; Nilsen y Orcutt, 1996; Prasad, 1996; Turner, 1986).

Cuadro 1. Mecanismos de respuesta al estrés hídrico

Rasgo	Estrategia
Hojas	
– Mantenimiento del Ψ_A alto	EVA
– Mantenimiento del Ψ_A bajo	TOL
– Cierre de estomas con CRA alto	EVA
– Cierre de estomas con CRA bajo	TOL
– Cierre de estomas al mediodía	EVA
– Absorción baja de la radiación	EVA

<ul style="list-style-type: none"> – Capacidad foliar alta – Conductancia cuticular baja – Alto peso específico foliar – Poca cantidad de hojas – Abscisión foliar durante el estrés 	EVA EVA EVA EVA EVA
Raíces <ul style="list-style-type: none"> – Raíces profundas – Densidad alta de raíces – Superficie de absorción alta en relación con superficie de transpiración baja – Raíces suberizadas – Relación alta biomasa radical/biomasa aérea – Sistema radical dual – Peso específico radical alto – Conductividad hidráulica alta 	EVA EVA EVA EVA EVA EVA EVA EVA
Anatomía/Metabolismo <ul style="list-style-type: none"> – Tejidos sensibles a deshidratación (CRA letal > 50 %) – Tejidos resistentes a deshidratación (CRA letal < 25 %) – Resistente a la cavitación del xilema – Tamaño celular pequeño – Ajuste osmótico – Elasticidad alta de la pared celular – Capacidad de rebrote – Resistencia a la disfuncionalidad de membrana celular – Acumulación de sustancias osmoprotectoras (prolina, betaína, etc.) – Sistemas antioxidantes – Estabilidad de pigmentos fotosintéticos – Alta fotoinhibición 	EVA TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL TOL

CRA: contenido relativo de agua; Ψ_A : potencial de agua.

2.3 Acumulación de prolina

El potencial de turgencia de la planta durante un déficit hídrico se puede mantener mediante el ajuste osmótico. Una reducción del Ψ_A de la célula, resultado de la disminución del potencial osmótico, genera movimiento de agua hacia el interior de la célula (Díaz *et al.*, 1999). El potencial osmótico de la célula puede hacerse menor por

acumulación en el citoplasma de osmolitos compatibles, entre los que encontramos polioles, sacarosa, glicina betaína y prolina (Bray, 1993; Claussen, 2005).

La acumulación de prolina también depende de su degradación, catalizada por la enzima mitocondrial piruvato deshidrogenasa (PDH), que transforma la L-prolina en Q1-pirrolin-2 carboxilato (P5C) mediante consumo de O₂ y producción de H₂ (Hare *et al.*, 1999). La capacidad de acumular y utilizar metabolitos, como la prolina, está correlacionada en ciertas especies con genotipos tolerantes a la sequía (Hanson *et al.*, 1979). Las funciones de la prolina en condiciones de estrés son diversas, actúa como osmolito compatible (Hare y Cress, 1997), como fuente de carbono y nitrógeno (Paleg *et al.*, 1984), en el mantenimiento del potencial redox celular (Hare *et al.*, 1998) y como captador de especies reactivas del oxígeno (Smirnoff y Cumbes, 1989).

En general, ante ciertos tipos de estrés (deshidratación y salino), donde la prolina podría actuar como un compuesto osmorregulador, se produce inhibición drástica de la actividad de la enzima PDH (Claussen, 2005). El aminoácido, protege la estructura de las proteínas de la desnaturalización, estabiliza las membranas celulares mediante interacción con fosfolípidos, actúa como detoxificador de radicales hidroxilo, y además, es una fuente de energía y de nitrógeno en la planta (Hare *et al.*, 1999; Claussen, 2005).

2.4. Carbohidratos

La fotosíntesis es el proceso biológico fundamental para la vida, mediante él se transforma la energía solar en energía química (Medrano y Flexas, 2000), permite la asimilación del carbono (CO_2) y su transformación en compuestos orgánicos (carbohidratos) que se utilizan, a su vez, en la síntesis de otros compuestos, como ácidos orgánicos, aminoácidos y lípidos (Geigenberger *et al.*, 2005), que son los componentes básicos para la acumulación de biomasa.

2.4.1. Acumulación de carbohidratos en respuesta al estrés hídrico

La tasa de fotosíntesis generalmente disminuye en condiciones de estrés hídrico, pero la concentración de carbohidratos en los diferentes órganos de la planta aumenta, lo que permite sugerir el desacoplamiento entre el suministro (fotosíntesis) y la demanda de carbono (crecimiento) que conduce a cambios del estado de carbono de la planta (Hummel *et al.*, 2010; Müller *et al.*, 2011). Un aumento del contenido de carbohidratos en plantas sometidas a sequía se ha mostrado en varias especies, en distintos tejidos y con moléculas orgánicas diferentes (solubles y estructurales) (Müller *et al.*, 2011). Las plantas acumulan carbohidratos solubles en las hojas (Cramer *et al.*, 2007), el tallo (Del Pozo *et al.*, 2012), las flores, los frutos y las raíces (Mercier *et al.*, 2009; Velázquez-Márquez *et al.*, 2015).

Los carbohidratos a menudo se acumulan como hexosas (glucosa y fructosa) y sacarosa, y en cereales también como fructanos (Méndez *et al.*, 2011). Además, en respuesta al déficit hídrico el aumento del contenido de otros carbohidratos, como trehalosa (Farías-Rodríguez *et al.*, 1998; Velázquez-Márquez *et al.*, 2015) y manitol (Guicherd *et al.*, 1997) se ha observado junto a otros solutos compatibles, como aminoácidos (Hare y Cress, 1997), ácidos orgánicos (malato y fumarato) y compuestos de amonio cuaternario, como la glicina betaína (Ashraf y Foolad, 2007).

La síntesis de solutos compatibles en respuesta al déficit hídrico evita la pérdida de agua celular y desempeña un papel importante en el mantenimiento de la turgencia celular (Blum, 2005), en el sostenimiento de la fotosíntesis y el crecimiento (Cattivelli *et al.*, 2008), en la protección de la integridad de las membranas (Hincha *et al.*, 2002) y en la prevención de la desnaturalización de las proteínas (Xue *et al.*, 2008).

III. OBJETIVOS

- Determinar el efecto del déficit hídrico en el crecimiento de la raíz y el vástago en *Reseda luteola* L. durante la etapa vegetativa.
- Determinar el efecto del déficit hídrico en las relaciones hídricas, el contenido de prolina, compuestos fenólicos y azúcares solubles en hojas y raíz de *Reseda luteola* L. en la etapa vegetativa.

IV. HIPÓTESIS

- El déficit hídrico incrementa el crecimiento de la raíz y disminuye el del vástago en *Reseda luteola* L.
- El déficit hídrico incrementa las relaciones hídricas, el contenido de prolina, compuestos fenólicos y azúcares solubles en hojas y raíz de *Reseda luteola* L.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación del experimento

La investigación se realizó en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2240 m de altitud, 19°29' N y 98° 53' O. El experimento se estableció dentro de una cámara de ambiente controlado, con una temperatura promedio de 25 °C, fotoperiodo/escotoperiodo de 12/12 h e intensidad luminosa de 99 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

5.2. Material vegetal

Las semillas de *R. luteola* L. se recolectaron en Montecillo, Texcoco, Estado de México. Las inflorescencias se cosecharon con tijeras de jardinero, se depositaron en bolsas de manta para evitar la pérdida de semillas y se dejaron secar en un lugar sombreado y con ventilación. Posteriormente las bolsas de manta con las inflorescencias dentro se golpearon ligeramente para desprender los frutos y separarlos del resto del material vegetal.

5.3. Establecimiento del experimento

5.3.1. Suelo utilizado

El suelo para el estudio se obtuvo de una parcela de cultivo en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, y se tamizó a un máximo de 2 mm de partícula. Las características físicas y químicas de este suelo se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado.

Característica	Valor	Característica	Valor
pH (suelo:agua, 1:2)	7.6	Materia orgánica (%)	2.7
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	1.7	Nitrógeno total (%)	0.08
Capacidad de campo (%)	18	Fósforo (ppm)	10
Punto de marchitez permanente (%)	11	Potasio (ppm)	2900

5.3.2. Preparación de los tubos

Para el estudio se utilizaron tubos de PVC (policloruro de vinilo) de 100 cm de altura y 7.6 cm de diámetro con base circular, de fibra de vidrio, con orificios para drenar el agua. Los tubos se cortaron longitudinalmente a la mitad y después se unieron nuevamente con cinta para ductos (TUK 93-T de 48 mm x 10 m). Esto facilitó la extracción del suelo y la raíz al momento del registro de las variables. Una vez

ensamblados, los tubos se llenaron con el suelo, se regaron a capacidad de campo y se colocaron dentro de la cámara de ambiente controlado.

5.3.3. Germinación

Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial al 5 % en agua (v:v) por un minuto y después se lavaron bajo el flujo de agua destilada. Luego se sometieron a un tratamiento pregerminativo de estratificación fría y húmeda, para este, las semillas se colocaron en un recipiente con agua destilada y se almacenaron en la oscuridad a 4 °C; el agua se cambió cada 30 minutos por 5 horas. Enseguida, se eliminó el exceso de agua de las semillas, se distribuyeron en cajas Petri, sobre dos capas de papel filtro y algodón, previamente humedecidos. Las cajas se colocaron en una cámara para germinación por 15 días, a 25 °C con fotoperiodo/escotoperiodo de 12/12 h y se mantuvieron húmedas por aplicación de agua destilada cada tercer día.

5.3.4. Trasplante

Después de 15 días de la germinación las plántulas se trasplantaron a los tubos de PVC. El suelo se mantuvo hidratado con riegos, con agua corriente, cada tercer día durante aproximadamente 30 días, hasta asegurar el establecimiento de las plantas.

5.4. Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos fueron dos condiciones hídricas: 1) riego (testigo) y 2) déficit hídrico, los cuales iniciaron a partir de la exposición de la quinta hoja verdadera, 30 días después del trasplante (ddt). En ese momento todos los tubos se regaron a capacidad de campo y se formaron dos grupos con 100 plantas cada uno. Un grupo (testigo) mantuvo la humedad en el suelo cerca de capacidad de campo (con riego cada tercer día). Al segundo grupo (déficit hídrico) se le suspendió el riego y se mantuvo en estas condiciones hasta el final del experimento. Las variables se cuantificaron en intervalos de 15 días, desde los 30 días después del trasplante hasta 120 días.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar. La unidad experimental estuvo representada por una planta. Cinco plantas se utilizaron para registrar las variables morfológicas, cinco para prolina y cinco para carbohidratos por muestreo y por tratamiento.

5.5. Mediciones y variables

5.5.1. Intercambio de gases

El intercambio de gases incluyó la tasa de asimilación de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática (gs) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la tasa de transpiración ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Éste se determinó en la hoja más joven completamente expandida, de cinco plantas al azar por tratamiento. Las variables del intercambio gaseoso se hicieron antes de

extraer las plantas de los tubos. Se utilizó un sistema abierto y portátil de análisis de gases en el espectro infrarrojo (CIRAS-3, PP SYSTEMS, U.S.A).

5.5.2. Área foliar, biomasa fresca y seca del vástago y biomasa seca de la raíz

Los muestreos se realizaron a los 45, 60, 75, 90, 105 y 120 ddt. Las plantas se cortaron desde el cuello de la raíz, se separaron las hojas y la raíz y se pesaron en una balanza electrónica con precisión de 0.1 mg (SCIENTECH, ZSA 120), se determinó el área foliar (cm² por planta) con un integrador de área foliar (LI-COR, Inc. Lincoln, Nebraska USA, Modelo LI-31000), se secaron hasta peso constante en una estufa a 70 °C y se pesaron en una balanza electrónica. A los tubos se les retiró la cinta plástica y se extrajo el cepellón; de este se tomaron muestras de suelo a las que se les determinó su potencial de agua. A las raíces se les determinó la biomasa seca como se describió para las hojas. El peso seco por planta se obtuvo al sumar el peso seco del vástago más el de la raíz.

5.5.3. Potencial de agua en vástago y suelo

El potencial de agua del vástago se determinó en un disco de hoja de la región intermedia del tallo, y el del suelo se determinó en la muestra obtenida al abrir los tubos. Ambas muestras se incubaron en cámaras psicrométricas C-52 (Wescor, Inc. Logan, UT. U.S.A) por un periodo aproximado de 3 h. Transcurrido este periodo, las cámaras con las muestras de hoja se conectaron a un microvoltímetro de punto de

roció (HR-33T, Wescor, Inc. Logan, UT, U.S.A) y el potencial hídrico se determinó por el método de punto de rocío; las cámaras con las muestras de suelo se conectaron a un sistema automatizado de adquisición de datos de ocho canales, PSYPRO (water potential system Wescor, Inc. Logan, UT, U.S.A).

El potencial de agua del suelo (Ψ_{Hsuelo}) se determinó en muestras del estrato en la parte media superior (0-50 cm) y la parte media del estrato inferior (50-100 cm) de los tubos. En este caso se utilizó el mismo método que en las hojas, con 2 mg de suelo.

5.5.4. Longitud de la raíz primaria y longitud del sistema radical

De otros cinco tubos por tratamiento se extrajo el cepellón y se retiró el exceso de suelo, las raíces se lavaron cuidadosamente, se colocaron en charolas de acrílico de 25 x 20 cm y se escanearon; con el programa WinRHIZO (REGENT) se cuantificó la longitud total del sistema radical. La longitud de la raíz principal se midió con una regla, en centímetros, desde el cuello hasta el ápice de la raíz.

5.5.5. Cuantificación de prolina en vástago y raíz

La prolina se cuantificó en los tejidos liofilizados siguiendo la metodología establecida por Bates (1973). Entre 2 y 10 mg de material vegetal (hoja o raíz) y se maceraron en un mortero con 5 mL de ácido sulfosalicílico al 3 %; el macerado se filtró a través de papel filtro Whatman® No. 1. Dos mL de la muestra filtrada se colocaron en tubos de ensayo y se les adicionaron 2 mL de ninhidrina ácida y 2 mL de ácido acético glacial.

Cada tubo se agitó en un vortex (Mistral Mixer Lab-Line Instruments, Inc.) hasta que se obtuvo una mezcla homogénea. Los tubos se incubaron en baño maría a 80 °C durante 1 hora. Una vez concluida la incubación, los tubos se sumergieron rápidamente en agua fría, posteriormente se les agregaron 4 mL de tolueno y se agitaron vigorosamente en el vortex. La fase superior y colorida se cuantificó en un espectrofotómetro (Evolution 300, Thermo Electron Corporation) a 520 nm, la concentración de prolina por gramo de materia seca se calculó a partir de una curva de calibración.

5.5.6. Cuantificación de carbohidratos solubles: glucosa, fructosa y sacarosa en vástago y raíz

La cuantificación de azúcares solubles se basó en una serie de reacciones enzimáticas en secuencia, de la ruta de la glucólisis, en la que cada azúcar se transforma en glucosa 6-fosfato, y la consecuente reducción de NAD a NADH (Scholes *et al.*, 2000). El NADH tiene la absorbancia máxima a una longitud de onda (λ) de 340 nm, que fue la longitud a la que se hicieron las lecturas (Cronin y Smith, 1979).

Para cuantificar los azúcares se obtuvo un extracto acuoso con 20 mg del tejido vegetal y 800 μ L de etanol al 80 % en agua (v:v). Esas muestras se colocaron en baño maría a 80 °C durante 45 min; se dejaron enfriar a temperatura ambiente y a las muestras de hoja se le adicionó una pizca de carbón activado para remover la clorofila. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 min.

Aparte se prepararon 50 mL de una solución “stock”, con 10 mL de HEPES 500 mM (pH 8.0), 12.5 mL de cloruro de potasio 200 mM, 750 μ L de cloruro de magnesio, 8.5 mg de ATP (Sigma), 2.83 mg de NAD⁺ (Sigma) y 27 mL de agua destilada.

De la mezcla de reacción se colocaron 200 μ L en cada pozo de una microplaca, se le añadieron 10 μ L del extracto etanólico de la muestra, 10 μ L de agua destilada y 2 μ L de hexoquinasa (0.075 U/ μ L de amortiguador de mezcla de reacción). La microplaca se colocó en el espectrofotómetro (JENWAY6305, UV/Vis) y se leyó a una longitud de onda de 340 nm. Los resultados del efecto de la hexoquinasa se consideran como blanco. Luego se incubó por 30 min, a 37 °C y, para determinar la glucosa, a cada pozo se le agregaron 10 μ L de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (0.03 U/ μ L de amortiguador de mezcla de reacción), se mantuvo a 37 °C por 30 min y se leyó a 340 nm en el espectrofotómetro. El contenido de fructosa se determinó después de agregar 10 μ L de glucosa-6-fosfato isomerasa (0.03 U/ μ L de amortiguador de mezcla de reacción) al extracto, mantener a 37 °C por 30 min y leer a la misma longitud de onda. Al final se determinó la sacarosa, después de adicionar una pizca de invertasa, mantener a 37 °C por 30 min y leer en el espectrofotómetro. Para cuantificar cada azúcar se utilizó una curva de calibración de glucosa 5 mM.

5.6. Análisis de datos

Los datos se analizaron con el programa SAS[®] versión 9.3 (Statistical Analysis System); se obtuvo ANDEVA y comparación múltiple de medias mediante la prueba de

Tukey, con un $\alpha=0.05$. Las gráficas se realizaron en el programa SigmaPlot 12.3. El modelo estadístico utilizado para las variables evaluadas fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} : Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ : Media general

τ_i : Efecto del i-ésimo tratamiento

ε_{ij} : Error experimental en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Potencial de agua en suelo

Las determinaciones se llevaron a cabo en la parte media del estrato superior (0-50 cm) y la parte media del estrato inferior (50-100 cm). El Ψ_{Hsuelo} en el testigo se mantuvo constante y similar en ambos estratos, con valores promedio que fluctuaron entre -0.03 y -0.08 MPa (Figura 2). En contraste, el Ψ_{Hsuelo} en los estratos con déficit hídrico disminuyó gradualmente, y a partir de los 15 días de la suspensión del riego las diferencias con respecto al testigo ya eran significativas. Además, las diferencias se incrementaron conforme transcurrió el tiempo. El Ψ_{Hsuelo} en déficit hídrico en ambos estratos tuvieron una tendencia similar hasta los 60 días después del inicio de la suspensión del riego, a partir de ese momento la disminución del Ψ_{Hsuelo} fue mayor en el estrato superior; este alcanzó un valor de -1.14 MPa a los 90 días, lo que representó disminución de 92 % respecto al testigo. La disminución mayor del Ψ_{Hsuelo} en el estrato superior, respecto a los inferiores, se debe principalmente a factores físicos del ambiente, como evaporación, viento y temperatura, además de la transpiración (Allen, 2006). En capas más profundas del suelo la disminución en el contenido de humedad se da principalmente por la extracción de agua por las raíces de las plantas, en algunas especies se ha documentado que a medida que la humedad disminuye en el suelo, la raíz tiene la capacidad de profundizar más, al parecer por detección de estratos con mayor humedad (Sponchiado *et al.*, 1989).

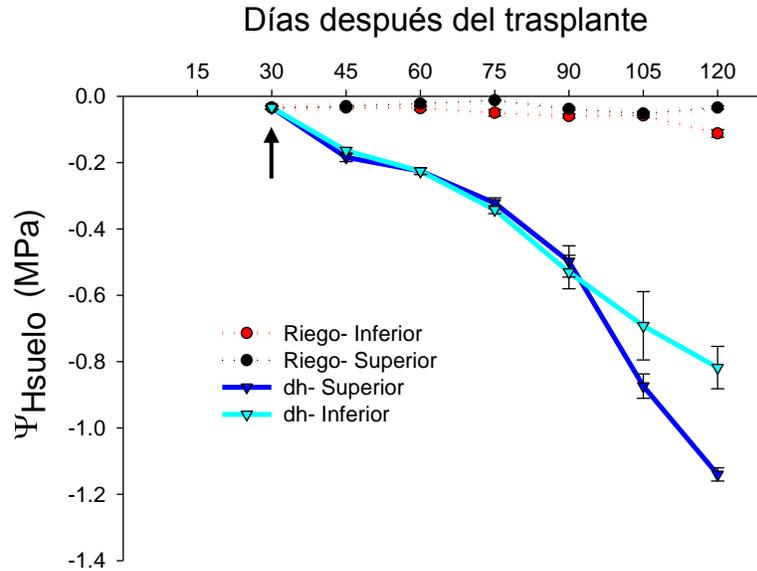


Figura 2. Potencial de agua en el suelo (Ψ_{Hsuelo}) \pm el error estándar, determinado en la parte media de dos estratos: superior (0-50 cm) e inferior (50-100 cm) en dos condiciones hídricas (riego y déficit hídrico, dh). La flecha (\uparrow) indica el momento en que se suspendió el riego ($n = 5$).

6.2. Potencial de agua en vástago

El potencial de agua en el vástago ($\Psi_{\text{Hvástago}}$) se mantuvo constante y sin cambio estadístico en las plantas con riego y las que permanecieron con déficit hídrico durante los primeros 30 días después de la suspensión del riego. Luego, el $\Psi_{\text{Hvástago}}$ disminuyó progresivamente en ambas condiciones de humedad, aunque fue mayor con déficit hídrico (Figura 3). Es importante observar que durante los primeros 30 días sin riego no se registró alguna diferencia en el $\Psi_{\text{Hvástago}}$ entre los dos tratamientos, aun cuando el Ψ_{Hsuelo} entre los dos tratamientos ya mostraba diferencias significativas desde los 15

días después de la suspensión del riego, lo cual indica que el suministro de agua de la raíz a la parte aérea aún no era restringido.

Sin embargo, en el día 75 después del trasplante y 45 días después de la suspensión de riego, la diferencia entre los dos tratamientos fue amplia y estadísticamente diferente, con valores de $\Psi_{\text{Hvástago}}$ de -0.51 MPa en el testigo y -1.48 MPa en déficit de humedad. A medida que el déficit hídrico aumentó, el $\Psi_{\text{Hvástago}}$ disminuyó y en el último muestreo (120 ddt) alcanzó -4.91 MPa. En contraste, con riego el valor promedio fue -1.37 MPa.

Otros estudios del efecto que tiene la falta de agua en las relaciones hídricas en las plantas (Kramer y Boyer, 1995) han mostrado repuestas, como las que se observaron en esta investigación. La disminución del $\Psi_{\text{Hvástago}}$ en una planta a la que se le limita el suministro de agua es básicamente el resultado en la reducción de la absorción de agua por la raíz y por consecuencia disminución en el flujo de agua hacia el vástago. Este tipo de respuesta se conoce como respuesta hidráulica (Lambers *et al.*, 1998) y en la literatura se encuentra información de esta respuesta en diferentes especies; por ejemplo, Otero-Sánchez *et al.*, (2005) reportó en *Annona diversifolia* Saff. una disminución del $\Psi_{\text{Hvástago}}$ en un potencial de agua en el suelo bajo, (-2.36 MPa, en estrés vs. -1.26 MPa en riego).

Ruíz *et al.* (2008) en un estudio donde evaluaron tres especies forrajeras (*Tetrachne dregei* Nees, *Panicum coloratum* L. y *Eragrostis curvula* (Schrad) Nees.) para comparar

la tolerancia al estrés hídrico determinaron que a los 61 días después de la suspensión de riego, el potencial de agua en el vástago de plantas con estrés hídrico fue entre -1 a -2 MPa, mientras que en el testigo fue de -0.3 MPa. Dichos resultados son similares a los encontrados en el presente experimento.

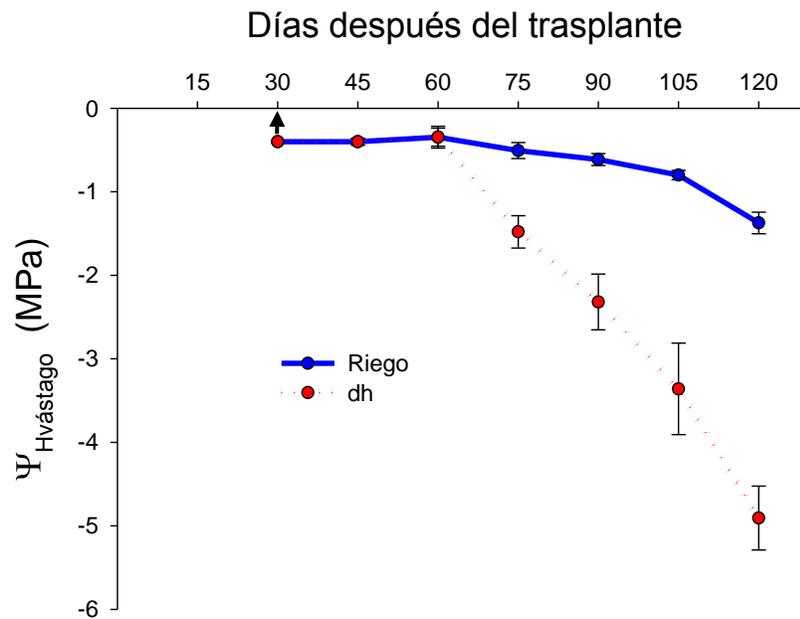


Figura 3. Potencial de agua en el vástago ($\Psi_{Hvástago}$) de *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).

6.3. Intercambio de gases

En el testigo se presentaron variaciones mínimas de g_s a lo largo del tiempo con un valor promedio de $1550 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 4A). Con déficit hídrico g_s mostró

disminución, a los 45 ddt se registró un valor de $1450 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, que fue 17 % menor que en el testigo, pero sin diferencia estadística significativa. Sin embargo, 30 días después de haber suspendido el riego (60 ddt), gs alcanzó valores cercanos a los $713 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, lo cual significó una reducción aproximada del 51 %, en comparación con el testigo. Con déficit hídrico, la gs continuó disminuyendo a medida que transcurrieron los días sin suministro de agua, de tal manera que en el último muestreo esta variable mostró valores de $30 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Es importante señalar que a los 60 ddt aun y cuando gs había disminuido más de 50 % por efecto de la suspensión del riego, el $\Psi_{\text{Hvástago}}$ era igual en el testigo y con déficit hídrico (-0.35 MPa). Este tipo de respuestas se han documentado desde hace más de 30 años cuando Bates y Hall (1981) reportaron una reducción de la conductancia estomática asociada con la disminución de agua en el suelo, sin observar alguna afectación en el potencial de agua de la parte aérea. Ruíz *et al.* (2008) reportaron que a los 61 días después de la suspensión de riego la resistencia estomática en tres especies forrajeras bajó estrés hídrico aumentó un 80 % con respecto al testigo.

En estrés hídrico, los estomas se cierran y aumenta la resistencia estomática y por lo tanto se reduce la transpiración. Las plantas también presentan otros mecanismos para controlar la transpiración, como la abscisión foliar o el aumento de la densidad específica de las hojas (Colom y Vazzana, 2003).

Este tipo de reportes han sido principalmente en especies con interés agronómico y hasta el momento no han sido reportados en especies silvestres o arvenses (“weeds”).

Este tipo de respuestas se ha explicado como la alta sensibilidad de la raíz para responder a la disminución del agua en el suelo, generando compuestos químicos que se transportan por el torrente de transpiración y regulan procesos fisiológicos en la parte aérea, como crecimiento y promoción del cierre estomático (Davies y Zhang, 1991; Webb y Mansfield, 1992).

La tasa de asimilación de CO₂ y transpiración mostraron que en el testigo fluctuaron durante el experimento con un valor promedio de 3.8 μmol m⁻² s⁻¹ y de 4.0 mmol m⁻² s⁻¹ respectivamente (Figura 4B y C).

El déficit hídrico afectó negativamente tasa de asimilación de CO₂ y transpiración; sin embargo, la afectación fue gradual y menos severa en la transpiración que en el caso de la tasa de asimilación de CO₂. Ambas variables presentaron un patrón similar en su reducción y solamente hasta los 45 días después de la aplicación del déficit hídrico mostraron valores diferentes que sus respectivos testigos, 41 % de reducción en asimilación (2.18 μmoles m⁻² s⁻¹) y 20 % de reducción en transpiración (3 mmol m⁻² s⁻¹). Al final del experimento, cuando el tratamiento de déficit hídrico alcanzo 90 días, la asimilación mostró valores de 0.54 μmoles m⁻² s⁻¹, que comparado con 3.54 μmoles m⁻² s⁻¹ registrado en el testigo, la reducción fue del 85 %.

En el caso de la transpiración también se observó reducción del 85 % respecto al testigo a los 90 días de suspensión de riego, con 0.55 mmol m⁻² s⁻¹. El desarrollo de mecanismos por las plantas, que les permiten controlar la pérdida de agua, mientras

continúan fijando carbono en la fotosíntesis se considera como un factor esencial para su supervivencia en el medio terrestre (Jones, 1992).

Si el estrés es muy severo, la fotosíntesis y la transpiración se abaten debido al cierre estomático y al bloqueo de la difusión de CO₂ hacia el mesófilo, disminuyendo el crecimiento de la planta (Kumar *et al.*, 1994).

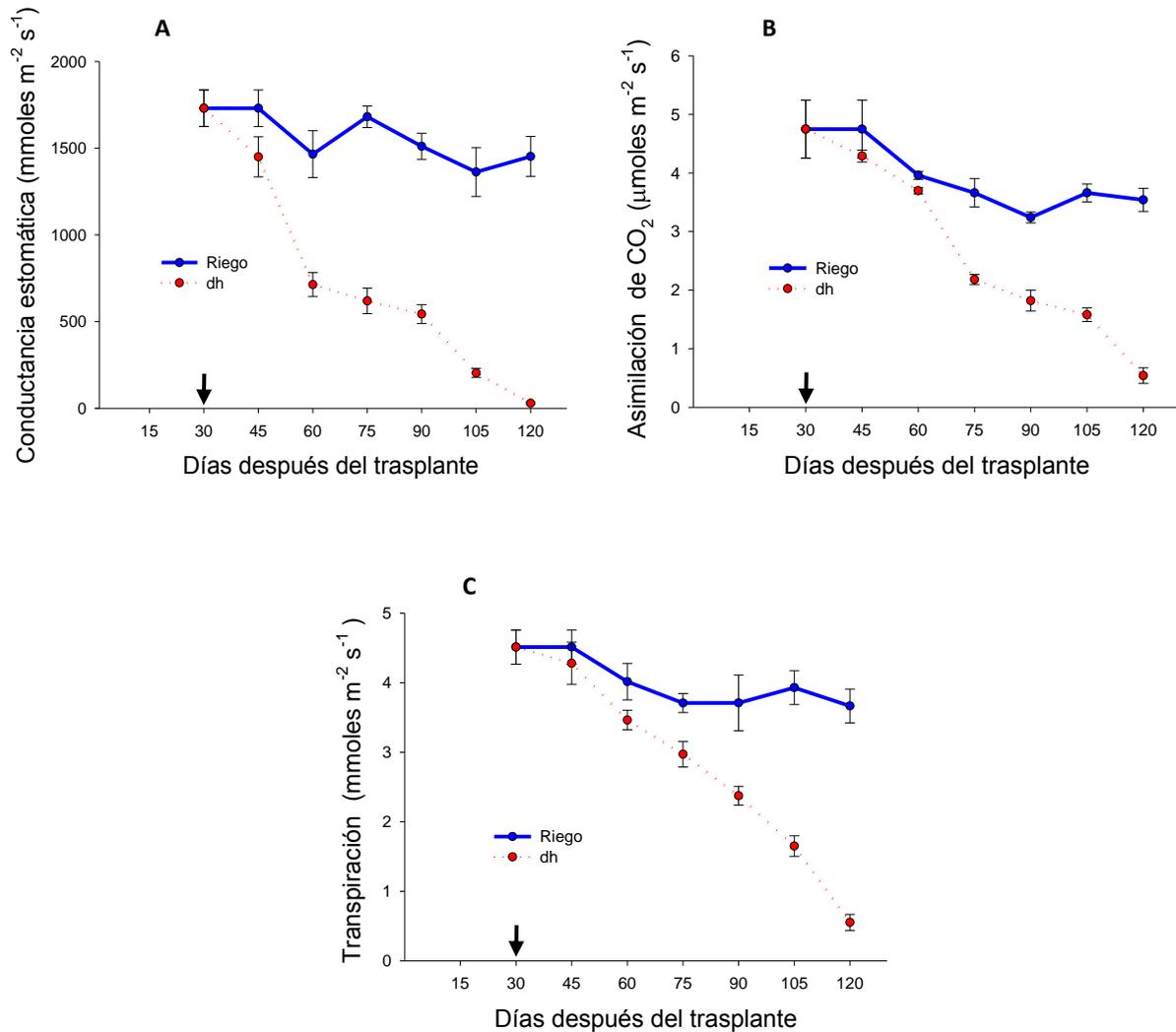


Figura 4. Conductancia estomática (mmoles m⁻² s⁻¹) (A), asimilación de CO₂ (μmoles m⁻² s⁻¹) (B), tasa transpiratoria (mmoles m⁻² s⁻¹) (C) en hojas de *Reseda luteola* L. ± el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (↓) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).

Polanía *et al.* (2009) analizó la tasa transpiratoria en frijol y obtuvo valores de 1.30 $\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en plantas con riego y 0.17 $\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en plantas en sequía, lo cual representó una reducción del 87 %. Se ha demostrado, que aún bajo sequía relativamente severa, la capacidad fotosintética del mesófilo de la lámina foliar no es fácilmente reducida (Castonguay y Markhart, 1991) y las tasas de fotosíntesis sólo disminuyen radicalmente cuando por sequía se pierde más de 40 % del contenido de clorofila en la hoja (Nuñez Barrios *et al.*, 1998).

6.4. Área foliar

El área foliar representa la maquinaria para la producción de fotoasimilados. Uno de los procesos fisiológicos más sensibles al déficit de agua es el crecimiento celular, de manera que la falta de agua reduce la expansión y el área foliar. Cuando el déficit hídrico es severo, se acelera la senescencia de hojas maduras (Hsiao, 1973; Killingbeck y Whitford, 2001).

Después de 15 y 30 días de déficit hídrico no se registró diferencia con respecto al testigo. Sin embargo, a los 45 días de suspensión de riego se detectaron valores promedio de 215 vs. 165 cm^2 . El testigo continuó produciendo área foliar y al final del experimento presentó 232 cm^2 ; mientras que el tratamiento de dh permaneció con 155 cm^2 (Figura 5). Nuñez Barrios *et al.*, (1998) reportó en el cv. Seafarer de frijol una reducción rápida del área foliar después de dos semanas de iniciada la sequía; alcanzando a los 50 días después de la siembra, este tratamiento un 37 % menos de

área foliar en comparación con el testigo. En estudios similares han demostrado que la sequía reduce el crecimiento foliar en *Digitaria eriantha* Steud. (Pieterse *et al.*, 1995) y *Zea mays* L. (Salah y Tardieu, 1997).

El déficit hídrico en etapas tempranas generalmente afectan el alargamiento y el tamaño final de las hojas, en cambio en estadios más avanzados se incrementa la senescencia foliar y la pérdida de follaje (Kramer y Boyer, 1995). Lima *et al.* (2016) consignaron que la restricción de agua redujo el número de hojas, área foliar y materia seca de las hojas de *Waltheria indica* L., *Crotalia retusa* L., *Cleome affinis* DC. y *Commelina benghalensis* L. Ruíz *et al.* (2008) reportaron marchitamiento foliar y reducción foliar del 25% debido al déficit hídrico, comportamiento similar al observado en el presente estudio.

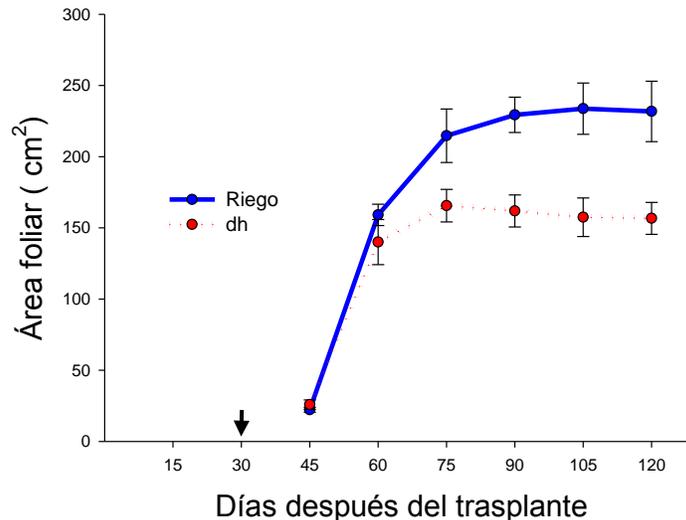


Figura 5. Área foliar por planta de *Reseda luteola* L. \pm el error estándar con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).

Polanía *et al.* (2009) en un estudio realizado en frijol bajo dos condiciones de déficit hídrico encontró que los valores de área foliar en condiciones de estrés fueron mayores en un 26 % para los genotipos SEC 16, SER 16 y MCD 2004 en comparación con el tratamiento de riego. Foster *et al.* (1995) observó que en frijol bajo sequía, las altas tasas de senescencia foliar se deben principalmente a la translocación rápida de nitrógeno a los órganos reproductivos.

6.5. Distribución de materia fresca y seca en vástago y raíz

El peso fresco y seco en vástago a los 15 y 30 días de suspensión del riego (45 y 60 ddt) fueron similares a los del testigo. Sin embargo, a partir del día 45 de suspensión del riego se observaron diferencias estadísticas y estas diferencias fueron mayores conforme transcurrió el tiempo. A los 90 días después de la suspensión del riego, el valor de peso fresco en riego fue cinco veces mayor que el peso fresco en déficit hídrico.

Los valores de peso seco en el tratamiento de riego tuvieron la misma tendencia que lo registrado en peso fresco durante todos los muestreos del experimento; sin embargo, en el peso fresco se observó un mayor decremento (Figura 6A y B). Este decremento se debe a la pérdida de turgencia y senescencia de las hojas de mayor edad (Hsiao, 1973; Kramer y Boyer, 1995). Lima *et al.* (2016) encontraron en un experimento realizado a cuatro especies de malezas que el déficit hídrico en el suelo aumentó en un 25 % la materia seca de las raíces en la mayoría de las especies sin alterar la biomasa

del tallo. Una planta sometida a estrés por sequía o salinidad presenta disminución de la fotosíntesis y de transpiración, cierre estomático y reducción del área foliar (Webb y Mansfield, 1992). Esta disminución del área foliar, conjuntamente con una reducción en la conductancia estomática, pueden limitar tanto la intercepción de la energía solar como la tasa de fotosíntesis y finalmente la producción de materia seca en la planta (Shultz y Hall, 1982).

Santos (2004), observó que el déficit hídrico indujo el aborto de las hojas, con una reducción del 66 % de la masa foliar y una reducción del 60 % de la materia seca total en *Hyptis pectinata* L., después de cuatro días de restricción de agua, tendencias similares a las encontradas en este trabajo.

Núñez Barrios *et al.* (1998) al comparar el tratamiento de sequía con el testigo observó una diferencia de 6.5 % en la acumulación de materia seca con 50 % de luz interceptada. Esta diferencia puede deberse a un incremento en la translocación de carbohidratos a la raíz durante el periodo de deficiencia hídrica. Polanía *et al.* (2009) observó diferencias genotípicas significativas en términos de producción de biomasa en riego y sequía. El estrés por sequía redujo 88 % la producción de biomasa total de las plantas.

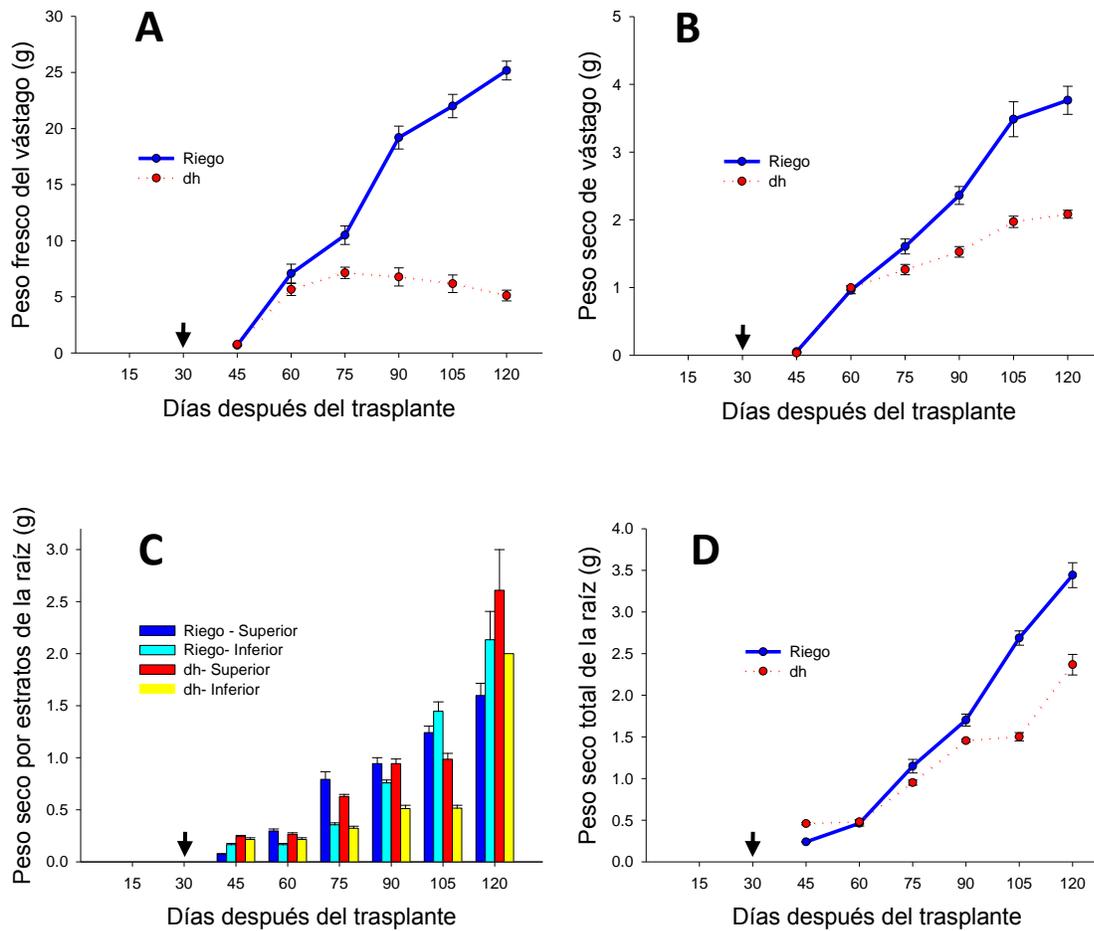


Figura 6. Peso fresco de vástago (A), peso seco de vástago (B), peso seco por estratos de la raíz (C) y peso seco total de la raíz (D) por planta de *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n = 5).

La producción de materia seca en la raíz se analizó en el estrato superior 0-50 cm y estrato inferior 50-100 cm, en el supuesto que el contenido de humedad en el perfil del suelo sería diferente y que éste afectaría diferente el crecimiento de la raíz. Se observó que en el testigo la acumulación de peso seco fue mayor en el estrato superior a los 30, 45, 60 días después de la suspensión del riego y fue mayor en el estrato inferior a los 75 y 90 ddt (Figura 6C). En el caso del tratamiento con suspensión de riego se

observó que en todos los muestreos el estrato superior presentó valores mayores de peso seco en comparación con el estrato inferior. Las diferencias mayores entre los estratos se observó en los muestreos de 45, 60 y 75 días de suspensión de riego. A los 15 días de suspensión del riego la acumulación de materia seca total de la raíz fue mayor en el tratamiento con déficit hídrico, con un 70 % más que con riego, con valores de 0.074 g y 0.243 g con riego y déficit de humedad respectivamente. Después de los primeros 30 días no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos, con valor promedio aproximado de 0.471 g. A partir de los 45 días, después de la suspensión del riego y hasta el final del experimento se observaron diferencias significativas entre tratamientos con diferencias aproximadas de 17 %, con valores de 1.149 g para el testigo y 0.951 g para el tratamiento con suspensión de riego. Sin embargo, a los 105 y 120 días se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, con 44 y 31 %. Esto indica que la acumulación de materia seca total en la raíz de tratamiento de dh se ve disminuido casi en un 50 % con respecto al testigo (Figura 6D). La escasa precipitación pluvial y el suelo con baja capacidad de retención de agua causan déficit hídrico en las plantas; La disminución del potencial hídrico puede afectar seriamente el crecimiento foliar, la tasa de intercambio de CO₂, el desarrollo de tallos y la relación raíz / rama en varias especies de plantas (Bredvan *et al.*, 2004; Blum, 2005).

La tasa de crecimiento de los brotes es interdependiente de la de raíces (Tonutti, 1990). Las raíces dependen de las porciones aéreas de la planta para la producción de fotosintatos y varias hormonas, mientras que las porciones aéreas de la planta dependen de las raíces para la obtención de agua, nutrimentos, sostén y, producción

de hormonas. El área de exploración de la raíz puede relacionarse con el suministro de nutrientes y agua. Si el área de exploración es baja, la frecuencia del riego debe ser alta, para responder al crecimiento activo de las plantas (Siddique *et al.*, 1999). Hoogenboom *et al.* (1987), encontraron en soya que durante períodos de sequía el crecimiento de la raíz se incrementó a expensas del crecimiento de la parte aérea.

6.6. Longitud de la raíz primaria y el sistema radical

Los estudios del efecto del déficit hídrico y otros tipos de estrés en la fisiología y rendimiento de las plantas se ha concentrado más en la respuesta aérea que en el sistema radical, lo anterior debido a la dificultad que representa el estudio de la raíz por obvias razones (penetra en el suelo, ambiente oscuro, dificultad en el muestreo, pocas técnicas disponibles, etc.) (Huang y Gao, 2000). En el tratamiento con déficit hídrico, la longitud de la raíz principal fue mayor durante todo el estudio, en comparación con la del testigo. A los 90 días después del inicio de los tratamientos dichos valores fueron 1.3 y 0.97 m en las plantas con déficit hídrico y testigo, respectivamente. Sin embargo la longitud total del sistema radical (raíz primaria, secundarias y las demás) presentó una tendencia diferente de crecimiento (Figura 7A). En los primeros 30 días después de la aplicación de los tratamientos, el crecimiento del sistema radical fue similar. Posterior a los 30 días el crecimiento presentó una curva normal de crecimiento, pero en déficit hídrico el crecimiento fue muy lento y a partir de los 60 días del inicio de los tratamientos su longitud declinó significativamente, de tal manera que en el último muestreo (90 días de suspensión de riego) se registraron

valores de 34 m es decir, aproximadamente tres veces menor que en el testigo (Figura 7B). No se observaron diferencias significativas en la longitud de la raíz principal (Figura 7A) en los primeros 30 días después de la aplicación de los tratamientos. Esto podría deberse a que en los primeros muestreos el déficit hídrico no fue suficientemente severo, lo que le permitió a la planta desarrollar un buen sistema radical. Ho *et al.* (2005) sugirieron que un sistema radical superficial y abundante es más efectivo en la absorción de nutrientes en los primeros 20 cm del suelo, donde los nutrientes están concentrados; mientras que raíces profundas favorecen la adquisición de agua y la resistencia a sequía.

La tolerancia a estrés por sequía se ha asociado a la mayor capacidad para extraer agua del suelo. Una mayor capacidad para profundizar raíces en el perfil del suelo puede proveer a un genotipo adaptación mayor a condiciones de estrés hídrico (Sponchiado *et al.*, 1989).

El efecto del déficit hídrico sobre la longitud de la raíz principal se apreció a partir de los 75 días, cuando existieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. En el caso del tratamiento con suspensión del riego a los 120 d se observó que la raíz alcanzó una longitud de 1.25 m, equivalente a 23 % mayor longitud que en el tratamiento testigo. La disponibilidad de agua tendió a incrementar con la profundidad, y un sistema de raíz profundo sería ventajoso en condiciones de sequía (Ho *et al.*, 2005; Ryser, 2006).

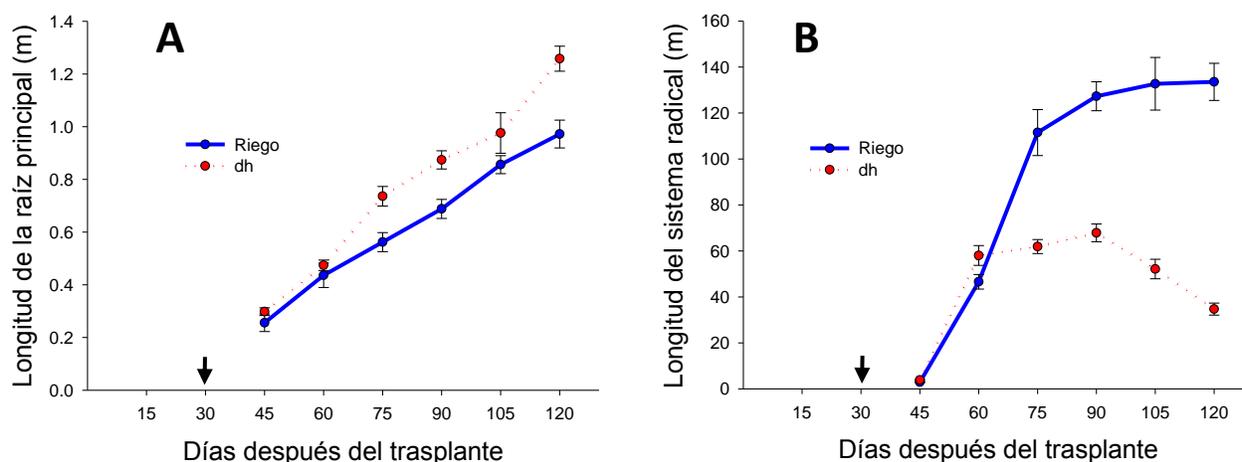


Figura 7. Longitud de la raíz principal **(A)** y longitud del sistema radical **(B)** por planta de *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n=5).

El crecimiento del sistema radical (Figura 7B) con riego tendió a ser similar al de su raíz principal; en contraste, con el déficit hídrico el crecimiento fue lento y hasta decreciente. A los 45 días no se encontraron diferencias significativas en la longitud del sistema radical, que promedió 3.3 m. Esto se relaciona con que sistemas radicales son abundantes en los primeros centímetros del suelo y son importantes para la absorción de nutrientes, los cuales están concentrados en este estrato del suelo (Ho *et al.*, 2005). Igualmente esta característica contribuye a la adaptación por sequía intermitente en lugares donde periódicamente hay suministro de agua por lluvia, y un sistema radical fino, y menos profundo, puede ser ventajoso en estas condiciones. Lima *et al.* (2016) observaron que en malezas, el déficit hídrico incrementa la masa total de las raíces en un 50 %.

La raíz principal a los 60 días en el tratamiento con déficit de humedad tuvo en promedio 0.47 m; 8 % superior que la de las plantas testigo (0.436 m). Esto se debió a que probablemente la arquitectura de la raíz comenzó a modificarse al haber una ligera disminución en el potencial de agua en el suelo.

Además, hay períodos o etapas del desarrollo, como el de plántula, en las que algunas especies pueden ser particularmente sensibles (o insensibles) a un estrés determinado (Kozłowski *et al.* 1991; Nilsen y Orcutt 1996). La producción de raíces finas es importante en la adquisición de agua y la entrada de minerales debido a su alta área superficial por unidad de masa (Eissenstat, 1992). Polanía *et al.* (2009) observó que la longitud total de raíz mostró diferencias significativas en condiciones de sequía comparadas con la longitud de las plantas bajo riego, y la reducción en la longitud total fue 35 %. Dichos valores mostraron un aumento en la longitud total de raíz pero también tuvieron valores bajos de longitud específica de raíz, lo cual indica el desarrollo de raíces ligeramente más gruesas.

González *et al.* (2005) evaluaron el efecto de la sequía en la germinación y el crecimiento de plántulas de trigo sometiendo semillas a potenciales hídricos de 0, -0.3, -0.5, -0.75, -1.0 y -1.5 MPa, se observó que la germinación y crecimiento del sistema radical disminuyó en un 50 %. Sin embargo, el análisis estadístico de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) realizado a los datos mostró diferencias significativas entre los tratamientos a partir de los 75 días. El tratamiento con déficit de humedad redujo notablemente la longitud del sistema radical a medida que aumentó el estrés por déficit

hídrico y disminuyó el potencial de agua en el suelo. Esto puede estar relacionado con la producción de raíces finas, que puede ser un mecanismo que permite la adquisición de agua y la entrada de minerales cuando el agua en el suelo es limitada; las raíces finas “son económicas de construir”, pero son esenciales para la adquisición de agua y nutrientes debido a su área superficial alta por unidad de masa (Eissenstat, 1992; Huang y Fry, 1998).

Sponchiado *et al.* (1989) encontraron que producciones grandes de raíces se asocian a mayor tolerancia a sequía en frijol, sugiriendo una evasión a la sequía debida al incremento de la extracción de agua del suelo. Nuñez Barrios *et al.*, (1998) también encontró que en frijol en sequía el número de raíces secundarias y terciarias se duplicaba al mismo tiempo que se reducen las tasas de crecimiento foliar.

Al respecto, Sharp *et al.* (1988) en un estudio realizado en condiciones de laboratorio demostraron que las raíces de maíz continúan creciendo en Ψ_A del sustrato hasta de -1.6 MPa, mientras que el crecimiento del vástago se inhibe completamente a partir de $\Psi_A = -0.8$ MPa. Estos mismos autores mencionaron que con el mantenimiento del crecimiento radical, se asegura que el agua continúe transportándose al vástago, pues las raíces podrían alcanzar capas más profundas del suelo, con mayor disponibilidad de agua.

6.7. Contenido de prolina en hojas y raíz

Las respuestas metabólicas de las plantas a la deshidratación son diversas y complejas, e incluyen la acumulación de sustancias que se encuentran en niveles basales en las células; este es el caso de la prolina, que es un aminoácido cuya concentración se incrementa notoriamente en condiciones de sequía, en temperaturas altas o bajas, o por deficiencias nutrimentales (Nolte *et al.*, 1997; Turner y Jones, 1992).

El contenido de prolina en el vástago de los tratamientos tuvo un aumento constante a lo largo de todo el desarrollo del experimento. Sin embargo, se apreció que desde los 45 días existieron diferencias significativas entre los tratamientos, con valores de 6.47 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS en el testigo y 31.73 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS en las plantas con déficit de humedad. La concentración de este compuesto continuó incrementándose a medida que transcurrió el experimento; sin embargo, la concentración fue mayor con el déficit hídrico todo el tiempo, y alcanzó valores 100 % mayores que en el testigo (120 y 60 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS respectivamente) en el último muestreo (90 días después de iniciado los tratamientos) (Figura 8A). Esta variable estuvo correlacionada negativamente con casi todas las variables de relaciones hídricas, intercambio gaseoso, área foliar y biomasa foliar. Morgan (1984) observó que plantas jóvenes de trigo que se mantuvieron en sequía incrementaron significativamente la acumulación de solutos en sus células, y aunque alcanzaron tamaño menor, su tolerancia a la deshidratación de sus tejidos se incrementó.

El ajuste osmótico se atribuye a la síntesis y absorción de sustancias osmóticamente activas, como cationes inorgánicos, ácidos orgánicos, aminoácidos y azúcares (Wang *et al.*, 1995). En condiciones de invernadero y dependiendo de la intensidad del déficit hídrico este mecanismo se expresa en menor grado, probablemente debido al volumen menor de suelo (Turner, 1997).

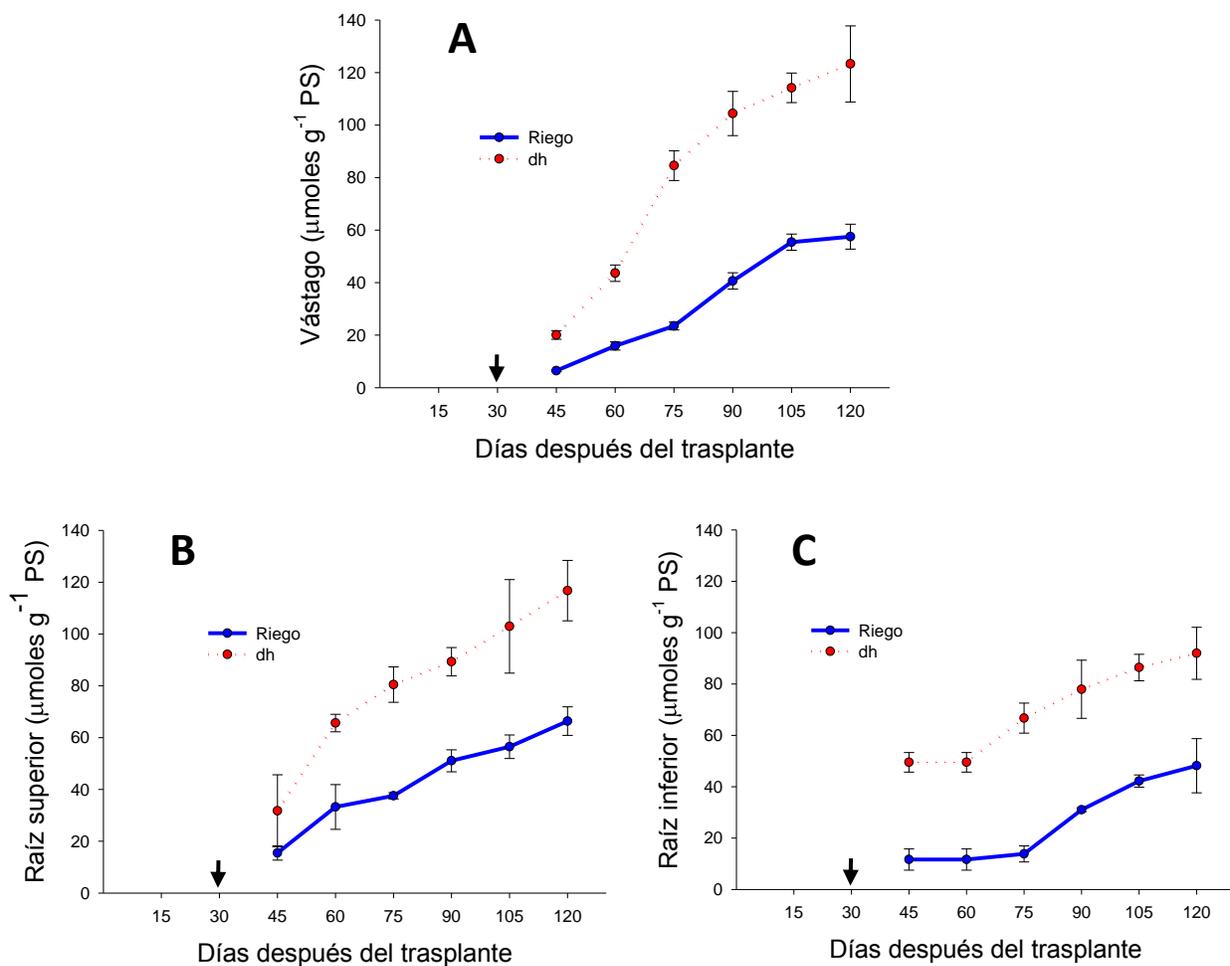


Figura 8. Contenido de prolina ($\mu\text{moles g}^{-1}$ PS) en vástago (**A**), porción superior de la raíz (0-50 cm) (**B**) y porción inferior de la raíz (50-100 cm) (**C**) en *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit hídrico (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego (n=5).

Otero-Sánchez *et al.*, (2005) reportó que la concentración de prolina en las hojas de ilama, aumentó en forma proporcional con el aumento del estrés hídrico del suelo, variando de 11.4 en el testigo a 622.7 nmoles g⁻¹ de peso seco con déficit hídrico. Parra *et al.* (1999) reportó que la acumulación de prolina fue más del doble en las hojas de zarzamora cv. Cheyenne con déficit hídrico que en las plantas con riego.

En el caso de la acumulación de prolina para la porción superior de la raíz (Figura 8B) se observaron diferencias significativas desde el primer muestreo (15 días después del inicio de tratamientos). Además, se observó como el Ψ_{Hsuelo} y el $\Psi_{\text{Hvástago}}$ se relacionaron, al compararlos con el contenido de prolina en las hojas.

A los 120 días se observó que con riego, con Ψ_{Hsuelo} de -0.09 MPa y $\Psi_{\text{Hvástago}}$ de -1.37 MPa, la prolina alcanzó una concentración de 66.37 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, y con déficit hídrico, con un $\Psi_{\text{Hsuelo}} = -1.14$ MPa y un $\Psi_{\text{Hvástago}}$ de -4.91 MPa, la concentración fue de 116.76 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS. Es decir se detectó 1.76 veces más prolina en el tratamiento de déficit hídrico comparado con el testigo.

La prolina es uno de los aminoácidos más estables en condiciones de sequía, el menos inhibitorio del crecimiento celular y tiene una naturaleza altamente higroscópica. La prolina además juega un papel importante en el ajuste osmótico primario como un soluto osmoprotector del citoplasma, provee estabilidad a los coloides, es una fuente de nitrógeno y carbono en condiciones de sequía, protege a las enzimas de la

desnaturalización, estabiliza la maquinaria de la síntesis de proteínas y aumenta la capacidad de unión del agua (Nolte *et al.*, 1997; Su y Wu, 2004).

Llano y Alcaráz (2012) evaluaron la tolerancia al estrés hídrico de tres especies del género *Paulownia*, árboles de crecimiento rápido, y aunque no se obtuvieron diferencias significativas en ninguna de las tres especies al someterlas a estrés hídrico si hubo un aumento en la concentración de prolina en relación inversa a la pérdida de humedad en el suelo.

En la porción inferior de la raíz (Figura 8C) se obtuvo una respuesta similar al de la porción superior. Sin embargo, en este caso, debido a que los potenciales de agua del suelo fueron mayores con respecto a los del estrato superior (con riego -0.03 MPa y con déficit hídrico -0.82 MPa; Figura 2), las concentraciones de prolina fueron menores.

Los valores obtenidos para ambos tratamientos después de 120 días fueron de 48.18 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS y 91.95 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS. Sin embargo la proporción del aumento es muy similar, es decir se incrementó 1.9 veces más este compuesto en condiciones de déficit hídrico comparado con el testigo.

Sofo *et al.* (2004) determinaron en plantas de olivo (*Olea europaea* L.) que los niveles de PRO aumentaron en paralelo con la intensidad del estrés por sequía tanto en las hojas como en las raíces. En hojas de canola Gibon *et al.* (2000) relacionan la

acumulación de prolina con la pérdida de clorofilas y con la reducción de la actividad mitocondrial. El incremento también se relaciona con la translocación de compuestos nitrogenados de las hojas senescentes.

Este puede ser el resultado de un mecanismo que permite mantener un potencial de turgencia alto, a pesar del descenso en el potencial hídrico, lo que puede traer como consecuencia que la apertura del estoma, la expansión foliar, la transpiración y la fotosíntesis se mantengan funcionando por más tiempo (Lakso, 1979).

Velázquez-Márquez *et al.*, (2015) reportó la presencia de prolina en ápices de radícula en dos variedades de maíz, en diferentes tiempos de incubación con un potencial de agua del sustrato de -0.03 MPa. Cuando el Ψ_{Hsuelo} del sustrato se redujo a -1.5 MPa, los valores en la acumulación de prolina se incrementaron hasta un 86 % comparado con los valores observados con un Ψ_{Hsuelo} de -0.03 MPa.

Hay varias posibilidades por las que se incrementa la prolina cuando se aumenta el estrés hídrico en el suelo; Stewart *et al.* (1977) demostraron que la acumulación de prolina se produce por la inhibición de la síntesis de ácido glutámico. Fukutoku y Yamada (1984), al trabajar con frijol soya (*Glycine max* (L.) Merr.) mencionan que se debe a la degradación de las proteínas solubles de las hojas.

Handa *et al.* (1983) descubrieron un incremento y posterior disminución de la prolina en células de tomate (*Lycopersicon esculentum* P. Mill.) al aumentar el estrés hídrico

del suelo. Las células con mayor contenido de prolina fueron las que tenían menor proteína soluble. En las variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) la respuesta al estrés hídrico en el suelo, es variable y se observa en ambos sentidos (Rincones, 1979).

6.8. Contenido de azúcares solubles: glucosa, fructosa y sacarosa en vástago y raíz

En relación a los azúcares acumulados en el vástago (Figura 9A) se observó que en el testigo, las concentraciones de glucosa, fructosa y sacarosa fueron menores respecto al déficit hídrico. Pero para glucosa y fructosa las diferencias estadísticas no fueron significativas entre tratamientos a lo largo del desarrollo del experimento.

La acumulación de solutos durante el estrés hídrico comprende azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa, que actúan como osmolitos que mantienen la turgencia celular y estabilizan proteínas de la célula, mediante el mecanismo de ajuste osmótico (Prioul *et al.*, 2006). Sin embargo en el caso de la sacarosa, se observó acumulación mayor con déficit hídrico, los valores que se alcanzaron fueron 60.80 y 118.49 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, a los 45 y 120 días respectivamente. Los valores, comparados con los del testigo en las mismas fechas, 22.18 y 104 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, representaron una reducción del 64 y 12 %.

Herrera *et al.* (2012) evaluaron la respuesta bioquímica de la radícula de las plántulas de frijol Pinto Villa y Bayo Madero, las cuales fueron sometidas a cuatro potenciales de humedad: -2.07, -0.52, -0.27 MPa y un testigo -0.16 MPa. En el potencial más crítico, -2.07 Mpa, Pinto Villa, acumuló mayor cantidad de prolina y sacarosa que Bayo Madero, además observaron una correlación altamente significativa entre la elongación de la radícula con la acumulación de prolina, glucosa y fructosa.

Los azúcares solubles, principalmente la sacarosa, se acumulan en semillas, polen y en tejidos vegetales tolerantes a la sequía (Oliver y Bewley, 1997). La acumulación de sacarosa y hexosas en las hojas provoca cambios en el potencial osmótico y en la expresión de algunos genes del metabolismo de carbohidratos (Pelleschi *et al.*, 1997).

La sacarosa funciona como un osmoprotector para estabilizar las membranas celulares y para mantener su turgencia, actúa como sustituto del agua para mantener los fosfolípidos de la membrana en la fase líquida-cristalina y prevenir cambios estructurales de proteínas solubles, también sirve como una fuente inmediata de energía en la rehidratación, puesto que es un azúcar de fácil metabolización (Kerepesi y Galiba, 2000).

Polanía *et al.* (2009) reportó en sus resultados que en el contenido de carbohidratos en las hojas no mostraron alguna tendencia particular; sin embargo, los valores de carbohidratos en tallo en general mostraron altas cantidades en condiciones de estrés, lo cual indica menos movilización desde los tallos hacia la formación de nuevas hojas.

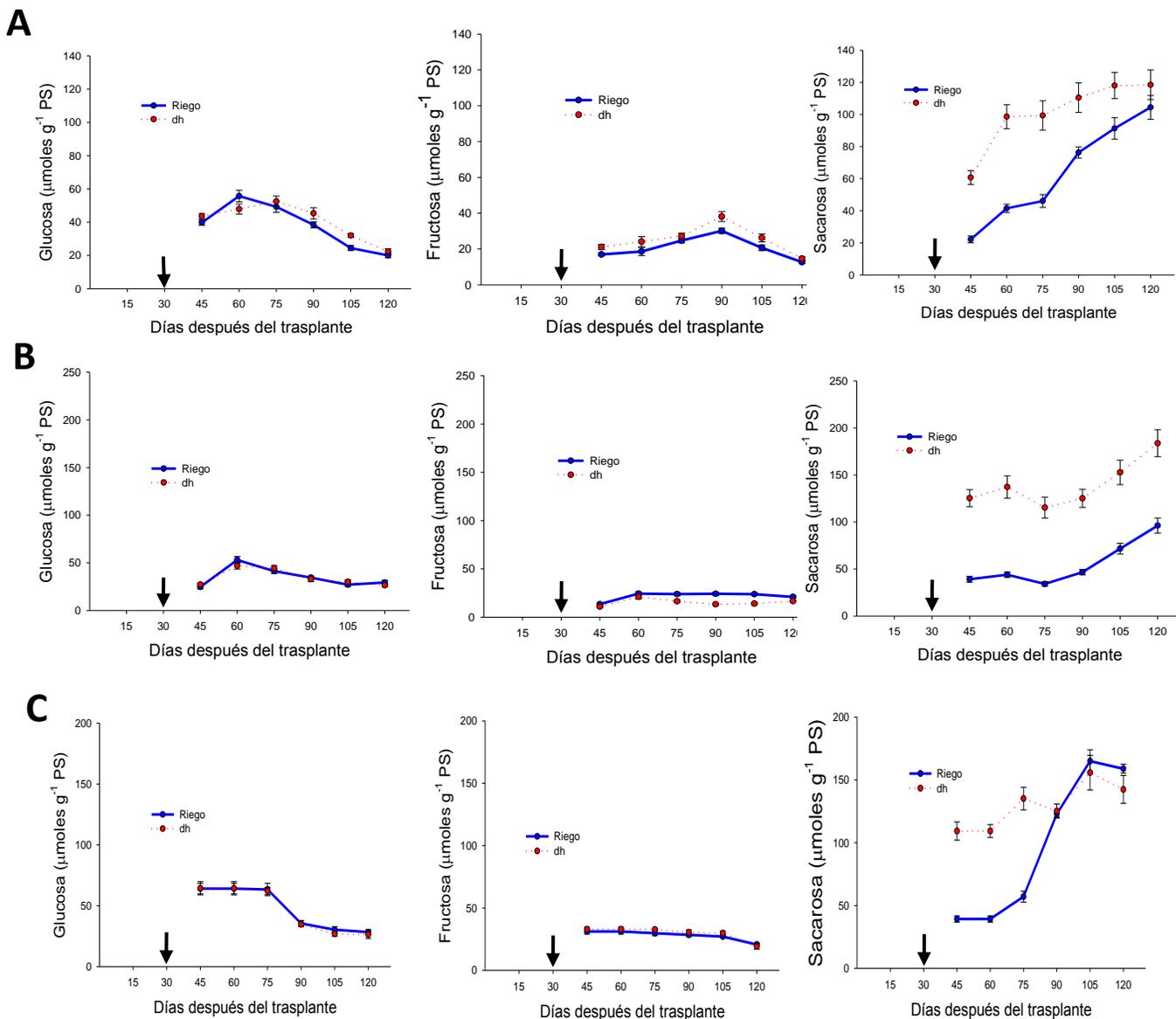


Figura 9. Acumulación de glucosa, fructosa y sacarosa ($\mu\text{moles g}^{-1}$ PS) en vástago (A), porción superior de la raíz (0-50 cm) (B) y porción inferior de la raíz (50-100 cm) (C) en *Reseda luteola* L. \pm el error estándar, con riego y déficit de humedad (dh). La flecha (\downarrow) indica el momento en que se suspendió el riego, n = 5.

En el caso de los azúcares acumulados en la porción superior de la raíz (Figura 9B), se observó un comportamiento similar que en el vástago; es decir, a lo largo del desarrollo del experimento se acumularon los azúcares glucosa y fructosa en cantidades similares y de igual manera estadísticamente no se encontraron diferencias significativas.

Los resultados de la sacarosa mostraron una mayor acumulación con déficit hídrico, sus valores fueron 125.40 y 183.79 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, a los 45 y 120 días respectivamente. Al comparar estos valores con los del testigo en las mismas fechas, encontramos una concentración de 39.12 y 96.21 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, lo cual representó una reducción del 69 y 48 %. La glucosa es importante porque promueve la respiración y el transporte de electrones en la mitocondria (Koster y Leopold, 1988). La fructosa, es un carbohidrato de reserva importante en los procesos metabólicos de las plantas durante su adaptación al estrés por sequía. La fructosa protege las membranas de los efectos adversos de la sequía e influye directamente en el proceso de crecimiento de las plantas (Pilon-Smits *et al.*, 1995).

Esta respuesta coincide con lo detectado en dos variedades de maíz, donde la concentración de azúcares solubles aumentó en la raíz y en el vástago, mientras que el almidón disminuyó cuando se tuvo un potencial hídrico de -1.76 MPa (Mohammadkhani y Heidari, 2008) lo que se atribuye a que la alta concentración de azúcares puede ser el resultado de la degradación del almidón, debido a que éste

juega un papel muy importante en la acumulación de azúcares en la célula (Patakas y Noitsakis, 2001).

Los resultados observados en la acumulación de los azúcares, coinciden también con lo que reportan Hoekstra *et al.* (2001) quienes mencionan que la presencia de azúcares solubles como la sacarosa, glucosa y fructosa, está relacionada con la adquisición de la tolerancia a sequía en las plantas; además, en hojas de plantas de papas transgénicas, el incremento de glucosa y fructosa en la pared celular de las vacuolas, está asociado con la acumulación de prolina y almidón, con la inhibición de la fotosíntesis y con el incremento de la respiración, respuestas que fueron asociadas con síntomas del estrés de agua (Scholes *et al.*, 2000).

Fredeen *et al.* (1991) observaron en plantas de girasol y espinaca que la concentración de sacarosa aumentó en condiciones de estrés hídrico; la sacarosa también se acumula en plantas llamadas de resurrección como *Xerophyta viscosa* Baker.

Los resultados obtenidos para el estrato inferior de la raíz (Figura 9C) tuvieron un comportamiento similar al vástago y la porción superior de la raíz; las concentraciones entre glucosa y fructosa para ambos tratamientos fue similar a lo largo del desarrollo del experimento. La concentración de sacarosa fue mayor con déficit hídrico, sus valores fueron 109.30 y 142.40 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, a los 45 y 120 días respectivamente. Al comparar estos valores con los del testigo para los mismos muestreos se obtuvo una concentración de 39.31 y 158.88 $\mu\text{moles g}^{-1}$ PS, lo cual representa una reducción del

64 % a los 45 días, sin embargo a los 120 días hubo un incremento de sacarosa que representó un 11 %.

Velázquez-Márquez *et al.*, (2015) reportaron que con un Ψ_A del sustrato de -0.03 MPa se detectó la presencia de glucosa, fructosa y sacarosa en los ápices de las radículas de las variedades de maíz VS-22 y AMCCG-2, después de diferentes tiempos. Por otro lado, se ha observado que en especies como *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Oryza sativa* L., *Zea mays* L., *Solanum tuberosum* L., el almidón se degrada y los productos finales se usan para la síntesis de sacarosa durante estrés hídrico (Smith *et al.*, 2004), además la sacarosa puede funcionar como una molécula de señalización del estrés en la regulación del metabolismo de las plantas (Koch *et al.*, 1996).

Mayer y Poljak Off Mayber (1989) mostraron que los carbohidratos solubles incrementaron en todas las estructuras de la plántula de *Vigna sesquipedalis* después de 48 h de germinación.

VII. CONCLUSIONES

La suspensión del riego en la etapa vegetativa de *Reseda luteola* L. disminuyó el Ψ_{Hsuelo} a partir de los 15 días. El $\Psi_{\text{Hvástago}}$ no se afectó en los primeros 30 días de déficit hídrico, sin embargo la conductancia estomática si se redujo significativamente a partir del día 15 de suspensión de riego. Esto sugiere un transporte de inhibidores químicos desde la raíz a la parte aérea. A pesar de que Ψ_{Hsuelo} disminuya notablemente desde los primeros 15 días con el déficit de humedad, el área foliar, el peso fresco y seco del vástago, y peso seco de la raíz, la longitud de la raíz principal y del sistema radical se mantienen con valores similares en ambos tratamientos. A medida que el déficit de humedad se hace más severo estas variables también disminuyen drásticamente. Pero, el déficit hídrico aumenta notoriamente la concentración de prolina desde los primeros días, y el contenido de glucosa y fructosa en la raíz y el vástago no refleja las diferencias entre los tratamientos durante la caída del Ψ_{Hsuelo} y la concentración de sacarosa es considerablemente menor en el tratamiento de riego. El déficit hídrico influye positivamente en la producción de metabolitos osmoprotectores frente a estrés por sequía.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abdallah, M. S., and C. H. Wit. 1967. The Resedaceae: a taxonomical revision of the family. Meded. Landbouwh. Wageningen. 67(8): 1-98.
- Ackerly, D., C. Knight, S. Weiss, K. Barton, and K. Starmer. 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecol.* 130: 449-457.
- Amiri, J., and F. Ebrahim-Nesbat. 1997. *Reseda lutea* L. and *Fumaria asepala* Boiss. The Natural Hosts of Watermelon Mosaic Virus in the Mashed Areas. Iran. J. Plant Pathol. 13: 51-52.
- Allen, R. G. 2006. Evapotranspiración del cultivo: guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Food and Agriculture Organization. 56: 298.
- Anliker, R., G. Durig, D. Steinle, and J. E. Moriconi. 1988. List of colorants to be classified as toxic. *Journal of the Society of Dyers and Colourists.* 104(5): 223-225.
- Ashraf, M., and R. M. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59(2): 206-216.
- Bailey, P., and J. T. Wicks. 1995. Biological control of *Reseda lutea* L. (Resedaceae), a weed of cereal crops in South Australia. Thirteenth Int. Plant Protection Congress. *Eur. J. Plant Pathol.* 25(3): 137-148.
- Basurto, S. M., A. B. Núñez, R. L. Pérez, y A. R. Hernández. 2008. Fisiología del estrés ambiental en plantas. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. Universidad Autónoma de Chihuahua-México. *Synthesis, Aventuras del Pensamiento.* Octubre-noviembre: 1-5.
- Bates, L. S., R. P. Waldren, and D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.* 39(1): 205-207.

- Bates, L. M., and A. E. Hall. 1981. Diurnal and seasonal responses of stomata conductance for cowpea plants subjected to different levels of environmental drought. *Oecol.* 54(3): 304-308.
- Batirov, E. K., M. M. Tadzhibaev, and M. V. Malikov. 1979. Flavonoids of *Reseda luteola*. *Chem. Nat. Compd.* 15(5): 643-644.
- Blum, A. 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential-are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Aust. J. Agric. Res.* 56(11): 1159-1168.
- Bohnert, H., D. Nelson, and R. Jensen. 1995. Adaptations to environmental stresses. The plant cell. American society of plant Physiologists. Department of Molecular and Cellular Biology. *Plant Cell.* 7(7): 1099.
- Boyer, J. S. 1996. Advances in drought tolerance in plants. *Adv. Agron.* 56: 187-219.
- Bray, E. A. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant. Physiol.* 103(4): 1035-1040.
- Brevedan, R. E., H. E. Laborde, M. N. Fioretti, y S. S. Baioni. 2004. Características relacionadas a la deficiencia hídrica y la fertilización con nitrógeno de *Digitaria eriantha*. II Reunión Binacional de Ecología. Mendoza, Argentina. 295 p.
- Cardon, D. 2007. Natural dyes: sources, tradition, technology and science. London: Archetype. 263-274.
- Casetti, F., W. Jung, U. Wölfle, J. Reuter, K. Neumann, B. Gilb, and M. C. Schempp. 2009. Topical application of solubilized *Reseda luteola* extract reduces ultraviolet B-induced inflammation in vivo. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 96(3): 260-265.
- Castonguay, Y., and A. H. Markhart. 1991. Saturated rates of photosynthesis in water-stressed leaves of common beans and tepary beans. *Crop. Sci.* 31: 1605-1611.

- Castroviejo, S., F. M. Garmendia, and E. V. Bermejo. 1986. Flora ibérica: plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. CSIC-CSIC Press.13.
- Cattivelli, L., F. Rizza, F. W. Badeck, E. Mazzucotelli, M. A. Mastrangelo, E. Francia, C. Maré, A. Tondelli, and M. A. Stanca. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Res.* 105(1): 1-14.
- Claussen, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science.*168: 241-248.
- Colom, M. R., and C. Vazzana. 2003. Drought stress effects on three cultivars of *Eragrostis curvula*: photosynthesis and water relations. *Plant Growth Regul.* 34: 195-202.
- Cramer, G., A. Ergül, J. Grimplet, R. Tillett, R. E. Tattersall, M. Bohlman, D. Vincent, J. Sonderegger, J. Evans, C. Osborne, D. Quilici, K. Schlauch, D. Schooley, and J. Cushman. 2007. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Funct. Integr. Genomics.* 7(2): 111-134.
- Cristea, D., I. Bateau, and G. Vilarem. 2003. Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. *Dyes Pigm.* 70(3): 238-245.
- Cronin, D. A., and S. Smith. 1979. A simple and rapid procedure for the anthrone method. *Cereal Chem.* 52: 875-860.
- Davies, W. J., and J. Zhang. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42(1): 55-76.
- Davis, P. H. 1965. Flora of Turkey and East Aegean Islands. 1(9): 58.
- Del Pozo, A., D. Castillo, L. Inostroza, I. Matus, M. A. Méndez, and T. Morcuende. 2012. Physiological and yield responses of recombinant chromosome substitution lines of barley to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *Ann. Appl. Biol.* 160(2): 157-167.

- Díaz, P., O. Borsani, y J. Monza. 1999. Acumulación de prolina en plantas en respuesta al estrés osmótico. *Agrociencia*. 3(1): 1-10.
- Doğan, Y. 2001. A Study on the Autecology of *Reseda lutea* L. (Resedaceae) Distributed in Western Anatolia. *Turk. J. Bot.* 25(3): 137–148.
- Doğan, Y., S. Baslar, and H. H. Mert. 2002. A study on *Reseda lutea* L. distributed naturally in West Anatolia in Turkey. *Acta Bot. Croat.* 61(1): 35–43.
- Doğan, Y., and H. H. Mert. 1998. An Autecological Study on the *Vitex agnus-castus* L. (Verbenaceae). Distributed in West Anatolia. *Turk. J. Bot.* 22(5): 327–334.
- Eissenstat, D. M. 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *J. Plant Nutr.* 15: 763-782.
- Engelbrecht, B. M. J. 2001. Drought resistance in seedlings of 28 tropical woody plant species. *Oecol.* 136(3): 383-393.
- Epstain, E., W. M. Nabors, and B. B. Stowe. 1967. Origin of Indigo of Woad. *Nature*. 216: 547-549.
- Espinosa F. J. y J. Sarukhán. 1997. Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. pp: 98-175.
- Farías-Rodríguez, R., B. R. Mellor, C. Arias, and J. Peña-Cabriales. 1998. The accumulation of trehalose in nodules of several cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its correlation with resistance to drought stress. *Physiol. Plant.* 102(3): 353-359.
- Farooqi, A. A., Y. N. Shukla, S. Sharma, and R. P. Bansal. 1994. Relationship between gibberellin and cytokinin activity and flowering in *Rosa damascena* Mill. *Plant Growth Regul.* 14(2): 109-113.

- Ferlay, V., G. Malley, A. Masson, E. Ucciani, and M. Grubber. 1993. Composition en acides gras des huiles graines d'espèces spontanées du sud-est Méditerranéen. *Oleagineux*. 48(2): 91-97.
- Ferreira, E. S., N. A. Hulme, H. McNab, and A. Quye. 2004. The natural constituents of historical textile dyes. *Chem. Soc. Rev.* 33(6): 329-336.
- Forbes, G., and R. P. Mathews. 1985. Pre-emergence R-40244 for early weed control in potatoes and carrots. *British Crop Protection. Conference Weeds*. 3: 747-804.
- Foster, E., A. Pajarito, and J. Acosta-Gallegos. 1995. Moisture stress impact on N partitioning, N remobilization and N-use efficiency in beans. *J. Agric. Sci.* 124: 27-37.
- Fredeen, A. L., J. A. Gamon, and C. B. Field. 1991. Responses of photosynthesis and carbohydrate-partitioning to limitations in nitrogen and water availability in field-grown sunflower. *Plant Cell Environ.* 14(9): 963-970.
- Fukutoku, Y., and Y. Yamada. 1984. Sources of proline-nitrogen in water-stressed soybean (*Glycine max*). II. Fate of ¹⁵N-labelled protein. *Plant Physiol.* 61: 622-628.
- Garau, A. M., C. M. Ghera, J. H. Lemcoff, and J. J. Baraño. 2009. Weeds in *Eucalyptus globulus* subsp. *maidenii* (F. Muell) establishment: Effects of competition on sapling growth and survivorship. *New Forest*. 37: 251-264.
- Garmendia, F. M., y G. L. González. 2010. Sobre reseda valentina (pau) pau ex cámara, su basiónimo y tipo. *Notas taxonómicas y cronológicas para la flora de la península ibérica*. 158(170): 30.
- Geigenberger, P., A. Kolbe, and A. Tiessen. 2005. Redox regulation of carbon storage and partitioning in response to light and sugars. *J. Exp. Bot.* 56: 1469-1479.
- Gibbs, R. D. 1974. *Chemotaxonomy of flowering plants*. McGill-Queen's Univ. Press: Montreal & London. 680 p.

- Gibon, Y., R. Sulpice, and F. Larher. 2000. Proline accumulation in canola leaf discs subjected to osmotic stress is related to the loss of chlorophylls and to the decrease of mitochondrial activity. *Physiol. Plant.* 110: 469-476.
- González, L. M., L. Argente, N. Zaldívar, and R. Ramírez. 2005. Efecto de la sequía simulada con PEG-6000 sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas de dos variedades de trigo. *Cultivos Tropicales.* 26(4): 49-53.
- Guicherd, P., J. P. Peltier, E. Gout, R. Bligny, and G. Marigo. 1997. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: malate and mannitol accumulation in leaves under drought conditions. *Trees.* 11(3): 155-161.
- Handa, S., R. A. Bressan, A. K. Handa, N. C. Carpita, and P. M. Hasegawa. 1983. Solutes contributing to osmotic adjustment in cultured plant cells adapted to water stress. *Plant Physiol.* 73: 834-843.
- Hanson, A. D., E. C. Nelsen, R. A. Pedersen, and H. E. Everson. 1979. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought resistance. *Crop Sci.* 19(4): 489-493.
- Hare, P. D., and A. W. Cress. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* 21(2): 79-102.
- Hare, P. D., A. W. Cress, and J. J. Van Staden. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.* 21(6): 535-553.
- Hare, P. D., A. W. Cress, and J. J. Van Staden. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J. Exp. Bot.* 50: 413-434.
- Harris, J. D., S. E. Davis, y M. D. Wichman. 1995. Yellow Mignonette (*Reseda lutea*) in the United States. *Weed Technol.* 9: 196-198.
- Herrera, F. T. S., J. C. Ortiz, A. A. Delgado, A. Galleros, y J. Alberto. 2012. Crecimiento y contenido de prolina y carbohidratos de plántulas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 3(4): 713-725.

- Hincha, D. K., E. Zuther, M. E. Hellwege, and G. A. Heyer. 2002. Specific effects of fructo- and gluco-oligosaccharides in the preservation of liposomes during drying. *Glycobiology*. 12: 103-110.
- Ho, M. D., J. C. Rosas, K. M. Brown, and J. P. Lynch. 2005. Root architecture tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Funct. Plant Biol.* 32: 737-748.
- Hoekstra, F. A. A., E. Golovina, and J. Butinik. 2001. Mechanism of plant desiccation tolerance. *Trends Plant. Sci.* 6: 431-438.
- Hoogenboom, G., M. G. Huck, and C. M. Peterson. 1987. Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79(4): 607-614.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 519-570.
- Huang, B., and J. D. Fry. 1998. Root anatomical, physiological, and morphological responses to drought stress for tall fescue cultivars. *Crop Sci.* 38(4): 1017-1022.
- Huang, B., and H. Gao. 2000. Root physiological characteristics associated with drought resistance in tall fescue cultivars. *Crop Sci.* 40: 96-203.
- Hummel, I., F. Pantin, R. Sulpice, M. Piques, G. Rolland, M. Dauzat, A. Christophe, M. Pervent, M. Bouteillé, M. Stitt, Y. Gibon, and B. Muller. 2010. Arabidopsis plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: An integrated perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. *Plant Physiol.* 154: 357-372.
- Jablonski, B., and Z. Koltowski. 2004. Nectar secretion and honey potential of honey-plants growing under Poland's conditions-Part XIV. *J. Apic. Sci.* 48(1): 54-78.
- Jones, H. G. 1992. *Plants and Microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press. Cambridge. 38 p.
- Kerepesi, I., and G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Sci.* 40(2): 482-487.

- Khurana, E., and J. S. Singh. 2004. Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: Impact of Seed Size. *J. Trop. Ecol.* 20(4): 385-396.
- Killingbeck, K. T., and W. G. Whitford. 2001. Nutrient resorption in shrubs growing by design, and by default in Chihuahuan Desert arroyos. *Oecol.* 128: 351-359.
- Kirkham, M. B. 2005. Principles of soil and plant water relations. Elsevier Academic Press. Amsterdam. The Netherlands. 78 p.
- Koch, K., W. Vong, and J. Xu. 1996. Sugar and metabolic regulation of genes for sucrose metabolism: potential influence of maize sucrose synthase and soluble invertase responses on carbon partitioning and sugar sensing. *J. Exp. Bot.* 47: 1179-1185.
- Koster, J. L., and A. C. Leopold. 1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant physiol.* 88(3): 302-304
- Kozlowski, T. T., P. J. Kramer, and S. G. Pallardy. 1991. The physiological ecology of woody plants. Academic Press. Toronto. 306 p.
- Kramer, P. J., and J. S. Boyer. 1995. Water relations of plants and soils. Academic Press. San Diego. 496 p.
- Kumar, A., D. Sing, and P. Sing. 1994. Influence of water stress on photosynthesis, transpiration, water use efficiency and yield of *Brassica juncea* L. *Field Crops Res.* 37(2): 95-101.
- Lakso, A. N. 1979. Seasonal changes in stomatal response to leaf water potential in apple. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 104: 58-60.
- Lambers, H., F. S. Chapin, and T. L. Pons. 1998. Photosynthesis. *Plant Physiological Ecology.* Springer New York. Pp: 154-209.
- Larcher, W. 1995. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer Science & Business Media. 513 p.

- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press. New York. 2:2.
- Lima, M., J. Dombroski, F. Freitas, J. Pinto, and D. Silva. 2016. Weed growth and dry matter partition under water restriction. *Planta Daninha*. 34(4): 701-708.
- Llano, S. J. M., y M. L. Alcaráz. 2012. Análisis de pigmentos, peroxidasa, prolina y proteínas de tres especies de *Paulownia* bajo estrés hídrico. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 3(9): 69-80.
- Ludlow, M. M. 1987. Strategies of response to water stress. Structural and functional responses to environmental stresses. Pp: 269-281.
- Luna-Flores, W., H. Estrada-Medina, J. M. Jiménez-Osornio, y L. L. Pinzón-López. 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana*. 30(4): 343-353.
- Marqués, R., M. M. Sousa, C. M. Oliveira, and J. M. Melo. 2009. Characterization of weld (*Reseda luteola* L.) and spurge flax (*Daphne gnidium* L.) by high-performance liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry in Arraiolos historical textiles. *J. Chromatogr.* 1216(9): 1395-1402.
- Mayer, A. M., and A. Poljak Off-Mayber. 1989. The germination of seeds. Fourth edition. 270 p.
- Medrano, H. J., y J. Flexas. 2000. Fijación del dióxido de carbono y biosíntesis de fotoasimilados. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcón-Bieto J. y M. Talón (Eds.). McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. pp. 173-185.
- Méndez, A. M., D. Castillo, A. Del Pozo, I. Matus, and R. Morcuende. 2011. Differences in stem soluble carbohydrate contents among recombinant chromosome substitution lines (RCSLs) of barley under drought in a Mediterranean-type environment. *Agron. Res.* 9:433-438.

- Mercier, V., C. Bussi, F. Lescourret, and M. Génard. 2009. Effects of different irrigation regimes applied during the final stage of rapid growth on an early maturing peach cultivar. *Irrig. Sci.* 27: 297-306.
- Moghaddam, M. R. 1997. *Reseda lutea*: A Multipurpose lands plant for arid and semiarid. *J. Range Manage.* 30(1): 71–72.
- Mohammadkhani, N., and R. Heidari. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. 3(3): 448-453.
- Morgan, J. M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Plant Physiol.* 35: 299-319.
- Müller, B., F. Pantin, M. Génard, O. Turc, S. Freixes, M. Piques, and Y. Gibon. 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *J. Exp.Bot.* 62(6): 1715-1729.
- Nilsen, E. T., and D. M. Orcutt. 1996. Physiology of plants under stress. *Physiology of Plants Under Stress. Abiotic Factors.* New York. 27 p.
- Nolte, H. D., A. D. Hanson, and D. A. Gage. 1997. Proline accumulation and methylation to proline betaine in Citrus: implications for genetic engineering of stress resistance. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122: 8-13.
- Nuñez Barrios, A., J. Ritchie, y A. J. M. Smucker. 1998. El efecto de sequía en el crecimiento, la fotosíntesis y la intercepción de luz en frijol común. *Agronomía Mesoamericana.* 9: 1-8.
- Oliver, M. J., and J. Bewley. 1997. Desiccation tolerance of plants tissues: a mechanistic overview. *Hortic. Rev.* 18: 171-214.
- Otero-Sánchez, M. A., L. M. Ruiz-Posadas, A. E. Becerril-Román, L. Tijerina-Chávez, E. M. Engleman, y A. Castillo-Morales. 2005. Crecimiento, relaciones hídricas e intercambio gaseoso de plantas jóvenes de ilama (*Annona diversifolia* Saff.) en condiciones de estrés hídrico. *Hort.* 11: 57-63.

- Paleg, L. G., G. R. Stewart, and J. W. Bradbeer. 1984. Proline and glycine betaine influence protein solvation. *Plant Physiol.* 75(4): 974-978.
- Parra, Q. R., R. J. Ontiveros, and V. H. González. 1999. Transpiration, water potential and proline in blackberry under hydric stress. *Terra Latinoamericana.* 17(2): 125-130.
- Patakas, A., and B. B. Noitsakis. 2001. Leaf age effects on solute accumulation in water-stressed grapevines. *Plant Physiol.* 158: 63-69.
- Peggie, D. A., N. A. Hulme, H. McNab, and A. Quye. 2008. Towards the identification of characteristic minor components from textiles dyed with weld (*Reseda luteola* L.) and those dyed with Mexican cochineal (*Dactylopius coccus* Costa). *Mikrochim. Acta.* 162(3): 371-380.
- Pelleschi, S., J. P. Rocher, and J. L. Prioul. 1997. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant Cell Environ.* 20(4): 493-503.
- Penas, A. 1991. *Plantas Silvestres de Castilla y León*, Valladolid. Ámbito. ISBN 84-86770-40-8.
- Pieterse, P. A., N. F. G. Rethman, and J. Vanbosch. 1995. Influence of nitrogen-fertilization, soil type and water-stress on production and water-use efficiency of *Digitaria-Eriantha* Cv. Irene Under Greenhouse Conditions. *Water Sa.* 21(4): 351-356.
- Pilon-Smits, E. A., M. J. Ebskamp, M. J. Paul, M. J. Jeuken, P. J. Weisbeek, and S. C. Smeekens. 1995. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiol.* 107(1): 125-130.
- Polanía, J. A., I. M. Rao, S. Beebe, and 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.
- Prasad, J. 1996. *Plant Ecophysiology*. John Wiley & Sons, Inc., India. 542 p.

- Prioul, J. L., S. Pelleschi, A. Leonardi, J. P. Rocher, G. Cornic, and D. De Vienne. 2006. Analysis of the relationships between growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism using quantitative trait loci (QTLs) in young maize plants subjected to water deprivation. *Mol. Breed.* 17:21-39.
- Reyes, H., E. Beltrán, E. García, M. Pardo y E. Soriano. 2007. La Bioquímica y la biología molecular: su relevancia en el estudio de los mecanismos de defensa y desarrollo de las plantas. La Maestría en Ciencias en Biología Experimental. Reseña en ocasión de su XV aniversario. 48 p.
- Rincones, C. 1979. Descripción de quince variedades de caña de azúcar en las condiciones del estado Portuguesa. Venezuela. CIARCO. 9(3-4): 61-75.
- Roitsch, T. 1999. Source-sink regulation by sugar and stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2(3): 198-206.
- Ruíz, M. A., A. D. Golberg, and O. Martínez. 2008. Water stress and forage production in *Tetrachne dregei* Nees, *Panicum coloratum* L. and *Eragrostis curvula* (Schrad) Nees. *Int. J. Exp. Bot.* 77: 7-20.
- Ryser, P. 2006. The mysterious root length. *Plant Soil.* 286: 1-6.
- Rzedowski G. C. 1995. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. México, D. F. Pp: 65-87.
- Salah, H. B. H., and F. Tardieu. 1997. Control of leaf expansion rate of droughted maize plants under fluctuating evaporative demand (a superposition of hydraulic and chemical messages?). *Plant Physiol.* 114(3): 893-900.
- Santos, T. T. 2004. Effect of water stress on leaf mass production and essential oil content in sambacaita (*Hyptis pectinata* L.). *Horticultura Brasileira.* 22: 1-4.
- Scholes, J., N. Bundock, R. Wilde, and S. Rolfe. 2000. The impact of reduced vacuolar invertase activity on the photosynthetic and carbohydrate metabolism of tomato. *Planta.* 200(2): 265-272.

- Shultz, E. D. and A. E. Hall. 1982. Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. *Physiological Plant Ecology*. 12: 181-230.
- Sharp, R. E., W. K. Silk, and T. C. Hsiao. 1988. Growth of the maize primary root at low water potentials. I. Spatial distribution of expansive growth. *Plant Physiol.* 87: 50-57.
- Siddique, K. H. M., P. S. Loss, L. K. Regan, and L. R. Jettner. 1999. Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. *Crop and Pasture Science*. 50(3): 375-388.
- Silva, L. 2007. Estudio de la digestibilidad de carbohidratos y capacidad antioxidante de leguminosas de mayor consumo en México. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. Pp. 3-43.
- Singh, B. and G. Singh. 2006. Effects of controlled irrigation on water potential, nitrogen uptake and biomass production in *Dalbergia sissoo* seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 55: 209-219.
- Smirnoff, N., and J. Q. Cumbes. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. 28(4): 1057-1060.
- Smith, S. M., D. C. Fulton C., T. Chia, D. Thorneycroft, A. Chapple, H. Dunstan, C. Hylton, S. C. Zeeman, and A. M. Smith. 2004. Diurnal changes in the transcriptome encoding enzymes of starch metabolism provide evidence for both transcriptional and posttranscriptional regulation of starch metabolism in *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiol.* 136: 2687–2699.
- Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis, and A. Masia. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiol. Plant.* 121: 58-65.
- Sponchiado, B., J. White, J. Castillo, and P. Jones. 1989. Root growth of four common bean cultivars in relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. *Exp. Agric.* 25: 249-257.

- Stewart, C. R., S. F. Boggess, D. Aspinall, and L. P. Paleg. 1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.* 59(5): 930-932.
- Su, J., and R. Wu. 2004. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Sci.* 166(4): 941-948.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2006. *Fisiología Vegetal*. Vol. 2. Universidad Jaime I. Servicio de Comunicación y Publicaciones. 49 p.
- The plant list. 2015. *Reseda luteola*. Recuperado de: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=reseda+luteola>.
- Tonutti, P., and C. Giulivo. 1990. Effect of available soil volume on growth of young kiwi plants. *Acta Hort.* 282: 283-294.
- Turner, N. C. 1986. Crop water deficits: a decade of progress. *Adv. Agron.* 39: 1-51.
- Turner, N. C. 1997. Further progress in crop water relations. *Adv. Agron.* 58: 293-338.
- Turner, N. C., and M. M. Jones. 1992. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. pp. 87-103. In: N.C. Turner and J.P. Kramer (eds.). *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Wiley Interscience, New York.
- Tutin, T. G., H. V. Heywood, A. B. N. Harris, M. D. Moore, H. D. Valentine, M. S. Walters, and A. D. Webb. 1980. *Flora Europaea*. Cambridge University Press, Cambridge. 5:476 p.
- Valdés, B. E. 1993. *Reseda* L. *Flora Ibérica*. 4: 440-475.
- Verbruggen, N., and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids.* 35(4): 753-759.

- Velázquez-Márquez, S., V. Conde-Martínez, C. Trejo, A. Delgado-Alvarado, A. Carballo, R. Suárez, J. O. Mascorro, A. R. Trujillo. 2015. Effects of water deficit on radicle apex elongation and solute accumulation in *Zea mays* L. *Plant Physiol. Biochem.* 96: 29-37.
- Villaseñor Ríos, J. L., y F. J. Espinosa García. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 185 p.
- Wang, Z., B. Quebedeaux, and G. W. Stutte. 1995. Osmotic adjustment: Effect of water stress on carbohydrates in leaves, stems and roots of apple. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 747-754.
- Webb, A. A. and T. A. Mansfield. 1992. How do stomata work? *J. Biol. Educ.* 26(1):19-26.
- Xue, G., L. C. McIntyre, D. C. Jenkins, D. Glassop, F. A. Van Herwaarden, and R. Shorter. 2008. Molecular dissection of variation in carbohydrate metabolism related to water-soluble carbohydrate accumulation in stems of wheat. *Plant*