



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA

UNIDAD REGIONAL ACATZINGO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ANÁLISIS DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA EN
PLANTAS DE JITOMATE (*Lycopersicon esculentum*)
SOMETIDAS A ESTRÉS ABIÓTICO

Tesis que presenta:

Beatriz Arenas Pérez

Para obtener el grado de:

Ingeniero Agroindustrial

Director de tesis: Dr. J. Jesús Hinojosa Moya

Acatzingo de Hidalgo, Puebla. Febrero 2015.



El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Agrobiotecnología Molecular de la facultada de ingeniería química (carrera ingeniería agroindustrial) bajo la dirección del Dr. J. Jesús Hinojosa Moya.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis el Dr. Jesús Hinojosa Moya, le agradezco su paciencia, su entusiasmo, su ayuda y sobre todo el valor humano que lo caracteriza, ya que sin esas cualidades y virtudes no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

Al profesor Eduardo Gómez por el apoyo en el análisis estadístico, por su colaboración, tiempo, espacio, muchas gracias Ing.

A la VIEP por la beca otorgada para realizar este trabajo.

A mi madre, por sus consejos, apoyo, amor y sobre todo su impulso que me hizo continuar en este largo caminar, gracias por estar a mi lado, te amo mamita.

A mis hermanos que siempre me han apoyado e impulsado para seguir adelante y estar cuando más los necesito.

A Jerzy que me acompañó y apoyo durante las largas horas trabajando.

A mis compañeros de laboratorio Erick, Ángeles, Mayra que siempre me apoyaron cuando lo necesitaba.

A mis asesores M.C. Raymundo Hernández y M.C. Alfredo Guzmán por apoyar y guiar este trabajo.

A don Miguel González por el apoyo y doña Chely por su confianza y comprensión.

GRACIAS a todos por su confianza y apoyo en todo momento.

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada con todo cariño a:

A mi mama:

Victoriana Pérez Orea

A mis hermanos:

María Luisa Arenas Pérez

María Félix Arenas Pérez

Jorge Arenas Pérez

Blanca Estela Rojas Pérez

Ricardo Rojas Pérez

Hipólito Rojas Pérez

Maximino Arenas Pérez

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
NOTACIÓN.....	IV
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VIII

INTRODUCCIÓN

1.1. Cultivo de jitomate.....	2
1.1.1. El sistema aéreo, estructura y desarrollo de la planta.....	4
1.2.2. El sistema radicular.....	5
1.2.3. Sistema vascular de las plantas.....	5
1.2. Nutrición mineral.....	6
1.2.1. Nutrientes esenciales.....	7
1.2.2. Deficiencia mineral.....	9
1.3. Estrés biótico y abiótico.....	12
1.3.1. Estrés combinado.....	14
	18
2.1. Justificación.....	
2.2. Hipótesis.....	19
2.3. Objetivo general.....	19
2.4. Objetivos particulares.....	19

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Evaluación fisiológica.....	21
3.2. Material vegetal y crecimiento.....	22
3.3. Biomasa.....	23
3.4. Área de hoja, longitud de tallo y raíz.....	24
3.5. Medición de clorofila.....	24
3.6. Contenido relativo de agua.....	24
3.7. Tinción de almidón.....	25
3.8. Muestreo y tratamiento estadístico.....	26

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efectos del estrés abiótico combinado sobre la eficiencia de germinación.....	28
4.2. Cuantificación de biomasa fresca y seca.....	30
4.3. Análisis de imágenes: área foliar, longitud de tallo y raíz.....	33
4.4. Análisis de comportamiento metabólico.....	35
4.5. Análisis del contenido relativo de agua (RWC).....	36
4.6. Detección de almidón en toda la planta por medio de la tinción de yodo.....	37

Conclusión.....	41
Perspectivas.....	44
Bibliografía.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Consumo de fertilizante por año.....	6
Figura 2. Factores que determinan el estrés.....	13
Figura 3. Alteraciones provocadas.....	14
Figura 4. Costos en la producción agrícola de EU por desastres naturales.	15
Figura 5. Efectos de la sequía y estrés por calor.....	16
Figura 6. Matriz de las diferentes combinaciones de estrés.....	17
Figura 7. Diagrama experimental general.....	21
Figura 8. Índice de germinación en ambos tratamientos.....	28
Figura 9. Plantas de jitomate a los 20 días posteriores a su siembra.....	29
Figura 10. Biomasa fresca seccionada en los diferentes partes de la planta	31
Figura 11. Biomasa seca en partes seccionadas de la planta.....	32
Figura 12. Área foliar reportada.....	33
Figura 13. Longitud de tallo y raíz.....	34
Figura 14. Medición de clorofila en los diferentes tratamientos.....	36
Figura 15. Contenido de agua en hojas.....	37
Figura 16. Plantas de jitomate estresadas abióticamente.....	38
Figura 17. Plantas control.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutritivo promedio del tomate.....	2
Tabla 2. Niveles esenciales de nutrientes.....	8
Tabla 3. Elementos móviles e inmóviles en plantas.....	10
Tabla 4. Composición de macronutrientes del medio MS.....	22
Tabla 5. Tratamientos térmicos utilizados.....	23

NOTACIONES

N	Nitrógeno
P	Fósforo
K	Potasio
Cl	Cloro
Mg	Magnesio
Zn	Zinc
B	Boro
Cu	Cobre
Ca	Calcio
Co	Cobalto
Si	Silicio
FM	Peso fresco
TM	Peso turgente
DM	Peso seco
RWC	Contenido relativo de agua
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ADP	Adenosin difosfato
ATP	Adenosín trifosfato
cDNA	DNA complementario
PCRs	Reacciones en cadena de la polimerasa
MS	Murashige y skoog
nm	Nanómetros
mM	Milimolar

RESUMEN

El estrés de una planta puede ser inducido por una variedad de factores tales como luz, agua, temperatura, nutrientes, y otros. Dichos factores influyen en la fisiología de la misma, alterando algunos procesos químicos y en casos severos llevándola hasta la muerte. Durante el estrés se manifiestan cambios visibles tales como variantes en la coloración, tamaño de hojas, flores y frutos.

Bajo el marco anterior, en este trabajo se analizaron las respuestas fisiológicas elementales causadas por el estrés inducido de dos factores primordialmente cotidianos como son las temperaturas y la disponibilidad de un macronutriente indispensable para el desarrollo de las plantas, el fósforo (P). Para ello, en plantas de jitomate estresadas abióticamente por bajas temperaturas y fósforo se llevó a cabo la medición de las partes aéreas y terrestres, biomasa (fresca y seca), actividad fotosintética y contenido relativo de agua.

En las plantas estresadas se observó una menor eficiencia de germinación y un crecimiento más lento. Adquirieron una coloración violeta en partes aéreas (hojas y tallo) y negra en partes terrestres (raíz), la caída o pérdida de hojas cotiledóneas, deformación de tallo (mayor diámetro y desarrollo de material algodonoso), menor número de hojas, con respecto a las plantas control. Por otra el tratamiento estadístico de los datos nos indica que el principal factor que afecta la biomasa (fresca y seca) así como el área foliar y longitud de tallo, es el macronutriente (P) y no la temperatura. Sin embargo la única parte afectada por el estrés combinado recae principalmente en la parte baja de la planta, es decir, en la raíz. El contenido de clorofila A es alterado solo por el macronutriente, mientras que la clorofila B no es afectada por ningún factor. Estadísticamente el contenido de clorofila total nos indica que el estrés combinado afecta el metabolismo de la planta. El contenido relativo de agua (RWC) indica que es afectado solo por el macronutriente.

Con estas mediciones fisiológicas confirmamos nuestra hipótesis y demostramos que el estrés combinado afecta principalmente el metabolismo de la planta. Nuestros resultados pueden ser utilizados y complementados para generar semillas con capacidad de adaptarse a estos tipos de estrés combinado.

ABSTRACT

The stress of a plant can be caused by a variety of factors such as light, temperature, water, nutrients, and others. These factors interfere in the physiology altering some chemical processes and in severe cases driving to plants death. During the stress some visible changes manifested on plants such as the coloration, length of leaves, fruits and flowers.

Under last context, in this work we analyzed elemental the physiological answers caused by stress induced of two factors which are temperatures and an essential macronutrient for plant grown phosphorus (P). For this we measured on *Lycopersicon esculentum* abiotic stressed plants upper and lower biomass (fresh and dry), chlorophylls concentrations and relative water content (RWC), in abiotic stressed plants (temperature and phosphorus).

With the stressed plants we observed germinations problems, is to say, less germinations efficiency. Lower growth rate than control plants; stresses plants developed a violet pigmentation in upper parts (leaves and branches) and black pigmentations in lower parts (roots), cotyledons fall or loses, stems deformations (larger diameter and fluffy material accumulation) and less number of leaves, respect to the control plants. In other hands, date, statistical analysis indicates that the biomass (fresh and dry), foliar area and stem length are affected only by the macronutrient (P) and not by temperature. However the only plant part that affected by combination of stresses falls mainly on the lower plant part or roots. The chlorophyll a content is only affected by the macronutrient, while the chlorophyll b is not affected by any factors and the total chlorophyll state tells us that the combination stress affects the metabolism of the plants, the relative water content (RWC) indicated that it affected only the micronutrient.

The physiologic determinations medications confirm our hypothesis and demonstrate that the combination stresses, affected mainly the plants metabolism. The general date can be utilized and complemented to continue the investigation and generate new seeds with the capacity to adapt to the combined stresses.

INTRODUCCIÓN

1.1. CULTIVO DE JITOMATE

El jitomate (*Lycopersicon esculentum*) es una planta dicotiledónea pertenecientes a la familia de las solanáceas, perenne de porte arbustivo. El cual puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta, y el crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitadas en las variedades indeterminadas. El valor nutrimental (tabla 1.) es muy variado ya que ocupa el lugar 16 en cuanto condiciones relativas de un grupo de 10 vitaminas y minerales.

Residuos	6,0%	Caroteno	0,5 mg
Materia seca	6,2 g	Tiamina	0,06 mg
Energía	20,0 Kcal	Riboflavina	0,04 mg
Proteínas	1,2g	Niacina	0,6 mg
Fibra	0,7 g	Vitamina C	23,00 mg
Calcio	7,0 mg	Valor nutritivo medio (VNM)	2,39 mg
Hierro	0,6 mg	VNM por 100g de materia seca	38,5

Tabla 1. Valor nutritivo promedio del tomate por 100g de producto comestible (Grubben, 1997).

La semilla de jitomate tiene unas medidas aproximadas de 5 x 4 x 2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal. El embrión, cuyo desarrollo dará lugar a la planta adulta, está constituido, por la yema apical, dos cotiledones, el hipocotilo y la radícula. Mientras que el endospermo contiene los elementos nutritivos necesarios para el desarrollo inicial del embrión. La testa o cubierta seminal está constituida por un tejido duro e impermeable, recubierto de pelos, que envuelve y protege el embrión y el endospermo (Nuez, 2001).

Durante la germinación se observan tres etapas, la primera dura aproximadamente 12 horas, donde se produce una rápida absorción de agua por la semilla. Le sigue un periodo de reposo donde la semilla no muestra ningún cambio en la anatomía ni en la actividad metabólica, este dura aproximadamente

40 horas. Posteriormente llega la tercera etapa, donde la semilla comienza a absorber más agua nuevamente iniciando la etapa de crecimiento asociada con la emergencia de la radícula (Bewley y Black, 1982).

La planta se desarrolla bien en un amplio rango de latitudes, tipos de suelo, sin embargo la temperatura mínima requerida para su germinación es de 10°C. Para el desarrollo del cultivo la temperatura óptima oscila entre 18- 26°C, ya que si se registra una temperatura mayor a 35 °C o menor a 13°C la planta tendría problemas graves con la fotosíntesis(Jones, 2008). Además de la temperatura, la humedad debe estar entre 65 y 75% para su óptimo crecimiento y fertilidad.

Necesita de una buena luminosidad es importante para obtener colores intensos, pared delgada y alto contenido de sólidos. También se ha reportado que la calidad y crecimiento del jitomate depende en gran medida del aporte nutrimental disponible en el suelo. El suelo está provisto de muchos nutrimentos y organismos que intervienen en el movimiento e intercambio de iones entre el suelo y la planta. La cantidad de nutrimentos disponibles para la planta depende en gran medida del tipo de suelo, de la fijación de las partículas coloides, la concentración de estos en la solución del suelo y la capacidad de absorción de la raíz (Alcantar, 2009).

1.1.1 EL SISTEMA AÉREO, ESTRUCTURA Y DESARROLLO DE LA PLANTA

Las hojas típicas del jitomate tienen unos 0.5 m de largo, con un gran foliolo terminal y hasta 8 grandes folíolos laterales, que pueden ser compuestos. Las hojas están recubiertas por pelos del mismo tipo que los del tallo. El tejido parenquimático o mesófilo está recubierto por una epidermis superior y otra inferior; ambas están constituidas por una sola capa de células y no contiene cloroplastos. La epidermis del envés contiene abundantes estomas que facilitan el intercambio gaseoso con el exterior, mientras que estos son escasos en la epidermis superior. Inmediatamente debajo y perpendicularmente a la epidermis superior se encuentra el parénquima en empalizada, que está constituido por una o dos capas de células cilíndricas, vacuolas y estrechamente empaquetadas. Este tejido es rico en cloroplastos. Los haces vasculares constan de un solo nervio primario. Los nervios principales aparecen en el haz y forman una estructura prominente en el envés de la hoja. Los nervios primarios y secundarios tienen una estructura similar al tallo y poseen un floema externo y floema interno (Nuez, 2001).

El tallo es el eje sobre el cual se desarrollan, hojas, flores y frutos, el diámetro de la base puede ser de 2 a 4 cm y el porte puede ser de crecimiento determinado (tallos que al llegar a cierto número de ramilletes detienen su crecimiento) e indeterminado (tallos que no detienen su crecimiento). El tallo está cubierto por vellosidades que salen de la epidermis, mismas que expiden un aceite oloroso que al desprenderlo sirve de protección al tallo. En las axilas de las hojas del tallo principal surgen los tallos secundarios que son eliminados mediante la poda para una buena conformación de la planta. En el extremo del tallo principal se encuentra el meristemo apical, una región de división celular activa donde se inician los nuevos primordios foliares y florales; tiene forma de cúpula y está formado por las hojas recién formadas (Castellanos, 2009).

1.1.2 EL SISTEMA RADICULAR

Este sistema tiene como principal función la absorción y transporte de nutrientes, así como la sujeción o anclaje de la planta al suelo.

El sistema radicular del jitomate está constituido por la raíz principal, las raíces secundarias y las raíces adventicias. Una sección transversal de la raíz principal pone de manifiesto las tres zonas más evidenciadas: la epidermis, el córtex y el cilindro central o vascular.

La epidermis es la encargada de la absorción de agua y nutrientes y generalmente tiene pelos absorbentes, que son extensiones tubulares de células epidérmicas. Debajo de esta se encuentra el córtex, que está conformado de tres o cuatro células de espesor, generalmente de tipo parenquimático. El xilema, conjunto de vasos que transportan los elementos minerales (Taiz, 2008).

1.1.3 SISTEMA VASCULAR DE LAS PLANTAS

Las plantas a través de su sistema aéreo y sistema radicular reciben diferentes estímulos ambientales, tales como temperatura, nutrientes, luminosidad, déficit hídrico, etc.

Dichos estímulos son enviados a toda la planta y al mismo tiempo coordinan el desarrollo de la planta, estos estímulos ocurren a través de dos estructuras altamente especializadas, los plasmodesmos (movimiento local) y el tejido vascular de las plantas (movimiento sistémico).

El tejido vascular está conformado por dos conductos, el xilema y el floema. Las células que forman el xilema se diferencian sus paredes y membranas, por ello se engrosan debido a la acumulación de lignina, sus organelos son digeridos y sus membranas disgregadas resultando en vasos (traqueidas) por donde se

transportan agua y elementos minerales desde las raíces hasta el resto de la planta (Hinojosa, 2003).

1.2. NUTRICIÓN MINERAL

En el suelo podemos encontrar una diversidad de microorganismos y minerales que contribuyen para el crecimiento y desarrollo de la planta. Dentro de la nutrición mineral existen una gran cantidad de minerales que participan en la nutrición de la planta, los macronutrientes necesarios son el nitrógeno, fósforo y potasio.

El suelo no es capaz de producir los minerales necesarios que requiere cada cultivo por ello los agricultores optaron por la utilización de fertilizantes químicos que contengan principalmente los macronutrientes. Sin embargo la utilización de fertilizantes ha ido aumentando con el paso del tiempo, ya que el consumo anual ha ascendido a 170 millones de toneladas métricas (figura 1), gracias a la demanda alimenticia por la sobrepoblación.

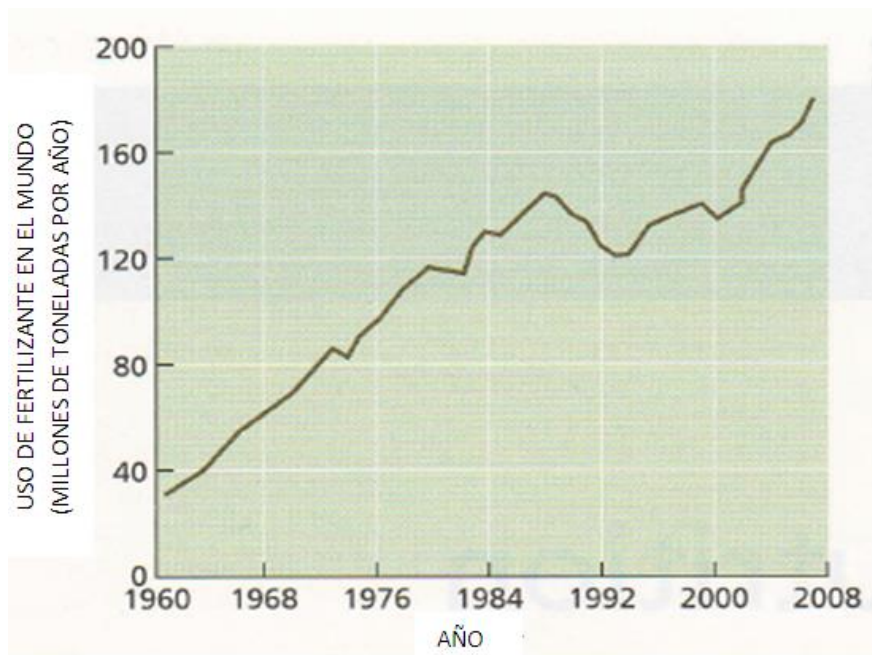


Figura 1. Consumo de fertilizante por año (Epstein, 1999).

1.2.1. NUTRIENTES ESENCIALES

Podemos definir como esencial a aquel componente intrínseco en la estructura o metabolismo o cuya ausencia provoca un desorden con respecto al crecimiento, desarrollo o reproducción (Taiz, 2008).

Si la planta tienen los nutrientes necesarios (tabla 2), agua y energía luminosa, se pueden sintetizar todos los compuestos necesarios para su ciclo vital.

Los minerales esenciales son clasificados como: macronutrientes y micronutrientes, dependiendo de la cantidad requerida por la planta.

Mengel and Kirkby (2001), propusieron que los elementos esenciales se pueden clasificar según su función fisiológica bioquímica, en la tabla 2 se muestra esta clasificación.

Los cuatro grupos básicos se describen a continuación:

1. Nitrógeno y azufre constituyen el primer grupo. Las plantas asimilan estos nutrientes a través de las reacciones bioquímicas que implican la oxidación y reducción para formar enlaces covalentes con el carbono y formar compuestos orgánicos.
2. El segundo grupo es importante en el almacenamiento de energía y reacciones. Algunos de estos elementos se encuentran presentes en tejidos como el fósforo, además de que el grupo elemental se une a una molécula orgánica.

Elemento	Símbolo químico	Concentración base seca (% en ppm)	Numero relativo de átomos con respecto al Molibdeno
Obtenido a partir de agua o dióxido de carbono			
Hidrogeno	H	6	60,000,000
Carbono	C	45	40,000,000
Oxígeno	O	45	30,000,000
Obtenido a partir de los macronutrientes del suelo			
Nitrógeno	N	1.5	1,000,000
Potasio	K	1.0	250,000
Calcio	Ca	0.5	125,000
Magnesio	Mg	0.2	80,000
Fosforo	P	0.2	60,000
Azufre	S	0.1	30,000
Silicio	si	0.1	30,000
Micronutrientes			
Cloro	Cl	100	3,000
Fierro	Fe	100	2,000
Boro	B	20	2,000
Manganeso	Mn	50	1,000
Sodio	Na	10	400
Zinc	Zn	20	300
Cobre	Cu	6	100
Níquel	Ni	0.1	2
Molibdeno	Mo	0.1	1

Tabla 2. Niveles esenciales de nutrientes (Los tres primeros no son considerados minerales ya que son obtenidos por medio del agua o dióxido de carbono), (Epstein, 1999).

3. El tercer grupo está presente en el tejido de la planta, ya sea como iones libres disueltos en el agua de la planta o iones electrostáticamente unidos a sustancias. Los elementos de este grupo son importantes ya que participan como cofactores enzimáticos y en la regulación del potencial osmótico.
4. El cuarto grupo, que comprende los metales como el hierro y tiene un papel importante en las reacciones que implican transferencia de electrones.

Esta clasificación es arbitraria ya que algunos elementos intervienen en otras funciones. Por ejemplo, el manganeso que está clasificado en el grupo tres, interviene también en varias reacciones de transferencia de electrones por lo cual también se encontraría en el cuarto grupo.

1.2.2. DEFICIENCIA MINERAL

Los síntomas principales en la deficiencia de nutrientes son la expresión de trastornos metabólicos que resultan del insuficiente suministro de algún elemento esencial. Estos trastornos se relacionan a las funciones desempeñadas por los elementos esenciales en el metabolismo normal de la planta y sus funciones.

Algunas señales de deficiencia se notan en la coloración, tamaño de hojas, así como en la alteración del metabolismo de la planta, algunos elementos como el nitrógeno, fósforo y potasio pueden moverse de hoja en hoja, sin embargo algunos otros como el boro, calcio, son inmóviles en muchas especies de plantas (tabla 3). A continuación se describen los cuatro principales grupos en la deficiencia mineral:

- a) Deficiencias de nutrientes minerales que forman parte de compuestos carbono, primer grupo.

La deficiencia de nitrógeno (N) inhibe el crecimiento de las plantas, si persiste la deficiencia se presenta una clorosis (amarillamiento de las hojas) especialmente en hojas más cercanas a la base de la planta. En casos de deficiencia grave las hojas pueden caer y estar completamente amarillas o color marrón, a su vez el nitrógeno puede movilizarse a otras hojas que tengan la coloración verde.

Móviles	Inmóviles
Nitrógeno	Calcio
Potasio	Hierro
Magnesio	Boro
Fósforo	Azufre
Cloro	Cobre
Sodio	
Zinc	
Molibdeno	

Tabla 3.Elementos móviles e inmóviles en plantas.

- b) Deficiencia de nutrientes minerales que participan en el almacenamiento de energía e integridad estructural, segundo grupo.

El fósforo como fosfato es un componente integral de compuestos importantes de la planta tales como las células, incluyendo los intermedios de azúcar-fosfato de la respiración y la fotosíntesis, así como los fosfolípidos que componen las membranas vegetales. También es un componente de nucleótidos utilizado en el metabolismo de energía de la planta (tales como ATP) y en el ADN y el ARN. La reacción química más importante en la naturaleza es la fotosíntesis. Esta reacción utiliza energía luminosa, en presencia de clorofila, para combinar el dióxido de carbono y agua, convertirlos en azúcares simples. En este proceso, la energía solar es capturada en el ATP e inmediatamente éste compuesto está disponible como fuente de energía para muchas otras reacciones dentro de la planta. Por otro lado, los azúcares formados se usan como bloques para construir otras células estructurales y compuestos para almacenamiento.

El fósforo es un componente vital de las sustancias que forman los genes y cromosomas. De esta forma, este elemento es parte esencial de los procesos que

transfieren el código genético de una generación a la siguiente, proveyendo el mapa genético para todos los aspectos de crecimiento y reproducción de la planta. El adecuado suplemento de fósforo es esencial para el desarrollo de nuevas células y para la transferencia del código genético de una célula a otra, a medida que se desarrollan nuevas células.

La deficiencia de fósforo provoca el crecimiento lento de la planta, cuando se intensifica la deficiencia las hojas más viejas se tornan de un color morado a oscuro. Es una coloración similar a la causada por bajas temperaturas. Una deficiencia moderada con síntomas que la acompañan pueden ser inducida por temperaturas frías, los síntomas desaparecerán cuando la temperatura vuelva a la óptima para el crecimiento activo de la planta.

El exceso de fósforo no es un problema común, sin embargo, estudios recientes demostraron que el exceso de este puede afectar de manera significativa el crecimiento de la planta de jitomate. Abundante cantidad de fósforo se acumula en las semillas y en el fruto donde es esencial para la formación y desarrollo de la semilla. El fósforo es también parte de la fitina, que es la principal forma de almacenamiento de fósforo en la semilla. Un mal suplemento de fósforo puede reducir el tamaño, número y viabilidad de las semillas (Switzerland, 2000).

c) Deficiencia de nutrientes que permanecen en forma iónica, tercer grupo.

El potasio juega un papel importante en la regulación osmótica, así como también activa algunas enzimas que participan en la respiración y fotosíntesis. La deficiencia se nota principalmente en las puntas de las hojas ya que se tornan de color amarillento (clorosis) y posteriormente pasan a ser de color negro (necrosis), en algunas monocotiledóneas inicia en las hojas y posteriormente se expande hacia la base de la hoja.

d) Deficiencia de nutrientes minerales que participan en reacciones redox, cuarto grupo.

El hierro (Fe) es un metal que cataliza la formación de la clorofila y actúa como un transportador del oxígeno. También ayuda a formar ciertos sistemas enzimáticos que actúan en los procesos de respiración. La deficiencia de hierro aparece en las hojas como un color verde pálido (clorosis) mientras que las venas permanecen verdes, desarrollando un agudo contraste.

Debido a que el Fe no se transloca dentro de la planta, los síntomas de deficiencia aparecen primero en las hojas jóvenes en la parte superior de la planta. Una deficiencia severa puede dar a toda la planta un color amarillento o blanquecino. La deficiencia de Fe puede ser causada por un desbalance con metales como el Mo, Cu o Mn. Otros factores que pueden promover una deficiencia de Fe incluyen: exceso de P en el suelo, combinación de un alto pH, dosis altas de cal, suelo húmedo y frío, y altos niveles de bicarbonato, diferencias genéticas de las plantas, niveles bajos de materia orgánica en el suelo, la deficiencia de hierro se manifiesta con clorosis en las venas de la hoja.

1.3. ESTRÉS BIÓTICO Y ABIÓTICO

Las plantas se enfrentan a una serie de factores que pueden o no afectar su metabolismo, las condiciones externas pueden afectar negativamente su desarrollo, crecimiento o la productividad. Dentro de estas destacan los factores bióticos, los cuales son impuestos por otros organismos, y los factores abióticos, los cuales surgen de un exceso o déficit en el medio fisicoquímico. Entre las condiciones ambientales que causan daño se encuentra la sequía, altas o bajas temperaturas, excesiva salinidad del suelo, nutrientes minerales inadecuados en el suelo, luminosidad alta o baja, etc.

El estrés biótico o abiótico puede verse reflejado en la productividad del cultivo y puede reducir de un 65 a 87% dependiendo del cultivo. Dichas pérdidas son atribuidas a los factores del medio ambiente (figura 2). El mecanismo de

resistencia al estrés puede ser de dos tipos. Evitar el estrés y tolerancias al mismo, solo así las plantas sobrevivirán a las condiciones extremas.

Muchos factores determinan cómo las plantas responden al estrés ambiental (figura 2): el genotipo y las circunstancias de desarrollo de la planta, la duración y la gravedad del estrés, el número de veces que la planta se somete a este y cualquier efecto aditivo o sinérgico de múltiples tensiones. Las plantas responden al estrés a través de una variedad de mecanismos. El fracaso para compensar un estrés severo puede resultar en muerte de la planta (Buchanan, 2000).

El estrés inducido abióticamente es un factor muy importante ya que se destaca por desencadenar una amplia gama de respuestas en las plantas tales como alteraciones en la expresión génica (figura 3) y del metabolismo celular, cambios en la tasa de crecimiento y rendimientos de los cultivos, entre otros.

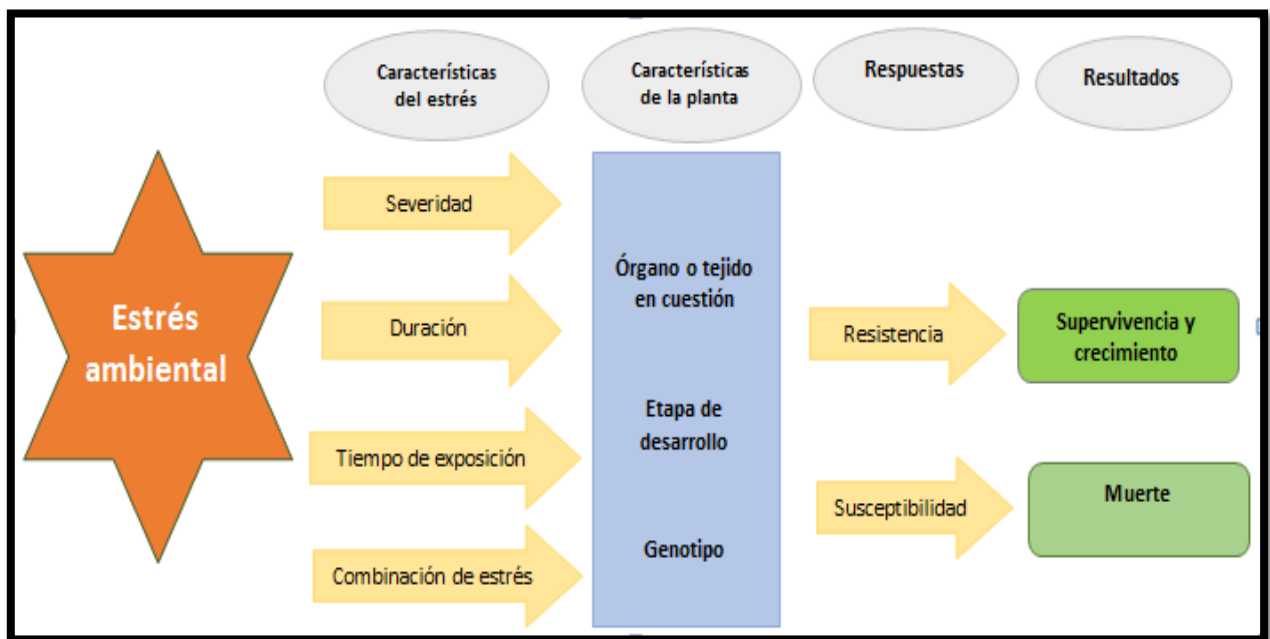


Figura 2. Factores que determinan el estrés.

En general las señales ambientales son recibidas y reconocidas por la planta (figura 3), después la señal se comunica dentro de las células y por toda la planta. La transducción de señales ambientales típicamente resulta en una expresión génica alterada a nivel celular, que a su vez puede influir en el metabolismo y desarrollo de toda la planta (Buchanan, 2000).

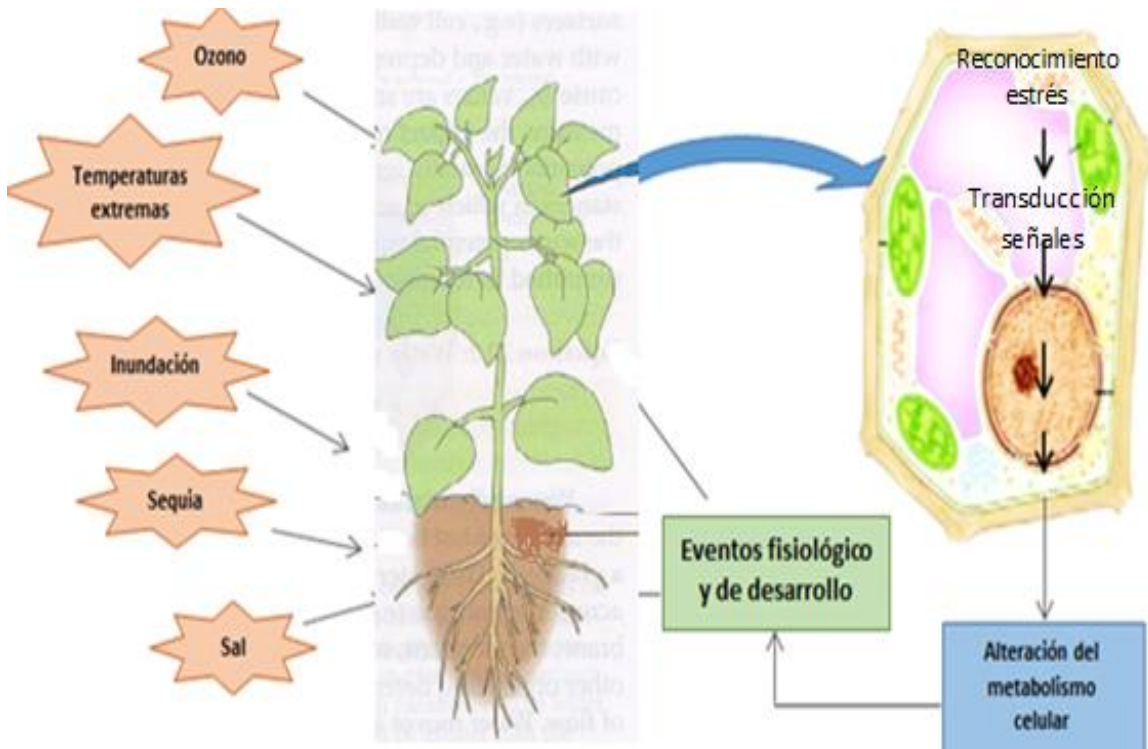


Figura 3. Alteraciones provocadas por estrés. Las plantas responden de manera particular.

1.3.1. ESTRÉS COMBINADO

De manera natural las plantas están expuestas al efecto combinado del estrés biótico y abiótico, dicha combinación es mucho más nociva para los cultivos manifestándose en la producción agrícola y el crecimiento de las plantas. Dicha combinación cada vez es más intensa y va en aumento año con año; tan solo en

Estados Unidos se reportan pérdidas de hasta \$1000 millones de dólares (Trends, 2006).

Podemos observar en la figura 4 que la combinación de sequía y las grandes olas de calor han causado mayor daño que los provocados de manera independiente por sequía, congelación e inundación.

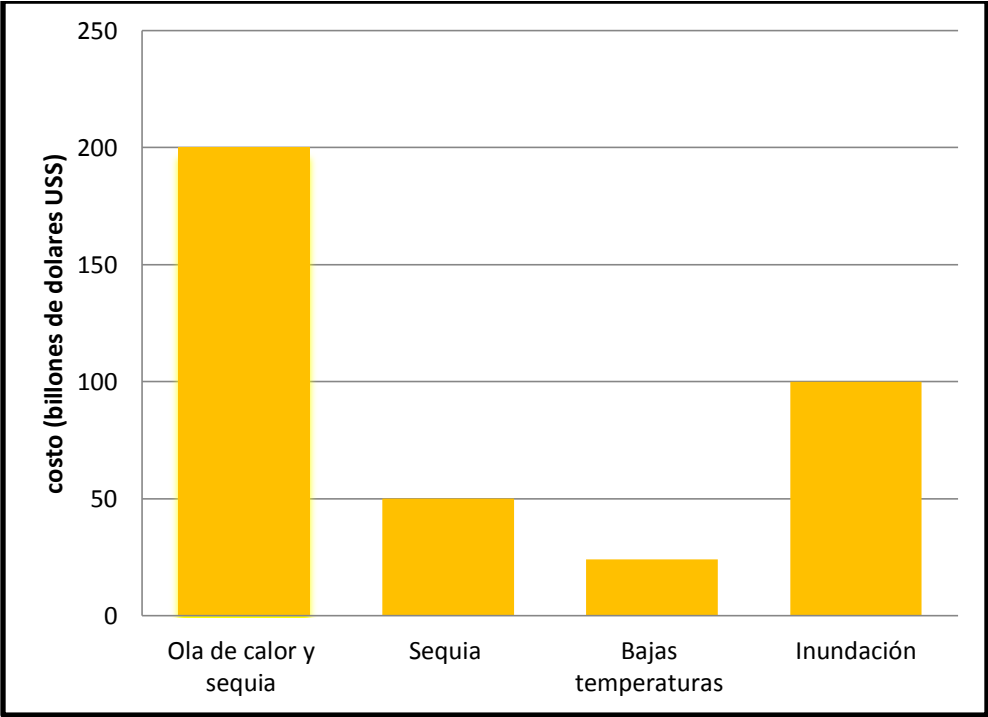


Figura 4. Costos en la producción agrícola de EU por desastres naturales de 1980 al 2012.

De manera particular los efectos de la sequía, el estrés por calor, y su combinación, en el crecimiento y el desarrollo de maíz y trigo nos indican que la sequía provoca principalmente una disminución de altura en la planta, menor número de espigas y en el peso del grano. Por el contrario, el estrés por calor provoca un aumento de espigas abortadas y una reducción del número de granos. En los tejidos reproductivos, la sequía afecta principalmente el desarrollo del

pistilo, mientras que el estrés calórico afecta principalmente el desarrollo del polen. Estos efectos generales o respuestas de las plantas pueden ser diferentes dependiendo de la intensidad y duración del estrés, combinado con la especie de planta involucrada (Westgate,1994 y Prasad *et al* 2011).

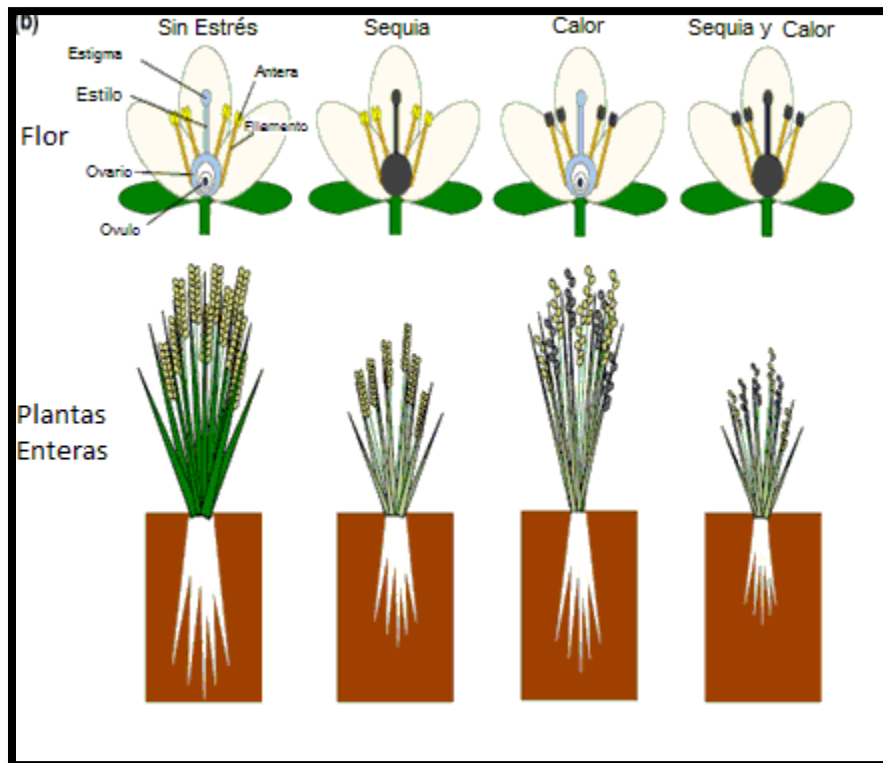


Figura 5. Efectos de la sequía y estrés por calor, y su combinación en el crecimiento y desarrollo de maíz y trigo.

Reforzando lo anterior, numerosos reportes indican que las plantas crecen en un ambiente sometido a diferentes combinaciones de estreses. El efecto combinado de dichos factores estresantes se ha monitoreado sobre el crecimiento y

rendimiento de los cultivos (Cramer G. R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M. and Shinozaki K. 2011).

Sequia	Salinidad	Calor	Enfriamiento	Congelación	Ozono	Patógeno	UV	Nutrientes	CO ₂ alto	Luz intensa	Metales pesados	Boro	Compactación de suelo	
■	■	■	■		■	■	■	■	■	■	■		■	Sequia
	■				■	■		■	■			■		Salinidad
		■	■	■	■	■	■			■				Calor
		■	■	■		■				■				Enfriamiento
		■	■	■										Congelación
					■	■	■		■					Ozono
						■	■	■						Patógeno
							■				■			UV
								■	■					nutrientes
									■	■				CO ₂ alto
										■				Luz alto
											■			Metales pesados
														Boro
														Compactación de suelo

■	Potencial de interacción negativa
■	Potencial de interacción positiva
□	Desconocido
■	Sin interacción

Figura 6. Matriz de las diferentes combinaciones de estrés que ya han sido estudiadas.

2.1. JUSTIFICACIÓN

Actualmente los campos agrícolas han sido sobreexplotados debido al crecimiento incontrolado de las poblaciones. Consecuentemente hay un incremento en las demandas alimenticias. Es decir, nuestros campos están siendo sobreexplotados por la rotación de cultivos durante todo el año, de la mano con la aplicación incontrolada y sin fundamentos de fertilizantes.

En general y bajo el marco anterior, podemos apreciar que la problemática nutrimental y factores abióticos que impactan a los cultivos, su calidad y producción son muy claros. Los agricultores viven una problemática cada vez más grave, ya que gracias a esto sufren grandes pérdidas económicas. Por lo tanto es urgente el desarrollo de proyectos encaminados a entender la respuesta al estrés de los cultivares mexicanos. El desarrollo de este proyecto es plenamente justificado ya que el conocimiento básico generado será la base para iniciar programas de mejoramiento genético y obtener plantas con capacidad de adaptación a las características nutricionales locales específicas.

2.2. HIPÓTESIS

Las respuestas fisiológicas permitirán relacionar los bajos rendimientos o pérdidas de los cultivos con las deficiencias o disponibilidad de macronutrientes y/o bajas temperaturas.

2.3. OBJETIVO GENERAL

Determinar la dependencia de la respuesta fisiológica en plantas de jitomate sometidas a estrés por fósforo y bajas temperaturas.

2.4. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto del estrés abiótico (fósforo y bajas temperaturas), sobre la germinación y desarrollo de la planta.
- Evaluar el comportamiento metabólico general en las plantas estresadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. EVALUACIÓN FISIOLÓGICA

La estrategia experimental que se siguió para lograr los objetivos es la presentada en la figura 7, posteriormente se describen cada uno de los métodos desarrollados en las diferentes etapas de esta fase.

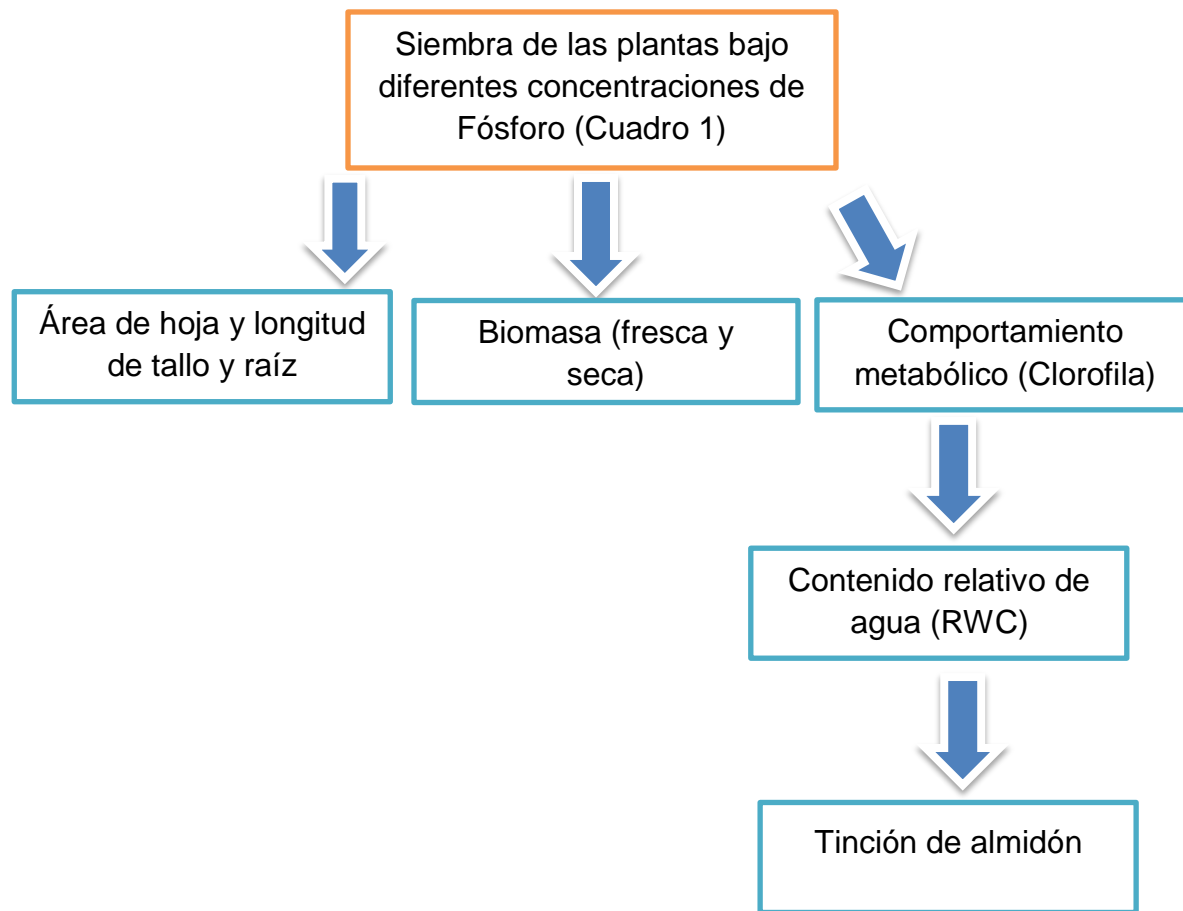


Figura 7. Diagrama experimental general.

3.1.1. MATERIAL VEGETAL Y CRECIMIENTO.

Semillas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) variedad Saladett fueron sembradas en cultivo *in-vitro* empleando el medio MS (Murashige y Skoog) basal modificando la solución de macronutrientes como se muestra en la tabla 4. Una vez sembradas las semillas y transcurridos 37 días las plantas de jitomate fueron estresadas por tratamiento térmico de 4°C por 72 horas y posterior mente se realizaron las mediciones fisiológicas programadas.

Macronutriente	Concentración en el medio (mM)	
	Control	Problema
N (como nitrato)	39.41	39.41
N (como amonio)	20.62	20.62
P	1.25	0.00
K	20.05	18.80
Ca	2.99	2.99
Mg	1.50	1.50
S	1730.00	1730.00

Tabla 4. Composición de macronutrientes del medio MS. El medio control es MS basal; el medio problema es modificando la concentración base de fósforo (P).

Las plantas fueron mantenidas en un cuarto de cultivo con las condiciones necesarias para su supervivencia (ciclos de 16:8 horas luz- oscuridad, 25°C, 30 a 45% de humedad relativa y 10 000 luxes), posteriormente para el estrés térmico se incubaron por tres días a 4°C y condiciones equivalentes de luz y humedad. Con las plantas estresadas y no estresadas se recolecto el tejido seleccionado en hojas, tallo y raíces, dicho material fue empleado para las extracciones de RNA total, entre otras mediciones.

Tratamiento	Control		Problema	
	25°C	4°C	25°C	4°C
1	X			
2		X		
3			X	
4				X

Tabla 5. Tratamientos térmicos a los que fueron sometidos los medios de cultivo (tabla 4).

3.1.2. BIOMASA

A. Biomasa base fresca

La planta fue aislada del medio de cultivo con ayuda de unas pinzas para no tener pérdidas de alguna extremidad y no alterar los pesos, posteriormente se dividió la planta en hojas, tallos y raíces; cada parte fue colocada en charolas de aluminio previamente a peso constante tratadas a 75°C por 72 horas. Se procedió a registrar los pesos frescos en una balanza VE-303 analítica de alta sensibilidad.

Cada medición fue realizada por triplicado para cada tratamiento (tabla 5). Una vez realizados los registros, el mismo material fue empleado para las determinaciones base seca.

B. Biomasa base seca

El material vegetal empleado para los pesos frescos fue incubado por 72 horas a 75 °C. Transcurrido el tiempo se pesaron para conocer la biomasa neta total empleada para los cálculos respectivos.

3.1.3. ÁREA DE HOJA, LONGITUD DE TALLO Y RAÍZ.

Las mediciones de área de hojas, longitud de tallos y raíces, se realizaron empleando el programa ImageJ 1.46r mediante el análisis de imágenes. Esto implica retirar la planta completa del medio para colocarla en una superficie plana y oscura para poder obtener una fotografía de buena calidad y así proseguir con su análisis siguiendo los lineamientos del tutorial respectivo para finalmente su tratamiento estadístico de ANOVA.

3.1.4. MEDICIÓN DE CLOROFILA

Se recolecto las determinaciones del contenido de clorofilas mediante la aplicación del método de Torrecillas *et al* (1984).

Se recolecto 0.1 g de hoja, el material fue fraccionado y sumergido en tubos de ensayo conteniendo 2.5 ml de acetona, se incubaron por 72 horas a 4°C, cubiertos de la luz, posteriormente se tomaron las lecturas de absorbancia a 649 y 665 nm en un espectrofotómetro UV-Vis VE-5100UV. Los datos obtenidos fueron empleados para determinar el contenido de clorofila A, clorofila B y clorofila total con las siguientes ecuaciones:

- ❖ Clorofila “A”= [(11.63)(absorbancia a 665)]-[(2.39)(absorbancia a 649)]
- ❖ Clorofila “B” = [(20.11)(absorbancia a 649)]-[(5.18)(absorbancia a 665)]
- ❖ Clorofila total = [(6.45)(absorbancia a 665)]+ [(17.72)(absorbancia a 649)]

3.1.5. CONTENIDO RELATIVO DE AGUA (RWC)

Se pesó 0.5 gr de hoja base fresca (FM) que fue empleado para sumergirlo en agua destilada y desionizada durante 72 horas, transcurrido el tiempo se eliminó el exceso de agua, los tejidos fueron pesados para obtener la masa turgente (TM). Los tejidos fueron deshidratados a una temperatura de 75 °C por 72 horas para determinar el peso seco (DM), El contenido relativo de agua se calculó siguiendo la ecuación:

$$\text{RWC (\%)} = [(FM-DM) / (TM-DM)] \times [100]$$

3.1.6. TINCIÓN DE ALMIDÓN

La glucosa es uno de los carbohidratos más importantes presentes en las plantas generado a partir de la fotosíntesis, en las hojas hay pigmentos fotosintéticos mientras que en otras partes de la planta no los hay, por ello los carbohidratos son transportados a partir de las hojas hasta las partes donde no tiene pigmentos no fotosintéticos. En este caso se identificaran los depósitos de almidón contenidos por medio de la utilización de yodo. Para eso los pigmentos fueron eliminados al sumergir la planta completa en el alcohol industrial al 70% a baño maría, posteriormente la planta fue colocada en una caja Petri conteniendo la solución de yodo. Esta solución fue preparada con KI 6 mM y 2 mM de I sublimado.

3.1.7. MUESTREO Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Todas las muestras fueron analizadas en dos corridas independientes y en cada corrida las muestras fueron analizadas por triplicado; con los valores obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante el análisis de diseño de bloques completo al azar (DBCA), donde los dos factores considerados fueron la temperatura y el macronutriente, porque estos dos factores afectan de manera considerable el resultado de la comparación (Gutiérrez, 2008).

El acomodo de los datos es muy importante así que identificamos cuales son los bloques y los tratamientos. Utilizamos dos bloques (temperatura a 4°C y 25°C) y dos tratamientos (control y problema). Posteriormente se obtuvo el promedio de cada bloque y tratamiento, así se obtuvo la suma de cada bloque y tratamiento combinado, para que posteriormente se analizar el ANOVA con los tratamientos, bloques y error. Esto se realizó para cada análisis fisiológico realizado.

Con esta prueba estadística se dedujo que el factor que destaca en la fisiología del jitomate estresado fue gracias a la ausencia del macronutriente y no por la temperatura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DEL ESTRÉS ABIÓTICO COMBINADO SOBRE LA EFICIENCIA DE GERMINACIÓN.

En la figura 8 se muestran las plantas de jitomate ocho días posteriores a la siembra en los diferentes tratamientos.

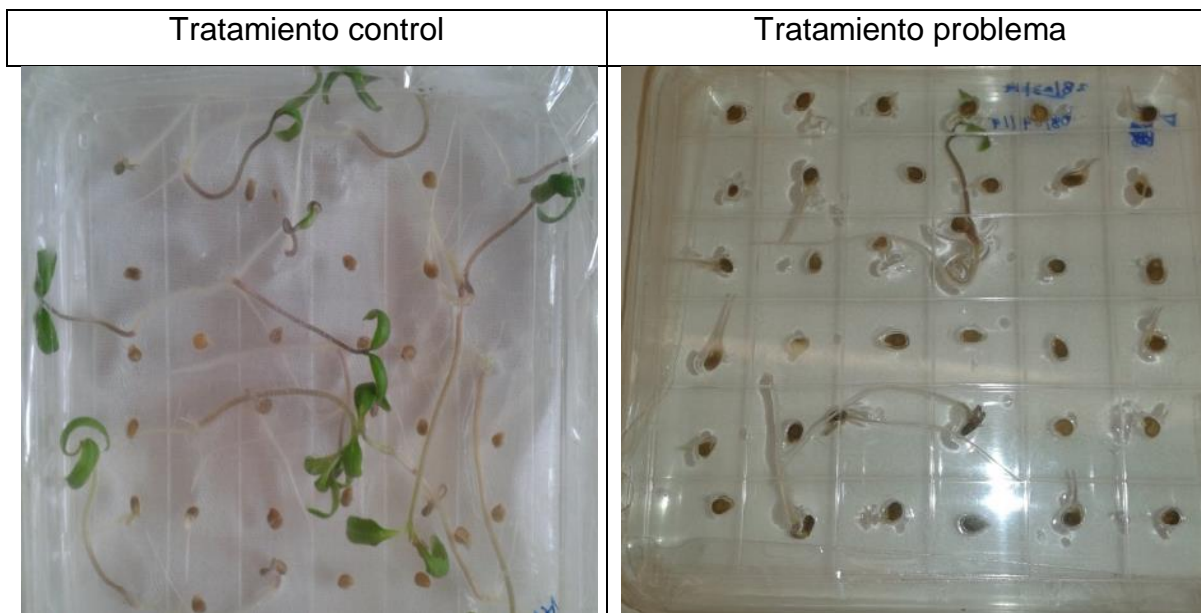


Figura 8. Índice de germinación en ambos tratamientos.

Las semillas se sembraron en el medio estándar y modificado, en ambos medios se observó una alta eficiencia de germinación. En el medio modificado se obtuvo una eficiencia germinal del 60% en comparación con el testigo donde la eficiencia de germinación fue hasta del 90%.

En la figura 9 se presentan las plantas a los 20 días posteriores a su siembra en ambos tratamientos.

Con las plantas germinadas a los 37 días después de la siembra, tratamientos 2 y 4 (tabla 5), fueron expuestas a estrés frío, durante 72 horas. En estas plantas estresadas observamos que el frío induce la acumulación de pigmentos oscuros en hojas y raíces, posiblemente antocianinas, y respecto al crecimiento de la

planta se esperaba un desbalance o reducción en toda su estructura, esta parte se discute en el siguiente subcapítulo.

a)



b)



Figura 9. Plantas de jitomate a los 20 días posteriores a su siembra, a) planta control y b) planta problema.

4.2 CUANTIFICACIONES DE BIOMASA FRESCA Y SECA

Con las plantas estresadas y no estresadas mediante la combinación abiótica el efecto de dicho estrés sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas fue monitoreado mediante el registro de la biomasa fresca y seca. Para estas medidas se trabajó con plántulas de 40 días de crecimiento después de la siembra. Los resultados de la biomasa fresca en toda la planta mediante registros seccionados en raíz, tallos y hojas (figura10) muestran que el estrés por macronutrientes, en particular de fósforo, el crecimiento de la planta es afectado de manera importante con una reducción en crecimiento desde 0.6 a 0.2 g en hojas y tallos. En estas mismas condiciones de estrés sólo por macronutrientes la raíz no siguió el mismo comportamiento en crecimiento respecto a las raíces control. Es decir, en el control se observa una tendencia de caída gradual mientras que en las plantas estresadas por fósforo, aunque la raíz presentó menor biomasa fresca, parece que el estrés por P induce el crecimiento de las raíces, de manera semejante como ocurre en las plantas que crecen en condiciones limitantes de agua.

Cuando las plantas sólo fueron estresadas por bajas temperaturas (tercer grupo de barras de la figura 10), se observó una reducción gradual pero no tan importante como al estrés por macronutrientes (segundo grupo de barras de la figura 10). Finalmente en el estrés combinado (cuarto grupo de barras), encontramos que la reducción en el crecimiento es muy importante, principalmente en hojas con valores de 0.03g. Esto posiblemente se deba a que la planta reduce el crecimiento de la hoja para mantener un nivel adecuado de agua en su interior al desarrollar hojas más pequeñas. En cambio los tallos y raíces responden de manera positiva al estrés combinado, principalmente la raíz, mostrando una mayor extensión que raíces estresadas sólo por la temperatura.

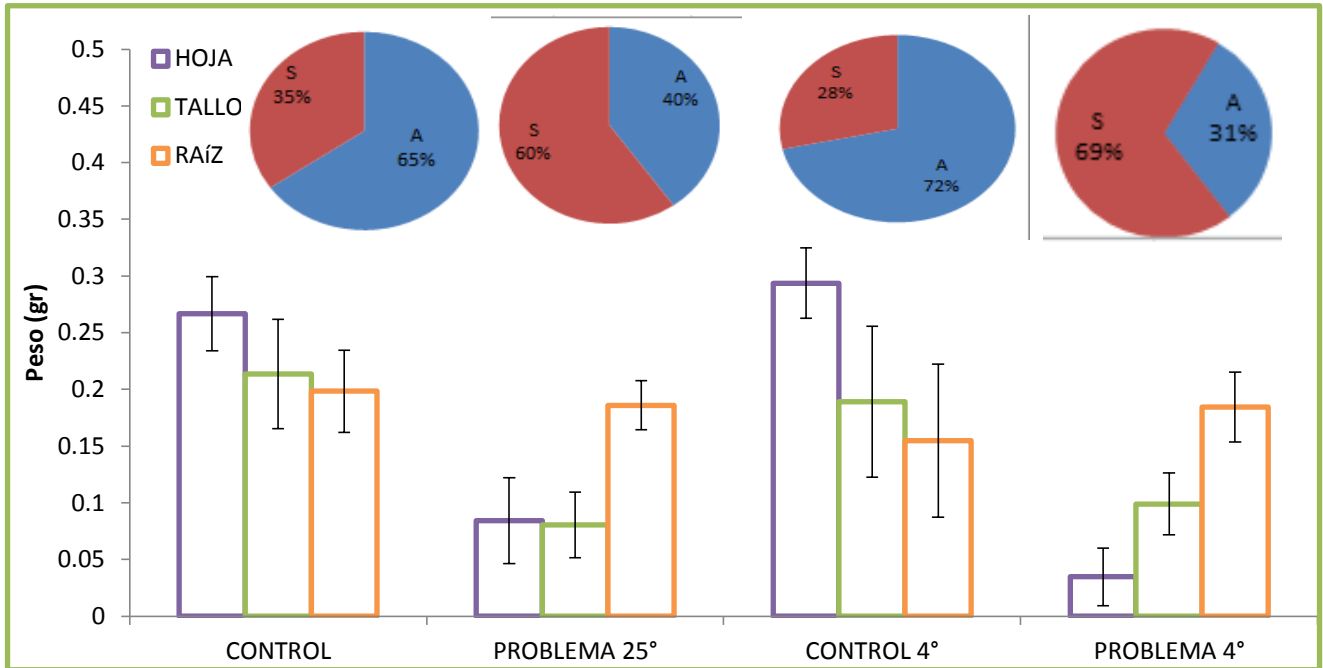


Figura 10. Biomasa fresca seccionada en las diferentes partes de la planta. Se presentan gráfica de barras y de pastel la parte aérea (A) y subterránea (S) en porcentaje, así como también aparece la imagen de la planta que fue analizada.

El análisis estadístico nos permitió calcular las desviaciones estándar y realizar un análisis de ANOVA. El ANOVA con 5% de error nos indica que la temperatura no es un factor que determina de manera importante la acumulación en la biomasa fresca, sin embargo el Fósforo es el que si lo hace.

Considerando que la planta no acumula agua en la misma proporción dependiendo de la parte de la planta, se realizó las mediciones de biomasa base seca. Como podemos observar (figura 11). Con este parámetro de medida observamos que las plantas acumulan más biomasa en hojas, raíces y tallos, respectivamente (figura 11 primer bloque de barras).

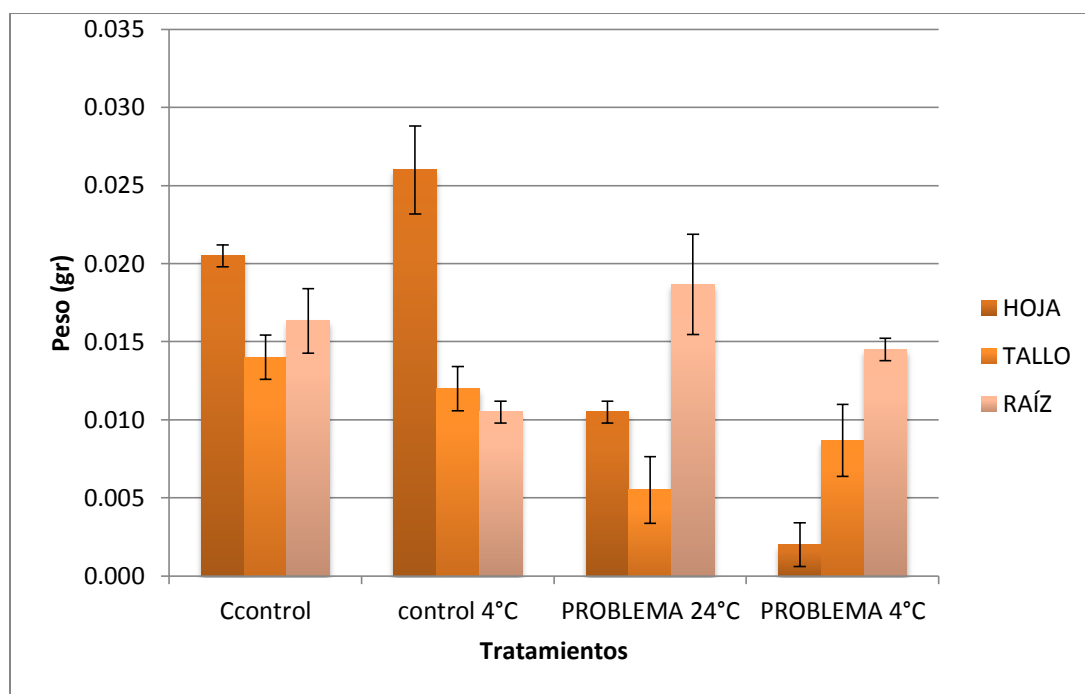


Figura 11. Biomasa seca en partes seccionadas de la planta.

El estrés inducido por deficiencias de P, indujo plantas de menor tamaño, invirtiendo el orden del crecimiento a raíz, hojas y tallo. En este caso observamos que el crecimiento de la raíz se dispara de manera importante con el estrés por P (segundo grupo de barras de la figura 11). Al estresar las plantas a temperaturas de 4°C, hubo una ligera reducción en el tamaño de las plantas, pero con la misma tendencia del crecimiento de las plantas control. Finalmente el estrés combinado afectó el crecimiento de manera muy importante siguiendo la misma tendencia al

comportamiento de los pesos frescos en las mismas condiciones e indicando lo mismo con respecto al ANOVA

4.3 ANÁLISIS DE IMÁGENES: ÁREA FOLIAR, LONGITUD DE TALLO Y RAÍZ.

El área foliar es una cualidad que se detecta a simple vista, ya que el estrés inducido por cualquier nutriente se observa principalmente en las partes aéreas, la coloración y el tamaño de las hojas es un factor a considerar para proponer que hay deficiencia de algún tipo de nutriente (Taiz, 2010).

La cantidad de hojas en los diferentes tratamientos fue muy notable, los mejores resultados con respecto al área foliar fueron en el tratamiento control como era de esperarse seguidas del tratamiento sometido a estrés térmico (tercer grupo de barras figura 12), sin embargo las plantas sometidas a estrés solo por el macronutriente (segundo bloque de barras en figura 12) fueron las de menor área foliar seguidas de las que fueron sometidas a estrés combinado (cuarto bloque de barras), por lo tanto se deduce que estos dos últimos gracias a la menor área foliar obtuvieron menor captación de luz para el proceso fotosintético.

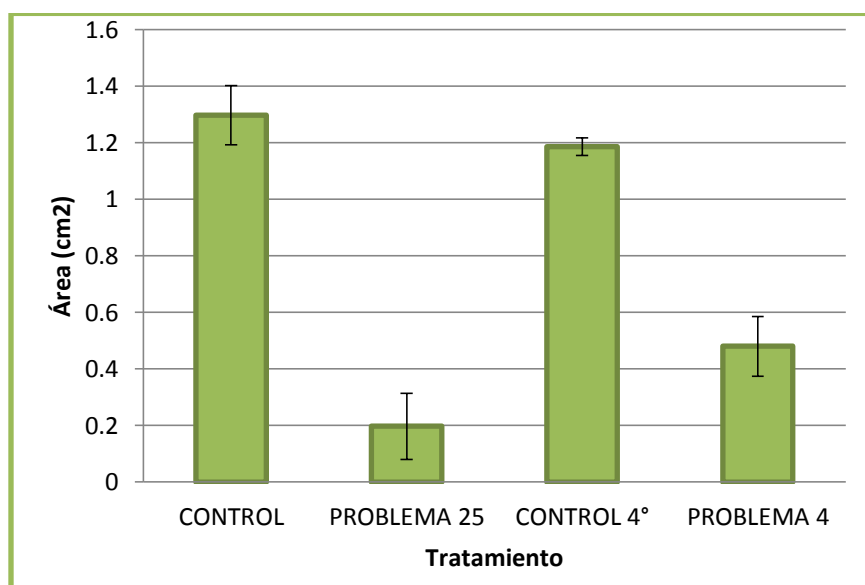


Figura 12. Área foliar reportada.

Las plantas sometidas a estrés solo por el macronutriente (segundo grupo de barras figura 13) y las sometidas a estrés combinado (cuarto grupo de barras) muestran una mayor longitud de raíz y mayor presencia de raíces secundarias esto podría deberse a que la planta estimula sus ápices radiculares para buscar y absorber el macronutriente faltante y al mismo tiempo a la sacarosa que ayuda a la proliferación celular en deficiencia de fósforo (Taiz, 2008), por el contrario los tallos son los más pequeños en estos tratamientos.

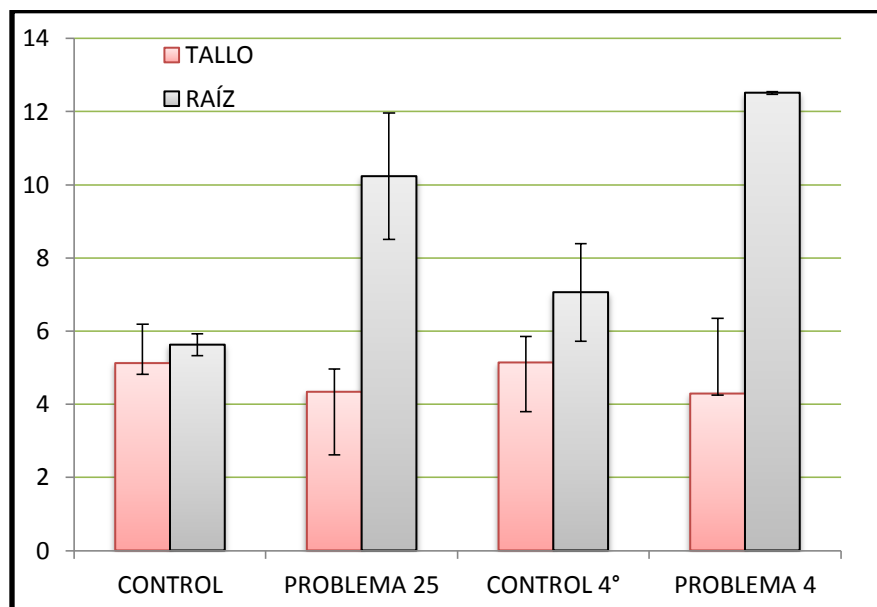


Figura 13. Longitud de tallo y raíz.

El tallo es uno de los principales conductores de savia que trabaja en conjunto con la raíz y las hojas, este es el encargado de transportar los nutrientes obtenidos del suelo hacia las hojas y viceversa, la obtención de luz y presencia de clorofila para generar la glucosa que es el alimento de las plantas. La menor longitud de tallo se encuentra reflejada en los tratamientos problema (segundo y cuarto grupo de barras

de la figura 13), podría deberse al ahorro de energía en el transporte raíz-hojas y viceversa.

4.4 ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO METABÓLICO

La clorofila se encuentra presente en los cloroplastos de las células y son las moléculas fotosintéticas más importantes en el proceso de la fotosíntesis. La clorofila total es la suma de las clorofila A y B. La clorofila A es la que se encuentra en mayor cantidad, participa en la absorción de fotones que excita a los electrones para que se lleve a cabo la transmisión de estos y se genere energía química. La clorofila B aumenta la capacidad de la clorofila A para capturar luz solar, ya que la clorofila B absorbe la luz en longitudes de onda diferentes que la clorofila A, la luz se transfiere después a la clorofila A que la transforma en energía; por esto, a la clorofila B se le considera un pigmento accesorio y forma parte de las antenas colectoras (garcia- Breijo *et al.*, 2006).

En plantas de jitomate estresadas por sales se ha reportado que el contenido de pigmentos, clorofila A y B, se reduce de manera gradual al incrementar la concentración de sales (Manaa *et al*, 2011), en este caso la mayor concentración de clorofila se encuentra en los tratamientos control (primer y tercer grupo de barras de la figura 14) como era de esperarse ya que fueron las de mayor área foliar, por el contrario el menor contenido de clorofila lo reporto las plantas estresadas solo por el macronutriente (segundo grupo de barras) seguidas del estrés combinado.

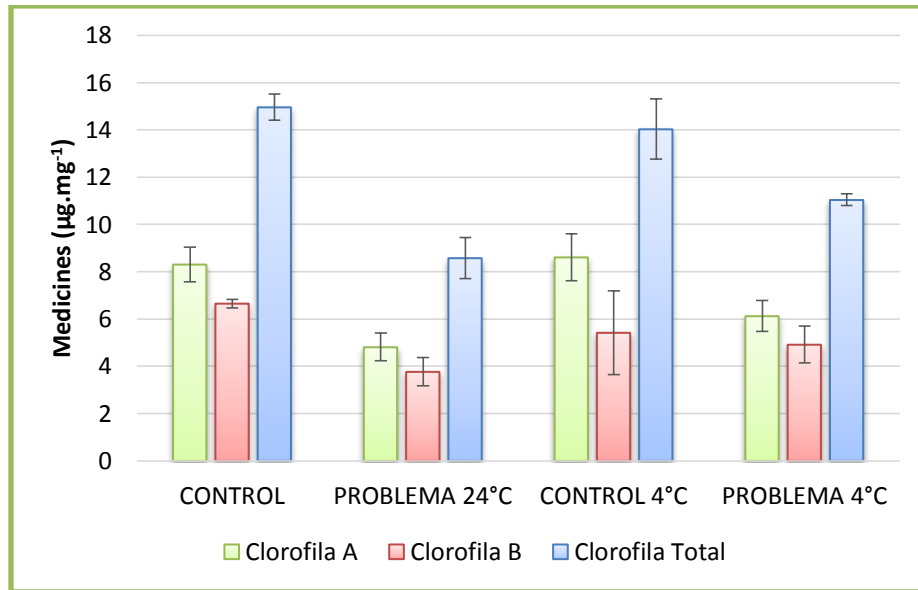


Figura 14. Medición de clorofila en los diferentes tratamientos.

Estudios en plantas de *Arabidopsis* estresadas por Mg se reportó menor contenido de clorofila en ausencia de este elemento, posiblemente por la presencia de sacarosa en mayor concentración en hojas (Hermans, 2005). Esto puede ser similar con respecto a la deficiencia de fósforo, ya que el ANOVA nos indica que el estrés combinado no afecta el contenido de clorofila.

4.5 ANÁLISIS DEL CONTENIDO RELATIVO DE AGUA (RWC)

El Contenido relativo de agua (RWC) es probablemente la medida más apropiada del estado hídrico de la planta en cuanto a la consecuencia fisiológica de déficit de agua celular. El RWC es una estimación adecuada del estado hídrico de la planta en términos de hidratación celular bajo el efecto posible de tanto potencial hídrico foliar y ajuste osmótico (Barr, 1962). Los tratamientos con menor RWC fueron el estrés combinado (cuarto grupo de barras de la figura 15) con el 12% seguido del estrés por el macronutriente con un 13%, esto tal vez no se deba a la falta de agua en el medio, si no que la planta no puede absorberla con facilidad posiblemente

por el daño que sufrieron las hojas a la exposición de estrés, por tanto valores de potencial hídrico tan bajo, que pueden llegar a ser inferiores a los de las células limitando así la absorción de agua. En estudios similares en plantas de trigo y estresadas por salinidad ocurre lo mismo (Argentel, 2006).

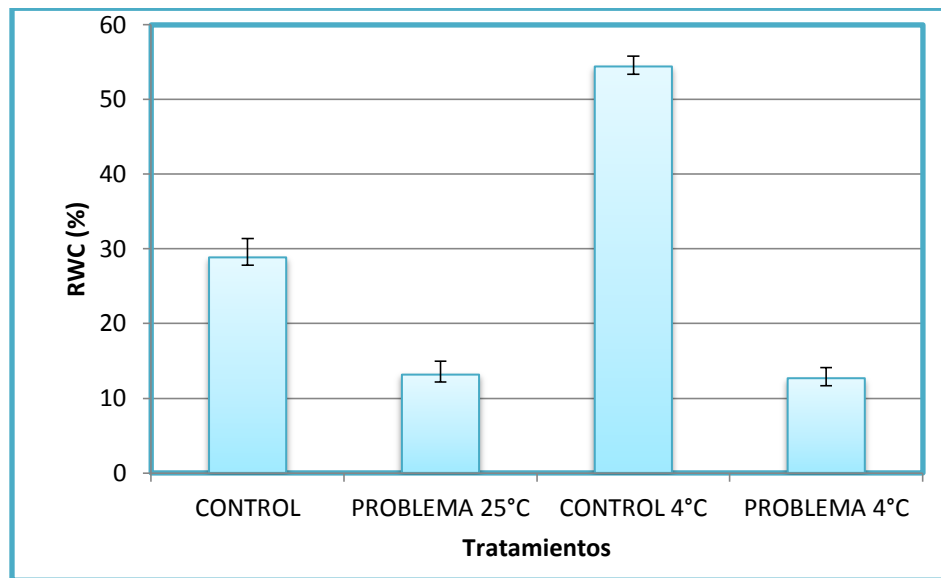


Figura 15. Contenido de agua en hojas (RWC). Estadísticamente nos indica que el estrés inducido por fósforo es el causante principal de un déficit hídrico en hojas de los tratamientos problema.

4.6 DETECCIÓN DE ALMIDÓN EN TODA LA PLANTA POR MEDIO DE LA TINCIÓN DE YODO.

En numerosos reportes se ha fundamentado que cuando las plantas censan constantemente cambios en el medio ambiente, en particular cuando los elementos minerales son escasos, las plantas modifican su crecimiento manifestándose en mayor acumulación de biomasa en las raíces. Ello se debe a

alteraciones genéticas y metabólicas en los ápices y por el reajuste en el transporte de carbohidratos hacia las raíces.

Nuestro análisis metabólico referente a la identificación cualitativa proximal (visual) de los tejidos, muestra que ante la deficiencia de nutrientes el metabolismo primario de carbono es alterado. La figura 16 muestra las plantas expuestas a estrés abiótico en fresco y la tinción a base de yodo.

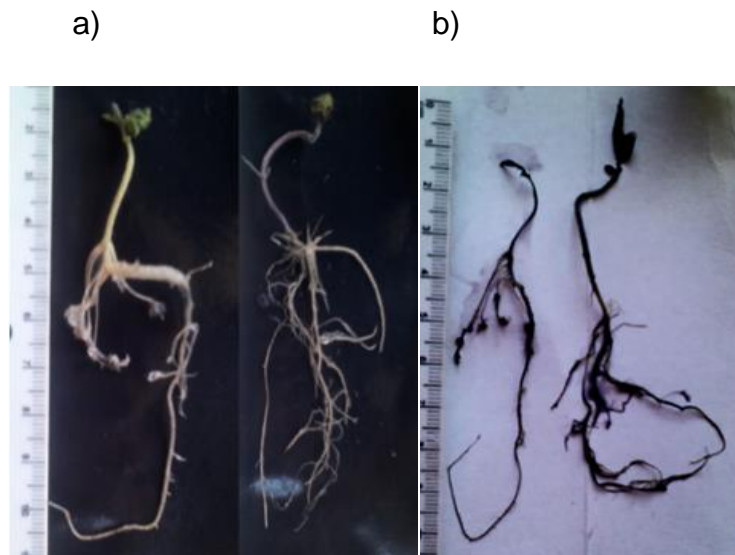


Figura 16. Plantas de jitomate estresadas abióticamente. El inciso a) nos muestra las plantas en su base fresca y en el b) observamos la tinción con yodo.

Podemos observar que las deficiencias de fósforo incrementó la concentración de azúcares (almidón) hacia las hojas y raíces, por el contrario se observó un incremento en la biomasa subterránea y una reducción de la parte aérea coincidiendo con lo ya reportado.

Nuestros resultados son parecidos a lo reportado en la revisión realizada por Hermans y colaboradores, quienes apoyados de trabajos como los de Marschner, (1995) y Sánchez-Calderón. *et al.* (2006) en plantas de *Arabidopsis* encontraron ante la deficiencia de macronutrientes esenciales (NPK y Mg) acumulación de

carbohidratos en hojas y raíces. Dichas alteraciones se manifestaron al modificar la relación en la biomasa ápices-raíces. De manera particular al estresar plantas de manera independiente por nitrógeno (Martin. *et al.* 2002) y fósforo (Sánchez-Calderón. *et al.* 2006) resulto la acumulación de carbohidratos en las hojas, mayores niveles de carbono en raíces, y un incremento en la relación de biomasa raíz: ápices. Es decir, las deficiencias de N y P afectó en diferentes niveles la fotosíntesis, el metabolismo de azúcares y/o la distribución de carbohidratos (sacarosa) entre los tejidos fuente y destino.

Lo anterior está relacionado con la desregulación de genes fotosintéticos, consecuentemente con la caída en la concentración de clorofila y actividad fotosintética. Por el contrario las plantas control mostraron una reserva de almidón en hojas, ápices radicales y tallo en menor proporción (figura 17).

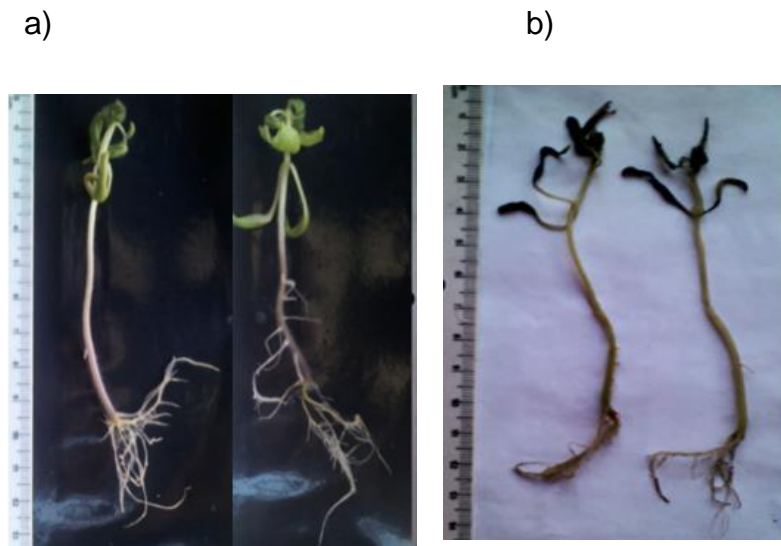


Figura 17. Plantas control. En el inciso a) se muestran las plantas frescas y en b) las plantas procesadas a base de yodo.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se estudió el efecto de estrés abiótico tomando como base un macronutriente y la temperatura, dos factores que afectan la calidad de vida de jitomate, observando los cambios fisiológicos de plantas sometidas a diferentes tratamientos, con la finalidad de dar la pauta inicial para un futuro proyecto que puede consistir en obtener semillas mejoradas con la capacidad de adaptación a déficit de fósforo y bajas temperaturas.

Con este trabajo se ve reflejado que tanto influye el estrés en la fisiología de las plantas estresadas abióticamente, a continuación se mencionan los efectos causados:

La biomasa se ve afectada por el macronutriente, menor peso en planta problema tanto fresco como seco, se tiene menor longitud de hoja, tallo, sin embargo la raíz tiene mayor longitud con respecto al testigo.

La clorofila se ve afectada por ambos factores pero principalmente por la ausencia del macronutriente, menor presencia de clorofila en tratamientos problema, por lo tanto menor alimentación para la planta.

Menor cantidad de potencial hídrico en tratamientos problema, por lo tanto el estrés por nutrientes afecta la transferencia de agua de raíz a hojas esto afecta principalmente la fotosíntesis, ya que los electrones perdidos en la reacción en cadena de electrones, no son reemplazables por los electrones del agua.

Las reservas de almidón se dan principalmente en la raíz en las plantas con ausencia de fósforo, lo contrario a los tratamientos control que se almacena en hojas y ápices radiculares.

La temperatura no afecto de manera drástica en este experimento, posiblemente sea por el corto periodo de tiempo que se expusieron las plantas. Para los productores a cielo abierto, la temperatura a 4°C por tres días no afectara la fisiología de su cultivo.

Se ha propuesto que el estrés abiótico combinado afecta a los cultivos de jitomate de manera drástica, sin embargo en este trabajo se dedujo que la temperatura de 4°C por 72 horas no afecta la fisiología de la planta, por otra parte el estrés inducido por fósforo afecta de manera significativa; por lo tanto el estrés combinado por temperatura y fósforo es un factor a considerar (no se encontró ningún trabajo reportado por estrés combinado de estas) la planta de jitomate es muy susceptible a bajas temperaturas y deficiencia de nutrientes esenciales.

PERSPECTIVAS

Este trabajo dará la pauta para generar más información acerca de la modificación genética en plantas que resistan el déficit de fósforo y bajas temperatura.

Realizas estudios con mayor tiempo de exposición a baja temperatura, ya que la exposición por 72 horas no genero cambios significativos en la fisiología de las plantas.

Combinar desde la siembra los dos factores abióticos para ver las reacciones de las plantas.

Determinar cuantitativamente metabolitos de interés, como el almidón, o algunas enzimas típicas de la ruta de interés

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, P., Davies, JN., y Winsor, G. (1978) Effects of nitrogen, potassium and magnesium on the quality and chemical composition of tomatoes grown in peat. *Journal of Horticultural Science*, (53): 115-122.
- Alcantar, G. (2009). *Nutrición de cultivos*. Colegio de posgraduados. Mundi-prensa Mexico, S.A. de C.V.
- Amtmann A, Troufflard S, Armengaud P (2008). The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants., 133:682-691.
- Argente L., González L. M., Ávila C., Aguilera R. (2006). comportamiento del contenido relativo de agua y la concentración de pigmentos fotosintéticos de variedades de trigo cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos Tropicales*, vol. 27, núm. 3, 2006, pp. 49-53, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba.
- Armengaud P, Sulpice R, Miller AJ, Stitt M, Amtmann A, Gibon Y (2009). Multi-level analysis of primary metabolites provides new insights into the role of potassium nutrition for glycolysis and nitrogen assimilation, in press.
- Baevre, OA. (1981) Chemical and physical properties of re-used peat for tomato. *Acta Horticulturae*, (126): 45- 49.
- Barr, H.D. and Weatherley, P.E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15:413-428.
- Benton, J (2008) *Tomato Plant Culture "In the Field, Greenhouse, and Home Garden"*. CRC Press, 129-177.
- Bertsch F. 2003. Absorción de nutrimentos por los cultivos. San José, Costa Rica, ACCS-Universidad de Costa Rica-CIA. pág. 62-105.10.
- Biddinger, EJ., Liu, C., Joly, RJ., y Raghothama, KG. (1998) Physiological and Molecular Responses of Aeroponically Grown Tomato Plants to Deficiency. *J. Amer.Soc.Hort.Sci*, 123 (2): 330-333.
- Buchanan, B., Cruissem, W, R. (2000), *American Society of Plant Physiologists*, 568 – 570.
- Cadahía, C., Eymar, E., Lucena, JJ., et al (2005) *Fertirrigación cultivos hortícolas, frutales y ornamentales*. Mundi-Prensa, 355-385.
- Castellanos, J. (2009). *Manual de producción de tomate en invernadero*. printed in Mexico.

- Desnos, T. (2008). Root branching responses to phosphate and nitrate. 11:82–87.
- Fayemi, AA., y Agboola, A. (1975) Nutrient Requirements of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in S.W Nigeria. *Expl Agric*, (II), 137-143.
- Garcia-Breijo F.,J;Rosello, Caselles, J; Santamarina-Siurana, M., P. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Universidad politécnica de valencia. Valencia, España.181.
- Gutiérrez, H., de la vara. R. 2008. Análisis y diseño de experimentos. McGraw-Hill/interamericana editores, S.A. de C.V. A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc. Edificio Punta Santa Fe.
- Hermans.C., Verbruggen. N. 2005. Physiological characterization of Mg deficiency in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 418, pp. 2153–216.
- Hermans, C., Hammond. JP., White PJ., Verbruggen, N. (2007). How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation?. *Plant Science Conferences*.
- Howard, M. (2001) Cultivos hidropónicos (Nuevas técnicas de producción). “Mundi-Prensa”, 41-66.
- Jaramillo, J. (2006). El cultivo de tomate bajo invernadero. Centro de Investigación La Selva Rionegro, Antioquia, Colombia, 11-48.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. In: D.L. Sparks, editor, *Methods of soil analysis. Part3. Chemical methods. SSSA Book Ser. 5. SSSA and ASA, Madison, WI. p.869–919. doi:10.2136/sssabookser5.3.c32*
- Lambers, H., Raven, J., Shaver, G., y Smith., S. (2008) Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology and Evolution*, 23(2): 95-103.
- Leinweber, P., R. Meissner, K.-U. Eckhardt, and J. Seeger. 1999. Management effects on forms of phosphorus in soil and leaching losses. *Eur. J. Soil Sci.* 50:413–424. doi:10.1046/j.1365-2389.1999.00249.x
- Lorenz, O.A., and M.T. Vittum. 1980. Phosphorus nutrition of vegetable crops and sugar beets. In: F.E. Khasawneh et al., editors, *The role of phosphorus in agriculture. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. p. 737–762. doi:10.2134/1980.roleofphosphorus.c27*

- Maathuis, F, JM. (2009) Physiological functions of mineral macronutrients, 12:250–258.
- Mahouachi J, Socorro AR, Talon M.(2006). Responses of papaya seedlings (*Carica papaya* L.) to water stress and re-hydration: growth, photosynthesis and mineral nutrient imbalance. 281:137-146.
- Manaa, A., Ben, H., Smiti, S., et al (2011) Salt-Stress Induced Physiological and Proteomic Changes in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Seedlings. *A Journal of Integrative Biology*, 15(11): 802-809.
- Marschner, H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants* (2nd edn), Academic Press
- Martin, T. et al. (2002) Arabidopsis seedling growth, storage lipid mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon: nitrogen availability. *Plant Physiol.* 128, 472–481
- Masuka, B., Araus, JL., Das, B., Sonder, K., y Cairns, JE. (2012) Phenotyping for Abiotic Stress Tolerance in Maize. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54(4): 238-249.
- NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. Diario Oficial de la Federación. México, D. F.
- Nuez, F. (2001). *El cultivo del tomate*. Mundi-prensa. Mexico.
- Ortega, LD., Sánchez, J., Ocampo, J., et al (2010) Efecto de diferentes sustratos en crecimiento y rendimiento de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) bajo condiciones de invernadero. *Ra Ximhai*, 6(3): 339-346.
- Olsen, S.R., and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: A.L. Page et al., editors, *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. p. 403–430. doi:10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c24
- Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney. 1982. Nitrogen total. pp. 595-629. In: L. A. Page, H. R. Miller, and R. D. Keeney (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. ASA. SSSA. Madison, WI, USA.

- Rajendran, K. and P. Devaraj. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass Bioenergy* 26: 235-249.
- Rincón L., J. Sáez y E. Balsalobre. 1995. Crecimiento y absorción de nutrientes del pimiento grueso bajo invernadero. *Investigación Agraria*. Vol. 10 (1): 47-59.
- Sairam, R.K., and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr Sci* 86: 407-421.
- Salazar-García S. 2002. Nutrición del aguacate, principios y aplicaciones. INIFAP-INPOFOS.
- Sánchez-Calderón, L. et al. (2006) Characterization of low phosphorus insensitive (lpi) mutants reveals a crosstalk between low P-induced determinate root development and the activation of genes involved in the adaptation of *Arabidopsis* to P deficiency. *Plant Physiol*. 140, 879–889.
- Sims, J.T., and F.J. Coale. 2002. Solutions to nutrient management problems in the Chesapeake Bay watershed. In: P.M. Haygarth and S.C. Jarvis, editors, *Agriculture, hydrology and water quality*. CAB Int., Wallingford, UK. p.345–371.
- Switzerland, B. (2000). *Principios de nutrición vegetal*. International potash institute schneidergasse 27, P.O.Box 1609 C-4001.
- Torrecillas, A., Leon, A., Del Amor, F., Martinez-Monpean, M.C. (1984) Determinación rápida de clorofila en discos foliares de limonero. *Fruits* 39: 617-622.
- Wang, Y.T., T.Q. Zhang, I.P. O'Halloran, C.S. Tan, Q.C. Hu, and D.K. Reid. 2012. Soil tests as risk indicators for leaching of dissolved phosphorus from agricultural soils in Ontario. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76:220–229. doi:10.2136/sssaj2011.0175
- White PJ. (2001). The pathways of calcium movement to the xylem. *J Exp Bot*, 52:891-899.
- Yazaki Y, Asukagaw N, Ishika Y, Ohta E, Sakata M. (1988) Estimation of cytoplasmic free Mg²⁺ levels and phosphorylation potentials in mung bean root-tips by in vivo P-31 NMR-spectroscopy. *Plant Cell Physiol*, 29:919-9.