

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

**CONTRIBUCIÓN DE *Glomus intraradices* EN LA ADAPTACIÓN DE
PLANTAS DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch. cv Aromas) AL
AGOBIO HÍDRICO**

TESIS QUE PRESENTA

BIÓL. IDOLINA FLORES CORTEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

ASESOR: D.C. LOURDES I. MACÍAS RODRÍGUEZ

COASESOR: D.C. RAÚL CÁRDENAS NAVARRO

Morelia, Mich., México Agosto de 2007

INDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	4
2.1.- El agua en la planta	4
2.1.1.- Relaciones hídricas	4
2.1.2.- Movimiento del agua en la planta	6
2.1.3.- Continuo suelo-planta-atmósfera	7
2.1.4.- Transporte de agua en las plantas	7
2.2.- Déficit hídrico en las plantas	9
2.2.1.- Respuestas al agobio hídrico	10
2.2.2.- Mecanismos de las plantas para tolerar el agobio hídrico	12
2.2.3.- Acumulación de osmolitos (solutos compatibles) como mecanismo para tolerar el agobio hídrico	13
2.2.4.- Acumulación de ácido abscísico como mecanismo para tolerar el agobio hídrico	17
2.3.- El cultivo de la fresa	20
2.3.1.- Panorama del cultivo de la fresa en México y el mundo	20
2.3.2.- Descripción botánica de la fresa	21
2.3.3.- Necesidades hídricas del cultivo de fresa	22
2.3.4.- Respuestas de las plantas de fresa al agobio hídrico	23
2.3.5.- Alternativas para optimizar los aportes de agua al cultivo de la fresa	24
2.3.6.- Las Micorrizas y las relaciones hídricas en plantas de fresa	32
2.3.6.1.- Efecto de las micorrizas en la absorción de nutrientes	36
2.3.6.2.- Efecto de las micorrizas sobre la acumulación de osmolitos	38
3.- JUSTIFICACIÓN	40

4.- HIPÓTESIS	41
5.- OBJETIVOS	42
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	43
6.1.- Esquema general de trabajo	43
6.2.- Material biológico	44
6.2.1.- Determinación del porcentaje viabilidad de esporas	44
6.2.2.- Preparación del inóculo	45
6.3.- Métodos	45
6.3.1.- Establecimiento del experimento preliminar	45
6.3.2.- Establecimiento del experimento principal	46
6.3.2.1.- Preparación de las plantas	46
6.3.2.2.- Inoculación de las plantas de fresa	47
6.3.2.3.- Verificación de la colonización	47
6.3.2.4.- Establecimiento del agobio hídrico moderado	48
6.3.2.5.- Muestreo de las plantas	48
6.3.2.6.- Estimación de la colonización	50
6.3.3.- Determinación de osmolitos y ácido abscísico (ABA)	50
6.3.3.1.- Extracción de carbohidratos solubles y aminoácidos libres	50
6.3.3.2.- Derivación de carbohidratos solubles y su análisis por GC-MS	51
6.3.3.3.- Derivación de aminoácidos libres y su análisis por GC-MS	52
6.3.3.4.- Determinación de ABA-GE	53
6.3.3.5.- Determinación de nitratos	53
6.4.- Análisis estadístico	54
7.- RESULTADOS	55
7.1.- Experimento preliminar	55
7.2.- Determinación del nivel de deficiencia hídrica en las plantas	57
7.3.- Experimento principal	60
7.3.1.- Colonización de las plantas de fresa por HMA	60

7.3.2.- Estado hídrico de las plantas (potencial hídrico)	61
7.3.3.- Efecto del agobio hídrico y micorrización sobre el crecimiento	62
7.3.4.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el intercambio gaseoso	66
7.3.5.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de ABA-GE	67
7.3.6.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de carbohidratos solubles	70
7.3.7.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de aminoácidos libres	79
7.3.8.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de nitratos	83
8.- DISCUSIÓN	85
8.1.- Experimento preliminar	85
8.2.- Experimento principal	86
9.- CONTRIBUCIÓN DE <i>G. intraradices</i> AL AGOBIO HÍDRICO DE PLANTAS DE FRESA	95
10.- RESUMEN DE RESULTADOS	99
11.- CONCLUSIÓN	100
12.- LITERATURA CITADA	101

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Diagrama de Höfler	5
FIGURA 2: Flujo de ABA libre y conjugado en el xilema desde la raíz hacia la parte aérea	18
FIGURA 3: Cultivo de fresa con la técnica de acolchado	25
FIGURA 4: Características morfológicas relevantes al metabolismo del hongo micorrícico arbuscular	29
FIGURA 5: Rutas bioquímicas del metabolismo del carbono en hongos micorrícicos arbusculares	31
FIGURA 6: Compartimentos de peso seco, contenido de agua y déficit hídrico a turgencia (Hernández-Sebastià y col., 1999)	33
FIGURA 7: Morfología de plantas de fresa inoculadas y no inoculadas con <i>Glomus</i> al quinto día de suspensión de riego (Borkowska, 2002)	35
FIGURA 8: Esquema general de trabajo	43
FIGURA 9: Diagrama de la medición de potencial hídrico	49
FIGURA 10: Contenido de agua en el sustrato durante la suspensión de riego en los tratamientos del experimento preliminar	55
FIGURA 11: Plantas de fresa agobiadas micorrizadas y no micorrizadas durante el experimento preliminar	56
FIGURA 12: Dinámica de fotosíntesis en plantas de fresa durante la suspensión de riego en el experimento preliminar	57
FIGURA 13: Determinación del nivel de deficiencia hídrica	58
FIGURA 14: Fotosíntesis en plantas de fresa a los siete días de suspensión de riego	59
FIGURA 15: Porcentaje de colonización 195 días después de Inoculación	60
FIGURA 16: Efecto de la disponibilidad hídrica sobre el potencial hídrico	62
FIGURA 17: Efecto del agobio hídrico y micorrización en el área foliar	63

FIGURA 18: Longitud de la raíz de plantas fresa	64
FIGURA 19: Peso fresco de los diferentes órganos de las plantas de fresa	65
FIGURA 20: Acumulación de materia seca en los diferentes órganos de fresa	66
FIGURA 21: Contenido de ácido abscísico en los diferentes órganos de fresa	69
FIGURA 22: Contenido de carbohidratos libres totales en hoja de plantas de fresa	71
FIGURA 23: Contenido de sacarosa en hojas de plantas de fresa	72
FIGURA 24: Contenido de glucosa y fructosa de hojas de plantas de fresa	73
FIGURA 25: Contenido de carbohidratos libres totales en raíz de plantas de fresa	76
FIGURA 26: Contenido de sacarosa en raíz de plantas de fresa	77
FIGURA 27: Contenido de glucosa y fructosa en raíz de plantas de fresa	78
FIGURA 28: Contenido de nitratos en los diferentes órganos de plantas de fresa	83
FIGURA 29: Efecto del agobio hídrico prolongo y sostenido en plantas de Fresa	97
FIGURA 30: Modelo propuesto sobre la aportación de <i>G. intraradices</i> a plantas de fresa en etapa de fructificación bajo condiciones normales de riego y agobio hídrico prolongado y sostenido	98

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Estado morfológico de plantas micropropagadas (Borkowska, 2002)	34
TABLA 2: Efecto de la baja disponibilidad de agua y micorriza sobre la fotosíntesis, conductancia y transpiración en plantas	66
TABLA 3: Contenido de carbohidratos solubles minoritarios en hojas de plantas de fresa	74
TABLA 4: Contenido de carbohidratos solubles en corona de plantas de fresa	75
TABLA 5: Contenido de carbohidratos solubles en raíz de plantas de Fresa	79
TABLA 6: Contenido de aminoácidos libres en hoja de plantas de Fresa	80
TABLA 7: Contenido de aminoácidos libres en corona de plantas de Fresa	81
TABLA 8: Contenido de aminoácidos libres en raíz de plantas de Fresa	82

1.- INTRODUCCIÓN

El cultivo de la fresa en México es importante principalmente por el número de empleos que genera en la época de cosecha y por las grandes inversiones que se llevan a cabo para su producción (SEDAGRO, 2004). El principal estado productor de fresa en el país es Michoacán con el 63% de la producción total del país (SIACAP, 2005).

La mayoría de los cultivares de fresa son propensos al agobio hídrico (Hancock, 1999), el manejo del riego resulta de una importancia fundamental en este cultivo ya que la planta de fresa tiene una alta demanda hídrica que se debe a que sus frutos tiene un alto contenido de agua, su sistema radical es poco profundo, presenta una gran área foliar y tiene alta densidad estomática (Klamkowski y Treder, 2006).

El cultivo de la fresa requiere de irrigación suficiente para un óptimo crecimiento y producción, la menor disminución en el aporte de agua pone en riesgo la producción parcial o total. Para contrarrestar la deficiencia hídrica que pudieran presentar el cultivo de fresa, el sistema de riego por gravedad es el que se ha utilizado más ampliamente a pesar de que es bien conocido la baja eficiencia de uso de agua en este sistema (Monroy y col., 2002).

Este cultivo tiene una demanda de 7,000 a 12,000 m³ ha⁻¹ ciclo⁻¹ (Lobit, 2007), sin embargo la necesidad de elevar el rendimiento y la calidad de la fresa ha hecho que los productores recurran a incrementar las dosis de los principales insumos que limitan la producción de este cultivo, entre ellos el agua. Monroy y col. (2002) reportan que en la región del Bajío se llegan a aplicar dosis excesivas hasta de 20,000 m³ ha⁻¹ ciclo⁻¹.

Los datos anteriores muestran que en el cultivo de la fresa se está llevando a cabo un desperdicio de agua por lo que es necesario buscar alternativas que permitan optimizar los aportes de agua en el cultivo. En el campo actualmente se hace uso de tecnologías como riego localizado y acolchado para evitar la pérdida y/o desperdicio de agua, sin embargo el uso de estos sistemas de irrigación

requiere infraestructura que es muy costosa por lo que el uso de las micorrizas resulta ser una opción viable para reducir la aplicación de agua en los cultivos de fresa por parte de los productores.

Las micorrizas pueden incrementar la resistencia de las plantas a una baja disponibilidad de agua en el suelo, de manera que la micorriza puede ser importante para el crecimiento de las plantas bajo condiciones de agobio hídrico, debido a que la contribución de la hifa del hongo micorrícico arbuscular es extender la superficie de absorción de las raíces así como la habilidad para explorar un volumen mayor de suelo y de esta manera poder proveer a la planta agua y nutrimentos mejorando con ello su crecimiento y desarrollo (Bago y col., 2000).

Una baja disponibilidad de agua en las plantas de fresa induce una serie de respuestas morfológicas, fisiológicas y adaptativas, por ejemplo se reducen la fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática y la concentración de CO₂. Dentro de las respuestas morfológicas se encuentran la reducción del crecimiento de la parte aérea mientras que se mantienen el desarrollo de las raíces (Klamkowski y Treder, 2006).

Se sabe que los hongos micorrícicos arbusculares mejoran las relaciones hídricas de las plantas bajo condiciones de agobio hídrico así mismo se ha reportado que la simbiosis afecta significativamente la acumulación de carbohidratos solubles y aminoácidos libres (Schellenbaum y col, 1998; Hernández-Sebastià y col 2000), favoreciendo el ajuste osmótico el cual es un mecanismo importante de tolerancia a la deshidratación.

En base a la problemática planteada y al efecto de las micorrizas, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *Glomus intraradices* asociado a plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Aromas) sobre la acumulación de ácido abscísico y osmolitos orgánicos e inorgánicos, en condiciones de agobio hídrico prolongado y sostenido.

Para llevar a cabo el estudio se diseñó un experimento con dos factores: disponibilidad de agua (riego normal y 34-38% de contenido de agua en el sustrato) y micorrización (inoculación y sin inoculación). Las plantas se dejaron crecer hasta la etapa de fructificación donde se realizó el muestreo y el posterior análisis de los factores sobre el crecimiento y acumulación de osmolitos y ácido abscísico (ABA).

Los resultados obtenidos mostraron que el agobio hídrico disminuye significativamente el crecimiento de las plantas y bajo estas condiciones la micorriza no presentó un efecto benéfico, sin embargo en condiciones normales de riego la micorriza si favoreció la producción de biomasa en hojas y raíces.

Respecto a la acumulación de osmolitos, estos se incrementaron principalmente por efecto de la exposición al agobio hídrico. La concentración de carbohidratos solubles, principalmente sacarosa, se incrementó en las hojas en respuesta a la colonización con el hongo. El contenido de ABA-GE se incrementó en las raíces de las plantas asociadas con el hongo en respuesta al agobio hídrico moderado, de manera que se puede establecer que la presencia de éste hongo estimula la síntesis de esta hormona en las raíces.

Con los resultados obtenidos en este estudio se puede inferir que la contribución del hongo a la adaptación de plantas de fresa al agobio hídrico es favorecer la acumulación de carbohidratos solubles en hojas facilitando con esto el ajuste osmótico para la retención de agua en las células, y acumulación de ABA-GE en raíces el cual es transportado como molécula señal hacia la parte aérea, donde es activado e induce el cierre estomático para evitar la pérdida de agua por transpiración. Estas dos estrategias mejoran la resistencia de la plantas al agobio mediante una mejora en el estado hídrico celular.

Los resultados obtenidos indican que el uso de hongos micorrícicos arbusculares puede ser una alternativa para disminuir la cantidad de agua que se aplica al cultivo de la fresa.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- El agua en las plantas

2.1.1.- Relaciones hídricas

El agua circula entre dos puntos siempre y cuando su potencial termodinámico no sea igual entre ellos, el potencial hídrico (Ψ) utilizado por los fisiólogos deriva de este potencial termodinámico y constituye la resultante de fuerzas de orígenes diversos (osmótica, capilar, de imbibición, turgente, entre otras) que liga el agua al suelo o a los diferentes tejidos del vegetal.

El potencial hídrico de la planta (Ψ) consta de tres componentes, siendo Ψ_p , Ψ_s y Ψ_m los potenciales de presión, solutos y mátricos respectivamente, en una célula o tejido vegetal. El potencial osmótico (Ψ_s) está determinado por la concentración de sustancias osmóticamente activas, y posee valores negativos que varían con el volumen celular, siendo más próximo a cero en células totalmente hidratadas (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Cuando el agua entra en la célula, aumenta el volumen vacuolar y se ejerce una presión denominada presión de turgencia sobre las paredes celulares. Al mismo tiempo se desarrolla en dirección opuesta una presión igual a la presión de turgencia, es decir, desde las paredes al interior celular. Esta última presión, denominada presión de pared, actúa como presión hidrostática, aumenta el estado energético del agua en la célula y representa el potencial de presión celular (Ψ_p) (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

El Ψ_p naturalmente adquiere valores positivos siempre que la vacuola ejerza una presión sobre las paredes circundantes. A medida que se pierde el agua de la célula, la vacuola se contrae progresivamente con una caída concomitante en la turgencia celular y Ψ_p . El potencial de presión se hace cero en una etapa denominada plasmólisis incipiente en la cual la vacuola cesa de presionar sobre las paredes (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

El potencial mátrico (Ψ_m) es negativo y expresa el efecto de los microcapilares y las superficies de paredes y componentes celulares en la retención del agua. Surge como consecuencia de fuerzas que retienen moléculas de agua por capilaridad, adsorción e hidratación, principalmente en la pared celular y el citoplasma (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

El potencial hídrico en las células vegetales está determinado fundamentalmente por el potencial osmótico y el potencial de presión ya que el mátrico anteriormente fue despreciable cuando se consideró a la célula análoga a un osmómetro (Hopkins, 1995).

Las relaciones hídricas de las células y tejidos vegetales se pueden describir mediante el diagrama de Höfler que muestra la interdependencia entre el volumen celular, Ψ , Ψ_s y Ψ_p , a medida que la célula pierde agua (Hopkins, 1995; Azcón-Bieto y Talón, 2000) (Figura 1).

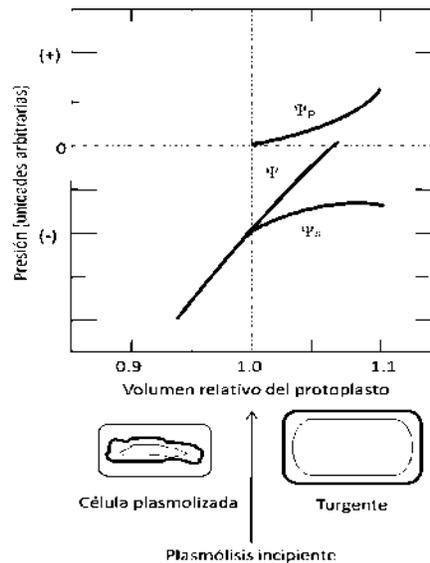


FIGURA 1: Relaciones hídricas de las células y tejidos vegetales mediante el diagrama de Höfler. Muestra las interrelaciones entre potencial de presión (Ψ_p), potencial de solutos (Ψ_s) y potencial hídrico (Ψ) a medida que se modifica el volumen del protoplasto. Se supone que la célula está sumergida en agua pura. Al volumen celular en el estado de plasmólisis incipiente se le asigna un valor relativo de 1.0. En plasmólisis incipiente el potencial de presión es cero. Un 10% de aumento en el volumen celular originará una célula totalmente turgente con un cambio pequeño en el potencial osmótico (Ψ_s), pero con un gran aumento en el potencial de presión (Ψ_p). A plena turgencia, el potencial osmótico es contrarrestado por el potencial de presión y el potencial hídrico de la célula es cero. Tomado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.

2.1.2.- Movimiento del agua en la planta

Existen dos tipos de movimiento del agua en la planta: flujo masivo y difusión. El flujo masivo es el movimiento de moléculas de agua y solutos de manera conjunta en una dirección debido a diferencias de presión. El movimiento del agua entre o hacia las células vivas o a través del suelo tiene lugar mediante difusión, en este caso las moléculas de agua se mueven en todas direcciones, aunque la mayoría en una dirección en particular (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

La velocidad del movimiento de las moléculas de agua en estado líquido mediante difusión es la adecuada para realizar el transporte en las distancias cortas (micras) que existen a nivel celular. En el transporte a larga distancia hay que resaltar la mayor importancia del flujo masivo comparado con el movimiento difusivo.

Una de las razones que ha conducido a una aceptación generalizada de la determinación del potencial hídrico ha sido el hecho de que el movimiento del agua en la planta se presenta a lo largo de gradientes de disminución de energía libre, expresado comúnmente como Ψ . El agua se mueve desde zonas de mayor a otras de menor potencial hídrico. En el interior de la planta, el potencial hídrico es más elevado en las raíces disminuyendo progresivamente en el tallo, observándose los valores más bajos en las hojas (Hopkins, 1995; Azcón-Bieto y Talón, 2000).

En resumen el movimiento del agua en las plantas está regido por gradientes de potencial hídrico. La integración del concepto de potencial hídrico con las vías de flujo correspondientes ha originado el concepto del continuo suelo-planta-atmósfera, que constituye un modelo útil y unificado del flujo del agua desde el suelo hasta la atmósfera.

2.1.3.- Continuo suelo-planta-atmósfera

El continuo suelo-planta-atmósfera o SPAC (Soil-Plant-Atmosphere Continuum) es el tratamiento del movimiento del agua desde el suelo hacia las raíces, a través de la planta y hacia el aire, como una serie de procesos interrelacionados. Este concepto permite considerar todos los aspectos de las relaciones hídricas al estudiar el balance hídrico de las plantas (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

El concepto del continuo proporciona una teoría útil y unificadora en la cual el movimiento del agua a través del suelo, raíces, tallos y hojas, así como su evaporación hacia el aire, se pueden estudiar en términos de las fuerzas motrices y las resistencias que actúan en cada segmento. Este concepto también es útil para analizar la manera en que diversos factores del ambiente afectan el movimiento del agua, por ejemplo, la sequía en el suelo provoca tanto un aumento en la resistencia al flujo de agua hacia las raíces como una disminución del potencial hídrico.

2.1.4.- Transporte de agua en las plantas

Para mantener la turgencia de la parte aérea, así como para posibilitar las actividades bioquímicas hasta un nivel que asegure la supervivencia, el agua perdida en la planta mediante transpiración debe reponerse continuamente.

El agua entra en las raíces en respuesta a un gradiente de potencial hídrico en el xilema establecido por la transpiración, la transpiración se define como la pérdida de agua en forma de vapor. Como la transpiración genera fácilmente un valor de Ψ para el xilema radical de -0.5 MPa hasta -2 a -3 MPa en la hoja, el gradiente de potencial hídrico entre la disolución del suelo y los elementos xilemáticos puede ser muy acentuado, en consecuencia, el agua se moverá a través de la raíz en respuesta al gradiente de potencial (Hopkins, 1995).

El agua que entra en una raíz primaria atraviesa primero la epidermis e hipodermis y una capa cortical parenquimática de 5 a 10 células de grosor con numerosos espacios intercelulares llenos de aire, después pasa a la endodermis con la banda de Caspari y una vez en su interior se mueve a través de una capa de periciclo (de varias capas de grosor) antes de alcanzar el tejido vascular (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Existen tres vías anatómicas diferentes a través de las cuales podría moverse el agua (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000; Maurel y Chrispeels, 2001):

- a) Apoplasto: ruta externa al citoplasma vivo, es decir, el continuo de paredes celulares.
- b) Simplástica: el agua atraviesa la pared celular y el plasmalema para luego entrar al citoplasma, posteriormente se movería a lo largo del continuo citoplasmático a través de los plasmodesmos que conectan el citoplasma con las células adyacentes
- c) Transcelular: el agua atraviesa el plasmalema y el tonoplasto, de tal manera que la vacuola pasaría a ser una parte integral de la vía de transporte.

Una vez que el agua ha alcanzado el tejido vascular ésta debe ascender hacia la parte aérea de la planta. Este proceso puede ser explicado por la teoría de la tensión-cohesión del agua, la cual nos dice que cuando el agua se halla confinada en tubos con diámetro estrecho y paredes humedecibles, como los vasos y traqueidas xilemáticas, al aplicar un tirón desde la parte superior, la tensión se transmitirá a través de la columna de agua sin que se pierda el contacto con la pared del tubo (fuerzas de adhesión) (Tyree, 1997).

Los vasos y traqueidas encierran columnas de agua continuas en forma de hilos frecuentemente entrelazados que se extienden desde los nervios foliares hasta el xilema de las raíces más pequeñas. Como se mencionó anteriormente la transpiración crea un gradiente de potencial hídrico a través del mesófilo foliar, lo que provoca que el agua desaparezca en los extremos de los nervios foliares. La

pérdida de agua a ese nivel crea una tensión en las columnas del xilema cuya magnitud depende de la intensidad transpiratoria.

La reducción en el potencial hídrico a nivel de la superficie transpirante foliar será transmitida a través del xilema hasta las raíces donde provocará que el agua fluya desde el suelo hacia el interior. En estas condiciones se creará un flujo en masa continuo desde el suelo, vía raíces, tallos y hojas, hasta la atmósfera exterior.

2.2.- Déficit hídrico en las plantas

A medida que un suelo se seca y su potencial hídrico va tomando valores cada vez más negativos, las plantas han de disminuir su potencial hídrico con la finalidad de mantener el gradiente de potencial necesario para la absorción de agua (Hopkins, 1995; Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Se ha visto que lo anterior puede ocurrir de dos maneras:

- a) Disminuyendo el potencial osmótico (por acumulación de osmolitos)
- b) Disminuyendo la turgencia (mediante deshidratación)

En suelos sometidos a sequía, el mecanismo más importante es la disminución del potencial osmótico ya sea por estimulación de la acumulación de iones inorgánicos o por un aumento en los niveles de solutos orgánicos, este ajuste osmótico puede impedir la pérdida de turgencia de la raíz (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Cuando no se lleva a cabo un ajuste osmótico, inevitablemente la caída del potencial hídrico foliar provocará una disminución de la turgencia, lo que desencadenará el cierre estomático y la reducción de la expansión celular.

2.2.1.- Respuestas de las plantas al agobio hídrico

La baja disponibilidad de agua en el suelo provoca en las plantas respuestas complejas que constituyen un problema fundamental para la agricultura, ya que es probablemente el factor limitante más importante en la productividad de los cultivos por imposición de agobio osmótico (Clifford y col. 1998; Shabala y col. 2000). El agobio hídrico puede afectar directa o indirectamente el estado fisiológico de las plantas por alteración de su metabolismo, crecimiento y desarrollo (Garg y col. 2002).

El déficit hídrico es el factor más importante que causa reducción en el crecimiento de las plantas; como fue reportado por Kerepesi y Galiba (2000), quienes observaron una disminución en la producción de materia seca en cuatro cultivares de trigo sometidas a agobio inducido por exposición a polietilenglicol (PEG, 4000, 180g/kg) durante siete días.

Los efectos de una baja disponibilidad hídrica en la planta son diversos, entre estos se encuentran los químicos e hidráulicos y los fisiológicos y metabólicos

a) Químicos e hidráulicos

La pérdida de agua en un tejido vegetal tiene los siguientes efectos que pueden influir en el metabolismo de la planta (Hopkins, 1995; Azcón-Bieto y Talón, 2000)

- ❖ Reducción del potencial hídrico o la actividad del agua celular
- ❖ Disminución de la turgencia
- ❖ Concentración de moléculas, a medida que disminuye el volumen celular con la reducción de la turgencia
- ❖ Alteración de relaciones espaciales en el plasmalema, tonoplasto y membranas de orgánulos, debido a cambios de volumen

- ❖ Cambio en la estructura o configuración de las macromoléculas como consecuencia de la eliminación del agua de hidratación o modificación de la estructura de esa agua

b) Fisiológicos y metabólicos

El efecto más importante de un agobio hídrico, aunque este sea leve, es la reducción del crecimiento siendo especialmente sensible la expansión celular. Se sabe que la presión de turgencia de las células en crecimiento proporciona la fuerza motriz para la expansión celular, pero la tasa real de extensión es controlada por la variación en el potencial hídrico y la extensibilidad.

Es probable que en casos donde se afecta el crecimiento de la parte aérea sin que simultáneamente se observen cambios en su estado hídrico, la modulación de esa alteración pueda incluir algunas señales desde la raíz a la parte aérea.

Durante agobios leves y moderados puede continuar la síntesis de materiales de pared celular, de tal modo que el retraso en el crecimiento durante un agobio corto se puede superar tras la recuperación o desaparición éste. La división celular es menos sensible que la expansión celular al agobio hídrico. Además de la inhibición del crecimiento, la baja disponibilidad de agua también modifica el desarrollo y la morfología vegetal, por ejemplo bajo estas condiciones se conduce a grandes aumentos en la relación raíz/parte aérea (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

La disminución en la tasa respiratoria se acompaña siempre de una disminución en la absorción de CO_2 y por lo tanto de la fotosíntesis. El agobio hídrico también afecta a la fotosíntesis a través de sus consecuencias en los procesos enzimáticos, transporte electrónico y contenido de clorofila.

La transpiración se reduce como consecuencia de la inhibición del crecimiento de la parte aérea y por el contrario se suele incrementar la capacidad

absorbente de las raíces por unidad de superficie, al resultar el crecimiento de la raíz menos afectado por el agobio hídrico.

Prácticamente todos los aspectos del metabolismo y la estructura fina celular se ven afectados por una baja disponibilidad de agua en el suelo. Muchos de estos cambios se pueden considerar como adaptativos pero frecuentemente es difícil distinguir entre los que son consecuencia de lesión celular o tisular de los que representan aclimatación.

2.2.2.- Mecanismos de las plantas para tolerar el agobio hídrico

Existen grandes diferencias en la capacidad de las plantas para tolerar la sequía, algunas de estas diferencias son consecuencia de adaptaciones en la planta entera, tales como sistemas radicales dispersos y profundos; otras adaptaciones tienen lugar a nivel de órgano como hojas cutinizadas y un buen control estomático de la transpiración, mientras que otras como el ajuste osmótico y la tolerancia a la desecación se producen a nivel celular.

Existen dos tipos de mecanismos para tolerar el agobio hídrico, la evitación y tolerancia a los déficit hídricos:

a) Evitación del déficit hídrico

La forma más común de regular el equilibrio hídrico y mantener la turgencia es reducir la pérdida de agua. Entre los mecanismos más frecuentes se deben considerar: una capacidad para cerrar los estomas rápida y completamente antes de que las células se dañen por desecación, posesión de una cutícula gruesa y muy impermeable, la pérdida de hojas, y la reducción de la transpiración.

b) Tolerancia al déficit hídrico

Existen varias maneras mediante las cuales las plantas mantienen su actividad fisiológica a medida que disminuye el contenido hídrico o Ψ . Una de ellas es el mantenimiento de la turgencia que se lleva a cabo principalmente mediante un ajuste osmótico.

Cuando disminuye el potencial osmótico de los tejidos en respuesta al desarrollo de déficit hídricos internos es importante separar el componente que resulta de una concentración pasiva de solutos debida a una deshidratación del tejido, del originado por una acumulación activa de los mismos (ajuste osmótico).

En condiciones de agobio hídrico el ajuste osmótico posibilita el mantenimiento de la turgencia y de los procesos dependientes de la misma tales como expansión y crecimiento celulares, abertura estomática, fotosíntesis, etc.

Durante el curso del agobio hídrico las células deben reajustar su potencial osmótico para prevenir la pérdida de agua, lo cual puede ser llevado a cabo por la absorción de iones inorgánicos de la solución del suelo o por la síntesis *de novo* de solutos compatibles, como aminoácidos, poliaminas, polioles, aminos cuaternarios y carbohidratos solubles, los cuales actúan como osmolitos (Clifford y col. 1998, Kerepesi y col, 1998, y Kerepesi y Galiba, 2000; Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000; Shabal y col. 2000). Estos dos procesos difieren en escala de tiempo, cambios inmediatos en los flujos de iones se cree que proveen una respuesta rápida de ajuste osmótico mientras que la modulación fina por medio de síntesis de solutos compatible se da en horas y días (Lew, 1996).

2.2.3.- Acumulación de osmolitos (solutos compatibles) como mecanismo para tolerar el agobio hídrico en las plantas

Como se ha mencionado anteriormente el agobio hídrico es el mayor factor ambiental que afecta la productividad de los cultivos; una adaptación importante de las plantas a este agobio es el incremento de la concentración de solutos

intracelulares, tales como la prolina, carbohidratos solubles y osmolitos inorgánicos como nitratos, lo que facilita que se mantenga el potencial de presión celular.

a) Acumulación de carbohidratos solubles

La principal función de los carbohidratos en las plantas es almacenar energía química y como material de construcción durable para estructuras biológicas (Karp, 1998). Las plantas vasculares contienen un amplio rango de carbohidratos solubles; su naturaleza química y las cantidades varían en espacio y tiempo, de especie a especie, órgano a órgano, y tejido a tejido, así como durante el día y con la estación (Kerepesi y col., 1996).

Los cambios en la concentración de carbohidratos son de particular importancia porque tienen una relación directa con procesos fisiológicos como fotosíntesis, traslocación y respiración. Entre los carbohidratos solubles, la sacarosa, trehalosa y fructanos tienen un potencial en la adaptación al agobio hídrico (Kerepesi y Galiba, 2000; Garg y col. 2002); esto se debe a que los azúcares protegen a las membranas contra la deshidratación por inducción de la formación de una película a temperatura fisiológica y los componentes polihidroxilados pueden reemplazar el agua estructural (Kerepesi y col. 1998).

La sacarosa tiene la habilidad de estabilizar proteínas, asistiendo el plegamiento de polipéptidos desnaturalizados por proteínas chaperonas, y tiene un efecto protector de lípidos de membrana durante la deshidratación mediante el reemplazo del agua para mantener los fosfolípidos en la fase líquido-cristalina (Kerepesi y Galiba, 2000; Hinch y Hagemann, 2004).

La acumulación de azúcares reductores (glucosa y fructosa) en los mecanismos adaptativos, es más controversial y frecuentemente su acumulación es detrimental desde diferentes puntos de vista; aunque autores como Kerepesi y col. (1998) mencionaron que en algunas variedades de trigo (Sakha-8 y

Kobomugi) la glucosa y la fructosa tienen un papel importante, ya que se incrementaron en todos los órganos de variedades tolerantes como una respuesta temprana al agobio hídrico y esto se debe a que la glucosa participa intercalándose en las proteínas mediante reacciones de glicosilación entre los grupos amino y carboxilo, lo que se conoce como reacción de Maillard (Koster y Leopold, 1988).

Por su parte la trehalosa es un disacárido no reductor y se ha visto que estabiliza eficientemente enzimas, proteínas y lípidos de membrana deshidratados, así como también protege estructuras biológicas de daño durante la desecación (Garg y col. 2002). En el reino vegetal la mayoría de las especies no parecen acumular cantidades detectables de trehalosa con excepción de las plantas de la resurrección (*Selaginella lepidophylla*) que son altamente tolerantes a la desecación.

b) Acumulación de aminoácidos libres

Los aminoácidos son los bloques de construcción de las proteínas, no son únicamente importantes para la estructura de la célula sino que también controlan y dirigen las reacciones químicas que constituyen los procesos de la vida (Morot-Gaudry y col., 2001).

Los aminoácidos pueden ser sintetizados tanto en las raíces, hojas, semillas o en los frutos, dependiendo de los sitios de reducción del nitrato y remobilización del nitrógeno. Por ejemplo en las leguminosas mucho del nitrato es reducido y convertido a la forma orgánica (asparagina y glutamina) en las raíces antes de transportarse en el xilema (Morot-Gaudry y col., 2001).

La asparagina es el principal compuesto involucrado en el transporte de nitrógeno en las plantas de fresa, ya que es el mayor componente del xilema y floema y de los tejidos (Hernández-Sebastià y col., 2000).

El agobio hídrico induce un cambio característico en los niveles de aminoácidos libres, especialmente un gran incremento en la prolina libre y las amidas. La acumulación de amidas se piensa que es el resultado de la incorporación de grupos amonio libres liberados por desaminación de aminoácidos, los cuales fueron liberados por proteólisis inducida por el agobio hídrico (Barnett y Naylor, 1966).

Los aminoácidos también forman parte de los osmolitos que se acumulan en respuesta a diferentes agobios ambientales. Durante agobio por salinidad, Gilbert y col. (1998) encontraron que varios aminoácidos se acumularon tanto en los tejidos demanda como en los fuente de *Coleus blumei*, incluyendo arginina, asparagina y serina.

Un aminoácido particularmente importante en diferentes tipos de agobio es la prolina (Pro), este aminoácido actúa como osmoprotector. Yamada y col. (2005), investigaron el mecanismo de respuesta a agobios ambientales y la acumulación de Pro en plantas de petunia (*Petunia hybrida*) y en plantas transgénicas transformadas con genes que inducen la producción de Pro bajo condiciones de agobio (AtP5C5 y OsP5C5); ellos observaron que en agobio hídrico la Pro llegó a representar el 60% del total de los aminoácidos en las petunias de tipo silvestre, mientras que en las control los aminoácidos más abundantes fueron el ácido aspártico y glutámico. Las plantas transgénicas por su parte presentaron niveles elevados de Pro (debido a la sobreexpresión de P5C5) en comparación con las silvestres y también mostraron mayor tolerancia al agobio hídrico que las de tipo silvestre; esto revela una clara correlación entre la sobrevivencia de las plantas y la acumulación de prolina durante los agobios ambientales.

2.2.4.- Acumulación de ácido abscísico como mecanismo para tolerar el agobio hídrico

El ácido abscísico (ABA) es bien conocido como la hormona del agobio y desempeña un papel importante en la respuesta al agobio hídrico, tanto a nivel de planta entera como a nivel celular. La base de que sea considerado como la hormona del agobio es por su rápida y masiva acumulación, bajo condiciones de agobio hídrico éste podría estar involucrado en la señalización de raíz a brote de una baja disponibilidad de agua en el suelo (Qi y col., 1998; Goicoechea y col., 2000; Jia y Zhang, 2000). El rápido incremento se da cuando la presión de turgencia está muy cercana a cero.

El ABA es un regulador esencial del crecimiento de las plantas, se encuentra en pequeñas cantidades en todos los tejidos vegetales. Esta hormona ($C_{15}H_{20}O_4$) es un sesquiterpeno apocarotenoide que se sintetiza en los cloroplastos y otros plastidios mediante excisión oxidativa de los epoxi-carotenoides neoxantina y violaxantina (Azcon-Bieto y Talón, 2000).

El ABA es un ácido débil ($pK_a = 4.75$), las membranas son permeables a la forma protonada, mientras que no lo son al ión dissociado, por lo que su acumulación se producirá en los compartimentos celulares alcalinos. La distribución de ABA depende de los valores relativos de pH de los compartimentos intra y extracelulares. Recientes trabajos han mostrado que la alcalinización de la savia del xilema es una respuesta común a varios agobios ambientales (Azcon-Bieto y Talón, 2000; Dodd y col. 2003).

En respuesta al agobio hídrico los niveles de ABA aumentan primero en el apoplasto que en cualquier otro lugar de la hoja, ya que se produce el gradiente de pH entre el citoplasma y el apoplasto y en consecuencia se promueve el flujo de ABA desde la célula (Figura 2).

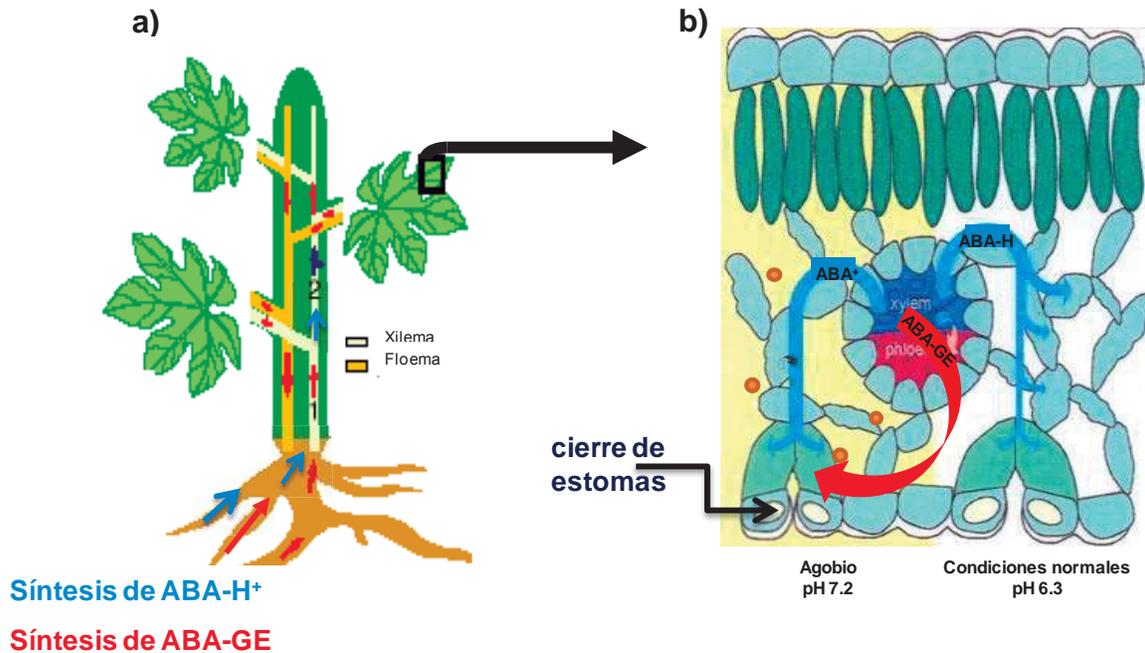


FIGURA 2. a) Flujo de ABA libre y conjugado (ABA-GE) a través de xilema hacia la parte aérea de las plantas. b) Diagrama de una sección transversal de hoja mostrando el flujo del ABA libre y conjugado desde el xilema hasta las células guarda. Bajo condiciones normales de riego el ABA es redistribuido a las células del mesófilo y de la epidermis (derecha). Cuando la savia se vuelve más alcalina por efecto del agobio hídrico el ABA se desprotona y no puede redistribuirse entre las células del mesófilo aumentado la concentración que llega a las células guarda, bajo condiciones de alcalinización las células del mesófilo pueden liberar ABA. El ácido abscísico también puede ser transportado en forma conjugada con un azúcar, en esta condición el ABA es inactivo, pero puede activarse por la acción de glucosidasas presentes en el mesófilo. Figura modificada de Sauter y col. (2001), y Soberon y col. (1998).

La función del ABA protegiendo las plantas frente al agobio hídrico es doble, reduce la transpiración e induce la síntesis de proteínas que favorecen la resistencia a la desecación. La acumulación de ABA en respuesta al agobio hídrico consiste de complicadas cascadas de señalización de la percepción de agobio, transducción de la señal intracelularmente, posible activación de genes y finalmente la regulación y/o expresión de las enzimas de biosíntesis de ABA y otras proteínas (Azcon-Bieto y Talón, 2000; Jia y Zhang, 2000).

El ABA induce el cierre de los estomas inhibiendo un H⁺-ATPasa de la membrana plasmática de las células guarda. Esta enzima transfiere protones fuera de las células guarda y favorece la entrada y acumulación rápida de K⁺, lo que

fomenta la entrada de agua y la apertura de los estomas. Sin embargo cuando el ABA actúa en la superficie exterior de la membrana de las células guarda se invierte este proceso de forma que cesa el flujo de K^+ al interior, se reduce la turgencia y finalmente se cierran los estomas.

El ABA puede sintetizarse en las células guarda o puede ser el resultado de la redistribución dentro de la hoja en respuesta al déficit hídrico. Debido a que las células guarda no están conectadas con sus células mediante plasmodesmos, el ABA llega a ellas vía apoplasto (Figura 2). Las altas concentraciones de ABA bajo condiciones de déficit hídrico no son solo el resultado de la síntesis y redistribución en la hoja sino que también puede sintetizarse en la raíz. Se ha comprobado que cuando esta hormona se sintetiza en las raíces se transporta a través del xilema a las hojas, donde ocasiona el cierre de los estomas aunque no se haya producido ningún cambio en el estado hídrico de las hojas (Franks y col., 2001; Sobeih y col., 2004) (Figura 2).

El aporte de ABA de las raíces proviene principalmente de los ápices radiculares, sirve como una señal mediante la cual las plantas regulan su estado hídrico en los suelos secos para adaptar su funcionamiento antes de que la baja disponibilidad sea más intensa.

Dependiendo de la velocidad de transpiración el ABA puede ser llevado desde las raíces hacia la parte aérea y también puede ser tomado de la solución del suelo, el cual contiene concentraciones que oscilan entre 1 y 10nM. El ABA endógeno también puede ser liberado a la solución del suelo aunque esto puede ser retardado por la exodermis, resultando en un incremento en la concentración en el apoplasto de las raíces (Freundl y col., 2000)

2.3.- El cultivo de la fresa

2.3.1.- Panorama del cultivo de la fresa en México y el mundo

De ser el cuarto productor mundial, México ha caído en los últimos cinco años a la novena posición; mientras que en exportación ocupa el cuarto lugar (FAO, 2005), siendo su principal mercado los Estados Unidos, reportando divisas al país por arriba de los mil millones de pesos (SEDAGRO, 2004).

A pesar de que el cultivo de la fresa ocupa menos del uno por ciento de la superficie total del país dedicada a la agricultura, tiene un lugar importante por el papel económico a nivel regional y nacional que representa su producción. La importancia radica en dos aspectos: 1) el número de empleos que genera en la época de cosecha y en las diversas actividades que se desarrollan en la agroindustria (650 jornales anuales directos por hectárea en campo y otra cantidad similar en el empaque y en la industria) y 2) las grandes inversiones que se llevan a cabo para su producción (es un cultivo con altos costos de producción pero también económicamente rentable) (SEDAGRO, 2004).

El principal estado productor de fresa en el país es Michoacán, seguido de otras regiones, principalmente Baja California y Guanajuato (SAGARPA, 2006). En Michoacán se produce el 63% de la producción total del país y dentro del estado la fresa se cultiva en 23 municipios siendo Zamora, Maravatío, Jacona, Ixtlán y Panindícuaro los principales productores (SIACAP, 2005).

Del 70 al 80% de la producción total en Michoacán se destina al procesamiento industrial; el resto al mercado fresco interno y al de exportación donde tiene más de cuatro décadas abasteciendo al mercado norteamericano como complemento de alimentos que se industrializan de manera fresca y congelada.

2.3.2.- Descripción botánica de la fresa

La fresa de frutos gruesos cultivada actualmente ha sido reconocida como un híbrido de *Fragaria virginiana* y *Fragaria chiloensis* y se designa botánicamente como la especie *Fragaria x ananassa* Duch (Branzanti, 1989).

La fresa pertenece a la familia de las rosáceas, son plantas herbáceas perennes y debido a su origen híbrido se adaptan a las más variadas condiciones climáticas, desde los climas tropicales y subtropicales hasta los países escandinavos (Branzanti, 1989).

Las plantas de fresa poseen un sistema radicular fasciculado, constituido por un gran número de raíces y raicillas (Maroto y López, 1988). Las raíces se extienden aproximadamente unos treinta centímetros alrededor de la corona y se ramifican oblicuamente penetrando en profundidad hasta unos 30 cm. La mayor parte se desarrolla superficialmente, del 50 - 90% se encuentra en los primeros 10 - 15 cm (Hancock, 1999), de tal manera que las necesidades hídricas son satisfechas en los primeros 30 cm, aunque la planta pueda conseguir agua también a mayores profundidades.

El tallo está constituido por un eje corto de forma cónica llamado corona, en el que se observan numerosas escamas foliares. De esta corona pueden partir, a través de yemas axilares, unas ramificaciones laterales denominadas estolones, que se caracterizan porque poseen entrenudos muy distanciados entre sí, en los que aparecen rosetas de hojas y raicillas adventicias (Maroto y López, 1988).

Las hojas aparecen en roseta y se insertan en la corona en un arreglo espiral (cada sexta hoja está sobre la primera), son largamente pecioladas y provistas de dos estípulas rojizas, su limbo ésta dividido en tres folíolos pediculados de bordes aserrados y con el envés recubierto de tricomas (Maroto y López, 1988). Tienen alta densidad estomática (300-400 mm²) lo que permite una transpiración intensa (una planta en un día caluroso puede transpirar medio litro de agua) (Branzanti, 1989).

De las axilas de las hojas parten las inflorescencias, de pedúnculo más o menos largo, en forma de racimos, cimas bíparas o unifloras. Las flores son actinomorfas dotadas de un involucro bracteal subcalicino, cáliz gamosépalo y pétalos blancos. El fruto es un poliaquenio conocido botánicamente como “eterio”, en el que la parte comestible, que es el receptáculo hipertrofiado, aloja numerosos aquenios (Maroto y López, 1988).

Los frutos están compuestos de aproximadamente el 90% de agua y el 10% de sólidos solubles totales y contiene numerosos componentes importantes en la dieta, como por ejemplo un alto contenido de vitamina C (Hancock, 1999).

2.3.3.- Necesidades hídricas del cultivo

La mayoría de los cultivares de fresa son propensos al agobio hídrico, sin embargo hay una gran cantidad de variabilidad en tolerancia entre especies (Hancock, 1999). El manejo del riego resulta de una importancia fundamental en este cultivo.

En las primeras fases de cultivo es importante asegurar un buen suministro de agua en todo momento a las plantas, para conseguir un buen enraizamiento. El riego por aspersión como sistema único o complementario en estos estadios es tal vez el que proporciona mayores resultados (Maroto y López, 1988).

La planta de fresa tiene una alta demanda hídrica que se debe a que sus frutos tiene un alto contenido de agua, su sistema radical es poco profundo, presenta una gran área foliar y a la alta densidad estomática (Klamkowski y Treder, 2006). Este cultivo tiene una demanda de 7,000–12,000 m³ ha⁻¹ ciclo⁻¹ (Lobit, 2007), cifra muy semejante a las exigencias de una plantación de melocotonero, sin embargo, éste extrae agua de una capa de terreno de 100cm de espesor, mientras que la fresa tiene la mayor parte de sus raíces concentradas en la zona superficial y absorbe la mayor parte de sus necesidades hídricas de los primeros 30-40 cm (Branzanti, 1989).

Debido a que la fresa es exigente en agua, una buena disponibilidad hídrica representa la base necesaria para una buena producción, una disminución en el aporte de agua puede llegar a mermar parcial o totalmente la producción. Por lo anterior el agricultor generalmente abusa en la aplicación de cantidades muy por arriba de las calculadas para el cultivo, ya sea por desconocimiento o por considerar que con una mayor cantidad de agua se obtienen mejores rendimientos, además de que evita la aparición de plagas como la araña roja.

Debido a la importancia que el cultivo de la fresa representa, la CNA autoriza el uso de $35,000 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ciclo}^{-1}$ (CNA, 2005), esta cantidad excede por mucho la demanda del cultivo, favoreciendo así la pérdida de casi dos terceras partes del total de este recurso vital no renovable por infiltración o evaporación. La pérdida de agua al subsuelo conlleva a problemas ambientales ya que aunado a las aplicaciones excesivas de fertilizantes, la infiltración de agua favorece la lixiviación de éstos (principalmente nitratos) contaminando los mantos freáticos subterráneos. Por lo antes mencionado es importante buscar alternativas que nos permitan hacer un uso eficiente del agua en los cultivos de fresa, evitando al máximo su desperdicio.

2.3.4.- Respuestas de las plantas de fresa al agobio hídrico

Una baja disponibilidad de agua induce una serie de respuestas morfológicas, fisiológicas y adaptativas, por ejemplo se reducen la fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática y la concentración de CO_2 . Dentro de las respuestas morfológicas se encuentran la reducción del crecimiento de la parte aérea mientras que se mantienen el desarrollo de las raíces. Análisis microscópicos mostraron que el agobio hídrico afecta la densidad y tamaño de los estomas por ello el intercambio gaseoso se ve afectado (Klamkowski y Treder, 2006).

Modificaciones en la densidad y tamaño de los estomas indican que estos juegan un papel importante en el sense de cambios ambientales, estas

modificaciones contribuyen a optimizar el uso de asimilados y el uso de agua en periodos donde la disponibilidad de agua disminuye.

La respuesta al agobio hídrico es dependiente de la severidad y duración. La tolerancia al agobio hídrico por parte de las plantas de fresa está asociada principalmente a la especie; las fresas resistentes al agobio hídrico llevan a cabo un ajuste osmótico, incrementan la elasticidad de la pared celular, hacen un uso más eficiente del agua y los radios de raíz/brote se incrementan.

El ajuste osmótico en *Fragaria* ocurre a través de la acumulación de carbohidratos. En plantas de *F. chiloensis* sometidas a agobio hídrico se ha visto que la concentración de carbohidratos solubles se incrementa de 1.4 a 2.4 veces en un ciclo de marchitez, la glucosa y fructosa son los carbohidratos primarios representando más del 50% del total de los carbohidratos solubles totales de la hoja, la concentración de almidón también se afecta en esta especie de fresa (disminuye entre un 4 y 6% de las plantas no agobiadas). Los aminoácidos libres se incrementan de 1.8 a 2.7 en respuesta al agobio (en esta especie la prolina no fue detectada). En planta de *F. virginiana* estos cambios en la concentración de solutos y almidón no fueron consistentes (Zhang y Archbold, 1993).

2.3.5.- Alternativas para optimizar los aportes de agua al cultivo de la fresa

Se ha visto que algunos aspectos del crecimiento de la planta de fresa son sensibles a la sequía, por ejemplo la expansión y producción de hojas, la producción de estolones, el desarrollo de la raíz y el número y peso de los frutos. El grado en que estos aspectos son afectados depende principalmente del estadio de desarrollo de la planta.

La fresa al igual que otros cultivos requiere de irrigación para un óptimo crecimiento y producción, la menor disminución en el aporte de agua pone en riesgo la producción parcial o totalmente. En los cultivos de fresa el riego por gravedad es el más ampliamente utilizado a pesar de que es bien conocido la baja

eficiencia de uso de agua en este sistema, la literatura reporta entre un 50 y 60% de eficiencia (Monroy y col., 2002).

En el campo actualmente se hace uso de tecnologías como riego localizado y acolchado para evitar la pérdida y/o desperdicio de agua, sin embargo el uso de estos sistemas de irrigación requiere infraestructura que es muy costosa por lo que el uso de las micorrizas resulta ser una opción viable para reducir la aplicación de agua en los cultivos de fresa por parte de los productores.

a) Acolchado

El sistema de acolchado en los cultivos de fresa tiene varias ventajas, a) mantiene los frutos limpios, b) incrementa el tamaño, c) producción y d) calidad de las fresas, estas características se deben a que evita la pérdida de agua por evaporación fomentando con ello una mayor humedad en la zona radical, controla malezas evitando así el uso de herbicidas, proporciona una mayor temperatura al suelo y favorece la estructura del terreno (Maroto y López, 1988; Yuan y col. 2004) (Figura 3).



FIGURA 3. Cultivo de fresa en el que se emplea la técnica de acolchado

Para el acolchado por lo general se utiliza plástico de polietileno, generalmente de color negro para evitar el crecimiento de malas hierbas, teniendo así mismo una incidencia positiva en el adelanto de la producción.

b) Riego localizado

El riego localizado es otra tecnología que se ha implementado en los cultivos de fresa. Esta técnica ofrece una disminución tanto en la cantidad de agua que se aplica a las plantas como en los fertilizantes, ya que estos van disueltos en el agua, debido a que solamente la zona radical de la plantas es suplida con agua permite que la disponibilidad de nutrimentos se localice en un área muy cercana a la zona de máxima actividad y desarrollo radical del cultivo de la fresa, evitando así la lixiviación de nutrimentos (Monroy y col, 2002).

Además, una alta frecuencia en la aplicación de agua mediante un riego localizado minimiza al suelo como un reservorio de almacén de agua, provee diariamente los requerimientos de agua a una proporción de la zona radical de cada planta, y mantiene un alto potencial mátrico del suelo en la rizósfera para reducir el agobio hídrico (García y Briones, 1997; Yuan y col., 2004). Se estima que este sistema comparado con el riego por gravedad genera un ahorro de agua y fertilizante que puede ser de hasta 80 y 60% respectivamente (García y Briones, 1997).

Vázquez-Galvéz y col. (2007) realizaron un trabajo donde vieron el efecto del nitrógeno sobre el crecimiento y rendimiento de la fresa regada por goteo y gravedad, ellos observaron que el riego localizado produjo 17% más materia seca que el riego por gravedad. Lo anterior demuestra que la mayor producción de materia seca no solo se relaciona con una mayor eficiencia en el uso del agua sino también en la asimilación del nitrógeno, ya que éste no se pierde por lixiviación o volatilización.

Con esta tecnología se pretende que la solución nutritiva solo se aplique en el área radical, maximizando así la absorción de ésta y evitando pérdidas y contaminación, aunque no existen recomendaciones sobre el uso de agua y dosis de fertilizantes precisos para el cultivo de la fresa, por lo que el agricultor hace un uso empírico del agua.

La implementación de la técnica de riego localizado tiene varias ventajas comparada con el riego por gravedad, además de un ahorro en agua y fertilizantes, se incrementa el rendimiento y la calidad de los frutos, hay menos crecimiento de hierbas, ahorro en pesticidas y control de ciertas enfermedades, acelera el proceso de maduración, mejora la penetración de las raíces en el suelo, y puede operar en suelos con muy baja tasa de infiltración (García y Briones, 1997).

c) Hongos micorrícicos arbusculares (HMA)

Los sistemas antes mencionados para efficientizar el uso del agua requieren de infraestructura que es costosa y que además necesita vigilancia constante para que funcione como se espera. Otra alternativa sobre este tema es el uso de hongos micorrícicos arbusculares.

La asociación micorrícica arbuscular es formada entre las raíces de mayoría de las plantas superiores y hongos Zygomycetes pertenecientes al orden de los Glomales (solo 150 especies agrupadas en 10 géneros son capaces de formar micorrizas) (Gianinazzi-Pearson, 1996; Harrier, 2001, Redecker, 2005). Se estima que más del 80% de las plantas terrestres forman este tipo de asociación, incluyendo las especies con importancia agrícola (Benabdellah, et al 1999; Harrier, 2000; Orcutt y Nilsen, 2000).

Las relaciones entre los HMA y la planta hospedera es usualmente considerada no específica, esta relación se encuentra altamente regulada a nivel estructural y fisiológica (Ruíz-Lozano y col. 1995a).

Las interacciones entre el HMA y una planta inician cuando la hifa de una espora germinada hace contacto con la raíz del hospedero, este paso es seguido por la formación de un apresorio que facilita la penetración de una hifa. De los puntos de penetración, el micelio interno crece entre las células epidérmicas y pasa a través de la hipodermis y coloniza las células del parénquima de la raíz. En el parénquima el micelio interno prolifera intensamente inter e intracelularmente, aquí el desarrollo del hongo culmina con la formación de haustorios conocidos como arbuscúlos. Éstas estructuras fúngicas establecen una gran superficie de contacto con el protoplasto de la planta (Gianinazzi-Pearson, 1996; Bago y col., 2000; Graham y Miller, 2004) (Figura 4).

A los arbuscúlos se les atribuye un papel clave en el intercambio de nutrimentos entre la planta y el hongo, estas estructuras efímeras son hifas ramificadas dicotómicamente que permanecen apoplásticamente (no penetran la membrana celular)(Gianinazzi-Pearson, 1996; Bago y col., 2000; Graham y Miller, 2004). Los arbuscúlos alcanzan su desarrollo completo en varios días luego de esto inicia la senescencia.

Dos tipos morfológicos de colonización han sido descritas, Arum y Paris (Smith y Read, 1997, citado en Graham y Miller, 2004). El tipo Arum es definido por un crecimiento extenso de hifas intercelulares en el parénquima de la raíz y el desarrollo de arbuscúlos terminales en las hifas intercelulares. El tipo Paris se define por la ausencia de micelio intercelular y la presencia de hifas enrolladas intracelularmente (coils).

La colonización de la raíz es acompañada por el desarrollo de una red extensa de hifas extrarradicales en el suelo, la cual incrementa la absorción y traslocación de los nutrimentos de baja difusividad, principalmente fosfato, del suelo a la planta (Jakobsen, 1998; Bago y col., 2000). El hongo que es un simbionte obligado obtiene las fuentes de carbono de la hospedera (Gianinazzi-Pearson, 1996).

Este intercambio de nutrientes bidireccional entre el hongo y la planta es la principal base del mutualismo de la asociación y se piensa que ocurre en la interfase del arbusculo-célula radical.

Esta simbiosis usualmente incrementa la biomasa de la planta, específicamente en fresa Silva y Paterson (1996) vieron que la inoculación con HMA mejoran crecimiento de plantas de fresa, este efecto se observa incluso en suelos donde existe deficiencia de fósforo (Paraskevopoulou-Paroussi y col., 1997).

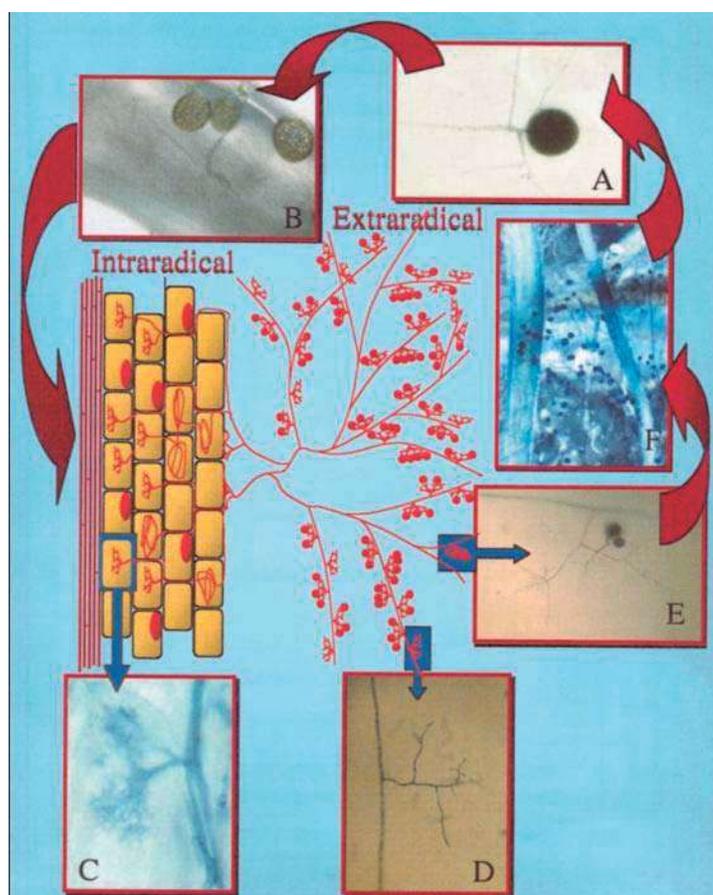


FIGURA 4. Características morfológicas relevantes al metabolismo del hongo micorrízico arbuscular (Bago y col., 2000). A, esporas germinadas en el suelo al final de su crecimiento soprofitico, siendo incapaces de terminar su ciclo de vida a menos que encuentren una raíz hospedera que colonizar. B, espora después de una colonización exitosa, el HMA se diferencia intraradicalmente formando diferentes estructuras, las más representativa son los arbusculos (C). Al mismo tiempo el hongo desarrolla un micelio extraradical con diferentes estructuras características: basidios (D), esporas en los basidios y esporas liberadas al medio (F).

El costo de estos beneficios radica en la demanda de compuestos carbonados (los azúcares son los candidatos más fuertes) por lo que se sabe que la planta dirige una fracción significativa de los fotosintatos, y se estima que un incremento entre un 4% y 26% de los fotoasimilados son dirigidos hacia los sistemas radicales micorrizados (Bago y col. 2000; Graham y Miller, 2004; Redecker, 2005).

Las células corticales de la raíz de la planta liberan azúcares a la interfase planta-hongo por eflujo pasivo que puede ser estimulado por la presencia del hongo. La evidencia que fotoasimilados son dirigidos hacia la células con arbusculos es soportada por estudios que muestran la regulación de genes involucrados en la hidrólisis de sacarosa, tales como la sacarosa sintasa y la invertasa ácido soluble (Graham y Miller, 2004).

NMR y radiorespirometría indican que el micelio intraradical puede tomar y usar hexosas en la raíz, principalmente en la forma de glucosa. La absorción de carbono en la interfase puede ser pasiva con un gradiente de concentración mantenido por la rápida conversión del carbono tomado, como fue propuesto por Bevedge (1975) y consistente con la conversión de hexosas a trehalosa y glicógeno observada por Shachar-Hill y col. (1995) citados por Bago y col. (2000), y Graham y Miller (2004) (Figura 5).

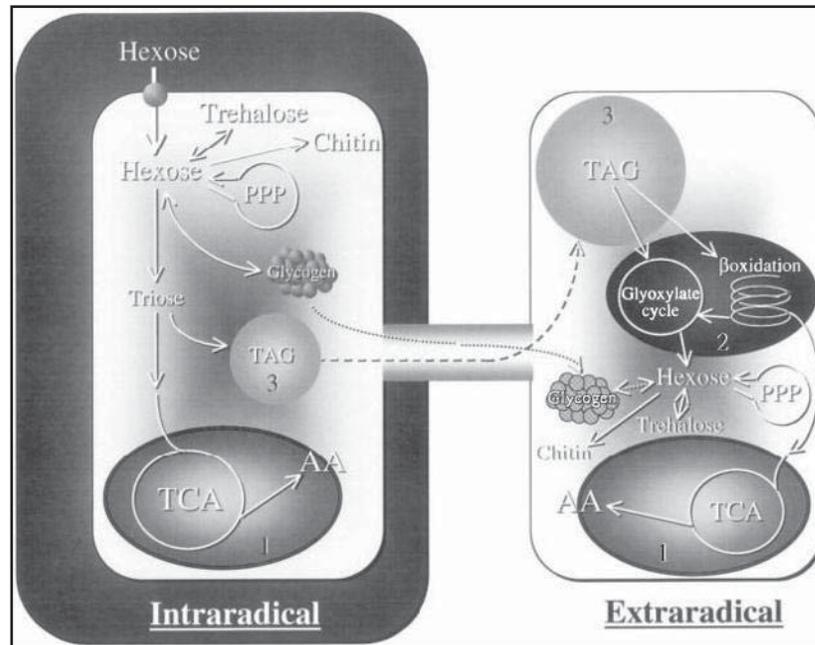


FIGURA 5. Rutas bioquímicas del metabolismo activo del carbono en la fase intraradical y extraradical del HMA. 1, Mitocondria; 2, glioxisoma; 3, cuerpos lipídicos. Tomado de Bago y col. 2000.

Los altos niveles de expresión de ATPasas en el micelio intraradical indican procesos de transporte activo, cinco y dos ATPasas se han identificado en *G. intraradices* y *G. mosseae*, respectivamente (Graham y Miller, 2004). El micelio extraradical es incapaz de tomar hexosas exógenas de manera que los requerimientos de carbono son abastecidos por traslocación de TAG desde el micelio intraradical y por catabolismo y gluconeogenesis vía el ciclo del glioxilato, también puede haber exportación de glicógeno desde el micelio intraradical (Figura 5).

La traslocación de los compuestos carbonados desde el micelio intraradical al extraradical parece llevarse a cabo en vacuolas tubulares a lo largo de las hifas (Ashford y Allaway, 2002 en Graham y Miller, 2004).

2.3.6.- Las micorrizas y las relaciones hídricas en plantas

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son importantes en la agricultura porque mejoran las relaciones hídricas de las plantas incrementando con esto la resistencia a la sequía y también mejoran la absorción de minerales, lo que reduce el uso de fertilizantes (Ruiz-Lozano y col. 1995a).

Los HMA pueden incrementar la resistencia de las plantas a la sequía mediante un número de mecanismos, tales como un incremento en la conductividad hidráulica, desarrollo de un sistema radicular superior (Borkowska, 2002), regulación estomática quizás mediante hormonas, absorción de agua por la hifas, ajuste osmótico y cambios en la elasticidad de la pared célula (Ruiz-Lozano y Azcón, 1995b). De manera que la micorriza puede ser más importante para el crecimiento de las plantas bajo condiciones de sequía, debido a que la contribución de la hifa del HMA es extender la superficie de absorción de las raíces así como la habilidad para explorar un volumen mayor de suelo y de esta manera poder proveer a la planta agua y nutrimentos (Bago y col., 2000).

Las hifas tienen un diámetro de 2-5 μm de manera que pueden penetrar poros del suelo que son inaccesibles para los pelos radiculares (10-20 μm de diámetro). El total de la longitud de una hifa puede alcanzar 50 m cm^{-3} de acuerdo a Allen (1991) citado por Ruiz-Lozano y Azcón (1995b), quien estimó que la velocidad del transporte de agua de la hifa extraradical a la raíz es 0.28 ng s^{-1} por punto de entrada, un nivel suficiente para mantener relaciones hídricas normales.

Lo anterior fue comprobado por Ruiz-Lozano y Azcón (1995), ellos concluyeron que la absorción de agua por la hifa es soportado por un incremento en el contenido de agua de la hoja en los tratamientos micorrizados únicamente y que esto favorece el intercambio gaseoso de la hoja, y que la contribución de la hifa a la absorción de agua y nutrimentos se debe efectivamente a su habilidad para explorar un mayor volumen de suelo. Los autores también observaron diferencias en la capacidad de absorber agua entre dos especies de *Glomus*, y respecto a esto discuten que esta diferencia se debe a características específicas

de las especies probadas ya que el diámetro de las hifas fue similar (2-5µm) así como la infectividad y la densidad de las hifas.

Hernández-Sebastià y col. (1999) realizaron un trabajo sobre las relaciones hídricas de plántulas de fresa *in vitro* inoculadas con *Glomus intraradices* en un sistema de cultivo tripartita. Es este trabajo ellos observaron que a los 23 días de inoculación el contenido de agua relativo (RWC) de la planta entera fue significativamente más alto (11%) en las plantas micorrizadas que en las no micorrizadas (Figura 6).

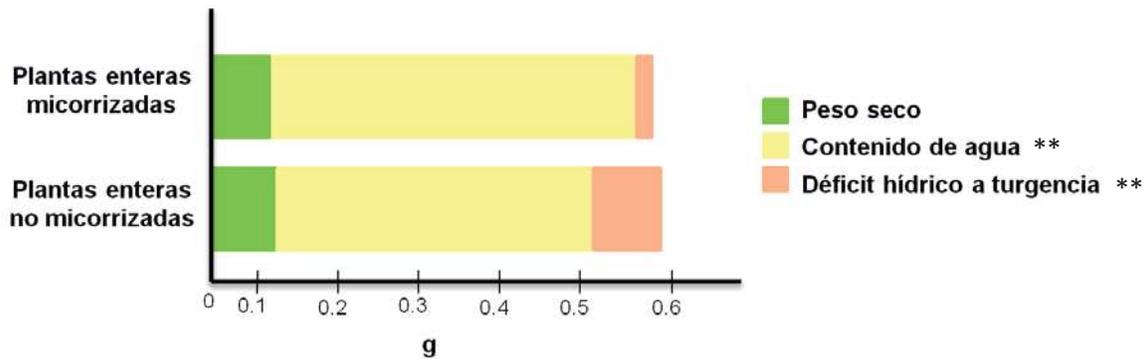


FIGURA 6. Compartimentos de peso seco, contenido de agua (peso fresco-peso seco) y déficit hídrico a turgencia (peso túrgido-peso fresco, agua absorbida durante hidratación completa) en plántulas de fresa inoculadas y no inoculadas con *Glomus intraradices*. ** Altamente significativo entre plantas micorrizadas y no micorrizadas (P = 0.001). (Hernández-Sebastià y col., 1999).

Hernández-Sebastià y col. (1999) concluyeron que este efecto está relacionado a un mayor contenido de agua en las raíces micorrizadas, donde el potencial osmótico fue similar a las plantas no micorrizadas. Como el potencial osmótico fue similar y el RWC fue mayor en micorrizadas se sugiere que las raíces micorrizadas pueden tener un mayor contenido de compuestos solubles que las no micorrizadas.

Borkowska (2002) realizó un trabajo sobre el efecto de *Glomus* sp. en el crecimiento de plántulas de fresa y de plantas crecidas en agobio hídrico. Los resultados mostraron que las plantas micorrizadas presentaron una mayor acumulación de biomasa y área foliar más grande, a lo largo del desarrollo de la planta el efecto de la inoculación solo fue apreciable en el desarrollo de las raíces, donde al final de 12 semanas de desarrollo las raíces de las plantas micorrizadas fueron significativamente más largas que las de las plantas no micorrizadas (Tabla 1).

Tabla 1. Estado morfológico de plantas de fresa micropropagadas (cv. Senga Sengana) con y sin *Glomus* sp. Borkowska, 2002

Semanas de crecimiento	Inoculación	Hojas		Raíces
		PF (mg)	Área (cm ²)	PF (mg)
4	no	51.8b	0.82b	50.4b
	si	86.9a	1.40a	69.6a
8	no	84.8b	1.22a	98.2b
	si	129.6a	1.68a	145.6a
12	no	691.1a	18.05a	626.0b
	si	714.3a	20.02a	725.6a

En las plantas a las que Borkowska (2002) suspendió el riego, los síntomas de marchitez para las plantas no micorrizadas aparecieron a los cinco días mientras que las plantas micorrizadas no presentaron síntomas a este tiempo, como se muestra en la Figura 7. Bajo estas condiciones, las plantas no micorrizadas mostraron un incremento significativo en biomasa, mientras que las plantas micorrizadas tanto las agobiadas por suspensión de riego como las de riego normal mostraron valores significativamente más bajos en materia seca que las no micorrizadas.

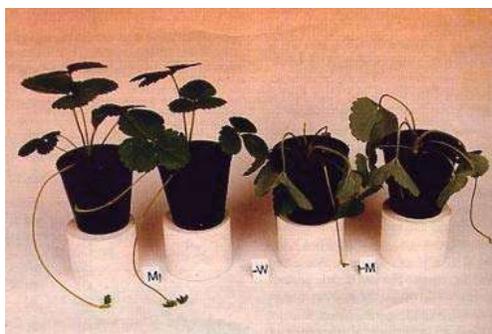


FIGURA 7. Morfología de plantas de fresa inoculadas (izquierda) y no inoculadas (derecha) con *Glomus* sp. al quinto día de suspensión de riego. Borkowska, 2002

En su trabajo, Borkowska (2002) concluye que la asociación micorrícica mejora el crecimiento de la planta en estadios tempranos de desarrollo y suministra agua a las plantas para proteger el sistema contra la deficiencia hídrica, pero al paso del tiempo el crecimiento disminuye debido a que los HMA son consumidores activos de fotoasimilados.

Además de las características antes mencionadas el HMA puede aumentar la conductancia estomática, la velocidad de transpiración y el potencial hídrico de las hojas de plantas micorrizadas con baja disponibilidad hídrica, permitiéndoles mantener rangos más altos de fotosíntesis y contenidos de agua mayores que las no micorrizadas (Hernández-Sebastiá y col., 1999).

Los mecanismos involucrados en la modificación de las relaciones hídricas del hospedero inducidos por el hongo son desconocidos. Se han probado varias hipótesis, por ejemplo: a) un efecto indirecto de mejor nutrición con fósforo en plantas micorrizadas (Paraskevopoulou-Paroussi y col. 1997), b) una mejora en la absorción de agua por los sistemas radiculares micorrizados al igual que por la fase extraradical, mediante un incremento de la conductividad hidráulica (Ruíz-Lozano y Azcón, 1995b) y modificaciones de la arquitectura de la raíz, c) una modificación bioquímica de la regulación hídrica en la planta hospedera por cambios en la señalización hormonal y d) una inducción de respuestas osmoregulatorias en plantas micorrizadas.

La primera hipótesis ha sido rechazada por Hernández-Sebastiá y col. (1999) ya que obtuvieron plantas del mismo tamaño tanto micorrizadas como no micorrizadas y además la concentración elemental de los tejidos, incluyendo el fósforo, no afectó por micorrización.

2.3.6.1.- Efecto de las micorrizas en la absorción de nutrimentos

El micelio externo de la micorriza juega un papel importante en cuanto al incremento en la absorción de macro y micro nutrimentos así como de aquellos que son poco móviles (P, NH_4^+) o que están en suelo con poco contenido de agua (NO_3^-), el micelio externo ayuda a la difusión de estos nutrimentos del suelo a las células de la raíz contribuyendo de esta manera al crecimiento y nutrición de la planta (Johansen y col. 1992; Tobar y col. 1994, Harrier, 2001; Borkowska, 2002).

Se sabe que el hongo micorrícico arbuscular puede interferir con la absorción de nitrógeno y su metabolismo, la hifa puede transferir cantidades sustanciales de N (en forma de amonio o nitrato) a la planta y asimilarlo en un conjunto de aminoácidos libres (Johansen y col., 1992; Johansen y col., 1996). La arquitectura de la raíz, la morfología y fisiología son factores claves para la productividad de la planta y puede ser una información útil sobre la capacidad de absorción de nutrimentos, especialmente en ambientes con baja disponibilidad de éstos.

Existen trabajos donde la absorción de N por las hifas no compensó la deficiencia del mismo para el crecimiento de la planta, pero si hubo una concentración mayor en las raíces de las plantas micorrizadas que en las no micorrizadas (Hawkins *et al.* 1999).

La infección con hongos micorrícicos arbusculares mejoran también la absorción de fósforo por las plantas en niveles bajos y altos de nutrimentos, pero es más evidente a niveles bajos en los cuales la colonización es mayor, también se sabe que los niveles altos de fósforo inhiben la formación de la micorriza, es

decir, la demanda de fósforo es la fuerza que maneja la colonización de la raíz por el hongo (Cruz *et al.* 2004, Hawkins *et al.* 1999).

Paraskevopoulou-Paroussi y col. (1997) realizaron un trabajo sobre el efecto de la micorriza en la absorción de nutrimentos y desarrollo de la planta en tres cultivares de fresa y ellos obtuvieron que las plantas de fresa inoculadas con *Glomus macrocarpum* incrementaron significativamente el peso seco del brote (1.3 veces más) cuando recibieron fertilización NPK, también el número de hojas, estolones y área foliar fue mayor en las plantas micorrizadas comparadas con las no micorrizadas. La inoculación incrementó significativamente la concentración y absorción de P, y en suelo deficiente de P las plantas de fresa micorrizadas presentaron un mayor crecimiento que las no micorrizadas.

Muchos factores ambientales como la humedad del suelo y la concentración de nutrimentos han sido considerados para influenciar los patrones de crecimiento de la raíz, las asociaciones con micorrizas inducen modificaciones en la arquitectura y morfogénesis en las raíces de plantas herbáceas y en árboles (Cruz y col. 2004), estas modificaciones están encaminadas hacia un incremento en la absorción de macro, micro e inmóviles nutrientes (Borkowska, 2002).

En un trabajo realizado por Cruz y col. (2004) compararon la capacidad de raíces micorrizadas y no micorrizadas de *Ceratonía siliqua* L. inoculadas con *Glomus intraradices* para absorber nitrógeno, así como el efecto de la micorriza en la morfología y arquitectura de la raíz. Los autores encontraron que a niveles bajos de nutrimentos el principal efecto de la micorriza es incrementar la capacidad de absorción de nitrógeno de las partes jóvenes de la raíz. Estos resultados fueron confirmados por el contenido de nitrógeno en la planta el cual fue más alto para las plantas micorrizadas crecidas bajo pocos nutrimentos. Estos datos sugieren que si las plantas crecen con un alto nivel de nutrimentos los efectos de la micorriza no son evidentes. La zona de mayor absorción es la zona de elongación y más joven de las plantas.

De este trabajo, Cruz y col. (2004) concluyeron que la disponibilidad de nutrimentos tiene un efecto más fuerte en la arquitectura de la raíz que la micorriza, pero que ésta tiene un efecto sobre la capacidad de absorción de nitrógeno y contenido de este en la planta en bajos niveles de nutrimentos, de tal manera que en una fuente de recursos baja, la fisiología y morfología del sistema radical se adapta para maximizar la capacidad de absorción y la longitud de la zona de absorción activa; por lo que el papel de la micorriza en este trabajo fue incrementar la capacidad de absorción de la zona activa (zona de elongación).

2.3.6.2.- Efecto de las micorrizas sobre la acumulación de osmolitos

Hernández-Sebastià et al. (2000), realizaron un experimento en el cual indujeron agobio hídrico mediante polietilenglicol (PEG) en plantas de fresa micorrizadas y no micorrizadas con *Glomus intraradices*, considerando únicamente la fase intrarradical. Ellos encontraron que el agobio hídrico ocasionado por PEG en plantas micorrizadas tiene diferentes efectos dependiendo del órgano; en las hojas los cambios fueron en relación a los niveles de aminoácidos, como por ejemplo la asparagina disminuye, los niveles de ac. Glutámico se incrementa tres veces y el ac. aspártico también se incrementa. Los efectos encontrados en las raíces de las plantas estresadas micorrizadas son un incremento de 7 veces la concentración de aminoácidos y un incremento en la concentración de almidón principalmente de glucosa en relación a las no estresadas.

Los autores encontraron que en hojas y raíz de fresa la modulación de los niveles de asparagina por las estructuras intrarradicales del hongo toma lugar en direcciones opuestas bajo condiciones de estrés hídrico y bajo condiciones de buena disponibilidad de agua. Estos resultados son consistentes con la idea de que la asparagina es el mayor componente del xilema, floema y tejidos, y es el principal compuesto involucrado en el transporte de nitrógeno en plantas de fresa.

En resumen Hernández-Sebastià et al. (2000), sugieren que hay una movilización importante de asparagina que puede ir de las hojas a las raíces o viceversa en respuesta al estrés hídrico dependiendo del estado micorrízico de la planta. Ellos suponen que la asparagina fue liberada por el rompimiento de proteínas estimulada por la presencia del hongo, o que pueden ser acumuladas por síntesis *de novo* como un resultado de cambios en los niveles de carbono y metabolitos orgánicos de nitrógeno bajo la influencia del compartimento simbiótico en la raíz.

3.- JUSTIFICACIÓN

El cultivo de la fresa tiene una alta demanda hídrica para el llenado de los frutos y es sensible al agobio hídrico, cuando se llega a presentar una baja disponibilidad de agua en el suelo se pone en riesgo la producción parcial o totalmente.

Existen reportes en la literatura sobre la influencia del agobio hídrico en el crecimiento y rendimiento en las plantas de fresa, pero cabe mencionar que estos estudios se han dirigido a la respuesta generada por las plantas a corto tiempo. Hay poca información en respuesta a largos periodos de agobio hídrico definidos, y bajo estas condiciones no se conoce la respuesta de plantas en la etapa de fructificación.

Los hongos micorrícicos arbusculares son una alternativa muy eficiente para optimizar los aportes de agua al cultivo ya que se han realizado trabajos en los que se han obtenido resultados en donde se observa que los hongos micorrícicos arbusculares benefician el estado hídrico de las plantas en estado vegetativo en condiciones de agobio hídrico y además también benefician otros procesos asociados al crecimiento y desarrollo.

Uno de los mecanismos por los cuales las micorrizas favorecen el estado hídrico de las plantas es por la acumulación de osmolitos, esto contrarresta el efecto del déficit hídrico manteniendo la presión de turgencia y con ello una mayor tasa fotosintética. Las micorrizas también favorecen la acumulación de ácido abscísico, el cual está involucrado en el cierre estomático para evitar la pérdida de agua por transpiración.

Por lo anterior es importante conocer el efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* sobre la acumulación de osmolitos y ácido abscísico en plantas de fresa expuestas a un agobio hídrico prolongado y sostenido hasta la etapa de fructificación.

El conocimiento a largo plazo de las respuestas y mecanismos de tolerancia al agobio hídrico pueden contribuir a mejorar la comprensión de las adaptaciones a condiciones extremas, y además este conocimiento puede servir para implementar una nueva metodología en la aplicación de agua al cultivo, evitando con esto el deterioro del recurso y evitando problemas de contaminación.

4.- HIPÓTESIS

Los niveles de osmolitos y ácido abscísico se incrementan en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Aromas) asociadas con *Glomus intraradices* en respuesta al agobio hídrico prolongado y sostenido.

5.- OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de *Glomus intraradices* asociado a plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Aromas) sobre la acumulación de ácido abscísico y osmolitos orgánicos e inorgánicos, en condiciones de agobio hídrico prolongado y sostenido.

Objetivos particulares

- Realizar un ensayo preliminar para determinar el nivel de disponibilidad hídrica en el sustrato que genere un agobio sostenido durante el ciclo de cultivo de plantas de fresa.
- Evaluar el efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* en el crecimiento de plantas de fresa en condiciones de agobio hídrico.
- Evaluar la acumulación de ABA y osmolitos (orgánicos e inorgánicos) en plantas de fresa inoculadas y no inoculadas, cultivadas en agobio hídrico.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.- Esquema general de trabajo

Se realizó un experimento preliminar para determinar el nivel de disponibilidad hídrica que permitiera que las plantas estuvieran sometidas a un agobio hídrico, pero sin que se afectara su desarrollo y ciclo de vida.

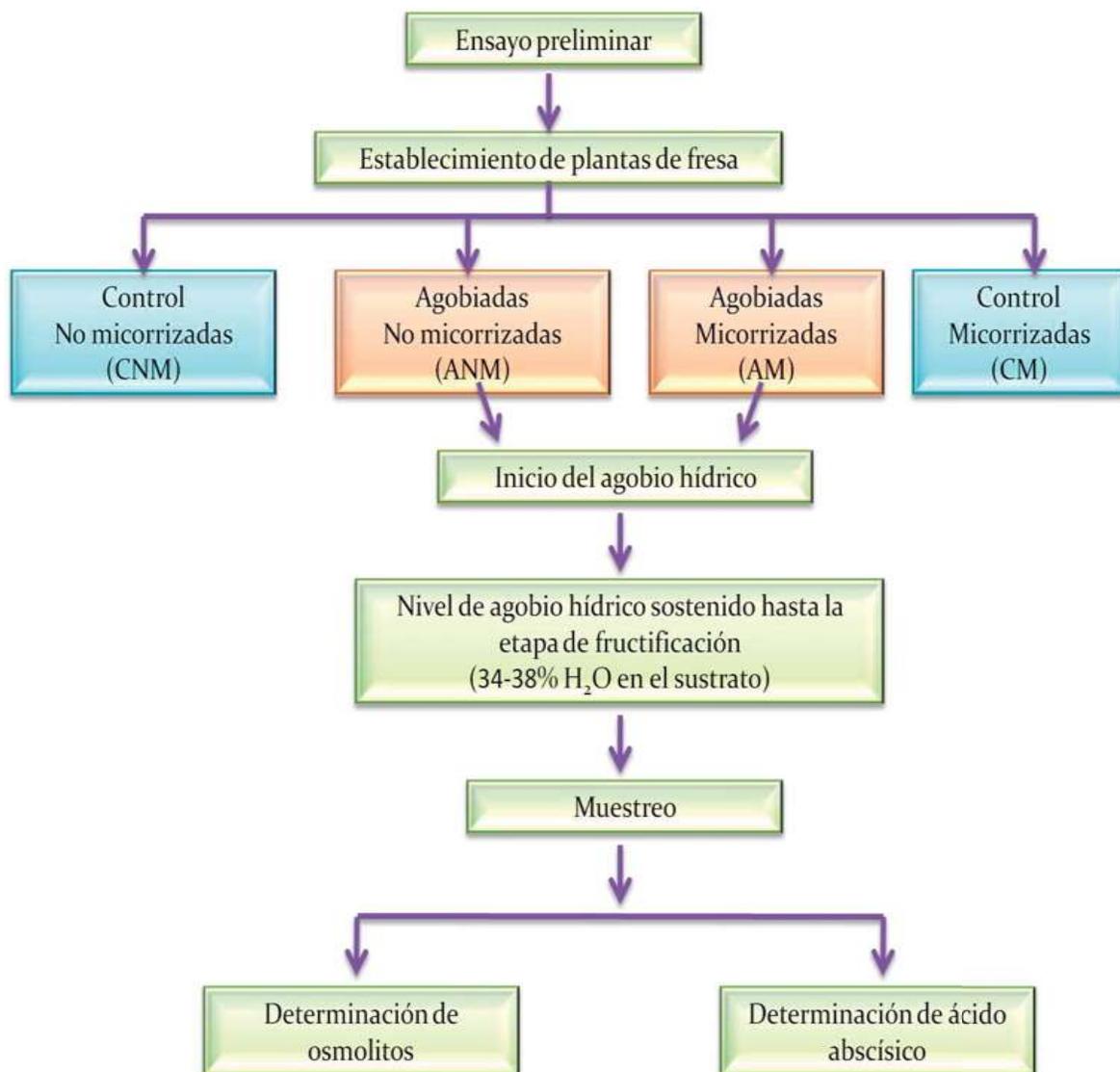


FIGURA 8. Esquema general de trabajo

Con los resultados de este experimento preliminar se obtuvieron las bases para diseñar un experimento principal en el cual se consideraron dos factores micorrización y disponibilidad hídrica. Con estos factores se establecieron cuatro tratamientos que fueron plantas control con y sin micorrizas (CM y CNM) y plantas agobiadas con y sin micorrizas (AM y ANM).

Estos tratamientos se mantuvieron hasta la etapa de fructificación en donde se llevó a cabo el muestreo para hacer la determinación de osmolitos orgánicos e inorgánicos y de ácido abscísico

6.2.- Material biológico

Las plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Aromas) que se utilizaron para realizar este estudio fueron importadas de California. Para determinar la contribución de las micorrizas al agobio hídrico en plantas de fresa se utilizaron esporas de *Glomus intraradices*, las cuales fueron proporcionadas por el D.C. Javier Villegas del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH.

6.2.1.- Determinación del porcentaje de viabilidad de esporas

El porcentaje de viabilidad de esporas se determinó antes de preparar el inóculo, para lo cual se preparó MTT al 0.5% del cual se tomó 1ml y se adicionó a un 1ml del cultivo de esporas (2400 esporas/ml) y se dejó 18 hrs a temperatura ambiente, cubiertos con papel aluminio. Pasado el tiempo se tomó 0.5ml de la solución de esporas y se observó al microscopio, las esporas viables se observaron de color lila y/o negro, se realizó por triplicado. Una vez contabilizadas las esporas viables y las no viables, se obtuvo el porcentaje de viabilidad dividiendo el número de esporas viables observadas entre el número de esporas totales observadas. La viabilidad de esporas fue de 97.96%.

6.2.2.- Preparación del inóculo

El inóculo se preparó con 8.5 ml del cultivo de esporas y 400 ml de inoculante (fitagel al 0.5%) previamente esterilizado. De este inóculo se tomaron 2 ml para cada planta que corresponde a una cantidad de 100 esporas por planta y se procedió a inocular las plantas.

6.3.- Métodos

6.3.1.- Establecimiento del experimento preliminar

Las plantas de fresa micorrizadas y no micorrizadas que se utilizaron para este experimento tenían aproximadamente ocho meses de edad y se encontraban en estado vegetativo. Se dispuso de un diseño experimental completamente al azar, en el cual hubo cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. Cada tratamiento contenía cuatro plantas, que fueron regadas durante su crecimiento con solución nutritiva 6mM de NO_3^- (Cárdenas-Navarro y col., 1998). Los tratamientos fueron definidos como plantas control micorrizadas, control no micorrizadas, agobiadas micorrizadas y agobiadas no micorrizadas.

Al inicio del experimento todas las plantas fueron regadas a capacidad de campo con solución nutritiva, a los tratamientos de agobio se les suspendió el riego mientras que los control continuaron con el riego cada tercer día.

El experimento duró 14 días durante los cuales se hicieron mediciones diarias de contenido de agua gravimétrica (gramos de agua por gramos de sustrato) y volumétrica (volumen de agua por volumen de sustrato). La medición de agua volumétrico se realizó con una sonda de humedad conocida como TDR (Time domain reflectometry), la cual es una herramienta ampliamente usada en hidrología y en la ciencia del suelo para una medición confiable y flexible del contenido de agua en el suelo (Thomsen y col., 2000).

Además durante el experimento se realizaron al menos tres mediciones diarias de fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración con una pinza fotosintética portátil marca IRGA (LI-6400-F). Este equipo es un sistema abierto que mide fotosíntesis, transpiración y otras variables, basándose en las diferencias de CO₂ y H₂O entre la entrada y la salida del aire que fluye a través de la cámara que contiene la hoja.

El nivel de disponibilidad hídrica fue determinado basándose en los niveles de fotosíntesis y contenido de agua en el sustrato de las plantas agobiadas no micorrizadas.

6.3.2.- Establecimiento del experimento principal

El experimento se llevó a cabo en los invernaderos del Instituto de Investigaciones sobre Recursos Naturales (INIRENA-UMSNH). El diseño del experimento fue completamente al azar y constó de 16 unidades experimentales divididas en cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, cada unidad experimental tuvo nueve plantas. Los factores a considerar fueron colonización (presencia o ausencia de micorriza) y disponibilidad hídrica (agobio o condiciones normales de riego).

6.3.2.1.- Preparación de las plantas

Las plantas de fresa fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 5% antes de ser establecidas en el invernadero y al momento de plantarlas la raíz les fue cortada a una longitud igual a 5 cm. Las plantas seleccionadas fueron plantadas en un sustrato compuesto por agrolita y fibra de coco en una proporción 3:1 respectivamente, este sustrato se esterilizó y se colocó en bolsas de polietileno negro con una capacidad de 3 litros. Una vez que las plantas fueron establecidas en las bolsas se les regó cada tercer día con agua desmineralizada.

6.3.2.2.- Inoculación de las plantas

Las plantas de fresa de ocho unidades experimentales fueron inoculadas con esporas de *G. intraradices* cuando tenían quince días de haber sido establecidas en el invernadero, para lo cual la raíz fue desprovista de sustrato y con la ayuda de un jeringa les fue suministrado 2 ml del inóculo directamente sobre las raíces a cada planta, posteriormente las raíces fueron cubiertas nuevamente con el sustrato.

6.3.2.3.- Verificación de la colonización

Después de quince días de la inoculación (ddi) se verificó la colonización, para lo que se tomaron al azar ocho plantas inoculadas y ocho no inoculadas de diferentes unidades experimentales.

Las raíces nuevas fueron retiradas y colocadas en rejillas especiales para tinción y así poder observar vesículas. Las raíces se sometieron a decoloración mediante una solución de KOH al 10% en la cual hirvieron por 7 min aprox. Posteriormente se lavaron con agua. Se preparó una solución de vinagre al 5% de tinta china para teñir las vesículas, las rejillas con las raíces se dejaron hervir en esta solución por 3-5min y se enjuagaron nuevamente con agua hasta eliminar todo el colorante (Vierheilig y col. 1998). Por último se observaron al microscopio

A los 30 días después del establecimiento de las plantas en el invernadero, éstas fueron regadas con solución nutritiva 6 mM de NO_3^- (Cárdenas-Navarro, 1998), con la siguiente composición en mg/L: KH_2PO_4 , 40.85; K_2SO_4 , 235.25; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 708.45; $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 86.1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 369.7; EDTA-Fe \cdot 1H $_2$ O, 16.65; 1ml de solución de micronutrientos; cuya composición en (mg/L) fue de: H_3BO_3 , 223; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 30; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 640; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 270; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 217 y EDTA-Fe \cdot H $_2$ O, 600.

Las plantas fueron regadas a capacidad de campo hasta dar inicio con el tratamiento de agobio hídrico.

6.3.2.4.- Establecimiento del agobio hídrico moderado

Sesenta días después del establecimiento de las plantas en el invernadero se inició con los tratamientos de disponibilidad hídrica. Este tiempo se dejó para que las plantas alcanzaran cierta talla y fueran uniformes. Para llegar al nivel de agobio hídrico establecido en el experimento preliminar, se fue disminuyendo gradualmente el volumen de solución nutritiva que se adicionaba a las plantas.

Una vez iniciado con todos los factores, las plantas se regaron cada tercer día, las plantas control (CNM y CM) con 200ml de solución nutritiva, y para las plantas agobiadas (ANM y AM) primero se midió el contenido de agua volumétrico en el sustrato y después se les adicionó la cantidad de agua necesaria para que quedaran en el límite superior del rango de humedad que resultara definido en el experimento preliminar. Para saber la cantidad de agua que se debía adicionar, la lectura medida con el TDR en el sustrato se restaba al límite superior del rango que resultara del experimento preliminar y el resultado se multiplica por el volumen del sustrato (3000 ml), lo que daría como resultado el volumen en mililitros que se necesitaba. En estas condiciones las plantas permanecieron hasta la etapa de fructificación (durante seis meses) donde se realizó el muestreo.

6.3.2.5.- Muestreo de las plantas

El muestreo consistió en la toma de una planta (al azar) por unidad experimental, de manera que cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. A las plantas seleccionadas se les midió fotosíntesis, conductancia, transpiración y potencial hídrico

El potencial hídrico se midió con una cámara de Scholander, esta medición se realizó durante la madrugada ya que a esta hora el potencial hídrico de la planta está en equilibrio con el del suelo (sustrato). Para la medición a cada planta se le cortó una hoja desde el peciolo, la cual fue colocada en una cámara

herméticamente cerrada con el peciolo expuesto y se le aplicó presión (Figura 9). La presión fue provocada por el llenado de la cámara con nitrógeno gaseoso hasta que apareciera savia en el extremo cortado del peciolo. Al aparecer la gota de savia en el extremo del peciolo, inmediatamente se tomaba la lectura de presión registrada en el manómetro y esta fue el valor del potencial hídrico reportado.

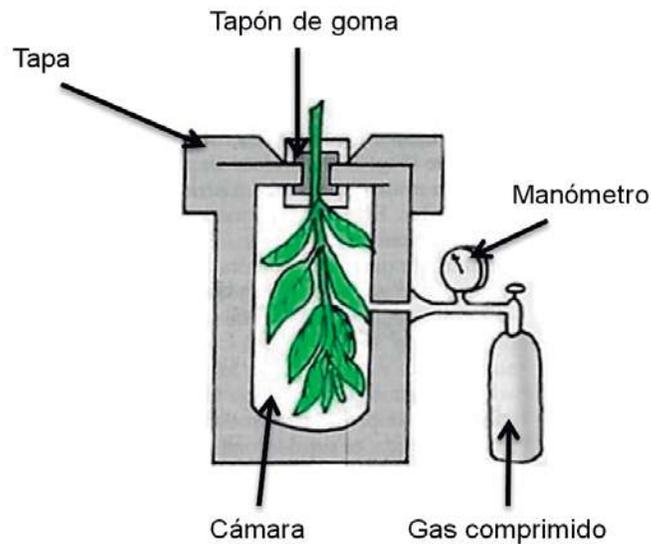


FIGURA 9. Esquema de medición del potencial hídrico con una cámara de Scholander. Modificado de Azcón-Bieto y Talon, 2000

A cada una de la plantas se les tomó el peso fresco de los órganos (raíz, tallo y corona), área foliar, longitud de raíz y diámetro de la corona.

Posterior a estas mediciones las plantas fueron congeladas en nitrógeno líquido y mantenidas a -72°C hasta el momento de realizar los análisis correspondientes.

6.3.2.6.- Estimación de la colonización

Una sección de las raíces fue tomada para determinar el porcentaje de colonización, para ello se cortaron segmentos de raíces de 1 cm de longitud y se siguió el protocolo que se menciona en el apartado 6.3.2.3 para la decoloración y tinción.

El porcentaje de micorrización de los segmentos de las raíces se determinó colocando las raíces teñidas en una caja petri cuadrada (1cm² cada cuadro), se observaron al microscopio y se contabilizaron las raíces que presentaron vesículas (micorrizadas) y las que no (no micorrizadas), (Giovannetti y Mosse, 1980). El porcentaje de colonización se calculó en función del número de raíces que presentaron vesículas y del número total de raíces observadas.

Los órganos congelados de la plantas se liofilizaron y pesaron para obtener el peso seco, posteriormente se pulverizaron en un molino de jarras y se procedió con los análisis correspondientes.

6.3.3.- Determinación de osmolitos y ácido abscísico

6.3.3.1.- Extracción de carbohidratos solubles y aminoácidos libres

Los órganos liofilizados y molidos fueron utilizados para la determinación de carbohidratos solubles y aminoácidos libres, para lo cual se pesó 0.250g de raíz y corona y 0.050g de hoja y se extrajeron con 40ml de etanol al 80%, adicionando norvalina y persitol como estándares internos (50µg de cada uno). La extracción se realizó a 60°C con agitación continua por 15 hrs. El sobrenadante fue filtrado y se evaporó a sequedad en un rotavapor a 40°C. La muestra seca se resuspendió en 5ml de etanol 80% y se ajustó el pH entre 3 y 3.5 con HCl 3M. Los extractos etanólicos crudos se almacenaron a -20°C (Macías-Rodríguez y col., 2002).

La extracción de aminoácidos y carbohidratos se realizó a partir del extracto etanólico, se tomó una alícuota de 2 ml y se aplicaron a una resina de intercambio catiónico de un tamaño de malla de 200-400. Los aminoácidos se eluyeron con hidróxido de amonio 80% y los carbohidratos con HCl 0.01N. La fracción que contenía los aminoácidos se evaporó a sequedad en rotavapor a 40°C y se resuspendió con 2ml de HCl 0.01N. La fracción correspondiente a los carbohidratos se pasó por una columna de Polyvinilpolipirrolidona (PVPP) antes de ser concentrada en rotavapor, también fue resuspendida en 2 ml de HCl 0.01N. Los extractos ácidos se mantuvieron a -20°C hasta su utilización (Macías-Rodríguez y col., 2002).

6.3.3.2.- Derivación de carbohidratos solubles y su análisis por GC-MS

A partir de los extractos de corona, raíz y hoja descritos en el apartado 6.3.3.1 se tomó una alícuota de 500µl para corona y raíz, y de 1 ml del de hoja las cuales se colocaron en reactivales. Todas las alícuotas se llevaron a sequedad bajo chorro de nitrógeno gaseoso de manera independiente adicionando 1 ml de diclorometano (2 veces). Una vez secos se les agregó 1.5 ml de cloruro de hidroxilamina en piridina (53mg/3ml) para preparar derivados oxima. Se sonicaron por 15 min y se incubaron por 1hr a 85°C en un termoblock. Los viales se enfriaron a temperatura ambiente y las soluciones fueron convertidas a aldonitrilos peracetilados agregando 1 ml de anhídrido acético y 500 µl de piridina, las muestras se calentaron a 85°C por 20 min. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se transfirieron a tubos de ensaye que contenían previamente 2 ml de cloroformo y 4 ml de agua desionizada. La muestra fue lavada otras 2 veces con 4 ml de agua. Finalmente se deshidrató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad. Se resuspendió en 200µl de cloroformo para su posterior análisis en GC-MS (Macías-Rodríguez y col., 2002). El volumen de inyección fue de 1µl.

Se empleó una columna HP-5 MS de 30m x 0.25mm de diámetro interno (ID) y 0.25 μm de espesor. La temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con incrementos de 6°C/min hasta llegar a una temperatura final de 270°C por 12 min. La temperatura del inyector y detector fueron 270°C y 300°C respectivamente.

Los espectros de los compuestos obtenidos fueron comparados con la librería de espectros de masas de compuestos orgánicos NIST/EPA/NIH que está integrado a un programa Chem Station Hewlett Packard (Agilent), además se compararon con los espectros de carbohidratos estándares previamente acetilados. La cuantificación se realizó en base al estándar interno persitol.

6.3.3.3.-Derivación de aminoácidos libres y su análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

De los extractos ácidos de hoja se tomaron 1 ml de hoja y de los de corona y raíz 500 μl , se colocaron en reactivales y se llevaron a sequedad total y de manera independiente se les agregó 2 ml de una solución de metanol/cloruro de acetilo (2ml/500 μl). Las muestras se sonicaron 45 min y se incubaron por 1hr a 75°C, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se evaporaron a chorro de nitrógeno. Después se les agregó 1 ml de diclorometano y 1.5 ml de anhídrido acético y se calentaron a 75°C por 1.5 hr. Se dejaron enfriar y se transfirieron a tubos de ensaye que contenían 2 ml de cloroformo y 4 ml de agua, se lavaron 2 veces más con 4 ml de agua y finalmente se deshidrataron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron a sequedad a chorro de nitrógeno. Finalmente se resuspendieron en 50 μl de diclorometano y se inyectó 1 μl de cada uno (Macías-Rodríguez y col., 2002).

La separación e identificación de los aminoácidos se llevó a cabo con GC-MS equipado con una columna HP-5 MS de 30m x 0.25mm (ID) y 0.25 μm de espesor de fase. La temperatura inicial del horno fue de 150°C por 3 min con

incrementos de 5°C/min hasta llegar a una temperatura final de 278°C por 5 min. La temperatura del inyector y detector fueron 270°C y 300°C.

La cuantificación se realizó en base al estándar interno norvalina y la identificación de los aminoácidos se realizó por comparación de los espectros de masas con los que se encuentran en la librería NIST/EPA/NIH integrada al equipo y con estándares de aminoácidos derivatizados por separado.

6.3.3.4.- Determinación del ácido abscísico glucosilado (ABA-GE)

El ABA-GE se identificó dentro de la fracción neutra que es en la que se encontraban los carbohidratos solubles y su identificación se realizó por comparación con el espectro de la librería NIST/EPA/NIH y su cuantificación fue en base al persitol adicionado durante la extracción

6.3.3.5.- Determinación de nitratos

A partir de los órganos liofilizados se tomaron las siguientes cantidades: 1.2 ± 0.1 mg de hoja, 1 ± 0.1 mg de corona y raíz, las muestras se colocaron en tubos de ensaye y se les adicionaron 10 ml de agua desionizada y se agitaron por 2 horas a 4°C. Se filtraron con seraplas 16 y se procedió a realizar la medición de nitratos.

Las concentraciones de nitratos se realizaron por colorimetría de nitritos en un espectrómetro-fotómetro UV/Vis lamda acoplado a un sistema FIAS (40 Perkin Elmer, Fias 3000) a una longitud de onda 540nm. Para determinar las concentraciones, previo al análisis se realizó una curva de calibración con NaNO_3 , las concentraciones de los estándares fueron 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L, obteniéndose un $r^2 = 0.9999$.

6.4.- Análisis estadístico

El análisis estadístico de todas las determinaciones se hizo con el paquete estadístico SYSTAT versión 11 para Windows. Los análisis se realizaron de manera independiente para cada uno de los osmolitos y ABA y además se realizaron por órganos, las diferencias significativas fueron evaluadas por un análisis factorial utilizando la micorrización y disponibilidad hídrica como factores (ANOVA). Para la prueba de medias se utilizó la diferencia mínima significativa (LSD) con $P \leq 0.05$.

7.- RESULTADOS

7.1.- Experimento preliminar

Estos resultados corresponden al objetivo número uno que fue establecer un nivel de disponibilidad hídrica en el sustrato que nos permitiera mantener a las plantas de fresa en un estado de agobio hídrico moderado, pero que a su vez les permitiera concluir con su ciclo de vida.

En la Figura 10 se muestran los resultados obtenidos del contenido de agua en el sustrato durante la suspensión de riego a lo largo del experimento preliminar.

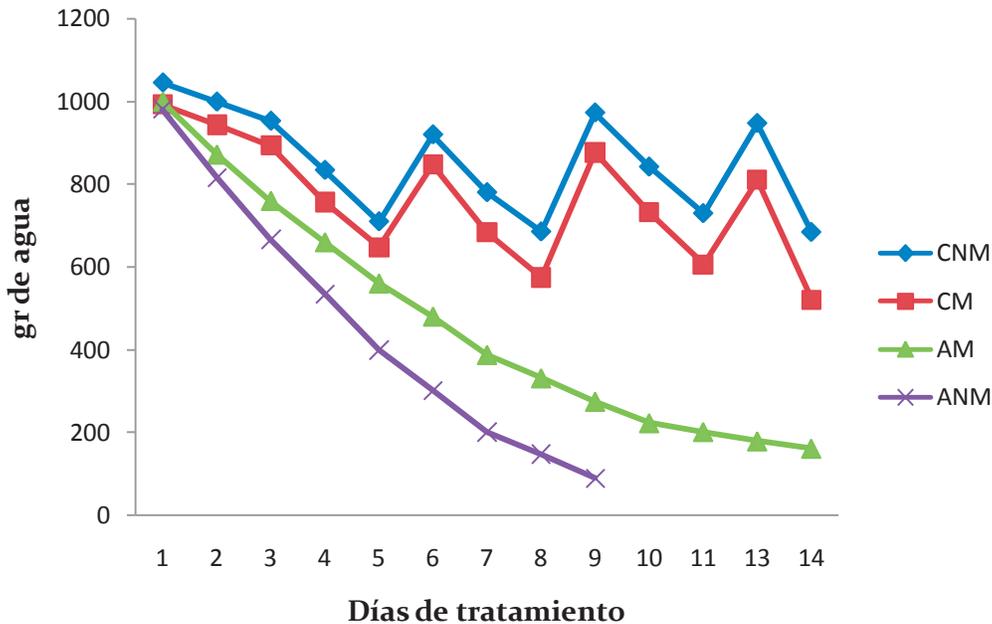


FIGURA 10. Contenido de agua en el sustrato durante la suspensión de riego en los tratamientos del experimento preliminar. Los valores son las medias de cuatro repeticiones. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, AM: plantas agobiadas micorrizadas y ANM: plantas agobiadas no micorrizadas.

Las líneas roja y azul de la Figura 10 representan los tratamientos que no estuvieron expuestos a suspensión de riego durante el experimento preliminar y que recibieron riegos periódicos. En color morado se representa el comportamiento observado para las plantas agobiadas no micorrizadas (ANM), quienes perdieron más rápido agua en el sustrato que las plantas agobiadas micorrizadas (AM) que se encuentran en color verde.

Como consecuencia de la rápida pérdida de agua en el sustrato las plantas ANM presentaron síntomas de marchitez antes que las AM (Figura 11). Las plantas ANM se marchitaron al día nueve de suspensión de riego mientras que las AM lo hicieron hasta el día catorce. Lo anterior sugiere que la micorriza mejora la resistencia de las plantas a la deficiencia de agua en el suelo.

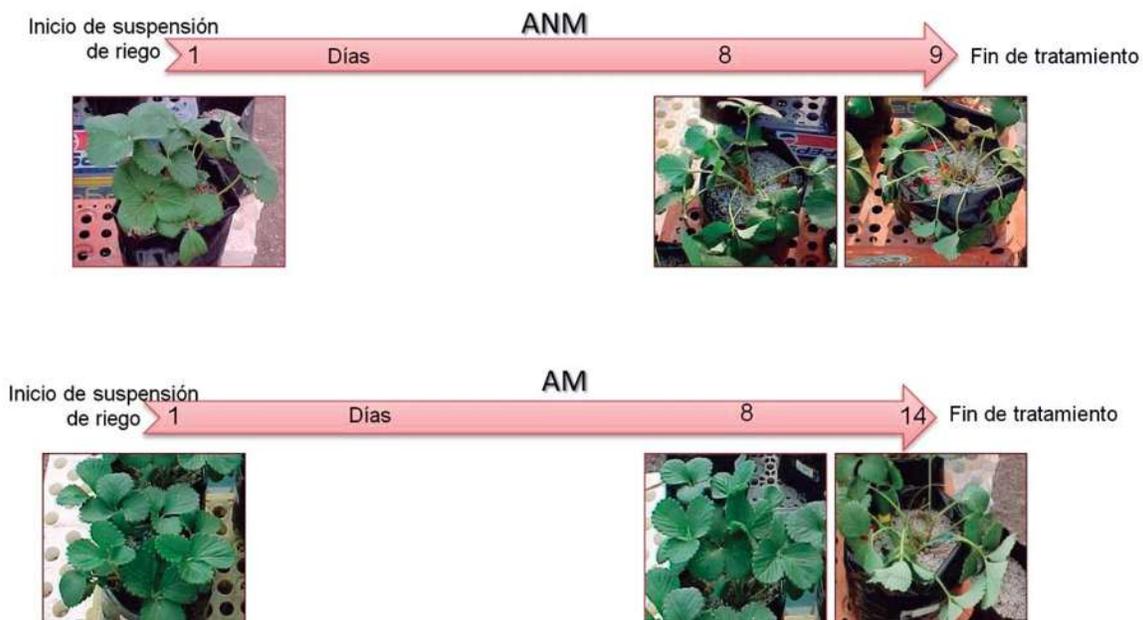


FIGURA 11. Plantas de fresa agobiadas por el tratamiento de suspensión de riego en el ensayo preliminar, plantas no micorrizadas (ANM) (arriba) y plantas micorrizadas (AM) (abajo).

Así como el contenido de agua en las plantas se vio afectado por la suspensión de riego los procesos tales como la transpiración, conductancia y fotosíntesis también se alteraron. En la Figura 12 se puede observar con la línea en rojo como la deficiencia de agua en el sustrato provocó que a partir del día cuatro la disminución en la fotosíntesis fuera más drástica para las plantas ANM que para las AM (línea azul). Al día nueve de suspensión de riego las ANM presentaron una fotosíntesis cercana a cero, mientras que en las AM solo había disminuido un 38%.

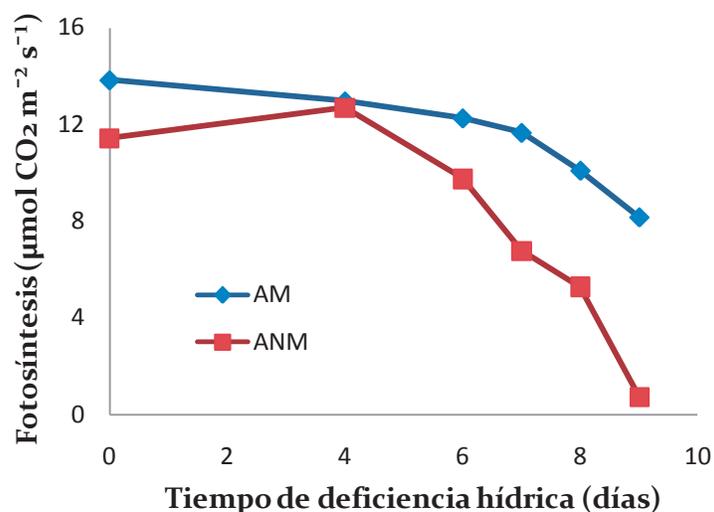


FIGURA 12. Dinámica de fotosíntesis en plantas de fresa agobiadas durante la suspensión de riego en el experimento preliminar. Cada valor representa la media de cuatro repeticiones. AM: plantas agobiadas micorrizadas y ANM: plantas agobiadas no micorrizadas.

7.2.- Determinación del nivel de deficiencia hídrica en las plantas

En función de la caída de fotosíntesis y la pérdida de agua en el sustrato se hizo la determinación del nivel de agobio hídrico moderado. En la Figura 13 se puede observar que en el día nueve el sustrato de las plantas ANM contenía un 18% de agua (línea café) y presentaron una fotosíntesis máxima de 5% (línea azul) con respecto a las plantas CNM, lo que indicó que las plantas ANM se encontraban en un agobio hídrico severo.

De acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 13, en el día siete el contenido de agua en el sustrato fue el adecuado para que las plantas se encontraran en un agobio hídrico moderado sin presentar síntomas de marchitez.

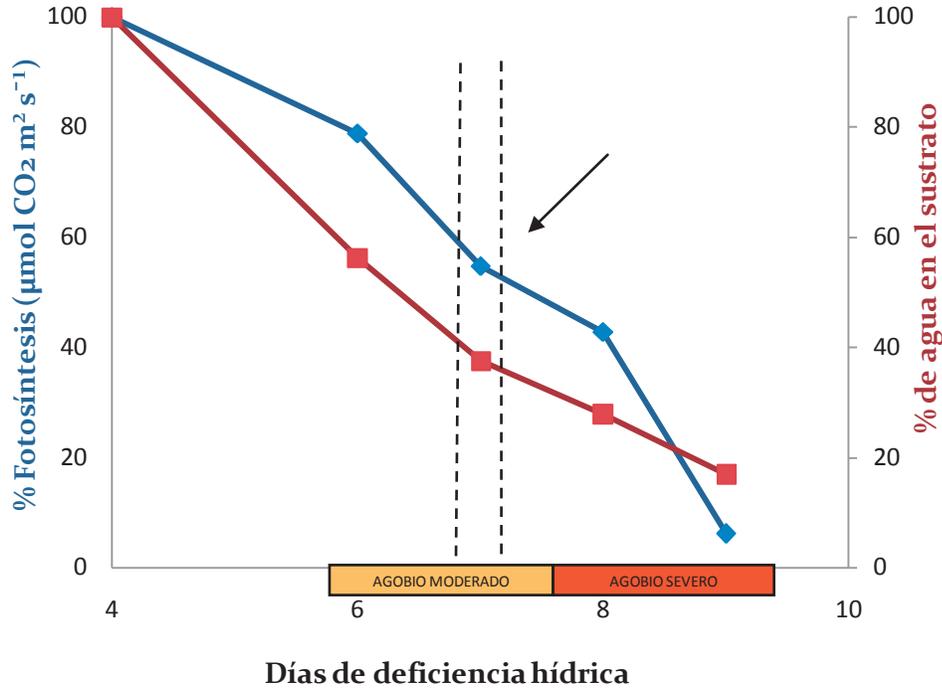


FIGURA 13. Determinación del nivel de deficiencia hídrica, en función del porcentaje de fotosíntesis y contenido de agua en el sustrato de las plantas agobiadas no micorrizadas (ANM) con respecto a las plantas control no micorrizadas (CNM). Cada punto representa la media de cuatro repeticiones.

A los siete días de deficiencia hídrica, las plantas ANM presentaron una disminución significativa en la fotosíntesis con respecto al resto de los tratamientos (AM, CNM y CM), mientras que las plantas AM alcanzaron niveles semejantes a las plantas control (CNM y CM) (Figura 14).

Al día siete se vió un incremento en la fotosíntesis de las plantas CM por efecto de la micorrización con respecto a CNM aunque no fue significativo, pero la tasa fotosintética medida para las AM fue significativamente mayor que en las ANM (Figura 14).

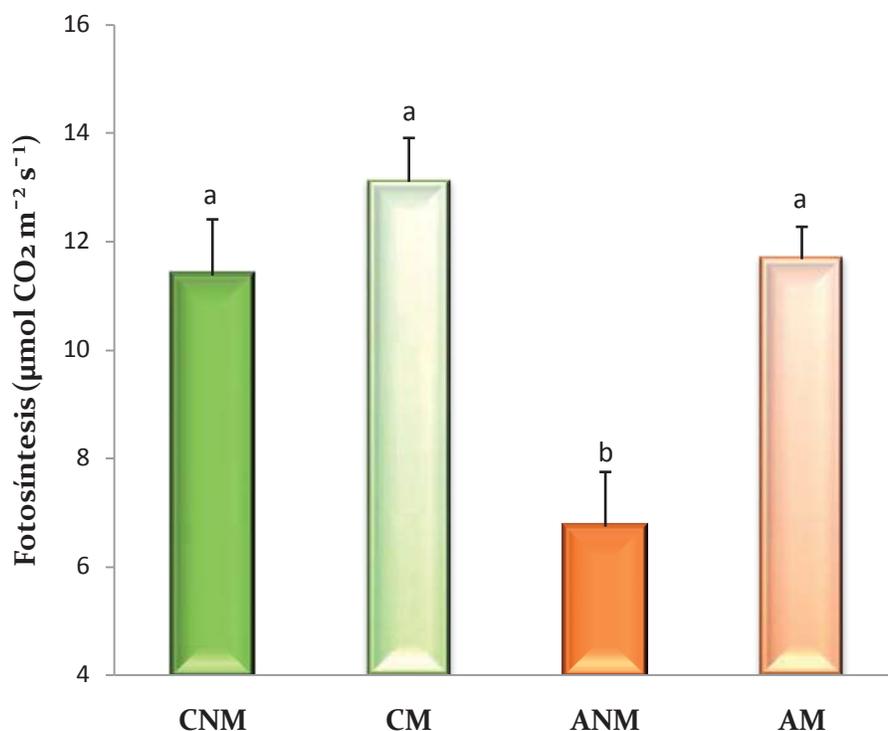


FIGURA 14. Fotosíntesis en plantas de fresa a los siete días de suspensión de riego para los tratamientos. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no representan diferencia significativa de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

En función de los resultados obtenidos al día siete con 38% de agua en el sustrato y una disminución en la fotosíntesis de 50%, se decidió establecer un rango de contenido de agua en el sustrato entre un 38 y 34%.

7.3.- Experimento principal

7.3.1.- Colonización de las plantas de fresa por HMA

En la Figura 15 se muestran los resultados obtenidos de porcentaje de colonización de las plantas de fresa a los 195 días de inoculación y bajo agobio hídrico sostenido, en plantas CNM, ANM, CM y AM.

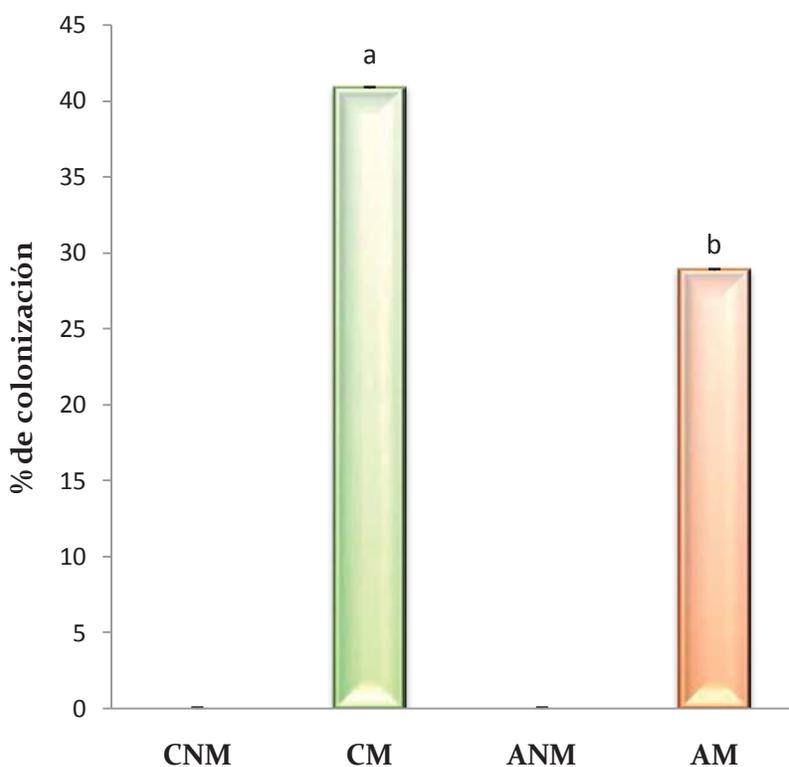


FIGURA15. Porcentaje de colonización 195 días después de la inoculación de las plantas de fresa con *Glomus intraradices*. La estimación se llevó a cabo en función de la presencia o ausencia de vesículas. Las barras representan la media de cuatro repeticiones. La significancia se estimó mediante un prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

En la colonización se observó la presencia de vesículas sólo en los tratamientos micorrizados (CM y AM), indicando que solo en estos hubo colonización por el hongo. En la Figura 15 se puede observar que la colonización de la planta por el hongo se afectó por la presencia del agobio, de manera que las raíces de las plantas CM (barra de color verde claro) presentaron una colonización significativamente más alta que las plantas AM (barra de color naranja claro).

7.3.2.- Estado hídrico de las plantas (potencial hídrico)

Una forma de conocer el estado hídrico de las plantas es midiendo el potencial hídrico. En la Figura 16 se observa el potencial hídrico que presentaron las plantas establecidas a una disponibilidad hídrica entre 34 y 38% de contenido de agua en el sustrato.

Como era de esperarse el estado hídrico de las plantas control (CNM y CM) fue significativamente mayor que el de las plantas agobiadas (ANM y AM), indicando que el estado hídrico de las plantas control es mejor y que efectivamente una baja disponibilidad de agua en el sustrato disminuye el contenido de agua en la planta y también otros procesos como se verá más adelante. La inoculación no presentó un efecto benéfico aparente en el estado hídrico de las plantas CM y AM.

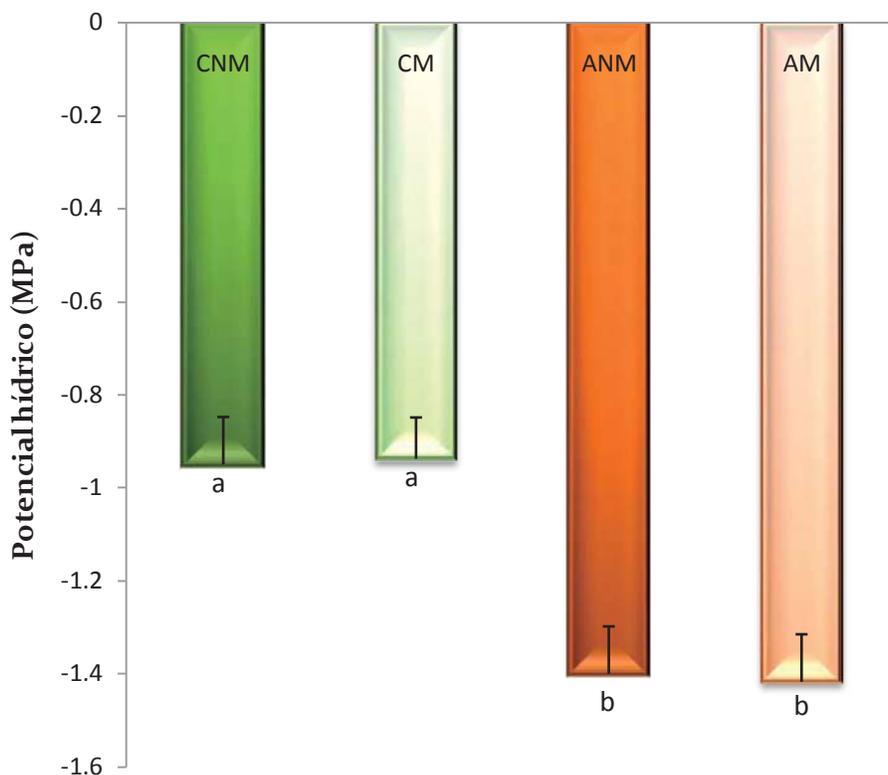


FIGURA 16. Efecto de la disponibilidad hídrica sobre el potencial hídrico en las plantas de fresa a 195 después de inoculación con *G. intraradices*. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones, letras iguales no representan diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

7.3.3.- Efecto del agobio hídrico y micorrización sobre el crecimiento

Las alteraciones en la distribución de la biomasa en las plantas dan como resultado modificaciones en el crecimiento, estos cambios son considerados como importantes mecanismos de aclimatación a las condiciones de agobio hídrico.

Una de las principales alteraciones en la morfología de las plantas expuestas al agobio hídrico es la disminución del área foliar. En nuestras condiciones experimentales, el área foliar de las plantas agobiadas tanto ANM como AM representadas por las barras de color naranja en la Figura 17, se vio disminuida por efecto de la baja disponibilidad de agua en el sustrato en comparación con los tratamientos control (CNM y CM). Esta reducción observada

en ANM y AM es una respuesta adaptativa para reducir la superficie transpiracional y así minimizar la pérdida de agua durante el agobio

Bajo condiciones de agobio (barra de color naranja claro) la micorriza no modificó el área foliar, sin embargo las plantas CM presentaron un área foliar mayor que las CNM aunque este aumento no fue significativo (Figura 17).

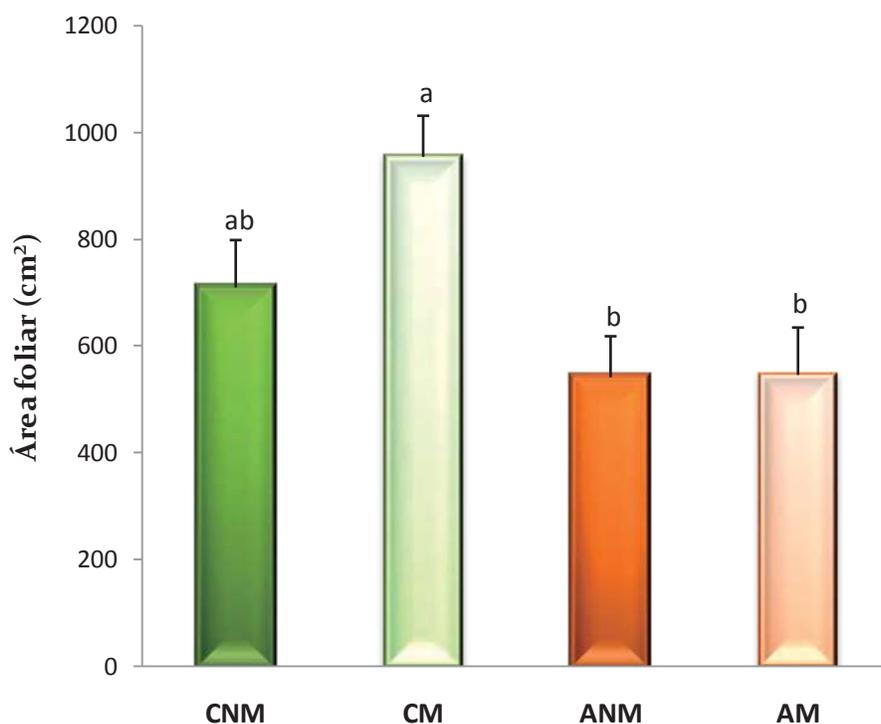


FIGURA 17. Efecto del agobio hídrico y micorrización en el área foliar de plantas de fresa. Las barras indican la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no representan diferencia estadística de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y CM: plantas agobiadas micorrizadas.

En las raíces de las plantas micorrizadas se observó un incremento en longitud tanto en las plantas AM (barra naranja claro) como en las CM (barra verde claro), este aumento no es estadísticamente significativo con respecto a su contraparte las no micorrizadas (CNM y ANM), lo que sugiere una mejora en la

eficiencia de absorción por parte de estas raíces micorrizadas y nuevamente es la baja disponibilidad hídrica la que limita el crecimiento de las raíces (Figura 18).

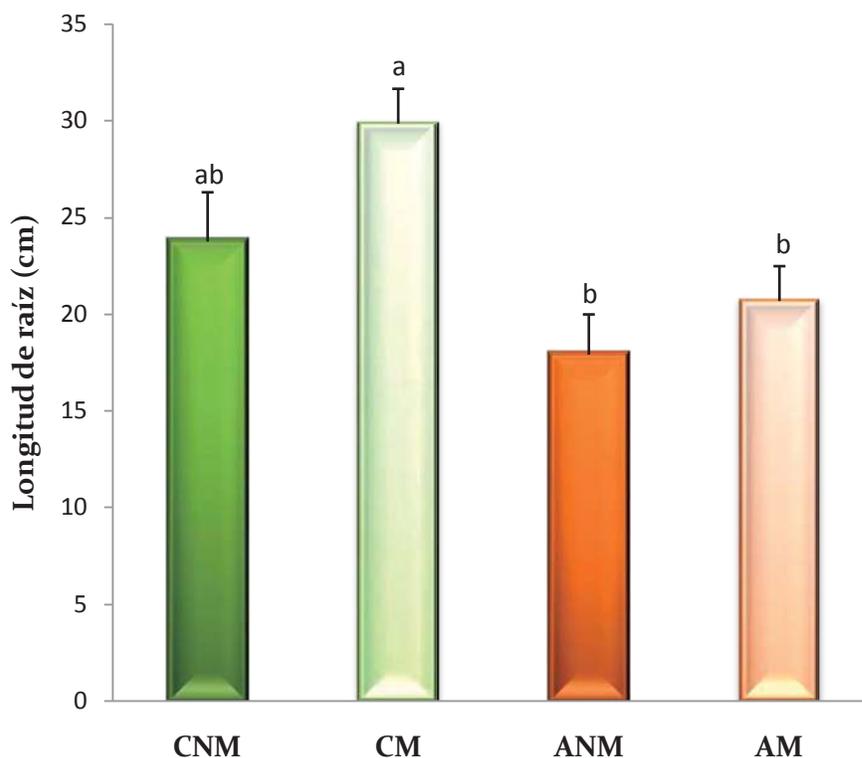


FIGURA 18. Longitud de la raíz de plantas de fresa. Los valores representados son la media de cuatro repeticiones. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

Al igual que el área foliar y la longitud de las raíces, la producción de biomasa disminuyó significativamente por efecto del agobio hídrico en los tratamientos ANM y AM. En las plantas AM no se observó un efecto de la inoculación con *G. intraradices* para ninguno de los órganos mostrados en la Figura 19 con respecto a ANM, sin embargo las plantas CM tendieron a incrementar significativamente la biomasa fresca de la raíz (las barras de color azul) y la biomasa de la parte aérea (barras de color verde) con respecto a las plantas CNM. Éste efecto positivo de las micorizas en las plantas CM también se

observó en el contenido de materia seca (Figura 20). El peso fresco y seco de la corona solo se afectó por la presencia del agobio hídrico como se puede observar en las barras de color magenta de las Figuras 19 y 20.

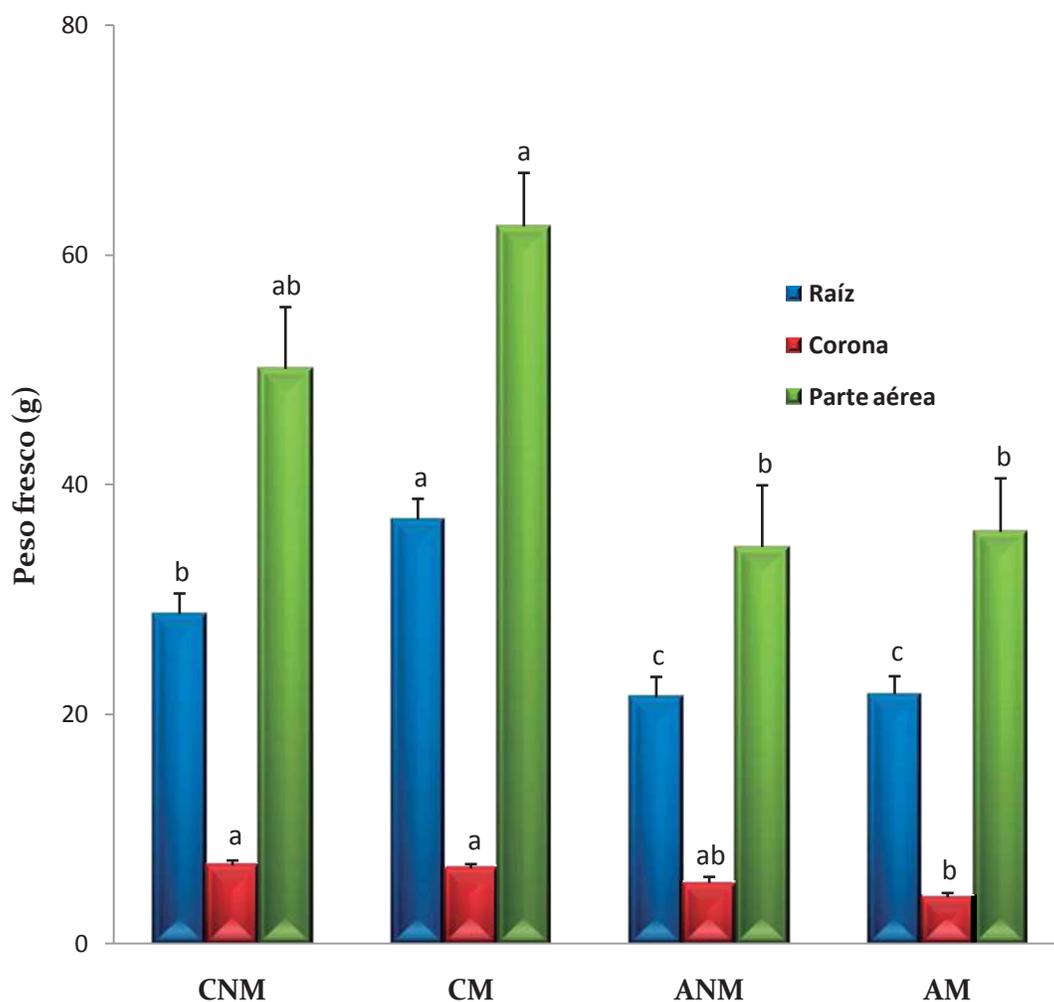


FIGURA 19.- Peso fresco de los diferentes órganos de la planta de fresa en etapa de fructificación a los 150 días de exposición a agobio hídrico moderado. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones, el análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada órgano. Letras iguales no representan diferencia estadística. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

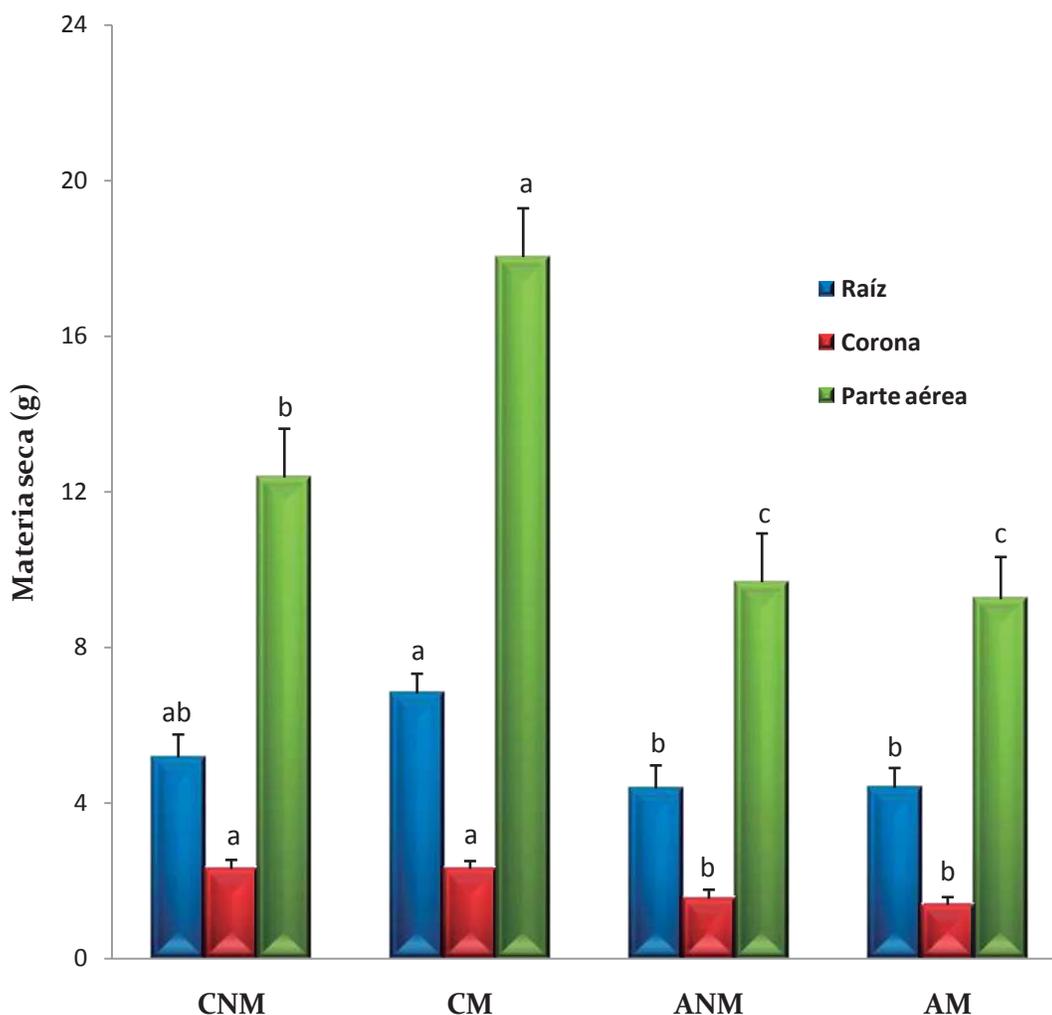


FIGURA 20. Acumulación de materia seca en los diferentes órganos de plantas de fresa. Las medias representadas son la medida de cuatro repeticiones, el análisis se realizó de manera independiente para cada órgano. Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

7.3.4.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el intercambio gaseoso

La habilidad de las plantas para regular el intercambio de gases a través de los estomas permite controlar las relaciones hídricas y la asimilación de carbono, y a su vez la apertura del poro estomático refleja un compromiso entre los requerimientos para la fotosíntesis y la disponibilidad de agua (Jarvis y col. 1999).

Las variables medidas en relación al intercambio gaseoso fueron fotosíntesis, conductancia y transpiración, y los resultados son mostrados en la Tabla 2. Como se puede observar todos los tratamientos fueron inhibidos significativamente por el agobio hídrico. Los resultados obtenidos de intercambio gaseoso no se vieron afectados por la presencia de la micorriza ni los tratamientos control ni los de agobio

Tabla 2. Efecto de la baja disponibilidad de agua y micorrización sobre la fotosíntesis, conductancia y transpiración en plantas de fresa.

	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Conductancia ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		Transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
	Control	Agobio	Control	Agobio	Control	Agobio
No micorrizada	8.535ab	6.840b	0.150a	0.063b	5.375a	2.400b
Micorriza	9.940a	6.363b	0.145a	0.057b	5.357a	2.510b

Cada valor es la media de cuatro repeticiones. El análisis se realizó de manera independiente para cada variable, letras iguales no representan diferencia estadística (LSD, $P \leq 0.05$).

Las plantas ANM y AM redujeron la transpiración más del 50%, esto con la finalidad de evitar al máximo la pérdida de agua, a pesar de esto la fotosíntesis de las plantas ANM no se afectó tanto como en los resultados del experimento preliminar donde fue significativamente menor que AM. En estos resultados apenas y presentaron una reducción de casi el 25% al igual que las AM.

7.3.5.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de ácido abscísico glucosilado

El ABA como se sabe suele incrementarse en respuesta a una baja disponibilidad de agua en el sustrato, sin embargo en el presente trabajo esta hormona fue identificada en forma conjugada con una glucosa. En esta forma se conoce que funciona solo como una molécula señal, pero de igual manera responde al agobio hídrico.

En la Figura 21 se muestra en las barras de color azul el contenido de ABA-GE en las raíces de las plantas de fresa y se puede observar como los tratamientos micorrizados (CM y AM) presentaron contenidos significativamente más altos que los no micorrizados (CNM y ANM). La concentración interna de esta hormona también se estimuló por la exposición al agobio hídrico, como se muestra en ANM y AM.

La corona de las plantas de fresa es considerada como un órgano de paso y puede indicar si está ocurriendo un transporte de ABA-GE desde las raíces hacia las hojas. En la Figura 21 se puede observar que la barra de color magenta que corresponde a AM representa una concentración significativamente mayor que el resto de los tratamientos, lo que puede indicar que esta hormona está siendo movida hacia las hojas por la corriente xilemática.

En las hojas (barras de color verde) no existe diferencia estadística entre las concentraciones de los diferentes tratamientos, se esperaría que AM presentara una mayor concentración de ABA puesto que fue el tratamiento que presentó mayor concentración en la corona.

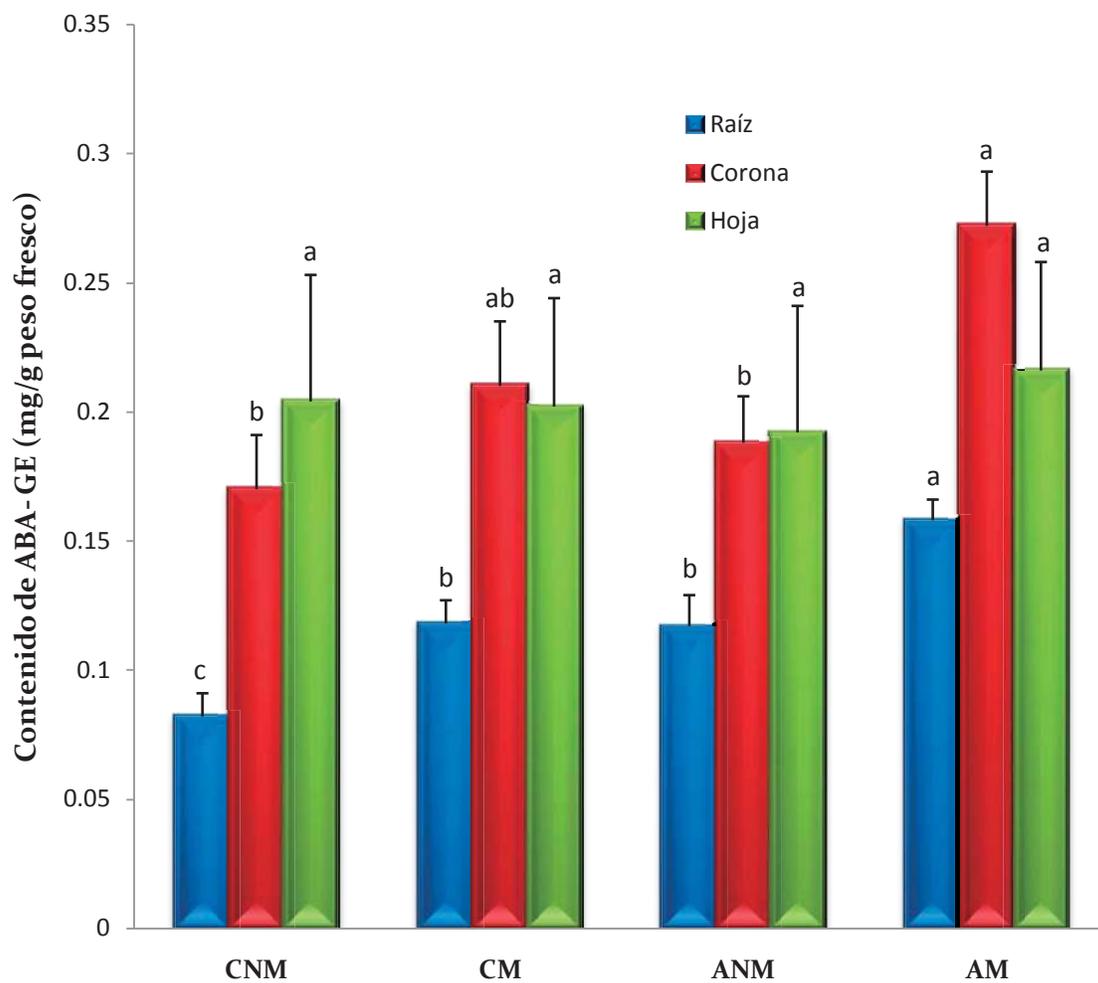


FIGURA 21. Contenido de ácido abscísico en los diferentes órganos de las plantas de fresa. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. El análisis se realizó de manera independiente para cada órgano. Letras iguales no son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

7.3.6.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en la acumulación de carbohidratos solubles como osmolitos orgánicos en plantas de fresa

Como se mencionó en los antecedentes la acumulación de osmolitos es un mecanismo para contrarrestar los efectos del agobio hídrico, los carbohidratos solubles son considerados los más importantes ya que pueden participar en el ajuste osmótico así como osmoprotección de membranas y proteínas.

En este estudio se determinó el contenido de carbohidratos solubles presentes en hojas, coronas y raíces en plantas de fresa CNM, CM, ANM y AM, para evaluar la contribución de la micorriza en la adaptación de las plantas al agobio hídrico.

a) Carbohidratos solubles en hojas de plantas de fresa

Los carbohidratos que fueron identificados en hoja fueron nueve: arabinosa, xilosa, lixosa, manosa, glucosa, galactosa, sorbosa, fructosa y sacarosa. Las plantas AM (barra naranja claro) fueron las que presentaron el mayor contenido de carbohidratos solubles totales (Figura 22), de acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza, lo que sugiere un efecto debido a la presencia del agobio hídrico y a la micorriza.

En la Figura 22 se puede observar que las plantas ANM (barra naranja oscuro) incrementaron el contenido de carbohidratos totales como respuesta al agobio en comparación con las CNM (barra verde oscuro), pero este incremento es significativamente menor que en AM. Con estos resultados se puede deducir que bajo condiciones de agobio hídrico la micorriza favorece la acumulación de carbohidratos solubles en las hojas de plantas de fresa.

La sacarosa fue el principal carbohidrato que se incrementó por la presencia de la micorriza y del agobio hídrico, como se observa en la Figura 23, las plantas AM incrementaron 16.6 veces el contenido de sacarosa en comparación con las CNM. La sola presencia de la micorriza en CM hizo que se

incrementara 6.7 veces la concentración de sacarosa en comparación con las plantas CNM.

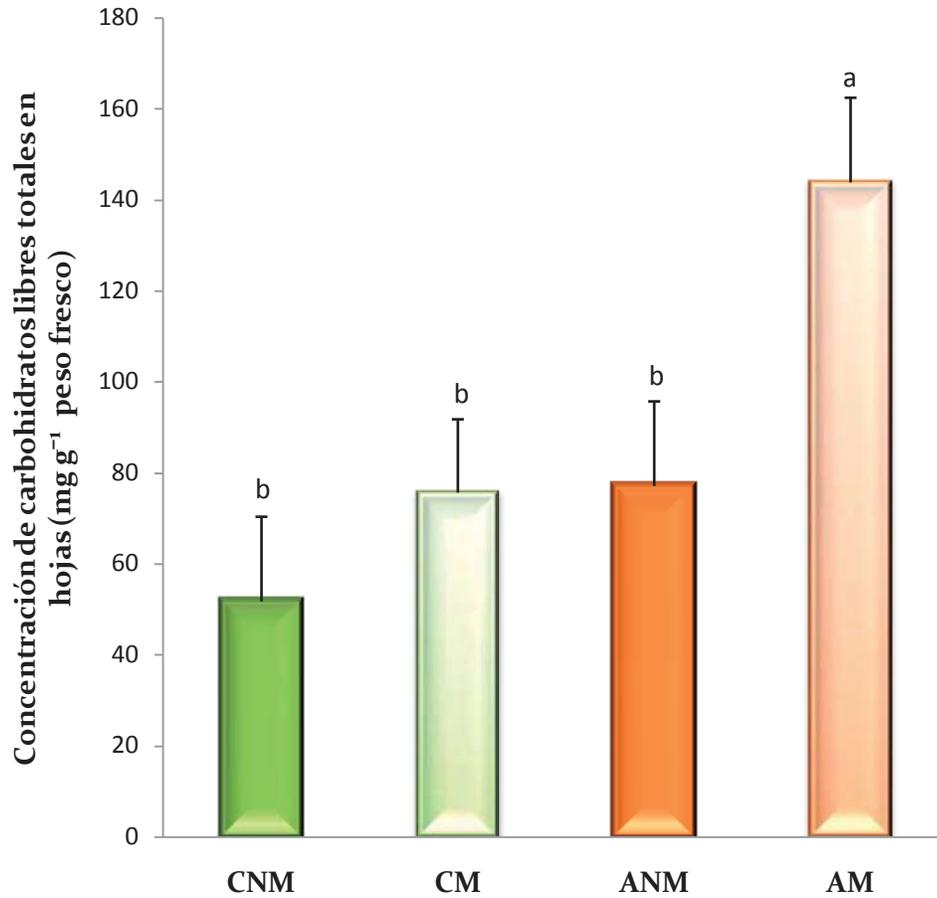


FIGURA 22. Contenido de carbohidratos libres totales en hoja. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

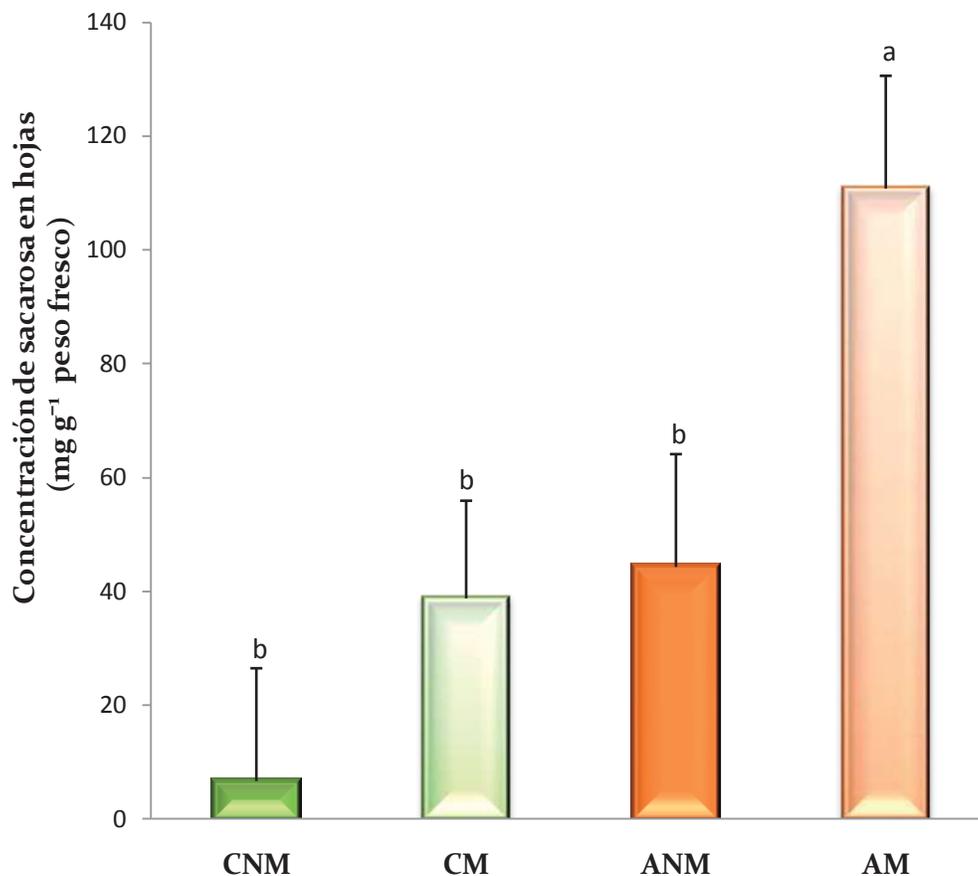


FIGURA 23. Contenido de sacarosa en hojas. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

La glucosa presentó el efecto contrario al encontrado en sacarosa, su concentración en hojas disminuyó con la presencia del agobio hídrico y de la micorriza (Figura 24). En ausencia del agobio el contenido de glucosa tendió a incrementarse en las plantas CNM; respecto al contenido de fructosa este no se modificó entre los tratamientos (Figura 24).

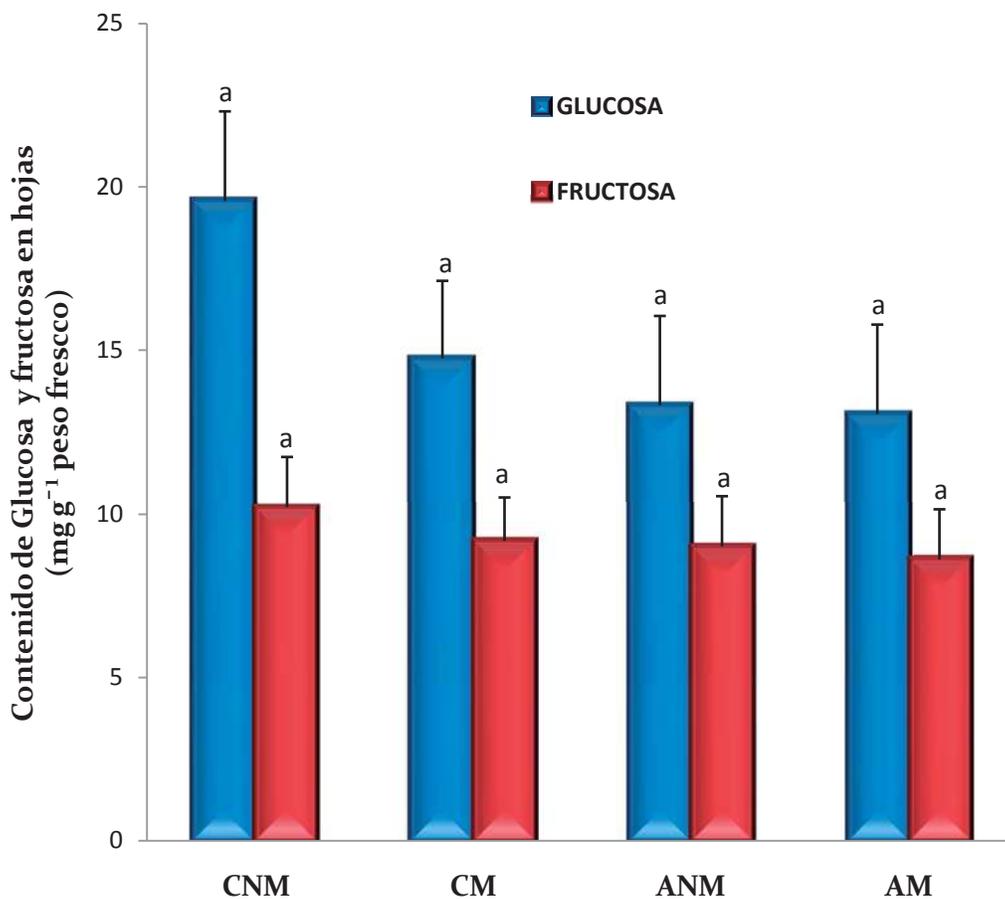


FIGURA 24. Contenido de glucosa y fructosa en hojas. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

El contenido de arabinosa, xilosa y sorbosa no presentó diferencia entre los tratamientos, la concentración de galactosa disminuyó en los tratamientos ANM y AM por la exposición al agobio hídrico. La lixosa y la manosa presentaron la misma tendencia de la glucosa a disminuir por efecto de los factores establecidos en el experimento (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido de carbohidratos solubles minoritarios en hojas de plantas de fresa

Carbohidratos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Arabinosa	0.509a	0.409a	0.381a	0.390a
Xilosa	0.190a	0b	0.160a	0.224a
Lixosa	0.700a	0.327b	0.225b	0.272b
Manosa	2.869a	2.046b	2.059b	2.471ab
Galactosa	0.150a	0.125a	0.091b	0.093b
Sorbosa	7.182a	6.257a	5.657a	5.651a

Los carbohidratos están expresados en mg g⁻¹ peso fresco y representan la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato, letras iguales no representan diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$, LSD). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

b) Carbohidratos solubles en corona de plantas de fresa

La corona de las plantas de fresa es considerada un órgano de paso, sin embargo se sabe que también es un órgano de almacén de carbohidratos (Macías-Rodríguez y col., 2002). En este órgano los carbohidratos más abundantes fueron sacarosa, glucosa, fructosa y sorbosa, en ese orden de importancia; las plantas AM fueron las que presentaron las concentraciones significativamente mayores de glucosa y fructosa, mientras que la sacarosa y la sorbosa no difirieron significativamente entre tratamientos. La arabinosa presentó una tendencia a incrementarse por efecto de la micorriza (Tabla 4).

La sacarosa no presentó diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo fue el más abundante en la corona, principalmente de las plantas ANM. Esta concentración alta de sacarosa puede deberse a que en condiciones de agobio hídrico, este carbohidrato tiene más demanda en la raíz o que necesita acumularse para retener una mayor cantidad de agua en la corona.

A pesar de la diferencias arriba mencionadas el contenido de carbohidratos libres totales en corona no difirió entre los tratamientos.

Tabla 4. Contenido de carbohidratos solubles en corona de plantas de fresa

Carbohidratos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Arabinosa	0.415b	0.480ab	0.396b	0.583a
Xilosa	0.313a	0.270a	0.283a	0.262a
Lixosa	0.835a	0.833a	0.793a	1.095a
Manosa	0.299a	0.280a	0.295a	0.284a
Glucosa	10.082b	11.693b	10.485b	16.840a
Galactosa	0.128b	0.198a	0.102b	0.120b
Sorbosa	5.206a	4.329a	6.075a	10.775a
Fructosa	6.486b	5.257b	6.766b	10.383a
Sacarosa	86.781a	69.091a	119.203a	79.117a
Sumatoria	111.229a	92.833a	145.359a	118.520a

Los carbohidratos están expresados en mg g⁻¹ peso fresco y cada valor representa la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato ($P \leq 0.05$, LSD), valores con igual letra son estadísticamente iguales. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

c) Contenido de carbohidratos solubles en la raíz de plantas de fresa

El contenido de carbohidratos solubles totales en la raíz disminuyó significativamente en los tratamientos micorrizados (CM y AM, barras verde claro y naranja claro respectivamente) (Figura 25). El agobio hídrico en plantas ANM también favoreció la disminución del contenido de carbohidratos libres totales en raíz (barra naranja oscuro) con respecto a CNM (barra verde oscuro).

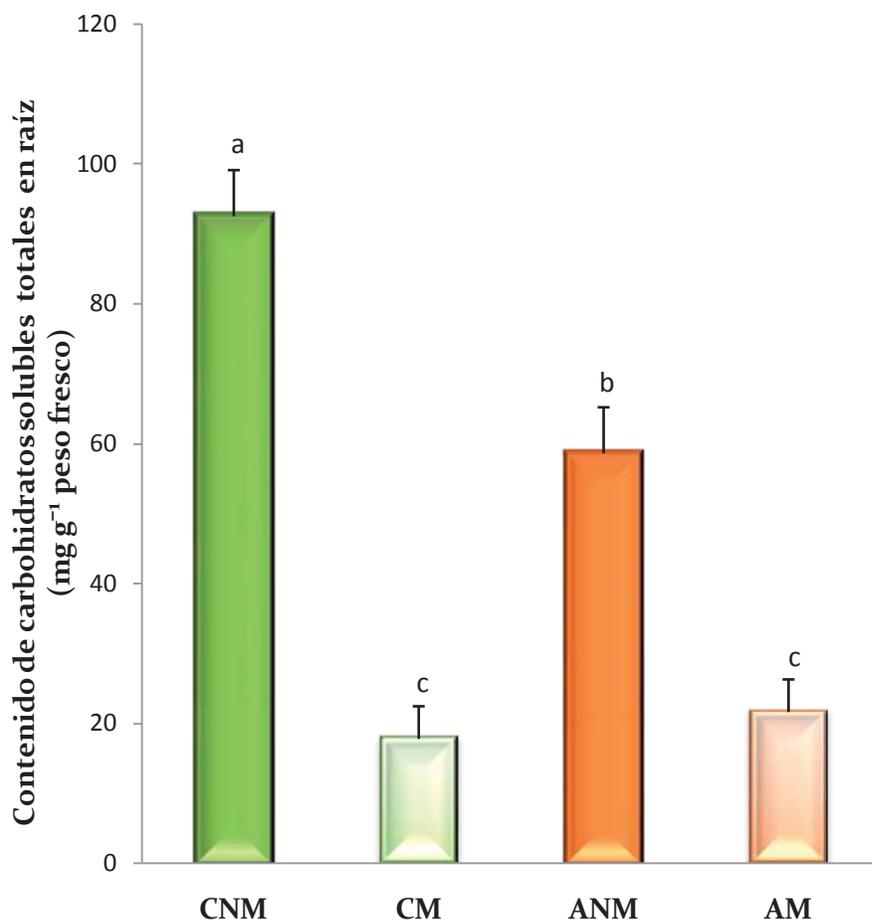


FIGURA 25. Contenido de carbohidratos libres totales en raíz. Cada valor representa la media de cuatro repeticiones. Valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

En plantas CNM y ANM la sacarosa fue el carbohidrato más abundante representando el 88 y 75.8% de los carbohidratos libres totales, respectivamente (Figura 26). En contenido de glucosa, fructosa y sorbosa presentaron un comportamiento inverso a la sacarosa, la concentración de estas hexosas se incrementó significativamente por efecto de la exposición al agobio hídrico y por la presencia de la micorriza (Figura 27 y Tabla 5).

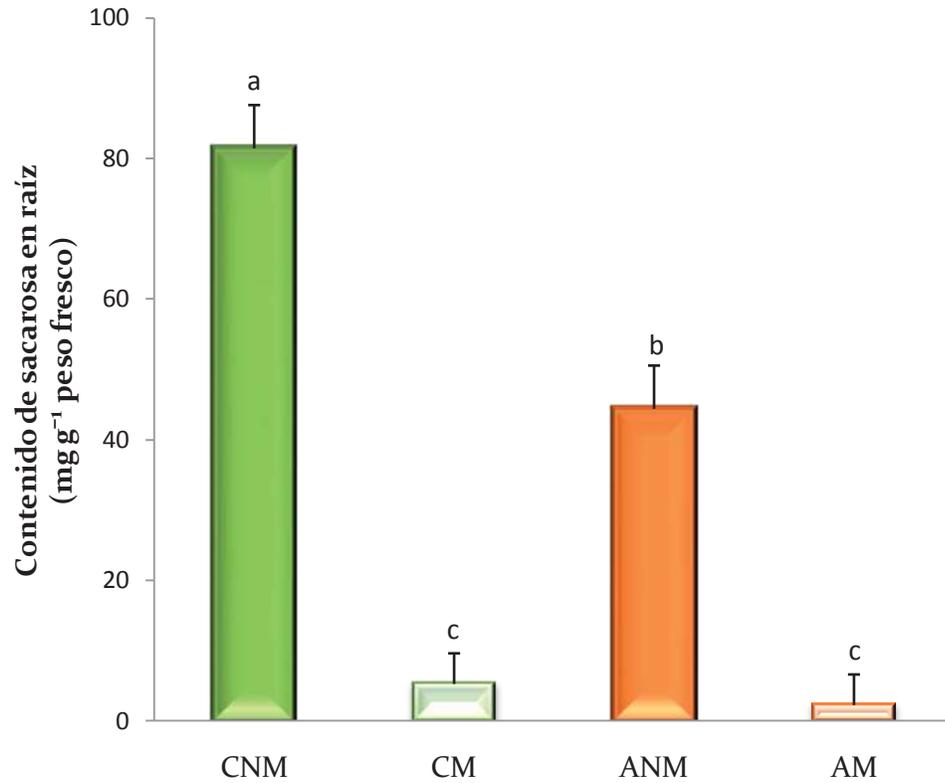


FIGURA 26. Contenido de sacarosa en raíz. Cada valor representa la media de cuatro repeticiones. Valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

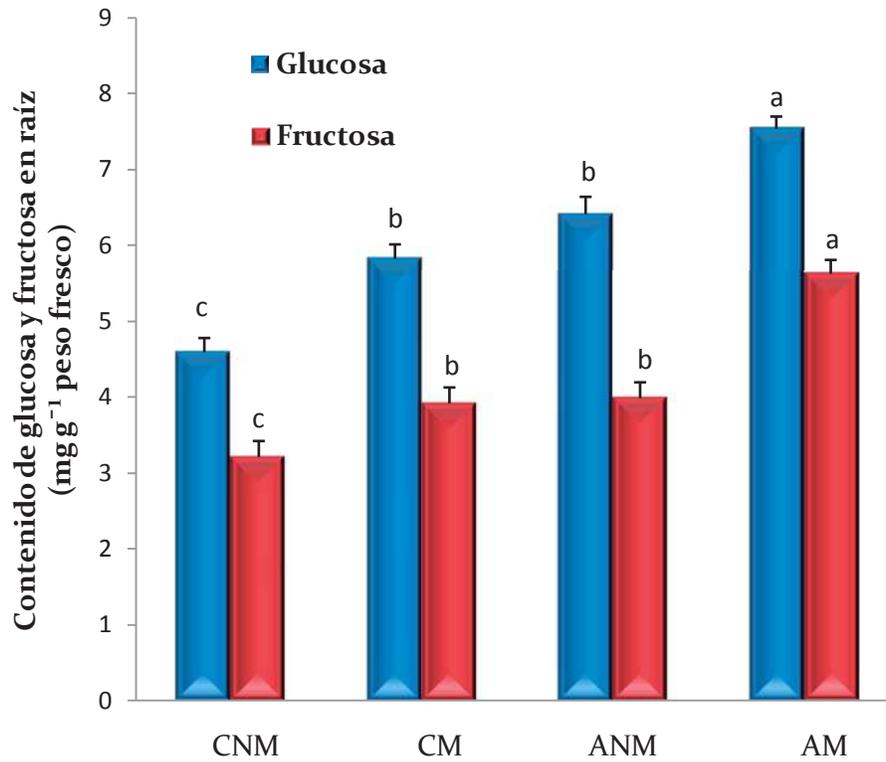


FIGURA 27. Contenido de glucosa y fructosa en raíz. Cada barra representa la media de cuatro repeticiones. Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

Tabla 5. Contenido de carbohidratos solubles en raíz

Carbohidratos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Arabinosa	0.176a	0.185a	0.200a	0.238a
Xilosa	0.192a	0.155a	0.177a	0.158a
Lixosa	0.159a	0.108b	0.112b	0.143b
Manosa	0.048b	0 c	0.066ab	0.074a
Galactosa	0.092a	0.094a	0.094a	0.104a
Sorbosa	2.706b	3.383b	3.509b	4.994a
Sumatoria	92.534a	17.766c	58.606b	21.607c

Los valores están representados en mg g⁻¹ de peso fresco y cada valor representa la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada carbohidrato, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

7.3.7.- Efecto del agobio hídrico y micorrización en el contenido de aminoácidos libres

Los aminoácidos libres encontrados en las plantas de fresa bajo condiciones de agobio hídrico y micorrización fueron diez y los más abundantes en los órganos analizados fueron Asp/Asn y Glu/Gln. También se identificó el aminoácido que se tiene reportado como importante en varias respuestas a agobios abióticos, la prolina (Ruiz-Lozano, 2003).

La prolina es un aminoácido que se acumula en la mayoría de los órganos sometidos a agobio hídrico, junto con los carbohidratos, y es rápidamente metabolizada después de la recuperación del agobio. La acumulación de prolina es principalmente por síntesis de novo pero también es producto de la degradación de proteínas, este aminoácido actúa como osmoprotector, como fuente para energía para regular los potenciales redox, como radical hidroxilo, como soluto protege las macromoléculas contra desnaturalización y como medio de acidificación en la célula (Kishor y col., 1995 citado en Ruiz-Lozano 2003).

a) Aminoácidos libres identificados en hojas de plantas de fresa

El contenido de aminoácidos libres totales en hoja se incrementó por efecto del agobio hídrico, de manera que ANM y AM presentaron los valores más altos de aminoácidos libres, el incremento por exposición al agobio hídrico ha sido reportado anteriormente en varios trabajos; este efecto también se observó para Asp/Asn. El contenido de Glu/Gln en hoja se incrementó significativamente con la presencia de la micorriza (CM y AM) (Tabla 6).

Como se mencionó anteriormente la prolina es considerada como un osmolito de respuesta a diferentes factores ambientales, incluyendo la baja disponibilidad de agua en el sustrato. En nuestras condiciones de trabajo, el contenido de prolina disminuyó significativamente con la presencia de la micorriza en CM y AM (Tabla 6), en la literatura se menciona que la prolina presenta concentraciones bajas en hojas de plantas micorrizadas en comparación con no micorrizadas, esto se atribuye a que las plantas que se encuentran colonizadas con HMA son más resistentes al agobio hídrico. En la valina, isoleucina y fenilalanina no se encontraron diferencias entre los diferentes tratamientos, además en la literatura no se reporta que respondan al agobio hídrico.

Tabla 6. Contenido de aminoácidos libres en hoja de planta de fresa

Aminoácidos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Valina	0.010a	0.010a	0.011a	0.012a
Isoleucina	0.011a	0.012a	0.011a	0.012a
Serina	0.061b	0.05b	0.158a	0.127ab
Prolina	0.064ab	0.041b	0.082a	0.043b
Asp/Asn	0.091c	0.117c	0.265b	0.413a
Glu/Gln	0.689c	0.869b	0.082d	1.330a
Fenilalanina	0.020a	0.057a	0.018a	0.033a
Sumatoria	0.944 b	1.060b	1.642a	2.020a

Los valores están expresados en mg g⁻¹ peso fresco y representan la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido ($P \leq 0.05$, LSD), valores con igual letra no son estadísticamente diferentes. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

b) Contenido de aminoácidos libres en corona de plantas de fresa

En corona el contenido de aminoácidos libres totales se duplicó en todos los tratamientos excepto en AM (Tabla 7), lo cual se debió principalmente a que las concentraciones de Asp/Asn se incrementaron aproximadamente 10 veces con respecto al contenido de estos en las hojas.

El contenido de prolina aumentó significativamente por el agobio hídrico, en este aminoácido la micorrización no tuvo un efecto como en el caso de las hojas. La concentración de triptófano es sensible a la exposición de agobio y de HMA, ya que fue en CNM donde se determinó la mayor concentración. El resto de los aminoácidos que se muestran en la tabla 7 no se alteraron entre tratamientos.

Tabla 7. Contenido de aminoácidos libres en corona de planta de fresa

Aminoácidos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Valina	0.056a	0.071a	0.056a	0.047a
Isoleucina	0.069a	0.100a	0.088a	0.073a
Serina	0.067a	0.128a	0.147a	0.136a
Prolina	0.076b	0.046b	0.158a	0.162a
Asp/Asn	1.251a	1.049a	2.004a	1.317a
Glu/Gln	0.290c	0.467b	0.635a	0.407b
Fenilalanina	0.140a	0.071b	0.076b	0.052b
Triptofano	0.174a	0.245a	0.100a	0.103a
Sumatoria	2.197a	2.261a	3.149a	2.266a

Los valores están expresados en mg g⁻¹ peso fresco y representan la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido ($P \leq 0.05$, LSD), valores con igual letra no son estadísticamente diferentes. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

c) Contenido de aminoácidos libres en raíz de plantas de fresa

El contenido de aminoácidos totales en la raíz esta directamente influenciado por la exposición al agobio hídrico, ya que es en ANM y AM donde se observó la concentración más alta (Tabla 8); en este órgano la concentración de aminoácidos libres fue mayor que en hoja y corona, este incremento se debe a que el contenido de Asp/Asn incrementó significativamente y representó el 87% del total de los aminoácidos presentes en hoja.

Tabla 8. Contenido de aminoácidos libres en raíz de planta de fresa

Aminoácidos	Tratamientos			
	CNM	CM	ANM	AM
Valina	0.020b	0.023ab	0.032a	0.026ab
Isoleucina	0.026b	0.029b	0.040a	0.033ab
Serina	0.036b	0.040b	0.046ab	0.053a
Prolina	0.009c	0.006c	0.016b	0.020a
Asp/Asn	2.717b	2.875ab	3.756a	3.397ab
Glu/Gln	0.151b	0.162b	0.273a	0.270a
Fenilalanina	0.016a	0.021a	0.024a	0.025a
Triptofano	0.038a	0.057a	0.057a	0.057a
Sumatoria	3.020b	3.241b	4.244a	3.882ab

Los valores están expresados en mg g^{-1} peso fresco y representan la media de cuatro repeticiones. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada aminoácido ($P \leq 0.05$, LSD), valores con igual letra no son estadísticamente diferentes. CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

En las raíces de plantas AM se detectó el mayor contenido de prolina, cabe mencionar que en éste órgano la concentración de prolina en todos los tratamiento fue muy baja en comparación con la detectada para hoja y corona.

7.3.8.- Acumulación de nitratos como osmolitos inorgánicos en plantas de fresa

Existen varios reportes en la literatura que indican que la micorriza favorece la absorción de nitratos por la planta, mejorando así su estado nutricional (Ruiz-Lozano, 2003). Algunos iones inorgánicos como el calcio y el potasio se han reportado que tienen función de osmolitos y se cree que los nitratos cumplen también con esta función.

En la Figura 28 se muestran los resultados obtenidos de contenido de nitratos en los diferentes órganos analizados de las plantas de fresa.

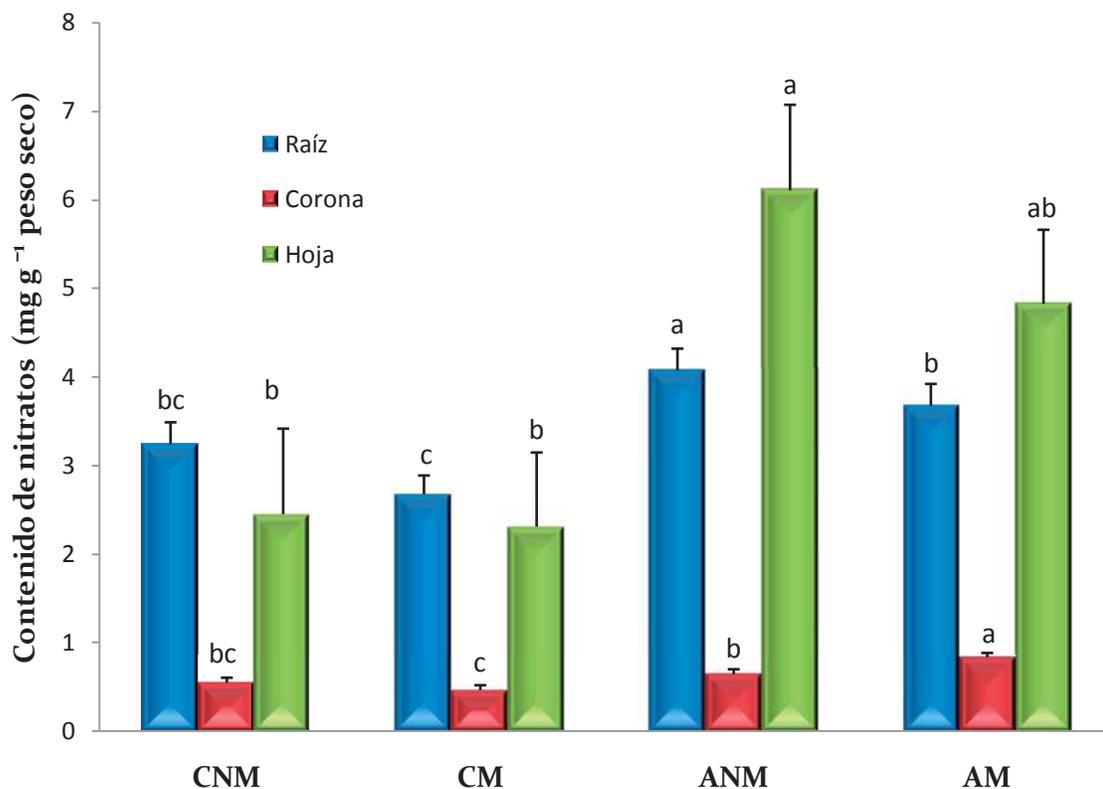


FIGURA 28. Contenido de nitratos en los diferentes órganos de plantas de fresa. El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada órgano y cada barra representa la media de cuatro repeticiones, valores con igual letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba LSD ($P \leq 0.05$). CNM: plantas control no micorrizadas, CM: plantas control micorrizadas, ANM: plantas agobiadas no micorrizadas y AM: plantas agobiadas micorrizadas.

Los niveles de nitrato reductasa disminuyen con el agobio hídrico y esto conlleva a una disminución en el flujo de nitratos del suelo hacia la planta (Ruiz-Lozano,2003). En nuestros resultados se observa que las concentraciones de nitratos en la raíz (barras azules) se incrementan con la exposición al agobio hídrico (ANM y AM), este incremento repercute en las concentraciones de corona y hoja.

8.- DISCUSIÓN

8.1.- Experimento preliminar

Las plantas ANM del experimento preliminar perdieron agua más rápido en el sustrato que las plantas AM durante la suspensión de riego (Figura 11), esto sugiere que el micelio externo de la micorriza favorece la retención del agua en el sustrato, ya sea porque la retiene en su interior o porque promueve la compactación del sustrato mediante la formación de agregados entre el micelio y el sustrato impidiendo de esta manera una rápida evaporación del agua.

Esta pérdida de agua más acelerada en las plantas ANM provocó que las plantas de fresa presentaran síntomas de marchitez más rápido que las AM (Figura 12); estos resultados concuerdan con los de Borkowska (2002), donde se reporta que las plantas de fresa micorrizadas después de cinco días de suspensión de riego tenían un contenido de agua significativamente mayor que las no micorrizadas y que a ese tiempo no presentaban síntomas de marchitez mientras que las no micorrizadas sí.

Es bien sabido que el agobio hídrico disminuye los procesos de intercambio gaseoso y en el experimento preliminar se pudo constatar esto. En la Figura 13 se observa como la fotosíntesis en ANM disminuyó más drásticamente que en AM, lo que sugiere que estas plantas cerraron más rápidamente los estomas para evitar una deshidratación en respuesta a la disminución del contenido de agua en el sustrato, mientras que las plantas micorrizadas percibieron de manera más lenta esta disminución.

Lo anterior puede ser comprobado por los resultados de fotosíntesis que se presentan en la Figura 15, donde se muestra que las plantas ANM a pesar de tener siete días sin riego presentaron una tasa fotosintética similar a los tratamientos control (CNM y CM) y las plantas ANM la disminuyeron significativamente. Con estos resultados se sugiere que la micorriza favorece la tasa fotosintética en condiciones de baja disponibilidad hídrica por una mejora del estado hídrico de la planta.

Los resultados que se obtuvieron en el experimento preliminar sirvieron de base para establecer un nivel de disponibilidad hídrica en la cual las plantas estuvieran en agobio hídrico sin presentar síntomas de marchitez y que además terminaran su ciclo de vida, en base a esto se decidió considerar el contenido de agua que presentaron las plantas a los siete días de suspensión de riego, lo que nos garantizó que las plantas no alcanzarían un agobio hídrico severo (Figura14).

8.2.- Experimento principal

En el experimento principal se observó que la colonización de las raíces por *G. intraradices* disminuyó por efecto del agobio (Figura15), de acuerdo con lo reportado por Niemi y Vestberg (1992) esta disminución en la colonización puede deberse a que el desarrollo del hongo, y por lo tanto las estructuras de reserva, se afectaron por la presencia de altas concentraciones de nutrimentos en el sustrato, particularmente fósforo. En nuestras condiciones de agobio hídrico cabe la posibilidad de que haya habido acumulación de sales, ya que no se adicionaron cantidades de agua suficientes para permitir el drenaje en el sustrato, lo que posiblemente afectó la colonización del hongo.

La baja disponibilidad de agua en el sustrato provocó la disminución del potencial hídrico en las plantas agobiadas (ANM y AM) (Figura 16), esto se debe a que a la par que el contenido de agua en el sustrato disminuye, el potencial hídrico del suelo se vuelve más negativo de manera que el potencial hídrico de las plantas también disminuye para mantener un gradiente favorable para el flujo de agua del suelo a las raíces. El mecanismo más importante por el cual se lleva a cabo este efecto es conocido como ajuste osmótico, es un decremento en el potencial osmótico por acumulación activa de iones orgánicos o solutos compatibles, y es una respuesta temprana de las plantas al agobio hídrico (Kerepesi y col., 1998; Ruiz-Lozano, 2003).

Los resultados de potencial hídrico en las plantas de fresa no se afectaron por la presencia de la micorriza (Figura 16), de manera que con lo obtenido en este parámetro no se puede considerar que el HMA mejoró el estado hídrico de las plantas CM y AM, sin embargo Hernández-Sebastià y col. en 1999 reportaron que *Glomus intraradices* sí mejora el estado hídrico de las plantas. Cabe mencionar que nuestras plantas se encontraban en etapa de fructificación y establecidas en invernadero, mientras que el trabajo de Hernández-Sebastià y col. (1999) se llevo a cabo en plántulas establecidas *in vitro* y en etapa vegetativa.

La disminución del área foliar por efecto del agobio hídrico como se muestra en la Figura 17, fue observada anteriormente por Klamkowski y Treder (2006) en plantas de fresa (cv. Salut) cuando redujeron el riego al 50% de la capacidad de campo, además también observaron que los estomas se redujeron en número y tamaño como estrategia para evitar la pérdida de agua.

Aunque la micorriza en variables como el estado hídrico no haya tenido un efecto directo, en el área foliar se observó un incremento no significativo en las plantas CM. En las plantas AM este efecto no fue evidente. El incremento en el área foliar de plantas no agobiadas ya había sido reportado antes para tres cultivares de plantas de fresa por Paraskevopoulou-Paroussi y col. (1997), quienes encontraron que además del área foliar, el número de hojas, coronas y estolones también fue más alto en plantas micorrizadas que en no micorrizadas.

Otra variable beneficiada por la presencia de la micorriza fue la longitud de las raíces, esta afectó tanto a las plantas AM como en las CM, aunque este aumento no fue estadísticamente significativo sugiere una mejora en la eficiencia de absorción por parte de estas raíces micorrizadas.

En el trabajo realizado por Klamkowski y Treder (2006) no se observaron diferencias en el peso fresco ni en longitud de las raíces de plantas agobiadas con respecto a las control, sin embargo en el presente trabajo se observó una disminución significativa en la longitud de las raíces de las plantas ANM y AM por efecto de la baja disponibilidad de agua en el sustrato con respecto a las control

(CNM y CM) (Figura 18), esto repercutió directamente en el peso fresco y seco de las raíces como se muestra en la Figuras 19 y 20.

La eficiencia en absorción por parte de las raíces está directamente relacionada con una mayor acumulación de biomasa, en un trabajo realizado por Borkowska (2002) se reportó que la micorriza favorece el crecimiento de las plantas de fresa al menos en los primeros estadios de desarrollo. En nuestros resultados este efecto benéfico de las micorrizas se presentó en raíces y parte aérea de las plantas CM tanto para peso fresco (Figura 19) como para peso seco (Figura 20).

El agobio hídrico redujo todos los parámetros medidos relacionados con el intercambio gaseoso (Tabla 2). La magnitud en que la fotosíntesis decreció indica que el aparato fotosintético fue afectado moderadamente por la baja disponibilidad de agua en el sustrato. Si se compara el resultado obtenido en fotosíntesis con el de Klamkowski y Treder (2006), se puede deducir que el cultivar "Aromas" es más resistente a la sequía que el cultivar "Salut", ya que a pesar de haber sido expuesto a una menor cantidad de agua en el sustrato (34-38% de la capacidad de campo), la fotosíntesis fue mayor comparada con la obtenida para el cultivar "Salut", el cual fue sometido al 50% de la capacidad de campo. En condiciones normales de riego la fotosíntesis en ambos cultivares es similar.

En los parámetros medidos en relación al intercambio de gases, la micorriza no tuvo efecto alguno ni en las plantas agobiadas (ANM y AM) ni en las control (CNM y CM) (Tabla 2), estos resultados concuerdan con los que obtuvieron Ruiz-Lozano y Azcón (1995) (b) para *Lactuca sativa* cv. Romana inoculada con *Glomus fasciculatum*, pero cuando inocularon con *Glomus deserticola* observaron que se incrementaron el intercambio de gases y el uso eficiente del agua. Los autores concluyeron que las especies de HMA difieren en eficiencia para la absorción y transporte de agua.

Los valores de conductancia que se muestran en la Tabla 2 se encuentran por encima del umbral reportado por Medrano y col., (2002), los autores reportaron un valor de $0.05 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ como umbral de déficit hídrico para uva. De acuerdo a lo anterior se puede sugerir que la disminución de la fotosíntesis se debe al cierre estomático como factor principal, ya que cuando se obtiene una conductancia menor a la reportada por Medrano y col. (2002) las limitaciones de la fotosíntesis se deben a factores no estomáticos.

La disminución de la fotosíntesis en condiciones de baja disponibilidad de agua involucra mecanismos a nivel estomático y no estomático (bioquímicos) (Escalona y col., 1999). Cuando las plantas son expuestas a una baja disponibilidad de agua en el suelo, la conductancia estomática y crecimiento de las hojas puede ser regulado por señales químicas que viajan a larga distancia, desde la raíz hasta el brote, independientemente del estado hídrico de la parte aérea (Sobeih y col., 2004).

Davies y Zhang (1991) argumentaron que un importante componente de la respuesta al agobio hídrico de muchas plantas podría ser el ácido abscísico (ABA) moviéndose como señal desde la raíz hasta los brotes para regular la fisiología y desarrollo como una función del estado y/o disponibilidad de agua en el suelo. El cierre de los estomas de plantas expuestas al agobio hídrico puede ser mediado por un rápido incremento en la síntesis de ABA en la raíz y carga de este en el xilema desde las raíces y llevado a la parte aérea por la corriente de transpiración (Blanke y Cooke, 2004).

En este estudio se observó un incremento significativo del contenido de ABA-GE en las raíces de las plantas por efecto de la exposición al agobio hídrico y por colonización del hongo (Figura 21). Por lo que se observó, la micorriza parece estimular la síntesis de ABA-GE en la raíz así como su transporte hacia la parte aérea ya que en la corona la concentración de este compuesto fue mucho mayor en los tratamientos no micorrizados (CNM y ANM).

Las plantas AM presentaron la concentración más alta de ABA-GE en raíz y corona, lo que sugiere que en este tratamiento no solo la micorriza participó en la retención del agua en la planta sino que el ABA-GE estaba siendo activado para estimular el cierre estomático. Esto puede ser más claro si se compara la fotosíntesis de las plantas CNM y AM (Tabla 2), estos tratamientos presentaron concentraciones similares de ABA-GE en hojas y sin embargo en AM se presentó una reducción del 21% en fotosíntesis y 50% en transpiración, lo que indica un cierre estomático eficiente para evitar la pérdida de agua.

El ajuste osmótico permite mantener el turgor y los procesos que dependen de él, tales como la expansión celular y crecimiento, apertura estomática y fotosíntesis, así como mantener un potencial hídrico favorable para la entrada de agua a la planta. Los solutos que participan en el ajuste osmótico son iones inorgánicos (por ejemplo nitratos), compuestos cargados como la prolina y carbohidratos solubles como sacarosa (Ruiz-Lozano, 2003; Hinch y Hagemann, 2004).

Los cambios en la concentración de carbohidratos son de particular importancia porque tienen una relación directa con procesos fisiológicos como fotosíntesis, traslocación y respiración. Entre los carbohidratos solubles, la sacarosa, glucosa y fructosa tienen un potencial en la adaptación al agobio hídrico (Kerepesi y Galiba, 2000; Garg y col. 2002). Los carbohidratos solubles (principalmente sacarosa) protegen membranas contra la deshidratación por inducción de la formación de una película a temperatura fisiológica y los componentes polihidroxiados pueden reemplazar el agua estructural, para que un compuesto pueda tener la función de proteger membranas debe presentar dos propiedades importantes: una efectiva depresión de la temperatura de transición de la fase lipídica y la habilidad para vitrificar (Kerepesi y col., 1998; Hinch y Hagemann, 2004).

Las diferentes especies de plantas varían en sensibilidad y respuesta al decremento en el potencial hídrico causado por una baja disponibilidad de agua en el sustrato, en el caso particular de la fresa el contenido de carbohidratos solubles

totales en las hojas de plantas ANM y AM se incrementó por efecto de la exposición al agobio hídrico (Figura 22).

El comportamiento de los resultados encontrados en el contenido de carbohidratos totales en hoja de plantas agobiadas (ANM y AM) en este trabajo coinciden con los reportados por Kerepesi y col. (1998) para cuatro cultivares de trigo, sin embargo ellos reportaron que la reacción al agobio hídrico en tallos y hojas fue el incremento de monosacáridos mientras que en nuestro trabajo el carbohidrato que se incrementó fue la sacarosa principalmente (Figura 23). Las concentraciones de carbohidratos solubles totales en fresa fueron menores que las reportadas para trigo, esto podría deberse al estadio de desarrollo de la fresa (Fructificación).

De manera general los carbohidratos libres totales en hojas de fresa se afectaron por la presencia del agobio y de la micorriza, teniendo así un incremento del 28, 49 y 143% en CM, ANM y AM respectivamente, comparados con las plantas control no micorrizadas (CNM) (Figura 22). Con esto se sugiere que la micorriza favorece la acumulación de carbohidratos en las hojas, y en condiciones de agobio las concentraciones se incrementan significativamente para llevar a cabo un ajuste osmótico mejorando con ello el estado hídrico de las plantas de fresa.

Schellenbaum y col., (1998) observaron que las plantas de tabaco micorrizadas acumularon menos glucosa y fructosa en hojas y raíces que las no micorrizadas en condiciones de agobio hídrico, en nuestros resultados no se observó una diferencia significativa en el contenido de estos monosacáridos en hojas entre ANM y AM (Figura 24), pero en raíz la concentración fue mayor en AM (Figura 27). Resultados semejantes a los de Schellenbaum y col., (1998) se han reportado para rosa y chile (Augé, 2001).

La cantidad y distribución de los componentes en la corona es una indicación indirecta de la traslocación en actividad metabólica de los tejidos demanda durante el agobio hídrico (Kerepesi y Galiba, 2000). En los carbohidratos

analizados de la corona de plantas de fresa, la glucosa, fructosa y arabinosa se incrementaron en plantas AM (Tabla 4), lo que indica que bajo condiciones de agobio y en presencia de la micorriza estos monosacáridos tienen mayor demanda en las raíces, cuando la micorriza se encuentra ausente la sacarosa es más demandada por las raíces de plantas agobiadas, aunque cabe mencionar que la concentración de éste disacárido en corona no fue estadísticamente diferente de el resto de los tratamientos.

En las raíces de plantas de fresa el contenido de carbohidratos solubles totales disminuyó significativamente en los tratamientos micorrizados (CM y AM), dentro de los no micorrizados las plantas CNM presentaron la mayor concentración de carbohidratos solubles totales de la raíz (Figura 25).

La sacarosa es considerada como el principal carbohidrato involucrado en la tolerancia al agobio hídrico ya que tiene la habilidad de estabilizar proteínas, asistiendo el plegamiento de polipéptidos desnaturalizados por proteínas chaperonas, y tiene un efecto protector de lípidos de membrana durante la deshidratación mediante el reemplazo del agua para mantener los fosfolípidos en la fase líquido-cristalina (Kerepesi y Galiba, 2000; Hinch y Hagemann, 2004), permitiendo con esto un desarrollo adecuado de los principales procesos en la planta.

En raíz se observa que las concentraciones de sacarosa en las plantas micorrizadas (CM y AM) son significativamente menores que en las no micorrizadas (CNM y ANM) (Figura 26), esta diferencia puede ser explicada mediante dos propuestas, (a) la micorriza tiene un costo beneficio y necesita una fuente de carbono la cual es proporcionada por hexosas (glucosa y fructosa, componentes de la sacarosa), y además (b) en plantas micorrizadas sometidas a agobio hídrico la sacarosa se trasloca poco hacia la raíz por lo que se deduce que bajo estas circunstancias la sacarosa tiene efecto de osmolito y osmoprotector en la parte aérea mientras que en las raíces estos efectos son cubiertos por la glucosa y la fructosa, además de que cubren la demanda del hongo.

Los niveles de glucosa y fructosa en las raíces se incrementaron por el agobio y la micorriza, obteniéndose así concentraciones mayores en los tratamientos de agobio y significativamente más altos en AM; en CNM se determinaron las menores concentraciones de estas dos hexosas. El incremento en glucosa y fructosa en la Figura 27 puede deberse (como se mencionó anteriormente) a la hidrólisis de la sacarosa para aportar carbono al simbiote.

El conjunto de aminoácidos y su concentración son influenciados por agobios abióticos, los niveles de aminoácidos libres son afectados por un incremento en la degradación de proteínas y algunos aminoácidos actúan como solutos compatibles (por ejemplo la prolina) cuya síntesis está fuertemente influenciada por el agobio hídrico (Malatrasi y col., 2006).

Respecto a los aminoácidos libres cabe mencionar que la prolina no se ha reportado antes para plantas de fresa, este aminoácido se ha encontrado como una medida de capacidad de aclimatación o daño por agobio hídrico en las plantas (Augé, 2001)

La concentración de aminoácidos libres totales se incrementó significativamente en hojas por efecto del agobio. Las hojas de fresa micorrizadas (CM y AM) presentaron concentraciones más bajas de prolina que las no micorrizadas (CNM y ANM) (Tabla 6), esto puede ser atribuido a la resistencia al daño que le confiere la micorriza durante el agobio hídrico.

En corona el contenido de aminoácidos libres totales se incrementó con respecto a lo encontrado en hoja (Tabla 7), y esta concentración fue aún mayor en las raíces, estos incrementos fueron ocasionados por la exposición al agobio hídrico. Los tratamientos que presentaron los valores más altos de aminoácidos libres en corona y raíz fueron ANM y AM (aunque en corona no hubo diferencia estadística). Respecto al contenido de prolina en estos órganos, ésta se incrementó por efecto del agobio indicando que estos órganos sufrieron más daño por este factor (Tablas 7 y 8).

Los osmolitos inorgánicos que se analizaron en este estudio fueron los nitratos, se sabe que bajo condiciones de agobio hídrico los niveles de la enzima encargada de la reducción de este ión decrece drásticamente y en estas condiciones el flujo de nitratos desde el suelo hacia la raíz disminuye. Existen reportes en la literatura de que la micorriza favorece la absorción de nitratos, esto se debe a que los HMA tiene el juego de genes para la asimilación de nitratos ; debido a lo anterior en plantas micorrizadas sometidas a agobio hídrico la actividad de la enzima nitrato reductasa es más alta que en plantas micorrizadas (Ruiz-Lozano, 2003).

En la Figura 28 se muestra el contenido de nitratos en los diferentes órganos de la planta de fresa y se puede apreciar que las plantas AM presentan niveles más altos de nitratos en las raíces y hojas. Estos resultados están en desacuerdo con lo reportado en la literatura, una explicación posible es que el nivel de agobio que se manejo en este estudio no fue los suficientemente fuerte como para afectar los niveles de enzima nitrato reductasa.

9.- CONTRIBUCIÓN DE *Glomus intraradices* AL AGOBIO HÍDRICO DE LAS PLANTAS DE FRESA

Para establecer la contribución de *G. intraradices* al agobio hídrico en plantas de fresa, primero es necesario conocer cómo afecta la baja disponibilidad de agua en el sustrato en las plantas agobiadas no micorrizadas (ANM).

En nuestras condiciones experimentales, las plantas agobiadas no micorrizadas disminuyen el intercambio de gases, la fotosíntesis disminuye un 10.7% mientras que la transpiración un 43.6%; esto repercute directamente en el crecimiento por lo que éstas plantas tienen significativamente menos biomasa que las plantas control (Figura 29).

Para contrarrestar el agobio hídrico, las plantas ANM incrementan el contenido de osmolitos como carbohidratos solubles totales, aminoácidos libres y nitratos en hoja en un 49, 74 y 150% respectivamente. Estos osmolitos actúan directamente sobre la disminución del potencial osmótico, disminuyendo así el potencial hídrico de las plantas para mantener un gradiente de potencial favorable para el flujo de agua desde el suelo hacia las raíces. En la raíz de las plantas ANM también hay un incremento en los osmolitos, aminoácidos y nitratos, en éste órgano los azúcares se reducen un 37% por su retención en la parte aérea donde participan en el ajuste osmótico (Figura 29).

En condiciones de agobio el contenido de ABA-GE disminuye un 6% en hojas debido a que participa en el cierre estomático como un mecanismo no hidráulico para evitar la pérdida de agua por la planta cuando existe una baja disponibilidad de agua en el suelo, incrementa su síntesis en las raíces en un 42.7% en comparación con la plantas control no micorrizadas (Figura 29).

En los párrafos anteriores se expuso la repuesta de las plantas de fresa agobiadas no micorrizadas al agobio hídrico, ahora se propondrá un modelo de la contribución de *G. intraradices* al agobio hídrico en plantas de fresa en etapa de fructificación.

Cuando las plantas de fresa micorrizadas se exponen a un agobio hídrico, al igual que ANM disminuyen la producción de biomasa en comparación con CNM; lo cual es una consecuencia de una disminución mayor en la fotosíntesis y en la transpiración que en las plantas ANM. Este efecto se observa porque las plantas agobiadas micorrizadas (AM) sintetizan 111% más ABA-GE en las raíces, el cual es transportado hacia la parte aérea e induce el cierre estomático (Figura 30).

Las plantas AM presentan una mayor concentración de osmolitos en las hojas que las ANM, esto como se mencionó anteriormente disminuye el potencial hídrico de las hojas favoreciendo el movimiento del agua en la planta. Aunque en AM hay un contenido mayor de osmolitos orgánicos e inorgánicos que disminuyen más el potencial osmótico, el potencial hídrico de las plantas AM es similar al de ANM; esto se debe a que las AM cuentan con el micelio externo que favorece la absorción de agua en zonas donde la raíz no tiene acceso (por ejemplo microporos) mejorando con esto el estado hídrico de las plantas lo que tiene un efecto directo en la turgencia celular la cual contrarresta el potencial osmótico generado por la acumulación de osmolitos.

En la raíz de las plantas AM no hay una acumulación de osmolitos mayor que en ANM, sin embargo los carbohidratos solubles totales disminuyen en un 75%; en plantas control micorrizadas también hay una disminución del contenido de carbohidratos solubles totales en 79%, con esto se puede establecer que los beneficios que la micorriza otorga a la planta tienen un costo elevado de fotoasimilados (Figura 30).

En plantas bajo condiciones normales de riego hay un incremento en la fotosíntesis, transpiración y absorción de nitratos (Figura 30), lo que repercute en la acumulación de carbohidratos y aminoácidos en hojas equilibrando así su costo.

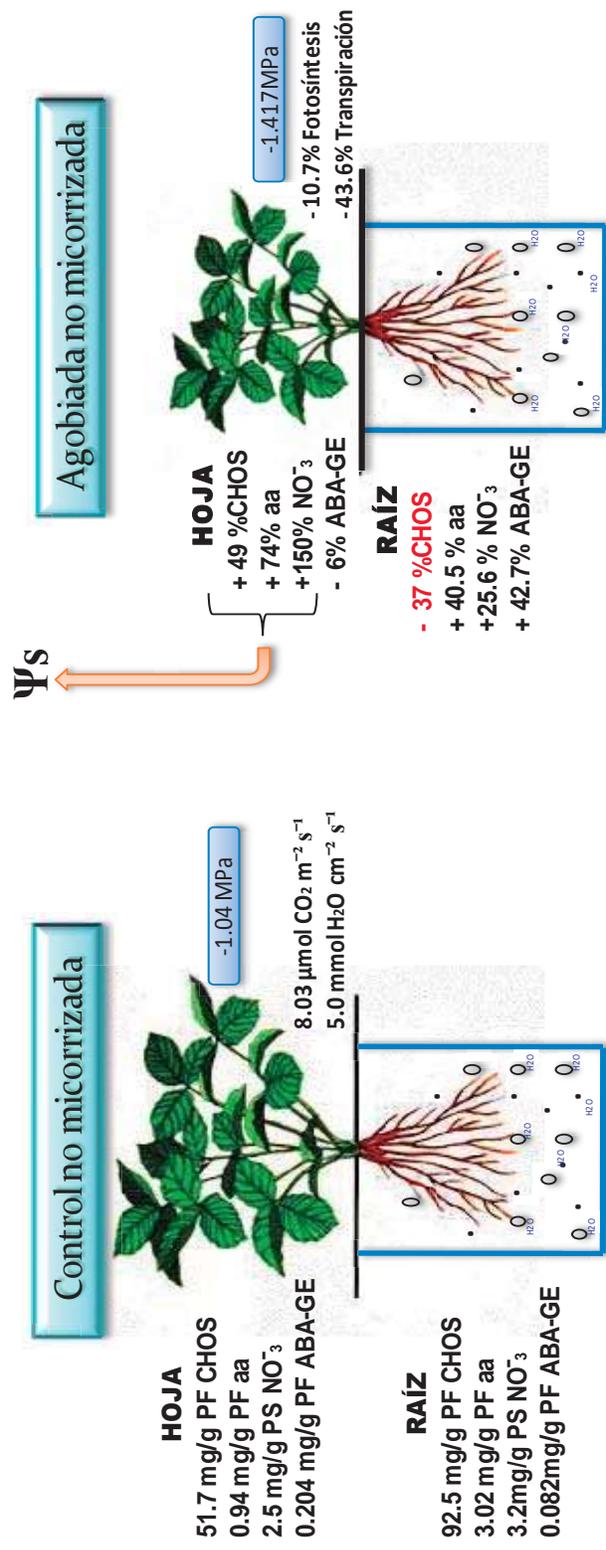


FIGURA 29. Efecto del agobio hídrico (34-38% de contenido de agua en el sustrato) en la acumulación de osmolitos, potencial hídrico e intercambio de gases en plantas de fresa en estado reproductivo.

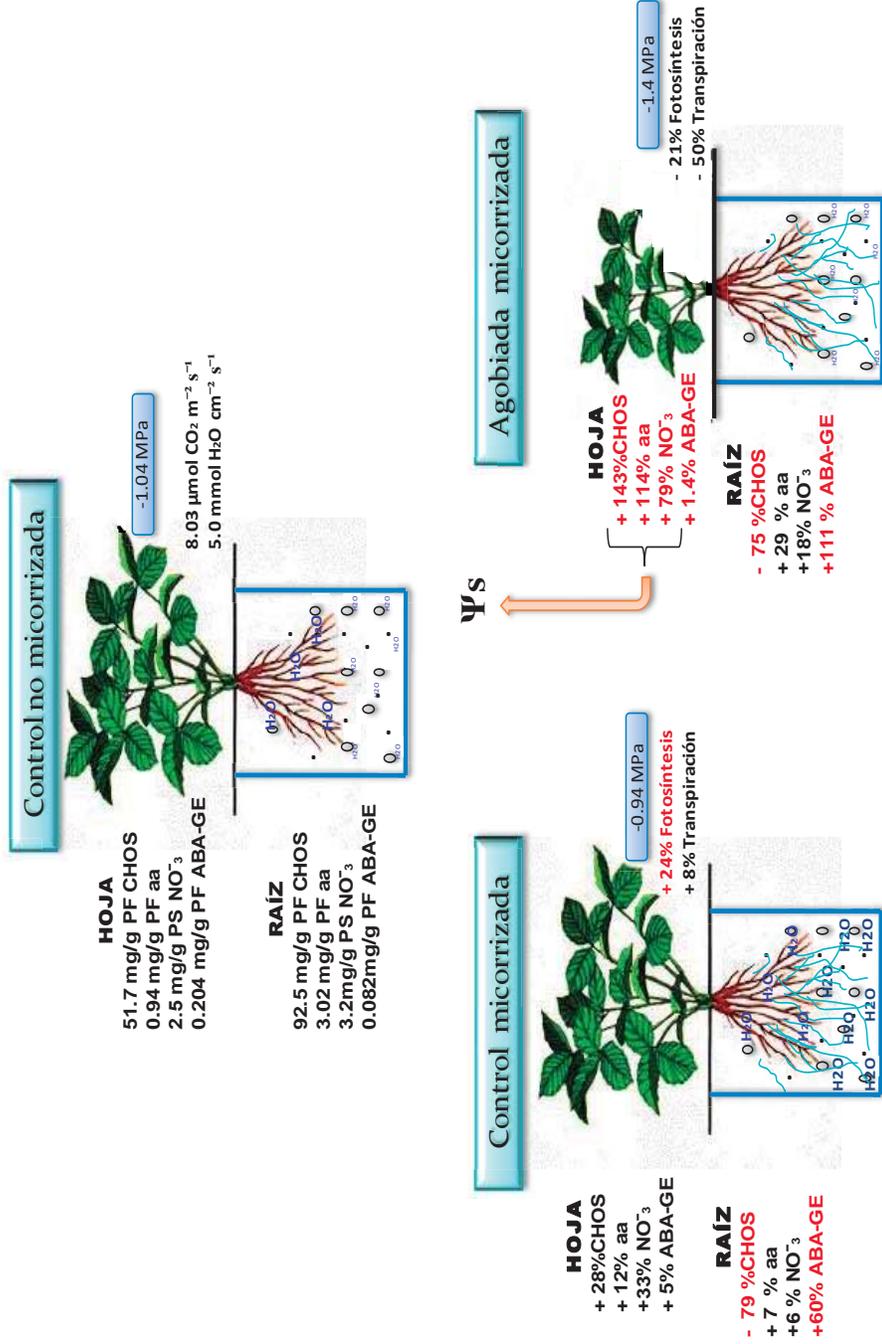


FIGURA 30. Modelo propuesto sobre la aportación de *G. intraradices* a plantas de fresa en condiciones normales de riego y en agobio hídrico.

10.- RESUMEN DE RESULTADOS

1.- La colonización de las plantas de fresa con *G. intraradices* disminuyó por la exposición al agobio hídrico, lo cual puede estar asociado a que los HMA son sensibles a las altas concentraciones de nutrimentos en el medio y esta condición posiblemente se presentó en este estudio.

2.- El potencial hídrico de las plantas de fresa no se modificó por la presencia de la micorriza en los tratamientos CM y AM, éste fue significativamente menor para los tratamientos agobiados ANM y AM, pero la micorriza sí mejoró la turgencia celular.

3.- El crecimiento de las plantas de fresa disminuyó por efecto del agobio hídrico y bajo estas condiciones la micorrización no presentó un efecto benéfico sobre el crecimiento de la planta, sin embargo en condiciones normales de riego la micorriza favoreció la producción de biomasa en hojas y raíces (CM).

4.- El contenido de ABA-GE se incrementó en las raíces de las plantas asociadas con el hongo en respuesta al agobio hídrico moderado, de manera que se puede concluir que la presencia de éste hongo estimula la síntesis de esta hormona en las raíces para contribuir a evitar la pérdida de agua por transpiración.

5.- La concentración de carbohidratos totales se incrementó en las hojas de plantas de fresa colonizadas con *G. intraradices* en respuesta al agobio hídrico sostenido al que fueron expuestas (34-38% de agua en el sustrato).

6.- La acumulación de aminoácidos libres y nitratos en la planta solo se favoreció por el agobio sin presentarse un efecto de la micorriza, excepto para el contenido de prolina el cual disminuyó por la interacción de la micorriza.

11.- CONCLUSIÓN

Los niveles de osmolitos, exclusivamente carbohidratos, y ácido abscísico glucosilado se incrementan en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Aromas) asociadas con *Glomus intraradices* en respuesta al agobio hídrico prolongado y sostenido.

12.- LITERATURA CITADA

- Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Azcón-Bieto, J; Talón, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. McGRAW-HILL INTERAMERICANA. España. 522p.
- Bago, B; Pfeffer, P.E; Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology* 124: 949-957.
- Barnett, N.M; Naylor, A.W. 1966. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiology* 41: 1222-1230.
- Blanke, M. M; Cooke, D.T. 2004. Effects of flooding and drought on stomatal activity, transpiration, photosynthesis, water potential and water channel activity in strawberry stolons and leaves. *Plant Growth Regulation* 42: 153-160.
- Borkowska, B. 2002. Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 24: 365-370.
- Branzanti, E.C. 1989. La fresa. Ediciones Mundi-Prensa. España. p. 43-76
- Cárdenas-Navarro, R; Adamowicz, S; Robin, P. 1998. Diurnal nitrate uptake in young tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) plants: test of a feedback-based model. *Journal of Experimental Botany* 49: 721-730.
- Cárdenas-Navarro, R. 2007. Com. Pers.
- Clifford, S.C; Arndt, S.K; Corlett, J.E; Joshi, S; Sankhla, N; Popp, M; Jones, H.G. 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk). *Journal of Experimental Botany* 49: 967-977.
- Comisión Nacional del Agua (CNA). 2005. Uso consuntivo del cultivo de la fresa en el valle de Zamora, Michoacán. Documento técnico.

- Cruz, C; Green, J.J; Watson, C.A; Wilson, F; Martins-Loução, M.A. 2004. Functional aspects of root architecture and mycorrhizal inoculation with respect to nutrient uptake capacity. *Mycorrhiza* 14: 177-184.
- Davies, W.J; Zhang, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 55-76
- Dodd, I.C; Tan, L.P; He, J. 2003. Do increases in xylem sap pH and/or ABA concentration mediate stomatal closure following nitrate deprivation? *Journal of Experimental Botany* 54: 1281-1288.
- Escalona, J. M; Flexas, J; Medrano, H. 1999. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 421-433.
- Franks, J.P; Farquhar, G.D. 2001. The effect of exogenous abscisic acid on stomatal development, stomatal mechanics, and leaf gas exchange in *Tradescantia virginiana*. *Plant Physiology* 125: 935-942.
- Freundl, E; Steudle, E; Hartung, W. 2000. Apoplastic transport of abscisic acid through roots of maize: effect of the exodermis. *Planta* 210: 222-231.
- García, I.C; Briones, G.S. 1997. Sistemas de riego. Aspersión y goteo. *Trillas*. p. 171-183.
- Garg, A.K; Kim, J; Owens, T.G; Ranwala A.P; Choi, Y.D; Kochian, L.V; Wu, R.J. 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *PNAS* 99: 15898-15903.
- Gianinazzi-Pearson, V. 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *The plant cell* 8: 1871-1883.
- Gilbert, G.A; Gadush, M.V; Wilson, C; Madore, M.A. 1998. Amino acid accumulation in sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth, during salinity stress. *Journal of Experimental Botany* 49: 107-114.
- Giovannetti, M; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytology* 84:489-500.

- Goicoechea, N; Aguirreolea, J; Cenoz, S; Garcia-Mina, J.M. 2000. *Verticillium dahliae* modifies the concentrations of proline, soluble sugars, starch, soluble protein and abscisic acid in pepper plants. European Journal of Plant Pathology 106: 19-25.
- Graham, J.H; Miller, R.M. 2004. Mycorrhizas: Gene to function. Plant and soil 0: 1-21.
- Hancock, J.F. 1999. Strawberries. CABI Publishing.
- Harrier, L.A. 2001. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: a molecular review of the fungal dimension. Journal of Experimental Botany. 52: 469-478, Roots special Issue.
- Hernández-Sebastià, C; Piché, Y; Desjardins, Y. 1999. Water relations of whole strawberry plantlets in vitro inoculated with *Glomus intraradices* in a tripartite culture system. Plant Science 143: 81-91.
- Hernández-Sebastià, C; Samson, G; Bernier, P; Piché, Y; Desjardins, Y. 2000. *Glomus intraradices* causes differential changes in amino acid and starch concentrations of *in vitro* strawberry subjected to water stress. New Phytology 148: 177-186.
- Hincha, D.K; Hagemann, M. 2004. Stabilization of model membranes during drying by compatible solutes involved in the stress tolerance of plants and microorganisms. Biochemical Journal 383: 277-283.
- Hopkins, W.G. 1995. Introduction to plant physiology. John Wiley & sons, Inc. USA. 464 pp.
- Jakobsen, I. 1998. Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. In: Mycorrhiza. Structure, function, Molecular biology and biotechnology. Second edition. Springer. p. 305-332.
- Jarvis, A.J; Mansfield, T.A; Davies, W.J. 1999. Stomatal behavior, photosynthesis and transpiration under rising CO₂. Plant Cell Environment 22: 639-648.

- Jia, W; Zhang, J. 2000. Water stress-induced abscisic acid accumulation in relation to reducing agents and sulfhydryl modifiers in maize plant. *Plant Cell and Environment* 23: 1389-1395.
- Johansen, A; Jakobsen I; Jensen, E.S. 1992. Hyphal transport of ¹⁵N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytology* 122: 281-288.
- Johansen, A; Finlay, R.D; Olsson P.A. 1996. Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytology* 133: 705-712.
- Karp, D. 1998. *Biología Celular y Molecular*. McGraw-Hill Interamericana. México. 746 pp.
- Kerepesi, I; Tóth, M; Boross, L. 1996. Water-soluble carbohydrates in dried plant. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 3235-3239.
- Kerepesi, I; Galiba, G; Bányai, E. 1998. Osmotic and salt stresses induced differential alteration in water-soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46: 5347-5354.
- Kerepesi, I; and Galiba, G. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science* 40: 482-487.
- Klamkowski, K; Treder, W. 2006. Morphological and Physiological responses of strawberry plants to water stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 71: 159-165.
- Lew, R.R. 1996. Pressure regulation of the electrical properties of growing *Arabidopsis thaliana* L. root hairs. *Plant Physiology* 112: 1089-1100.
- Lobit, P. 2007. Com. Pers
- Macías-Rodríguez, L; Quero, E; López, M.G. 2002. Carbohydrate differences in strawberry crowns and fruit (*Fragaria x ananassa*) during plant development. *Journal of Agriculture Food Chemechistry* 50: 3317-3321.

- Malatrasi, M; Corradi, M; Svensson, J.T; Close, T.J; Gulli, M; Marmioli, N. 2006. A branched-chain amino acid aminotransferase gene isolated from *Hordeum vulgare* is differentially regulated by drought stress. *Theor Appl Genet* 113: 965-976.
- Maurel, C; Chrispeels, M.J. 2001. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology* 125: 135-138.
- Medrano, H; Escalona, J.M; Bota, J; Gulias, J; Flexas, J. 2002. Regulation de photosynthesis of C3 plants in response to progresive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89: 895-905.
- Maroto, J.V. y López G.S. 1988. Producción de fresas y fresones. Agroguiás Mundi-Prensa. España. 119 pp.
- Monroy, J; Vera-Nuñez, J.A; Carrera, M.A; Grageda-Cabrera, O.A; Peña-Cabriales, J.J. 2002. Absorción de nitrógeno (^{15}N) y productividad del agua por el cultivo de la fresa (*Fragaria x ananassa*) en "El bajo", México. *Terra* 20: 65-69.
- Morot-Gaudry, J. F; Job, D; Lea, P.J. 2001. Amino acid metabolism. En: *Plant Nitrogen*. Springer, INRA ediciones. Francia. p.167-235
- Niemi, M; Vestberg, M. 1992. Inoculation of commercially grown strawberry with mycorrhizhal fungi. *Plant and soil* 144: 133-142.
- Orcutt, D.M; Nilsen, E.T. 2000. Mycorrhizae and plant stress physiology. En: *Physiology of plants under stress*. Jonh Wiley & sons, Inc. p. 108-176.
- Paraskevopoulou-Paroussi, G; Karagiannidis, N; Paroussis, E; Spanomitsios G. 1997. The effect of mycorrhiza on nutrient uptake and plant development of three strawberry cultivars. *Acta Horticulture* 2: 709-715.
- Qi, Q; Rose, P.A; Abrams, G.D; Taylor, D.C; Abrams S.R; Cutler, A.J. 1998. (+)-Abscisic acid metabolism, 3-Ketoacil-Coenzyme a synthasa gene expression, and very-long-chain monounsaturates fatty acid biosynthesis in *Brassica napus* embryos. *Plant Physiology* 117: 979-987.

- Redecker, D. 2005. Glomeromycota. Arbuscular mycorrhizal fungi and their relative (s). <http://tolweb.org/Glomeromycota/28715/2005.07.01> in The tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>
- Ruiz-Lozano, J.M; Azcon, R; Gomez, M. 1995 (a). Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Applied and environmental microbiology* 61: 456-460.
- Ruiz-Lozano, J.M; Azcon, R. 1995 (b). Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum* 95: 472-478.
- Ruiz-Lozano J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. *New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza* 13: 309-317.
- Sánchez-Díaz, M; Aguirreolea, J. 2000. Transporte de agua y balance hídrico en la planta. En: *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. España. p. 45-64.
- Sauter, A; Davies, W.J; Hartung, W. 2001. The long distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany* 52: 1991-1997.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2006. <http://www.sagarpa.gob.mx>
- Secretaría de Desarrollo Agropecuario (SEDAGRO). 2005. <http://www.sedagro.gob.mx>
- Shabala, S; Babourina O; Newman I. 2000. Ion-specific mechanisms of osmoregulation in bean mesophyll cells. *Journal of experimental botany* 51: 1243-1253.
- Silva, A; Patterson, K. 1996. Endomycorrhizae and growth of "Sweetheart" strawberry seedlings. *HortScience* 31: 951-954.

- Sistema de Información Agrícola de Captura (SIACAP). 2005. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- Sobeih, W.Y; Dodd, I.C; Bacon, M.A; Grierson, D; Davies W.J. 2004. Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculenum*) plants subjected to partial root-zone drying. *Journal of Experimental Botany* 55: 2353-2363, Water-saving agriculture special issue
- Thomsen, A; Hansen, B; Schelde, K. 2000. Application of TDR to water level measurement. *Journal of hydrology* 236: 252-258.
- Tyree, M.T. 1997. The cohesion-Tension theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany* 48: 1753-1765.
- Varma, A. 1998. Functions and application of arbuscular mycorrhizal fungi in arid and semi-arid soils. En *Mycorrhiza. Structure, function, Molecular biology and biotechnology*. Second edition. Springer. p. 521-556.
- Vierheilig, H; Coughlan, A.P; Wyss, U; Piché, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 5004-4007.
- Yordanov, I; Velikova, V; Tsonev, T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, Special Issue* 2003: 187-206.
- Yuan, B.Z; Sun, J; Nishiyama S. 2004. Effect of drip irrigation on strawberry growth and yield inside a plastic greenhouse. *Biosystems Engineering* 87: 237-245.
- Zhang, B; Archbold, D.D. 1993. Solute accumulation in leaves of a *Fragaria chiloensis* and a *F. virginiana* selection responds to water deficit stress. *Journal of American Society Horticulture Science* 118: 280-285.