



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN BOTÁNICA

**RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y
MORFOLÓGICAS DE *Argemone
ochroleuca* SWEET AL DÉFICIT HÍDRICO**

XOCHITL ORTIZ CARBAJAL

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Respuestas fisiológicas y morfológicas de *Argemone ochroleuca Sweet* al déficit hídrico**, realizada por la alumna: **Xochitl Ortiz Carbajal**, 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

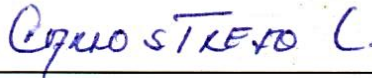
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Ebandro Uscanga Mortera

ASESOR



Dr. Carlos Trejo López

ASESOR



Dr. Daniel Padilla Chacón

ASESOR



Dr. Carlos Ramírez Ayala

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2021

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y MORFOLÓGICAS DE *Argemone ochroleuca* SWEET AL DÉFICIT HÍDRICO

Xochitl Ortiz Carbajal, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Argemone ochroleuca Sweet, a pesar de tener propiedades de importancia económica y medicinal, es considerada una planta invasora. En Texcoco, Estado de México, así como en otras partes de México, invade campos de cultivo en barbecho durante el invierno, cuando la precipitación pluvial es escasa (0.2 a 0.4 mm). Por lo tanto, el estudio de los procesos fisiológicos y morfológicos de *A. ochroleuca* sometida a déficit hídrico contribuirá al conocimiento de tolerancia y adaptaciones de las especies al aumento de periodos de sequía proyectadas por efecto del cambio climático. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto del déficit hídrico en la fisiología y morfología de plantas de *A. ochroleuca* durante la fase vegetativa. El experimento se realizó en una cámara de ambiente controlado a partir de semillas germinadas en cajas Petri, las plántulas fueron trasplantadas en tubos de policloruro de vinilo (PVC) y posterior a 30 días se separaron en dos grupos: riego y déficit hídrico. Se realizaron seis muestreos espaciados por siete días cada uno. El análisis de datos se hizo con un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, las medias se compararon con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). El potencial hídrico del suelo (Ψ_{As}) en el estrato superior disminuyó 82% ocho días después de la suspensión del riego, así como la conductancia estomática (g_s), el potencial hídrico (Ψ_{Av}) y osmótico (Ψ_{π}) del vástago. La acumulación de azúcares y prolina aumentaron en relación con la prolongación del estrés. El déficit hídrico disminuyó el crecimiento del vástago de *A. ochroleuca*, sin embargo, contribuyó en la elongación y engrosamiento de la raíz principal. Se puede concluir que las cualidades fisiológicas y características morfológicas de *Argemone ochroleuca* Sweet, le permiten sobrevivir en condiciones de humedad limitada y periodos de déficit hídrico más prolongados que los de este experimento.

Palabras clave: *chicalote, estrés hídrico, osmoprotectores, plasticidad fenotípica.*

MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF *Argemone ochroleuca* SWEET TO HYDRIC DEFICIT

Xochitl Ortiz Carbajal, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Argemone ochroleuca Sweet, despite having economic properties and medicinal importance, is considered an invasive plant. In Texcoco, Estado de México, as well as in other parts of México, invades the fields during the winter, when the rainfall is scarce (0.2 to 0.4 mm). Therefore, the study of the physiological and morphological processes of *A. ochroleuca* under conditions of water deficit will contribute to the knowledge of tolerance and adaptations of the species to the increase in periods of drought projected due to the effect of climate change. The objective of the research was to determine the effect of the water deficit in the physiology and morphology of *A. ochroleuca* plants during the vegetative phase. The experiment was conducted in a controlled environment chamber from germinated seeds in Petri dishes. The seedlings were transplanted in polyvinyl chloride (PVC) tubes and 30 days after they were separated into two groups consisted of irrigation and water deficit. Six samplings were carried out, spaced seven days each. The data analysis was carried out with a completely randomized design with five repetitions, the means were compared with the Tukey test ($P \leq 0.05$). The soil water potential (Ψ_{ws}) in upper estrata decreased 82% 8 days after the suspension of irrigation, as well as the stomatal conductance (g_s), the water potential (Ψ_{ws}) and the osmotic (Ψ_{π}) of the stem. The accumulation of sugars and proline increased in relation to the prolongation of stress. The water deficit decreased the growth of *A. ochroleuca* stem, however it contributed to the lengthening and thickening of the main root. It can be concluded that the physiological qualities and morphological characteristics of *A. ochroleuca* allow it to survive in conditions of limited moisture and periods of water deficit longer than those of this experiment.

Key words: *Pale mexican prickly poppy, water stress, osmoprotectan, phenotypic plasticity.*

DEDICATORIA

*Doy gracias a Cristo Jesús nuestro señor,
que me fortaleció, porque me consideró
fiel al ponerme en el ministerio.
(1 Tim 1:12)*

*A mi mamá, Carmen Carbajal
por su apoyo y cariño incondicional.*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Colegio de Postgraduados, que hicieron posible esta investigación, así como la contribución en mi formación de maestría.

Al Posgrado en Botánica, personal administrativo, académico y profesorado por el apoyo y conocimiento otorgados durante mi estancia en el Colegio.

Al Dr. Ebandro Uscanga Mortera, por su dirección, consejos, confianza y también regaños para hacer de mí una mejor profesional e investigadora.

Al Dr. Carlos Trejo López, por su apoyo, confianza y persistente guía hasta la culminación de este trabajo.

Al Dr. Daniel Padilla Chacón, por su guía, aportaciones y la enseñanza de nuevas tecnologías de fenotipado.

Al Dr. Carlos Ramírez Ayala, por el apoyo, comentarios y disposición brindada en la presente investigación.

Al M.C. Antonio García Esteva, por su gran apoyo, instrucciones y acertadas sugerencias durante esta investigación.

Al M.C. José Luis Salinas, por el inmenso apoyo de trabajo manual y amistad brindados.

A mis padres y hermanos por su apoyo, comprensión y oraciones.

A mis compañeros y amigos que compartieron agradables momentos y experiencias conmigo.

A todas las personas que de una u otra forma contribuyeron en este experimento y en mi formación académica.

A todos ustedes, muchas gracias.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 <i>Argemone ochroleuca</i> Sweet	4
2.1.1 Clasificación taxonómica.....	4
2.1.2 Morfología	5
2.1.3 Composición química.....	5
2.1.4 Origen y distribución.....	6
2.1.5 Importancia	7
2.2 Estrés en plantas.....	7
2.2.1 Estrés por déficit hídrico.....	8
2.2.1.1 Respuestas de las plantas al déficit hídrico	9
2.2.1.1.1 Reducción del potencial hídrico	11
2.2.1.1.2 Intercambio de gases.....	11
2.2.1.1.3 Fenotipo	12
2.2.1.1.4 Acumulación de compuestos osmoprotectores.....	13
III. JUSTIFICACIÓN.....	15
IV. HIPÓTESIS	15
V. OBJETIVOS.....	15
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
6.1 Material vegetal y muestras de suelo	16
6.2 Establecimiento del experimento	16
6.2.1 Ubicación del experimento	16
6.2.2 Preparación del material vegetal.....	16
6.2.3 Condiciones de desarrollo del material vegetal.....	17
6.3 Tratamiento y diseño experimental	17
6.4 Medición de variables	18

6.4.1	Curva de retención de humedad	18
6.4.2	Conductancia estomática	19
6.4.3	Potencial hídrico, osmótico y de turgencia del vástago	19
6.4.4	Potencial de agua en el suelo	20
6.4.5	Fenotipado	20
6.4.5.1	Vástago	20
6.4.5.2	Raíz.....	20
6.4.6	Materia fresca y seca del vástago y raíz	21
6.4.7	Cuantificación de azúcares del vástago y raíz.....	21
6.4.8	Cuantificación de almidón	22
6.4.9	Cuantificación de prolina del vástago y raíz	23
6.5	Análisis estadístico.....	23
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
7.1	Rompimiento de latencia de las semillas.....	25
7.2	Potencial de agua en el suelo	26
7.3	Potencial hídrico, osmótico y de turgencia del vástago.....	28
7.4	Conductancia estomática.....	30
7.5	Fenotipado.....	32
7.5.1	Vástago.....	32
7.5.2	Raíz	37
7.6	Peso fresco y seco del vástago, peso seco de la raíz	42
7.7	Cuantificación de azúcares: glucosa, fructosa y sacarosa	45
7.8	Cuantificación de almidón.....	50
7.9	Cuantificación de prolina.....	53
VIII.	CONCLUSIONES	53
IX.	LITERATURA CITADA.....	57

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Caracteres morfométricos del vástago en riego y déficit hídrico de *Argemone ochroleuca* Sweet. Los datos son la media de 5 repeticiones \pm DE. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$, Prueba de Tukey) en medias con la misma letra en superíndice..... 35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribución actual de *Argemone ochroleuca* Sweet en el mundo.
Fuente: Centre for Agricultural Bioscience International, 2020..... 6
- Figura 2.** Respuestas fisiológicas, bioquímicas y moleculares que ocurren en una planta en condición de estrés hídrico. Fuente: Shao *et al.*, 2008..... 10
- Figura 3.** Porcentaje de germinación de semillas de *Argemone ochroleuca* Sweet. Cada punto es la media de cuatro repeticiones, cada repetición constó de 100 semillas \pm EE..... 25
- Figura 4.** Potencial de agua en el suelo en tres estratos A) 0-15 cm de profundidad, B) 45-60 cm de profundidad, C) 85-100 cm de profundidad en tubos de PVC de 100 cm en los tratamientos de riego y con déficit hídrico aplicados a *Argemone ochroleuca* Sweet. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE..... 27
- Figura 5.** Potencial hídrico (A), potencial osmótico (B) y potencial de turgencia (C) del vástago de *Argemone ochroleuca* Sweet con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE. 29
- Figura 6.** Conductancia estomática de *Argemone ochroleuca* Sweet en riego y con déficit hídrico en el suelo. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE. Las líneas punteadas indican los muestreos. 31
- Figura 7.** Imágenes RGB del fenotipo del vástago de *Argemone ochroleuca* Sweet con riego y déficit hídrico. Vástagos al inicio del experimento (A y B); plantas en riego los días 8 (C), 15 (E), 22 (G), 29 (I) y 35 (K); plantas en déficit hídrico los días 8 (D), 15 (F), 22 (H), 29 (J) y 35 (L) después de la suspensión de riego. 36
- Figura 8.** Fenotipo de la raíz de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Raíces al inicio del experimento (A y B); raíces de plantas en riego los días 8 (C), 15 (E), 22 (G), 29 (I) y 35 (K); raíces de

plantas en déficit hídrico los días 8 (D),15 (F), 22 (H), 29 (J) y 35 (L) después de la suspensión de riego. 40

Figura 9. Longitud total del sistema radical (A), densidad total del sistema radical (B), longitud de la raíz principal (C) y diámetro de la raíz principal (D) de raíces de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE..... 41

Figura 10. Peso fresco del vástago (A), peso seco del vástago (B) y peso seco de la raíz (C) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE. 44

Figura 11. Contenido de azúcares solubles en vástago y raíz de *Argemone ochroleuca* Sweet en riego y déficit hídrico. Glucosa (A y D), fructosa (B y E), sacarosa (C y F). Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE..... 48

Figura 12. Concentración de almidón en el vástago (A) y raíz (B) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE..... 52

Figura 13. Contenido de prolina en el vástago (A) y raíz (B) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE..... 55

I. INTRODUCCIÓN

Los frecuentes cambios en el ambiente, como temperatura (nocturna, diurna, estacionales), radiación solar y desecación del suelo, son desfavorables y estresantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Zhu, 2016). Aunado a esto, la variación climática actual, que presenta mayores cambios en la temperatura, precipitación, composición atmosférica y mayor frecuencia de eventos climáticos extremos, está alterando la disponibilidad de los recursos y las condiciones favorables para el desarrollo de las plantas, (Ahuja *et al.*, 2010; Nicotra *et al.*, 2010; Gray y Brandy, 2016; Zhu, 2016).

Diversos estudios han señalado que a medida que el clima cambia, es posible que las poblaciones de plantas ya no se adapten de manera óptima a las nuevas condiciones ambientales (Ahuja *et al.*, 2010; Shaw y Etterson, 2012) y tengan que desarrollar mecanismos que les permitan su supervivencia.

Según Gray y Brandy (2016), el estrés ambiental tiene diversos efectos en una planta, y como tal, las respuestas moleculares, fisiológicas y morfológicas varían entre tejidos, órganos y el desarrollo. Sin embargo, las plantas han desarrollado capacidades y respuestas adaptativas para reducir el consumo de recursos y ajustar su crecimiento para adecuarse a las condiciones cambiantes de su entorno (Skirycz y Inze, 2010; Osakabe *et al.*, 2014). Estas respuestas pueden observarse en la morfología (plasticidad) y cambios en la fisiología (captura y distribución de recursos, cambios en el periodo reproductivo, etc.). Sin embargo, pese a que estas respuestas ayudan a su supervivencia, también pueden causar efectos negativos en el rendimiento y en la población (Gray y Brandy, 2016).

La falta de agua es uno de los factores que más impacto tiene sobre las plantas, afecta desde el metabolismo celular hasta el crecimiento y reproducción (Gaspar *et al.*, 2002). Este tipo de estrés se caracteriza por la reducción del contenido de agua en la planta hasta su posterior marchitamiento y muerte. Estos eventos se relacionan con la intensidad y duración del estrés hídrico y las capacidades de las plantas para resistirlo (Taiz y Zeiger, 2010). Según Anderegg (2015) las diferencias morfológicas y fisiológicas

de las plantas pueden ayudarnos a entender las dimensiones de la vulnerabilidad y las respuestas a la sequía.

En los últimos años se han realizado diversas investigaciones sobre el impacto del estrés hídrico en las plantas, enfocado mayoritariamente en plantas de interés económico como tomate, arroz, maíz y soya, por mencionar algunos (Cabuslay *et al.*, 2002; Benjamin y Nielsen, 2006; AbdAllah, 2019; Masood *et al.*, 2020), pero ¿qué sucede con las plantas silvestres? ¿qué habilidades poseen para tolerar el estrés hídrico? ¿cómo responderán a la creciente falta de agua?

Dentro de las plantas silvestres, se encuentran las invasoras que con frecuencia se han considerado indicadoras y pioneras en la reacción al cambio climático, debido a su potencial de adaptación y posterior daños colaterales (afectaciones económicas y ecológicas). Sin embargo, para anticipar estos cambios y diseñar estrategias de manejo es necesario conocer la fisiología, comportamiento y hábitat de las plantas invasoras, ya que se prevé que con el cambio climático muchas especies de plantas invasoras desarrollen adaptaciones que puedan llevar a un crecimiento y expansión poblacional (McDonald *et al.*, 2009; Clements y Ditommaso, 2011). Por lo tanto, evaluar los rasgos que le permitan a las plantas invasoras adaptarse a las alteraciones ambientales que trae consigo el cambio climático, es de suma importancia.

Argemone ochroleuca Sweet es una planta nativa de Norteamérica, de la familia botánica Papaveraceae; sin embargo, se ha adaptado a entornos diferentes en todo el mundo, incluso en algunos países como Sudáfrica, Australia y Arabia Saudita es considerada como una planta invasora (Reddy y Pattanaik, 2007; Van der Westhuizen y Mpedi, 2011; Heard y Segura, 2012; Moussa *et al.*, 2012; Maema *et al.*, 2016). Según el Centro de Biociencia Agrícola Internacional (CABI por sus siglas en inglés), esta especie se encuentra en climas templados, subtropicales y secos o áridos, en donde habita en zonas de disturbio como zanjas, ruinas, terrenos perturbados, así como carreteras y campos de cultivo, además de jardines.

El interés fisiológico y morfológico en esta especie radica en su aparente fácil adaptación a condiciones de humedad restringida, se desarrolla desde el otoño hasta la primavera,

época en la cual las lluvias son escasas (CONAGUA, 2020). Pese a su enorme potencial químico y médico (Argueta y Cano, 1994; Alamri y Moustafa, 2010; Singh, 2010; Reyes *et al.*, 2011; Moustafa *et al.*, 2013; Hernández-Ruiz *et al.*, 2020), las investigaciones e información de esta especie aún es muy reducida, por lo tanto, no se encontró información en la literatura revisada acerca de las características fisiológicas o morfológicas que permiten a *A. ochroleuca* sobrevivir en ambientes adversos.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar los cambios fisiológicos y morfológicos que suceden en *A. ochroleuca* durante la etapa vegetativa en condiciones de déficit hídrico, bajo la hipótesis de que posee mecanismos fisiológicos y características morfológicas que le permiten sobrevivir en condiciones limitantes de humedad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Argemone ochroleuca* Sweet

Argemone es un género de la familia de las papaveraceae, comprende de 24 (Schwarzbach y Kadereit, 1999) a 32 especies (Ownbey, 1997). *Argemone mexicana* y *Argemone ochroleuca* son las especies con mayor distribución (Otto y Verloove, 2016).

Argemone ochroleuca Sweet, conocida como chicalote, cardo santo o amapola de monte en español y “pale mexican prickly poppy” en inglés, es una hierba anual de vida corta. Su ciclo biológico inicia a principios de otoño con la germinación y posterior desarrollo, al inicio de forma arrositada y luego alargamiento del tallo, y la diferenciación del primordio floral, la floración, el desarrollo de las cápsulas que contiene las semillas, maduración de semillas, diseminación y muerte de la planta (West y Wein, 1971).

2.1.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo con la APG IV system (Angiosperm Phylogeny Group, 2016), la clasificación de *Argemone ochroleuca* es la siguiente:

Superreino: Eukaryota

Reino: Plantae

Filo: espermatofita

Subfilo: Angioespermae

Clase: Eudicotiledonae

Orden: Ranunculales

Familia: Papaveraceae

Género: *Argemone*

Especie: *A. ochroleuca* Sweet

2.1.2 Morfología

Descripción de *A. ochroleuca* de acuerdo con Rzedowski y Rzedowski (2005).

Hierba anual o perenne de vida corta, de color verde azulado a verde grisáceo, presenta látex amarillo o anaranjado, altura de 30 a 120 cm, con espinas rectas, perpendiculares, blanquecinas, de tamaños diferentes; tallos en número reducido, que se ramifican en la parte superior; hojas son oblanceoladas, máximo de 35 cm de largo, las hojas superiores son elípticas a ovaladas, de menor tamaño, todas presentan lóbulos hasta casi llegar a la nervadura principal, los lóbulos son dentados, con una espina en el ápice; los botones son oblongos, de dimensiones de 8 a 18 mm x 4 a 11 mm (largo x ancho) con 3 o más espinas finas en cada sépalo, con un cuerno apical y espina correspondiente de 5 a 12 mm; flores de 3 a 7 cm de diámetro; generalmente con 6 pétalos de color amarillos pálido o crema, de forma obovada, obtusos a elípticos; de 20 a 75 estambres con filamentos y anteras amarillas; fruto capsular de 3 a 6 valvas, oblongo o fusiforme, de 2 a 5 cm x 1 a 1.8 cm (largo x ancho), presenta espinas esparcidas, extendidas, blanquecinas, gruesas de 6 a 12 mm de longitud, a veces mezcladas con otras de tamaño menor; semillas globosas-apiculadas, de 1.5 a 2 mm de diámetro.

2.1.3 Composición química

Se han identificado compuestos químicos en el látex de las semillas, las hojas y la raíz de *Argemone ochroleuca*, los cuales son del grupo de los bencilisoquinolínicos (ABIs), derivados de la tirosina que son típicos de las papaveráceas (Lines-Hidalgo, 2019). Entre los alcaloides identificados se encuentran la atropina, berberina (Espinoza y Sarukhán, 1997), quelertina, protopina, sanginarina, heleritrina, escouletrina y copsitina (Haisova y Slavik, 1973; Israilov *et al.*, 1986; Chelombit'ko y Nazarova 1988; Takken *et al.*, 1993; Reyes *et al.*, 2011).

Además de los alcaloides se encontraron ácidos grasos (Fletcher *et al.*, 1993) y flavonoides (Chang *et al.*, 2003). Moustafa *et al.* (2013), identificaron en el látex compuestos como dodecametilciclohexasiloxano ($C_{12}H_{36}O_6Si_6$), 6-Nitro-imidazol (1, 2a) pirimidina ($C_7H_5N_3O_2$), Tetradecametilcicloheptasiloxano ($C_{14}H_{42}O_7Si_7$), 4-(2,2-dimetil-6-

metilenciclohexilidina)-3-metilbutan-2-one ($C_{14}H_{22}O$) y Dietil Ftalato ($C_{12}H_{14}O_4$) mediante cromatografía de gases-masas; Asimismo, estos autores indican que estos compuestos podrían ser una fuente antifúngica (Moustafa *et al.*, 2013).

2.1.4 Origen y distribución

A. ochroleuca es nativa de Norteamérica, se encuentra desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de México (Martínez, 1996). Sin embargo, según el Centro de Biociencia Agrícola Internacional (Centre for Agricultural Bioscience International en inglés) actualmente se distribuye como planta invasiva en Centro y Sudamérica, Oceanía, África, Europa y Asia (Figura 1).

Esta especie se distribuye en climas templados, subtropicales y secos o áridos, habita en zonas de disturbio como zanjas, ruinas, terrenos perturbados, como carreteras, campos de cultivo y jardines (CABI, 2020).

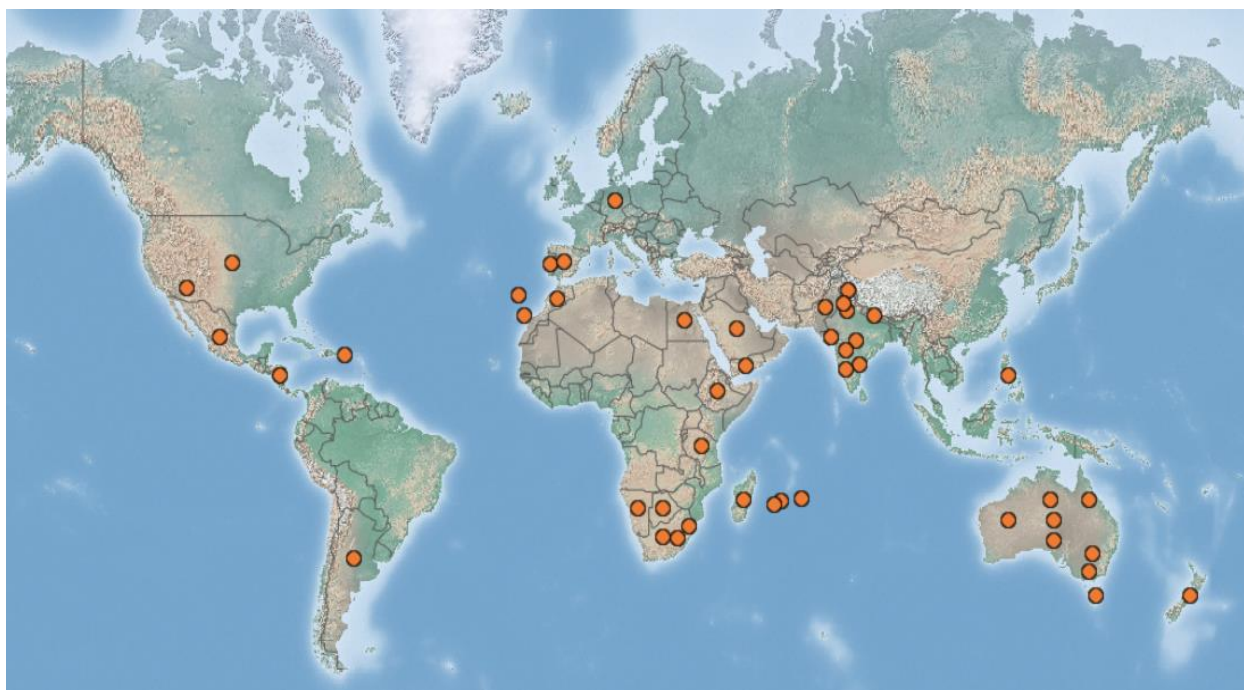


Figura 1. Distribución actual de *Argemone ochroleuca* Sweet en el mundo. Fuente: Centre for Agricultural Bioscience International, 2020.

2.1.5 Importancia

La importancia de estudiar *Argemone ochroleuca* radica en su estatus de planta invasiva, así como en la latencia de sus semillas. Se ha documentado que en países como la India, Etiopía, Arabia Saudita, Sudáfrica y Australia, se ha convertido en un problema para la agricultura, causa pérdidas económicas considerables e impacta en forma negativa a la biodiversidad (Reddy y Pattanaik, 2007; Van der Westhuizen y Mpedi, 2011; Heard y Segura, 2012; Moussa *et al.*, 2012; Maema *et al.*, 2016).

Sin embargo, pese a ser una planta invasiva se le atribuyen propiedades curativas en la medicina tradicional, como remedio para la tos, bronquitis, asma, cataratas, alergias, enfermedades oculares, sedante, antidiabético, desórdenes dermatológicos y propiedades antiespasmódicas (Argueta y Cano, 1994).

Asimismo, se han encontrado propiedades químicas que pueden tener potencial económico, como los estudios e investigaciones acerca de sus propiedades antibacterianas (Alamri y Moustafa, 2010; Reyes *et al.*, 2011), fúngicas (Singh, 2010; Moustafa *et al.*, 2013) y médicas como relajante muscular (Sánchez-Mendoza *et al.*, 2008); además de su uso como materia prima para energía renovable (Fatima *et al.*, 2017). En la mayoría de estas investigaciones se ha demostrado que la mayor parte de la planta es aprovechable: raíces, semillas, hojas y látex.

2.2 Estrés en plantas

El estrés es una condición habitual o inusual causada por uno o varios factores bióticos o abióticos en un organismo, lo cual, ocasiona una alteración en la homeostasis del individuo. Entre los tipos de estrés abiótico y biótico se puede mencionar la sequía, cambios en la temperatura, radiación, presencia de metales pesados y toxinas, pH y salinidad en el suelo fuera del intervalo adecuado para el óptimo desarrollo, competencia por recursos, herbivoría y efectos adversos causados por hongos y bacterias patógenos, virus, entre otros (Gaspar *et al.*, 2002; Blum, 2016).

Como organismos sésiles, las plantas son afectadas severamente por los cambios desfavorables en el ambiente. Según Shao *et al.* (2008), las plantas responden en

diferentes formas al estrés ambiental, dicho estrés afecta la expresión génica, el metabolismo celular lo que se transforma en alteraciones en el desarrollo y por ende en la productividad de las plantas. Además, por el hecho de que las plantas están formadas por fitómeros de edad ontogénica diferente, la respuesta (fisiológica, morfológica y bioquímica) de los órganos y tejidos varían; así mismo, la etapa fenológica juega un papel importante en la respuesta al estrés (Gray y Brandy, 2016).

El término “Strain” (tensión-deformación) propuesto por Levitt (1980), es utilizado para definir las respuestas físicas y químicas que ocurren en una planta sometida a estrés. La tensión-deformación puede ser reversible o irreversible, esto depende de las respuestas de las plantas, ya sea defensa (tolerancia o resistencia) o adaptación, lo cual a su vez depende del historial de la planta, del tipo del estrés, la prolongación y la intensidad a la que está sometida (Gaspar *et al.*, 2002; Shao *et al.* 2008; Blum, 2016).

2.2.1 Estrés por déficit hídrico

Dentro de los diferentes tipos de estrés abiótico, el déficit hídrico es uno de los más comunes y perjudicial para las plantas, debido a que su contenido de agua generalmente está por encima del 80%.

El estrés hídrico se produce cuando en la rizosfera no hay suficiente agua para satisfacer la demanda de la planta, en un lugar y momento determinado, lo que conlleva a que el potencial hídrico y la turgencia de la planta se reduzcan; y por lo tanto, afectan su metabolismo y productividad (Lawlor y Cornic, 2002; Shao *et al.*, 2008; Anjum *et al.*, 2011). De manera natural, el déficit hídrico puede ser causado por precipitación escasa, disminución en la humedad en el suelo, sustrato con poca capacidad de retención de agua, evaporación alta, salinidad y temperaturas altas o bajas (Hu *et al.*, 2006). La respuesta de las plantas para enfrentar el estrés hídrico varía de acuerdo con la duración e intensidad del estrés, asimismo, influye la etapa fenológica, el historial y la capacidades de las plantas para resistirlo (Taiz y Zeiger, 2010).

2.2.1.1 Respuestas de las plantas al déficit hídrico

El mecanismo de las plantas para enfrentar el déficit hídrico desencadena una serie de respuestas fisiológicas y morfológicas complejas, que implican cambios adaptativos y resultados que pueden ser perjudiciales (Chaves *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2006; Guerfel *et al.*, 2009; Ahuja *et al.*, 2010).

Entre las aptitudes fisiológicas para prevenir la pérdida de agua y tolerar el déficit se encuentra el cierre de estomas, disminución de la actividad fotosintética, alteración en la extensibilidad de la pared celular, y la generación de metabolitos que pueden ser tóxicos para otros organismos (Chaves *et al.*, 2002; Ahuja *et al.*, 2010; Osakabe *et al.*, 2014). Asimismo, los efectos del estrés hídrico se observan en la morfología de la planta, como reducción de tamaño, disminución del diámetro del tallo, área foliar y raíces en comparación con la morfología de las plantas sin estrés hídrico (Engelbrecht, 2001; Chartzoulakis *et al.*, 2002; Guerfel *et al.*, 2009; Babé *et al.*, 2012). Todas estas respuestas de las plantas varían de acuerdo con la especie, la historia y edad de la planta, la severidad y la duración del déficit.

Shao *et al.* (2008) enumeraron tres niveles de severidad y duración de déficit hídrico y la respuesta de las plantas. El primer nivel es el estrés hídrico moderado, el cual consta de una ligera pérdida de agua que conduce al cierre de estomas y la limitación del intercambio gaseoso. El segundo nivel es la desecación, es decir, una pérdida mayor de agua que conduce a la interrupción de los procesos metabólicos y las actividades celulares (Smirnoff, 1993; Osakabe *et al.*, 2014). Por último, el estrés hídrico severo interrumpe la fotosíntesis hasta culminar en la muerte.

Cabe mencionar que la relación que existe entre el potencial hídrico (Ψ_A), el potencial osmótico (Ψ_π), el potencial de turgencia (Ψ_T), la fotosíntesis y la conductancia estomática (g_s) es un punto clave en los procesos metabólicos de las plantas para tolerar el estrés, lo cual a su vez determina el crecimiento, diferenciación y el éxito reproductivo de las especies vegetales (Dickson y Tomlinson, 1996; Chartzoulakis *et al.*, 2002; Donoso *et al.*, 2011). Por lo tanto, la interrupción de los procesos metabólicos causa la muerte a las plantas expuestas a déficit hídrico severo.

Sin embargo, cuando el déficit hídrico se desarrolla de forma lenta, las plantas pueden presentar algún grado de aclimatación y adaptarse a dicha condición pero con consecuencias como la disminución en el área foliar y las raíces (Potters *et al.*, 2007; Moreno, 2009), así como el ajuste fotosintético, disminución de la absorción de iones y el metabolismo de nutrientes, aumento o disminución de hormonas y carbohidratos (Blum, 1996). En la Figura 2 se observa con mayor detalle las respuestas fisiológicas, bioquímicas y moleculares que suceden en una planta expuesta a estrés hídrico.



Figura 2. Respuestas fisiológicas, bioquímicas y moleculares que ocurren en una planta en condición de estrés hídrico. Fuente: Shao *et al.*, 2008.

2.2.1.1.1 Reducción del potencial hídrico

La reducción del potencial hídrico es la principal consecuencia del estrés hídrico en la planta; y por lo tanto, una reducción en el contenido de agua conduce a la disminución de turgencia, cierre de estomas, marchitamiento y disminución en el crecimiento celular (Shao *et al.*, 2008).

Desde la perspectiva de la termodinámica, el potencial hídrico (ψ_A) o potencial químico del agua, se define como la energía libre para realizar trabajo. Este concepto es utilizado en fisiología vegetal para determinar el estado hídrico de la planta, la atmósfera y el suelo. El término hace referencia a la energía libre del agua pura, cuyo valor es cero y representa la máxima energía libre que puede tener el agua (Hsiao, 1973; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Taiz y Zeiger (2010) indicaron que “Los elementos principales que contribuyen al potencial hídrico de la planta son: concentración (solutos) y presión de turgencia”, los cuales se resumen en la siguiente fórmula:

$$\psi_A = \psi_s + \psi_p$$

Con relación a los elementos que constituyen el potencial hídrico, el potencial de solutos u osmótico (ψ_s) hace referencia a la presencia de solutos en el potencial hídrico, es decir, que a mayor cantidad de solutos, la energía libre (potencial hídrico) disminuye, por lo tanto, su valor siempre será negativo. El potencial de presión (ψ_p) indica la presión ejercida sobre las paredes de la célula vegetal, el cual tiene un valor positivo (que ocurre cuando el agua entra dentro de la célula y que causa que la membrana plástica ejerza presión en la pared celular, manteniendo la rigidez de la planta). (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Taiz y Zeiger, 2010).

2.2.1.1.2 Intercambio de gases

Los estomas desempeñan un papel importante en el intercambio de gases, debido al mecanismo de apertura y cierre, el cual regula la conductancia estomática, el suministro

adecuado de CO₂ y la tasa de transpiración (Buckley, 2017). La apertura y cierre de los estomas está contralada por la diferencia de presión de turgencia de las células oclusivas que rodean los poros estomáticos (Taiz y Zeiger, 2010), dicha presión de turgencia está regulada por la disponibilidad de agua, la variación en el déficit de presión de vapor, la temperatura y las características morfológicas de los estomas, además de las características de la epidermis de la hoja (Medrano *et al.*, 2002; Aliniaiefard y van Meeteren, 2013; Toro *et al.*, 2019).

Se ha documentado que el estrés por déficit hídrico, provoca la oclusión de los poros por parte de las células oclusivas, ocasionando una disminución en la conductancia estomática (Prado *et al.*, 2018). La rápida respuesta de los estomas a condiciones ambientales adversas, permite que las plantas puedan optimizar el CO₂ absorbido y llevar a cabo el intercambio de gases con la pérdida mínima de agua (Ache *et al.*, 2010).

El porómetro, además del IRGA (analizador de gases en el espectro infrarrojo), es un instrumento comercial para medir la conductancia estomática, que está basado en un sistema cerrado de difusión dinámica, que mide la tasa de aumento de la humedad relativa causada por el vapor de agua liberado a través de los estomas (Monteith *et al.*, 1988, citado por Toro *et al.*, 2019).

2.2.1.1.3 Fenotipo

Una forma en que las plantas responden a cambios en el ambiente es a través de cambios en la constitución de sus características físicas, es decir, en el fenotipo; a esta capacidad se les conoce como plasticidad fenotípica (Nicotra *et al.*, 2010). Estas expresiones estructurales se deben al genotipo, al medio y a la interacción del genotipo y el medio cambiante. Sin embargo, la plasticidad no sólo afecta e induce cambios morfológicos, sino también ajusta el comportamiento fisiológico de la planta (Zhao *et al.*, 2019).

Dentro de las respuestas fenotípicas al estrés hídrico se encuentra la reducción del tamaño de la parte aérea de la planta, “ya que un individuo de mayor tamaño usa el agua más rápido y en mayor cantidad que una de menor tamaño” (Blum, 2011). Otra respuesta

común es reflejada en la longitud, grosor de la raíz principal y el aumento de raíces secundarias (Kano *et al.*, 2011).

Actualmente existen herramientas que permiten analizar los cambios en el fenotipo de una planta de forma no destructiva o invasiva. Fiorani y Schurr (2013), definieron al fenotipado de plantas como el conjunto de técnicas y protocolos utilizados para medir con precisión el crecimiento, la arquitectura y la composición a diferentes escalas (célula, tejido y órganos) de una planta o de una población (Yang, 2020).

El fenotipado actualmente se puede abordar combinando tecnologías novedosas como imágenes no invasivas, espectroscopia, análisis de imágenes (RGB, fluorescencia, térmica, hiperespectrales y 3D), robótica e informática de alto rendimiento (Furbank y Tester, 2011), lo que nos permite realizar un muestro no destructivo. Sin embargo, las plantas viven entre dos o más medios (parte aérea y terrestre o acuática). Los brotes se desarrollan en el medio aéreo, lo que permite la inspección, medición y muestreo con facilidad. En cambio, las raíces se desarrollan dentro del suelo, lo que limita la observación directa, por lo que aún se considera un obstáculo para su análisis (Atkinson *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2020).

Las características del sistema radical es una parte importante de las plantas ya que a partir de las características de esta, dependerá la obtención de nutrientes y agua del suelo, además del anclaje de la planta (Farooq *et al.*, 2012; Rich y Watt, 2013). En diversos estudios se ha comprobado que el déficit hídrico provoca que algunas especies modifiquen su sistema radical, esto se ve reflejado principalmente en el grosor y longitud de la raíz principal, así como la aparición o disminución de las raíces laterales (Shao *et al.*, 2008; Bao *et al.* 2014). Esta respuesta se debe a que la planta concentra su energía y recursos en el desarrollo del sistema radical sacrificando el crecimiento del vástago (Gray y Brady, 2016; Lima, 2016).

2.2.1.1.4 Acumulación de compuestos osmoprotectores

El estrés hídrico induce respuestas bioquímicas complejas en el metabolismo de las plantas, en el que intervienen macro y micromoléculas, como ácidos nucleicos,

aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, hormonas, iones, radicales libres y elementos minerales. Entre estas respuestas se encuentra la acumulación de solutos compatibles, que interviene en el ajuste osmótico de las plantas en déficit hídrico (Shao *et al.*, 2008; Oraee y Tehranifar, 2020).

Un ejemplo es la acumulación de prolina, un aminoácido cuya concentración se incrementa cuando la planta se encuentra en déficit hídrico (Nolte *et al.*, 1997). Usualmente este aminoácido se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas, sin embargo, “en condiciones de estrés el contenido de prolina aumenta para actuar como agente osmótico, protegiendo a la planta de la deshidratación” (Ojeda-Barrios *et al.*, 2011).

Asimismo, la acumulación de carbohidratos es una respuesta común en las plantas en condiciones de déficit hídrico. Los carbohidratos intervienen en la osmoprotección de membranas celulares y macromoléculas al reemplazar moléculas de agua evitando alteraciones irreversibles, además de mejorar la absorción de agua de la planta. Entre estos carbohidratos se encuentra los azúcares solubles (glucosa, sacarosa, fructosa, manitol), además de trimetilglicina y los azúcares insolubles como el almidón (Rejšková *et al.*, 2007; Ennajeh *et al.*, 2009; Karimi *et al.*, 2018; Oraee y Tehranifar, 2020).

El almidón es un carbohidrato presente en distintas estructuras de una planta, por ejemplo: semillas, polen, hojas y raíz, cuya función consta de dar soporte (rigidez) a las estructuras, además de ser carbohidrato de almacenamiento de energía. Este glúcido de reserva, compuesto por dos polímeros de glucosa, amilopectina y amilosa, se almacena en los cloroplastos de las hojas durante el día a través de una fracción de carbono asimilado por medio de la fotosíntesis; durante la noche, el almidón es movilizado y degradado para proporcionar sustratos para la respiración de las hojas, además de ser utilizado para la síntesis de sacarosa (Beck y Ziegler, 1989; Eliasson, 2004; Zeeman *et al.*, 2010, Li *et al.*, 2016).

III. JUSTIFICACIÓN

Las proyecciones climáticas predicen un aumento e intensidad de los periodos de sequía, además de una mayor evaporación en la humedad del suelo, situación que afectará la diversidad de las especies vegetales. Por lo tanto, solo sobrevivirán las especies que posean mecanismos que les permitan adaptarse a las condiciones prevalecientes. En Texcoco, Estado de México durante el invierno, las temperaturas son bajas y la precipitación pluvial es escasa. Sin embargo, algunos campos de cultivo en barbecho se observan invadidos de *Argemone ochroleuca* Sweet, maleza típica de esta zona. Esta especie sobrevive en las condiciones antes descritas y probablemente será de las especies que persistirán a las condiciones del cambio climático. Por lo tanto, el estudio de los procesos fisiológicos y morfológicos que le permiten a *A. ochroleuca* sobrevivir en las condiciones mencionadas contribuirá al conocimiento de la tolerancia o resistencia de las especies a condiciones de estrés hídrico.

IV. HIPÓTESIS

Argemone ochroleuca Sweet posee mecanismos fisiológicos y morfológicos que le permiten desarrollarse en condiciones limitantes de humedad.

V. OBJETIVOS

Determinar el efecto del déficit hídrico en el desarrollo de *Argemone ochroleuca* Sweet durante la fase vegetativa.

Determinar el efecto del déficit hídrico en el potencial de agua, conductancia estomática, contenido de azúcares solubles (glucosa, fructosa, sacarosa), almidón y prolina de *Argemone ochroleuca* Sweet durante la fase vegetativa.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Material vegetal y muestras de suelo

Se recolectaron frutos maduros en una población silvestre de *Argemone ochroleuca* localizada en un terreno agrícola en barbecho en Santiago Cuautlalpan, Texcoco, Estado de México (19° 26' 12" N y 98° 54' 23" O, 2253 msnm) en la primavera de 2019.

Los frutos colectados se preservaron en bolsas de papel y se secaron a temperatura ambiente, para después separar la semilla del resto del fruto de manera manual. Posteriormente, las semillas se germinaron en cajas Petri con ácido giberélico a concentración 10^{-3} , para obtener las plantas usadas en el experimento.

En la misma ubicación se extrajeron muestras de suelo de tres sitios con una barrena manual en tres profundidades: 0-15, 15-30 y 30-45 cm. Las nueve muestras fueron preservadas en bolsas de polipropileno, y 15 g de estas, se conservaron en pequeños frascos herméticos de plástico en refrigeración a 5 °C, para su posterior análisis.

6.2 Establecimiento del experimento

6.2.1 Ubicación del experimento

La etapa experimental se llevó a cabo en una cámara de ambiente controlado ($26/22 \pm 2$ °C y 12/12 h de luz/oscuridad) y en el laboratorio de Biofísica y Fisiología Vegetal Ambiental del Posgrado en Botánica, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México.

6.2.2 Preparación del material vegetal

Debido a que las semillas de *A. ochroleuca* presentaron latencia, se aplicaron tratamientos físicos y químicos para romper la misma.

Los tratamientos consistieron en colocar las semillas a germinar en ácido giberélico en concentraciones de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} M, peróxido de hidrógeno al 0.1, 0.2 y 0.3 %, cada solución y concentración correspondió a un tratamiento. Otro tratamiento, consistió en

colocar las semillas en nitrato de potasio al 0.1, 0.2 y 0.3 % por 72 h (cada concentración correspondió a un tratamiento), posteriormente se lavaron con agua destilada para eliminar el nitrato de potasio que estuviera sobre la testa y se pusieron a germinar en agua destilada. El tratamiento testigo consistió en poner las semillas a germinar en agua destilada. En todos los casos, las semillas se pusieron a germinar sobre papel filtro humedecido con agua destilada o las soluciones, según correspondió.

Las semillas se mantuvieron a temperatura de 25 ± 2 °C, en germinadoras (Germinator ATTGPT/B, Seedburo Equipament Co., USA). Se registró diariamente el número de semillas germinadas durante 30 días, con estos datos se estimó el porcentaje de germinación total.

6.2.3 Condiciones de desarrollo del material vegetal

Cuando las semillas germinaron después de haber roto la latencia fueron trasplantadas en tubos de de policloruro de vinilo (PVC) de 100 cm de altura con un diámetro de 7.5 cm. Los cuales fueron cortados a la mitad de forma longitudinal, posteriormente vueltos a unir con cinta gris para ductos. En la base se colocó malla mosquitera de nylon, pegada a la base con cinta gris para ductos. Los tubos fueron llenados con suelo extraído de una parcela dentro del campus Montecillo y regados a capacidad de campo previamente; y colocadas en una cámara de ambiente controlado a temperatura a $26/22 \pm 2$ °C y un fotoperiodo de 12/12 h luz/oscuridad.

6.3 Tratamiento y diseño experimental

El suelo donde se realizó el trasplante se mantuvo a capacidad de campo durante 30 días para favorecer el establecimiento de las plántulas. Posteriormente se aplicaron los tratamientos que constaron de dos condiciones de humedad: sin déficit hídrico (testigo) y déficit hídrico. El testigo se mantuvo en riego constante, mientras que el tratamiento de déficit hídrico se suspendió el riego hasta la culminación del experimento.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar. La unidad experimental estuvo representada por una planta por tubo. Se realizaron seis muestreos

destruictivos, espaciados por siete días. El primero fue al inicio de la aplicación de los tratamientos, y los posteriores con una semana de diferencia entre cada uno de ellos.

De un grupo de 15 plantas por condición hídrica, se dividieron en: A) cinco se utilizaron para medir las variables: conductancia estomática, potencial de agua del vástago, potencial de turgencia, potencial osmótico, fenotipado de vástago y raíz. Asimismo, se midió potencial de agua en el tubo en tres estratos de profundidad. B) tres plantas por tratamiento se utilizaron para cuantificar azúcares, C) 3 unidades experimentales para determinar prolina. Por último, D) cuatro plantas por tratamiento para cuantificar peso seco y peso fresco. En total se usaron 30 plantas por muestreo.

6.4 Medición de variables

6.4.1 Curva de retención de humedad

Para determinar la humedad del suelo que se utilizó en el experimento, las muestras fueron secadas a temperatura ambiente durante 72 h, removiendo constantemente para obtener un secado uniforme, posteriormente fueron tamizadas en una malla de separación media-fina. Se colocaron porciones de suelo en anillos de hule de aproximadamente 1 cm de alto y 6 cm de diámetro, sobre un plato de cerámica poroso. El plato se cubrió de agua hasta la saturación del suelo y a continuación se colocó en la olla para agregarle la presión requerida para la elaboración de la curva de retención de humedad (Richards, 1941).

Cuando las muestras están en equilibrio (es decir que ha dejado de salir agua del tubo de descarga) se transfieren a recipientes de aluminio y se pasan para obtener el peso húmedo (PH), después se secan en una estufa a 105 °C y se pesan para obtener el peso seco (PS).

Se determinó el porcentaje de humedad con la siguiente formula (Richards, 1941):

$$\% \text{ humedad} = \frac{\text{PH} - \text{PS}}{\text{PS}} \times 100$$

6.4.2 Conductancia estomática

Para determinar la conductancia estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y la intensidad de luz ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se utilizó un porómetro AP4 Leaf Porometer (Delta-T, UK). La conductancia se midió en la quinta hoja joven completamente expandida en 5 plantas dentro de la cámara de ambiente controlado a las 11 de la mañana, un día antes del inicio de los tratamientos y cada dos días durante el desarrollo del experimento.

6.4.3 Potencial hídrico, osmótico y de turgencia del vástago

Para medir el potencial hídrico del vástago se cortó la parte aérea de cinco plantas a nivel del suelo y se introdujo en la cámara de presión de Scholander (Modelo 615D, PMS instruments, USA) se le aplicó presión mediante gas nitrógeno, y cuando en la base del tallo apareció la primera gota de la savia, se registró la presión ejercida que se mostró en el manómetro de dicha cámara. Enseguida, el vástago se envolvió con papel aluminio, se sumergió en nitrógeno líquido y posteriormente se conservó en un congelador a -33°C , para su posterior uso en el análisis del potencial osmótico.

Después de dos días, las muestras se descongelaron y se extrajo la savia del vástago. Se utilizaron $10 \mu\text{L}$ de muestra que fue colocada en un osmómetro de presión de vapor (Vapor Pressure Osmometer 5520, Wescor, Inc, USA) para medir el potencial osmótico.

El potencial osmótico se calculó con la ecuación de Van't Hoff:

$$\psi_{\pi} = -CRT$$

Donde:

ψ_{π} = potencial osmótico

C = concentración molal

R= constante general de los gases

T= temperatura absoluta ($^{\circ}\text{K}$)

El potencial de turgencia se calculó a partir de los valores obtenidos del potencial hídrico (ψ_A) y osmótico (ψ_π) con la siguiente ecuación:

$$\Psi_T = \psi_A - \psi_\pi$$

6.4.4 Potencial de agua en el suelo

En cinco tubos, el potencial de agua en el suelo se determinó en tres estratos: superior (0 - 15 cm), medio (45 - 60 cm) e inferior (85 - 100 cm) del tubo. Para extraer las muestras de suelo, al tubo se le quitó la cinta gris para ductos, así como la base de malla mosquitera, se abrieron y se tomaron ± 5 g de suelo. El suelo se depositó en viales y se guardaron en refrigeración para posteriormente determinar el potencial hídrico mediante un psicrómetro de punto de rocío (Dwepoint Potentia Meter, METER Group, EUA).

6.4.5 Fenotipado

6.4.5.1 Vástago

El desarrollo de la planta y la detección de los efectos del estrés se analizaron en la plataforma de fenotipado planta-sensor LabScanalyzer (LemnaTec GmbH, Aachen, Alemania) a través de imágenes RGB (luz visible) (Yang *et al.*, 2014, citado por Yang *et al.*, 2020). Las imágenes se analizaron con el paquete de software de LemnaTec (LenmaGrid, LemnaBase y LemnaMiner versión 6.14). Los datos de los rasgos morfométricos obtenidos con el software fueron: el área, la longitud entre las hojas más alejadas entre sí (Caliper Length), la compacidad (Compactness) y la cobertura total del área (Convex Hull Area).

Debido las dimensiones de la cámara del LabScanalyzer, los tubos se cortaron a 25 cm para introducirlos a la cámara y capturar las imágenes.

6.4.5.2 Raíz

Después de separar las mitades unidas de los tubos y tomar las muestras de suelo, con cuidado se retiró el exceso de suelo con abundante agua corriente. Las raíces se lavaron

y se colocaron en charolas con agua para después ser escaneadas en un escáner Epson perfection V750 pro y analizadas con el software WinRHIZO Pro (Régent Instrument Inc., Canadá).

6.4.6 Materia fresca y seca del vástago y raíz

Las plantas se cortaron desde la base de la raíz, separando la parte aérea y extrayendo con agua corriente la raíz del suelo. Para obtener el peso fresco se pesó el vástago en una balanza analítica (SCIENETECH, SA 120, USA), sin embargo, el peso fresco de la raíz se omitió por una posible absorción de agua durante su extracción, por lo que se consideró que el peso fresco tendría sesgo.

Ambas partes de la planta se colocaron por separado en bolsas de papel a un horno de laboratorio (Model 17, Thelco, USA) a 80 °C hasta alcanzar un peso constante.

6.4.7 Cuantificación de azúcares solubles del vástago y raíz

Para la cuantificación de azúcares se utilizaron entre 20 y 30 mg de tejido vegetal liofilizado por muestra de vástago y raíz. En un mortero se maceró cada una de las muestras vegetales con 1 mL de etanol al 80 % en agua, el extracto acuoso se recolectó en un vial de microcentrífuga (D3024, DLAB Scientific Inc., USA) y se agitó en un vórtex. Las muestras se calentaron a baño maría a 80 °C durante 1 hora. Se dejaron a temperatura ambiente unos minutos para posteriormente centrifugar a 314 RCF durante 10 minutos. Se extrajo la fracción soluble en un vial nuevo y se almacenó a 4 °C hasta su uso.

Con la pastilla obtenida se realizó una segunda extracción, se adicionó al tubo que contenía la pastilla 300 µL de etanol al 80 %, se agitó vigorosamente en un vórtex y se siguió el mismo proceso que la extracción anterior. Después de centrifugar, se extrajo el sobrenadante, mezclándolo en el mismo tubo de la extracción anterior.

Con la solución acuosa del sobrenadante se cuantificaron los azúcares solubles, cuya técnica se basa en lo descrito por Viola y Davis (1992) y Scholes *et al.* (1994). Se colocaron 200 µL de la mezcla de reacción en cada pozo de la microplaca, se añadieron

3 μL de la solución acuosa obtenida de la muestra de tejido vegetal y 5 μL de agua destilada. Se añadió 10 μL hexoquinasa a cada muestra contenida en la microplaca, las muestras se leyeron en el espectrofotómetro (Multiskan FC, ThermoFisher Scientific, USA) a 340 nm, a esto resultados se consideraron como blanco. Después se incubó a 37 °C por 30 minutos, y para determinar la glucosa, a cada muestra se le añadió 10 μL de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (0.03 U/ μL de amortiguador de mezcla reacción), se mantuvo a 37 °C otros 30 min y se leyó a 340 nm.

El contenido de fructosa se determinó después de agregar 20 μL de glucosa-6-fosfato isomerasa (0.03 U/ μL de amortiguador mezcla de reacción) a las muestras de la microplaca, se mantuvieron a 37 °C por 30 min, se leyó a la misma longitud de onda. Por último, se determinó la sacarosa, después de adicionar 10 μL invertasa, las muestras se mantuvieron a la misma temperatura que las anteriores lecturas durante 45 min, se leyó a la misma longitud de onda. Para cuantificar cada azúcar se utilizó una curva de calibración de glucosa a 5 mM ($R^2= 0.99$), fructosa a 5 mM ($R^2= 0.97$) y sacarosa a 5 mM ($R^2= 0.97$).

6.4.8 Cuantificación de almidón

La extracción de almidón de tejidos del vástago y raíz se hizo a partir de la pastilla resultante de la extracción de azúcares solubles, siguiendo la técnica de Boehlein *et al.* (2018).

Al tubo de microcentrífuga que contenía la pastilla se le añadió 500 μL de dimetilsulfóxido (DMSO), se agitó en un vórtex y se calentó a ebullición en baño maría durante 30 minutos para solubilizar el almidón. Posteriormente, de cada muestra de tejido se extrajeron dos muestras de 100 μL cada una. A una de las muestras de 100 μL se le añadió 450 μL de buffer amiloglucosidasa (AMG) y a la otra muestra se le adhirieron 450 μL de buffer AMG y 20 μL de enzima AMG (1 unidad de α -amilasa y 10 unidades de β -glucosidasa).

Las reacciones fueron incubadas a 55 °C durante 12 h y posteriormente agitadas. Se colocaron 7.5 μL de la muestra en una microplaca para tomar la primera lectura en un espectrofotómetro a 490 nm. Después de añadir la hexoquinasa, se incubó por 30 minutos a 37 °C, la placa fue leída en el espectrofotómetro para obtener la segunda

lectura. Después de agregar la enzima G6PDH, se incubó 30 minutos para tomar la tercer lectura en el espectrofotómetro. La concentración de almidón por gramo de materia seca se calculó a partir de una curva de calibración estándar de glucosa.

6.4.9 Cuantificación de prolina del vástago y raíz

Se siguió la técnica de Bates *et al.* (1973) para cuantificar la prolina del vástago y raíz en tejidos liofilizados.

Se tomaron 5 mg de tejido del vástago y 15 mg de material vegetal de raíz. Cada muestra se maceró en un mortero con 5 mL de ácido sulfosalicílico al 3%, posteriormente, el macerado se filtró en un embudo con papel filtro Whatman No 1. Se tomaron 2 mL de la muestra filtrada en un tubo de ensayo y se le adicionaron 2 mL de ninhidrina ácida y 2 mL de ácido acético glacial. Las muestras se homogeneizaron en un vórtex, para posteriormente ser incubadas en baño maría a 90 °C durante una hora. Inmediatamente después del tiempo de incubación se pusieron en agua fría para detener la reacción. A cada tubo se agregó 4 mL de tolueno y se volvieron a agitar en un vórtex para mezclar las dos fases que se formaron.

Se extrajo muestra de la fase superior para la cuantificación de prolina. La muestra se leyó en un espectrofotómetro (Evolution 300, Thermo Electron Corporation, USA) a 520 nm. La concentración de prolina por gramo de materia seca se calculó a partir de una curva de calibración de prolina.

6.5 Análisis estadístico

Los datos se analizaron en el programa estadístico InfoStat versión 2018e como un diseño completamente al azar. Se utilizó entre 3 y 5 repeticiones por variable.

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

Donde:

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

Se obtuvo ANOVA y comparación múltiple de medias a través de la prueba de Tukey con un $\alpha=0.05$. Las gráficas se realizaron con el programa SigmaPlot 12.3.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Rompimiento de latencia de las semillas

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El mejor tratamiento para eliminar la latencia de las semillas de *A. ochroleuca* fue el de ácido giberélico a 10^{-3} M con un el 66 % de germinación. La germinación de las primeras semillas se observó aproximadamente a los 10 d de inicio del tratamiento. El segundo tratamiento con mayor porcentaje de rompimiento de latencia fue el ácido giberélico con una concentración de 10^{-4} M; Los otros tratamientos no tuvieron efecto en el rompimiento de la latencia.

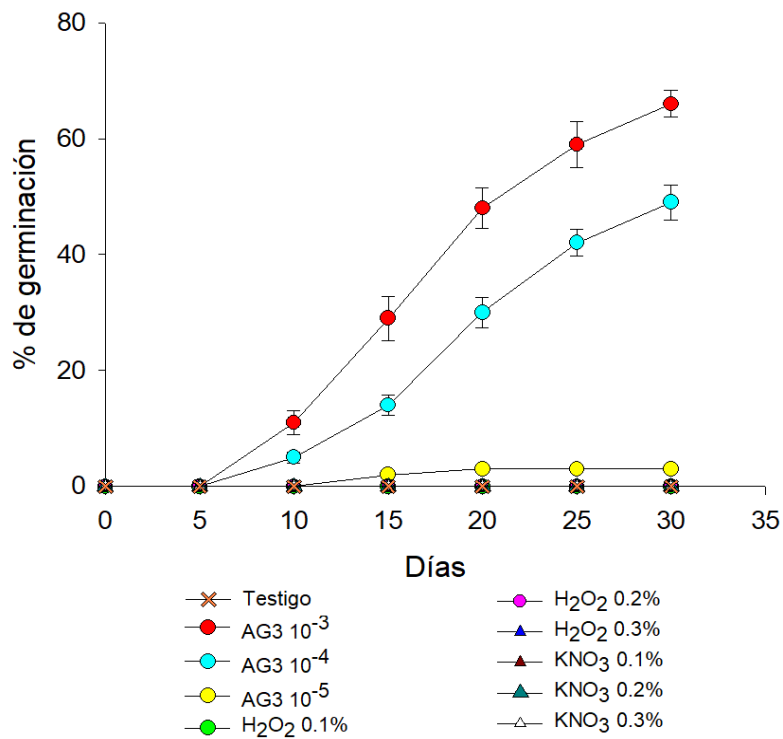


Figura 3. Cinética de germinación en porcentaje de semillas de *Argemone ochroleuca* Sweet. Cada punto es la media de cuatro repeticiones, cada repetición constó de 100 semillas \pm EE.

Baskin y Baskin (2004) definen la latencia de la semilla como aquella que no germina en un periodo de tiempo específico a pesar de estar bajo factores físicos y ambientales que son favorables para la germinación. Un estudio realizado por Karlsson *et al.* (2003)

sugirió que las semillas de *Argemone* presentan una latencia profunda y en la naturaleza forman bancos de semillas que germinan después de varios años de su liberación de la cápsula.

El rompimiento de latencia puede ser promovido por las giberelinas, en cuyo proceso, el ácido giberélico degrada la proteína DELLA, lo que permite que GAMYB (regulador genético) active los genes del α -amilasa durante la germinación de la semilla (Wang *et al.*, 2020). Después del rompimiento de latencia, las giberelinas se liberan del embrión de la capa de aleurona, donde inducen la expresión de varios genes que codifican enzimas hidrolíticas (Jacobsen *et al.*, 1995). Chauhan *et al.* (2019), reportaron que el AG₃ promovió el porcentaje de germinación, longitud de brotes y raíces, peso fresco y seco de avena en estrés salino.

7.2 Potencial de agua en el suelo

El balance entre el agua en el suelo y la planta es vital para que esta última tenga un óptimo desarrollo. Un potencial de agua bajo, determina respuestas negativas en la morfología y fisiología de la planta (Kang y Wan, 2005). Por lo tanto, las diferencias del potencial hídrico del suelo (Ψ_{Asuelo}) entre los tratamientos son cruciales para este experimento, debido a que se podrán analizar los efectos de esta variable en la respuestas fisiológicas y morfológicas de *Argemone ochroleuca*.

En general, se observó diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos en el potencial de agua del suelo en los tres estratos. En el tratamiento con riego, en el estrato superior dicho potencial se mantuvo 0.0 y -0.1 MPa durante los 35 días a partir del inicio de los tratamientos; mientras que en el tratamiento con déficit hídrico varió desde 0.0 MPa a los cero días del inicio del tratamiento hasta -2.0 MPa a los 35 días del inicio el déficit hídrico, la disminución fue gradual y se mantuvo constante.

En el estrato medio, las diferencias fueron menores y se observaron después de los 21 días después de la suspensión del riego (DDSR); en el tratamiento sin déficit hídrico se mantuvo superior a -0.01 MPa y en el tratamiento con déficit hídrico alcanzó -0.5 MPa a los 35 días después del inicio de los tratamientos. En el estrato inferior, se observó la

misma tendencia que en el estrato medio, pero en el tratamiento con riego, el potencial hídrico alcanzó los -0.25 MPa y en el tratamiento con déficit hídrico fue de -0.9 MPa (Figura 4).

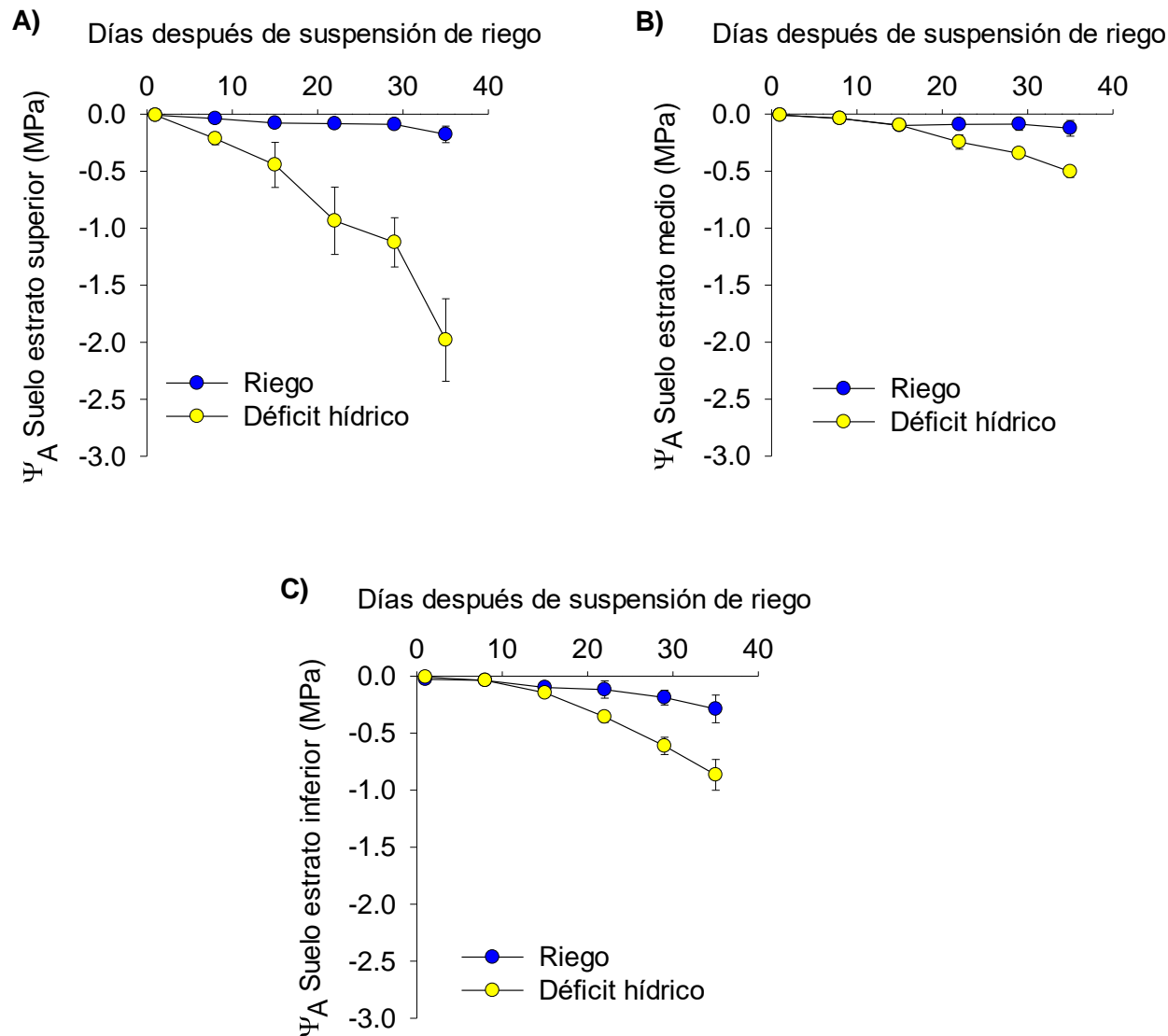


Figura 4. Potencial de agua en el suelo en tres estratos A) 0-15 cm de profundidad, B) 45-60 cm de profundidad, C) 85-100 cm de profundidad en tubos de PVC de 100 cm en los tratamientos de riego y con déficit hídrico aplicados a *Argemone ochroleuca* Sweet. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE.

El estrato superior del suelo al que se le suspendió el riego presentó un menor potencial hídrico debido a que al estar más próximo a la atmósfera demandante de la cámara,

perdió agua por la evapotranspiración y no se repuso por el tratamiento, caso contrario al tratamiento en donde al agua se reponía mediante el riego. Lo anterior coincide con lo consignado por An *et al.* (2018), quienes también encontraron potenciales hídricos menores en las capas superiores del suelo. Asimismo, la disminución del potencial hídrico del suelo en las capas inferiores es debido a la extracción de agua por las raíces (Satchithanatham *et al.*, 2014). Stalham y Allen (2004) encontraron que la raíz de papa en déficit hídrico extraía agua a mayor profundidad mientras que las plantas de riego eran suministradas, a través de las raíces, de capas superficiales.

7.3 Potencial hídrico, osmótico y de turgencia del vástago

En el potencial de agua del vástago se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$). En el tratamiento con riego, el potencial de agua del vástago fue en promedio de -0.18 MPa; mientras que en el tratamiento con déficit hídrico fue de -0.25 MPa (Figura 5A). Según Hsiao (1973), ésta es una respuesta esperada en plantas que están en deficiencia hídrica, ya que el potencial de agua es un indicador del estado hídrico de la planta, en otras palabras, es un indicador fisiológico del estrés hídrico.

Al igual que en el potencial hídrico del vástago, en el potencial osmótico del vástago también se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$). En el tratamiento con déficit hídrico disminuyó 30% en comparación con el de riego, obteniendo un promedio de -1.3 MPa en el tratamiento con déficit hídrico y -0.9 MPa en riego (Figura 5B). El aumento de osmolitos protectores como es la prolina es un factor crucial en el descenso del potencial osmótico (Osakabe *et al.*, 2013), a este proceso también se le conoce como ajuste osmótico, el cual Basu *et al.* (2016) definieron como la acumulación de solutos en las células cuando disminuye el potencial de agua, estos solutos ayudan a mantener la turgencia de la planta. El ajuste osmótico también se relaciona con la conservación de la conductancia estomática, la fotosíntesis, el contenido de agua en las hojas y el crecimiento (Chaves y Oliveira, 2004), además aumenta la capacidad de la raíz para absorber agua (Chimenti *et al.*, 2006).

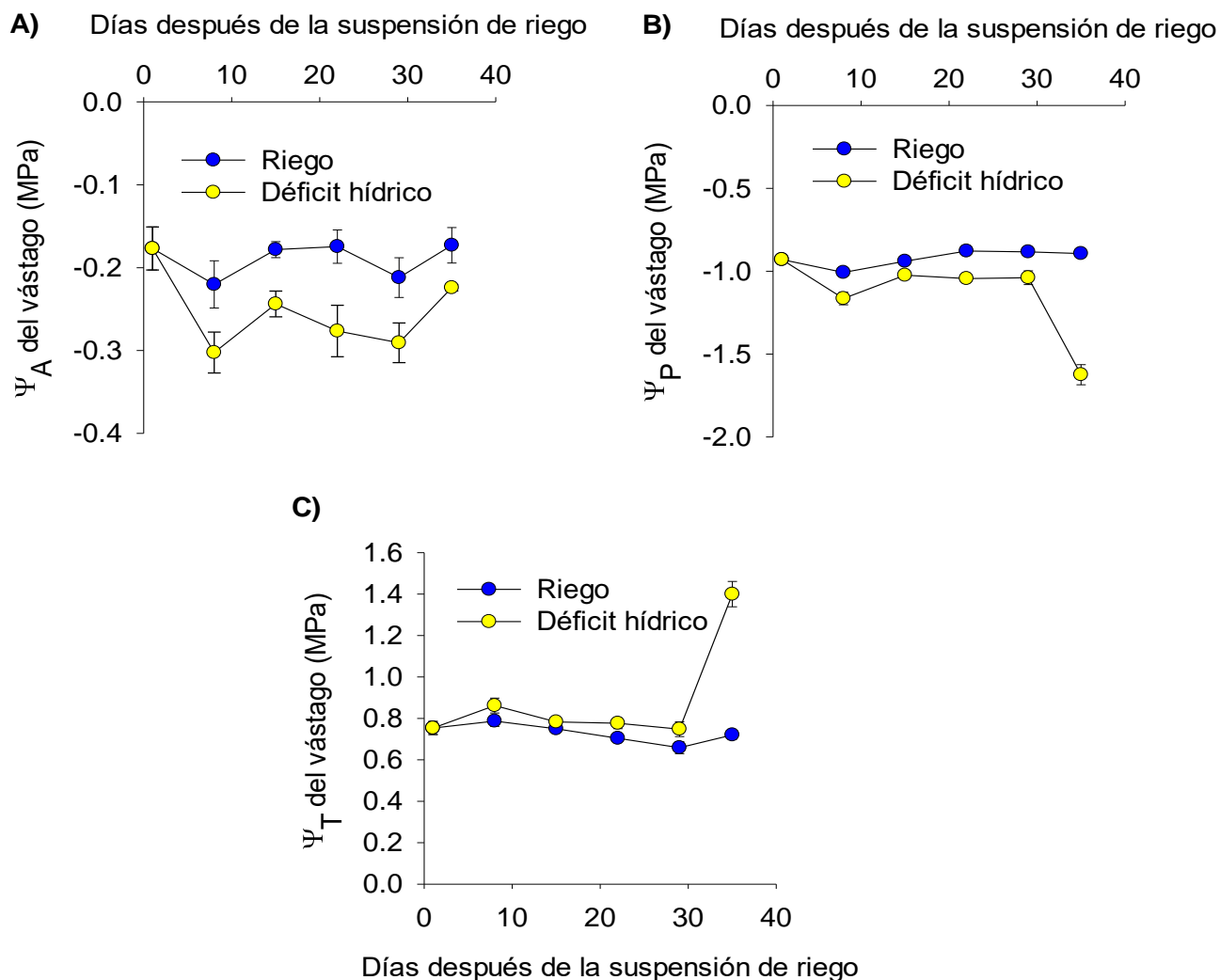


Figura 5. Potencial hídrico (A), potencial osmótico (B) y potencial de turgencia (C) del vástago de *Argemone ochroleuca* Sweet con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE.

El potencial de turgencia del vástago tuvo un comportamiento diferente al potencial hídrico y osmótico del vástago. En esta variable solo se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) a partir de los días veintinueve días después de la aplicación del estrés hídrico, disminuyendo 12% en comparación con el testigo; la máxima diferencia se alcanzó a los 35 días DDSR, cuya disminución del Ψ_T de las plantas con déficit hídrico fue del 49 % en relación con el tratamiento de riego (Figura 5C). Este resultado está ligado con la disminución del potencial osmótico (Figura 5B) que al

descender mantuvo constante el valor del potencial de turgencia, en otras palabras, el aumento de osmoprotectores como la prolina ayudan a que el balance hídrico de la planta se mantenga, evitando la deshidratación de las células, resultando en la conservación de la turgencia del tejido foliar (Oraee y Tehranifar, 2020).

Al igual que los resultados obtenidos con *A. ochroleuca*, el estudio de Sánchez *et al.* (2004) en *Pisum sativum* L. sometido a estrés hídrico obtuvo una correlación significativa entre el crecimiento de la planta, el ajuste osmótico (acumulación de azúcares solubles y prolina) y el mantenimiento de la turgencia de las hojas. De la misma manera, la investigación realizada por Mitchell *et al.*, (2008) en 20 especies vegetales (género *Eucalyptus* sp., *Grevillea* sp., *Oleariak* sp., *Dryandra* sp., *Nuytsia* sp., *Casuarina* sp., *Allocasuarina* sp., *Isopogon* sp., *Beaufortia* sp., *Melaleuca* sp., *Petrophile* sp., *Hakea* sp., *Santalum* sp.) distribuidas en 3 comunidades, sugirió que el potencial hídrico de las hojas y el mantenimiento del potencial de turgencia, además de las condiciones ambientales (periodos de sequía), están relacionadas con la estructura anatómica de la hoja.

7.4 Conductancia estomática

Cuando hay deficiencia hídrica, la respuesta inmediata de las plantas para evitar la pérdida de agua es el cierre de estomas (Basu *et al.*, 2016). La conductancia estomática (g_s) de las plantas que estuvieron en riego (Figura 6) se mantuvo con variaciones superiores a $80 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Mientras que la g_s de las plantas que estuvieron en estrés disminuyó drásticamente a los 7 DDSR, la disminución fue constante hasta alcanzar un valor mínimo promedio ($n=5$) de $22 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a los 25 días después de la suspensión de riego. Cabe mencionar que a partir del día 17 DSR los valores oscilaron entre $22 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $35 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, es decir, que a pesar de estar varias semanas sin riego no se detuvo el intercambio de gases. Estadísticamente hubo diferencias significativas ($P<0.05$) entre la conductancia estomática entre las plantas de riego y déficit hídrico.

El mantenimiento de la conductancia estomática podría ser debido a la humedad presente en los estratos inferiores del suelo, a la cual la planta tuvo acceso por medio de las raíces (Salehi-Lisar y Bakhshayeshan-Agdam, 2016). El experimento de Hepworth *et*

al. (2016), en *Arabidopsis thaliana* con modificaciones en la densidad estomática, mostró una relación entre el aumento y reducción de la conductancia y densidad de estomas con el aumento y reducción del crecimiento del sistema radical, respectivamente. Lo que sugirió un equilibrio en la absorción y pérdida de agua mediante la regulación de los estomas y la raíz.

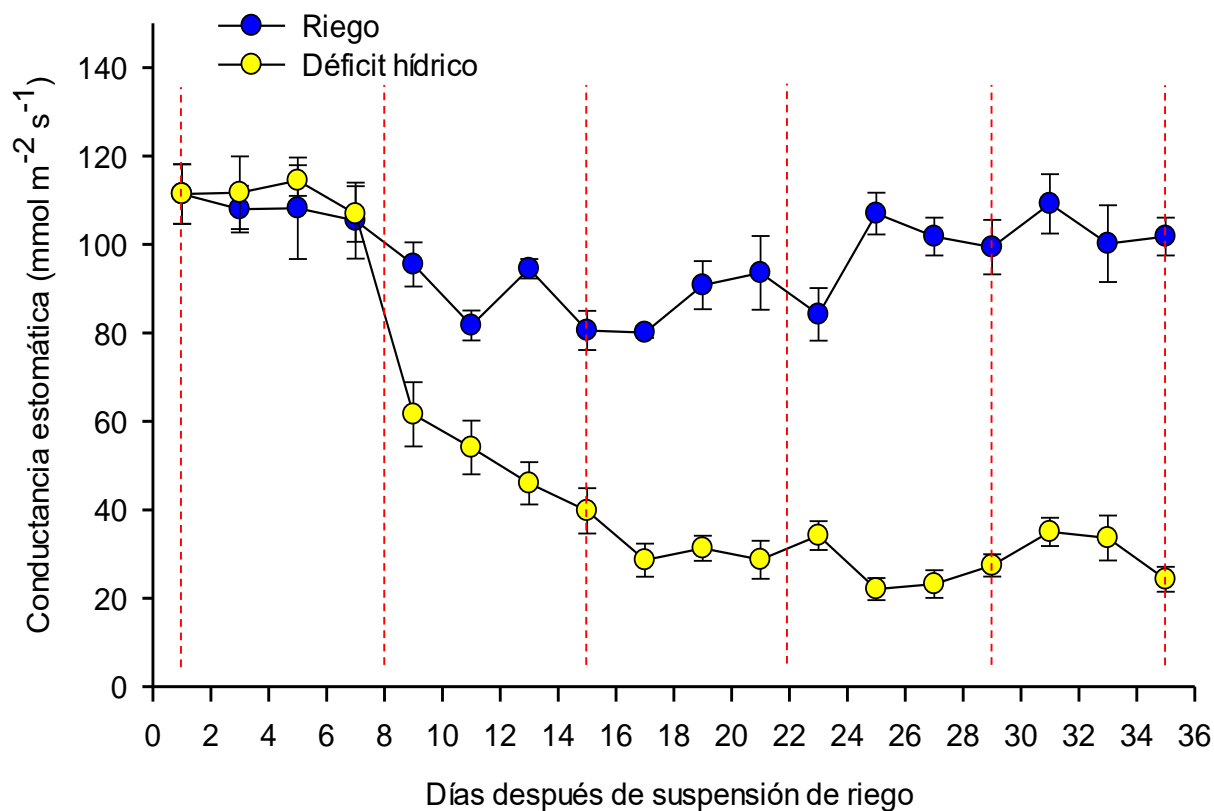


Figura 6. Conductancia estomática de *Argemone ochroleuca* Sweet en riego y con déficit hídrico en el suelo. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE. Las líneas punteadas indican los muestreos.

Aunado a la elongación de raíces, las plantas disminuyen la pérdida de agua por transpiración mediante la reducción del tamaño de las hojas, así como la disminución del número y tamaño de los estomas, además de adaptaciones en la anatomía de la hoja (Basu *et al.*, 2016). La investigación de Xu y Zhou (2008) con *Leymus chinensis* corroboran estos datos, ellos sometieron a *L. chinensis* a estrés hídrico moderado y severo y encontraron una correlación significativa entre el área foliar específica con el

número y tamaño de estomas, además de un efecto positivo entre la conductancia estomática, la tasa neta de asimilación de CO₂ y la eficiencia del uso del agua. Sin embargo, lo más importante es la apertura y cierre de estomas, que no solo es controlado por la presión de turgencia en las células guarda (Osakabe *et al.*, 2014), sino también por las condiciones ambientales (luz, humedad, temperatura, etc.) (Damour *et al.*, 2010) y la producción de ácido abscísico (ABA) (Osakabe *et al.*, 2013).

El ABA no solo interviene en la regulación de las células guarda y la transpiración, en las angiospermas juega un papel importante en el control del ajuste osmótico, el cambio de tamaño en las hojas, densidad y tamaño de los estomas y el desarrollo de las raíces (Negin y Moshelion, 2016).

Con los resultados obtenidos podemos deducir que *Argemone ochroleuca* posee eficiencia en el uso del agua con relación al desarrollo de su raíz, es decir, que existe una correlación entre las estrategias del ahorro del agua en la parte aérea (vástago) y el agua obtenida por las raíces durante el déficit hídrico.

7.5 Fenotipado

7.5.1 Vástago

El fenotipado de plantas a partir del análisis de imágenes detecta y cuantifica los rasgos de las plantas de forma no destructiva, usando herramientas de computación, teledetección, biología y estadística, centrándose en los aspectos estructurales y morfológicos para calcular fenotipos 2D y 3D (Das Choudhury *et al.*, 2019).

Para evaluar el efecto del estrés por sequía en la morfología de *A. ochroleuca* se siguió el crecimiento del vástago desde la suspensión del riego hasta la culminación del experimento a través de imágenes RGB (luz visible), obtenidas de la plataforma de fenotipado planta-sensor LabScanalyzer, ya que este formato de imagen es el utilizado para medir rasgos morfométricos, biomasa y crecimiento de la planta (Yang *et al.*, 2014, citado por Yang *et al.*, 2020).

Los datos de los rasgos morfométricos obtenidos con el software de LemnaTec (LemnaGrid, LemnaBase y LemnaMiner) se obtuvo el área, la longitud entre las hojas más alejadas entre sí (Caliper Length), la compactación (Compactness), es decir, la relación entre la densidad y la arquitectura de la planta (Rahaman *et al.*, 2017) y la cobertura total del área (Convex Hull Area) (Cuadro 1). El área promedio de las plantas que estuvieron en déficit hídrico fue 0.7 % menor que las que estuvieron con riego (1 293.3 mm² per pixel y 1 283.6 mm² per pixel, respectivamente). Lo mismo ocurrió en la longitud de las hojas, las plantas con riego fueron ligeramente más grandes que las plantas en déficit hídrico, la diferencia fue del 4 %. La compactación promedio del vástago en condiciones de riego tuvo un valor de 0.4194, mientras que el valor del vástago con déficit hídrico fue de 0.4193, la diferencia entre ambos fue del 0.5 %. La cobertura total del área siguió el mismo patrón, el vástago en riego tuvo un valor promedio de 164 067 cm², mientras que el vástago en déficit hídrico tuvo 163 489 cm². Ninguna variable medida en el fenotipado tuvo diferencias estadísticamente significativas en las plantas en riego y en déficit hídrico.

Sin embargo, cabe mencionar que la biomasa digital (datos numéricos) obtenida con las imágenes y analizada con el equipo de fenotipado difiere de la biomasa real, es decir, datos obtenidos con el peso fresco y peso seco, ya que la biomasa digital indica que las plantas que estuvieron en sequía fueron mayores que las que estuvieron en riego. Así mismo es necesario mencionar que debido a la magnitud de las plantas que estuvieron en riego, las hojas de estas se tuvieron que cortar por la mitad a partir del cuarto muestreo, no así las plantas en sequía, que se cortaron en el sexto muestreo, para que estuvieran dentro de los parámetros de reconocimiento y análisis del software. Esta alteración en la arquitectura del vástago podrían explicar los valores numéricos atípicos obtenidos con el software de fenotipado.

No obstante, Das Choudhury *et al.* (2019) señalaron que el cálculo de fenotipo a partir de imágenes en 2D es propenso a errores, ya que depende de la vista, enfoque y del zoom de la cámara fotográficas, así como de la iluminación y posición de la planta, de igual manera, mencionaron que la planta al ser una estructura 3D al ser proyectada como 2D se pierde información. Mishra *et al.* (2020) también recalcaron la importancia que

tiene la iluminación en la captura de imágenes, debido a que puede limitar el alcance para el análisis del fenotipo, puesto que, los efectos de la luz interaccionan negativamente con la compleja geometría de la planta.

A partir de las imágenes RGB se observó un crecimiento constante del vástago que, a los 30 días del trasplante de las semillas germinadas, es decir, durante el primer muestreo, las plántulas tenían entre 3 a 5 hojas, sin contar las hojas cotiledonales (Figura 7). Conforme avanzaron las semanas y los muestreos se observaron mayores diferencias entre las plantas que estuvieron en riego y las que estuvieron en déficit hídrico, las principales diferencias se mostraron en el número y el tamaño de las hojas. Cabe mencionar que a partir de los 22 DDSR se registró (de manera visible) un cambio de coloración a un verde más oscuro (glauco) en las hojas de riego (Figura 7G), en las plantas en déficit hídrico este cambio se observó a los 27 DDSR (Figura 7J).

Según Bassu *et al.* (2016), las plantas que crecen en ambientes áridos pueden desarrollar rasgos que le permiten reducir la pérdida de agua. Una de estas adaptaciones es la reducción del tamaño y número de las hojas, como se apreció en las imágenes obtenidas de los vástagos de *A. ochroleuca* en déficit hídrico (Figura 7D, 7F, 7H, 7J, 7L) y los datos obtenidos en el peso fresco y seco del vástago (Figura 10A y B). Los cambios en el tamaño de las hojas, aunado con la actividad estomática, son mecanismos de adaptación que ayudan a las plantas a evitar la sequía al reducir la pérdida de agua por medio de la transpiración (Hsiao, 1973).

Esta característica de reducción del tamaño de las hojas en plantas con estrés hídrico se observó en olivo (*Olea europea* L. var. 'Chemlali' y 'Meski') que redujeron el tamaño de sus hojas 24 y 15 % (Ennajeh *et al.*, 2010). Otro cultivo que se ve afectado por la sequía es el arroz, que según Farooq *et al.* (2010), la sequía redujo (en el cultivar inca IR64 y cuatro líneas casi isogénicas) el número de hojas, el área foliar, la biomasa, la altura, entre otras variables. Asimismo, Bernal *et al.* (2011) reportaron que la sequía redujo el crecimiento de *Erica multiflora* y *Globularia alypum*, sugiriendo que también se afecta la fenología de ambas plantas.

Cuadro 1. Caracteres morfométricos del vástago en riego y déficit hídrico de *Argemone ochroleuca* Sweet. Los datos son la media de 5 repeticiones \pm DE. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$, Prueba de Tukey) en medias con la misma letra en superíndice.

Muestreo	Tratamiento	Area (mm ² per pixel)	Caliper Length	Compactness	Convex Hull Area
Muestreo 1	Riego	600 ^a ± 55	448 ^a ± 17	0.3718 ^a ± 0.0403	91052 ^a ± 5944
	Déficit hídrico	600 ^a ± 55	448 ^a ± 17	0.3718 ^a ± 0.0403	91052 ^a ± 5944
Muestreo 2	Riego	1043 ^a ± 230	518 ^a ± 6	0.3842 ^a ± 0.0427	151787 ^a ± 21938
	Déficit hídrico	1176 ^a ± 149	413 ^a ± 230	0.4403 ^a ± 237.4583	155448 ^a ± 18731
Muestreo 3	Riego	1094 ^a ± 267	525 ^a ± 11	0.3674 ^a ± 0.0310	166499 ^a ± 33258
	Déficit hídrico	1366 ^a ± 104	520 ^a ± 15	0.4672 ^a ± 0.0168	171049 ^a ± 14652
Muestreo 4	Riego	1472 ^a ± 281	531 ^a ± 2	0.4353 ^a ± 0.0527	188694 ^a ± 15955
	Déficit hídrico	1735 ^a ± 144	529 ^a ± 3	0.4856 ^a ± 0.0429	200868 ^a ± 1804
Muestreo 5	Riego	1874 ^a ± 230	532 ^a ± 3	0.5181 ^a ± 0.0573	203180 ^a ± 5303
	Déficit hídrico	1417 ^a ± 372	533 ^a ± 2	0.4172 ^a ± 0.0754	188684 ^a ± 19590
Muestreo 6	Riego	1675 ^a ± 108	532 ^a ± 1	0.4603 ^a ± 0.0286	204516 ^a ± 814
	Déficit hídrico	1408 ^a ± 152	531 ^a ± 1	0.3689 ^a ± 0.4099	193959 ^a ± 14884

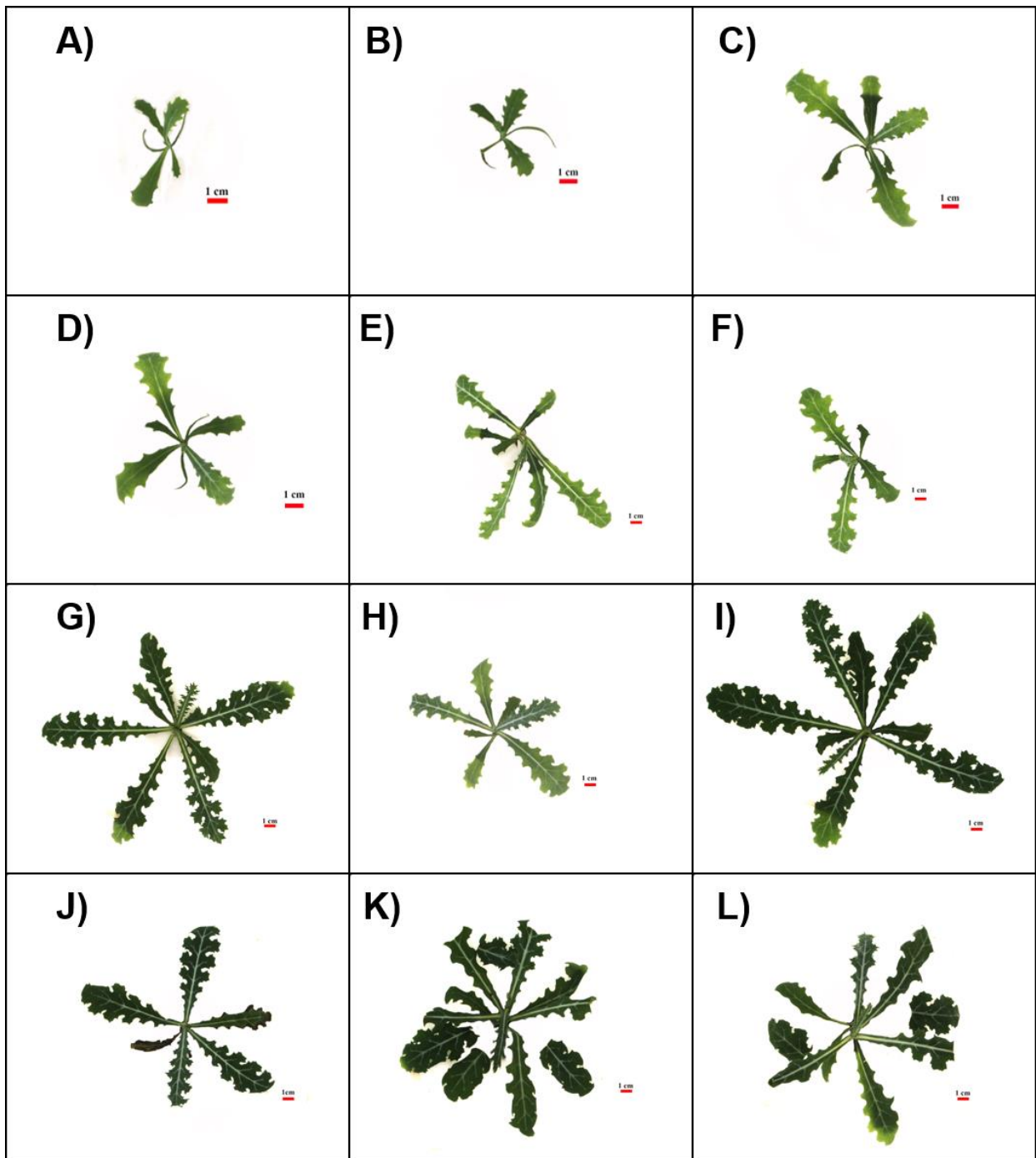


Figura 7. Imágenes RGB del fenotipo del vástago de *Argemone ochroleuca* Sweet con riego y déficit hídrico. Vástagos al inicio del experimento (A y B); plantas en riego los días 8 (C), 15 (E), 22 (G), 29 (I) y 35 (K); plantas en déficit hídrico los días 8 (D), 15 (F), 22 (H), 29 (J) y 35 (L) después de la suspensión de riego.

Otro rasgo en la morfología de las plantas en sequía es el endurecimiento de las hojas (esclerófila), es decir, que la planta en déficit hídrico tiene hojas duras, coriáceas y pequeñas (Aroca, 2012). El recubrimiento de una capa cerosa en la cutícula, además del color de la hoja, así como el enrollamiento de esta está estrechamente relacionado con el ahorro de agua por medio del intercambio de gases y la recepción de luz (Timmusk *et al.*, 2013). Asimismo, Maréchaux *et al.* (2015) relacionaron la dureza de las hojas de árboles de un bosque amazónico con la conservación del potencial de turgencia durante el periodo de déficit hídrico.

El experimento realizado por Mulroy (1979) en *Dudleya brittonii* indicó que la característica glauca de las hojas es responsable de la reflectancia de la radiación ultravioleta, además de la luz visible e infrarroja. Johnson *et al.* (1986) mostraron que la línea glauca de trigo (*Triticum turgidum* L. durum group) tuvo mayor rendimiento en condiciones de sequía a comparación de la línea no glauca (*T. aestivum* L.), esto se debe a que la cera de la línea glauca aumentó la reflectancia de la radiación fotosintética. Es decir que, en sequía esto permite una menor absorción de radiación, lo que podría disminuir la temperatura y reducir el mecanismo de enfriamiento, llevado a cabo por la transpiración, además de una sobreexcitación en el fotosistema II (Ramalho *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2001). Para comprobar estas conjeturas es necesario realizar experimentos detallados en la anatomía y fisiología de la hoja, así como un fenotipado fisiológico con imágenes infrarrojas, fluorescentes o hiperespectrales.

7.5.2 Raíz

En comparación con el fenotipado del vástago, las raíces siguen siendo un obstáculo para la fenómica por el difícil acceso para su completa extracción y visualización, aunado a esto, aún no existe un protocolo establecido para el correcto análisis del sistema radical (Takahashi y Pradal, 2021). Dentro de los múltiples métodos tradicionales y modernos del estudio de raíces, la técnica que consta de extracción del cepellón de suelo que, aunque sigue siendo utilizada para estimar la distribución del sistema de raíces, es limitado ya que solo proporciona imágenes parciales de las raíces y no se puede estimar la arquitectura del sistema radical completo (Wasson *et al.*, 2012). Sin embargo, según

Teramoto y Uga (2020), una fenómica de raíces con mayor precisión se puede obtener con el uso de contenedores (en inglés monolith), donde se delimite el desarrollo de las raíces.

En este experimento, las raíces se desarrollaron en tubos de PVC de 100 cm de largo y 7.6 cm de diámetro; por lo tanto, *A. ochroleuca* al tener una raíz pivotante tuvo espacio suficiente para el crecimiento y desarrollo de su parte subterránea, como se puede observar en la Figura 8, donde se muestran las imágenes de la raíz desde el primer muestreo (30 días después del trasplante de semillas germinadas y suspensión del riego) hasta el sexto muestreo (35 DDSR). A pesar de que la longitud total del sistema radical (Figura 9A) y el área (la biomasa total estimada con el software de fenotipado de raíz: WinRhizo) (Figura 9B) no tuvieron diferencias en riego y déficit hídrico, se observó visualmente el efecto del déficit hídrico en la longitud (Figura 9C) y diámetro de la raíz (Figura 9D) de las plantas que estuvieron en déficit hídrico.

Lobet *et al.* (2011) definieron el sistema radical desde la perspectiva fenómica como una colección de raíces conectadas que representan un conjunto de segmentos unidos, de modo que su fenotipado (usualmente analizado en imágenes 2D) se realiza a partir de coordenadas de píxeles, siguiendo un nivel gris u otro color, que delimita la raíz, para convertirlo en atributos biológicos, intuyendo la biomasa digital (el diámetro y la orientación de los segmentos de las raíces, así como la distancia y composición de los segmentos, en otras palabras, su posición topológica. Cabe mencionar que el fenotipado en imágenes 2D es propenso a errores ya que depende mucho de la colocación de la muestra (separación de raíces, es decir, raíces agrupadas y cruces), así como de la visibilidad y resolución de la cámara, contraste y ruido de fondo, sin embargo, la utilización de un escáner de cámara plana y transparente mejora los resultados, ya que se obtienen imágenes de alta resolución, lo que permite una estimación cercana de la biomasa (diámetro, longitud, ramificaciones) y orientación real de la raíz (Lobet *et al.*, 2011; Atkinson *et al.*, 2019; Das Choudhury *et al.*, 2019). Por lo tanto, podemos deducir que nuestros resultados son una estimación muy cercana del sistema radical que presenta *Argemone ochroleuca* en condiciones naturales.

Las diferencias en la longitud de raíz entre ambos tratamientos se observaron a partir de los 15 días después de la suspensión del riego. La raíz principal de las plantas que estuvieron en déficit hídrico fue 32 % más larga que las raíces de las plantas que se mantuvieron en riego, este también fue el valor máximo registrado. En los siguientes muestreos la raíz principal de las plantas con déficit hídrico fueron 15 % (a los 22 y 29 DDSR) y 8 % (a los 35 DDSR) más largas que el testigo (Figura 9C). Sin embargo, cabe mencionar que las raíces en ambos tratamientos alcanzaron más de 2 metros a los 35 DDSR. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de raíz entre riego y déficit hídrico.

La elongación del sistema radical de una planta hacia sustratos más profundos cuando se encuentra en déficit hídrico permite la absorción de agua de capas subterráneas, esto se debe al ajuste osmótico que se da en las raíces (meristemos radicales) permitiendo que con el aumento de turgencia la raíz siga creciendo (Taiz y Zeiger, 2006); en soya (*Glycine max*) se documentó que el estrés por sequía estimuló el crecimiento de las raíces, cuya elongación dependió de la etapa fenológica de la planta y la profundidad del suelo (Hoogenboom *et al.*, 1987), del mismo modo, la raíz de la papa (*Solanum tuberosum*) se extendió a capas más profundas cuando la planta estuvo en déficit hídrico (Joshi *et al.*, 2016).

El engrosamiento de las raíces puede ser debido al aumento de fibrosidad, es decir, a un desarrollo mayor del parénquima o aerénquima cortical de la raíz, lo que aumenta su rigidez, por lo que muchos autores relacionan esta cualidad con la capacidad para penetrar capas más profundas, duras y secas del suelo, así como la reducción de los costos metabólicos de la planta (Nguyen *et al.*, 1997; Clark *et al.*, 2008; Chimungu *et al.*, 2015). Esta característica de la raíz permite a la planta mejorar la profundidad de las raíces y la captura de agua; por lo tanto, mejorar las funciones fisiológicas de la planta. Así mismo, se ha documentado que las raíces laterales, las cuales tienen que ver con la plasticidad fenotípica del sistema radical, pueden seguir un patrón de desarrollo a partir de la disponibilidad de agua, como es el caso de *Arabidopsis*, maíz, cebada y arroz (Babé *et al.*, 2014; Bao *et al.*, 2014).

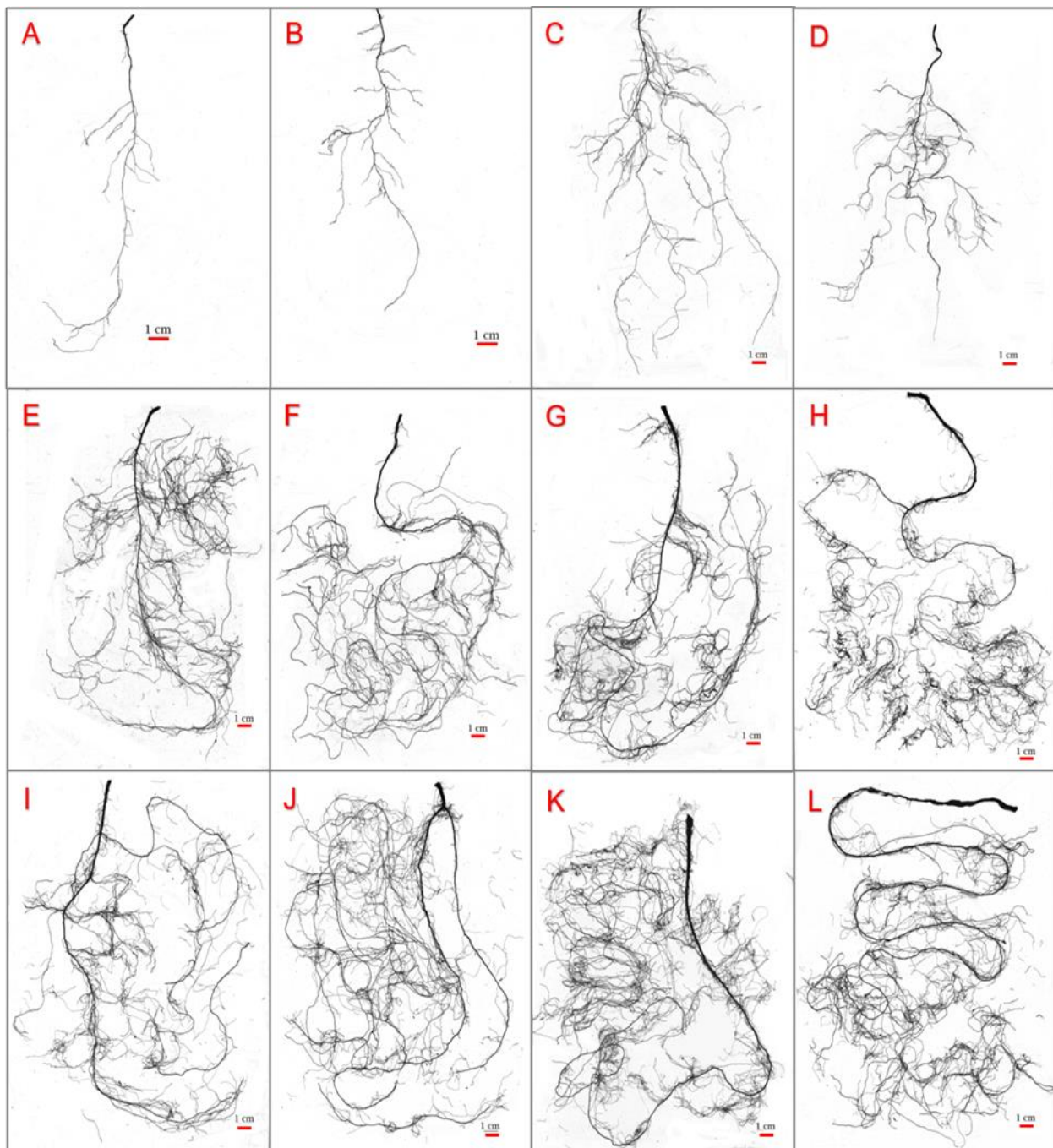


Figura 8. Fenotipo de la raíz de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Raíces al inicio del experimento (A y B); raíces de plantas en riego los días 8 (C), 15 (E), 22 (G), 29 (I) y 35 (K); raíces de plantas en déficit hídrico los días 8 (D), 15 (F), 22 (H), 29 (J) y 35 (L) después de la suspensión de riego.

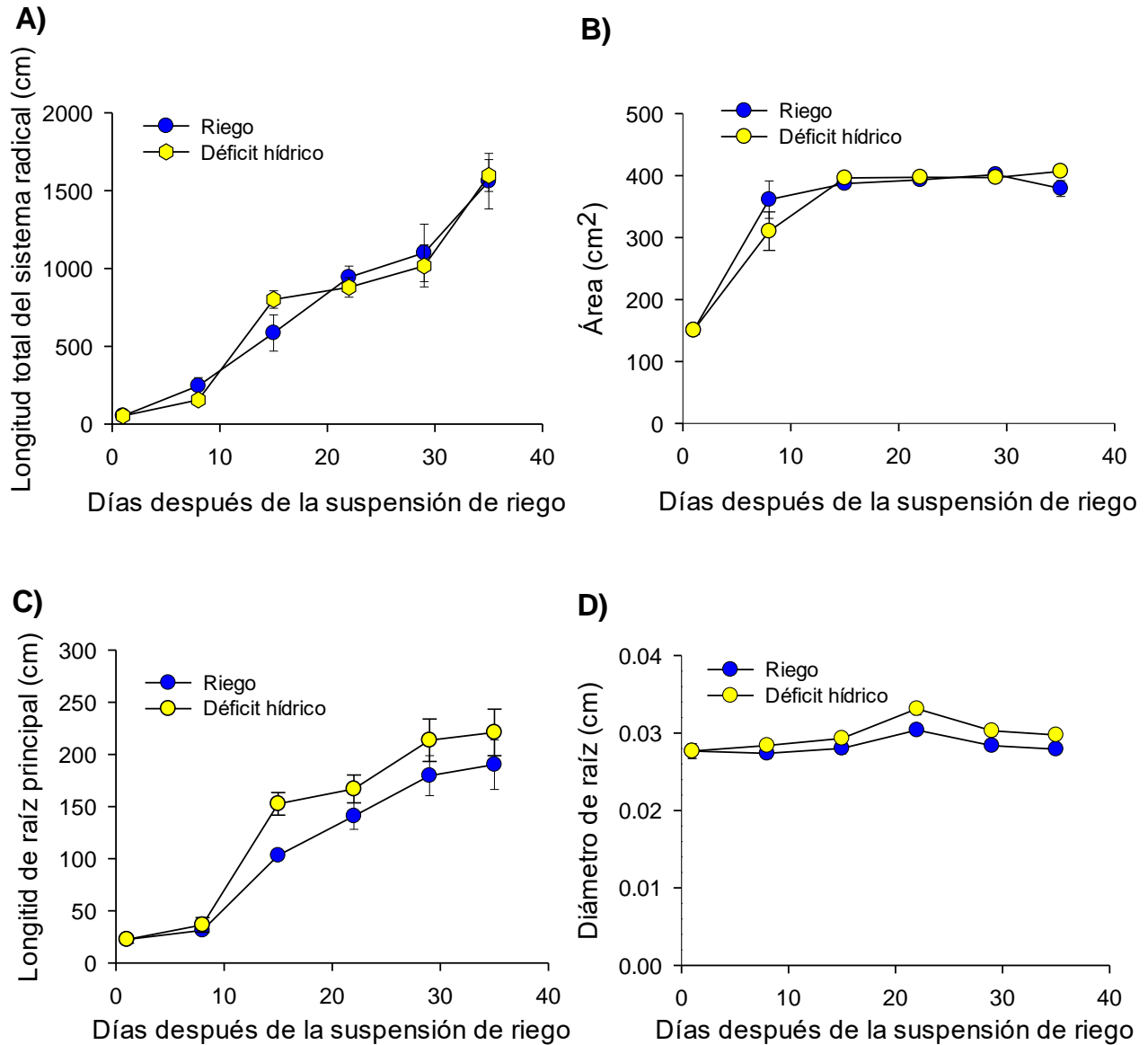


Figura 9. Longitud total del sistema radical (A), densidad total del sistema radical (B), longitud de la raíz principal (C) y diámetro de la raíz principal (D) de raíces de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE.

Los resultados obtenidos del fenotipaje de raíz de *Argemone ochroleuca* son similares a los obtenidos por Faye *et al.* (2019) en *Pennisetum glaucum* L., una planta que al igual que *A. ochroleuca* es capaz de soportar condiciones secas. Estos investigadores encontraron a través del fenotipado que el crecimiento de la raíz de *P. glaucum* depende de la disponibilidad de agua, reduciendo el crecimiento de raíces laterales en las capas

superiores secas del suelo, alargando la raíz a estratos más profundos. Así mismo, encontraron que en los primeros días después de la aplicación del estrés no hubo cambios significativos entre las raíces de plantas testigo y estrés hídrico, los cambios significativos se observaron después de los 31 días, tanto en longitud como diámetro de la raíz principal.

Sin embargo, estas respuestas del sistema de raíces no es general en todas las plantas, ya que se ha demostrado que el déficit hídrico reduce el crecimiento y biomasa fibrosa del sistema radical en plantas como algodón, *Acacia soligna*, populus y aguacate (Ball *et al.*, 1994; Shao *et al.*, 2008). Por lo tanto, podemos suponer que el sistema radical de *Argemone ochroleuca* es un elemento clave para que pueda sobrevivir en entornos ambientales con disponibilidad de agua limitada.

7.6 Peso fresco y seco del vástago, peso seco de la raíz

El crecimiento de *A. ochroleuca* se ve reflejado en el peso fresco y peso seco del vástago. Ambos tratamientos experimentaron un crecimiento exponencial, sin embargo, las diferencias del 33 % entre ambos tratamientos se registraron a partir de los 15 días después de la suspensión del riego. El peso fresco (Figura 10A) de las plantas con riego incrementó entre 30 y 40 % con relación a las plantas en déficit hídrico, por lo que hubo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Los valores de peso seco (Figura 10B) siguieron una tendencia similar a la del peso fresco. El estrés por déficit hídrico disminuyó 21 % del peso seco total promedio de las plantas en comparación al de las plantas testigo, la mayor disminución fue en el tercer muestreo, cuya reducción fue del 45 % en las plantas con déficit en comparación con las de riego. En los siguientes muestreos, el peso seco de las plantas con estrés disminuyó entre el 11 y el 25 %. La variable de peso seco no tuvo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$), por lo tanto, no se encontraron diferencias en el peso seco probablemente esto se deba a que el tiempo de sequía fue corto, de modo que la producción de fotoasimilados no fue diferente entre tratamientos, ya que comúnmente son afectados por la restricción hídrica (Patterson, 1995).

La reducción del área foliar en una respuesta común de las plantas al déficit hídrico, el motivo principal de esta respuesta se debe a la compactación de las células y a la elasticidad de paredes celulares, así como la disminución de la división y diferenciación celular (Kramer, 1983; Taíz y Zeiger, 2006). La reducción del crecimiento está estrechamente relacionada con la eficiencia del uso del agua, la cual se define como “la relación entre la acumulación de materia seca y el consumo de agua durante cierto tiempo” (Shao *et al.*, 2008).

En el experimento realizado por Oraee y Tehranifar (2020) en *Viola x wittrockiana* ‘Swiss Giants Rhinegold’ desarrollado en diferentes niveles de déficit hídrico (40, 60 y 80 % de humedad aprovechable), la mayor disminución del peso seco se registró en el tratamiento con déficit hídrico más severo (40 % de humedad aprovechable). Los resultados obtenidos por Liu *et al.* (2011) en *Salvia miltiorrhiza* en tres niveles de estrés hídrico (70, 50 y 40 % de humedad aprovechable) fueron similares, reportando que el estrés hídrico disminuyó entre un 30 y 40 % el peso seco de la planta.

Un hecho relevante es que después de la pérdida de agua en las hojas, se esperaría que el peso seco en las plantas que estuvieron en estrés fuera mucho menor que el de las plantas sin estrés, tal como ocurrió en el peso fresco, sin embargo el peso seco en los dos tratamientos fue muy similar. Este resultado podría ser debido a una acumulación de constituyentes fibrosos y hemicelulosa en las paredes celulares en las hojas de las plantas con estrés (Rascio *et al.*, 1990) o tal vez a adaptaciones morfo-anatómicas como un aumento en el grosor del parénquima empalizada, lo que podría contener un mayor número de sitios de fijación de CO₂ (Ennajeh *et al.*, 2010). Para verificar estas hipótesis se sugiere realizar análisis especializados en la anatomía de la hoja, para así poder demostrar los cambios que se producen como respuesta a la sequía.

Se observó un aumento del 29 % en el peso seco de las raíces con déficit hídrico en comparación con las raíces en riego a los 22 DDSR. En los siguientes muestreos las raíces en sequía aumentaron entre 25 y 47 %. Sin embargo solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en el peso seco de raíz entre riego y déficit hídrico a los 35 DDSR.

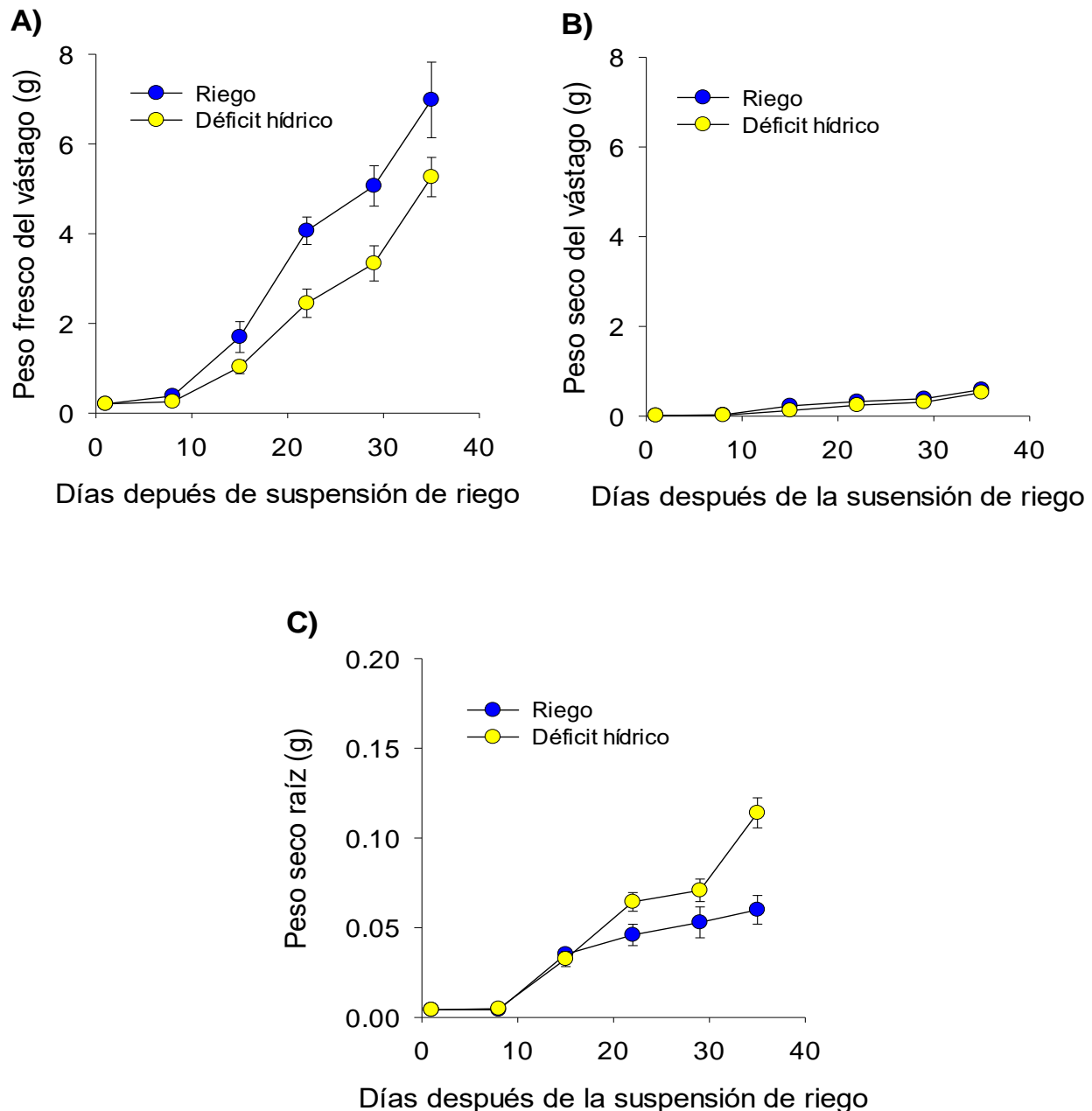


Figura 10. Peso fresco del vástago (A), peso seco del vástago (B) y peso seco de la raíz (C) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE.

El estrés hídrico en el suelo pudo ser un factor importante en el aumento del peso seco de las raíces (Figura 10C) de las plantas que estuvieron en déficit en comparación de las que estuvieron en riego. Los resultados obtenidos concuerdan con el potencial hídrico del suelo (Figura 4) y el fenotipado de raíces (Figura 8 y 9), es decir, entre más

prolongada fue el déficit hídrico, menor fue el potencial hídrico en el sustrato superior, por lo tanto las raíces crecían para explotar estratos con agua disponible.

Al igual que la reducción de la parte aérea de la planta como estrategia para la pérdida de agua, el crecimiento (longitud, densidad y grosor) de raíces es una característica importante para el aprovechamiento de agua disponible (Shao *et al.*, 2008), es decir, para resistir la sequía las plantas desarrollan un sistema de raíces profundo para acceder a agua de sustratos profundos (Hsiao, 1973). Un ejemplo son los resultados obtenidos por Lima (2016) con *Crotalaria retusa*, *Waltheria indica* y *Commelina benghalensis* que presentaron una acumulación mayor de materia seca radical en condiciones de déficit hídrico en comparación con el control.

La distribución de la materia seca al vástago fue diez veces mayor que la de las raíces de las plantas que estuvieron en condiciones óptimas de humedad, mientras que las raíces de las plantas en déficit hídrico tuvieron una distribución de materia seca de 18 a 21 % mayor que el vástago. Por lo tanto, nuestros resultados concuerdan con lo señalado para las plantas resistentes a sequía: “la limitación de la producción de hojas y la reducción del aumento del área foliar, así como el engrosamiento y alargamiento de raíces se considera la primera defensa contra la deficiencia de agua” (Lima, 2016).

7.7 Cuantificación de azúcares solubles: glucosa, fructosa y sacarosa

La acumulación de solutos compatibles, como glucosa, fructosa (monosacáridos) y sacarosa (disacárido) es una respuesta fisiológica de las plantas para hacer frente al estrés hídrico; estos compuestos poseen un bajo peso molecular bajo y pueden acumularse sin causar daño en el metabolismo de la planta. Además, influyen en la regulación y el ajuste osmótico, actuando como osmoprotectores, es decir, que al acumularse aumentan la presión osmótica celular, mantienen el gradiente de absorción de agua en la célula (reemplazan el agua en la superficie de proteínas, complejos de proteínas o membranas) e influyen en la absorción de agua por medio de las raíces (Lisar *et al.*, 2012; Salehi-Lisar y Bakhshayeshan-Agdam 2016).

Se observó un aumento de glucosa entre 20 a 34 % en las plantas con déficit hídrico a partir de los ocho días después de la aplicación del estrés (Figura 11A). La acumulación de glucosa en las plantas en déficit fue de manera exponencial, obteniendo el máximo valor registrado de 145.4 $\mu\text{moles g}^{-1}$ de peso seco a los 22 DDSR, después de este muestreo hubo una disminución en el contenido de glucosa. Las plantas testigo también tuvieron un incremento exponencial en el contenido de glucosa, alcanzado una acumulación máxima de 108.3 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco a los 29 DDSR. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

En el estudio publicado por Sánchez *et al.* (1998) en 49 cultivares de guisantes, la concentración de azúcares solubles (glucosa) aumentaron entre 1.5 a 7 veces en comparación con el testigo, lo cual se correlacionó positivamente con el ajuste osmótico y el mantenimiento de turgencia de las hojas. De la misma manera, Nio *et al.* (2011) reportaron que en trigo en condiciones de déficit hídrico hubo un aumento en la concentración de glucosa tanto en las plantas testigo como en las estresadas, esta última obteniendo valores tres veces más altos que la primera. En este experimento se reportó que la glucosa representó el 21 % de los solutos compatibles investigados en el ajuste osmótico, un porcentaje igual al de la prolina.

Además de su actividad osmoprotectora, la glucosa interviene en el desarrollo y crecimiento de las plantas, al igual que en los procesos metabólicos como la respiración y transporte de electrones en la mitocondria, la regulación en la biosíntesis de ABA, producción de energía y formación de radicales de oxígeno (Munns y Weir, 1981; Koster y Leopold, 1988; Cheng *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004).

La concentración de fructosa (Figura 11B) en las plantas que estuvieron en estrés hídrico también tuvo un aumento (12%) en comparación de las plantas testigo a partir de la primer semana después de la aplicación del tratamiento de déficit hídrico. Sin embargo, se registró un descenso de 4 % a los 29 DDSR, esto puede ser debido a un error humano al momento de la recolección o durante el análisis de este monosacárido, asimismo, el metabolismo es dinámico y puede variar de acuerdo con las condiciones ambientales que se presentan. El contenido promedio de fructosa en plantas estresadas fue de 104.5

$\mu\text{moles g}^{-1}$ de peso seco. Al igual que la glucosa, la fructosa mostró un incremento, no obstante el contenido de la fructosa de las plantas testigo fue inferior que las plantas con estrés, obteniendo un promedio de $73.4 \mu\text{mo g}^{-1}$ de peso seco. Estadísticamente hubo diferencias significativas entre ambos tratamientos ($P < 0.05$).

La fructosa además de ser un soluto compatible, es decir, que interviene en el ajuste osmótico, se ha reportado que posee propiedades involucradas en la protección antioxidante (no enzimático) de las hojas (Bogdanović *et al.*, 2008); sin embargo, los autores también mencionan que el papel de los azúcares (glucosa y fructosa) aún no es claro en el metabolismo redox en las plantas. La fructosa también tiene la capacidad de formar fructanos, compuesto que al igual que el almidón y la sacarosa es un carbohidrato de reserva (Lasseur *et al.*, 2006)

En las investigaciones de acumulación de azúcares en plantas en estrés hídrico, la fructosa muestra un incremento considerable en comparación a las plantas testigo. Nio *et al.* (2011) reportaron un aumento gradual de este monosacárido en trigo sometido a estrés hídrico, no obstante, fue mucho más bajo que la acumulación de glucosa. Los resultados de Aydinsakir *et al.* (2013) obtenidos en maíz en déficit hídrico mostraron un aumento en el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa.

La concentración de la sacarosa fue menor en comparación a los otros dos azúcares solubles (Figura 11C). Las plantas que estuvieron en estrés hídrico tuvieron una concentración 19 % mayor de sacarosa que las planta control. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos.

Los resultados obtenidos en la acumulación de sacarosa dan soporte a los estudios que avalan que niveles bajos de sacarosa permiten un aumento en la concentración de azúcares reductores, es decir, glucosa y fructosa, por medio de la hidrólisis de la sacarosa por la invertasa (Farrant *et al.*, 1993; Leprince *et al.*, 1993; Nio *et al.*, 2011), lo que permite suponer (por sus concentraciones altas) que estos monosacáridos son los principales azúcares involucrados en el ajuste osmótico. Además, la concentración baja de sacarosa puede ser debido a su utilización para la síntesis de otros compuestos o actividades metabólicas (Kerepesi y Galiba, 2000).

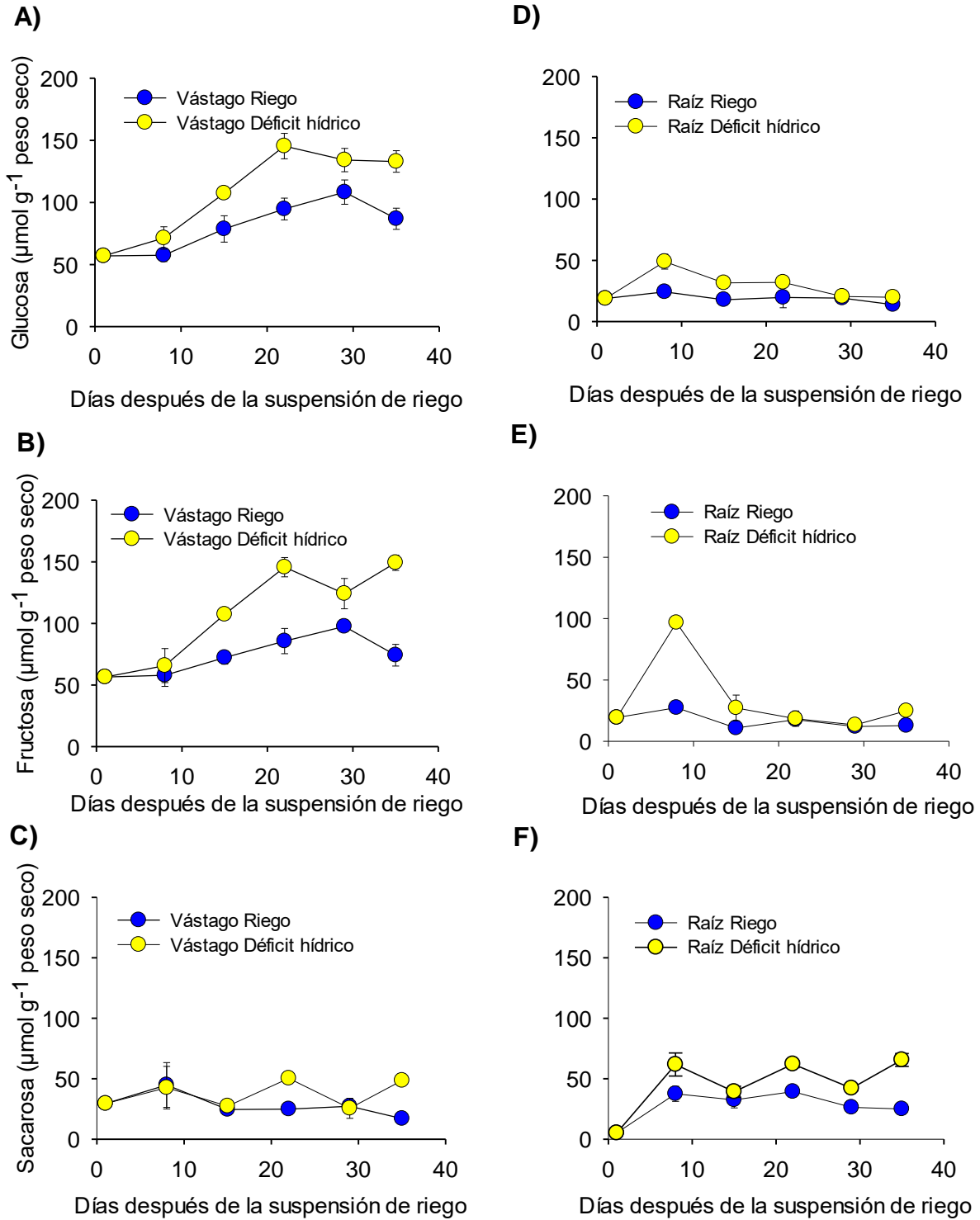


Figura 11. Contenido de azúcares solubles en vástago y raíz de *Argemone ochroleuca* Sweet en riego y déficit hídrico. Glucosa (A y D), fructosa (B y E), sacarosa (C y F). Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE.

La sacarosa es un disacárido que además de ser un compuesto osmóticamente activo, mantiene los fosfolípidos de la membrana celular en la fase líquido-cristalina, de igual manera previene cambios estructurales en las proteínas solubles (Kühn y Grof, 2010). Entre los carbohidratos solubles, la sacarosa es de particular importancia para las plantas en estrés debido a su estrecha relación con los procesos fisiológicos como la respiración, señalización y fotosíntesis, añadiendo que este disacárido es de fácil metabolización (Kerepesi y Galiba. 2000).

Con base en lo anterior podemos argumentar que los resultados obtenidos en la acumulación de azúcares solubles están relacionados con la reducción del potencial osmótico (Figura 5B), mantenimiento del potencial de turgencia (Figura 5C) y la conductancia estomática (Figura 6), al igual que la acumulación de prolina (Figura 13A).

Las acumulación de azúcares en la raíz no fue tan alta como en el vástago. La cantidad de glucosa (Figura 11D) fue 34 % más elevada en las plantas con déficit hídrico en comparación con las del testigo, observándose el mayor incremento 8 días después de la suspensión de riego, descendiendo en los posteriores muestreos. La glucosa en las plantas con riego se mantuvo constante. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en la acumulación de glucosa en la raíz de ambos tratamientos.

En el caso de la fructosa (Figura 11E), se observó un incremento del 47 % este compuesto en las plantas con déficit hídrico, alcanzando un valor máximo de $96.8 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco a los 8 DDSR, sin embargo, se observó que al igual que la glucosa, la concentración disminuyó en los siguientes muestreos. Esta cantidad atípica en la cuantificación puede ser el resultado de mala praxis durante la recolección del material vegetal o durante el análisis del compuesto, también es importante mencionar que el material vegetal obtenido durante este muestreo fue escaso, por lo que el número de repeticiones fue limitado. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la concentración de fructosa en las raíces de plantas en déficit hídrico y con riego.

La sacarosa fue el azúcar soluble con concentraciones superiores en comparación a los otros dos azúcares (Figura 11F). Las raíces en déficit hídrico tuvieron una acumulación 38 % mayor de sacarosa que las raíces control. Hubo diferencias estadísticamente

significativas ($P < 0.05$) en la concentración de sacarosa presente en las raíces entre ambos tratamientos.

Al igual que en el vástago, el ajuste osmótico en la raíz es un mecanismo de adaptación que le permite a las plantas que estaban bajo estrés mantener la absorción de agua y el crecimiento de las raíces. Como se ha mencionado antes, los solutos compatibles como la glucosa, fructosa y sacarosa, además de otras funciones (mantener la integridad de la membrana, estabilizar la estructura de las proteínas y antioxidantes) desempeñan el rol de osmoprotectores (Van den Ende y Peshev, 2013; Königshofer y Löppert, 2015). Estos resultados se observan en el trabajo de Velázquez-Márquez *et al.* (2015) en la raíz de *Zea mays* L. en estrés hídrico, donde la acumulación de glucosa, fructosa y sacarosa comenzó a partir de las 24 horas después de aplicarle estrés, obteniendo cantidades entre 120 y 180 μmol de azúcares solubles totales por gramo de peso fresco a las 72 horas.

Una acumulación alta de sacarosa en las raíces de las plantas en estrés hídrico se ha relacionado con el crecimiento de la raíz por medio de la asignación de más carbono a esta área (Nicolas *et al.*, 1985; Freixes *et al.*, 2002). Durand *et al.* (2016) lo explicaron como el transporte y descarga de sacarosa en las raíces, ya que durante el estrés hídrico las plantas responden asignando más carbono, en el cual el transporte de sacarosa está involucrado. Otra hipótesis que puede explicar la concentración mayor de sacarosa y menor cantidad de glucosa y fructosa en las raíces es la inhibición o disminución de la actividad de la invertasa, la cual es la encargada de la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa (Königshofer y Löppert, 2015), para comprobar estas hipótesis se recomienda el análisis más detallado de azúcares solubles y otros compuestos bioquímicos presentes en las raíces de *A. ochroleuca* durante el estrés hídrico.

7.8 Cuantificación de almidón

El efecto del estrés hídrico fue considerable en la acumulación de este compuesto en las hojas (Figura 12A), el almidón en las plantas que estuvieron en estrés hídrico fue 85 % superior a las hojas de las plantas que no tuvieron estrés. La cantidad máxima de almidón

registrado fue a los 22 DDSR, con un 91 % más de almidón en las planta con déficit, sin embargo, se registró un descenso de almidón a los 35 DDSR, no obstante a la disminución, este compuesto fue 79 % mayor en déficit hídrico. El contenido de almidón en las plantas con estrés y sin estrés hídrico tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Con base a antecedentes se pueden plantear varias suposiciones sobre las elevadas cantidades de almidón en las hojas de *Argemone ochroleuca*, tomando como apoyo los resultados obtenidos en la turgencia, conductancia estomática y azúcares solubles.

El almidón puede acumularse de manera transitoria debido a un desequilibrio temporal (variación estacional, crecimiento, etapa fenológica o estrés) (Savin y Nicolas, 1996; Jordy, 2004). La investigación de Ackerson (1981) indicó que las plantas de algodón adaptadas a sequía mantuvieron la turgencia foliar, por lo tanto, se mantuvo la fotosíntesis activa, dando como resultado una acumulación mayor de glucosa y 5 veces más cantidad de almidón que el control. Así mismo se reportó un agrandamiento 65 veces mayor en los gránulos de almidón contenidos en los cloroplastos de las hojas de plantas de algodón adaptadas (Ackerson y Hebert, 1981). El almidón foliar en manzano también aumentó en déficit hídrico (Yang *et al.*, 2019), a pesar de que los autores mencionan que el resultado obtenido difiere a los reportados con anterioridad en manzano, ellos creen que la diferencia podría deberse al método de tratamiento de estrés hídrico, ya que sus especímenes de un año habían experimentado estrés a corto plazo.

Así mismo, la cantidad de almidón registrados en las hojas de plantas en déficit hídrico pueden deberse a una alteración enzimática causada por el estrés y relacionada con el metabolismo del almidón (Farooq *et al.*, 2012), es decir, que puede haber una baja síntesis y degradación de almidón lo que resulta en la acumulación de este compuesto. Se han identificado enzimas clave en la síntesis de almidón como: ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa), almidón sintasas, enzimas ramificadoras y desramificadoras, también se ha vinculado a la proteína vegetal 14-3-3 en la acumulación de almidón (Beck y Ziegler, 1989; Sehnke *et al.*, 2001; Zeeman *et al.*, 2010).

Thalmann *et al.* (2016) indicaron que los mutantes de *Arabidopsis* *AMY3* y *BAM1* que expresan α -Amilasa y β -amilasa respectivamente, degradan el almidón a una velocidad óptima. Así mismo, mencionaron que los mutantes que carecen de *AMY3* y *BAM1* (ausencia de los dos enzimas) no pueden movilizar el almidón de las hojas durante el estrés; por lo tanto, se reduce la exportación de carbono, afecta la acumulación de osmolitos y el crecimiento de la raíz. Así mismo se ha relacionado positivamente la actividad de la sacarosa sintasa en la acumulación de almidón en los granos de arroz sometida a estrés hídrico (Yang *et al.*, 2003).

Otra posible explicación puede ser debido a la conversión de la sacarosa en almidón (comúnmente en niveles altos) para almacenamiento a largo plazo en los amiloplastos (Fincher, 1989). Estos resultados se observaron en el experimento de Capellades *et al.* (1991), donde brotes de *Rosa multiflora* L. cv. Montse cultivados en cuatro concentraciones de sacarosa, aumentaron el tamaño y la cantidad de almidón conforme se aumentó la concentración, mientras que los brotes en el medio sin sacarosa carecieron de almidón. Otro ejemplo de este hecho ocurrió en vid (*Vitis vinifera*) sometida a estrés hídrico, cuando las hojas redujeron la exportación de sacarosa, el almidón se acumuló (Pastenes *et al.*, 2014).

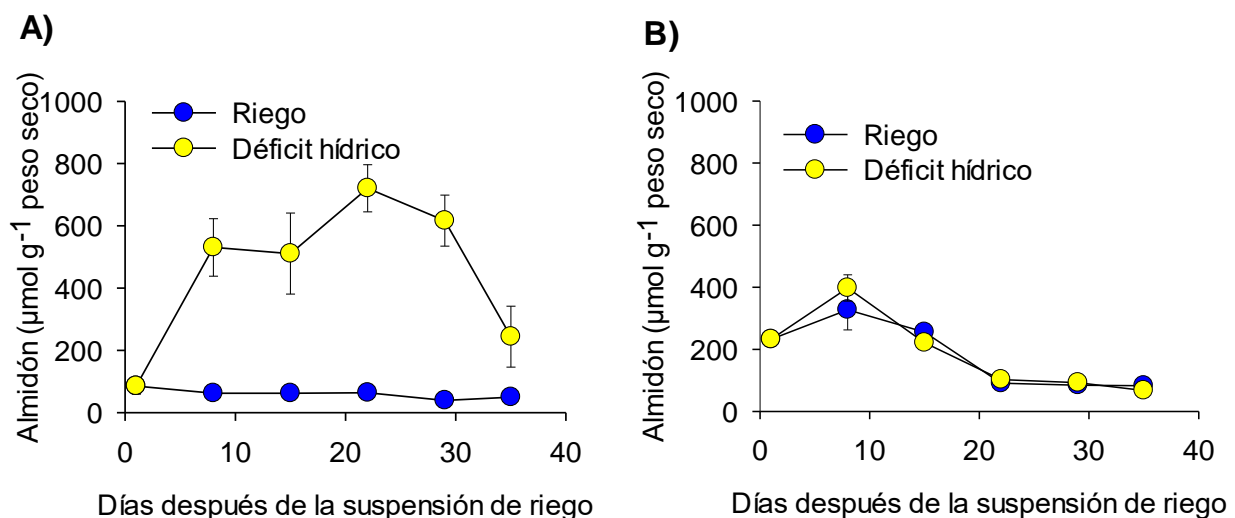


Figura 12. Concentración de almidón en el vástago (A) y raíz (B) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de cinco repeticiones \pm EE.

La acumulación promedio de almidón en las raíces (Figura 12B) de las plantas que estuvieron en déficit hídrico fue 1% mayor que las plantas que estuvieron en riego. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de almidón entre ambos tratamientos.

Las raíces al ser órganos sumideros/vertederos, es decir, de consumo o reserva de energía, el almidón es metabolizado a sacarosa, cuyo objetivo es el crecimiento y elongación de las raíces, así como mantener la absorción de agua por medio de estas (Freixes *et al.*, 2002). También se ha relacionado la acumulación de almidón con los cambios anatómicos en la raíz inducidos por el estrés hídrico, específicamente en la acumulación de almidón en la corteza parenquimatosa de la raíz, ya que se ha descubierto que algunas especies resistentes a sequía poseen un aerénquima más denso en comparación con plantas susceptibles (Singh *et al.*, 2013).

Respecto a la cantidad de almidón cuantificado y al abrupto descenso del contenido de almidón a los 35 días DSR para las hojas y 15 días DSR para la raíz, la hipótesis planteada es una acumulación de almidón mientras la planta se encuentra en condiciones óptimas, durante los primeros días de estrés disminuyen la conductancia estomática y la fotosíntesis, así como la actividad enzimática y cuando el déficit hídrico se prolonga el almidón almacenado se vuelve a movilizar a través de la actividad enzimática para apoyar el metabolismo energético y el crecimiento de la planta. Sin embargo, se necesitan análisis más detallados y específicos para comprobar esta hipótesis.

7.9 Cuantificación de prolina

El contenido de prolina en el vástago de plantas de *A. ochroleuca* que estuvieron en riego continuo (Figura 13A) se mantuvo constante durante todo el experimento. El contenido varió de 0.920 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco en el primer muestreo a 2.015 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco en el cuarto muestreo. El contenido de prolina en las plantas que estuvieron en déficit hídrico se mantuvo constante hasta los 4 primeros muestreos, sin embargo, a medida que se intensificó el déficit, el contenido aumentó, de tal forma que a los 35 días

después de la suspensión de riego, fue 84 % mayor con relación al testigo, alcanzando una acumulación promedio de $9.18 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco.

Estos resultados se relacionan con la mayoría de las variables hídricas, mayormente con el potencial osmótico y el potencial de turgencia, ya que en el sexto muestreo se observó un considerable incremento de osmolitos que redujeron el potencial osmótico y como consecuencia el potencial de turgencia aumentó. Con estos resultados corroboran la actividad osmoprotectora de la prolina.

Está documentado que la acumulación de prolina es una de las respuestas más frecuentes de plantas que están en déficit hídrico. Este aminoácido usualmente se encuentra en pequeñas cantidades en plantas que se desarrollan en estado óptimo (Blum 2017), como se evidenció con los resultados obtenidos en el tratamiento de riego. Sin embargo, cuando la planta está sometida a estrés, la prolina actúa como osmoprotector, evitando la deshidratación de las células, manteniendo la turgencia del tejido foliar y otras células metabólicamente activas (Oraee y Tehranifar, 2020). Además, la prolina acumulada proporciona energía para el crecimiento y desarrollo de la planta; por lo tanto, interviene en la tolerancia del estrés (Chandrashekar y Sandhyarani, 1996).

En el estudio realizado por Oraee y Tehranifar (2020), cuantificaron el contenido de prolina en hojas de *Viola x wittrockiana* 'Swiss Giants Rhinegold' sometido a déficit hídrico (40, 60 y 80 % de riego a capacidad de campo), ellos encontraron que el contenido de prolina fue mayor en estrés por sequía moderado y severo (2 a $2.7 \mu\text{mol g}^{-1}$ de prolina de peso fresco), sin embargo, cuando las plantas sometidas a 20 % de déficit fueron regadas a capacidad de campo el contenido de prolina disminuyó hasta restaurar una cantidad similar a la del testigo.

La investigación realizada por Yamada *et al.* (2005) en *Petunia hybrida* cv. Mitchell silvestre y transgénica (tolerante a sequía) sometidas a déficit hídrico también resultó en la acumulación de prolina. Sin embargo, la cantidad de prolina acumulada en petunia transgénica fue de 1.5 a 3.5 veces mayor que la del testigo, cuya acumulación registrada fue de $0.00008 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco.

La acumulación de prolina en las raíces de las plantas que se mantuvieron en riego estuvo entre 0.368 a 0.879 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco, obteniendo un valor promedio de 0.587 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco (Figura 13B). En las raíces de plantas en déficit hídrico la prolina aumentó un 79 % (3.047) a los 22 días después de la suspensión de riego. La acumulación máxima promedio de las raíces con déficit fue de 3.227 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco a los 35 días DSR. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en el contenido de prolina de las raíces entre ambos tratamientos.

Los resultados obtenidos en la acumulación de prolina en la raíz se relacionan con los valores del potencial hídrico del suelo en los estratos medio e inferior del tubo (-0.244 y -0.358 MPa, respectivamente), ya que en el cuarto muestreo hubo diferencias significativas en el potencial hídrico entre el tratamiento de riego y déficit hídrico (Figura 4).

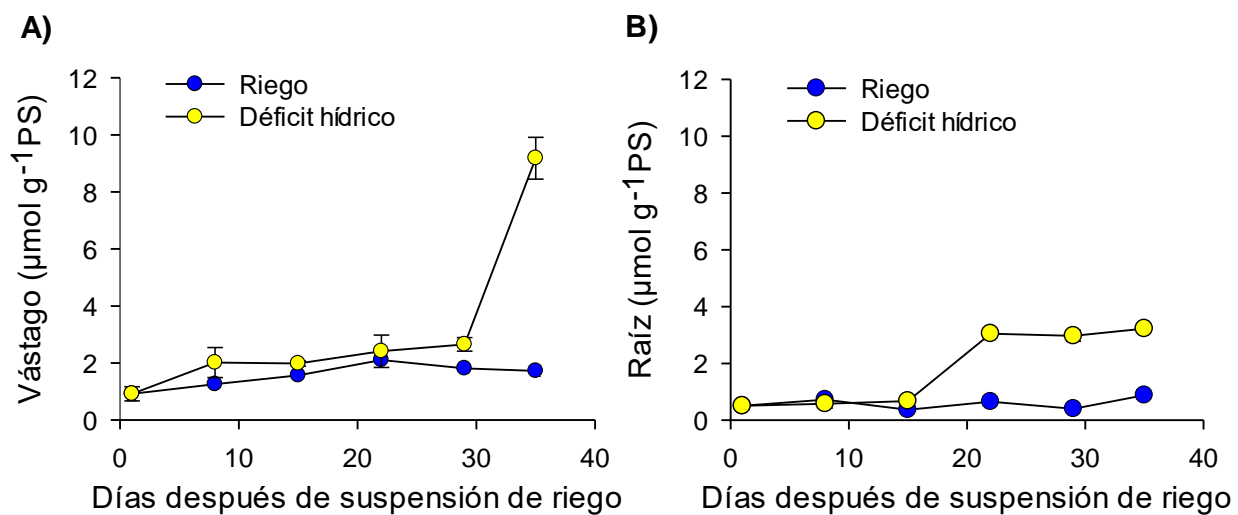


Figura 13. Contenido de prolina en el vástago (A) y raíz (B) de *Argemone ochroleuca* Sweet desarrollada con riego y con déficit hídrico. Cada punto representa la media de 5 repeticiones \pm EE.

En la investigación de Ghaffari *et al.* (2021) en *Beta vulgaris* se reportó un incremento de prolina tanto en hojas como en raíces en plantas en estrés hídrico severo, registrando 7.69 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco para hojas y 2.90 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco para la raíz. Los resultados obtenidos por Manivannan *et al.* (2007) en *Helianthus annuus* siguieron un

patrón similar, el estrés hídrico (60% riego a CC) provocó un aumento en el contenido de prolina en las hojas y raíz.

La prolina es un elemento clave para enfrentar al estrés hídrico en las plantas, por tal motivo se ha intentado obtener plantas resistentes a la sequía por medio de la acumulación de prolina. En la investigación de Dobra *et al.* (2010), se sobreexpresaron dos genes que sintetizan prolina, obteniendo como resultados el incremento de prolina en tabaco sometido a estrés hídrico. Ellos encontraron que la prolina incrementó 100 veces más en estrés severo en las plantas transgénicas que en las testigo, registrando una cantidad mayor en las hojas (entre 150 y 550 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco) y más bajo en las raíces ($< 25 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco) obteniendo un efecto positivo sobre la tolerancia del estrés.

En base a las investigaciones realizadas, podemos asegurar que, con una acumulación mayor de prolina, la planta mejora su tolerancia y resistencia al estrés hídrico. Comparando el contenido de prolina de *Viola x wittrockiana* 'Swiss Giants Rhinegold', *Petunia hybrida* cv. Mitchell, *Beta vulgaris* y *Argemone ochroleuca* se deduce que *A. ochroleuca* tiene la capacidad de resistir déficit hídrico quizá más severo y prolongado que la de este experimento.

VIII. CONCLUSIONES

Las respuestas fisiológicas de *Argemone ochroleuca* Sweet durante la etapa vegetativa indicaron que el estrés hídrico disminuyó la conductancia estomática, el potencial de agua y el potencial osmótico del vástago 8 días después de la suspensión de riego, resultados que concuerdan con la reducción del potencial hídrico del suelo. Asimismo, la acumulación de osmoprotectores como azúcares y prolina aumentó en relación con la prolongación y severidad del estrés. Estos solutos compatibles tuvieron gran relevancia en el ajuste osmótico, manteniendo la turgencia de las hojas, por lo que a pesar de haber transcurrido 35 días sin riego, la conductancia estomática a pesar de ser baja, no cesó. Todos estos resultados indican una rápida respuesta de *A. ochroleuca* para tolerar el estrés.

Dentro de las respuestas morfológicas de *Argemone ochroleuca* para hacer frente al déficit hídrico, la reducción del tamaño del vástago en las plantas en déficit hídrico fue evidente tanto visual como numérico a los 22 días después de la aplicación del estrés. En la misma fecha se registró el aumento de la elongación y el peso seco de la raíz de plantas en déficit, lo que indica que el estrés hídrico conduce a una reasignación de carbono priorizando el crecimiento de raíces, dando lugar a un aumento en la profundidad del sistema radical.

Las cualidades fisiológicas y características morfológicas de *Argemone ochroleuca* le permiten sobrevivir en condiciones de humedad limitada y periodos de déficit hídrico más prolongados que los de este experimento.

IX. LITERATURA CITADA

- AbdAllah, A. (2019). Impacts of Kaolin and Pinoline foliar application on growth, yield and water use efficiency of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) grown under water deficit: A comparative study. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(3), 256-268.
- Ache, P., Bauer, H., Kollist, H., Al-Rasheid, K. A., Lautner, S., Hartung, W., & Hedrich, R. (2010). Stomatal action directly feeds back on leaf turgor: new insights into the regulation of the plant water status from non-invasive pressure probe measurements. *The Plant Journal*, 62(6), 1072-1082.
- Ahuja, I., de Vos, R. C., Bones, A. M., & Hall, R. D. (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends in plant science*, 15(12), 664-674.
- Aliniaiefard, S., & van Meeteren, U. (2013). Can prolonged exposure to low VPD disturb the ABA signalling in stomatal guard cells?. *Journal of Experimental Botany*, 64(12), 3551-3566.
- An, N., Tang, C. S., Xu, S. K., Gong, X. P., Shi, B., & Inyang, H. I. (2018). Effects of soil characteristics on moisture evaporation. *Engineering geology*, 239, 126-135.
- Anderegg, W. R. (2015). Spatial and temporal variation in plant hydraulic traits and their relevance for climate change impacts on vegetation. *New Phytologist*, 205(3), 1008-1014.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African journal of agricultural research*, 6(9), 2026-2032.
- Alamri, S. A., & Moustafa, M. F. (2010). Antibacterial activity of the latex of *Argemone ochroleuca* Sweet. *Saudi Med J*, 31(11), 1207-1210.
- Atkinson, J. A., Pound, M. P., Bennett, M. J., & Wells, D. M. (2019). Uncovering the hidden half of plants using new advances in root phenotyping. *Current opinion in biotechnology*, 55, 1-8.
- Argueta, V. A. & Cano, A. J. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. México.
- Aroca, R. (2012). Plant responses to drought stress. *From morphological to molecular features*. Doi: 10.1007/978-3-642-32653-0.
- Azcon-Bieto, J., & Talon, M. (2013). *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2da Eds. McGraw-Hill -Interamericana de España, S. L. España.
- Babé, A., Lavigne, T., Séverin, J. P., Nagel, K. A., Walter, A., Chaumont, F., ... & Draye, X. (2012). Repression of early lateral root initiation events by transient water deficit

- in barley and maize. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1595), 1534-1541.
- Ball, R. A., Oosterhuis, D. M., & Mauromoustakos, A. (1994). Growth dynamics of the cotton plant during water-deficit stress. *Agronomy journal*, 86(5), 788-795.
- Bao, Y., Aggarwal, P., Robbins, N. E., Sturrock, C. J., Thompson, M. C., Tan, H. Q., ... & Dinneny, J. R. (2014). Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(25), 9319-9324.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5, F1000 Faculty Rev-1554. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Benjamin, J. G., & Nielsen, D. C. (2006). Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. *Field crops research*, 97(2-3), 248-253.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed science research*, 14(1), 1-16.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.
- Beck, E., & Ziegler, P. (1989). Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annual review of plant biology*, 40(1), 95-117.
- Blum, A. (1996). Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. In *Drought tolerance in higher plants: Genetical, physiological and molecular biological analysis* (pp. 57-70). Springer, Dordrecht.
- Blum, A. (2011). Drought resistance—is it really a complex trait?. *Functional Plant Biology*, 38(10), 753-757.
- Blum, A. (2016). Stress, strain, signaling, and adaptation—not just a matter of definition. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 562-565.
- Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, cell & environment*, 40(1), 4-10.
- Boehlein, S. K., Shaw, J. R., Boehlein, T. J., Boehlein, E. C., & Hannah, L. C. (2018). Fundamental differences in starch synthesis in the maize leaf, embryo, ovary and endosperm. *The Plant Journal*, 96(3), 595-606.
- Bogdanović, J., Mojović, M., Milosavić, N., Mitrović, A., Vučinić, Ž., & Spasojević, I. (2008). Role of fructose in the adaptation of plants to cold-induced oxidative stress. *European Biophysics Journal*, 37(7), 1241-1246.
- Buckley, T. N. (2017). Modeling stomatal conductance. *Plant physiology*, 174(2), 572-582.

- CABI (2019). Invasive Species Compendium. Centre for Agricultural Bioscience International.
- Cabuslay, G. S., Ito, O., & Alejar, A. A. (2002). Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. *Plant Science*, 163(4), 815-827.
- Chang, Y. C., Hsieh, P. W., Chang, F. R., Wu, R. R., Liaw, C. C., Lee, K. H., & Wu, Y. C. (2003). Two new protopines argemexicaines A and B and the anti-HIV alkaloid 6-acetyldihydrochelerythrine from formosan *Argemone mexicana*. *Planta medica*, 69(02), 148-152.
- Chandrashekar, K. R., & Sandhyarani, S. (1996). Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* DC plants. *Indian Journal of Plant Physiology*, 1, 44-48.
- Chartzoulakis, K., Patakas, A., Kofidis, G., Bosabalidis, A., & Nastou, A. (2002). Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia horticulturae*, 95(1-2), 39-50.
- Chauhan, A., AbuAmarah, B. A., Kumar, A., Verma, J. S., Ghramh, H. A., Khan, K. A., & Ansari, M. J. (2019). Influence of gibberellic acid and different salt concentrations on germination percentage and physiological parameters of oat cultivars. *Saudi journal of biological sciences*, 26(6), 1298-1304.
- Chaves, M. M., & Oliveira, M. M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of experimental botany*, 55(407), 2365–2384. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh269>
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., ... & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of botany*, 89(7), 907-916.
- Chelombit'ko V. A. & Nazarova L. E. (1988). Alkaloids from several *Argemone* species (*A. ochroleuca*, *A. albiflora*, *A. platyceras*). *Khim Farm Zh* 22: 580-858.
- Cheng, W.H., Endo, A., Zhou, L., Penney, J., Chen, H.C., Arroyo, A., Leon, P., Nambara, E., Asami, T., Seo, M., Koshiba, T. and Sheen, J. (2002) A unique short-chain dehydrogenase/reductase in *Arabidopsis* glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. *Plant Cell* 14: 2723-2743.
- Chimenti, C. A., Marcantonio, M., & Hall, A. J. (2006). Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases. *Field Crops Research*, 95(2-3), 305-315.
- Chimungu, J. G., Maliro, M. F., Nalivata, P. C., Kanyama-Phiri, G., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2015). Utility of root cortical aerenchyma under water limited conditions in tropical maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Research*, 171, 86-98.
- Clark, L. J., Price, A. H., Steele, K. A., & Whalley, W. R. (2008). Evidence from near-isogenic lines that root penetration increases with root diameter and bending stiffness in rice. *Functional Plant Biology*, 35(11), 1163-1171.

- Clements, D. R., & Ditommaso, A. (2011). Climate change and weed adaptation: can evolution of invasive plants lead to greater range expansion than forecasted?. *Weed Research*, 51(3), 227-240.
- Damour, G., Simonneau, T., Cochard, H., & Urban, L. (2010). An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, cell & environment*, 33(9), 1419-1438.
- Das Choudhury, S., Samal, A., & Awada, T. (2019). Leveraging image analysis for high-throughput plant phenotyping. *Frontiers in plant science*, 10, 508.
- Dobra, J., Motyka, V., Dobrev, P., Malbeck, J., Prasil, I. T., Haisel, D., ... & Vankova, R. (2010). Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. *Journal of plant physiology*, 167(16), 1360-1370.
- Dickson, R. E., & Tomlinson, P. T. (1996). Oak growth, development and carbon metabolism in response to water stress. In *Annales des Sciences Forestieres* (Vol. 53, No. 2-3, pp. 181-196). EDP Sciences.
- Donoso, S., Peña, K., Pacheco, C., Luna, G., & Aguirre, A. (2011). Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria y Cryptocarya alba sometidas a restricción hídrica. *Bosque (Valdivia)*, 32(2), 187-195.
- Durand, M., Porcheron, B., Hennion, N., Maurousset, L., Lemoine, R., & Pourtau, N. (2016). Water deficit enhances C export to the roots in Arabidopsis thaliana plants with contribution of sucrose transporters in both shoot and roots. *Plant physiology*, 170(3), 1460-1479.
- Eliasson, A. C. (Ed.). (2004). *Starch in food: Structure, function and applications*. Florida, USA: CRC press. ISBN 0-8493-2555-2
- Engelbrecht, B. M. J. 2001. Drought resistance in seedlings of 28 tropical woody plant species. *Oecol.* 136(3): 383-393.
- Ennajeh, M., Vadel, A. M., Cochard, H., & Khemira, H. (2010). Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(4), 289-294.
- Ennajeh, M., Vadel, A. M., & Khemira, H. (2009). Osmoregulation and osmoprotection in the leaf cells of two olive cultivars subjected to severe water deficit. *Acta physiologiae plantarum*, 31(4), 711-721.
- Espinoza F.J. & Sarukhán J (1997). Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México.
- Farrant, J. M., Pammenter, N. W., & Berjak, P. (1993). Seed development in relation to desiccation tolerance: A comparison between desiccation-sensitive (recalcitrant). *Seed Science Research*, 3, 1-13.

- Farooq, M., Kobayashi, N., Ito, O., Wahid, A., & Serraj, R. (2010). Broader leaves result in better performance of indica rice under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 167(13), 1066-1075.
- Fatima, A., Zafar, M., Ahmad, M., Sultana, S., & Ali, M. I. (2017). Parametric characterization and statistical optimization of Argemone ochroleuca (Mexican Poppy) methyl esters as a renewable source of energy. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 39(19), 1963-1969.
- Faye, A., Sine, B., Chopart, J. L., Grondin, A., Lucas, M., Diedhiou, A. G., ... & Laplaze, L. (2019). Development of a model estimating root length density from root impacts on a soil profile in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br). Application to measure root system response to water stress in field conditions. *PloS one*, 14(7), e0214182.
- Fincher, G. B. (1989). Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. *Annual review of plant physiology*, 40, 305-346.
- Fiorani, F., & Schurr, U. (2013). Future scenarios for plant phenotyping. *Annual review of plant biology*, 64, 267-291.
- Fletcher, M. T., Takken, G., Blaney, B. J., & Alberts, V. (1993). Isoquinoline alkaloids and keto-fatty acids of Argemone ochroleuca and A. mexicana (Mexican poppy) seed. I. An assay method and factors affecting their concentration. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44(2), 265-275.
- Freixes, S., Thibaud, M. C., Tardieu, F., & Muller, B. (2002). Root elongation and branching is related to local hexose concentration in Arabidopsis thaliana seedlings. *Plant, Cell & Environment*, 25(10), 1357-1366.
- Furbank, R. T., & Tester, M. (2011). Phenomics—technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in plant science*, 16(12), 635-644.
- Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F., & Dommès, J. (2002). Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*, 37(3), 263-285.
- Ghaffari, H., Tadayon, M. R., Bahador, M., & Razmjoo, J. (2021). Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agricultural Water Management*, 243, 106448.
- Gray, S. B., & Brady, S. M. (2016). Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, 419(1), 64-77.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaïbi, W., & Zarrouk, M. (2009). Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119(3), 257-263.

- Haisova, K., & Slavik, J. (1973). Alkaloids of the Papaveraceae. II. On alkaloids from *Argemone ochroleuca* Sweet. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 38(8), 2307-2312.
- Heard, A. T., & Segura, R. (2012). *Argemone mexicana* L. and *Argemone ochroleuca* Sweet—Mexican poppy. *Biological Control of Weeds in Australia*. CSIRO Publishing, Victoria, Australia, 65-72.
- Hepworth, C., Turner, C., Landim, M. G., Cameron, D., & Gray, J. E. (2016). Balancing water uptake and loss through the coordinated regulation of stomatal and root development. *PLoS one*, 11(6), e0156930.
- Hernández-Ruiz, J., Bernal, J., Ruiz-Nieto, J. E., Gonzales-Castañeda, J., & Mireles-Arriaga, A. I. (2020). *Argemone ochroleuca*:(Papaveraceae), alkaloid potential source for agricultural and medicinal uses. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 23(2).
- Hoogenboom, G., Peterson, C. M., & Huck, M. G. (1987). Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress 1. *Agronomy Journal*, 79(4), 598-607.
- Hsiao, T. C. (1973). Plant responses to water stress. *Annual review of plant physiology*, 24(1), 519-570.
- Hu, Y. C., Shao, H. B., Chu, L. Y., & Gang, W. (2006). Relationship between water use efficiency (WUE) and production of different wheat genotypes at soil water deficit. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 53(2), 271-277.
- Israilov, I. A., Chelombit'ko, V. A., & Nazarova, L. E. (1986). *Argemone* alkaloids. *Chemistry of Natural Compounds*, 22(6), 742-743.
- Jacobsen, J. V., Gubler, F., Chandler, P. M. (1995). Plant hormones. Gibberellin action in germinated cereal grains. *Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 246-271.
- Johnson, D. A., Richards, R. A., & Turner, N. C. (1983). Yield, Water Relations, Gas Exchange, and Surface Reflectances of Near-Isogenic Wheat Lines Differing in Glauousness 1. *Crop Science*, 23(2), 318-325.
- Jordy, M. N. (2004). Seasonal variation of organogenetic activity and reserves allocation in the shoot apex of *Pinus pinaster* Ait. *Annals of botany*, 93(1), 25-37.
- Joshi, M., Fogelman, E., Belausov, E., & Ginzberg, I. (2016). Potato root system development and factors that determine its architecture. *Journal of plant physiology*, 205, 113-123.
- Kang, Y., & Wan, S. (2005). Effect of soil water potential on radish (*Raphanus sativus* L.) growth and water use under drip irrigation. *Scientia Horticulturae*, 106(3), 275-292.

- Kano, M., Inukai, Y., Kitano, H. *et al.* Plasticidad de la raíz como rasgo clave de la raíz para la adaptación a diversas intensidades de estrés por sequía en el arroz. *Plant Soil* 342, 117-128 (2011).
- Karimi, S., Rahemi, M., Rostami, A. A., & Sedaghat, S. (2018). Drought effects on growth, water content and osmoprotectants in four olive cultivars with different drought tolerance. *International Journal of Fruit Science*.
- Kerepesi, I., & Galiba, G. (2000). Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop science*, 40(2), 482-487.
- Karlsson, L. M., Tamado, T., & Milberg, P. E. R. (2003). Seed dormancy pattern of the annuals *Argemone ochroleuca* and *A. mexicana* (Papaveraceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 198(4), 329-339.
- Kim, S., Kang, J. Y., Cho, D. I., Park, J. H., & Kim, S. Y. (2004). ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its overexpression affects multiple stress tolerance. *The Plant Journal*, 40(1), 75-87.
- Königshofer, H., & Löppert, H. G. (2015). Regulation of invertase activity in different root zones of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings in the course of osmotic adjustment under water deficit conditions. *Journal of plant physiology*, 183, 130-137.
- Koster, K. L., & Leopold, A. C. (1988). Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plants Physiology* 96: 302-304.
- Kramer, P. J. (1983). Problems in water relations of plants and cells. *International review of cytology*, 85, 253-286.
- Kühn, C., & Grof, C. P. (2010). Sucrose transporters of higher plants. *Current opinion in plant biology*, 13(3), 287-297.
- Lasseur, B., Lothier, J., Djoumad, A., De Coninck, B., Smeekens, S., Van Laere, A., ... & Prud'Homme, M. P. (2006). Molecular and functional characterization of a cDNA encoding fructan: fructan 6G-fructosyltransferase (6G-FFT) /fructan: fructan 1-fructosyltransferase (1-FFT) from perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2719-2734.
- Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 275-294.
- Leprince, O., Hendry, G. A. F., & McKersie, B. D. (1993). The mechanisms of desiccation tolerance in developing. *Seed Science Research*, 3, 231-246.
- Li, Y. Z., Zhao, J. Y., Wu, S. M., Fan, X. W., Luo, X. L., & Chen, B. S. (2016). Characters related to higher starch accumulation in cassava storage roots. *Scientific reports*, 6(1), 1-17.

- Lima, M. F. P., Dombroski, J. L. D., Freitas, F. C. L., Pinto, J. R. S., & Silva, D. V. (2016). Weed growth and dry matter partition under water restriction. *Planta Daninha*, 34(4), 701-708.
- Lines-Hidalgo, J. I. (2019). Análisis de la síntesis de alcaloides en fruto y semillas de *Argemone mexicana* L. Tesis de maestría. Maestría en Ciencias Biológicas. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- Lisar, S. Y., Motafakkerzad, R., Hossain, M. M., & Rahman, I. M. (2012). Causes, Effects and Responses. *Water stress*, 1.
- Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., & Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 84-88.
- Lobet, G., Pagès, L., & Draye, X. (2011). A novel image-analysis toolbox enabling quantitative analysis of root system architecture. *Plant physiology*, 157(1), 29-39.
- Maema, L. P., Potgieter, M., & Mahlo, S. M. (2016). Invasive alien plant species used for the treatment of various diseases in Limpopo Province, South Africa. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(4), 223-231.
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A., & Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 141-149.
- Maréchaux, I., Bartlett, M. K., Sack, L., Baraloto, C., Engel, J., Joetzier, E., & Chave, J. (2015). Drought tolerance as predicted by leaf water potential at turgor loss point varies strongly across species within an Amazonian forest. *Functional Ecology*, 29(10), 1268-1277. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12452>
- Martínez, M (1996). Plantas medicinales de México. Editorial Botas. México. P.p. 108-110.
- Masood, M., Ahsan, M., Sadaqat, H. A., & Awan, F. (2020). Screening of maize (*Zea mays* L.) inbred lines under water deficit conditions. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2020(1), e007-e007.
- McDonald, A., Riha, S., DiTommaso, A., & DeGaetano, A. (2009). Climate change and the geography of weed damage: analysis of US maize systems suggests the potential for significant range transformations. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 130(3-4), 131-140.
- Medrano, H., Escalona, J. M., Bota, J., Gulías, J., & Flexas, J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of botany*, 89(7), 895-905.

- Mishra, P., Lohumi, S., Khan, H. A., & Nordon, A. (2020). Close-range hyperspectral imaging of whole plants for digital phenotyping: Recent applications and illumination correction approaches. *Computers and Electronics in Agriculture*, 178, 105780.
- Mitchell, P. J., Veneklaas, E. J., Lambers, H., & Burgess, S. S. (2008). Leaf water relations during summer water deficit: differential responses in turgor maintenance and variation in leaf structure among different plant communities in south-western Australia. *Plant, Cell & Environment*, 31(12), 1791-1802.
- Monteith, J. L., Campbell, G. S., & Potter, E. A. (1988). Theory and performance of a dynamic diffusion porometer. *Agricultural and forest meteorology*, 44(1), 27-38.
- Moreno, F., L. (2009). *Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión*. *Agronomía Colombiana*, 27(2), pp.179-191. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11131/37762> [Consultado 21- 07-20]
- Moussa, S. A., Bazaid, S. A., & Muneera, S. (2012). Vegetation strategies of invasive *Argemone ochroleuca* in different habitats in Taif Governorate, Saudi Arabia. *Wudpecker Journal of Agricultural Research*, 1(6), 191-202.
- Moustafa, M. F., Alamri, S. A., Taha, T. H., & Alrumman, S. A. (2013). In vitro antifungal activity of *Argemone ochroleuca* Sweet latex against some pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, 12(10).
- Mulroy, T. W. (1979). Spectral properties of heavily glaucous and non-glaucous leaves of a succulent rosette-plant. *Oecologia*, 38(3), 349-357.
- Munns, R., & Weir, R. (1981). Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Functional Plant Biology*, 8(1), 93-105.
- Negin, B., & Moshelion, M. (2016). The evolution of the role of ABA in the regulation of water-use efficiency: From biochemical mechanisms to stomatal conductance. *Plant Science*, 251, 82-89.
- Nguyen, H. T., Babu, R. C., & Blum, A. (1997). Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Science*, 37(5), 1426-1434.
- Nicolas, m. e., Lambers, h., Simpson, r. j., & Dalling, m. j. (1985). Effect of drought on metabolism and partitioning of carbon in two wheat varieties differing in drought-tolerance. *Annals of Botany*, 55(5), 727-742.
- Nicotra, A. B., Atkin, O. K., Bonser, S. P., Davidson, A. M., Finnegan, E. J., Mathesius, U., ... & van Kleunen, M. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in plant science*, 15(12), 684-692.
- Nio, S. A., Cawthray, G. R., Wade, L. J., & Colmer, T. D. (2011). Pattern of solutes accumulated during leaf osmotic adjustment as related to duration of water deficit

- for wheat at the reproductive stage. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10), 1126-1137.
- Nolte, K. D., Hanson, A. D., & Gage, D. A. (1997). Proline accumulation and methylation to proline betaine in Citrus: implications for genetic engineering of stress resistance. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122(1), 8-13.
- Ojeda-Barríos, D. L., Hernández-Rodríguez, O. A., Sánchez-Chávez, E., & Martínez-Tellez, J. (2011). Biomasa, prolina y parámetros nitrogenados en plántulas de nogal bajo estrés hídrico y fertilización nitrogenada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(SPE1), 13-18.
- Oraee, A., & Tehranifar, A. (2020). Evaluating the potential drought tolerance of pansy through its physiological and biochemical responses to drought and recovery periods. *Scientia Horticulturae*, 265, 109225.
- Osakabe, Y., Arinaga, N., Umezawa, T., Katsura, S., Nagamachi, K., Tanaka, H., ... & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013). Osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 25(2), 609-624
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5, 86.
- Otto, R., & Verloove, F. (2016). A new natural hybrid in Argemone (Papaveraceae). *Phytotaxa*, 255(1), 57-65.
- Ownbey, G.B. (1997). Argemone In: Flora of North America. Editorial Committee (Eds.) Flora of North America, Vol. 3. Oxford University Press, New York-Oxford, pp. 314-322.
- Pastenes, C., Villalobos, L., Ríos, N., Reyes, F., Turgeon, R., & Franck, N. (2014). Carbon partitioning to berries in water stressed grapevines: the role of active transport in leaves and fruits. *Environmental and Experimental Botany*, 107, 154-166.
- Patterson, D. T. (1995). Effects of environmental stress on weed/crop interactions. *Weed Science*, 483-490.
- Potters, G., T.P. Pasternak, Y, Guisez, K.J. Palme y M.A.K. Jansen (2007). Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? Trends Plant Sci. 12(3). Pp 99-105. DOI: 10.1016/j.tplants.2007.01.004
- Prado, S. A., Cabrera-Bosquet, L., Grau, A., Coupel-Ledru, A., Millet, E. J., Welcker, C., & Tardieu, F. (2018). Phenomics allows identification of genomic regions affecting maize stomatal conductance with conditional effects of water deficit and evaporative demand. *Plant, Cell & Environment*, 41(2), 314-326.
- Rahaman, M. M., Ahsan, M. A., Gillani, Z., & Chen, M. (2017). Digital biomass accumulation using high-throughput plant phenotype data analysis. *Journal of integrative bioinformatics*, 14(3).

- Ramalho, J. C., Pons, T. L., Groeneveld, H. W., Azinheira, H. G., & Nunes, M. A. (2000). Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. *Functional Plant Biology*, 27(1), 43-51.
- Reddy, C. S., & Pattanaik, C. (2007). Argemone ochroleuca Sweet (papaveraceae)—A new invasive species in Andhra Pradesh state. *Zoos'print journal*, 22(12), 2949.
- Rejšková, A., Patková, L., Stodůlková, E., & Lipavská, H. (2007). The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under in vitro conditions. *Journal of plant Physiology*, 164(2), 174-184.
- Reyes, F. D., Peña, C. J., Canales, M., Jiménez, M., Meraz, S., & Hernandez, T. (2011). Antimicrobial activity of Argemone ochroleuca Sweet (Chicalote). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(2), 139-146.
- Rich, S. M., & Watt, M. (2013). Soil conditions and cereal root system architecture: review and considerations for linking Darwin and Weaver. *Journal of experimental botany*, 64(5), 1193-1208.
- Richards, L. A. (1941). A pressure-membrane extraction apparatus for soil solution. *Soil Sci*, 51(5), 377-386.
- Rzedowski, G. D., & Rzedowski, J. (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. 1a reimp. *Instituto de Ecología, AC y Comisión Nacional para el Conocimiento y Usos de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán)*.
- Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1* (pp. 1-16). Springer, Cham.
- Sánchez, C., Galve-Roperh, I., Rueda, D., & Guzmán, M. (1998). Involvement of sphingomyelin hydrolysis and the mitogen-activated protein kinase cascade in the $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol-induced stimulation of glucose metabolism in primary astrocytes. *Molecular pharmacology*, 54(5), 834-843.
- Sánchez, F. J., De Andres, EF, Tenorio, JL & Ayerbe, L. (2004). Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Research*, 86(1), 81-90.
- Sánchez, F. J., Manzanares, M., de Andrés, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L. (2001). Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy*, 15(1), 57-70.
- Sánchez-Mendoza, M. E., Castillo-Henkel, C., & Navarrete, A. (2008). Relaxant action mechanism of berberine identified as the active principle of Argemone ochroleuca Sweet in guinea-pig tracheal smooth muscle. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 60(2), 229-236.

- Satchithanantham, S., Krahn, V., Ranjan, R. S., & Sager, S. (2014). Shallow groundwater uptake and irrigation water redistribution within the potato root zone. *Agricultural Water Management*, 132, 101-110.
- Savin, R., & Nicolas, M. E. (1996). Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars. *Functional Plant Biology*, 23(2), 201-210.
- Scholes, J. D., Lee, P. J., Horton, P., & Lewis, D. H. (1994). Invertase: understanding changes in the photosynthetic and carbohydrate metabolism of barley leaves infected with powdery mildew. *New Phytologist*, 126(2), 213-222.
- Schwarzbach, A. E., & Kadereit, J. W. (1999). Phylogeny of prickly poppies, Argemone (Papaveraceae), and the evolution of morphological and alkaloid characters based on ITS nrDNA sequence variation. *Plant Systematics and Evolution*, 218(3), 257-279.
- Sehnke, P. C., Chung, H. J., Wu, K., & Ferl, R. J. (2001). Regulation of starch accumulation by granule-associated plant 14-3-3 proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(2), 765-770.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologiques*, 331(3), 215-225.
- Shaw, R. G., & Etterson, J. R. (2012). Rapid climate change and the rate of adaptation: insight from experimental quantitative genetics. *New Phytologist*, 195(4), 752-765.
- Singh, A., Shamim, M. D., & Singh, K. N. (2013). Genotypic variation in root anatomy, starch accumulation, and protein induction in upland rice (*Oryza sativa*) varieties under water stress. *Agricultural Research*, 2(1), 24-30.
- Singh, S., Singh, A., Keshariwala, M., Singh, T. D., Singh, V. P., Pandey, V. B., & Singh, U. P. (2010). The mixture of tertiary and quaternary alkaloids isolated from *Argemone ochroleuca* inhibits spore germination of some fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43(13), 1249-1253.
- Skirycz, A., and Inze, D. (2010). More from less: plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21, 197–203. doi: 10.1016/j.copbio.2010.03.002
- Smirnoff, N. (1993). Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New phytologist*, 27-58.
- Stalham, M. A., & Allen, E. J. (2004). Water uptake in the potato (*Solanum tuberosum*) crop. *The Journal of Agricultural Science*, 142, 373.
- Taiz, L., y Zeiger, E. (2010). *Plant physiology*. 4th.ed. Sinauer Associate, Sunderland, Mass., EUA.

- Takahashi, H., & Pradal, C. (2021). Root phenotyping: important and minimum information required for root modeling in crop plants. *Breeding Science*, 71(1), 109-116.
- Takken, G., Fletcher, M. T., & Blaney, B. J. (1993). Isoquinoline alkaloids and keto-fatty acids of *Argemone ochroleuca* and *A. mexicana* (Mexican poppy) seed. II. Concentrations tolerated by pigs. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44(2), 277-285.
- Teramoto, S., & Uga, Y. (2020). A Deep Learning-Based Phenotypic Analysis of Rice Root Distribution from Field Images. *Plant Phenomics*, 2020.
- Thalman, M., Pazmino, D., Seung, D., Horrer, D., Nigro, A., Meier, T., ... & Santelia, D. (2016). Regulation of leaf starch degradation by abscisic acid is important for osmotic stress tolerance in plants. *The Plant Cell*, 28(8), 1860-1878.
- Timmusk, S., Timmusk, K., & Behers, L. (2013). Rhizobacterial plant drought stress tolerance enhancement: towards sustainable water resource management and food security. *Journal of Food Security*, 1(1), 6-9.
- Toro, G., Flexas, J., & Escalona, J. M. (2019). Contrasting leaf porometer and infra-red gas analyser methodologies: an old paradigm about the stomatal conductance measurement. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31(4), 483-492.
- Van den Ende, W., & Peshev, D. (2013). Sugars as antioxidants in plants. In *Crop improvement under adverse conditions* (pp. 285-307). Springer, New York, NY.
- Van der Westhuizen, L., & Mpedi, P. (2011). The initiation of a biological control programme against *Argemone mexicana* L. and *Argemone ochroleuca* Sweet subsp. *ochroleuca* (Papaveraceae) in South Africa. *African entomology*, 19(2), 223-229.
- Van't Hoff, J. H. (1885). L'équilibre chimique dans les systèmes gazeux ou dissous à l'état dilué. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 4(12), 424-427.
- Velázquez-Márquez, S., Conde-Martínez, V., Trejo, C., Delgado-Alvarado, A., Carballo, A., Suárez, R., ... & Trujillo, A. R. (2015). Effects of water deficit on radicle apex elongation and solute accumulation in *Zea mays* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 29-37.
- Viola, R., & H. V. Davies, (1992) A microplate reader assay for rapid enzymatic quantification of sugars in potato tubers. *Potato Research*, 1:55-58.
- Wang, H., Zhang, Y., Xiao, N., Zhang, G., Wang, F., Chen, X., & Fang, R. (2020). Rice GERMIN-LIKE PROTEIN 2-1 functions in seed dormancy under the control of abscisic acid and gibberellic acid signaling pathways. *Plant physiology*, 183(3), 1157-1170.
- Wasson, A. P., Richards, R. A., Chatrath, R., Misra, S. C., Prasad, S. S., Rebetzke, G. J., ... & Watt, M. (2012). Traits and selection strategies to improve root systems and

- water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of experimental botany*, 63(9), 3485-3498.
- West, N. E., & Wein, R. W. (1971). A plant phenological index technique. *BioScience*, 21(3), 116-117.
- Xu, Z., & Zhou, G. (2008). Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of experimental botany*, 59(12), 3317-3325.
- Yamada, M., Morishita, H., Urano, K., Shiozaki, N., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Yoshida, Y. (2005). Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1975-1981.
- Yang, J., Zhang, J., Li, C., Zhang, Z., Ma, F., & Li, M. (2019). Response of sugar metabolism in apple leaves subjected to short-term drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 164-171.
- Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q., & Liu, L. (2003). Activities of enzymes involved in sucrose-to-starch metabolism in rice grains subjected to water stress during filling. *Field Crops Research*, 81(1), 69-81.
- Yang, W., Feng, H., Zhang, X., Zhang, J., Doonan, J. H., Batchelor, W. D., ... & Yan, J. (2020). Crop phenomics and high-throughput phenotyping: past decades, current challenges, and future perspectives. *Molecular Plant*, 13(2), 187-214.
- Yang, W., Guo, Z., Huang, C., Duan, L., Chen, G., Jiang, N., ... & Wang, G. (2014). Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice. *Nature communications*, 5, 5087.
- Zeeman, S. C., Kossmann, J., & Smith, A. M. (2010). Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual review of plant biology*, 61, 209-234.
- Zhao, C., Zhang, Y., Du, J., Guo, X., Wen, W., Gu, S., ... & Fan, J. (2019). Crop phenomics: current status and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 10, 714.
- Zhu, J. K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313-324.