



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Licenciatura en Biología
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Variación natural en respuesta a estrés osmótico usando la
raíz de *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Biólogo

PRESENTA:

Oscar Mondragón Alaniz

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. ADRIANA GARAY ARROYO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Apellido paterno
Apellido materno
Nombre
Teléfono
Universidad
Facultad
Carrera
Número de cuenta

1. Datos del alumno

Mondragón
Alaniz
Oscar
68212667
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306030130

2. Datos del tutor

Grado
Nombre
Apellido paterno
Apellido materno

2. Datos del tutor

Dra.
Adriana
Garay
Arroyo

3. Datos del sinodal 1

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1

Dra.
María de la Paz
Sánchez
Jiménez

4. Datos del sinodal 2

Grado
Nombre
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos del sinodal 2

Dr.
Sol
Cristians
Niizawa

5. Datos del sinodal 3

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

5. Datos del sinodal 3

M. en C.
Gabriel Sinué
Fonseca
Salazar

6. Datos del sinodal 4

Grado

Nombre

Apellido paterno

Apellido materno

6. Datos del sinodal 4

Dra.

Tzvetanka

Dimitrova

Dinkova

7. Datos del trabajo escrito.

Título

7. Datos del trabajo escrito

Variación natural en respuesta a estrés osmótico usando la raíz de *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo.

Número de páginas

73

Año

2019

“The world came to be through
the Big Bang 13.8 billion years ago
that’s how space, time and matter
came to be and the Earth as well
the rest is evolution.”

-Dark

If you had an idea
that was going to outrage society
would you keep it to yourself?

-Charles Darwin

Agradecimientos académicos

Este trabajo se realizó bajo la tutoría de la Dra. Adriana Garay Arroyo en el Laboratorio de Genética Molecular, Epigenética, Desarrollo y Evolución de Plantas el cual pertenece al Departamento de Ecología Funcional en el Instituto de Ecología, UNAM.

Dra. Adriana gracias por la dirección y asesoría durante la realización de este trabajo.

Dra. María de la Paz Sánchez Jiménez, Dr. Sol Cristians Niizawa, Dra. Tzvetanka Dimitrova Dinkova y Ma. en C. Gabriel Sinué Fonseca Salazar gracias por sus comentarios y retroalimentación.

Biólogo José Gerardo Rodríguez Tapia gracias por tu apoyo y asesoría en la parte de variables ambientales.

Grupo de estudiantes de la Dra. Adriana gracias por sus comentarios y aportaciones a mi trabajo durante los seminarios, así como su apoyo en el laboratorio.

Al financiamiento UNAM-DGAPA-PAPIIT: IN204217, IN211516, IN208517. ERA-B CONACYT: 240180 y 2015-01-687.

Agradecimientos personales

Este proyecto significa muchas cosas para mí, el final de un proceso formativo tanto académico como de crecimiento personal, la gratitud que hoy siento hacia las personas que estuvieron involucradas en este proceso es infinita que por pequeña o grande que sea su aportación no deja de ser trascendente, espero que mis palabras expresen de manera clara el agradecimiento y cariño que siento hacia cada uno de ustedes.

Mamá gracias por tu apoyo incondicional, por estar conmigo desde el comienzo de esta meta, por luchar conmigo a pesar de los obstáculos. La calidez y amabilidad de tu corazón son cualidades que siempre he admirado de ti, además de que eres un ejemplo de humanidad para mí.

Papá gracias por ser un ejemplo para mí de constancia y trabajo, por siempre contar con tu apoyo y por alentarme a dedicarme a estudiar algo que me apasionará y a no dedicarme a algo solamente por los beneficios económicos, siempre te estaré agradecido.

Fernando y Guillermo gracias por sus palabras de apoyo a lo largo de todos estos años, Fernandito y Ro mis sobrinos (niños rata) gracias por su cariño y apoyo a pesar de la distancia.

Liliana gracias por todo tu apoyo desde el día uno, tu amistad ha sido importante en las distintas etapas de mi vida. Hemos recorrido juntos un camino largo lleno de experiencias y circunstancias que me han ayudado a crecer como persona, tu amistad es invaluable para mí.

Vero, Ángel, Miguel y Wendy gracias por todos los momentos que compartí con ustedes en la facultad, amigos los quiero mucho.

Índice

1. Resumen.....	8
2. Introducción.....	10
2.1 <i>Arabidopsis thaliana</i> como organismo modelo.....	10
2.2 Variación natural en <i>Arabidopsis thaliana</i>	10
2.3 Concepto de ecotipo, accesión y población natural.....	14
2.4 Sistema de Arquitectura en raíz.....	14
2.5 La raíz primaria de <i>Arabidopsis thaliana</i>	15
2.6 Tipos celulares y dominios a lo largo del eje longitudinal de la raíz primaria	16
2.7 Plasticidad de la raíz.....	18
2.8 Mecanismos de osmorregulación y transporte de agua.....	18
2.9 Estrés hídrico.....	19
2.10 Respuestas frente al estrés hídrico en plantas.....	20
3. Antecedentes inmediatos	22
4. Justificación.....	24
5. Hipótesis.....	25
6. Objetivos.....	25
6.1 Objetivos generales.....	25
6.2 Objetivos particulares.....	25
7. Metodología.....	26
7.1 Condiciones de crecimiento	26
7.2 Inducción de estrés osmótico	26
7.3 Medición de raíces.....	27
7.4 Ensayo de recuperación en tierra.....	28
7.5 Arquitectura de la raíz.....	28
7.6 Variables ambientales y características de suelo.....	28
8. Resultados	30
8.1 Variación en el crecimiento en la raíz primaria en condiciones control y de estrés osmótico para distintas accesiones de <i>Arabidopsis thaliana</i>	30
8.2 Dinámica de cambio en la arquitectura de la raíz.....	37
8.3 Ensayo de sobrevivencia y recuperación en tierra en condiciones de estrés osmótico para tres accesiones de <i>Arabidopsis</i>	41
8.4 Variables ambientales y características de suelo.....	43
9. Discusión	50
10. Conclusiones.....	56
11. Perspectivas.....	57
12. Apéndice.....	58
13. Referencias	68

1. Resumen

La variación natural intraespecífica es la variación fenotípica causada por mutaciones que surgen de manera espontánea, que se mantienen en la naturaleza debido a un proceso evolutivo como la selección natural. Esto se debe a que las condiciones bióticas y abióticas varían en el espacio y en el tiempo y a que las distintas poblaciones de una especie están expuestas a diferentes presiones de selección que conducen a la adaptación a las condiciones locales y a la divergencia intraespecífica, en este trabajo se analizó el efecto del estrés osmótico sobre el crecimiento de la raíz primaria en trece genotipos de *Arabidopsis thaliana* (Nd-1, Baa-1, Or-0, Br-0, Col-0, Pu2-7, Bla-1, Drall-1, Cha-1, An-1, Kondara, Is-0 y Amel-1); con el objetivo de caracterizar los distintos fenotipos de la raíz y si estos en parte están explicados por las condiciones ambientales de donde provienen. Estas accesiones se seleccionaron a partir de un análisis preliminar con 113 accesiones y se seleccionaron trece que presentaron el mayor, menor y crecimiento intermedio de la raíz primaria en cuanto en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol) comparado con respecto a su propio control. De las trece accesiones solo una (Amel-1) no tuvo diferencias significativas en el crecimiento de la raíz primaria en ambas condiciones, para el resto de las accesiones tuvieron una afectación mayor al 70% en condiciones de estrés osmótico. a partir de los sitios de recolección se descargaron los datos de distintas variables ambientales de las bases de datos de worldclim y soilgrids. Por otro lado, se describió la dinámica de cambio en los componentes de la arquitectura de la raíz (raíz primaria, número y longitud de raíces laterales) para dos accesiones: Amel-1 y Col-0, que presentan fenotipos distintos; Col-0 tiene una raíz larga y con abundancia de raíces laterales mientras que Amel-1 tiene una raíz mediana con una menor abundancia de raíces laterales. Estos fenotipos podrían ser el resultado de una estrategia de adaptación a diferentes presiones de selección que generan los ambientes en donde estas accesiones habitan naturalmente. Para ver si había una correlación entre el crecimiento de las raíces en condiciones de estrés osmótico con alguna adaptación a las condiciones ambientales de los sitios de colecta de las diferentes accesiones, se obtuvieron los valores de cuatro variables ambientales: precipitación, radiación solar, vapor de agua y temperatura a partir de las coordenadas del sitio de recolección en la base de datos de <http://www.worldclim.org/>. Ninguna de estas variables ambientales tuvo una correlación directa con la respuesta en estrés osmótico. También se obtuvieron las características de suelo de las accesiones a partir de las coordenadas de los sitios de recolecta en la base de datos de <https://soilgrids.org>, estas

características de suelo en donde se desarrollan podrían ser uno de los factores ambientales que explican una parte de la respuesta encontrada en el laboratorio, en el caso particular de Amel-1 la baja disponibilidad de agua y poca retención por parte del suelo han generado adaptaciones a condiciones de déficit hídrico.

2. Introducción

2.1 *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo

Arabidopsis thaliana es una planta herbácea de ciclo anual de la familia de las Brassicaceae que es utilizada como organismo modelo en biología y que ha servido para entender procesos fisiológicos, genéticos y moleculares de plantas (Cuesta y Cires, 2012). Esto se debe a que tiene una serie de atributos naturales que la hacen adecuada como modelo de estudio como son: su tamaño pequeño, lo cual permite que se cultiven muchos individuos en cámaras de crecimiento e invernaderos y su tiempo de generación corto (entre 8 y 10 semanas) bajo condiciones óptimas de luz y temperatura. Además, es una planta que se autofertiliza por lo que se pueden mantener líneas homocigotas y presenta un gran número de semillas (>1000) lo cual ayuda a hacer estudios genéticos y al mantenimiento de los semilleros. Por otro lado, el tamaño del genoma es pequeño (125 pares de megabases) y está organizado en 5 cromosomas lo que permite hacer más simple el mapeo genético. Finalmente se cuenta con una gran cantidad de mutantes disponibles para casi todos los genes de esta planta por lo que se puede determinar la función de muchos genes por medio del análisis fenotípico de mutaciones de inserción.

La investigación de *arabidopsis* en las últimas décadas se vio impulsada por la disponibilidad de la secuencia completa de su genoma (primer genoma de plantas secuenciado y publicado en el año 2000) lo cual permitió comparar la secuencia de cualquier gen de *arabidopsis* con las bases de datos y tener una aproximación a su función (Haughn y Kunst, 2010). Finalmente, *arabidopsis* ha proporcionado información valiosa en todos los aspectos de la biología moderna (Cuesta y Cires, 2012) muchos de los cuáles son válidos para otras especies vegetales tanto de monocotiledóneas como de dicotiledóneas.

2.2 Variación natural en *arabidopsis*

La variación del desarrollo que existe dentro de las especies ante diferentes condiciones ambientales de crecimiento, refleja adaptaciones a diferentes entornos naturales (Linhart and Grant, 1996). La variación se puede definir como la distribución o gama de rasgos morfológicos, fenológicos, de desarrollo y bioquímicos que se expresan dentro y entre taxones individuales (Alonso-Blanco *et al.*, 2005) y las causas que los generan, son diversas y complejas. Esta variación se puede afectar por factores genéticos, epigenéticos e influencias ambientales (Kalisz y Kramer, 2008) incluyendo todo tipo de factores abióticos como el agua, luz, temperatura, viento, humedad, disponibilidad de agua y nutrientes, así como la mayoría de los componentes bióticos del ambiente circundante (Tonsor *et al.*,

2005). Se puede decir que, las mutaciones que ocurren naturalmente en una población son la fuente primaria de la variación (Alonso-Blanco *et al.*, 2005), que éstas surgen de manera aleatoria, y que, algunas de éstas, pueden mejorar la capacidad de los organismos para sobrevivir, reproducirse y transmitirse a sus descendientes (Kerwin *et al.*, 2015).

La variación natural que existe dentro de las especies ha sido el tema principal de estudio de la genética evolutiva ya que se considera la principal fuente de variación necesaria para que se lleve a cabo un cambio evolutivo. Esta variación es importante ya que determina el potencial de adaptación de una especie a ambientes que varían en espacio y tiempo. La planta modelo *arabidopsis*, tiene cerca de 7000 diferentes accesiones que muestran una amplia gama de variaciones genéticas, rasgos morfológicos y fisiológicos y su investigación ayuda a comprender los mecanismos moleculares que subyacen a la variación fenotípica y al descubrimiento de nuevos genes que pueden explicar la variación natural. Estos análisis moleculares proporcionan una base para abordar cuestiones fundamentales de la evolución y la ecología; de manera más específica, estos análisis tratan de determinar qué mecanismos moleculares mantienen la variación fenotípica en la naturaleza. Por otro lado, la exploración de la variación natural no solo amplía el conocimiento de los genes y los mecanismos moleculares subyacentes a los procesos biológicos sino también los análisis ecológicos pueden indicar si esta variación es crítica para la adaptación de las accesiones a diferentes entornos naturales y si ésta se conserva evolutivamente (Shindo *et al.*, 2007; Weigel, 2012).

El desarrollo, supervivencia, reproducción, adecuación y evolución de las plantas está influida por un gran número de factores ambientales tales como la temperatura, luz, humedad, precipitación, concentración de O₂ y CO₂ en el aire, disponibilidad de agua en el suelo, salinidad, contaminación entre otros. Cuando una planta se enfrenta a condiciones desfavorables para su crecimiento y desarrollo estas condiciones son considerados factores de estrés los cuales pueden ser de naturaleza biótica o abiótica. La definición de estrés dada por Levitt (1980) se refiere a cualquier factor, elemento o agente potencialmente desfavorable a los seres vivos capaz de generar un cambio o disminución en el desempeño fisiológico, metabólico o molecular que no ocasiona la muerte. Los factores ambientales tienen un impacto en los organismos el cual puede generar un estrés ambiental definido por Salisbury y Ross (2000) como una parte potencial del ambiente difiere del potencial del organismo de manera que ocurre un movimiento de energía y materia generando estrés asociado a una respuesta. Por consiguiente, después de un estímulo negativo de horas o de días el desempeño fisiológico de la planta disminuye, con el tiempo la planta mejora o

recupera poco a poco su desempeño aclimatándose esto en generaciones o en tiempos evolutivos se pueden observar adaptaciones y procesos de compensación homeostática (Yepes y Silveira, 2010).

La temperatura es uno de los principales factores limitantes de la distribución de las plantas con efectos importantes en la actividad fisiológica (Sage & Kubien 2007), cada proceso de desarrollo está limitado a un rango de temperatura, las plantas terrestres se distribuyen entre 5° y 40° C, en los ecosistemas la temperatura puede alterar distintas propiedades como la tasa de crecimiento, estructura y arquitectura del dosel, profundidad de las raíces entre otras (Yepes y Silveira, 2010).

La radiación es la fuente de energía para el proceso fotosintético además promueve los procesos de apertura estomática y la tasa de difusión de CO₂, los efectos de la luz sobre la fotosíntesis pueden modificarse por la interacción con otros factores ambientales, así por ejemplo una alta intensidad lumínica puede producir daño en el aparato fotosintético el cual puede aumentar bajo condiciones de sequía y temperaturas extremas (Powles, 1980).

El suelo es la fuente en donde se encuentra la mayor parte del agua disponible para las plantas y sus características tienen efectos importantes sobre su desarrollo, supervivencia y reproducción, dichas características imponen límites de la cantidad de agua disponible en un volumen determinado de suelo y afectan la forma en que varía el potencial hídrico y la conductividad hidráulica (capacidad de velocidad de un suelo para drenar el agua), el suelo se define como un cuerpo natural que comprende a sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases; este se encuentra en la superficie de la tierra ocupando un espacio caracterizado por horizontes o capas que se distinguen como resultado de pérdidas, transferencias y transformaciones de energía y materia (Soil Survey Staff, 2014; Evans, 1983; Kramer, 1983; Salisbury y Ross, 1985).

La taxonomía de suelos es una clasificación en función de varios parámetros y propiedades que se desarrollan a nivel de orden, suborden, gran grupo, subgrupo, familia y serie. Las clases de suelo que conforman las categorías del sistema taxonómico se definen con parámetros precisos (horizontes y características diagnósticas) sin embargo estas características de diferenciación no se aplican uniformemente a un mismo nivel debido a que los horizontes de los suelos son muy variadas y complejas, la categoría más alta es el orden que consta de 12 clases de suelos definidos con criterios morfogenéticos expresados mediante los epipedones (horizontes que se forman en o cerca de la superficie de suelo en el cual la mayor parte de la estructura de roca ha sido destruida) y endopedones (horizontes que se forman en el interior del suelo), que reflejan los procesos formadores de

suelo, cada uno de estos órdenes está dividido en subórdenes los cuales están divididos con base en características asociadas de humedad y temperatura así como propiedades químicas y mineralógicas. El suborden indica la presencia o no de propiedades asociada con los regímenes de humedad de suelo, estado de descomposición de las fibras vegetales y el material parental (Soil Survey Staff, 2014).

Otro de los factores que limita la distribución y disponibilidad de agua en las plantas es la textura del suelo. La textura del suelo se define como la proporción (en porcentaje de peso) de las partículas menores a 2 mm de diámetro (arena, limo y arcilla) existentes en los horizontes de suelo y ésta puede variar de uno horizonte a otro, siendo una característica propia de cada uno de ellos. La textura en los horizontes de suelo influye en la capacidad de retención de agua para las plantas, compactación, disponibilidad de nutrientes, erosionabilidad, rendimiento de cultivos, entre otros. Las clases texturales se agrupan en cuatro grandes grupos que poseen características similares.

1) Las texturas francas tienen un mayor equilibrio de concentración entre sus componentes lo cual tiene efectos favorables para el desarrollo óptimo de la mayoría de las plantas. En contraste con esto, a medida que aumentan las fracciones de arena, limo o arcilla, se presentan inconvenientes derivados que afectan el desarrollo vegetal.

2) Los suelos arcillosos retienen una gran cantidad de agua y nutrientes debido a la microporosidad y a su elevada capacidad de intercambio catiónico; sin embargo, aunque retengan cantidades altas de agua y nutrientes presentan una permeabilidad baja.

3) Las texturas arenosas es lo contrario a las texturas arcillosas presentando niveles óptimos de aireación debido a que las partículas dominantes son de gran tamaño lo cual facilitan la penetración del aire y reduce la acumulación de materia orgánica. (Gisbert *et al*, 2009). Estos suelos permiten que el agua fluya fácilmente sin embargo el agua se evapora más rápidamente en comparación con los suelos arcillosos, como consecuencia las raíces pueden extraer agua más fácilmente, pero sufren más por la disponibilidad de agua a medida que el suelo se seca (Šimůnek y Hopmans, 2009).

4) Las texturas limosas presentan carencias de propiedades coloidales formadoras de estructura, formando suelos que se apelmazan con facilidad impidiendo la aireación y la circulación de agua, en este tipo de suelo se desarrollan con facilidad costras superficiales que impiden la emergencia de las plántulas.

2.3 Concepto de ecotipo, accesión y población biológica

Las poblaciones biológicas se definen como un conjunto de organismos de la misma especie que comparten propiedades biológicas que ocasionan una alta cohesión reproductiva que se refiere al intercambio de material genético entre los individuos y una cohesión ecológica que tiene que ver con las interacciones entre los individuos que comparten requerimientos similares para la reproducción y supervivencia (Morlans, 2004). En las primeras etapas, la investigación en *arabidopsis* y la caracterización fenotípica de las plantas recolectadas de diferentes regiones geográficas, reveló una variación genética considerable debido a que *arabidopsis* es una especie que se autofertiliza por lo que, la mayoría de las plantas recolectadas representan líneas endogámicas que son prácticamente homocigóticas (Redei, 1970). Estas líneas homocigóticas se conocen comúnmente como ecotipos este término se refiere a poblaciones de la misma especie adaptadas a sus condiciones ambientales locales (Turensen, 1922; (Redei, 1970). Sin embargo, el uso de esta palabra con respecto a las poblaciones naturales de *arabidopsis* no se ajusta estrictamente a su definición ecológica y en la actualidad, su significado ecológico se ha perdido; por lo tanto, el término más adecuado para llamar a las poblaciones naturales de *arabidopsis* es accesión, ya que a menudo se usa en colecciones de germoplasma para referirse al genotipo de una especie recolectada en un lugar específico (Weigel, 2012).

2.4 Sistema de Arquitectura Radicular

El suelo es el espacio en donde las plantas terrestres se desarrollan la mayor parte de sus raíces, en donde absorben agua y nutrientes. (Sato & Miura 2011). Se trata de un medio complejo de moléculas con alta espacialidad y variabilidad ambiental temporal en una amplia gama de escalas (Harper *et al.*, 1991). La configuración espacial de las raíces se conoce comúnmente como arquitectura de la raíz y, el grado de ramificaciones, determina la eficiencia de absorción de agua, la adquisición de minerales y nutrientes, así como su anclaje al suelo (Péret *et al.*, 2009). El sistema de arquitectura de la raíz (SAR) de las plantas dicotiledóneas consiste en una raíz primaria (RP) derivada de la radícula del embrión, raíces laterales (RL) que se originan a partir de células del periciclo de la RP y los pelos radicales que son prolongaciones de algunas células de la epidermis (Petricka *et al.*, 2012). El SAR aborda dos conceptos importantes del desarrollo de la raíz, la forma del sistema radicular y su estructura; la forma define la ubicación de las raíces en el espacio y el camino que ocupan en el suelo y su cuantificación se logra generalmente midiendo

variables como la profundidad que llega a abarcar la raíz, así como el volumen que ocupan las raíces laterales en el suelo. En contraste, la estructura de la raíz describe la variedad de los componentes que constituyen a la misma (raíz primaria, raíces secundarias y pelos radicales) (Clarkson, 1996). Las plantas pueden optimizar la arquitectura de su raíz mediante cambios en el inicio de los primordios de las raíces laterales, influyendo en el crecimiento de las raíces primarias o laterales por medio del control coordinado de dos programas genéticos endógenos (reguladores de crecimiento y organogénesis) y de la acción de los factores bióticos y abióticos (Malamy, 2005). De tal manera que, cuando una planta está creciendo en condiciones de estrés abiótico, las raíces exhiben respuestas morfogenéticas comunes que pueden ser consideradas como una “respuesta morfogenética genérica al estrés” (SIMR) y consta de tres componentes: (a) la inhibición de la elongación de las células, (b) la estimulación localizada de la división celular y (c) alteraciones en el estado de la división celular. Todo esto sugiere que, las similitudes en las respuestas morfogenéticas inducidas por distintos tipos de estrés, parecen responder a procesos moleculares similares (Potters *et al.*, 2007). La SIMR inducida por estrés es en parte una estrategia general de aclimatación, mediante la cual se redirige el crecimiento de las plantas para disminuir la exposición al estrés (Potters *et al.*, 2009). La dinámica de respuesta a esta condición de estrés proviene tanto del crecimiento de la raíz como de procesos fisiológicos que dan como resultado una variabilidad temporal y espacial de respuesta a estrés, dando una amplia diversidad entre raíces dentro de un sistema radicular y la heterogeneidad del suelo aumenta aún más esta variabilidad de respuesta en la arquitectura de la raíz (Hodge *et al.*, 2009). El sistema radicular puede considerarse como un proceso evolutivo en respuesta a dicha variabilidad espacio temporal en el suministro de recursos y restricciones asociadas al crecimiento (Harper *et al.* 1991).

2.5 La raíz primaria de *Arabidopsis thaliana*

Las raíces de las plantas son órganos en donde su nutrición depende de la fotosíntesis producida por las hojas; sin embargo, la fotosíntesis depende del agua y de los minerales captados por la raíz, siendo ésta un órgano vegetal involucrado en diversos procesos que le permiten a las plantas sobrevivir. Debido a que las plantas son organismos sésiles, la estrategia para explorar el suelo para la captación de nutrientes y agua es el desarrollo de la raíz primaria, la formación de nuevas raíces y la formación de pelos radicales (Sato y Miura, 2011; Pérez *et al.*, 2009). El estudio del desarrollo de la raíz ha avanzado mediante el uso del sistema modelo de *Arabidopsis* que permite hacer, por un lado, análisis

cuantitativos de las tasas de proliferación y diferenciación celular y como se mantiene la homeostasis entre las mismas y, por el otro lado, estudiar tanto la organización longitudinal como la transversal que son relativamente simples y permiten observar diferentes etapas de desarrollo a lo largo de eje del ciclo de vida de la planta (Pacheco *et al.*, 2016).

2.6 Tipos celulares y dominios a lo largo del eje longitudinal de la raíz primaria

Las células de las plantas se originan a partir de los meristemas apicales en donde las células madres continuamente generan nuevas celdas y cada célula pasa por varios ciclos mitóticos antes de abandonar el meristemo para posteriormente entrar a procesos de diferenciación (Verbelen *et al.*, 2006). La estructura simple y el patrón de desarrollo de la raíz de *Arabidopsis* lo convierten en un modelo ideal para entender estos procesos de proliferación y diferenciación vegetal (Tapia-López *et al.*, 2008; Cederholm *et al.*, 2012; Garay-Arroyo *et al.*, 2013). La raíz se divide en tres zonas: la zona de proliferación, la zona de elongación y la zona de maduración. El RAM (por sus siglas en inglés Root Apical Meristem) está compuesto por dos dominios celulares: el dominio de proliferación y el dominio de transición. En el dominio de proliferación se encuentra el nicho de células troncales en donde cada célula o tejido se origina de células iniciales ubicadas en la punta de la raíz: estas células se mantienen en un estado indiferenciado debido a señales que derivan del CQ (centro quiescente) (Cederholm *et al.*, 2012). En el dominio de transición, las células se vuelven competentes para llevar a cabo un proceso de elongación activa al adquirir la citoarquitectura necesaria y determinadas propiedades metabólicas y fisiológicas. Las células de este dominio presentan una alta sensibilidad a diversos factores ambientales como son la luz, la humedad, el oxígeno y la gravedad (Verbelen *et al.*, 2006). Se ha visto que es necesario para las células estar un determinado tiempo en la zona de transición para adecuar la fisiología de la raíz ya que estas no pueden comenzar a alargarse inmediatamente debido a que no tienen las vacuolas necesarias que conducirán el alargamiento celular, no tienen las propiedades mecánicas necesarias en las paredes celulares para la expansión y requieren de reorganizar drásticamente el citoesqueleto ya que en las células post mitóticas que abandonan el meristemo los microtúbulos corticales no están completamente ordenados en matrices transversales y sus filamentos de actina no están organizados en haces longitudinales (Verbelen *et al.*, 2006). Las células que se encuentran en la parte proximal de la zona de transición comienzan a alargarse mientras que las células que se encuentran en la parte más distal tienen la capacidad de regresar a la actividad del ciclo celular; estas características hacen que la zona de transición sea una

especie de reservorio dinámico de desarrollo que permiten un ajuste rápido de crecimiento dependiendo de las demandas hacia los desafíos provocados por los factores bióticos y abióticos. En la zona de elongación la longitud celular aumenta un 300% aproximadamente, esta elongación comienza cuando las células salen de la zona de transición y cuando los tricoblastos inician las excrecencias de los pelos radiculares (Verbelen *et al*, 2006). Y por último se encuentra la zona de maduración en donde las células alcanzan su tamaño final (Ivanov y Dubrovsky, 2013).

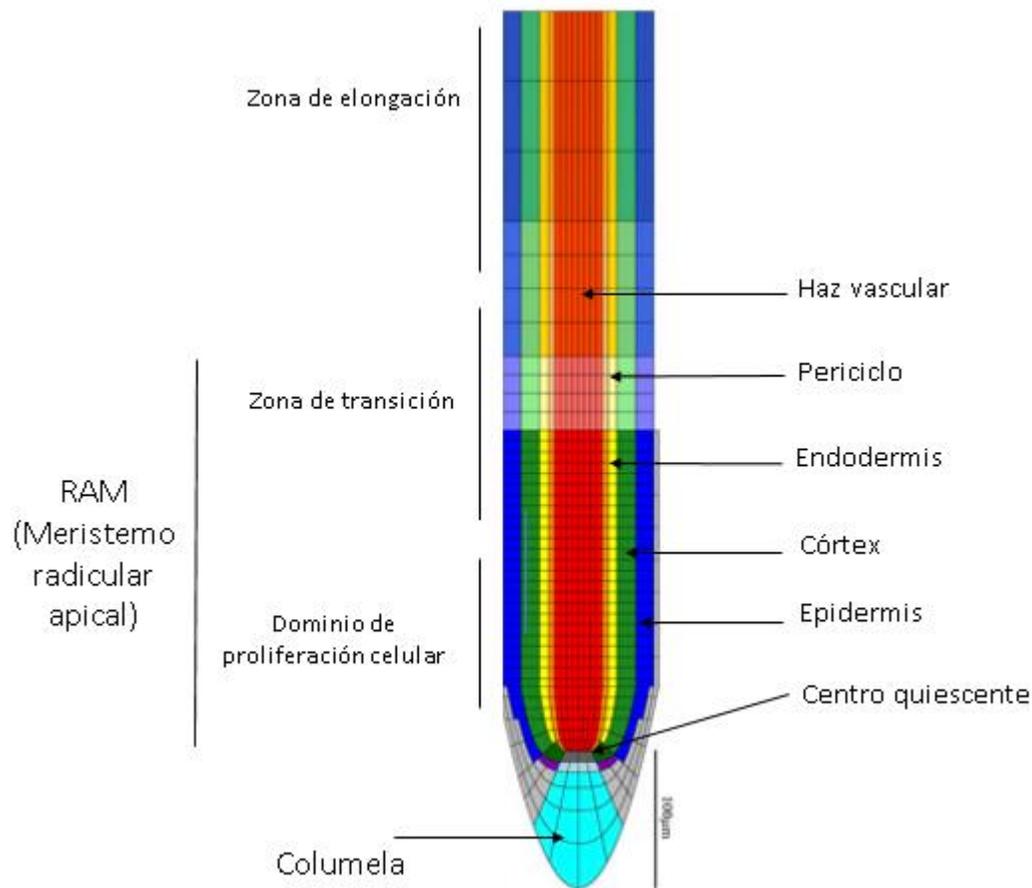


Figura 1. Clasificación de las distintas zonas que conforman la raíz primaria de *Arabidopsis thaliana*. En la parte apical se encuentra el meristemo radicular apical (RAM) el cual está conformado por dos zonas el dominio de proliferación celular y la zona de transición, seguido de la zona de elongación. Tomado y modificado de Di-mambro *et al*, 2017.

2.7 Plasticidad de la raíz

El crecimiento y desarrollo vegetal involucra la integración de señales ambientales y endógenas las cuales, junto con un programa genético intrínseco, determinan la morfofisiología de la planta (Gray, 2004). El desarrollo de las plantas no sigue un plan estrictamente predefinido ya que es continuamente susceptible a las modificaciones que surgen debido a las interacciones con el ambiente, este fenómeno que se conoce como plasticidad fenotípica (Robinson, 1994), la cual se define como la capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente (Schmalhausen, 1949) y esto ocurre a una escala ecológica siendo una de sus consecuencias el aumento de la tolerancia a hábitats extremos (Sultan, 1995). Por otro lado, sus consecuencias evolutivas pueden ser importantes ya que podría moderar las diferencias en la adecuación biológica de los genotipos de una población dada, como resultado de la expresión de su variación fenotípica en los diferentes ambientes experimentados por la población (Sultan, 1987).

2.8 Mecanismos de osmorregulación y transporte de agua

El agua es la molécula esencial para la vida; en las plantas constituye aproximadamente del 80% al 95% de la masa de los tejidos vegetales, es el solvente más abundante y mejor conocido que permite el movimiento de las moléculas dentro y entre las células. Además, las propiedades del agua, como su polaridad, tienen influencia en la estructura y la estabilidad de las moléculas como las proteínas y los polisacáridos, entre otras (Kirkham, 2005). El agua viaja desde las zonas en donde el potencial hídrico es mayor (menos negativo) hacia las zonas en donde es menor (más negativo) y el potencial hídrico se puede definir como la tendencia del agua a fluir desde un área hacia otra debido a procesos de osmosis, gravedad, presión mecánica o efectos matricos (Taiz y Zeiger, 2006). Por otro lado, se sabe que, la regulación de la osmolaridad, de los procesos mecánico elásticos de la membrana plasmática y de la presión hidrostática, son procesos críticos que determinan el funcionamiento celular.

La fórmula para calcular el potencial hídrico (ψ_w) es:
$$\psi_w = \psi_s + \psi_p + \psi_g + \psi_m$$

El término ψ_s se refiere al potencial osmótico que representa el efecto de los solutos disueltos sobre el potencial hídrico; estos solutos disminuyen la energía del agua debido a la disolución del mismo. En este caso, la mezcla de solutos y el agua aumenta el desorden

del sistema y disminuye la energía libre del agua así que, la interacción del agua con los solutos disueltos, tiene un efecto negativo sobre el potencial hídrico debido a que disminuye la cantidad libre de agua disponible en el sistema (Zyalalov, 2004). Por otro lado, el término ψ_p indica la presión hidrostática de la solución en donde, las presiones positivas aumentan el potencial hídrico, mientras que las presiones negativas lo reducen. La presión hidrostática positiva en las células vegetales se llama presión de turgencia y los valores negativos pueden producir una tensión hidrostática o presión negativa como ocurre en el xilema y en las paredes entre células vecinas. Además, el término ψ_g representa la influencia del campo gravitatorio siendo este el responsable de movilizar el agua de abajo hacia la parte aérea. Finalmente, el término Ψ_m representa el grado de retención del agua, debido a las interacciones con matrices sólidas o coloidales (Taiz y Zeiger, 2006). La cantidad limitada o excesiva de agua, constituye un factor inductor de situaciones estresantes tanto en plantas como en animales (Moreno, 2009; Squeo, 2007)

2.9 Estrés hídrico

En los sistemas biológicos se ha adoptado el concepto de tensión-deformación para analizar los procesos que ocurren cuando un organismo se encuentra sometido a una situación de estrés. Este último término en los seres vivos se refiere a cualquier factor externo capaz de producir una deformación potencialmente nociva en un organismo (Levitt, 1980). Uno de los factores que genera un estrés en las plantas es la sequía, este un fenómeno meteorológico que se define como la falta de lluvias durante un periodo suficiente para ocasionar el agotamiento parcial o total del agua disponible en el suelo siendo un factor ambiental capaz de ocasionar un estrés hídrico (Kramer, 1983; Salisbury y Ross, 1985). El estrés por déficit hídrico se define como una situación del entorno donde el potencial hídrico de la planta y, por lo tanto, la turgencia se reduce lo suficiente restringiendo el desarrollo, la supervivencia, la reproducción y la distribución de las plantas (Hong-Bo *et al.*, 2008; Yoshida *et al.*, 2014). En los ecosistemas, la baja disponibilidad de agua puede ser el resultado de diversos factores como son: la escasa precipitación, la baja capacidad de retención del agua en el suelo, las temperaturas extremas, las elevadas concentraciones salinas, la baja presión atmosférica o la interacción entre estos distintos factores (Nilsen y Orcutt, 1996). Cada uno de estos factores puede generar un estrés hiperosmótico que se caracteriza por un incremento en la concentración de solutos en el medio externo y el descenso en la presión de turgencia por pérdida de agua intracelularmente (Zyalalov, 2004).

El estrés salino implica diversos cambios en los procesos fisiológicos y metabólicos dependiendo de la severidad y la duración (Gupta y Huang, 2014). El principal efecto fisiológico de la salinidad sobre las plantas es la reducción del crecimiento debido a un efecto osmótico inducido por la disminución del potencial osmótico del medio, una toxicidad específica normalmente asociada con la absorción excesiva de iones de Na^+ y de Cl^- y un desequilibrio nutricional debido a la interferencia de los iones salinos con los nutrientes esenciales (Zhu, 2001). El estrés por salinidad también se considera un estrés hiperiónico debido a que la entrada de iones de Na^+ y de Cl^- en las células causa un gran desequilibrio y exceso de iones, en donde la alta concentración de Na^+ inhibe la captación de iones de K^+ que es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, existiendo diversos mecanismos fisiológicos y bioquímicos para sobrevivir en suelos con altas concentraciones salinas en donde los principales mecanismos incluyen la homeostasis iónica y compartimentalización, transporte y captación de iones, biosíntesis de osmoprotectores y solutos compatibles, síntesis de compuestos antioxidantes y poliaminas (Gupta y Huang, 2014).

El crecimiento en las plantas es un proceso fisiológico que se ve afectado por la baja disponibilidad de agua debido a que el crecimiento celular es causado por la expansión celular que está regulada, principalmente, por la presión de turgencia. La presión de turgencia es la fuerza física del agua contenida principalmente en la vacuola ejercida sobre la membrana y la pared celular, está se mantiene mediante la regulación osmótica a través de sustancias osmóticamente activas como iones y osmolitos compatibles, como azúcares y aminoácidos, que se adquieren o se sintetizan dentro de la célula (Lebaudy *et al.*, 2008).

2. 10 Respuestas frente al estrés hídrico

La susceptibilidad de las plantas a ambientes extremos ha impulsado la evolución de una amplia gama de mecanismos de resistencia y tolerancia al estrés (Mahalingam *et al.*, 2005). Las condiciones ambientales en las que se desarrollan las plantas, desencadenan una serie de respuestas que van desde la expresión de genes y cambios en el metabolismo celular a cambios en la tasa de crecimiento; estas reacciones de las plantas existen para eludir los efectos nocivos causados por diversos tipos de estrés tanto bióticos como abióticos (Hong-Bo *et al.*, 2008). Una de las principales respuestas moleculares antes una situación de estrés, es la modificación en la expresión de genes que codifican para proteínas que participan en la producción de enzimas claves para la síntesis de osmolitos, proteínas con funciones protectoras, enzimas antioxidantes, factores de transcripción, entre

otras (Bray, 1997; Zhu *et al.*, 2002). Las respuestas a nivel molecular y celular incluyen el ajuste en el transporte iónico y cambios metabólicos que se inducen tras la regulación de la expresión génica. Las proteínas codificadas por los genes inducibles por estrés, se han clasificado en dos grupos: 1) genes que codifican a proteínas que protegen directamente a la planta contra el estrés y que funcionan para proteger a las células de la deshidratación; dentro de este grupo tenemos a las enzimas requeridas para la síntesis de distintos osmoprotectores, a las proteínas LEA, a las proteínas anticongelantes y a las chaperonas 2) genes reguladores que participan en la regulación de la expresión génica y la transducción de señales en respuesta a un estrés incluyendo a los factores de transcripción, las proteínas cinasas y las enzimas involucradas en el metabolismo de los fosfoinosítidos. La importancia de los genes inducibles por estrés permite comprender los mecanismos moleculares de tolerancia al estrés y las respuestas por parte de las plantas (Avni *et al.*, 2015).

A nivel fisiológico, un mecanismo de resistencia a la baja disponibilidad de agua, es el cierre de estomas ya que estos son los responsables de la mayor pérdida de agua en las plantas (Taiz y Zeiger, 2006). El proceso del cierre de estomas ocurre debido a la deshidratación del mesófilo en la hoja en donde se ha visto que se acumula la fitohormona ABA (Zhang y Outlaw, 2001). El ABA induce el cierre de los estomas mediante cambios en el potencial de membrana debido a la pérdida de iones K^+ (calculada en 4-8 veces de disminución, desde 400-800 mM hasta 100 mM) y de aniones Cl^- o malato²⁻ en las células guarda. Todo lo anterior provoca una salida de agua del citoplasma dando lugar al cierre estomático (Roelfsema y Hedrich, 2002).

Al igual que en las células guarda, las otras células de la planta también llevan a cabo un ajuste osmótico que, en este caso, consiste en una disminución del potencial hídrico en los tejidos vegetales a través o de la biosíntesis de osmolitos orgánicos de bajo peso molecular que no afectan la funcionalidad de macromoléculas celulares llamados solutos osmóticamente compatibles que se acumulan principalmente en el citoplasma como polioles (azúcares), metilaminas, aminoácidos libres y derivados de aminoácidos (Yancey *et al.*, 1982) que, además de regular la presión osmótica sobre macromoléculas como las proteínas y los sistemas de membrana celulares no afectan el funcionamiento de las macromoléculas a pesar de acumularse en altas concentraciones (Buchanan *et al.*, 2000) y por la acumulación de iones (principalmente en la vacuola), fundamentalmente el K^+ (Cushman, 2001). La sobre-expresión de este tipo de compuestos ha sido usada para proteger a las plantas de los efectos causados por el estrés osmótico, obteniéndose

resultados positivos en varias especies (Ashraf y Foolad, 2007). Esto ayuda a mantener niveles altos de turgencia ya que, al bajar el potencial osmótico, se disminuye también el potencial hídrico y se favorece la entrada del agua a las células (Yancey *et al.*, 1982).

3. Antecedentes inmediatos

En el laboratorio de Genética, Molecular, Epigénética, Desarrollo y Evolución de Plantas en el Instituto de Ecología de la UNAM se ha caracterizado el crecimiento de la raíz primaria en condiciones control y de estrés osmótico en distintas accesiones de *Arabidopsis thaliana*. En la tesis de licenciatura de la M. en C Pamela Aceves García en 2015 trabajaron con 12 accesiones (Cvi-0, Ws, FR-2, HR5, Ove-0, Ta-0, Bay-0, Se-0, Sha, Ler, Col-0 y CIBC10) en condiciones control encontrando variabilidad fenotípica en el crecimiento de la raíz primaria, sus resultados mostraron que las accesiones presentan tamaños de la raíz significativamente diferentes, lo cual puede deberse en los tiempos de protusión radicular o en la tasa de crecimiento de la raíz primaria. Al realizar cinéticas de crecimiento encontraron que es muy similar en las accesiones hasta el quinto día, conforme avanza el tiempo el crecimiento de la raíz comienza a divergir demostrando que la mayoría mantienen constante su crecimiento como las accesiones Col-0 y CIBC10 teniendo un tamaño de la raíz proporcional a su tasa de crecimiento, sin embargo las accesiones de la raíz corta (Cvi-0 - 3.54 cm y Ws - 3.66 cm) mostraron una desaceleración en su tasa de crecimiento exhibiendo un patrón no lineal entre el tamaño de la raíz primaria y su tasa de crecimiento. En este trabajo encontraron que entre las accesiones el tamaño de la raíz no siempre va a ser determinado por la longitud del meristemo ya que este tamaño también está siendo influenciado por eventos que ocurren en la zona de elongación y/o diferenciación (Aceves, 2015). Por otro lado, en la tesis de la M. en C Wendy Cajero Sánchez, se analizó la variación fenotípica de la raíz primaria en condiciones control y de estrés osmótico para quince accesiones (Bch-4, Bu-5, Bur-0, Col-0, Cvi-0, Fr-5, Hr-5, Ler-1, LI,1, Sh-0, Sg-2, Ta,0, WI-1, Ws y Zu-0) encontrando de igual manera una amplia variación en el tamaño de la raíz primaria. La accesión Ler-1 tuvo la mayor afectación en el crecimiento de su raíz primaria con un porcentaje de 24% en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol) comparándolo con respecto a su control y su accesión con menor afectación fue Zu-0 con un porcentaje de crecimiento de 62% en estrés osmótico. En este mismo trabajo realizaron un análisis cuantitativo celular midiendo células del córtex distinguiendo las distintas zonas que componen la raíz primaria (zona meristemática, dominio de proliferación, dominio de transición y la zona de elongación) en seis accesiones (Col-0, Cvi-0, Ler-1, Sg-1, Ws y Zu-

0) con el objetivo de conocer cómo se alteran las tasas de proliferación y diferenciación celular en las accesiones, este análisis mostró que el parámetro más afectado en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol) fue el dominio de proliferación y el parámetro menos afectado fue el dominio de transición en donde las accesiones Zu-0 y Sg-2 se afectaron menos en todos parámetros evaluados (Cajero, 2018).

A partir de 113 accesiones de *Arabidopsis thaliana* (tabla 4, apéndice) donadas por el Ulises Yunuén Rosas López del Instituto de Biología, UNAM al Laboratorio de Genética, Molecular, Epigenética, Desarrollo y Evolución de Plantas del Instituto de Ecología de la UNAM se tomaron trece accesiones (tabla 1) provenientes de seis países distintos, recolectadas en distintos sitios, los cuales tienen características ambientales propias, lo cual da lugar a diferencias en los factores bióticos y abióticos, estas diferencias pueden o no dar lugar a adaptaciones locales lo cual podría explicar una parte de la respuesta diferencial obtenida en trabajos anteriores así como este mismo trabajo.

Tabla 1. Caracterizaciones geográficas de las accesiones utilizadas en este trabajo.

Accesión	ID	País	Latitud	Longitud	Altitud (m)
Nd-1	CS22619	Alemania	50.30 N	9.50 E	312
Baa-1	CS78188	Países Bajos	51.30 N	6.10 E	25
Or-0	CS78288	Alemania	50.38 N	8.011 E	166
Br-0	CS22628	Republica Checa	49.20 N	16.61 E	218
Col-0	-	Alemania	47.98 N	10.87 E	623
Pu2-7	CS22592	Republica Checa	49.42 N	16.36 E	493
Bla-1	CS76097	España	41.68 N	2.80 O	113
Drall-1	CS78427	Republica Checa	-	-	-
Chat-1	CS78208	Francia	48.07 N	1.33 E	144
An-1	CS78184	Francia	45.90 N	6.10 E	510
Kondara	CS22651	Tajikistan	38.48 N	68.49 E	917
Is-0	CS78453	Alemania	50.50 N	7.50 E	269
Amel-1	CS78182	Países Bajos	53.44 N	5.73 E	0

4. Justificación

Las accesiones de *Arabidopsis thaliana* se han utilizado como modelo para estudiar la variación fenotípica y los mecanismos que la generan y la mantienen, ya que las distintas poblaciones de *Arabidopsis* provienen de diferentes sitios geográficos con diferencias en los factores ambientales generando variabilidad entre las distintas poblaciones. Esta variación deriva de polimorfismos que alteran la expresión génica y dan lugar a diferencias morfológicas y fisiológicas. Por lo que, el estudio de las accesiones, permite identificar aquellas variantes alélicas que están adaptadas a un determinado ambiente y nos ayudará a entender los procesos y los mecanismos que ocurren en las poblaciones que han permitido los cambios evolutivos a través del tiempo. Con este enfoque, e integrando información de diversas ramas de la biología como la genética, biología molecular, ecología, sistemática, biogeografía entre otras permitirá entender los procesos biológicos que ocurren en los organismos y como evolucionaron. La raíz se ha estudiado de manera extensa en *Arabidopsis* para Col-0, Ler-1 y Ws, sin embargo, existe poca información para el resto de las accesiones por lo cual la caracterización fenotípica resulta un trabajo preliminar para encontrar aquellas que tengan diferencias en su respuesta diferencial a una condición dada, para posteriormente realizar análisis más profundos que permitan responder que diferencias están ocurriendo en procesos biológicos. Esta variación natural es considerada la fuente principal para que ocurran cambios en las especies en términos evolutivos, lo cual permite entender cómo actúan las fuerzas evolutivas en las poblaciones y el papel que juegan los factores bióticos y abióticos del medio circundante. Por lo cual en este trabajo tiene como objetivo generar información en la caracterización fenotípica para distintas accesiones usando la raíz como modelo de estudio para una condición de estrés hídrico, buscando aquellas que tengan respuestas contrastantes para posteriormente realizar estudios genéticos y moleculares que expliquen su respuesta diferencial. De igual manera se conocerán las características de diversos factores ambientales de los sitios de recolección de las accesiones intentando encontrar alguna característica ambiental particular que esté relacionada con el estrés osmótico.

Pregunta de investigación

¿La variación natural presente en distintas accesiones de la raíz primaria en respuesta a estrés osmótico refleja adaptaciones de las condiciones ambientales propias de cada ecosistema?

5. Hipótesis

Los componentes de la arquitectura de la raíz se afectarán menos, así como la capacidad de recuperación y resiliencia será mayor en condiciones de estrés osmótico, en las accesiones que provengan de sitios en donde la disponibilidad de agua es baja.

6. Objetivos

6.1 Objetivos generales

- Conocer el efecto del estrés osmótico en el sistema radicular sobre distintas accesiones de *Arabidopsis thaliana*.

6.2 Objetivos particulares

- Estudiar el efecto de estrés osmótico sobre la raíz primaria en 13 accesiones y seleccionar aquellas que presenten más y menos afectación en el crecimiento de estrés osmótico con respecto a una condición sin estrés.
- Identificar los componentes de la arquitectura de la raíz que responden a estrés osmótico, describiendo su variación natural y la dinámica de cambio que conduce a la redistribución y morfología de la arquitectura de la raíz.
- Evaluar la capacidad de resiliencia y recuperación de algunas de las accesiones que se evaluarán en función de estar más y menos afectadas en el crecimiento de la raíz primaria, en condiciones severas de estrés osmótico.
- Conocer las características ambientales de los sitios en donde fueron colectadas las accesiones de *arabidopsis* y si su respuesta a estrés osmótico se debe, en parte, a las adaptaciones que presentan ante las condiciones ambientales en donde habitan.

7. Metodología

7.1 Condiciones de crecimiento

Se utilizaron 113 accesiones de *Arabidopsis thaliana* (tabla 4, apéndice) donadas por el Dr. Ulises Yunuén Rosas López del Instituto de Biología, UNAM. Para la esterilización de las semillas se siguió el siguiente protocolo: se desinfectaron las mismas con etanol al 100% durante 5 minutos en agitación constante para posteriormente ponerlas en una solución de cloro al 5% / SDS 1%. Esto se mantuvo durante 13 minutos en agitación constante a temperatura ambiente y luego se realizaron tres series de lavados con agua estéril. Las semillas desinfectadas fueron estratificadas en tubos de microcentrífuga con agua estéril durante cinco días a 4°C en oscuridad.

Una vez transcurrido el tiempo de estratificación, las semillas se sembraron en cajas de Petri verticales con medio MS que contiene: MS al 0.2X, MES monohidratado al 0.05%, sacarosa al 1% y agar al 1% a un pH ajustado de 5.6 con 1M de KOH. Las cajas de Petri fueron transferidas a cámaras de crecimiento Percival a 22 °C en condiciones de día largo (16 horas de luz y ocho horas de oscuridad) con un nivel de iluminación entre 7000 - 11000 luxes.

7.2 Ensayo de estrés osmótico

Se realizó un análisis preliminar con las 113 accesiones (n=5) en colaboración con Brenda Garduño Sánchez, con el objetivo de encontrar aquellas que tuvieran mayor, menor y respuesta intermedia en el porcentaje de crecimiento de la raíz primaria con respecto a su control seleccionando 13 accesiones para caracterizarlas con una n=30, cuatro que presentaron la mayor disminución en el crecimiento de la raíz primaria (Nd-1, Chat-1, Pu2-7 y Or-0), cinco que presentaron una respuesta intermedia en el crecimiento de la raíz primaria (Col-0, An-1, Bla-1, Baa-1 y Kondara) y por último cuatro que presentaron la menor disminución en el crecimiento de la raíz primaria (Br-0, Drall-1, Amel-1 y Is-0).

Las plantas se dejaron crecer durante cinco días postsiembra (dps) en condiciones control de crecimiento para posteriormente ser transferidas a cajas de Petri con medio MS 0.2X para el control y medio MS 0.2X adicionado con 300 mM de Manitol para el tratamiento de estrés osmótico durante siete días. Únicamente se utilizaron aquellas plantas que germinaron durante los primeros dos días después de la siembra.

Se realizó una distribución de frecuencias para las 113 accesiones en condiciones control y en porcentaje de estrés osmótico a partir de la regla de Sturges para determinar el número de clases, así como la amplitud.

Regla de Sturges = $1+3.332*\log N$

Amplitud = $\text{valor máximo} - \text{valor mínimo} / 1+3.332*\log N$

A partir del ensayo de estrés osmótico con 300 mM de manitol se eligieron tres accesiones; la que no presentó ninguna disminución en el crecimiento de la raíz primaria (Amel-1), la que presentó mayor disminución en el crecimiento de la raíz primaria (Nd-1) y Col-0 de referencia, con el objetivo de conocer su respuesta en condiciones más severas de estrés osmótico medio MS 0.2X adicionado con 400 mM y 500 mM de manitol y en condiciones de estrés iónico en medio MS 0.2X adicionado con 100 mM de NaCl. La metodología fue la misma del apartado anterior únicamente con diferencias en las concentraciones de manitol y NaCl.

7.3 Medición de raíces

Una vez terminado los distintos experimentos en estrés osmótico y salino, así como su control se digitalizaron las cajas de Petri con un escáner a 400 dpi de resolución y, para determinar la longitud de la raíz primaria, se utilizó el programa ImageJ. Con estas medidas, se determinó cuáles eran las accesiones en donde la longitud de la raíz primaria se afectaba más y menos en condiciones de estrés osmótico para lo cual se obtuvo el porcentaje de crecimiento en manitol con respecto a su crecimiento en condiciones control. Se realizaron análisis estadísticos para cada accesión comparando el crecimiento de la raíz principal en condiciones control contra el tratamiento (estrés osmótico), las pruebas estadísticas utilizadas para cada accesión se eligieron dependiendo de los supuestos de normalidad y homocedasticidad de varianzas, las pruebas paramétricas se utilizaron para poblaciones con distribución normal y dependiendo de la homocedasticidad de varianzas se realizó un t de Welch cuando no se cumplía el supuesto y t de Student cuando se cumplía el supuesto. Se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney para las poblaciones que no cumplían con el supuesto de normalidad. Doce de las accesiones tuvieron diferencias significativas en el crecimiento de la raíz principal para el control y las condiciones de estrés osmótico, la única accesión que no presentó diferencias significativas fue Amel-1 con un valor de P de $0.369 > 0.05$ (tabla 5, apéndice) utilizando el software estadístico R.

7.4 Ensayo de recuperación en tierra

Se desinfectaron y estratificaron tres accesiones (Nd-1, Col-0 y Amel-1) siguiendo la metodología del apartado 5.1, las semillas se sembraron en cajas Petri verticales durante cinco días con medio MS 0.2X para posteriormente ser transferidas durante 18 días a medio MS 0.2X adicionado con 400 mM de manitol. Una vez transcurrido el tiempo en condiciones severas de estrés osmótico a las plántulas se les dio un periodo de recuperación en donde se volvieron a transferir a condiciones óptimas con medio MS 0.2X durante siete días para finalmente ser plantadas en tierra (peat moss / vermiculita; 3:1) durante doce días. Se evaluó la tasa de sobrevivencia a partir del número de individuos vivos al final del ensayo y la recuperación en tierra.

7.5 Arquitectura de la raíz

Se utilizaron dos accesiones de arabisopsis (Amel-1 y Col-0) las cuales fueron desinfectadas y estratificadas siguiendo el mismo protocolo del apartado 5.1, para posteriormente sembrarlas en cajas de Petri verticales con medio MS al 0.2 X durante cinco días. Las plántulas después del día cinco post-siembra fueron transferidas a condiciones control de crecimiento (MS 0.2X), así como a dos tratamientos de estrés osmótico (MS 0.2X adicionado con 100 y 200 mM de manitol), durante seis días. Posteriormente, las placas fueron digitalizadas con escáner durante los días 3, 5, 7, 9 y 11 a 400 dpi de resolución y se llevaron a cabo tres experimentos independientes con cuatro plántulas por tratamiento (n=12). De estas plantas, se midió la longitud de la raíz primaria, la longitud promedio de las raíces laterales y el número de las raíces laterales. Los fenotipos de la raíz se cuantificaron usando el software ImageJ. La metodología utilizada para este experimento se tomó del artículo de Julkowska y colaboradores (2014). Se realizaron pruebas de normalidad (test de Shapiro) y prueba de homocedasticidad de varianzas (test de Bartlett) para posteriormente realizar una anova de una vía para cada accesión con un nivel de confianza de 0.95 con una prueba post-hoc de Tukey utilizando el software estadístico R.

7.6 Variables ambientales y características de suelo

Se obtuvieron las coordenadas de recolecta de las 13 accesiones utilizadas en este proyecto de la base de datos de The Arabidopsis Information Resource (TAIR) y se descargaron los datos de cuatro variables ambientales (precipitación, radiación solar, temperatura y humedad relativa) de la versión 2.0 que tiene datos climáticos mensuales promedio de 1970 al 2000, a una resolución de 30 segundos que es equivalente a 1 km² de

la base de datos: <http://www.worldclim.org/> (Fick y Hijmans, 2017). Se extrajeron los datos de dichas variables con el programa ArcGIS 10.2.1 con ayuda del Biólogo José Gerardo Rodríguez Tapia de la unidad de Geomática en el Instituto de Ecología UNAM.

Por otro lado, se obtuvieron las siguientes características de suelo: fracción de arena, limo y arcilla clasificación de suelo a nivel de orden y suborden a una profundidad de 15 cm de suelo de la página <https://soilgrids.org> utilizando las coordenadas de recolección de las accesiones, los datos se encuentran a una escala de 1 km². Con las fracciones de arena, limo y arcilla se obtuvo la composición textural de los suelos utilizando el diagrama textural (figura 32, apéndice) del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).

8. Resultados

8.1 Variación en el crecimiento en la raíz primaria en condiciones control y de estrés osmótico para distintas accesiones de *Arabidopsis thaliana*

Con el objetivo de conocer la respuesta en condiciones severas de estrés osmótico se realizó un análisis preliminar con 113 accesiones (apéndice), midiendo la longitud de la raíz primaria en condiciones control (Medio MS 0.2X) comparándolo con respecto a su tratamiento de estrés osmótico (Medio MS 0.2X adicionado con 300 mM de manitol) con una n=5 para el control y el tratamiento en estrés osmótico respectivamente, para seleccionar las accesiones más afectadas, menos afectadas y de respuesta intermedia para su posterior caracterización con una n de 30. La variación de la longitud de la raíz primaria en condiciones control para las accesiones (Figura 2) fue muy amplia teniendo tres (Kyl-1, Amel-1 y C24) con una raíz corta que van de 1.85 cm a 2.76 y de igual manera dos accesiones (Lov-1 y Da-0) con raíces largas que van de los 8.5 cm a los 9.5 cm, la mayoría de las accesiones se distribuyen en rangos de longitud entre 4.6 cm a 7.33 cm. Por otro lado, la variación de la longitud de la raíz primaria en condiciones de estrés osmótico (Figura 3) fue diferente ya que la mayoría de las accesiones crece en rangos que van de 6.4% a 30% de lo observado en condición control, teniendo pocas accesiones con porcentajes elevados de crecimiento en estrés osmótico, teniendo una sola accesión Amel-1 con un porcentaje de crecimiento de 62.5%. Este análisis preliminar nos permitió comprender de manera general la variación en condiciones control y en condiciones de estrés osmótico, ya que el desarrollo de la raíz primaria se ve afectado en más de un 70% en 94 de 113 accesiones (tabla 4, apéndice) lo que sugiere que las distintas poblaciones de *Arabidopsis* que habitan en distintos ambientes no se distribuyen en lugares en donde ocurra una baja disponibilidad de agua que puede deberse a distintos factores como la escasa precipitación, características de suelo con baja retención de agua, temperaturas extremas entre otras.

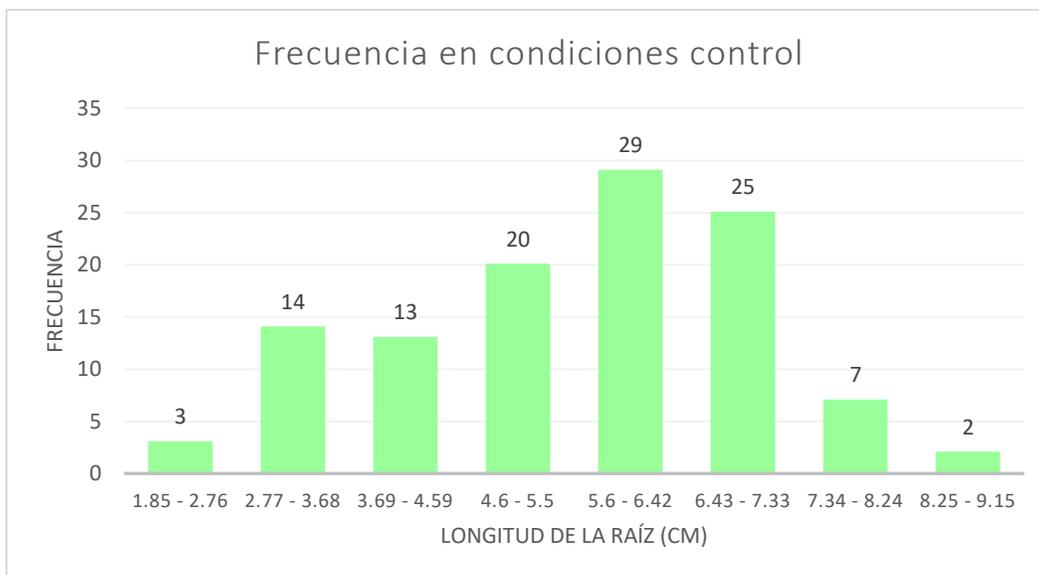


Figura 2. Distribución de frecuencias de la longitud de la raíz primaria en condiciones control para las 113 accesiones. El número de clases se determinó a partir de la regla de Sturges teniendo ocho clases con una amplitud de 0.91 cm.

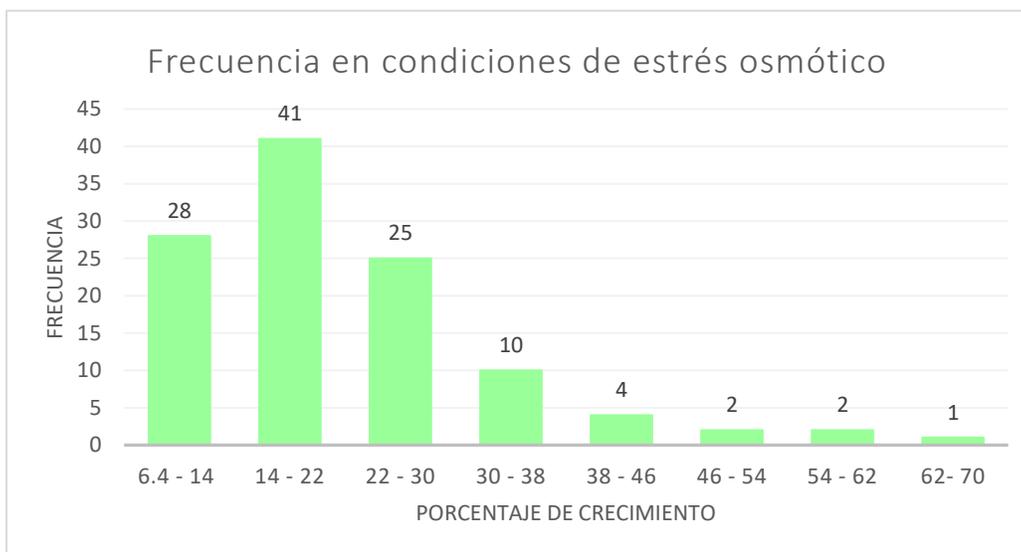


Figura 3. Distribución de frecuencias del porcentaje de crecimiento de la raíz primaria en condiciones severas de estrés osmótico (Medio MS 0.2X adicionado con 300 mM de manitol) con respecto a su control para las 113 accesiones. El número de clases se determinó a partir de la regla de Sturges teniendo ocho clases con una amplitud de 8 por ciento.

A partir del ensayo anterior se seleccionaron trece accesiones (figura 4) que presentaron la mayor, menor y una respuesta intermedia en la afectación de la raíz primaria en condiciones de estrés osmótico, con el objetivo de caracterizarlas. Siguiendo el mismo protocolo (metodología 7.2) se midió el crecimiento de la raíz primaria en condiciones severas de estrés osmótico (Medio MS 0.2 X adicionado con 300 mM de manitol) con respecto a su control (MS 0.2X). El porcentaje de crecimiento para las trece accesiones fue de 9.2% hasta 107.3%, siendo la accesión Nd-1 la más afectada ya que tuvo un porcentaje de crecimiento de 9.2%. Por otro lado, diez de las accesiones tuvieron un porcentaje de crecimiento entre el 10% y 20% (Tabla 2). Dentro de este grupo, las accesiones Or-0 y Is-0 fueron las que tuvieron la mayor variación con respecto a su crecimiento en la raíz primaria en condiciones control; además, cinco accesiones (Pu2-7, An-1, Bla-1 y Br-0) tuvieron una variación alta en las mismas condiciones mientras que dos accesiones (Kondara y Chat-1) tuvieron una variación baja en cuanto al crecimiento de su raíz primaria en condiciones control; esto sugiere que presentan poca plasticidad (figura 5). La accesión Is-0 tuvo un porcentaje de crecimiento de 27.9% y presentó una alta plasticidad tanto en condiciones control que va de 4 cm hasta 9 cm como en condiciones de estrés osmótico. Finalmente, la accesión Amel-1 creció 107.3% en condiciones de estrés osmótico con respecto a su control sin ser estadísticamente significativo. Su cinética de crecimiento (figura 31, apéndice) en condiciones control y en estrés osmótico fue muy similar siendo más inclinada su pendiente en el tratamiento de estrés durante el último día de tratamiento; además, sus tasas de crecimiento fueron similares en ambos tratamientos.

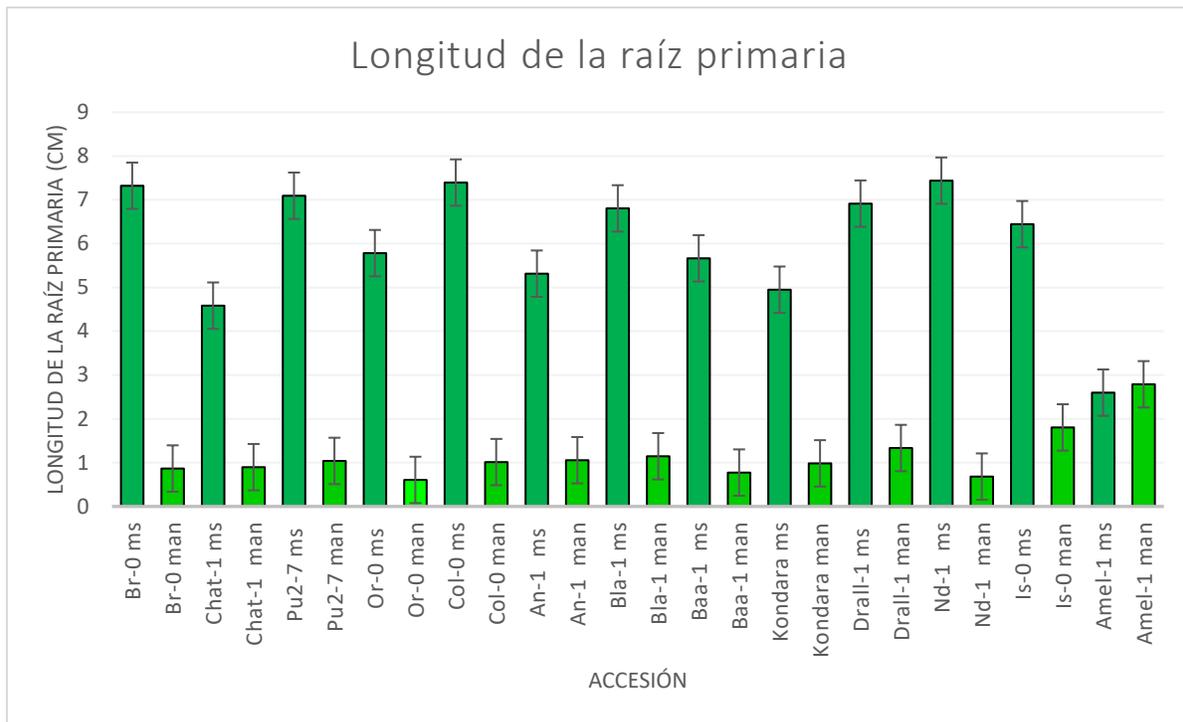


Figura 4. Longitud promedio de la raíz primaria (n=30) de las 13 accesiones durante los siete días de tratamiento en condiciones control (MS 0.2X) y en condiciones de estrés osmótico (MS 0.2X suplementado con 300 mM de manitol).

Tabla 2. Porcentajes de crecimiento del crecimiento de la raíz primaria en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol) comparándolo con respecto a su control, promedio de la longitud de la raíz primaria en condiciones control y condiciones de estrés osmótico (n=30) y desviación estándar para ambas condiciones de las trece accesiones utilizadas en este experimento.

Accesión	Porcentaje de crecimiento en condiciones de estrés osmótico con respecto a su control en MS	Longitud de la raíz en condiciones control	Longitud de la raíz en condiciones de estrés osmótico	Desviación Estándar Control/300 mM de manitol
Nd-1	9.2 %	7.4 cm	0.6 cm	1.27/0.21
Baa-1	10.3%	7 cm	0.7 cm	0.78/0.25
Or-0	10.47%	5.78 cm	0.60 cm	1.23/0.25
Br-0	11.56%	7.48 cm	0.86 cm	0.80/0.31
Col-0	13.6%	7.3 cm	1 cm	0.63/0.54
Pu2-7	14.64%	7 cm	1.03 cm	1.06/0.41
Bla-1	15.9%	7.1 cm	1.1 cm	1.01/0.49
Drall-1	19.2%	6.9 cm	1.3 cm	0.65/0.32
Chat-1	19.49%	4.59 cm	0.89 cm	0.55/0.33
An-1	19.8%	5.31 cm	1.05 cm	1.09/0.31
Kondara	19.8%	4.9 cm	0.98 cm	0.40/0.28
Is-0	27.9%	6.4 cm	1.8 cm	1.65/0.65
Amel-1	107.3%	2.5 cm	2.7 cm	0.51/0.38

Durante el ensayo en estrés osmótico se marcó el crecimiento de la raíz primaria cada 24 horas para determinar las cinéticas y tasas de crecimiento en condiciones control y condiciones de estrés osmótico de las 13 accesiones caracterizadas en este ensayo (figuras 19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30 y 31, apéndice). Las cinéticas de crecimiento representan la acumulación de crecimiento durante los siete días de tratamiento, encontramos que Amel-1 fue la única accesión en donde la cinética en ambas condiciones eran muy similares, durante los primeros seis días de tratamiento Amel-1 presentó un crecimiento ligeramente mayor en condiciones control y en el último día de tratamiento el crecimiento fue mayor en condiciones de estrés osmótico, para el resto de las accesiones presentaron una disminución significativa durante los siete días en condiciones de estrés

osmótico comparando contra su control. Por otro lado, las tasas de crecimiento representan el crecimiento neto por día de la raíz primaria, encontramos para la accesión Amel-1 (figura 31) durante los primeros cinco días de tratamiento para ambos tratamientos la tasa es muy similar, para los días seis y siete la tasa disminuye de forma más drástica para la condición control a diferencia del tratamiento en estrés osmótico, para el resto de las accesiones las tasas de crecimiento en estrés osmótico se mantuvieron por debajo de su condición control.

Con el objetivo de conocer la plasticidad que presentan las trece accesiones frente a dos condiciones (condiciones control y de estrés osmótico) se realizó una norma de reacción la cual está representada por una función lineal que describe el patrón de expresión fenotípica de un genotipo en diferentes ambientes en donde la elevación de una norma de reacción está relacionada al valor de respuesta promedio de un rasgo, mientras que la pendiente de una norma de reacción representa la plasticidad de ese rasgo (Lande 2009; Dingemans et al, 2010). Se obtuvo el promedio de la tasa de crecimiento por día para cada accesión en condiciones control y condiciones de estrés osmótico para obtener la norma de reacción de cada una, y posteriormente calcular la pendiente de inclinación. Amel-1 fue la única accesión que tuvo una ligera pendiente inclinada en sentido contrario de estrés osmótico a control con un valor de pendiente positiva de $m=0.309$, ambos fenotipos al tener una línea recta casi horizontal presentan poca plasticidad fenotípica para ambas condiciones, por otro lado, Nd-1 fue la accesión con mayor inclinación en su pendiente, teniendo el menor porcentaje de crecimiento de 9.2%.

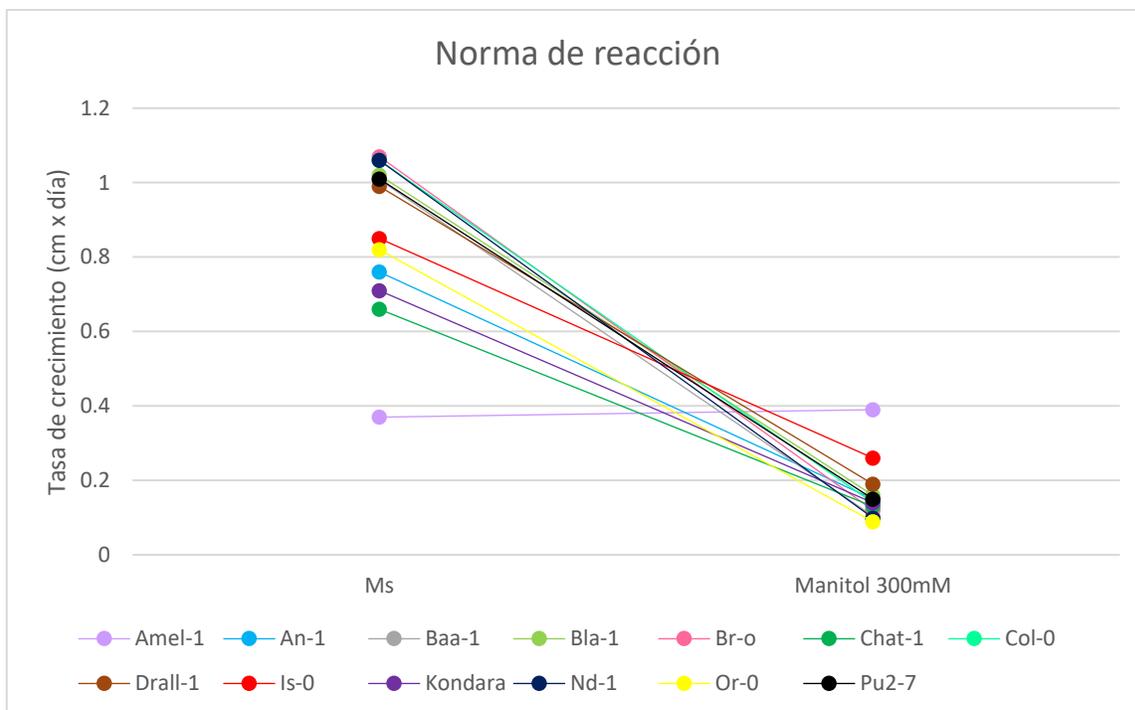


Figura 6. Norma de reacción para las 13 accesiones. Tasa de crecimiento (cm x día) en dos condiciones (MS y Manitol 300 mM) de plántulas de cinco a doce días de edad. La grafica muestra el promedio de la tasa de crecimiento durante siete días.

Amel-1 fue la única accesión que no tuvo una afectación en el crecimiento de la longitud primaria en condiciones severas de estrés osmótico, para conocer como era su respuesta en condiciones más severas de estrés osmótico se realizó un ensayo con tres accesiones (figura 7) utilizando Col-0 de referencia, Nd-1, la accesión con mayor afectación en estrés osmótico y Amel-1. En 400 mM de manitol Amel-1 fue la accesión con mayor porcentaje de crecimiento de 25.82%, Col-0 tuvo un porcentaje de crecimiento de 1.89% y Nd-1 tuvo un porcentaje de crecimiento de 1.61%. En 500 mM de manitol ninguna de las tres accesiones tuvo crecimiento en la raíz primaria.

Se realizó también un ensayo con un estrés salino para las tres accesiones con una concentración de 100 mM de NaCl (figura 7) con el objetivo de conocer si la respuesta de Amel-1 es únicamente para condiciones de estrés osmótico o si existen mecanismos para contender a un estrés iónico y osmótico. Amel-1 tuvo un porcentaje de crecimiento de 56.52%, Col-0 presento un porcentaje de crecimiento de 27.07% y Nd-1 tuvo un porcentaje de crecimiento de 19.38%. Los resultados en cuanto al porcentaje de crecimiento para el estrés salino en Amel-1 sugiere que no es una accesión que tenga una capacidad de menor afectación en el crecimiento de la raíz primaria, ya que el estrés salino moderado que se utilizó en este

experimento afecto el desarrollo de su raíz casi un 50%, esto sugiere que al aumentar el estrés salino la longitud de la raíz en Amel-1 se vería mayormente afectada.

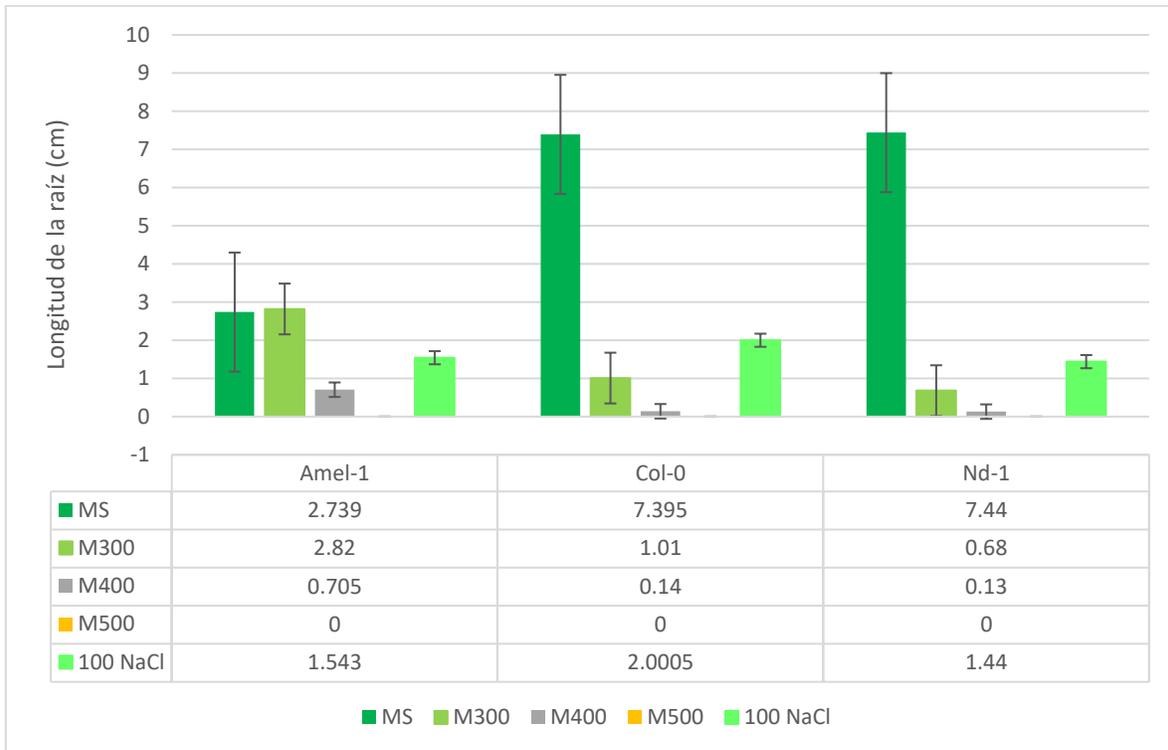


Figura 7. Longitud del crecimiento de la raíz para las accesiones Amel-1, Nd-1 y Col-0 para cinco condiciones: control (MS 0.2X), estrés osmótico (MS 0.2X adicionado con 300, 400 y 500 mM de manitol respectivamente) y estrés salino (MS 0.2X adicionado con 100 mM NaCl).

8.2 Dinámica de cambio en la arquitectura de la raíz

Con el objetivo de conocer los componentes de la arquitectura de la raíz, la dinámica de cambio de los distintos componentes que responden a estrés osmótico y la variación natural que existe en Amel-1 comparándolo con respecto a Col-0, se midieron tres variables: longitud de la raíz primaria, la longitud de las raíces laterales y el número de raíces laterales en dos accesiones Amel-1 y Col-0 en condiciones control (Medio MS 0.2X) y en condiciones menos severas de estrés osmótico (Medio MS 0.2X adicionado con 100 y 200 mM de manitol respectivamente). Las plántulas se mantuvieron en condiciones control durante los primeros cinco días y posteriormente fueron transferidas a los tratamientos antes mencionados durante seis días. Amel-1 no presentó cambios drásticos en el crecimiento de la raíz primaria para los tres tratamientos (Figura 8). Se realizó una anova de una vía

cumpliendo con los supuestos del análisis estadístico y no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos con un valor de P de 0.285 con una prueba post-hoc de Tukey. Estos resultados concuerdan con el análisis de 300 mM de manitol que se realizó anteriormente ya que la raíz primaria en una condición más severa de estrés osmótico su raíz primaria no se ve afectada en su crecimiento por lo que se esperaba que en concentraciones menores de manitol no hubiera de igual manera diferencias entre los tratamientos contra su control. Por otro lado Col-0 presentó diferencias significativas en la raíz primaria bajo las distintas concentraciones de manitol a medida que aumenta el estrés osmótico se presenta una disminución en su raíz primaria, durante los primeros días de tratamiento no se observan diferencias en la longitud y a medida que transcurren los días de tratamiento la disminución de la raíz primaria se observa claramente siendo la concentración de 200 mM de manitol la que tiene mayor disminución en el crecimiento y la concentración de 100 mM de manitol presenta una respuesta intermedia de crecimiento entre los tratamientos, al aumentar la concentración de manitol para generar un estrés osmótico severo (300 mM) el crecimiento de la raíz primaria se afecta al grado de observar un crecimiento de 13.6% con respecto a su control como se muestra en la tabla 2 y en la figura 8. Se realizó una anova de una vía cumpliendo los supuestos de este análisis estadístico el cual mostró diferencias significativas para los tres tratamientos con un valor de P de 0.00002 con una prueba post-hoc de Tukey. En cuanto al número de raíces laterales Col-0 tuvo un mayor número de raíces a diferencia de Amel-1 Col-0 para todos los tratamientos. En condiciones control Col-0 presentó un número promedio de raíces laterales de 28.66 en el último día contra 13.5 raíces en Amel-1. En la concentración de 100 mM de manitol Col-0 tuvo un número promedio de raíces laterales de 15.4 y 11.33 en Amel-1 (figura 10) ocurriendo una disminución más drástica en Col-0 que en Amel-1. En la concentración de 200 mM de manitol la accesión Col-0 tuvo un número promedio de raíces laterales de 8.66 y 5.5 en Amel-1. El último componente de la arquitectura de la raíz que se midió en este ensayo fue la longitud total de las raíces laterales, esta se obtuvo sumando todas las mediciones obtenidas para cada raíz utilizada en cada tratamiento, en el caso de Col-0 tuvo mayor longitud total de las raíces laterales para los tres tratamientos durante los seis días. En condiciones control Col-0 tuvo una longitud total promedio de 30.24 cm contra 8.68 cm de Amel-1 en la misma condición, en los tratamientos de estrés osmótico se observa una respuesta similar en donde Col-0 abarca mayor longitud de raíces laterales a diferencia de Amel-1. En la concentración de 100 mM de manitol la disminución es más drástica para la accesión Col-0 con una longitud total promedio de 12.41 cm y 6.77 para Amel-1. Por último,

para la concentración más alta de manitol (200 mM) utilizada en este ensayo la longitud total promedio para Col-0 fue de 6.8 cm y para Amel-1 de 2.2 cm (figura 11).

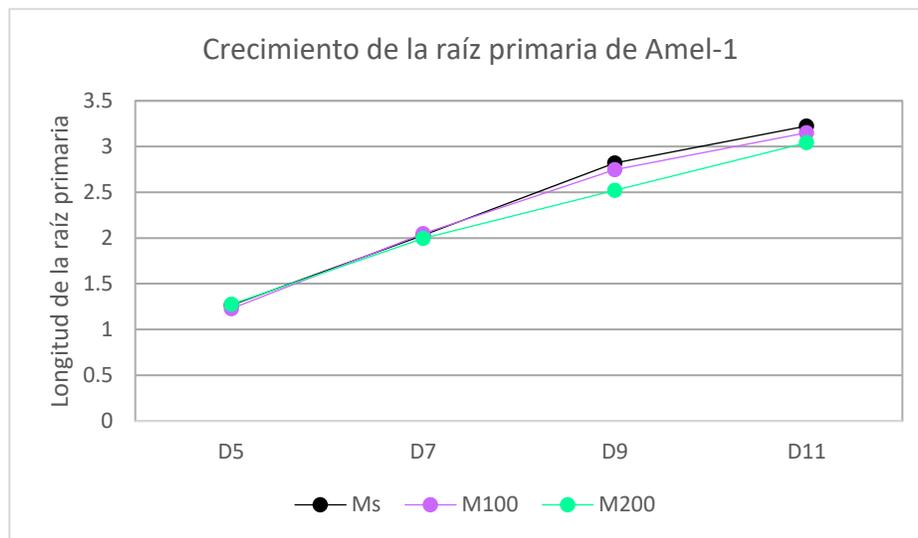


Figura 8. Crecimiento de la raíz primaria de Amel-1 en tres tratamientos medio MS 0.2X, medio MS 0.2X adicionado con 100 y 200 mM de manitol respectivamente. El tratamiento se realizó con plántulas con cinco días postsiembra con una duración de seis días. Se realizó una anova de una vía con un valor de P de $0.285 > 0.05$.

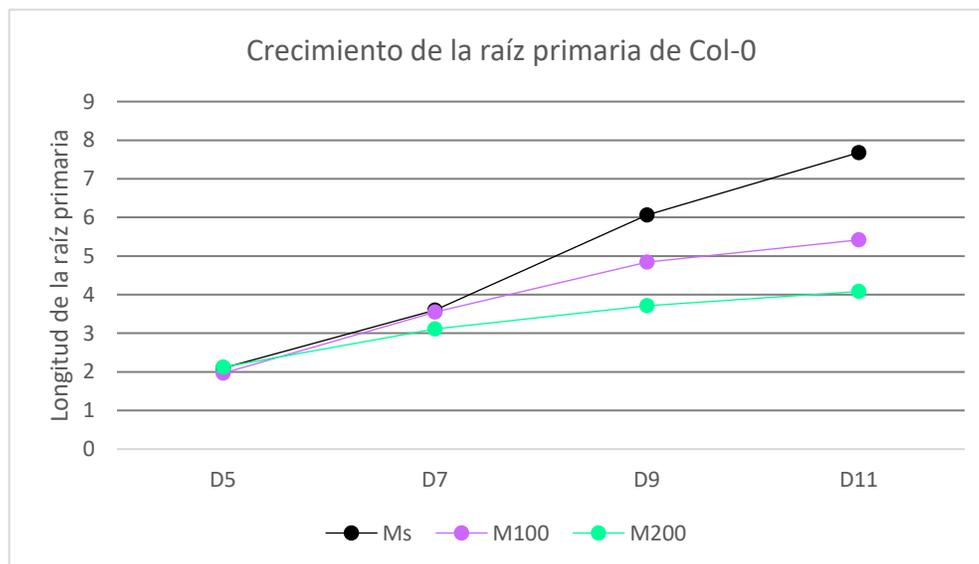


Figura 9. Crecimiento de la raíz primaria de Col-0 en tres tratamientos medio MS 0.2X, medio MS 0.2X adicionado con 100 y 200 mM de manitol respectivamente. El tratamiento se realizó con plántulas con cinco días post siembra con una duración de seis días. Se realizó una anova de una vía con un valor de P de $0.00002 < 0.05$.

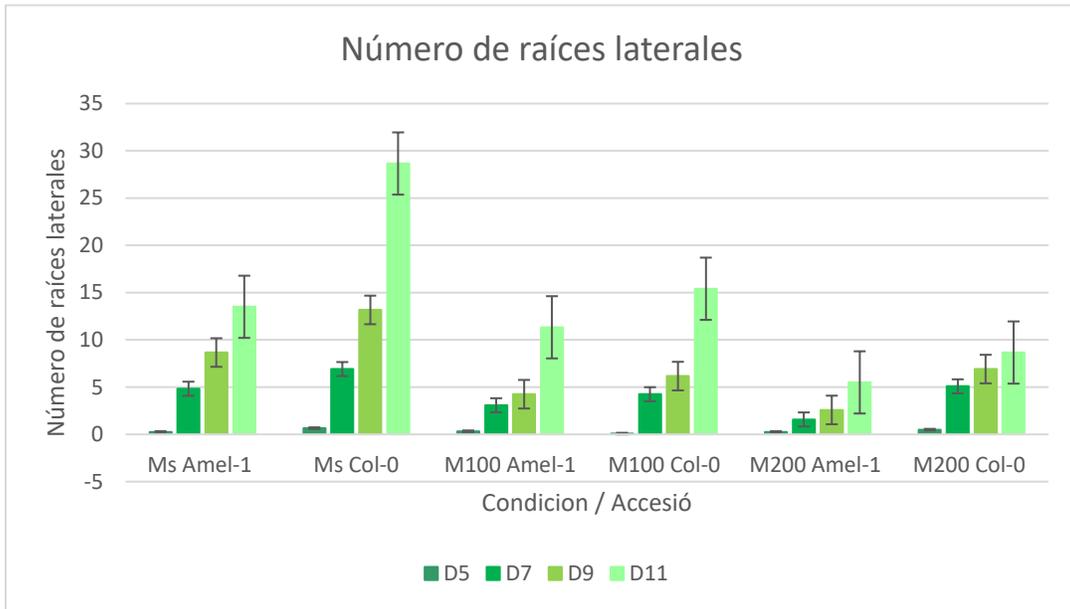


Figura 10. Número de raíces laterales para las dos accesiones. El tratamiento se realizó con plántulas con cinco días post siembra con una duración de seis días.

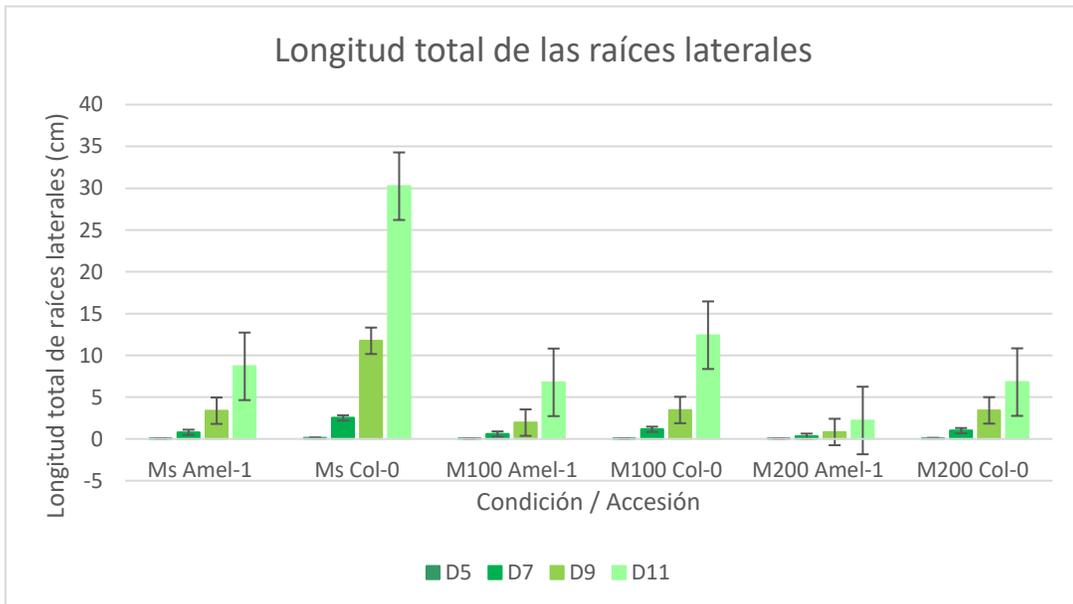


Figura 11. Longitud total de las raíces laterales. El tratamiento se realizó con plántulas con cinco días post siembra con una duración de seis días.

8.3 Ensayo de sobrevivencia y recuperación en tierra en condiciones de estrés osmótico para tres accesiones de arabidopsis

Para conocer si la longitud de la raíz primaria en respuesta a estrés osmótico severo en placas de agar reflejaba tolerancia al estrés osmótico o solamente era la disminución de la raíz primaria se hizo un ensayo de sobrevivencia y recuperación en tierra para tres accesiones con una n de 30 (metodología 7.4). Se utilizó la accesión menos afectada Amel-1 al tener un porcentaje de crecimiento de 107.3%, la accesión más afectada Nd-1 con un porcentaje de crecimiento de 9.2% y Col-0 de referencia con un porcentaje de crecimiento de 13.6%. Se midió la tasa de sobrevivencia a partir del número de individuos vivos que completaron el ensayo, la accesión Amel-1 fue la que tuvo mayor tasa de sobrevivencia con 28 individuos vivos con un porcentaje de 93.33%, Col-0 fue la que tuvo la menor tasa de sobrevivencia con 16 individuos vivos con un porcentaje de 53.33% y 20 individuos de la accesión Nd-1 sobrevivieron con un porcentaje de 66.66% (figura 12). Los resultados de este ensayo para Amel-1 son consistentes con los resultados obtenidos con respecto al análisis anterior del crecimiento de la raíz primaria ya que la accesión Amel-1 tuvo la mayor tasa de individuos vivos al final del ensayo y las accesiones Nd-1 y Col-0 tuvieron un menor número de plántulas vivas existiendo muy poca diferencia entre ellas. La recuperación en tierra fue más favorable de igual manera para Amel-1 al tener un desarrollo de la roseta mayor en tierra y las rosetas para Nd-1 y Col-0 fueron más pequeñas (figura 13).

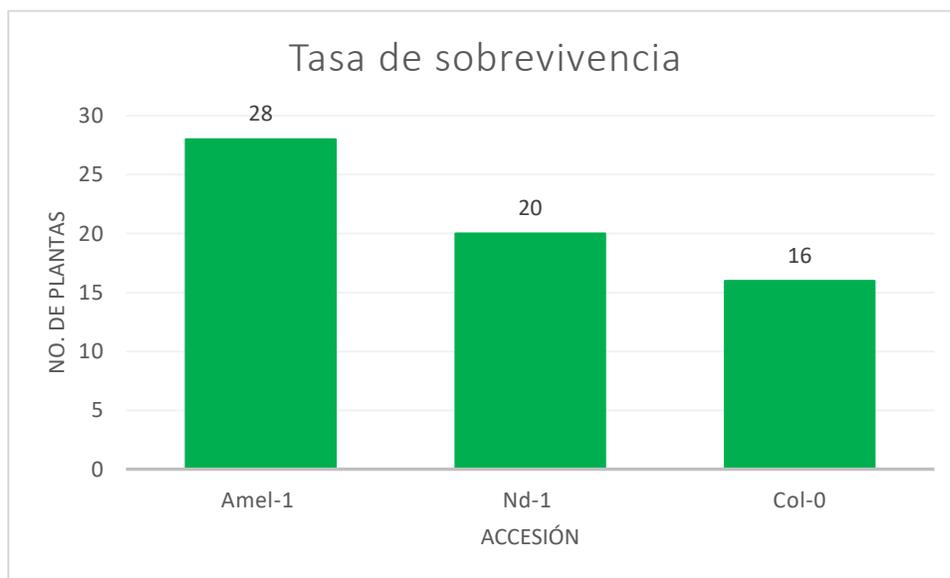
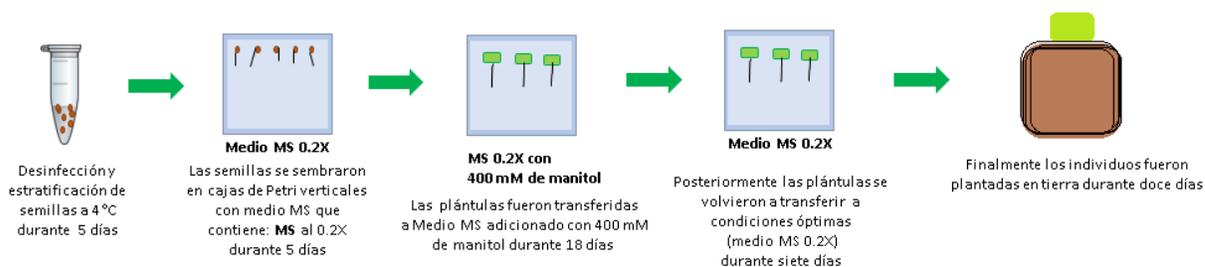


Figura 12. Tasa de sobrevivencia (número de individuos vivos al final del ensayo) de las accesiones Amel-1, Nd-1 y Col-0.

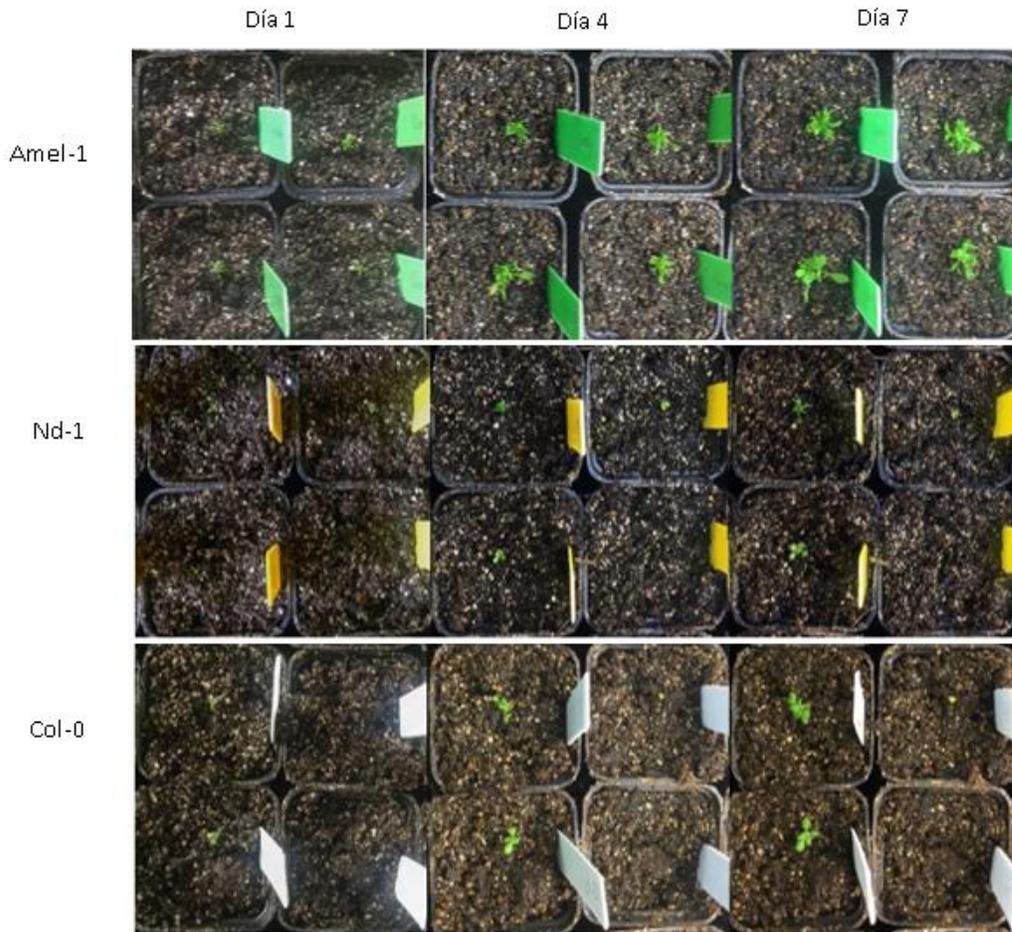


Figura 13. Plántulas trasplantadas en tierra durante el día uno, cuatro y siete para las accesiones Amel-1, Col-0 y Nd- después del periodo de recuperación en condiciones óptimas de crecimiento (medio MS 0.2X).

8.4 Variables ambientales y características de suelo

Con el objetivo de conocer cómo es el ambiente en el cual se desarrollaban las diferentes accesiones con las que estamos trabajando y si su respuesta al estrés osmótico se debe a las condiciones ambientales en donde habitan, se utilizó el programa Arcgis 10.2 para conocer cuántas accesiones se distribuían en distintos rangos para cuatro variables ambientales (temperatura, precipitación, radiación solar y vapor de agua). Como se puede ver en las figuras 14, 15, 16 y 17 la precipitación fue la condición ambiental con mayor variación entre las localidades de las diferentes accesiones. Esto sugiere que es un factor ambiental que en parte explica la variación de la respuesta las distintas a entre accesiones. Para el resto de las variables ambientales los rangos son muy similares acotando la

distribución de arábidopsis a condiciones ambientales específicas con ligeras variaciones para la temperatura, radiación solar y vapor de agua. Específicamente Kondara, fue la accesión que fue colectada en lugares en donde la precipitación es menor durante el verano, a partir del mes de octubre la precipitación comienza a aumentar hasta el mes de febrero y comienza a bajar durante la primavera. Por otro lado, las accesiones Br-0, Drall y Pu2-7 se colectaron en sitios en donde la precipitación es similar durante todo el año y la accesión Nd-1, fue colectada en un sitio que presenta dos picos altos de precipitación (en julio y en diciembre); esta accesión fue colectada en un sitio en donde hay una mayor disponibilidad de agua durante todo el año. Nd-1 es una accesión que, en respuesta a un estrés osmótico severo, se ve fuertemente reducido el crecimiento de la raíz en condiciones de estrés osmótico (9.2% con respecto a su control, tabla 2). De manera interesante, Amel-1 es una accesión en donde el crecimiento de la raíz no se ve afectado cuando se crece en estrés osmótico alto (300 mM manitol). El sitio en donde se colectó Amel-1, tiene una precipitación baja durante la primavera y comienza a aumentar conforme avanzan las estaciones del año, teniendo una precipitación alta durante el otoño. Para las demás variables ambientales (temperatura, vapor de agua y radiación solar) los valores son muy similares entre casi todos los sitios en donde se colectaron estas accesiones excepto para Kondara cuyo sitio de colecta presenta valores altos de temperatura durante la primavera, verano y principios de otoño, valores de vapor de agua por encima de las demás accesiones durante todo el año y valores altos de radiación solar durante algunos meses. Asimismo, el sitio en donde se colectó la accesión Bla-1 presentó valores altos para la temperatura durante todo el año y para la radiación solar para la mayoría de los meses. Finalmente podemos concluir que, la mayoría de las accesiones se colectaron en sitios con valores similares de temperatura, vapor de agua y radiación solar lo cual sugiere que las condiciones climáticas para la distribución de las poblaciones de arábidopsis queda acotada a ciertas características del ambiente.

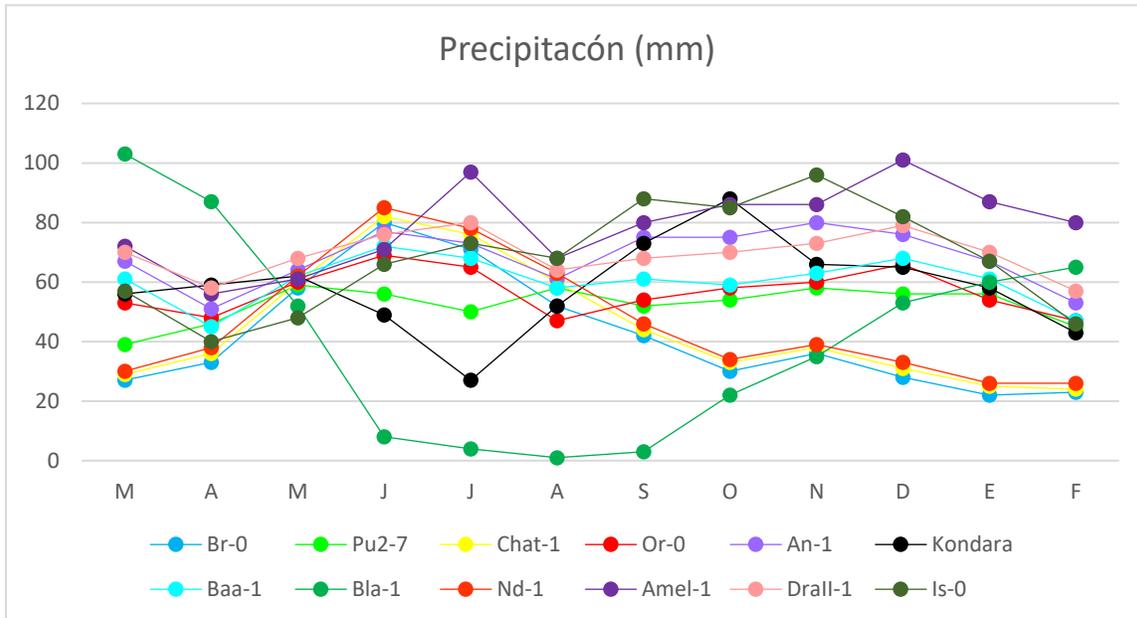


Figura 14. Valores de precipitación para los sitios de colecta de las distintas accesiones de arabidopsis durante todo el año empezando por el mes de marzo.

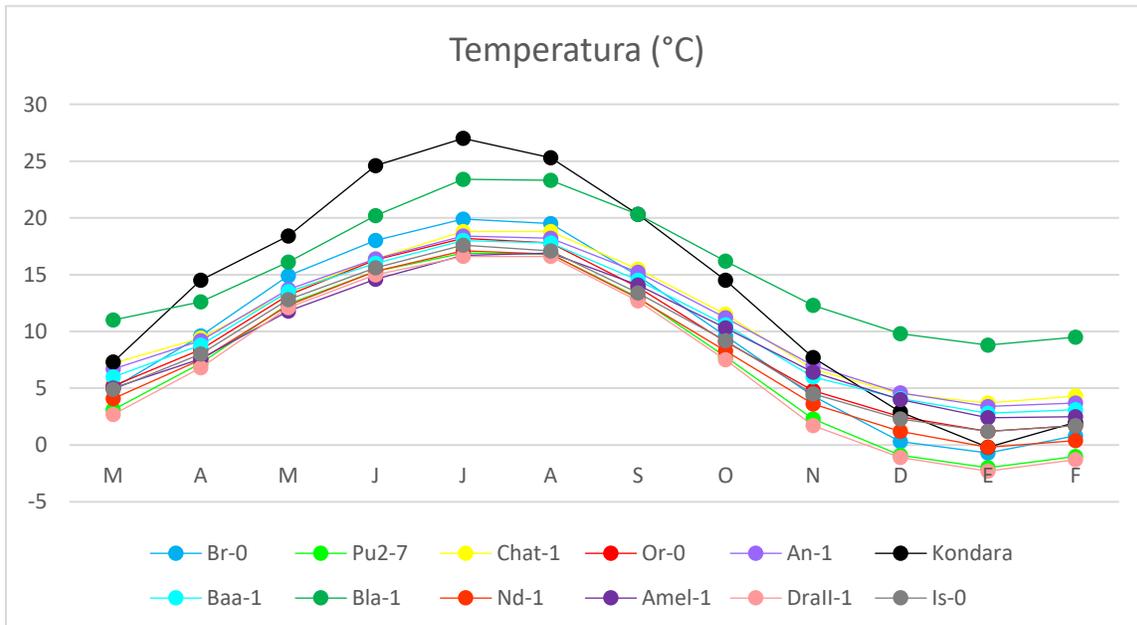


Figura 15. Valores de temperatura para los sitios de colecta de las distintas accesiones de arabidopsis durante todo el año empezando por el primer mes de marzo.

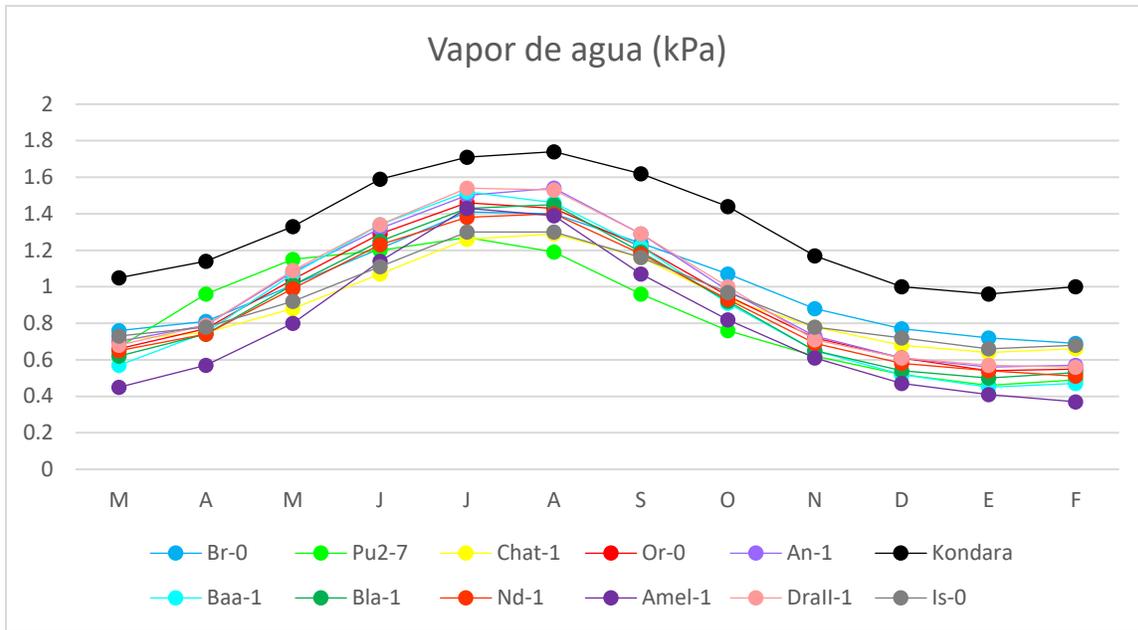


Figura 16. Valores de vapor de agua para los sitios de colecta de las distintas accesiones de arabidopsis durante todo el año empezando por el mes de marzo.

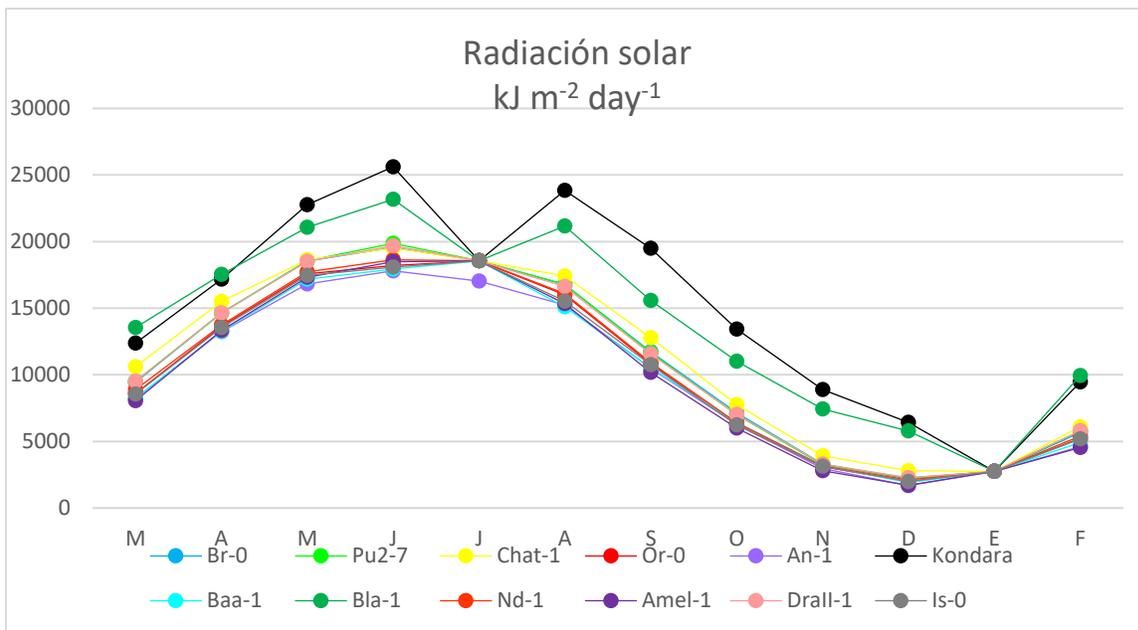


Figura 17. Valores de radiación solar para los sitios de colecta de las distintas accesiones de arabidopsis durante todo el año empezando por el mes de marzo.

Además de las condiciones climáticas, se obtuvieron los tipos de suelo a nivel de orden y suborden con el objetivo de conocer cuáles son las características propias del suelo de los lugares en donde se desarrollan de manera natural las accesiones utilizadas en este trabajo y si la respuesta a estrés osmótico en condiciones de laboratorio refleja las diversas estrategias que tienen estas accesiones para contender con situaciones de baja disponibilidad de agua. Las accesiones Baa-1, Chat-1, An-1, Col-0 y Nd-1 crecen en condiciones naturales en un suelo de tipo alfisol (tabla 3 que significa que tienen un régimen de humedad que permite suministrar el agua a las plantas durante más de la mitad de año o, por lo menos, durante más de tres meses consecutivos a lo largo del año. Estos suelos se encuentran libres de erosión y otras perturbaciones edáficas y son típicos de regiones templadas que tienen una temperatura que varía entre 0° y 22° C. Por otro lado, los suelos en donde crecen estas accesiones se clasifican a nivel de suborden, en cinco grupos que se distinguen por sus regímenes de humedad y temperatura. Los suelos de sitios de colecta de las cinco accesiones antes mencionadas, se localizan en el suborden Udalfs (tabla 3), estos suelos presentan un régimen de humedad único que se encuentra en suelos de climas húmedos que poseen lluvias bien distribuidas a lo largo del año por lo que es difícil que el suelo esté seco por más de 90 días. Asimismo, los suelos donde se colectaron las accesiones Or-0, Br-0, Bla-1 y Kondara son de tipo Mollisol (tabla 3) que quiere decir suelos ricos en materia orgánica con humedad relativa de praderas herbáceas perennes. Además, los suelos en donde se colectaron las accesiones Or-0, Br-0 y Bla-1 se localizan en el suborden Udolls (tabla 3) que comprende suelos que tienen la facilidad de movilizar el agua por escurrimiento superficial y por infiltración profunda de climas húmedos. Por otra parte, el suelo del sitio en donde crece naturalmente la accesión Kondara se localiza en un suborden distinto del tipo Xerolls, se les llama mollisoles de clima mediterráneo siendo suelos secos en periodos de verano, pero su humedad aumenta en invierno y se almacena en las capas profundas o encima del lecho de roca. Por otra parte, los suelos de los sitios de colecta donde las accesiones Pu2-7 y Is-0 crecen son de tipo inceptisol (tabla 3) que son suelos bastante jóvenes que están en cambio con procesos de traslocación de materiales o meteorización extrema. Estos suelos se desarrollan en cualquier tipo de clima excepto en zonas con condiciones áridas y el régimen de humedad puede ser variable desde suelos con bajo drenaje hasta suelos muy bien drenados. Los suelos de tipo inceptisol, generalmente se forman en ecosistemas forestales, praderas y terrenos agrícolas. Los suelos de colecta de ambas accesiones, se localizan en el suborden ochrepts (tabla 3) que se refiere a suelos poco profundos que están débilmente desarrollados debido a que

ocurren en superficies geomorfas relativamente jóvenes. El suelo en donde se desarrolla naturalmente la accesión Amel-1 fue el único que proviene de un suelo de tipo Entisol (tabla 3) que describe suelos muy jóvenes debido a que no han tenido la influencia de los factores formadores de suelo al tener un periodo de formación muy corto, abundancia de minerales primarios de muy difícil alteración, hidromorfismo ralentizado por la presencia de capas freáticas y repetidos aportes de materiales de origen aluvial que van rejuveneciendo el perfil topográfico. El suborden de suelo en donde crece naturalmente la accesión Amel-1 es psamments (tabla 3) que se refiere a suelos arenosos con una textura franca, en donde algunos se han formado sobre dunas de arena estabilizada. Estos suelos tienen una baja capacidad de retención de agua y dada su composición mineralógica, son suelos poco fértiles (Gisbert *et al*, 2002; Gisbert *et al*, 2010; Soil Survey, 2014). Estas características de suelo de donde proviene Amel-1 explica en parte su respuesta en estrés osmótico debido a la baja retención de agua ya que las proporciones más elevadas de arena permite una eficiente absorción de agua en el sistema radicular, pero al mismo tiempo la retención de agua es muy deficiente lo que hace que no exista una disponibilidad de agua constante y esta accesión tenga que generar respuestas y adaptaciones locales a las condiciones ambientales. Las accesiones que crecen naturalmente en suelos de tipo alfisol y mollisol (tabla 3) tienen niveles óptimos de agua y humedad durante todo el año. De manera interesante encontramos que, las dos accesiones Pu2-7 y Is-0 que provienen de un suelo de tipo inceptisol que son suelos jóvenes en donde la humedad es muy variable, tienen porcentajes bajos de crecimiento de su raíz primaria en condiciones de estrés osmótico. Por otro lado, nos parece muy interesante que, la accesión Amel-1 al no afectarse el crecimiento de la raíz en condiciones de estrés osmótico, crece naturalmente en sitios en donde el suelo no retiene el agua. Esto sugiere un mecanismo de adaptación a condiciones extremas de baja disponibilidad de agua.

Para poder determinar la textura de suelo en el que se colectaron las 12 diferentes accesiones, se obtuvieron los valores de arena, limo y arcilla utilizando un diagrama textural del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA). Obtuvimos que la textura en el horizonte de suelo para los sitios en donde se colectaron las 12 accesiones es franca y equilibrada, Sin embargo, en el caso específico del sitio en donde se colectaron las accesiones An-1, Kondara y Bla-1, tienen porcentajes más altos de arcilla entrando en una categoría de suelo franco arcilloso lo cual significa que el suelo comparte características propias de suelos francos y arcillosos. Por otro lado, los sitios de colecta de las accesiones Amel-1 y Baa-1 presentaron porcentajes de arena elevados ubicándose en suelos francos

arenosos lo cual hace que el suelo de donde provienen estas accesiones tienen características propias de ambas categorías antes mencionadas (tabla 3 y figura 17).

Tabla 3. Tipos de suelo a nivel de orden y suborden y textura de los suelos de colecta de las distintas accesiones de arabidopsis.

Accesión	Tipo de suelo	Suborden	Textura de suelo
Baa-1	Alfisol	Udalfs	Franco arenoso
Or-0	Mollisol	Udolls	Franco
Br-0	Mollisol	Udolls	Franco
Pu2-7	Inceptisol	Ochrepts	Franco
Bla-1	Mollisol	Udolls	Franco arcilloso
Chat-1	Alfisol	Udalfs	Franco
An-1	Alfisol	Udalfs	Franco arcilloso
Kondara	Mollisol	Xerolls	Franco arcilloso
Is-0	Inceptisol	Ochrepts	Franco
Amel-1	Entisol	Psamments	Franco arenoso
Col-0	Alfisol	Udalfs	Franco
Nd-1	Alfisol	Udalfs	Franco

Como se puede ver en la tabla 3 los suelos de colecta de todas las accesiones provienen de suelos francos. Sin embargo, existen diferencias para los sitios de colecta de las accesiones An-1, Kondara y Bla-1 en cuanto a la fracción de arcilla lo cual genera que tengan un suelo franco arcilloso. Los sitios de colecta de las accesiones Amel-1 y Baa-1 tienen valores más altos en cuanto al porcentaje de arena, siendo suelos francos arenosos. La textura de suelo para todas las accesiones es franca con pequeñas diferencias en los porcentajes de arena y arcilla en cinco accesiones, esta textura permite a las plantas estar en un suelo equilibrado teniendo características físicas y químicas óptimas para el desarrollo de las plantas en donde la arena permite que no se compacte el suelo, los nutrientes son aportados por el limo y la retención de humedad por la arcilla. En el caso de particular de Amel-1 aunque se desarrolle en un suelo joven con poca retención de agua y baja disponibilidad de nutrientes, las características texturales del suelo franco le permiten desarrollarse en un suelo con condiciones no tan óptimas para las plantas.

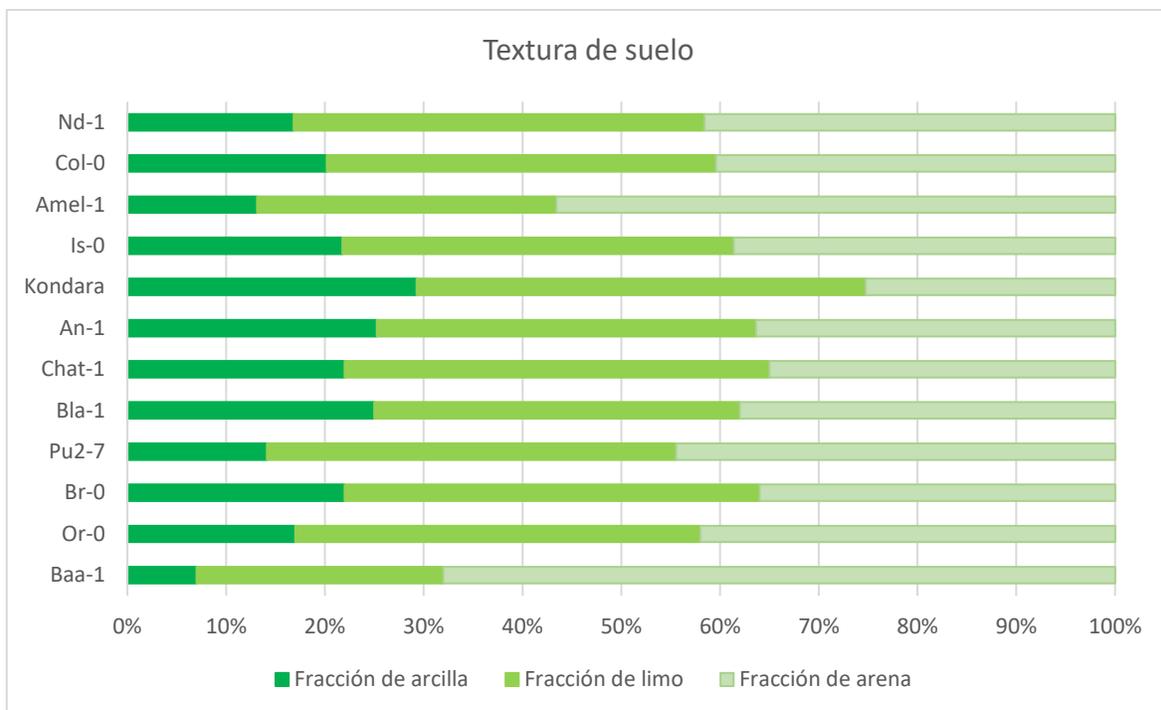


Figura 18. Fracción de arena, limo y arcilla para los sitios en donde se colectaron las distintas accesiones.

9. Discusión

La variación natural intraespecífica es la variación fenotípica causada por mutaciones que surgen de manera espontánea y que se mantienen en la naturaleza debido a un proceso evolutivo como la selección natural. Esta variación está presente tanto en las especies silvestres como en las especies domesticadas y puede estar determinada por una variante alélica localizada en un solo gen; sin embargo, la mayor parte de la variación natural es cuantitativa y está determinada por polimorfismos genéticos en múltiples loci que se conocen como QTL (por sus siglas en inglés Quantitative Trait Locus) y genes de rasgos cuantitativos QTG (por sus siglas en inglés Quantitative Trait Gene; Alonso-Blanco *et al*, 2009). Esto se debe a que las condiciones bióticas y abióticas varían en el espacio y en el tiempo y a que las distintas poblaciones de una especie están expuestas a diferentes presiones de selección que conducen a la adaptación a las condiciones locales y a la divergencia intraespecífica, (Kawecki y Ebert, 2004) las posibilidades de que una especie resista a la sequía dependerá de la diversidad que exista dentro de la especie y particularmente si hay subpoblaciones que ya están adaptadas a entornos extremos con

baja disponibilidad de agua (Exposito-Alonso *et al*, 2018). En este trabajo se analizó la respuesta de distintos genotipos de la raíz primaria crecidos en condiciones óptimas y en estrés osmótico. En estas condiciones de crecimiento, se puede investigar el papel de un agente en particular como un conductor diferenciador de una población (Kawecki y Ebert 2004; Alberto *et al*. 2013). Al obtener una respuesta diferencial muy marcada en el crecimiento de la raíz primaria en condiciones control y en condiciones severas de estrés osmótico en 113 accesiones, supusimos que las condiciones ambientales de los sitios de recolección habían generado adaptaciones locales frente a la baja disponibilidad de agua. Por lo anterior, vimos si había una correlación entre el crecimiento de la raíz primaria en respuesta a estrés osmótico y los valores de varias variables ambientales relacionadas con la disponibilidad de agua como son: la temperatura, la radiación solar, la precipitación, el vapor de agua y el suelo. Nuestros resultados mostraron que, únicamente para el caso del suelo, encontramos una correlación con la respuesta en el crecimiento de la raíz primaria, al no haber encontrado una correlación directa con las otras variables ambientales no significa que no jueguen un papel en la respuesta global. De todas las variables ambientales obtenidas de las bases de datos para las accesiones utilizadas en este trabajo observamos que las accesiones se distribuyen en rangos muy similares de temperatura, radiación solar y vapor de agua, esto sugiere que dichas variables son un factor determinante para su distribución sin embargo no existe una correlación directa para explicar su respuesta al estrés osmótico. Es interesante notar que, de todas estas variables ambientales, la precipitación fue la que presentó mayor heterogeneidad entre todos los sitios de colecta de las accesiones. Dos de las accesiones (Kondara y Bla-1) utilizadas en este trabajo tuvieron valores relativamente más altos en las variables de temperatura y radiación solar, para el vapor de agua únicamente Kondara tuvo valores más altos durante todo el año, sin embargo, estos valores tampoco reflejaron una relación directa con la respuesta al estrés osmótico. En cuanto a las variables de suelo los distintos tipos que existen y su composición textural son parámetros importantes de considerar ya que influyen en la disponibilidad de agua y tienen un impacto en el crecimiento y la fisiología de las raíces. Al existir distintos tipos de suelo cada uno presenta diferentes características, que pueden dar origen a adaptaciones locales por parte de los organismos. En este trabajo encontramos que las 13 accesiones caracterizadas se distribuyen en cuatro diferentes tipos de suelo a nivel de orden y variaciones en las proporciones de arena, limo y arcilla; estas diferencias encontradas explican una parte de la respuesta obtenida en los experimentos en el laboratorio, ya que 12 accesiones presentaron una disminución mayor al 70% en la longitud

de la raíz primaria (tabla 2) distribuyéndose en suelos en donde existe una disponibilidad y retención de agua, a diferencia de Amel-1, ya que el suelo en donde se desarrolla tiene una baja retención y disponibilidad de agua, al tener valores altos en las proporciones de arena el suelo presenta mayor eficacia para drenar el agua que llega y la evaporación del agua ocurre con mayor velocidad. Esta última característica se encuentra en dos accesiones (Amel-1 y Baa-1) sin embargo, esta similitud no es la única condición que genera una baja disponibilidad y retención de agua ya que estas dos accesiones se desarrollan en suelos muy distintos a nivel de orden y suborden (tabla 3) existiendo diferencias propias de cada suelo. El suelo a nivel de orden de tipo entisol en donde crece Amel-1 siendo un suelo poco profundo con bajo aporte de materia orgánica, en cuanto al suborden psamments son suelos de textura franca arenosa que se han formado en dunas de arena estabilizada caracterizados por la poca retención de agua en el suelo. Por otro lado, la accesión Baa-1 crece en un suelo a nivel de orden de tipo alfisol teniendo un régimen de humedad constante que les permite tener agua disponible durante más de 90 días consecutivos sin lluvia, en cuanto al suborden udalfs la lluvia se encuentra bien distribuida a lo largo del año por lo que es difícil que existan bajos niveles de agua disponible en el suelo, por último las proporciones altas de arena para este suelo les da la característica de tener niveles óptimos de drenaje. Las condiciones particulares de cada suelo podrían sugerir que las condiciones ambientales en donde se desarrollan de manera natural estas accesiones han generado presiones de selección para Amel-1 dirigidas a contender la sequía, para el resto de las accesiones no se ha generado esta misma presión debido a que el agua no es un factor limitante, ya que se encuentra disponible por las características de suelo propias de cada lugar. Por otro lado, el fenotipo de longitud corta de la raíz primaria de Amel-1 podría estar relacionado con el tipo de suelo en donde se desarrolla, ya que los suelos de tipo entisol son los más jóvenes de su clasificación taxonómica esto se debe a que el perfil topográfico se rejuvenece constantemente no dando lugar a la formación de horizontes poco profundos por debajo de la capa superficial quedando la raíz cerca de la roca madre lo cual no daría lugar al desarrollo en longitud de la raíz primaria a diferencia del resto de las accesiones que tienen horizontes formados por debajo de la capa superficial.

El experimento de sobrevivencia y recuperación en tierra se hizo con el objetivo que conocer si la respuesta encontrada en los fenotipos de la raíz reflejaba tolerancia a la sequía o si solamente se observaba la disminución de los distintos parámetros que componen la arquitectura de la raíz, encontramos que Amel-1 tuvo la mayor tasa de sobrevivencia y una mayor área de roseta, la accesión Col-0 presentó la menor tasa de sobrevivencia y un área

de roseta poco desarrollada y finalmente para Nd-1 la tasa de sobrevivencia fue ligeramente similar con la accesión Col-0, con un área de roseta poco desarrollada, este resultado se ajusta con los datos obtenidos de las mediciones de las raíces ya que Nd-1 fue la accesión con menor porcentaje (9.2%) de crecimiento en la longitud de su raíz primaria en un tratamiento severo de estrés osmótico (300 mM de manitol), la hipótesis de este ensayo era que la accesión Nd-1 tuviera la menor tasa de sobrevivencia seguido de Col-0 y Amel-1 presentará la mayor tasa de sobrevivencia, nuestros resultados concuerdan para Amel-1, existiendo diferencias entre Col-0 y Nd-1. Al comparar estos datos con los de las mediciones de la raíz primaria Nd-1 tuvo un porcentaje de crecimiento de 9.2% y Col-0 presentó un porcentaje de 13.6% (tabla 2) existiendo una diferencia de 4.4% en el crecimiento de la raíz primaria y una diferencia de 4 plántulas vivas en el experimento de sobrevivencia y recuperación en tierra con un área de roseta poco desarrollada para ambas accesiones.

En un análisis de componentes principales utilizando distintas accesiones de arabisopsis se encontró que la raíz primaria es el componente principal que explica la variación en el crecimiento de la raíz primaria en diferentes concentraciones de manitol (Cajero, 2018), debido a ello decidimos enfocar este proyecto en caracterizar la respuesta del crecimiento de la raíz primaria de diferentes accesiones ante condiciones de estrés osmótico. Sin embargo, sabemos que la arquitectura de la raíz (RSA por sus siglas en inglés Root System Architecture) es muy importante para entender como el sistema radicular en su conjunto, está respondiendo a una baja disponibilidad de agua. En este trabajo caracterizamos los componentes de la arquitectura de la raíz de dos accesiones (Amel-1 y Col-0) y observamos que en condiciones control Amel-1 tiene una raíz primaria de longitud corta con un número y longitud total de raíces laterales bajo con respecto a lo que encontramos en la accesión Col-0 que tiene una raíz primaria de longitud larga con un mayor número y longitud total de raíces laterales, por otro lado el fenotipo en condiciones de estrés osmótico observamos que la raíz primaria de Amel-1 no se afecta en ninguna condición de estrés osmótico utilizados en este ensayo, para Col-0 la raíz primaria se afecta en ambos tratamientos de estrés osmótico, a medida que aumenta la concentración de manitol, la disminución de la raíz principal es mayor. En cuanto al número de raíces laterales los fenotipos de las accesiones son distintos en 100 mM de manitol ya que en Amel-1 existe una disminución de porcentaje de crecimiento de 16.05% y para Col-0 la disminución de porcentaje de crecimiento es de 46.23% comparando cada uno contra su control, en 200 mM de manitol ocurre una disminución similar para ambas accesiones; en Amel-1 la disminución de porcentaje de crecimiento es de 59.26% y para Col-0 la disminución en porcentaje de

crecimiento es de 69.77% teniendo una diferencia de 10.5%. Finalmente, la longitud total de las raíces laterales se comporta de manera similar al parámetro anterior ya que en 100 mM de manitol en Amel-1 la disminución es de 21.95% y en Col-0 la disminución es de 58.95%, para la concentración de 200 mM de manitol la disminución para ambas accesiones es similar ya que en Amel-1 es de 74.6% y en Col-0 es de 79.55% teniendo una diferencia de 4.95%. Estos resultados presentan dos estrategias distintas, para Amel-1 la raíz principal no se afecta y el número de raíces laterales y su longitud total se afectan poco en condiciones moderadas de estrés osmótico y al aumentar el estrés ambos parámetros se afectan más. Para Col-0 la raíz primaria, número y longitud total de raíces laterales se afectan en condiciones moderadas de estrés osmótico y al aumentar dicho estrés aumenta todavía más la disminución de los tres parámetros de la arquitectura de la raíz. Estas características diferentes entre las dos accesiones podrían ser una estrategia de respuesta a las condiciones ambientales de los sitios en donde fueron recolectadas, como se observó en el artículo de Julkowska *et al*, 2014 en donde encontraron cuatro distintas estrategias que responden a estrés salino en 31 accesiones de arabisopsis, en este trabajo encontraron que en la primera estrategia tres accesiones tuvieron una reducción en su raíz principal y un aumento en el número de raíces laterales, en la segunda estrategia siete accesiones tuvieron una disminución en la raíz primaria y en el número de raíces laterales, en la tercera estrategia catorce accesiones presentaron una reducción mayor en el número de raíces laterales en comparación con la raíz primaria y en la última estrategia siete accesiones presentaron una reducción en la longitud de las raíces laterales y a su vez un aumento en el número de raíces laterales. De igual manera deben existir diversas estrategias en la arquitectura de la raíz que responden a estrés osmótico, en donde los distintos componentes de la arquitectura de la raíz tendrán respuestas diferenciales cada parámetro. En las dos accesiones que se evaluaron en este trabajo se propone la hipótesis de dos estrategias distintas para contender la sequía en cada accesión, ya que el número de raíces laterales y su longitud al determinar la eficiencia de absorción de agua; al existir un mayor número de raíces y de longitud la absorción de agua va a ser mayor, los datos obtenidos sugieren que Col-0 es una población que proviene de un lugar en donde la disponibilidad de agua es mayor lo cual se ve reflejado en el número y la longitud total de las raíces laterales en condiciones control y Amel-1 por otro lado presenta un número y longitud total de raíces laterales menor en condiciones control teniendo un fenotipo de raíz que está probablemente adaptado a un lugar en donde la disponibilidad de agua es menor.

El estudio de la respuesta de las plantas al estrés es un aspecto fundamental de la fisiología ambiental la cual propone como las plantas funcionan en sus ambientes naturales y cuáles son los patrones que determinan su distribución, supervivencia y crecimiento (Kramer y Boyer 1995; Lambers *et al.* 1998; Ackerly *et al.* 2002), en donde el conocimiento de los mecanismos de resistencia al estrés permiten comprender los procesos evolutivos implicados en la adaptación de las plantas a un ambiente adverso (Kozlowski *et al.*, 1991; Nilsen y Orcutt 1996). Las diferencias fenotípicas encontradas en los sistemas de la arquitectura de la raíz, así como la plasticidad fenotípica de las accesiones, son herramientas que permiten estudiar los procesos evolutivos por los que han pasado las distintas poblaciones en los distintos ambientes. Estos procesos evolutivos emergen de la interacción entre el ambiente y las diferencias genéticas que se han fijado con mayor facilidad debido a que *Arabidopsis thaliana* es una especie que se autopoliniza. Este rasgo fenotípico de esta especie y el aislamiento geográfico, han generado divergencia intraespecífica que, con el tiempo, dará paso a procesos de especiación que originaran más diversidad biológica en el planeta adaptada a las condiciones ambientales.

Es importante puntualizar que se ha generado una gran cantidad de información utilizando este organismo modelo la cual, junto con el desarrollo de la tecnología y la integración interdisciplinaria, permitirá comprender de manera más clara cómo funcionan las fuerzas evolutivas y el papel que juegan las interacciones bióticas y abióticas sobre los organismos.

10. Conclusiones

- La longitud promedio de la raíz primaria de la accesión Amel-1 no se afecta en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol).
- Las accesiones Nd-1, Col-0, Is-0, Kondara, An-1, Chat-1, Bla-1, Pu2-7, Br-0, Or-0, Baa-1 y Drall-1 presentaron una disminución mayor al 70% en la longitud promedio de la raíz primaria en condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol).
- La dinámica de cambio en la arquitectura de la raíz en respuesta a estrés osmótico para Amel-1 no se afecta el crecimiento de la raíz primaria y el número y longitud total de las raíces laterales se afectan de forma gradual a medida que aumenta el estrés osmótico (100 y 200 mM de manitol).
- La dinámica de cambio en la arquitectura de la raíz en respuesta a estrés osmótico en Col-0 se afectan los tres parámetros de manera drástica en los dos niveles de estrés osmótico (100 y 200 mM de manitol).
- La accesión Amel-1 tiene una mayor tasa de recuperación y resiliencia en comparación con las accesiones Col-0 y Nd-1.
- No encontramos una correlación directa con las variables ambientales de temperatura, radiación solar, precipitación y vapor de agua que explique la respuesta en estrés osmótico obtenida.

11. Perspectivas

- Realizar un RNA-seq con el objetivo de analizar cambios en el transcriptoma resultantes del empalme alternativo, modificaciones post-transcripcionales, fusiones genéticas, mutaciones / SNP's y cambios en la expresión génica en las accesiones Amel-1 y Col-0 de *Arabidopsis thaliana* crecidas en condiciones óptimas de crecimiento y en respuesta a estrés osmótico con la finalidad de encontrar cambios que expliquen la respuesta diferencial entre ambas accesiones.
- Hacer una cuantificación celular en las diferentes accesiones que tengan las respuestas más contrastantes para conocer las diferencias en las tasas de proliferación y diferenciación de las raíces primarias crecidas en condiciones control y como estas se ven afectadas cuando se crecen en condiciones de estrés osmótico.
- Hacer un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) con el objetivo de encontrar asociaciones entre polimorfismos de un solo nucleótido con un rasgo observable para las accesiones utilizadas en este trabajo.
- Conocer la dinámica de RSA con el modelo (ROOT-FIT) de Julkowska *et al*, 2014 para agrupar las diferencias inducidas por el estrés osmótico a partir de los parámetros que componen la arquitectura de la raíz y plantear grupos de respuesta de las diferentes accesiones antes estas condiciones de estrés.

12. Apéndice

Accesiones

Tabla 4. Longitud de la raíz primaria en condiciones control, condiciones de estrés osmótico (300 mM de manitol) y porcentaje de crecimiento para las 113 accesiones.

Accesión	Longitud de la RP (cm) MS	Longitud de la RP (cm) estrés osmótico	Porcentaje de crecimiento	Amplitud de la longitud en la RP en condiciones control	Amplitud de porcentaje de crecimiento en la RP condiciones de estrés osmótico con respecto a su control
Br-0	5.91	0.38	6.4092	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Ba4-1	5.15	0.35	6.7282	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Chat-1	4.96	0.35	7.1282	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Pu2-7	5.84	0.53	9.1183	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Or-0	4.86	0.46	9.5524	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Ws-2	5.65	0.54	9.5759	5.6 – 6.42	6.4 – 14
LAC-3	5.39	0.54	9.9722	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Mrk-0	5.8	0.65	11.2846	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Na-1	5.96	0.69	11.5936	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Zdr-1	6.92	0.81	11.6523	6.43 – 7.33	6.4 – 14
Per-1	6.05	0.71	11.734	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Mh-0	6.39	0.8	12.5481	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Pr-0	5.88	0.75	12.7316	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Ms-0	4.17	0.54	12.8174	3.69 – 4.59	6.4 – 14
Boot-1	3.81	0.49	12.8529	3.69 – 4.59	6.4 – 14
Bu-2	3.25	0.42	12.8983	2.77 – 3.68	6.4 – 14
Lu-1	4.66	0.62	13.3651	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Chi-1	3.46	0.46	13.3689	2.77 – 3.68	6.4 – 14
Mt-0	7.25	0.99	13.6021	6.43 – 7.33	6.4 – 14
Rou-0	5.48	0.75	13.6357	4.6 – 5.5	6.4 – 14
MIB-60	6.41	0.89	13.9075	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Lov-1	8.26	1.16	14.065	8.25 – 9.15	6.4 – 14
Do-0	6.37	0.9	14.1157	5.6 – 6.42	6.4 – 14
Lov-5	7.15	1.02	14.2715	6.43 – 7.33	6.4 – 14
Cr1-1	3.38	0.48	14.2739	2.77 – 3.68	6.4 – 14
Ct-1	4.36	0.63	14.542	3.69 – 4.59	6.4 – 14
Est-1	4.7	0.69	14.5692	4.6 – 5.5	6.4 – 14
Ka-0	7.38	1.09	14.7233	7.34 – 8.24	6.4 – 14
Hs-0	7.65	1.15	15.0137	7.34 – 8.24	15 – 22
Stw-0	6.94	1.04	15.0288	6.43 – 7.33	15 – 22
Ba-1	5.82	0.89	15.2145	5.6 – 6.42	15 – 22

Ler-1	3.79	0.58	15.2637	3.69 – 4.59	15 – 22
Lp2-2	5.71	0.9	15.7071	5.6 – 6.42	15 – 22
Bs-1	3.07	0.48	15.7226	2.77 – 3.68	15 – 22
Gel-1	6.65	1.07	16.0208	6.43 – 7.33	15 – 22
Po-1	6.34	1.02	16.0318	5.6 – 6.42	15 – 22
MNF-Pot-48	5.41	0.88	16.3433	4.6 – 5.5	15 – 22
Tha-1	7.22	1.19	16.4847	6.43 – 7.33	15 – 22
Bsch-2	2.91	0.49	16.6838	2.77 – 3.68	15 – 22
Sapporo-0	6.41	1.09	16.9825	5.6 – 6.42	15 – 22
Ove-0	6.59	1.13	17.1267	6.43 – 7.33	15 – 22
Kr-0	6.72	1.16	17.285	6.43 – 7.33	15 – 22
St-0	5.74	1.01	17.5709	5.6 – 6.42	15 – 22
Wei-0	7.03	1.24	17.7033	6.43 – 7.33	15 – 22
Hil-1	6.36	1.14	17.9662	5.6 – 6.42	15 – 22
Seattle-0	7.04	1.3	18.4196	6.43 – 7.33	15 – 22
Tscha-1	7.1	1.33	18.7561	6.43 – 7.33	15 – 22
Ga-0	5.72	1.08	18.8447	5.6 – 6.42	15 – 22
Nw-0	4.24	0.8	18.8503	3.69 – 4.59	15 – 22
Col-0	7.48	1.44	19.2513	7.34 – 8.24	15 – 22
Ba5-1	7.25	1.41	19.437	6.43 – 7.33	15 – 22
An-1	4.27	0.83	19.4533	3.69 – 4.59	15 – 22
Wc-1	6.8	1.33	19.5413	6.43 – 7.33	15 – 22
Bla-1	6.1398	1.2232	19.9225	5.6 – 6.42	15 – 22
Wil-1-Dean-Lab	6.71	1.36	20.1986	6.43 – 7.33	15 – 22
Baa-1	6.43	1.31	20.4062	6.43 – 7.33	15 – 22
Di-1	4.98	1.02	20.4229	4.6 – 5.5	15 – 22
Ra-0	5.71	1.18	20.6143	5.6 – 6.42	15 – 22
Ha-0	5.16	1.07	20.6251	4.6 – 5.5	15 – 22
Ren-1	6.65	1.38	20.7158	6.43 – 7.33	15 – 22
Edi-8	6.69	1.39	20.7687	6.43 – 7.33	15 – 22
Sq-8	6.73	1.4	20.8222	6.43 – 7.33	15 – 22
Da-0	8.95	1.87	20.9359	8.25 – 9.15	15 – 22
Kondara	3.87	0.82	21.3111	3.69 – 4.59	15 – 22
Edi-0	7.7234	1.6618	21.5164	7.34 – 8.24	15 – 22
Bur-0	4.88	1.07	21.818	4.6 – 5.5	15 – 22
Got-7	5.54	1.22	21.9323	4.6 – 5.5	15 – 22
Ta-0	7.69	1.7	22.0866	7.34 – 8.24	15 – 22
Mnz-0	7.63	1.73	22.7037	7.34 – 8.24	15 – 22
Tu-1	5.99	1.4	23.3425	5.6 – 6.42	23 – 30
Cvi-0	3.54	0.83	23.5748	2.77 – 3.68	23 – 30
Rd-0	6.34	1.51	23.8884	5.6 – 6.42	23 – 30

Kin-0	3.81	0.91	23.9655	3.69 – 4.59	23 – 30
Sp-0	5.32	1.29	24.1587	4.6 – 5.5	23 – 30
Hey-1	5.58	1.37	24.587	5.6 – 6.42	23 – 30
Pf-0	3.26	0.81	24.7577	2.77 – 3.68	23 – 30
Mir-0	3.9	0.99	25.4363	3.69 – 4.59	23 – 30
Lz-0	5.38	1.37	25.472	4.6 – 5.5	23 – 30
Kas-2	4.88	1.26	25.8471	4.6 – 5.5	23 – 30
Pog-0	6.04	1.56	25.8663	5.6 – 6.42	23 – 30
Ste-3	6.58	1.72	26.2033	6.43 – 7.33	23 – 30
Bay-0	3.56	0.94	26.5016	2.77 – 3.68	23 – 30
C24	2.65	0.7	26.5764	1.86 – 2.76	23 – 30
Pro-0	6.15	1.64	26.5885	5.6 – 6.42	23 – 30
Pn-0	6.1	1.64	26.8325	5.6 – 6.42	23 – 30
For-2	6.32	1.72	27.2546	5.6 – 6.42	23 – 30
Sg-1	7.95	2.17	27.2883	7.34 – 8.24	23 – 30
Sq-1	4.99	1.36	27.2986	4.6 – 5.5	23 – 30
Shahdara	6.09	1.67	27.3721	5.6 – 6.42	23 – 30
CIBC-5	4.14	1.14	27.6334	3.69 – 4.59	23 – 30
Jm-0	3.35	0.94	28.0425	2.77 – 3.68	23 – 30
Sap-0	5.16	1.45	28.1561	4.6 – 5.5	23 – 30
Hi-0	4.92	1.41	28.6147	4.6 – 5.5	23 – 30
Gr-1	5.14	1.52	29.5385	4.6 – 5.5	23 – 30
Is-1	4.32	1.34	31.1132	3.69 – 4.59	31 – 38
Gd-1	3.3	1.05	31.6906	2.77 – 3.68	31 – 38
Ob-0	5.6	1.75	31.8883	5.6 – 6.42	31 – 38
Si-0	7.15	2.34	32.6556	6.43 – 7.33	31 – 38
Drall-1	5.2	1.75	33.6295	4.6 – 5.5	31 – 38
MOG-37	5.8	1.95	33.6816	5.6 – 6.42	31 – 38
MIB-86	4.53	1.57	34.7128	3.69 – 4.59	31 – 38
Nd-1	6.56	2.45	37.3704	6.43 – 7.33	31 – 38
No-0	2.82	1.07	37.8436	2.77 – 3.68	31 – 38
Is-0	3.89	1.49	38.321	3.69 – 4.59	31 – 38
Bs-2	6.78	2.76	40.7501	6.43 – 7.33	39 – 46
Kelsterbach-4	6.48	2.84	43.8707	6.43 – 7.33	39 – 46
Gu-0	6.55	2.96	45.2943	6.43 – 7.33	39 – 46
Ma-2	6.49	2.98	45.8733	6.43 – 7.33	39 – 46
Edinburgh-5	3.39	1.72	50.8974	2.77 – 3.68	47 – 54
Ep-0	3.02	1.55	51.305	2.77 – 3.68	47 – 54
Jm-1	3.41	1.91	55.8787	2.77 – 3.68	55 – 62
Kyl-1	1.86	1.12	60.3599	1.86 – 2.76	55 – 62
Amel-1	2.1362	1.4032	65.6867	1.86 – 2.76	63 – 70

Tabla 5. Valores de P para cada accesión de las pruebas estadísticas de normalidad, homocedasticidad de varianzas y las pruebas paramétricas y no paramétricas.

Accesion	Normalidad MS/300 mM	Homocedasticidad de varianzas	Prueba estadística	Valor de P
Nd-1	0.010/0.035	0.002	T de Welch	0.000002
Baa-1	0.100/0.100	0.001	T de Welch	0.000002
Or-0	0.100/0.016	0.000	Mann Whitney	0.0000
Br-0	0.100/0.063	0.000	T de Welch	0.000002
Col-0	0.067/0.01	0.184	Mann Whitney	0.000
Pu2-7	0.073/0.01	0.000	Mann Whitney	0.0000
Bla-1	0.100/0.01	0.000	Mann Whitney	0.000
Drall-1	0.100/0.100	0.008	T de Welch	0.000002
Chat-1	0.100/0.053	0.025	T de Welch	0.000002
An-1	0.100/0.01	0.000	Mann Whitney	0.000
Kondara	0.100/0.100	0.196	T de Student	0.000
Is-0	0.010/0.100	0.000	Mann Whitney	0.000
Amel-1	0.100/0.100	0.562	T de Student	0.369

Cinéticas y tasas de crecimiento

Figura 19. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Br-0.

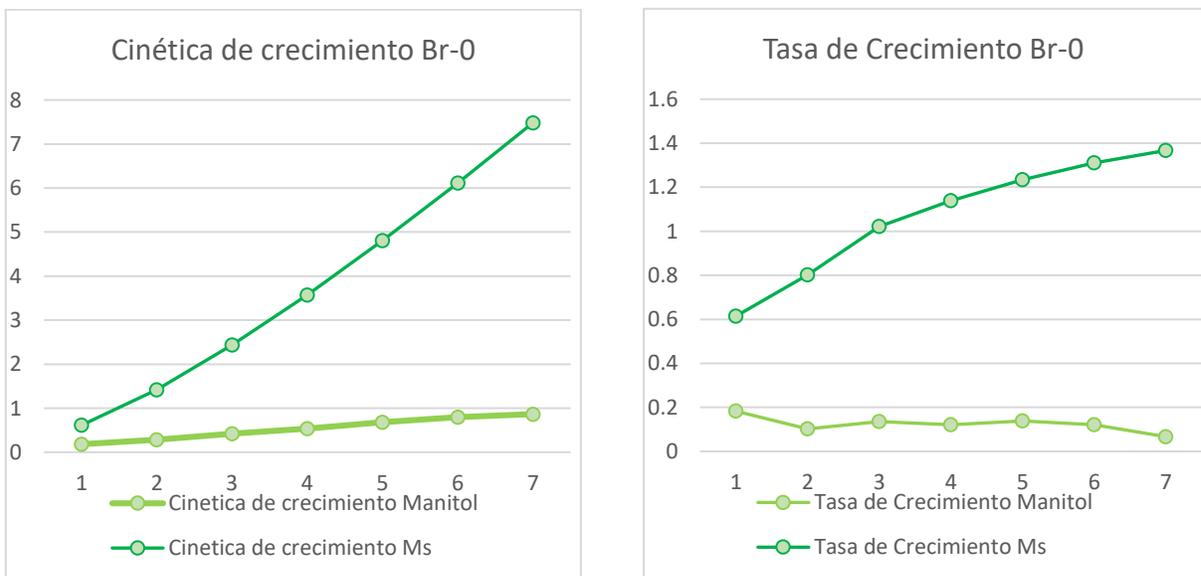


Figura 20. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Chat-1.

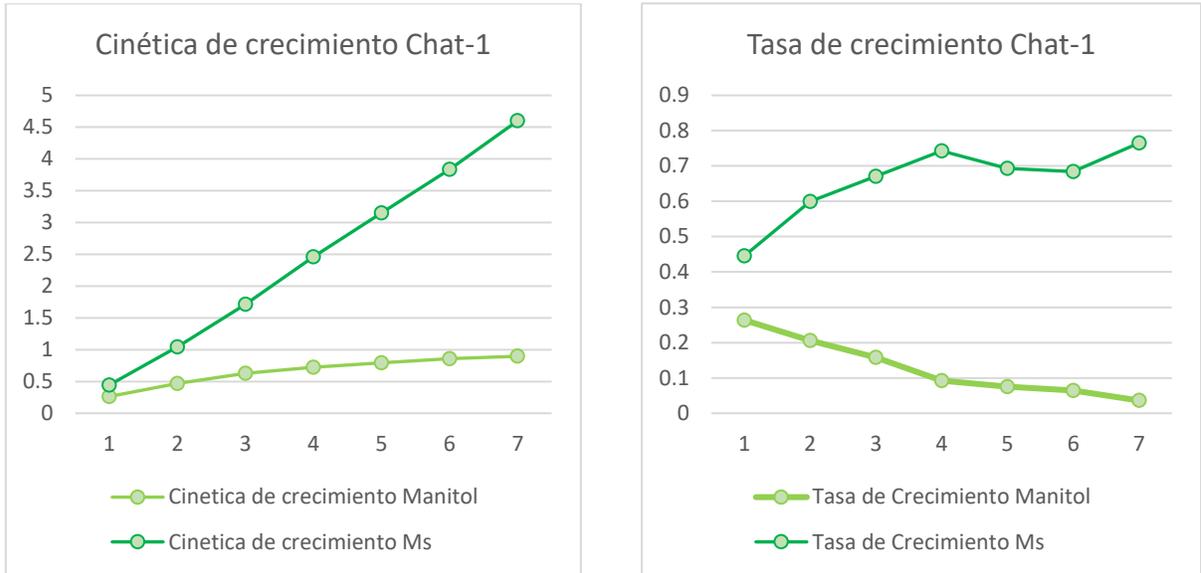


Figura 21. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Pu2-7.

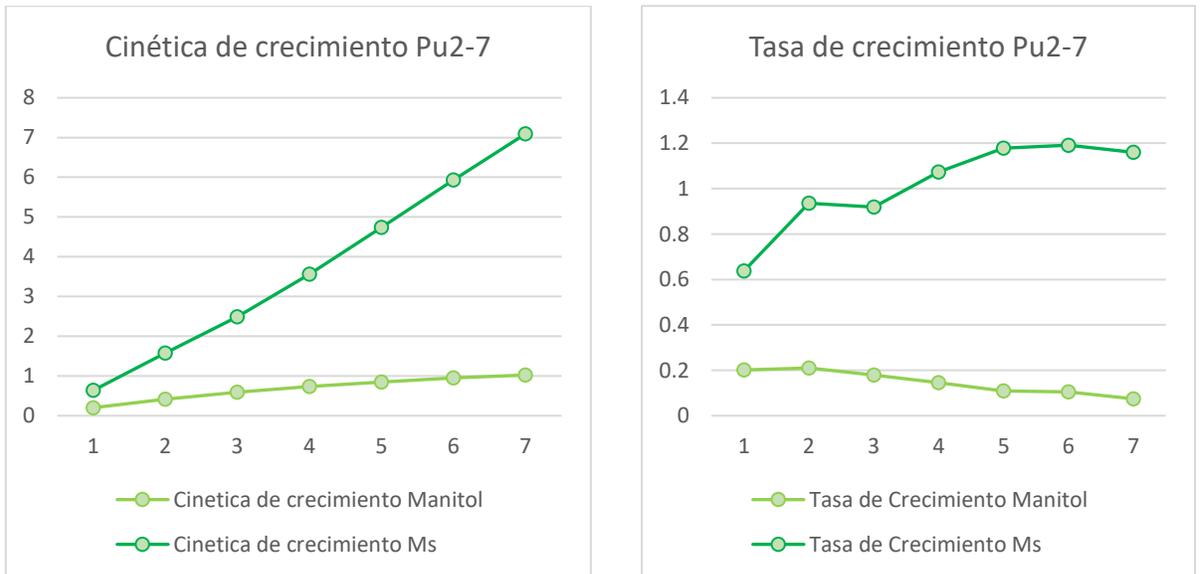


Figura 22. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Or-0.

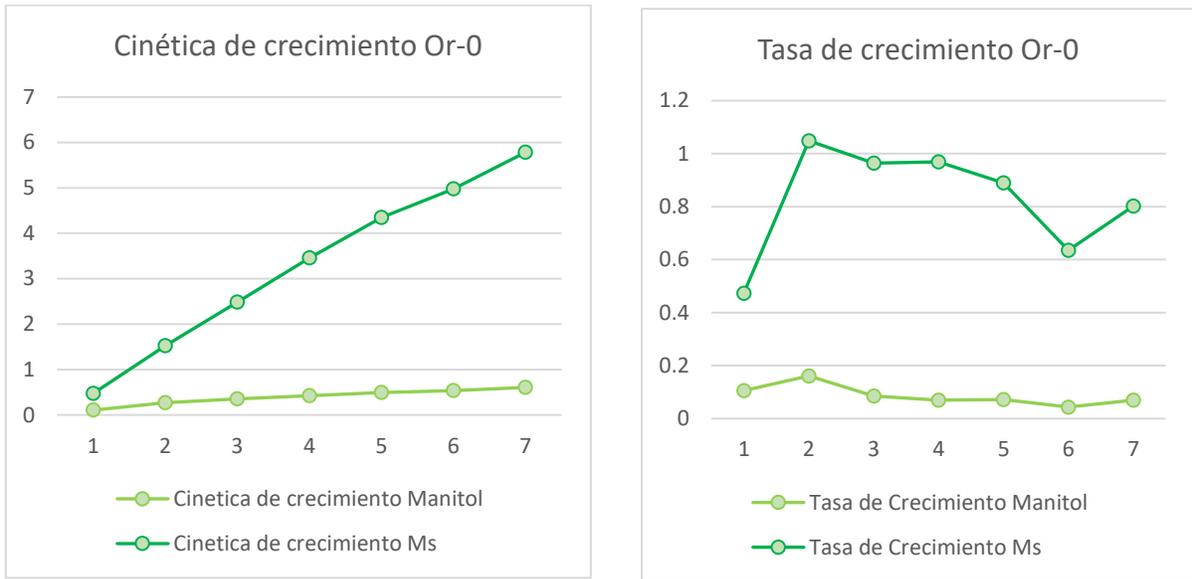


Figura 23. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Col-0.

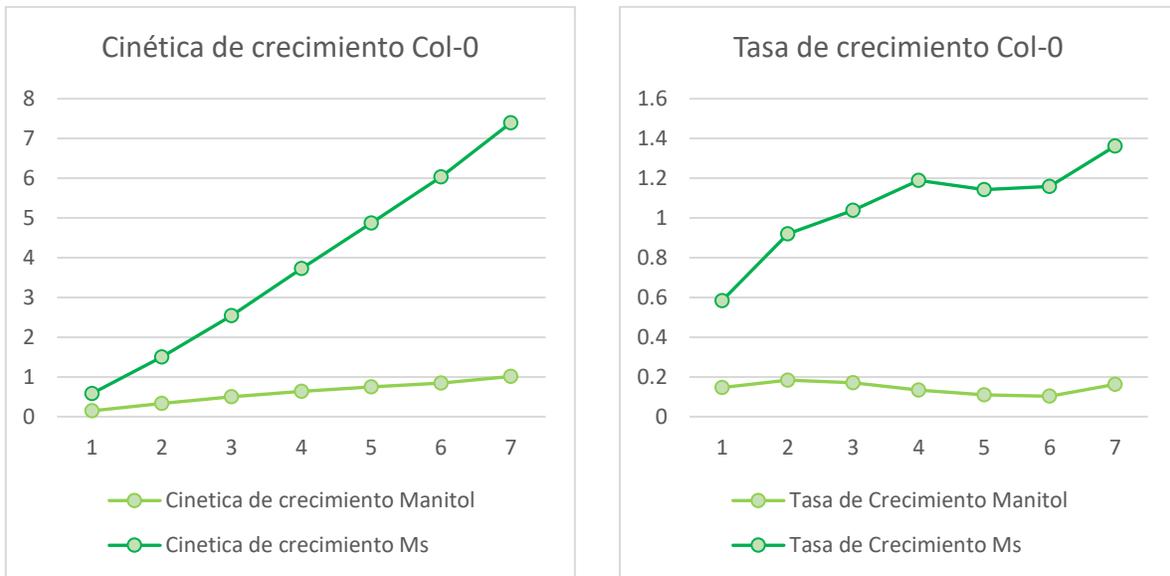


Figura 24. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión An-1.

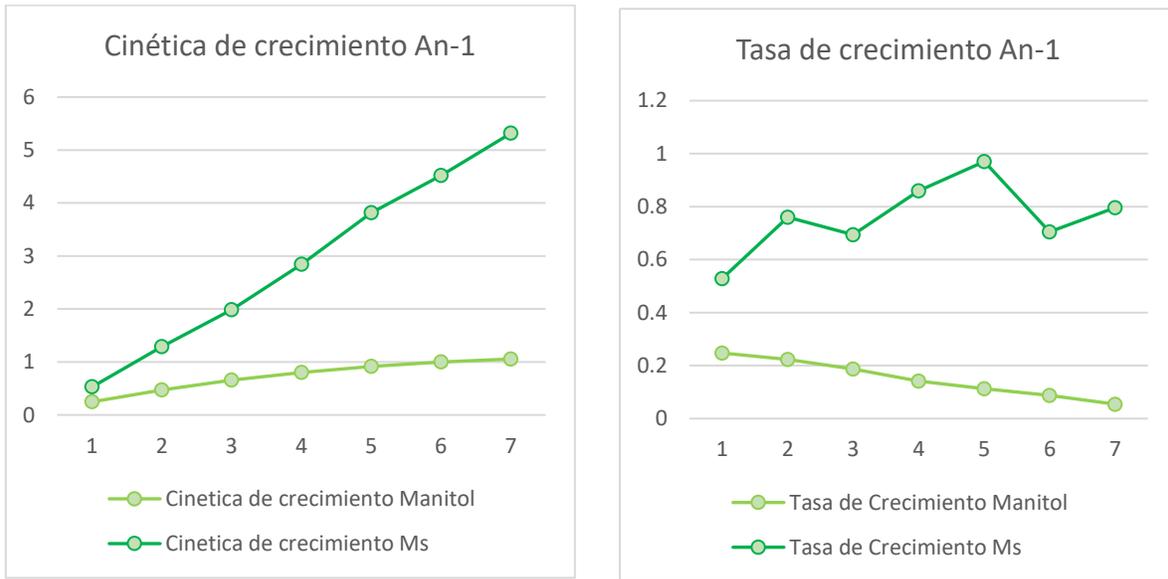


Figura 25. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Bla-1.

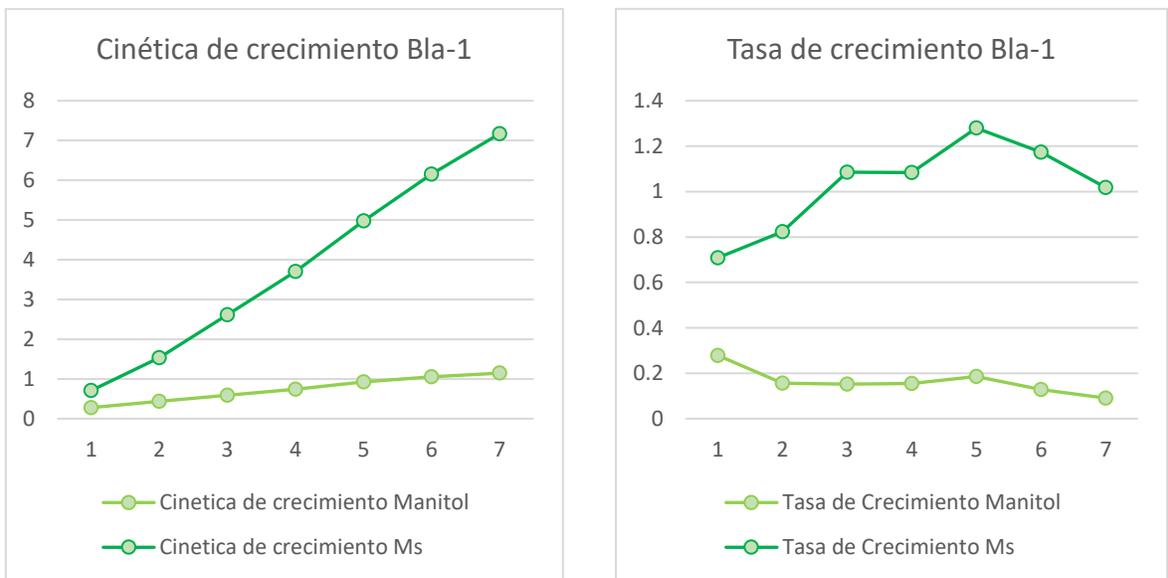


Figura 26. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Baa-1.

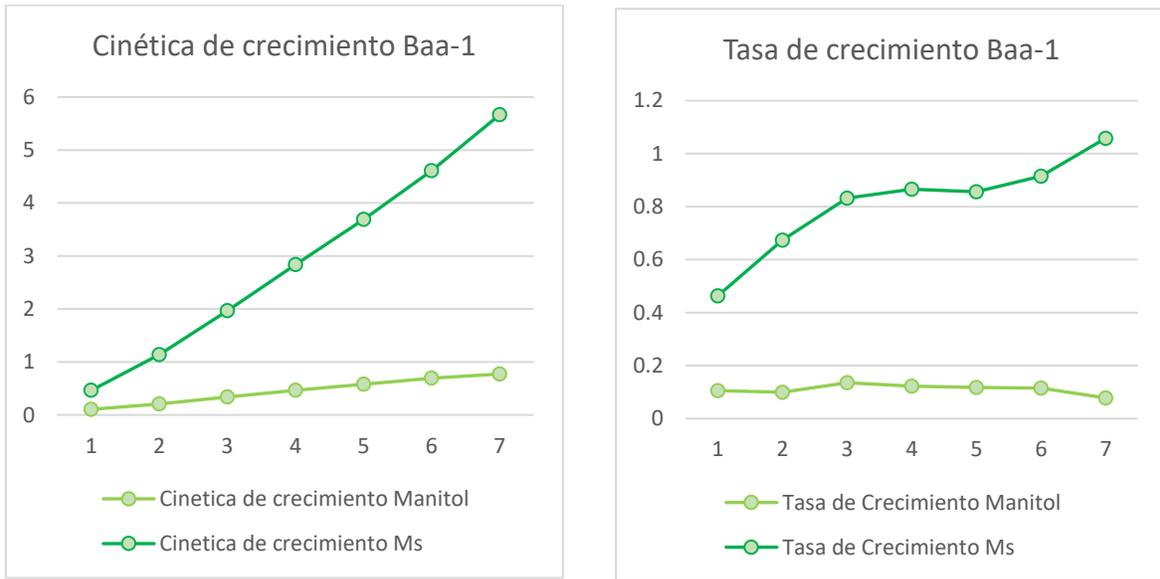


Figura 27. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Kondara.

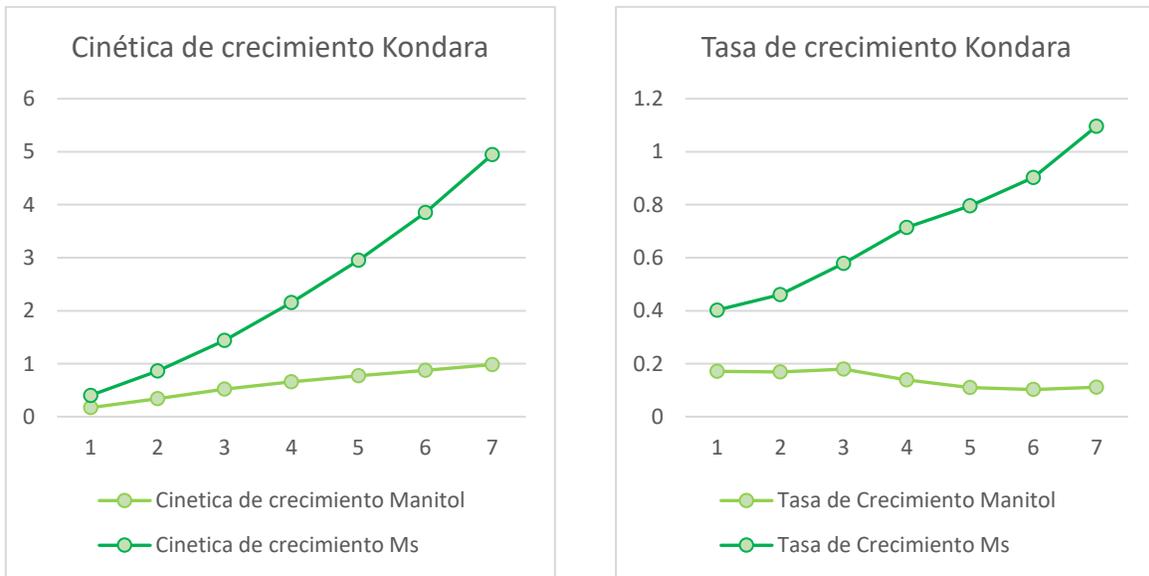


Figura 28. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Drall-1.

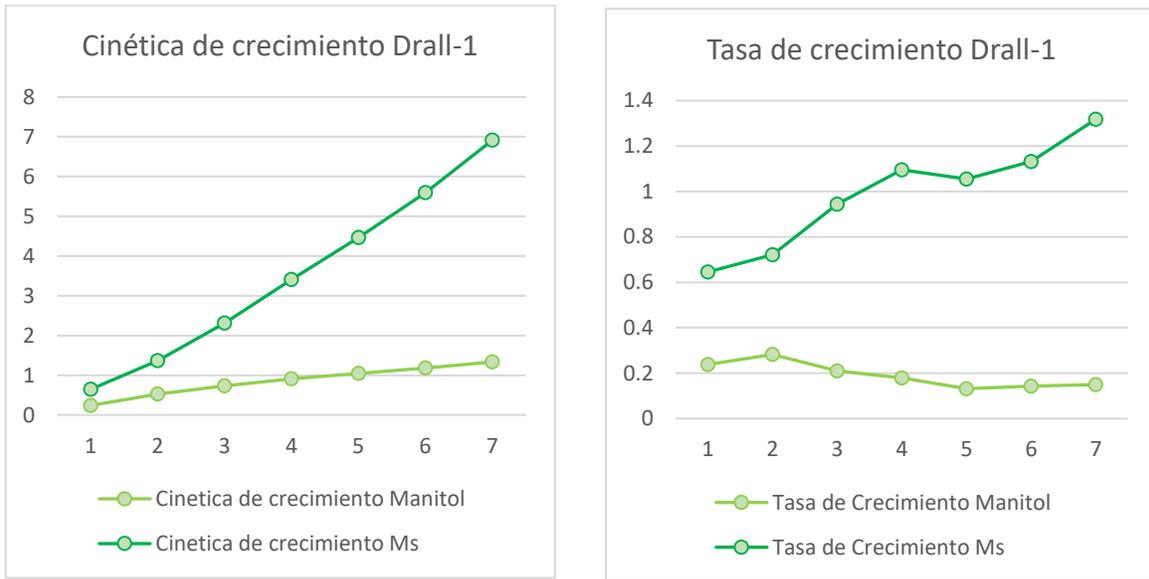


Figura 29. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Nd-1.

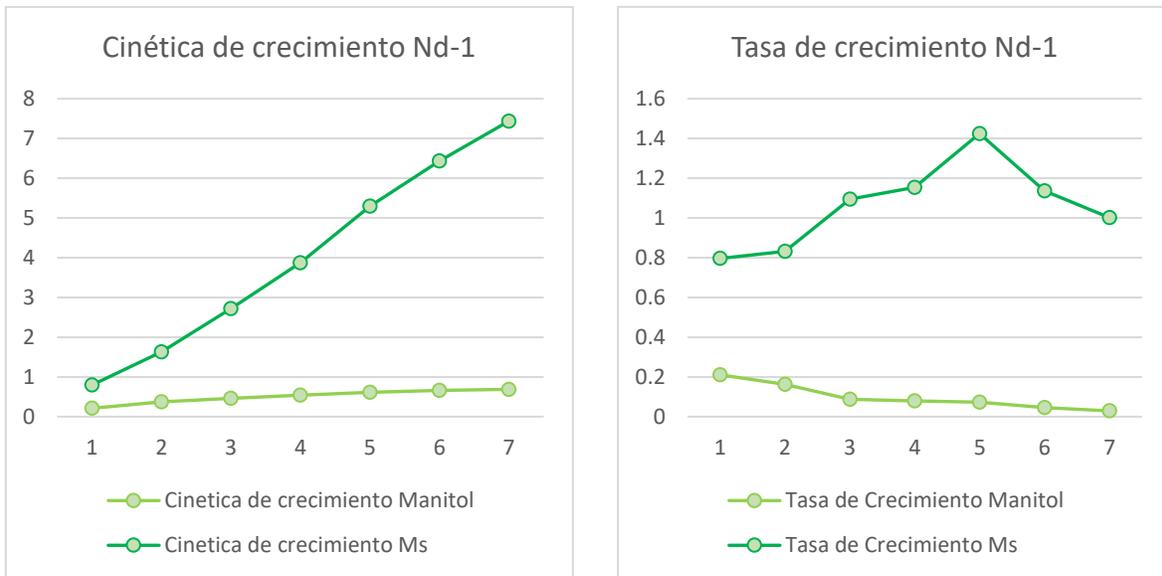


Figura 30. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Is-0.

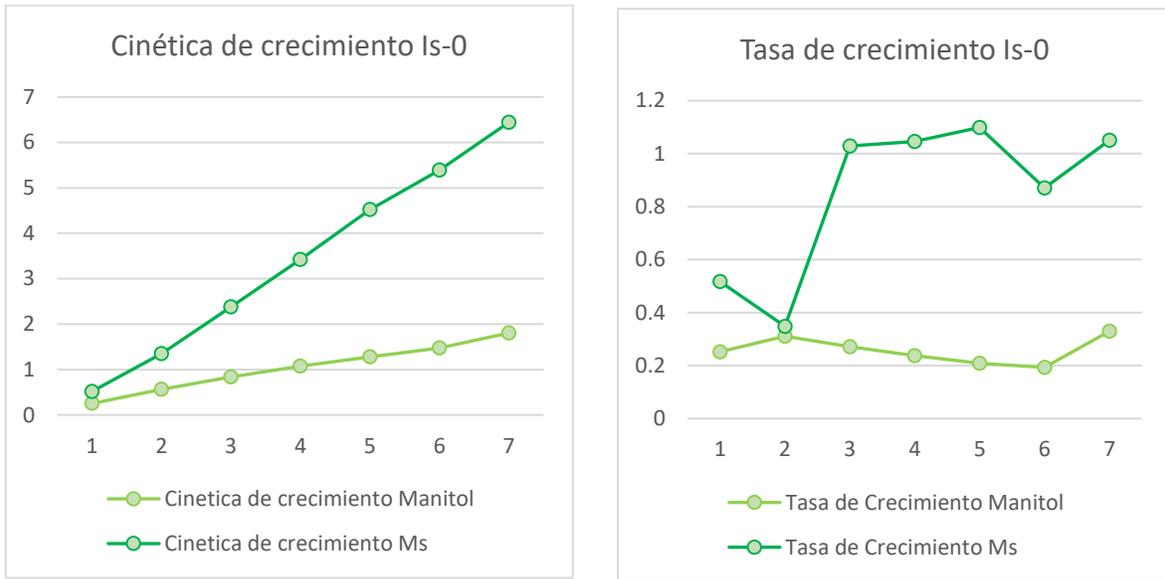
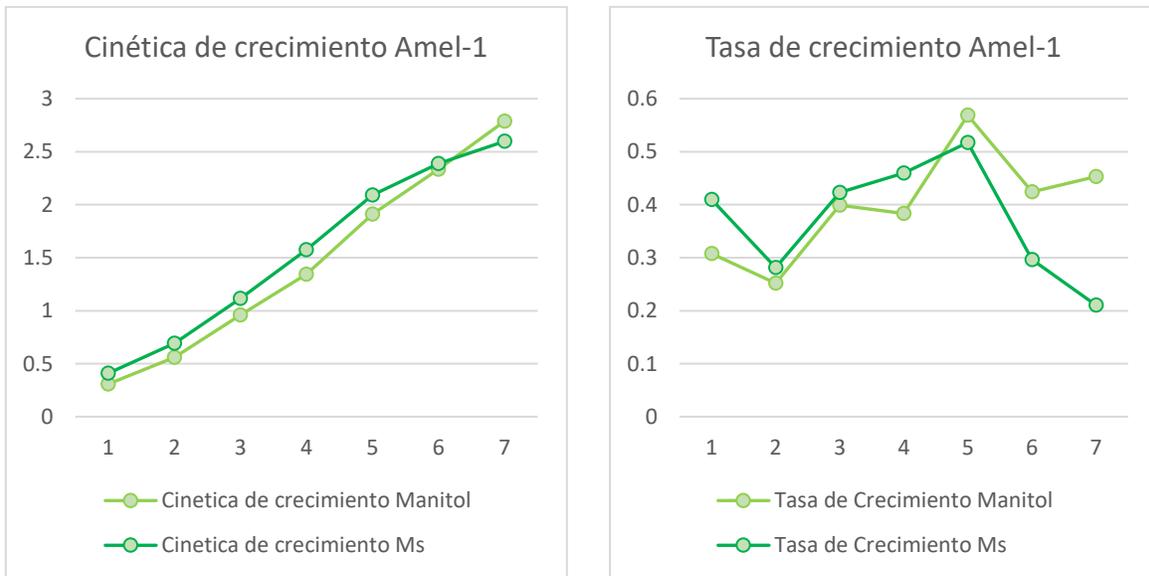


Figura 31. Cinética y tasa de crecimiento para la accesión Amel-1.



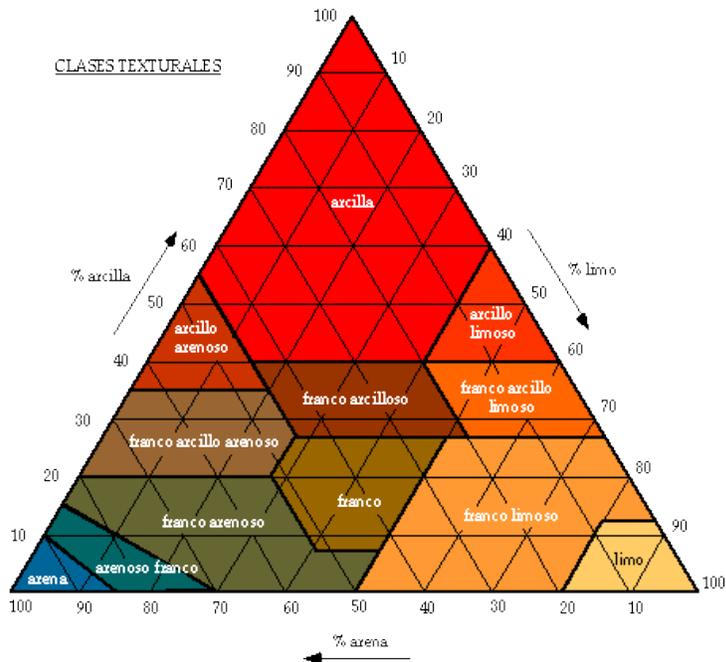


Figura 32. Diagrama textural del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA). Imagen tomada de www.edafologianet.

13. Referencias

- Aceves, P. (2015). Variabilidad Fenotípica en la raíz de *Arabidopsis thaliana* y su Correlación con la Expresión Génica. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Ackerly, D., Knight, C., Weiss, S., Barton, K. y Starmer., K. (2002). Leaf Size, Specific Leaf Area and Microhabitat Distribution of Chaparral Woody Plants: Contrasting Patterns in Species Level and Community Level Analyses. *Oecologia* 130: 449 - 457.
- Alberto, F., Aitken, S., y Alia, R. (2013) Potential for Evolutionary Responses to Climate Change Evidence from Tree Populations. *Global Change Biology*, 19: 1645–1661.
- Alonso-Blanco, C., Mendez-Vigo B, y Koornneef, M. (2005). From phenotypic to molecular polymorphisms involved in naturally occurring variation of plant development. *Intl J Dev Biol* 49: 717–732.

- Alonso-Blanco, C., Aarts, M., Bentsink, L., Keurentjes, J., Reymond, M., Vreugdenhil, D. y Koornneef, M. (2009). What Has Natural Variation Taught us about Plant Development, Physiology, and Adaptation? *The Plant Cell*, Vol. 21: 1877–1896.
- Ashraf, M. y Foolad, M. (2007). Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environ. Expe. Bot.* 59: 206-216.
- Avni, H., Eyidoan, F., Selçuk, F., Teixeira, J. y Yücel, M. (2015). Osmotic Stress Tolerance in Plants: Transgenic Strategies. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology Volume III*. Global Science Books, UK.
- Bray, E. (1997). Plant Responses to Water Deficit. *Trends Plant Sci.* 2: 48-54.
- Cajero, W. (2018). Análisis de Respuesta a Estrés Osmótico de diferentes genotipos de *Arabidopsis thaliana* usando a la raíz como sistema modelo. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Clarkson, D. (1996) Root structure and sites of ion uptake. *Plant roots: the hidden half*. Marcel Dekker Pub, New York, pp 483–510.
- Cederholm, H., Iyer-Pascuzzi, A. y Benfey, P. 2012. Patterning the Primary Root in *Arabidopsis*. *WIREs Dev Biol* 2012, 1:675–691.
- Buchanan, B., Gruissem, W. y Russell, J. (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. University of California, Berkeley. EUA.
- Cuesta, C. y Cires, E. (2012). *Arabidopsis thaliana* como Organismo Modelo en Biología. *Boletín de Ciencias Naturales. R.I.D.E.A.* 52: 175-178.
- Cushman, J. (2001). Crassulacean Acid Metabolism. A Plastic Photosynthetic Adaptation to Arid Environments. *Plant Physiology*, 127: 1439-1448.
- Di-Mambro, R., De Ruvo, M., Pacifici, E., Salvi, E., Sozzani, R., Benfey, P., Busch, W., Novak, O., Ljung, K., Di Paola, L., Marée, A., Costantino, P., Grieneisen, V. y Sabatini, S. (2017). Auxin Minimum Triggers the Developmental Switch from Cell Division to Cell Differentiation in the *Arabidopsis* Root. *PNAS*. E7641–E7649.
- Dingemanse, N., Kazem, A., Réale, D. y Wright, J. (2010). Behavioural Reaction Norms: Animal Personality Meets Individual Plasticity. *Trends Ecol. Evol.* 25: 81–89.
- Evans, L. (1983). *Fisiología de los Cultivos*. Ed. Hemisferio Sur.
- Exposito-Alonso, M., Vasseur, F., Ding, W., Wang, G., Burbano, A. y Weigel, D. (2018). Genomic Basis and Evolutionary Potential for Extreme Drought Adaptation in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Ecol Evol.* 2(2): 352–358.

- Fick, S. y Hijmans, R. (2017). Worldclim 2: New 1-km Spatial Resolution Climate Surfaces for Global Land areas. *International Journal of Climatology*.
- Gisbert, J. (2002). *Taxonomía de Suelos. Soil Taxonomy- 99*. Editorial Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Gisbert, J., Ibáñez, S. y Moreno, H. (2010). *La Textura del Suelo*. Editorial Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Gray, W. (2004). Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. *PLOS. Biology*, 2: E311.
- Gupta, B. y Huang, B. (2014). Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological. *International Journal of Genomics* 2014: 1-18.
- Biochemical, and Molecular Characterization
- Harper, J., Jones, M. y Hamilton, N. (1991). The evolution of roots and the problem of analysing their behaviour. In: Atkinson D (ed) *Plant root growth: an ecological perspective*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp 3–24.
- Haughn, G. y Kunst, L. (2010). *Arabidopsis thaliana*, a Model Organism for Molecular Genetic Studies in Plants: How and Why Was *Arabidopsis* Chosen Over Other Plants? University of British Columbia. *EUA*. 7-11.
- Hodge, A., Berta, G., Doussan, C., Merchan, F. y Crespi, M. (2009). Plant Root Growth, Architecture and Function. *Plant Soil*, 321:153-187.
- Hong-Bo, S., Li-Ye, C., Cheruth, A. y Chang-Xing, Z. (2008). Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants. *C. R Biologies* 331: 215-225.
- Ivanov, V. y Dubrovsky, J. (2013). Longitudinal Zonation Pattern in Plants Roots: Conflicts and Solutions. *Trends in Plants Science* 18: 237-243.
- Julkowska, M., Hoefsloot, C., Mol, S., Feron, R., Boer, G., Haring, M. y Testerink, C. (2014). Capturing Arabidopsis Root Architecture Dynamics with root-fit Reveals Diversity in Response to Salinity. *Plant Physiology*, 166: 1387-1402.
- Kalisz, S. y Kramer, EM. (2008). Variation and Constraint in Plant Evolution and Development. *Heredity* 100: 171-177.
- Kawecki, T. y Ebert, D. (2004). Conceptual Issues in Local Adaptation. *Ecology Letters*, 7: 1225–1241.
- Kerwin, S., Feusier, J., Corwin, J., Rubin, M., Lin, C., Muok, A., Larson, B., Li, B., Francisco, M., Copenland, D., Weining, C. y Kliebenstein. (2015). Natural Genetic Variation in *Arabidopsis thaliana* Defense Metabolism Genes Modulates Field Fitness. *eLife*. 4: 1-28.

- Kirkham, M. (2005). Principles of Soil and Plant Water Relations. Elsevier Academic Press. Pp. 1-485.
- Kozlowski, T., Kramer, J. y Pallardy. S. (1991). The Physiological Ecology of Woody Plants. Academic Press., Toronto.
- Kramer, P. (1986). Water Relations of Plants. Academic Press Inc.
- Kramer, P. y Boyer. J. (1995). Water Relations of Plants and Soils. Academic Press.
- Lambers, H., Chapin, S. y Pons. T. (1998). Plant Physiological Ecology. Springer Verlag, York PA.
- Lande, R. (2009). Adaptation to an Extraordinary Environment by Evolution of Phenotypic Plasticity and Genetic Assimilation. *J. Evol. Biol.* 22: 1435–1446.
- Lebaudy, A., Hosy, E., Simonneau, T., Sentenac, H., Thibaud, J. y Dreyer, I. (2008). Heteromeric K⁺ Channels in Plants. *The Plant Journal* 54: 1076-1082.
- Levitt, J. (1980). Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press. New York.
- Linhart, Y. y Grant, M. (1996). Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. of Ecol. Syst.* 27: 237-277.
- Mahalingam, R., Shah, N., Scrymgeour, A. y Fedoroff, N. (2005). Temporal Evolution of the Arabidopsis Oxidative Stress Response. *Plant Molecular Biology*, 57: 709-730.
- Malamy, J. (2005) Intrinsic and Environmental Response Pathways that Regulate Root System Architecture. *Plant Cell Environ*, 28:67–77
- Moreno, P. (2009). Respuestas de las Plantas al Estrés por Déficit Hídrico. Una Revisión. *Agronomía. Colombiana.*, 27: 179-191.
- Morlans, B. (2004). Introducción a la Ecología de Poblaciones. Editorial Científica Universitaria, Universidad Nacional de Catamarca.
- Nilsen, E. y Orcutt. D. (1996). Physiology of plants under stress. Abiotic Factors. John Wiley and Sons, New York, EUA.
- Pacheco-Escobedo, M., Ivanov, V., Ramson, I., Arriaga, G., Ávila, H., Blakanov, I., Pimentel, A., Corkidi, G., Doerner, P., Dubrovsky, J., Álvarez-Buylla, E. y Garay-Arroyo, A. (2016). Longitudinal Zonation Pattern in Arabidopsis Root Tip Defined by a Multiple Structural Change Algorithm. *Annals of Botany* 118: 763–776.
- Perez, B., De Rybel, Casimiro, E., Benkova, R., Swarup, L., Laplaze, T., Beeckman y M, Bennett. (2009). Arabidopsis lateral root development: an emerging story. *Trends Plant Sci.* 14, 399-408.

- Petricka, J. y Winter, C. (2012). Control of *Arabidopsis* Root Development. *Annu Rev Plant Biol* 63: 563-590.
- Potters, G., Pasternak, T., Guisez, Y., Palme, K. y Jansen, A. (2007). Strees-induced Morphogenetic Responses: Growing out of Trouble? *Trends in Plant Science* 12: 98-105.
- Potters, G., Pasternak, T., Guisez, Y. y Jansen, A. (2009). Different Stresses, Similar Morphogenetic Responses: Integrating a Plethora of Pathways. *Plant Cell & Enviroment* 32: 158-169.
- Powles, S. (1980). Photoinhibition of photosynthesis induces by visible light. *Annual Review of Plants Physiology* 35: 15-44.
- Rédei, G. (1970). *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. A Review of the Genetics and Biology. *Bibliogr. Genet*, 20: 1-151.
- Robinson, D. (1994). The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. *New Phytol.* 127, 635–674.
- Roelfsema, M. y Hedrich, R. (2002). Studying Guard Cell in the Intact Plant: Modulation of Stomatal Movement by Apoplastic Factors. *New Phytol.* 153: 425-431.
- Sage, R. y Kubien, D. (2007). The Temperature Response of C and C photosynthesis. *Plant Cell and Environment* 30: 1086-1106.
- Salisbury, F. y Ross, C. (1985). *Plant Physiology*. Wadsworth. Publ. Co.
- Sato, A. y Miura, K. (2011). Root architecture remodeling induced by phosphate starvation. *Plant Signaling & Behavior (USA)* 6: 1122-1126.
- Schmalhausen, I. (1949) *Factors of Evolution. The Theory of Stabilizing Selection*. Blakiston, Philadelphia, 326.
- Shindo, C., Bernasconi, G. y Hardtke, C. (2007). Natural Genetic Variation in *Arabidopsis*: Tools, Traits and Prospects for Evolucionary Ecology. *Oxford Journals, Annals of Botany* 99: 1043–1054.
- Šimůnek, J y Hopmans, J. (2009). Modeling Compensated Root Water and Nutrient Uptake. *Ecol. Model.* 220: 505–521.
- Soil Survey Staff. (2014). *Keys to Soil Taxonomic*. USDA Natural Resources Conservation Service. Washington, DC. EUA.
- Squeo, F. (2007). *Fisiología Vegetal*. Ediciones de la Universidad de la Serena, Chile. 2: 47-66.
- Sultan, S. (1987). Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21:127- 178.

- Sultan, S. (1995). Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botánica Neerlandica* 44:363-383.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal*. Tercera Edición. Castelló de la Plana: Publicaciones de la Universitat Jaume I, D.L. EUA.
- Tonsor, S., Alonso-Blanco, C. y Koornneef, M. (2005). Gene function beyond the single trait: natural variation, gene effects and evolutionary ecology of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 28: 2–20.
- Turensson, G. (1922). The Species and the Variety and Ecological Units. *Hereditas* 3: 100-113.
- Verbelen, J., Cnodder, T., Le, J., Vissenberg, K. y Baluska, F. (2006). The Root Apex of *Arabidopsis thaliana* Consists of Four Distinct Zones of Growth Activities. *Plant Signaling & Behavior* 1:6, 296-304.
- Weigel, D. (2012). Natural Variation in *Arabidopsis*: From Molecular Genetics to Ecological Genomics. *Plant Physiology*. 158: 2-22.
- Yancey, C., Hand, S., Bowlus, P. y Somero, G. (1982). Living with Water Stress: Evolution of Osmolyte Systems. *Science* 217: 1214-1217.
- Yepes, A. y Silveira, M. (2007). Respuestas de las Plantas ante los Factores Ambientales del Cambio Climático Global (Revisión). *Colombia Forestal* 14(2): 213-232.
- Yoshida, S., Barbier de Reuille, P., Lane, B., Bassel, G., Prusinkiewicz, P., Smith, R. y Weijers, D. (2014). Genetic Control of Plant Development by Overriding a Geometric Division Rule. *Developmental Cell* 29: 75-87.
- Zhang, S. y Outlaw, W. (2001). Abscisic Acid Introduced into the Transpiration Stream Accumulates in the Guard Cell Apoplast and Causes Stomatal Closure. *Plant Cell Environ*. 24: 1045- 1054.
- Zhu, J. (2001). Plant Salt Tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 66-71.
- Zhu, J., Scumaker, K., y Xiong. L. (2002). Cell Signalling During Cold, Drought and Salt Stress. *Plant Cell* 14: 165-183.
- Zyalalov, A. (2004). Water Flows in Higher Plants: Physiology, Evolution, and System Analysis. *Plant Physiol*. 51(4): 547-555.