

RESPUESTA FISIOLÓGICA DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) A LA SEQUÍA, EN UN SISTEMA DE RAÍZ DIVIDIDA ¹

J.F. Aguirre², J. Kohashi-Shibata², C.L. Trejo², Jorge Acosta-Gallegos³

RESUMEN

Respuesta fisiológica del frijol *Phaseolus vulgaris* L. a la sequía, en un sistema de raíz dividida. El objetivo de este trabajo fue estudiar en frijol la regulación de la apertura estomática y si ésta es el resultado de una disminución en el potencial de agua en la parte aérea o de un factor químico producido en la raíz. Se condujo un experimento durante 1997 en Montecillo Edo. de México con la variedad Cacahuete 72, de tipo I raza Nueva Granada. El experimento se llevó a cabo en una cámara de ambiente controlado. A los 27 días después de la siembra se iniciaron los tratamientos: a) riego y b) riego-suspensión de riego, ambos bajo el sistema de raíz dividida. El sistema se estableció en tubos de PVC de nueve cm de diámetro y 50 cm de alto, divididos verticalmente. Los tratamientos tuvieron una duración de 15 días y diariamente se cuantificó la conductancia estomática, las relaciones hídricas (potencial de agua, osmótico y de turgencia) y el contenido de prolina. Las plantas expuestas al tratamiento riego-suspensión de riego mostraron una disminución en la conductancia y un ligero incremento en el contenido de prolina. Todo lo anterior ocurrió sin que las plantas mostraran diferencias en relaciones hídricas en comparación con las de riego. Lo anterior sugiere la existencia de comunicación no hidráulica entre la raíz bajo sequía y el vástago.

ABSTRACT

Physiological response of *Phaseolus vulgaris* L. bean to water stress in a split-root system. The objective of this research was to study the regulation of stomatal opening in beans, and to find whether it is caused by a decrease in the leaves' water potential, or by a chemical factor in the roots. An experiment was carried out during 1997 in Montecillo, Mexico with the Cacahuete 72 variety, type I Nueva Granada breed. The experiment took place in a controlled environment chamber where plants had their roots split into two parts. Two irrigation treatments were applied twenty-seven days after sowing: a) irrigation, and b) irrigation/irrigation interruption. A system was created with 9-cm diameter and 50-cm high PVC tubes, divided vertically. Treatments lasted 15 days, and stomatal conductivity, hydric relations (water potential, osmotic potential, and turgid pressure), and proline content were quantified on a daily basis. Plants undergoing water stress showed a decrease in conductivity and a slight increase in proline content, and these plants did not show differences in hydric relations as compared to the ones undergoing irrigation. Results suggested that there is non-hydraulic communication between roots under water stress, and leaves under the same condition.



INTRODUCCIÓN

El frijol *Phaseolus vulgaris* L. ha sido cultivado desde épocas prehispánicas en diferentes ambientes de América bajo condiciones de temporal. En muchos de esos ambientes el frijol es sometido a la sequía intermitente que caracteriza la errática precipitación en estos sistemas de producción.

El estrés por sequía, causado por la baja disponibilidad de agua en el suelo, modifica negativamente la productividad del frijol. Esta puede ser más o menos afectada dependiendo de la intensidad y duración de la escasez de agua, de la rapidez con la cual se alcance dicha intensidad y además de la etapa fenológica en que el efecto ocurra, así como el precondicionamiento de la planta (Hsiao *et al.* 1976; Begg y Turner, 1976).

¹ Trabajo presentado en la XLIV Reunión anual del PCCMCA, Nicaragua. 1998. Proyecto CONACyT 25678-B.

² Colegio de Postgraduados. Instituto de Recursos Naturales. Especialidad de Botánica. Km. 35,5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Edo. de México. C.P. 56230.

³ Campo Experimental Valle de México. INIFAP. Apartado postal 10, Chapingo, Edo. de México. C.P.56236.

Un estrés severo de sequía induce numerosas irregularidades metabólicas en las plantas, tales como, disminución de la tasa de crecimiento, reducción en la capacidad de intercambio gaseoso, pérdida de turgencia y síntesis de algunos metabolitos secundarios. Estas alteraciones y su impacto en la morfología y fisiología de las plantas, van a depender del grado de tolerancia de los tejidos a la deshidratación, principalmente en las hojas (Ludlow, 1989)

Schulze *et al.* (1987) señalan dos estrategias a través de las cuales las plantas regulan la pérdida de agua y la ganancia de carbono. Una de ellas, se lleva a cabo en toda la planta, el carbono se distribuye a la raíz y el vástago en respuesta a los parámetros de relaciones hídricas; la otra ocurre en la hoja, donde la planta regula la abertura del poro estomático con relación a los factores internos de la planta, tales como su estado hídrico y también en respuesta a factores climáticos. Uno de los indicadores más sensibles del estado fisiológico de una planta es su comportamiento estomático (Smith y Hollinger, 1991). Los estomas responden rápidamente a los cambios ambientales, y de esta manera permiten que la planta pueda regular la pérdida de agua y la toma de carbono durante los periodos de escasez de humedad en el suelo.

Las señales no hidráulicas entre raíz y vástago como resultado de una disminución de agua en el suelo, es una hipótesis que se ha propuesto para explicar el comportamiento estomático. Anteriormente se aceptaba que la falta de agua en el suelo afectaba en primera instancia la parte aérea debido a la disminución del potencial de agua (limitación hidráulica) reduciendo la apertura estomática y el crecimiento (Kramer, 1983). En la actualidad existen evidencias de que un producto sintetizado en las raíces de maíz bajo condiciones de déficit hídrico en el suelo es capaz de afectar la conductancia estomática (g_s) de la hoja mucho antes de presentar una pérdida de turgencia en ésta (Davies *et al.* 1986; Gollan *et al.* 1986). Las raíces responden a la sequía edáfica produciendo una alta concentración de ácido abscísico (ABA), el cual se transporta al vástago ocasionando el cierre estomático (Davies y Zhang, 1987; Zhang y Davies, 1990)

Algunas especies, incluyendo las adaptadas a hábitats mésicos o áridos acumulan sustancias durante un periodo de déficit hídrico, las cuales son constituyentes normales de las células, particularmente aminoácidos libres como prolina (Barnett y Naylor, 1966; Waldren y Teare, 1974; Aspinall y Paleg, 1981) betaína (Wyn Jones y Storey, 1981) y toda una serie de metabolitos secundarios de los cuales ABA es uno de los más importantes (Walton, *et al.* 1976; Trejo y Davies, 1991)

La comunicación entre la raíz y el vástago puede ser un componente importante de los mecanismos de respuesta de las plantas que crecen bajo condiciones de sequía. Lo anterior pone de manifiesto la importancia que tiene determinar los mecanismos de regulación fisiológica que presentan las plantas como respuesta a las condiciones de humedad en el suelo; principalmente todos aquellos relacionados con la regulación de intercambio gaseoso.

En el presente trabajo se estudió bajo un sistema de raíz dividida con y sin riego, la regulación de la apertura estomática en *Phaseolus vulgaris* L. y si ésta es el resultado de una disminución en el potencial de agua de la parte aérea ó de un factor químico producido en la raíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó durante 1977 en el Colegio de Postgraduados, sito en Montesillo, Edo. de México en condiciones de cámara de crecimiento. Se utilizó *Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuatate 72. Las semillas se germinaron en cajas Petri y después de 3-5 días, se les escindió longitudinalmente la radícula y se trasplantaron a tubos de PVC de nueve cm de diámetro y 50 cm de altura, los cuales fueron previamente divididos longitudinalmente en dos partes iguales y separados por una pared de plástico, la cual impidió permanentemente el paso de agua de una sección a otra. Cada una de las secciones del tubo se mantuvieron en posición por medio de una cinta adhesiva. En el fondo, se adaptó un plástico con perforaciones para drenar el exceso de agua. En ambas partes se utilizó arena lavada como sustrato. Las plantas crecieron con su raíz dividida en una cámara de ambiente controlado (marca Sherer E15) de 1,4 m³ de capacidad a una temperatura máxima y mínima de 22/20 °C y un fotoperiodo de 12/12 h. La densidad de flujo fotónico fotosintético promedio fue de 470 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Las plantas se regaron diariamente con agua destilada y dos veces por semana se regaron con una solución modificada de Hogland (Epstein, 1972). A los 27 días después del trasplante se inició el tratamiento de suspensión de riego. A esta fecha el foliolo central de la primer hoja trifoliada había alcanzado su máximo crecimiento. Los tratamientos aplicados fueron: 1) raíz dividida con riego y 2) raíz dividida con riego-suspensión de riego. Los muestreos se realizaron a los días cero, 1,2,3,4,5,7,9, 11 y 15 días después de aplicar el tratamiento de suspensión en la mitad del tubo correspondiente. Durante estos días, se determinaron la conduc-

tancia estomática, las relaciones hídricas (potencial de agua (ψ_w) potencial osmótico (ψ_π) potencial de turgencia (ψ_t) y contenido de prolina. En cada muestreo se eligieron cuatro plantas al azar y de ellas se utilizó el foliolo central de la primer hoja compuesta para la determinación de cada parámetro.

Conductancia estomática

La conductancia estomática se determinó diariamente en el foliolo central de la primer hoja compuesta a las 12:00 hrs con un sistema abierto y portátil de análisis de gases en el infrarrojo (IRGA) marca PPSystems modelo CIRAS-1.

Relaciones hídricas

El Ψ_w y sus componentes se determinaron después de la medición de la conductancia estomática. El Ψ_w se determinó utilizando discos de hoja de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, los cuales se incubaron por tres horas en cámaras psicrométricas del tipo C-52 (Wescor, Inc.). Transcurrido el tiempo de incubación las cámaras se conectaron a un microvoltímetro (Wescor, HR 33T, Inc.) y el potencial de agua se determinó por el método de punto de rocío. El (Ψ_π) se determinó en los mismos discos utilizados para el Ψ_w después de que se congelaron en nitrógeno líquido e incubados por una hora en las cámaras psicrométricas. El potencial de turgencia se obtuvo por diferencia de los dos valores anteriores.

Prolina

El foliolo central de la primer hoja compuesta se separó del peciolo y se congeló en nitrógeno líquido para la determinación de prolina. Esta se determinó a través de la técnica propuesta por Bates *et al.* (1973). El derivado de la ninhidrina fue extraído con tolueno y se analizó por espectrofotometría a 520 nm. Los valores se expresaron en $\mu\text{mol/g}$ de peso seco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al aplicar las condiciones de sequía al frijol, la parte superficial del sustrato fue la primera en secarse, pero las capas más profundas de la maceta contenían suficiente humedad para el crecimiento normal de las plantas. Bajo estas condiciones las respuestas observadas se debieron a la sequía en la parte superior de las macetas.

Conductancia estomática y relaciones hídricas

La conductancia estomática se muestra en la Fig. 1. Se puede observar que ésta mostró una disminución inmediatamente después de que las plantas se dejaron de regar como respuesta a la suspensión del riego en una mitad del sistema radical; este efecto inicial se mantuvo a través de los quince días del estudio en comparación con el tratamiento bajo riego hasta alcanzar un valor máximo de 50% con relación al testigo siempre regado. Lo anterior sucedió sin que se observara algún cambio significativo en las relaciones hídricas del vástago a través del periodo de suspensión de riego entre ambos (Fig. 2). Resultados similares fueron reportados por Gallardo *et al.* (1994) en *Lupinus cosentinii*, Davies *et al.* (1980) y Augé *et al.* (1994) en maíz.

El efecto de inducir el cierre estomático a través de la disminución del agua en el suelo sin ningún cambio significativo en el potencial de agua ha sido descrito por varios autores (Blackman y Davies, 1985; Zhang y Davies, 1989). El potencial de agua medido a través de la hoja (Fig. 2) sugiere (a través de la declinación en la (g_s)) que la mitad del sistema radical sin riego emitió probablemente una señal, la cual no fue una señal hidráulica. Aparentemente la respuesta no hidráulica respondió antes que la pérdida de turgencia de la hoja. Esta señal al

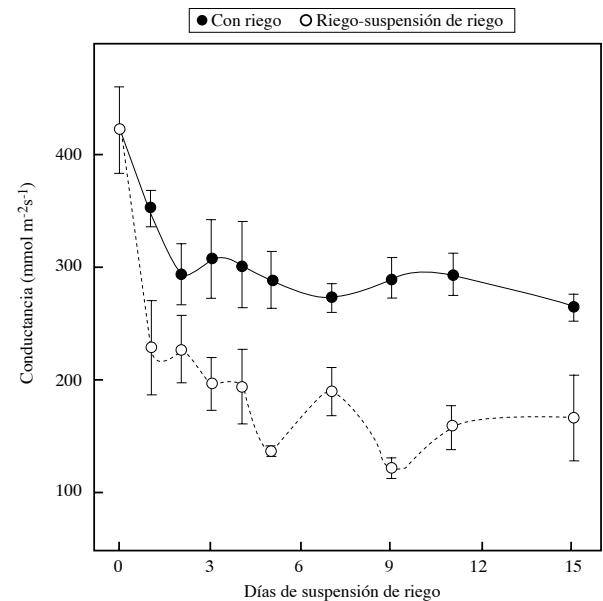


Figura 1. Conductancia estomatal en frijol *Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuete 72 en un sistema de raíz dividida. Cada valor representa el promedio de cuatro observaciones \pm error estandar.

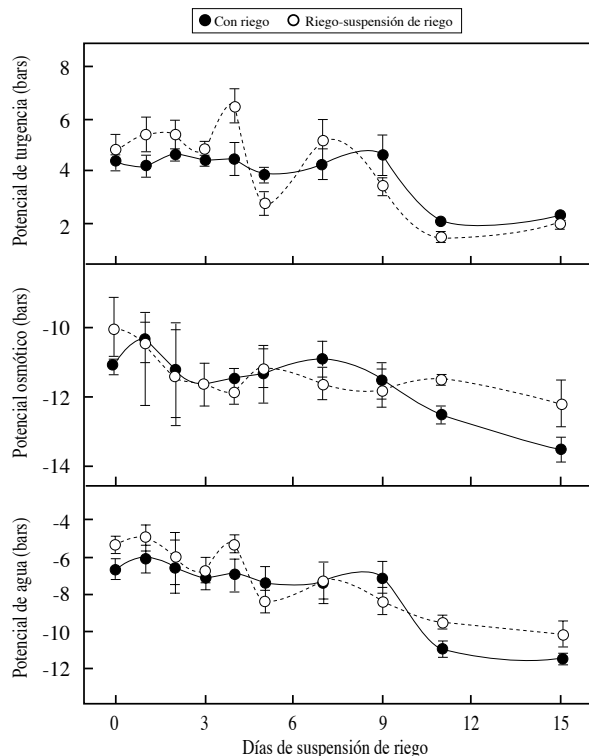


Figura 2. Relaciones hídricas en hojas de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Cada valor representa el promedio de cuatro observaciones \pm error estandar.

parecer es producida por las raíces y transportada a las hojas (Davies y Zhang, 1991, Augé *et al.* 1994).

En estudios de raíz dividida, Blackman y Davies (1985) y Zhang y Davies (1989) observaron que el potencial de agua no era significativamente diferente entre la parte seca y la parte regada de las raíces, mientras que la conductancia estomática fue diferente. Estos autores encontraron que el ácido abscísico (ABA) es generalmente el componente químico primario involucrado en activar la señal (Zhang y Davies, 1989). Un incremento en el contenido de ABA en hojas de frijol como respuesta al estrés hídrico lo indican Walton *et al.* (1976).

Contenido de prolina

El contenido de prolina en las hojas de frijol bajo este sistema de raíz dividida fue mayor en el tratamiento sometido a la suspensión del riego en comparación con el tratamiento con riego (Fig. 3). La variación entre los días de muestreo fue fluctuante en ambos tratamientos a través del tiempo. Durante las primeras 72 horas, se acumuló rápidamente la prolina y un día des-

pués, se redujo de la misma forma para volver a mantener un nivel similar al inicial por el resto de los días de estudio. Esta tendencia se puede considerar constante durante el tiempo de evaluación, pero superior al contenido de las plantas bajo riego. Un comportamiento semejante de la concentración de prolina en el tejido vegetal fue reportado por Singh *et al.* (1973b).

Varios autores han informado de incrementos en el contenido de prolina en las plantas cuando se dejan de regar, en comparación con plantas bajo riego (Barnett y Naylor, 1966; Hanson y Tully, 1979). Esta acumulación, según Aspinall y Paleg (1981), Barnett y Naylor, (1966) Singh *et al.* (1973a) y Andrade *et al.* (1995) se inicia por una reducción en el potencial de agua en los tejidos de las células, como respuesta a la adaptación de las plantas cuando son sometidas a estrés hídrico. Por su parte Andrade *et al.* (1995) no encontraron correlación positiva entre la resistencia a sequía y la acumulación de prolina en cuatro cultivares de frijol. Los resultados sugieren que la acumulación de prolina en las hojas puede indicar susceptibilidad a sequía.

Barnett y Naylor (1966) informaron de una acumulación de prolina en vástago de 10 a 100 veces durante el estrés en pasto bermuda. Aspinall y Paleg (1981) indicaron que la acumulación de prolina en cebada

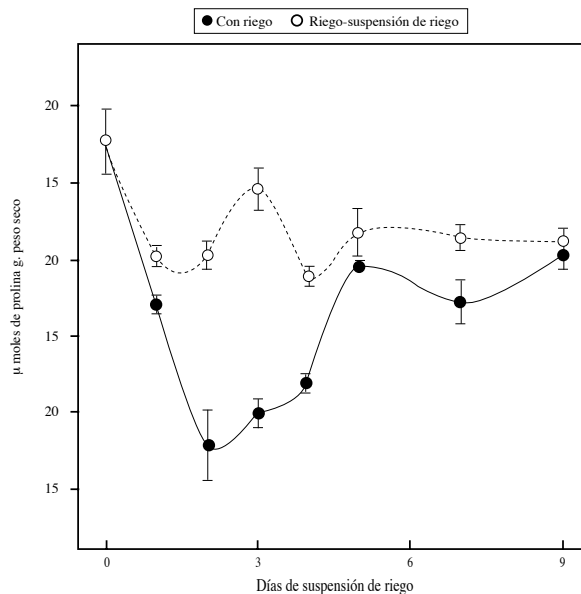


Figura 3. Contenido de prolina en hojas de frijol *Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuete 72 en un sistema de raíz dividida. Cada valor representa el promedio de cuatro observaciones \pm error estandar.

depende más de los cambios en potencial osmótico que en los cambios del turgor de las hojas. Al respecto Andrade *et al.* (1995) citan que la acumulación de prolina puede ser un síntoma de estrés severo en los cultivares de frijol susceptibles a sequía pero tiene una importante contribución al ajuste osmótico en los cultivares que son resistentes a la sequía.

En conclusión, la sequía en parte del sistema radical del frijol influyó en la reducción de la conductancia estomática. La inhibición estomática en el vástago de las plantas cuyo sistema radical estuvo con y sin riego no fue debido a una limitación hidráulica, más bien, probablemente a una señal no hidráulica proveniente de la raíz al vástago.

LITERATURA CITADA

- ANDRADE, J.L., LARQUÉ-SAAVEDRA, A.; TREJO LÓPEZ, C. 1995. Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. *Fyton* 57(2): 149-157.
- ASPINALL, D.; PALEG, L.G. 1981 Proline accumulation: Physiological aspects. *In*: Paleg, L.G. and Aspinall, D. Edrs. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press. Australia. pp. 206-240.
- AUGÉ, R.M.; DUAN, X.; EBEL, R. C.; STODOLA, J.W. 1994. Nonhydraulic signalling of soil drying in mycorrhizal maize. *Planta* 193(1): 74-82.
- BARNETT, N.M.; NAYLOR, A.W. 1966. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiology*. 41(7): 1222-1230.
- BATES, L. S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. *Plant and Soil*. 39(1): 205-207.
- BLACKMAN, P.G.; DAVIES, W.J. 1985. Root-to-shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *J. Exp. Bot.* 36: 39-48
- BEGG, J.E.; TURNER, N.C. 1976. Crop water deficits. *Adv. Agron.* 28: 161-217.
- DAVIES, W.J.; MANSFIELD, T.A.; WELLBURN, A.R. 1980. A role for abscisic acid in drought endurance and drought avoidance. *In*: Skoog, F. Edrs. *Plant growth substances*. Springer, Berlin Heidelberg New York., p. 242-253.
- DAVIES, W.J.; ZHANG, J. 1987. Increased synthesis of ABA in partially dehydrated root tips and ABA transport from root to leaves. *J. Exp. Bot.* 38: 2015-2023.
- DAVIES, W.J.; ZHANG, J. 1991. Root signals and regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 55-76.
- EPSTEIN, M. 1972. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. Wiley International Edition. USA. 412 p.
- HANSON, A.D.; TULLY, R.E. 1979. Light stimulation of proline synthesis in water-stressed barley leaves. *Planta*. 145 (1): 45-51.
- HSIAO, T.C.; ACEVEDO, E.; FERERES, E.; HENDERSON, D.W. 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. *Phyl. Trans. Royal Soc. London*. 273: 479-500.
- GALLARDO, M.; TURNER, N.C.; LUDWIG, C. 1994. Water relations, gas exchange and abscisic acid content of *Lupinus cosentinii* leaves in response to drying different proportions of root system. *J. Exp. Bot.* 45 (276): 909-918.
- KRAMER, P.J. 1983. *Water relations of plants*. Academic Press. New York. USA. 489 p.
- LUDLOW, M.M. 1989. Strategies in response to water stress. *In*: Kreeb, H.K., Ritcher, H. And Hickley, T.M. Edrs. *Structural and functional response to environmental stresses: Water shortage*. The Hague, Netherlands: SPB. Academic Press. pp. 269-281.
- SCHULZE, E.D.; TURNER, N.C.; GOLLAN, T.; SHACKEL, A. 1987. Stomatal response to air humidity and to soil drought. *In*: Zeiger, E., G.D. Farquhar, and I.R. Cowan Edrs. *Stomatal function*. Stanford University Press, Stanford, California. pp. 311-321.
- SINGH, T.N.; PALEG, L.G.; ASPINALL, D. 1973a. Stress metabolism. I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 45-56.
- SINGH, T.N.; PALEG, L.G.; BOGGESS, S.F. 1973b. Stress metabolism. II. Changes in proline concentration in excised plants tissues. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 57-63.
- SMITH, W.K.; HOLLINGER, D.Y. 1991. Measuring stomatal behaviour. *In*: Lassoie, J.P. and Hickley, T.M. Edrs. *Techniques and approaches in forest tree ecophysiology*. Boca Raton. CRC Press Inc.
- TREJO-LÓPEZ, C.; DAVIES, W.J. 1991. Drought-induced closure of *Phaseolus vulgaris* L. stomata precedes leaf water deficit and any increase in xylem ABA concentration. *J. Exp. Bot.* 42: 1507-1515.
- WALTON, D.C.; HARRISON, M. A.; COTÉ, P. 1976. The effects of water stress on abscisic acid levels and metabolism in roots of *Phaseolus vulgaris* L. and other plants. *Planta*. 131: 141-144.

- WALDREN, R.P.; TEARE I.D. 1974. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant and Soil*. 40: 689-692.
- WYN JONES, R.G.; STOREY, R. 1981 Betaines. *In*: Paleg, L.G. and Aspinall, D. Edrs. *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants*. Academic Press Australia. s pp. 172-204.
- ZHANG, J.; DAVIES, W.J. 1989. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant Cell Environ*. 12:, 73-81.
- ZHANG, J.; DAVIES, W.J. 1990. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. *Plant Cell Environ*. 13: 277-285.