

Relaciones hídricas e intercambio gaseoso en alfalfa bajo condiciones de sequía

Milton Javier Luna-Guerrero¹
Cándido López-Castañeda^{1§}
Adrián Raymundo Quero Carrillo¹
José Guadalupe Herrera-Haro¹
María Esther Ortega-Cerrilla¹
Pedro Arturo Martínez-Hernández²

¹Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. CP. 56230. Tel. 595 9520200, ext. 1587. (luna.milton@colpos.mx; sergiomp@colpos.mx; queroadrian@colpos.mx; haro@colpos.mx; meoc@colpos.mx. ²Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. CP. 56230. Tel. 595 9521500, ext. 5093. (pedroarturo@correo.chapingo.mx).

§Autor para correspondencia: clc@colpos.mx.

Resumen

Se estudió el efecto del déficit hídrico edáfico en las relaciones hídricas e intercambio gaseoso de diez variedades de alfalfa (*M. sativa* L.) en invernadero con riego (R) y sequía (S). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones en R y cuatro en S. La unidad experimental fue una planta individual en un tubo de PVC de 4" y 1 m de alto. Las plántulas se trasplantaron en los tubos, 20 d después de la germinación en charolas para almacigo. La fertilización se hizo al aplicar la fórmula 60-140-00 a los 44, 240 y 420 dds. En R el contenido hídrico del suelo se mantuvo cercano a CC [20-406 ddt, R₁ y 406-688 ddt, R₂] y en S la aplicación de agua se suspendió por 61 d (345-406 ddt, S₁) y 68 d (620-688 ddt, S₂). El potencial hídrico (ψ), osmótico (π) y de turgencia (p) y la tasa de asimilación (A) y transpiración (E), y la conductancia estomática (g) más bajos en S₁ fueron $\psi = -3.1$, $\pi = -3.5$ y $p = 0.4$ MPa; $A = 4.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $E = 0.022 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $g = 0.7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, y en S₂ $\psi = -3.5$, $\pi = -3.7$ y $p = 0.2$ MPa; $A = 4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $E = 0.019 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $g = 0.7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. El ajuste osmótico (AO) y la eficiencia en el uso del agua (W) mostraron valores finales de 1.7 MPa y $0.0058 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}^{-1}$ en S₁ y 1.96 MPa y $0.0061 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}^{-1}$ en S₂. Las variedades Genex, Júpiter, Atlixco y Milenia con altos niveles de AO, A, E, g y W mostraron mejor comportamiento y tolerancia al estrés hídrico.

Palabras clave: ajuste osmótico, asimilación, eficiencia en el uso del agua, transpiración.

Recibido: enero de 2020

Aceptado: marzo de 2020

Introducción

La frecuente presencia de periodos de déficit hídrico en el suelo durante el ciclo biológico de la alfalfa y el incremento en la temperatura atmosférica global, debidos al cambio climático, pueden causar severas reducciones en la calidad y el rendimiento de materia seca. También, el alto costo y el aumento en la escasez del agua de calidad para el riego hacen cada vez más difícil, la producción de forraje en extensas áreas de México y el mundo (Orloff, 2015). En años secos cuando la disponibilidad de riego es reducida, la alfalfa es el primer cultivo expuesto a las deficiencias hídricas, al considerar que es un cultivo de alta demanda de agua. No obstante, la alfalfa puede sobrevivir a periodos cortos de sequía, sin riego y puede recuperarse, y producir rendimiento normalmente en años subsecuentes (Orloff, 2015).

En estas condiciones el crecimiento de las plantas depende en gran medida del intercambio gaseoso, el cual involucra la pérdida de agua del tejido (transpiración) y la entrada de CO₂ al interior de la hoja (fotosíntesis). Dicho intercambio está regulado por la conductancia estomática, de tal forma que para lograr una mayor eficiencia en el uso del agua (W), cuando esta es escasa, la plantas deben reducir más su conductancia estomática a la pérdida de agua que a la asimilación de CO₂ (López-Castañeda, 1993).

El estatus hídrico de la planta guarda estrecha relación con la tasa de transpiración y los procesos de flujo de agua en el sistema vascular de la planta, de tal forma que un déficit hídrico del suelo puede causar una reducción en la conductancia estomática y la expansión del dosel vegetal, y un reacomodo de las hojas en una posición más vertical (Sim *et al.*, 2017). El déficit hídrico será más serio con el aumento de la temperatura en el futuro, poniendo al rendimiento de los cultivos bajo una mayor amenaza (Harrison *et al.*, 2014).

Por esta razón, el desarrollo de variedades con mayor resistencia a sequía y calor es una alternativa prometedora en la selección de genotipos mejor adaptados a condiciones de estrés. Asimismo, el descubrimiento de las bases genética, fisiológica y molecular de los mecanismos de resistencia al estrés, será una herramienta indispensable para el diseño de nuevos cultivos y variedades tolerantes a sequía y calor (Zhao *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2019).

La acumulación activa de solutos en la célula en respuesta al déficit hídrico se refleja en una disminución del potencial osmótico de la célula, debido al incremento en la concentración de solutos, tales como compuestos osmóticos protectivos, antioxidantes y reguladores del crecimiento (Fahad *et al.*, 2015). Estos solutos producidos en la célula contribuyen a la adaptación de las plantas al estrés ambiental al dominar la actividad de múltiples genes de respuesta al estrés que exhiben posibilidades atractivas para la aplicación del mejoramiento molecular (Morran *et al.*, 2011).

En adición, la síntesis de acuaporinas y dehidrinas se han reportado como factores involucrados en la tolerancia a la sequía de numerosas especies (Perdiguero *et al.*, 2015). La respuesta de las plantas al déficit hídrico puede ayudar a exhibir los mecanismos genético-fisiológicos que determinan la resistencia a la sequía. Este estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar la respuesta fenotípica de 10 variedades comerciales de alfalfa en sus relaciones hídricas y de intercambio gaseoso en riego y sequía bajo condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Localización

El estudio se realizó en condiciones de invernadero en el área de resistencia a sequía del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 29' latitud norte, 98° 53' longitud oeste y altitud de 2 250 m).

Material vegetal

El experimento incluyó 10 variedades de alfalfa obtenidas de distintas casas comerciales. Se eligieron al azar cuatro grupos de 100 semillas en cada variedad y se pusieron a germinar en cajas Petri con papel filtro marca Whatman®, en condiciones de laboratorio (temperatura de 20 °C). El porcentaje de germinación varió de 95 a 98 % para todas las variedades.

Diseño experimental y tratamientos de humedad edáfica

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y dos tratamientos de humedad edáfica (riego y sequía); los bloques se rotaron dentro del invernadero cada semana para reducir el efecto del microambiente en las plantas. La unidad experimental fue una planta individual crecida en un tubo de PVC de 1 m de alto y 4" de diámetro, con una bolsa cilíndrica de polietileno de 1.1 m de alto y el mismo diámetro que el tubo de PVC.

La siembra se realizó en cajas para almacigo, el día 15 de marzo de 2017, al colocar cinco semillas del mismo peso en cada celdilla; cuando las plántulas tuvieron 20 días después de la siembra (dds), se procedió a elegir la planta más vigorosa en cada celdilla para su trasplante en los tubos de PVC.

Los tubos de PVC se llenaron con suelo desecado al sol durante dos semanas; el suelo utilizado es de textura franco-arenosa con densidad aparente de 1.12 T m^{-3} , capacidad de campo (CC) de 41.6% y porcentaje de marchitamiento permanente (PMP) de 28.2% (Laboratorio Central Universitario, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México, 2016). La fertilización se hizo a los 44 días después del trasplante (ddt) con la fórmula 60-140-00, al utilizar urea y superfosfato de calcio triple como fuentes de nitrógeno y fósforo; una segunda y tercera fertilización se hicieron con la misma fórmula a los 240 y 420 ddt.

Los tratamientos de humedad edáfica fueron: riego, donde el contenido hídrico del suelo se mantuvo cercano a CC desde la fecha de trasplante (20 dds) hasta los 406 ddt (R_1) y desde los 406 ddt hasta la conclusión de experimento (688 ddt) (R_2) y sequía, donde la aplicación de agua se suspendió por un periodo de 61 días [345 a 406 ddt, marzo a mayo 2018; (S_1)] y un segundo periodo de 68 días [620-688 ddt; noviembre 2018 a febrero 2019; (S_2)].

Variables medidas y calculadas

El potencial hídrico foliar (ψ), osmótico (π) y de turgencia (P), la tasa de fotosíntesis (A), tasa de transpiración (E) y conductancia estomática (g), se midieron a los 345, 360, 377, 391 y 406 ddt en todas las plantas en riego (R_1) y sequía (S_1), y a los 620, 635, 658, 673 y 688 ddt en R_2 y S_2 .

El ψ (MPa) se midió en un tallo completo con los folíolos superiores completamente expandidos y expuestos a la radiación solar, entre las 11:00 y 13:00 h, utilizando la bomba de presión o bomba de Scholander (Barrios-Gómez *et al.*, 2011).

El π (MPa) se midió en las muestras de los folíolos utilizados para medir el ψ ; los folíolos se colocaron en microtubos de plástico de 5 ml, mismos que se introdujeron en un termo con nitrógeno líquido a una temperatura de $-195\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos. El π se determinó en una alícuota de 100 μl de cada muestra, al utilizar un osmómetro modelo Typ 6M 10/25 μl , marca Löser (Germany) en el laboratorio. El P (MPa) se calculó como la diferencia entre los potenciales ψ y π ($p = \psi - \pi$), para cada muestra analizada (Begg y Turner, 1976). El ajuste osmótico (AO, MPa) de las plantas se calculó como la diferencia entre π determinado en riego (π_R) y el π medido en sequía (π_S), para cada variedad ($\text{AO} = \pi_R - \pi_S$) Morgan (1995).

La tasa de fotosíntesis neta (A , $\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), la tasa de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) y la conductancia estomática (g_i , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) se midieron al colocar una hoja completamente expandida dentro de la cámara de asimilación del analizador de gases infrarrojo (IRGA, modelo LI-6400, LI-COR Inc; Lincoln, Nebraska, EE.UU), configurado para un sistema abierto, donde las mediciones se basan en las diferencias en la concentración de CO_2 y H_2O en la hoja y la concentración de CO_2 y H_2O en una corriente de aire que fluye a través de la hoja. La eficiencia transpiratoria o eficiencia en el uso del agua instantánea de la planta completa, medida por el intercambio gaseoso (W , $\text{mol CO}_2\text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) se calculó al dividir A entre E ($W = A / E$) (Farquhar, 1991).

Datos de temperatura

La temperatura máxima y mínima ($^{\circ}\text{C}$) diaria del aire adentro del invernadero se midió con un termómetro de columna de mercurio de máxima y mínima, marca Taylor (England). La temperatura media máxima y mínima, registradas en el invernadero durante el experimento completo fueron 31.9 y $8.4\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

Contenido de humedad en el suelo

El contenido hídrico del suelo se determinó mediante el método gravimétrico cada tercer día con una balanza electrónica marca Tor-Rey, modelo PCR Series, agregando la cantidad de agua evapotranspirada en cada unidad experimental, para mantener el contenido de humedad edáfica cercano a CC en todas las plantas, excepto, durante los tratamientos de sequía (S_1 y S_2), en los que se suspendió la aplicación de agua y sólo se registró el peso de cada tubo, para estimar la evapotranspiración ocurrida en las plantas sujetas a déficit hídrico.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con el procedimiento GLM (SAS Inst. Inc., versión 9.12), versión para Windows 10, bajo un diseño de parcelas divididas con dos factores principales; el efecto mayor fue el tratamiento de humedad edáfica y el tratamiento menor fue el genotipo (Hinkelmann y Kempthorne, 2008).

Las medias de los tratamientos de humedad edáfica y genotipos se compararon al utilizar la diferencia mínima significativa (DMS, $p < 0.05$), bajo el siguiente modelo estadístico: $Y_{ij} = \mu + T_i + G_j + T * G_{ij} + E_{ij}$. Donde: Y_{ij} = valor de la variable de respuesta en el tratamiento de humedad del suelo (T) del nivel i, genotipo (G) del nivel j; μ = media general, T_i = efecto de los tratamientos de humedad edáfica al nivel i = riego y sequía, y G_j = efecto del genotipo de las diferentes variedades de alfalfa al nivel j = San Miguel, Oaxaca, Genex, Júpiter, Milenia, San Isidro, Aragón, Cuf 101, Victoria y Atlixco, y E_{ij} = error experimental.

Resultados y discusión

Contenido hídrico del suelo

En riego (R_1 y R_2) el contenido hídrico del suelo se mantuvo cercano a CC durante el experimento, mientras en sequía (S_1 y S_2), la disponibilidad de humedad edáfica disminuyó por debajo del PMP (porcentaje de humedad edáfica, donde la disponibilidad de humedad para la planta se reduce a cero) entre los 361 a 407 ddt en S_1 y 634 a 687 ddt en S_2 , y se mantuvo en esa condición durante más tiempo en S_2 (53 d) que en S_1 (46 d).

Una disminución severa en el contenido de humedad en el suelo por debajo del límite de absorción de las raíces (PMP), puede afectar considerablemente la morfología, fisiología y rendimiento de la alfalfa (Pembleton *et al.*, 2009). Sin embargo, la deshidratación de la planta puede retardarse por medio de un periodo de absorción más prolongado o una reducción de la transpiración; cuando el crecimiento de la raíz y la absorción se detienen en un suelo en secamiento, la alfalfa puede mantener el déficit hídrico al reducir (Erice *et al.*, 2010) y entonces detener su crecimiento vegetativo (Sheaffer *et al.*, 1988).

Relaciones hídricas

La sequía fue más severa y tuvo mayor duración en S_2 que en S_1 ; el ψ , π y p en riego (R_1 y R_2) fueron consistentemente más altos ($p \leq 0.01$) que en sequía (S_1 y S_2) en promedio de todos los genotipos. En R_1 el ψ , π y p se mantuvieron en un promedio de -0.6, -1.6 y 1 MPa durante el periodo de déficit hídrico (Figuras 1a, b y c), mientras en S_1 el ψ , π y p disminuyeron ($p \leq 0.01$) de -0.6, -1.6 y 1 MPa, al inicio del periodo de déficit hídrico (345 ddt) a -3.1, -3.5 y 0.4 MPa al finalizar el periodo de sequía (406 ddt) (Figuras 1d, e y f).

En S_1 la variedad Júpiter tuvo alto ($p \leq 0.05$) ψ a los 392 y 407 ddt (Figura 1d), y π a los 361, 378 y 407 ddt; la variedad Atlixco tuvo alto ($p \leq 0.05$) π a los 361 y 407 ddt y la variedad Victoria mostró alto ($p \leq 0.05$) π a los 361 ddt (Figura 1e).

Las variedades Júpiter, Atlixco y Milenia mostraron ψ similar a Genex a los 361 ddt, Júpiter mostró ψ similar a los 361 ddt, Genex mostró ψ similar a Júpiter a los 392 y 407 ddt (Figura 1d). Las variedades Genex, Milenia y Aragón tuvieron π similar a Júpiter, Atlixco y Victoria a los 361 ddt, las variedades Atlixco y Victoria tuvieron π similar a Júpiter a los 378 ddt; las variedades Júpiter, Atlixco y Milenia mostraron π similar a Genex a los 392 ddt y las variedades Milenia, Victoria y Aragón fueron similares en π a Genex, Júpiter y Atlixco (Figura 1e). La variedad Milenia mostró p similar a Genex a los 378 ddt (Figura 1f).

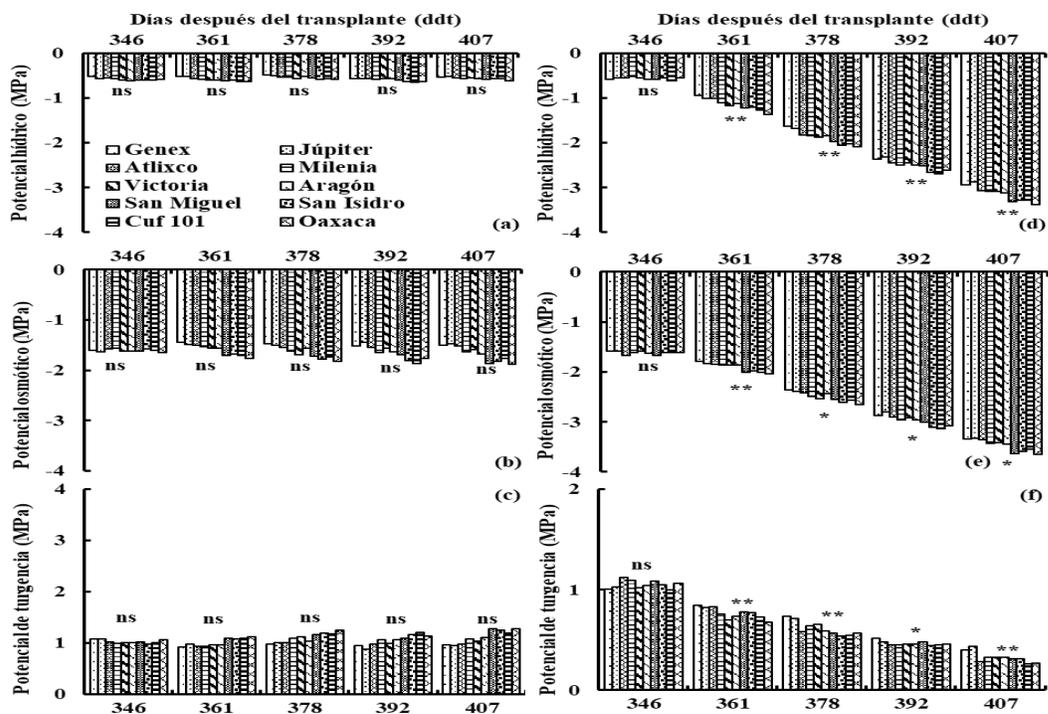


Figura 1. Potencial hídrico, osmótico y de turgencia en riego (R₁) (a, b y c), y sequía (S₁) (d, e y f), para 10 variedades de alfalfa en condiciones de invernadero. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

En R₂ el ψ , π y p fueron -0.6, -1.6 y 1 MPa en promedio durante el periodo de deficiencias hídricas del suelo (Figuras 2a, b y c) mientras en S₂, el ψ , π y P disminuyeron ($p \leq 0.01$) de -0.6, -1.6 y 1 MPa, al inicio de la sequía (620 ddt) a -3.5, -3.7 y 0.2 MPa al término del periodo de déficit hídrico (688 ddt) (Figuras 2d, e y f).

En S₂ la variedad Genex mostró alto ($p \leq 0.05$) ψ a los 634, 672 y 687 ddt (Figura 2d) y π a los 657, 672 y 687 ddt (Figura 2e). La variedad Atlixco tuvo alto ($p \leq 0.05$) ψ a los 634 ddt (Figura 2d), π a los 634 ddt (Figura 2e) y p a los 634 ddt (Figura 2f). La variedad Milenia presentó alto ($p \leq 0.05$) ψ a los 634, 657 y 687 ddt (Figura 2d), π a los 672 ddt (Figura 2e) y p a los 657 ddt (Figura 2f).

La variedad Genex mostró ψ similar a Milenia a los 657 ddt; las variedades Atlixco y Milenia tuvieron ψ similar a Genex a los 672 ddt y Atlixco mostró ψ similar a Genex y Milenia a los 687 ddt (Figura 2d). La variedad Milenia tuvo π similar a Atlixco a los 634 ddt; las variedades Atlixco y Milenia tuvieron π similar a Genex a los 657 ddt, la variedad Atlixco tuvo π similar a Genex y Milenia a los 672 ddt y las variedades Atlixco y Milenia fueron similares en π a Genex a los 687 ddt (Figura 2e). Las variedades Genex y San Isidro mostraron p similar a Atlixco a los 634 ddt (Figura 2f).

Un déficit hídrico en el suelo ($\approx 60\%$ de la humedad extraíble) en plantas adultas de las variedades Cuf 101, Moapa 69 y WL 318 de alfalfa, redujo linealmente el ψ de todos los genotipos hasta que la disponibilidad de humedad fue muy baja a una profundidad de 2.4 m ($\approx 0.14 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$), con una respuesta diferencial entre variedades (Grimes *et al.*, 1992). La reducción en el ψ de -0.5, -0.5 y -0.35 MPa con respecto al testigo bien irrigado en alfalfa, disminuyó 29,

23 y 20% la producción de materia seca (Godoy-Avila *et al.*, 2003). No obstante, se ha determinado que la resistencia a sequía en germoplasma de alfalfa, está asociado con una alta capacidad de tolerancia al marchitamiento de la planta, mantenimiento del área foliar verde y mayor número de tallos por planta en condiciones de estrés, además de una amplia variabilidad genética en caracteres fisiológicos y morfológicos de la planta (Anicchiarico *et al.*, 2013)

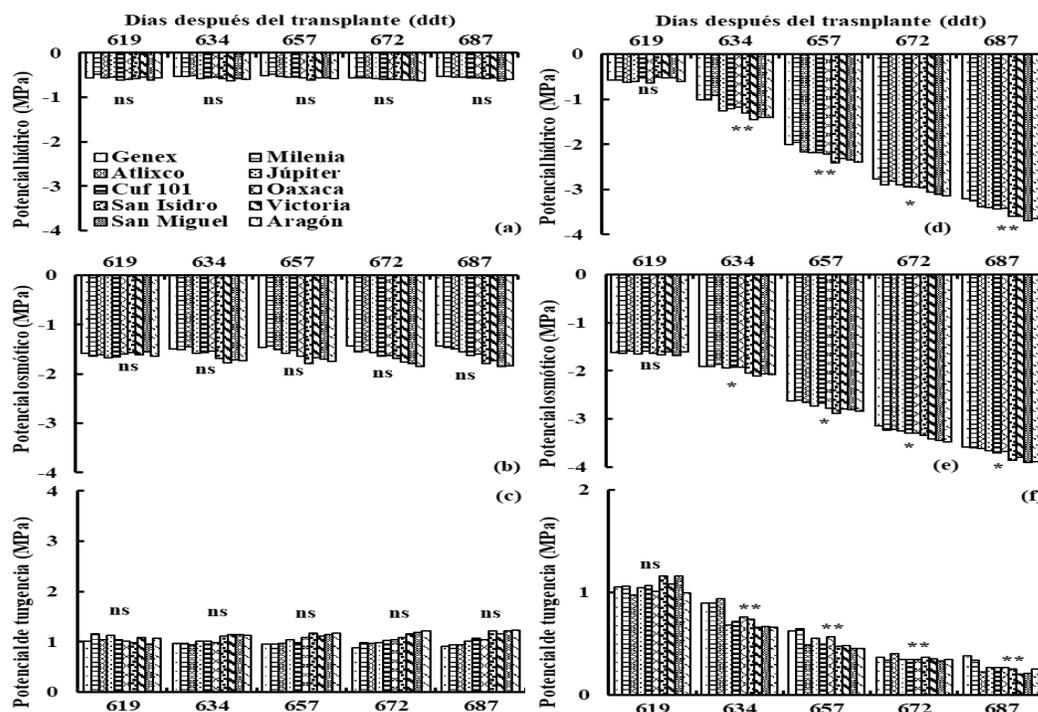


Figura 2. Potencial hídrico, osmótico y de turgencia en riego (R₂) (a, b y c) y sequía (S₂) (d, e y f), para 10 variedades de alfalfa en condiciones de invernadero. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Ajuste osmótico

El AO aumentó ($p \leq 0.05$) al acentuarse la sequía con valores de 0.39 a 1.70 MPa en S₁ (361 a 407 ddt) y de 0.46 a 1.96 MPa en S₂ (634 a 687 ddt), en promedio de todos los genotipos; el mayor periodo de sequía en S₂ se reflejó en una mayor capacidad de ajuste osmótico (Figura 3). El AO es uno de los mecanismos celulares adaptativos a sequía, salinidad y congelamiento en las plantas, la deshidratación de la célula entra a un estado de tensión osmótica debido al aumento en la concentración celular de solutos (Blum, 2015).

En S₁ las variedades Genex, Júpiter y Atlixco tuvieron altos valores ($p \leq 0.05$) de AO a los 361, 378, 392 y 407 ddt, la variedad Victoria mostró mayor AO ($p \leq 0.05$) a los 361 y 378 ddt ($p \leq 0.05$) y la variedad Aragón tuvo mayor AO ($p \leq 0.05$) a los 407 ddt (Figura 3a).

En S₂ las variedades Genex, Milenia y Atlixco mostraron alto AO ($p \leq 0.05$) a los 634, 657 y 672 ddt, la variedad Oaxaca mostró alto AO ($p \leq 0.05$) a los 672 y 687 ddt, la variedad Cuf 101 mostró alto AO ($p \leq 0.05$) a 634 ddt, y la variedad Júpiter tuvo alto AO ($p \leq 0.05$) a 657 ddt (Figura 3b). Las variedades Genex, Milenia y Atlixco mostraron un AO similar a Oaxaca a 687 ddt (Figura 3b).

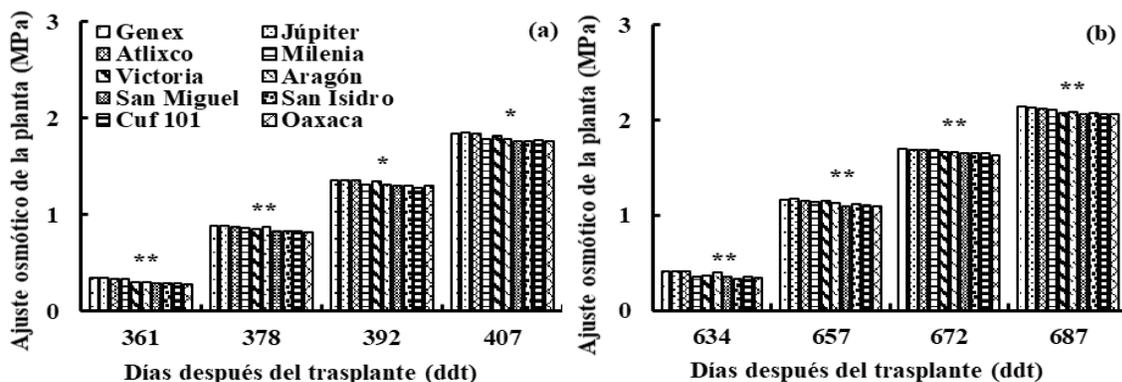


Figura 3. Capacidad de ajuste osmótico de la planta en S_1 (a) y S_2 (b) y sus respectivos periodos de riego (R_1 y R_2), para 10 variedades de alfalfa en condiciones de invernadero. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

La sequía redujo significativamente el peso seco de hojas en tres poblaciones de alfalfa (Chemini, Ganouch y Tebelbou), con un incremento significativo en el contenido de prolina, azúcares totales solubles, aminoácidos y potasio en hojas y raíces; la población Chemini mostró el mayor contenido de solutos, mientras Tebelbou exhibió el más bajo contenido de prolina y los otros osmolitos (Abid *et al.*, 2016).

El mantenimiento de los procesos fisiológicos y el *status* hídrico de la hoja sugiere que la alfalfa tiene algunos mecanismos importantes, para mantener el funcionamiento celular cuando la planta está sujeta a déficit hídrico, de tal forma que el mantenimiento de la función celular bajo déficit hídrico puede estar relacionada con los procesos de antioxidación y AO (He *et al.*, 2012).

Un examen del comportamiento individual de los genotipos de alfalfa utilizados en el presente estudio bajo condiciones de déficit hídrico indicó que las variedades Genex, Atlixco y Milenia en S_1 y las variedades Genex, Júpiter, Atlixco y Milenia en S_2 mantuvieron valores más altos para el potencial ψ , π y p . La alta capacidad de AO observada en los dos periodos de sequía (S_1 y S_2), posiblemente fue uno de los mecanismos que contribuyó a mantener la sobrevivencia de la planta, la turgencia de los órganos y tejidos de las plantas, y en consecuencia, el crecimiento y acumulación de materia seca.

Relaciones de intercambio gaseoso

La tasa de A, E y g en riego (R_1 y R_2) fueron más altas ($p \leq 0.05$) que en sequía (S_1 y S_2), mientras W en riego (Figura 4) fue más baja ($p \leq 0.05$) que en sequía (Figura 5) en promedio de todos los genotipos. En S_1 (345 a 406 ddt) la A, E y g disminuyeron ($p \leq 0.05$) a $4.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $0.022 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $0.7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($p \leq 0.05$) con respecto a los valores observados al inicio del tratamiento de sequía ($A=15.3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $E= 3.6 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $g= 0.133 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Figuras 4a, b y c) y la W aumentó ($p \leq 0.05$) de 0.0043 a $0.0058 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$ (Figura 4d).

En S_1 la variedad Milenia mostró los valores más altos ($p \leq 0.05$) de A los 361, 392 y 407 ddt (Figura 4a); E a los 361, 378, 392 y 407 ddt (Figura 4b) y g a los 361, 378, 392 y 407 ddt (Figura 4c). La variedad Genex tuvo valores altos ($p \leq 0.05$) de A, E y g a los 378 ddt (Figura 4a, b y c). La

variedad Oaxaca mostró valor alto ($p \leq 0.05$) para W a los 361 y 407 ddt, la variedad Aragón tuvo alto valor ($p \leq 0.05$) para W a los 378 ddt y la variedad Cuf 101 mostró alto valor ($p \leq 0.05$) para W a los 392 ddt (Figura 4d).

La variedad Júpiter tuvo A similar a Milenia a los 361 ddt, la variedad Milenia tuvo A similar a Genex a los 378 ddt, las variedades Genex y Júpiter tuvieron A similar a Milenia a los 392 ddt y 407 (Figura 4a), las variedades Genex y Júpiter fueron similares a Milenia en E a los 361, 392 y 407 ddt y la variedad Júpiter fue similar a Genex y Milenia en E a los 378 ddt (Figura 4b). Las variedades Genex y Júpiter fueron similares a Milenia en g a los 361, 392 y 407 ddt, la variedad Júpiter fue similar en g a Genex y Milenia a los 378 ddt (Figura 4c). La variedad Cuf 101 fue similar a Oaxaca en W a los 361 ddt, la variedad San Miguel tuvo una W similar a Aragón a los 378 ddt, la variedad Aragón fue similar en W a Cuf 101 a los 392 ddt y la variedad Victoria tuvo una W similar a Oaxaca a los 407 ddt (Figura 4d).

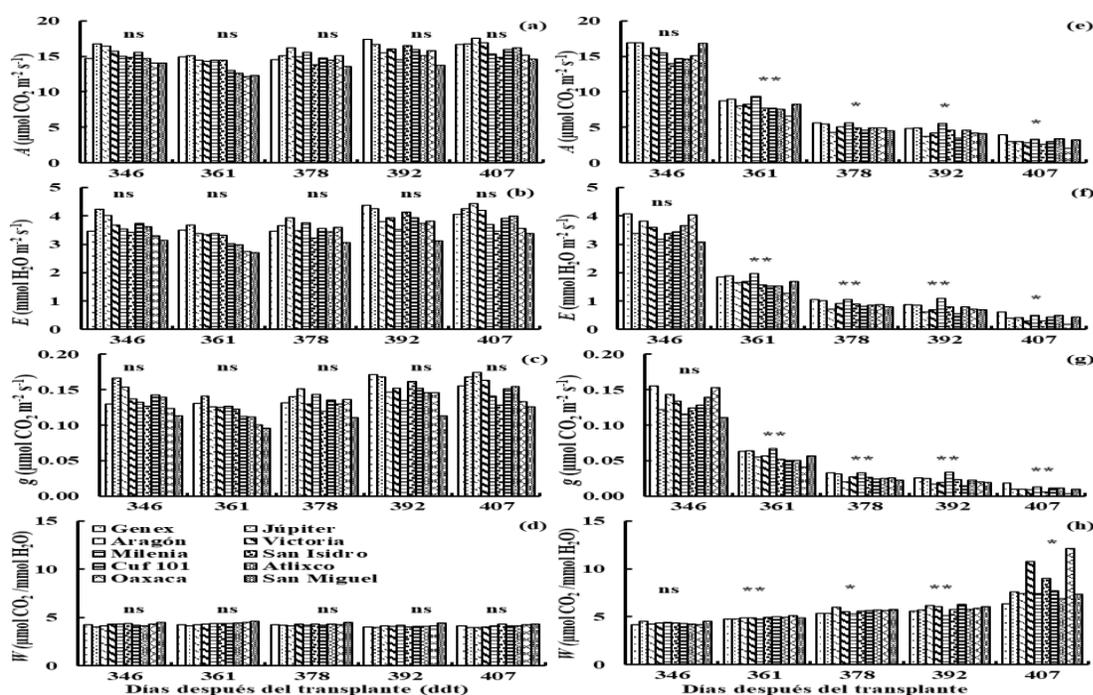


Figura 4. Tasa de asimilación neta (a), tasa de transpiración (b), conductancia estomática (c) y eficiencia en el uso del agua (d) en riego (R₁) y sequía (S₁) (e, f, g y h), para 10 variedades de alfalfa en condiciones de invernadero. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

En S₂ (620-688 ddt), la tasa de A, E y g disminuyeron ($p \leq 0.05$) a $4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $0.019 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $0.7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ con respecto a los valores observados al inicio del tratamiento de sequía ($A = 12.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $E = 2.8 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $g = 0.1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Figuras 5a, b y c), y la W aumentó de 0.0046 a $0.0061 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}^{-1}$ (Figura 5d).

La variedad Milenia mostró los valores más altos ($p \leq 0.05$) para A, E y g a los 634, 657, 672 y 687 ddt; la variedad Genex tuvo valores altos ($p \leq 0.05$) para A, E y g a los 672 y 687 ddt (Figuras 5a, b y c). La variedad San Isidro mostró el valor más alto ($p \leq 0.05$) para W a los 657 ddt, la variedad Cuf 101 tuvo un alto valor ($p \leq 0.05$) de W a los 672 ddt y la variedad San Miguel mostró valor alto ($p \leq 0.05$) para W a los 687 ddt (Figura 5d).

La variedad Genex mostró valores de A, E y g similares a Milenia a los 634 (Figuras 5a, b y c), Júpiter tuvo A similar a Milenia a los 657 ddt, las variedades Júpiter, Atlixco y Oaxaca mostraron A similar a Genex y Milenia a los 672 ddt y las variedades Júpiter y Oaxaca tuvieron A similar a Genex y Milenia a los 687 ddt (Figura 5a). Las variedades Júpiter, Genex, Atlixco y Oaxaca tuvieron E similar a Milenia a los 657 ddt (Figura 5b). Las variedades Júpiter y Genex tuvieron g similar a Milenia a los 657 ddt (Figura 5c) y la variedad Atlixco mostró E y g similares a Genex y Milenia a los 672 y 687 ddt (Figuras 5b y c). La variedad Victoria tuvo una W similar a Cuf 101 a los 672 ddt y a San Miguel a los 687 ddt (Figura 5d).

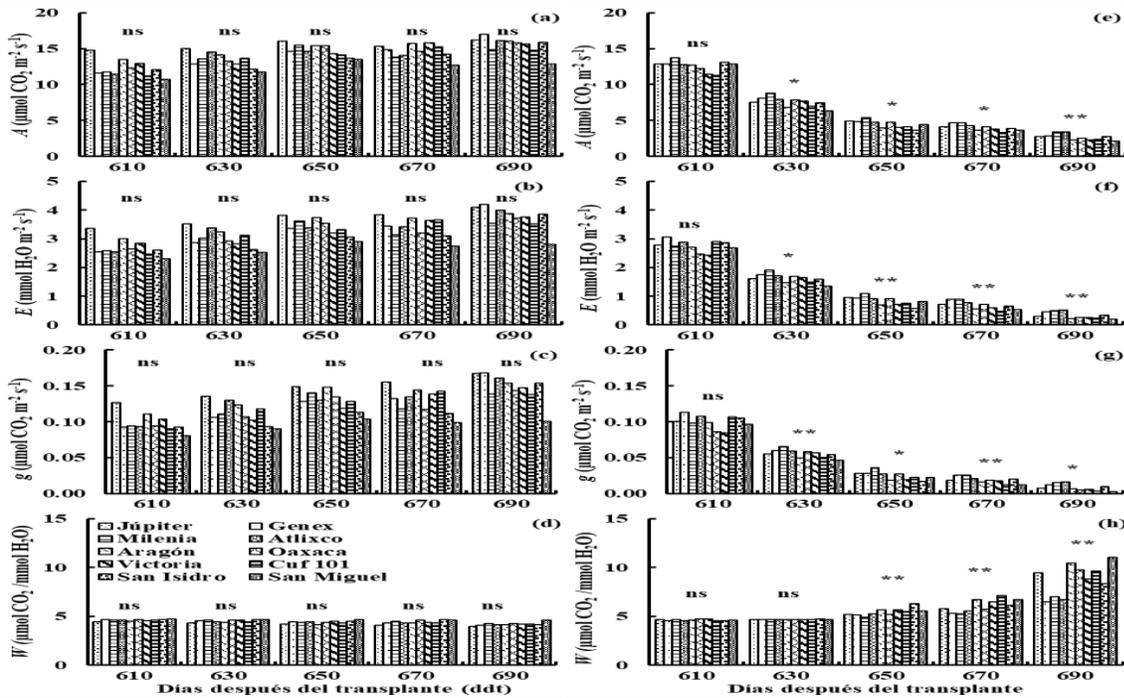


Figura 5. Tasa de asimilación neta (a), tasa de transpiración (b), conductancia estomática (c) y eficiencia en el uso del agua (d) en riego (R_2) y sequía (S_2) (e, f, g y h), para 10 variedades de alfalfa en condiciones de invernadero. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

En otro estudio se observó que el déficit hídrico del suelo redujo severamente la tasa neta de asimilación, conductancia estomática, eficiencia en el uso del agua, contenido relativo del agua, área foliar y contenido de clorofilas a y b en varias poblaciones de alfalfa, con un aumento en la eficiencia en el uso del agua y concentración interna de CO_2 ; adicionalmente, se determinó que la población más tolerante a sequía redujo al máximo su área foliar y mantuvo los más altos valores para la eficiencia en el uso el agua (Abid *et al.*, 2016a).

En general se considera que la alfalfa es una especie altamente sensitiva a la sequía, especialmente en las etapas vegetativa y reproductiva y cultivada en áreas secas es moderadamente tolerante a la sequía, pero en condiciones de estrés hídrico severo sufre pérdidas considerables de la producción. Los principales efectos del estrés hídrico se manifiestan en una reducción en la germinación y crecimiento, daños severos en el aparato fotosintético y disminución en la fotosíntesis neta y absorción de nutrientes (Nadem *et al.*, 2019).

Conclusiones

El déficit hídrico del suelo redujo los potenciales hídrico y osmótico de la planta a niveles que favorecieron una alta acumulación activa de solutos o ajuste osmótico, lo que permitió a las plantas mantener niveles de turgencia favorables para el intercambio gaseoso (moléculas de CO₂/moléculas de H₂O) del área foliar.

Las variedades Genex, Júpiter, Atlixco y Milenia con altos niveles de ajuste osmótico, tasa fotosintética, tasa de transpiración, conductancia estomática y eficiencia en el uso del agua mostraron mejor comportamiento y tolerancia al estrés hídrico.

Una alta capacidad de ajuste osmótico, intercambio gaseoso y eficiencia en el uso del agua son características genético-fisiológicas de la planta, que podrían ser útiles en la selección de nuevos genotipos de alfalfa con tolerancia a sequía.

Literatura citada

- Abid, M.; Mansour, E.; Khaled, A. B.; Bachar, Kh. D.; Yahya, B. L. and Ferchichi, A. 2016. Induced osmotic adjustment in alfalfa plants confers tolerance to water stress. *Bulg. J. Agric. Sci.* 22(3):415-425.
- Abid, M.; Haddad, M.; Khaled, A. B.; Mansour, E.; Bachar, K.; Lacheheb, B.; Ferchichi, A. 2016a. Water relations and gas exchange in alfalfa leaves under drought conditions in southern Tunisian oases. *Pol. J. Environ. Stud.* 25(3):917-924.
- Annicchiarico, P.; Pecetti, L. and Tava, A. 2013. Physiological and morphological traits associated with adaptation of lucerne (*Medicago sativa*) to severely drought-stressed and to irrigated environments. *Ann. Appl. Biol.* 162(1):27-40. Doi:10.1111/j.1744-7348.2012.00576.x.
- Barrios-Gómez, E. J.; López-Castañeda, C. y Kohashi-Shibata, J. 2011. Relaciones hídricas y temperaturas altas en frijol del tipo 'Flor de Mayo'. *Agron. Costarr.* 35(1):131-145.
- Begg, J. E. and Turner, N. C. 1976. Crop water deficits. *Adv. Agron.* 28(C):161-217.
- Blum, A. 2015. Stress, strain, signaling, and adaptation-not just a matter of definition. *J. Exp. Bot.* 67(3):562-565.
- Fahad, S.; Hussain, S.; Matloob, A.; Khan, F. A.; Khaliq, A. and Saud, S. 2015. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Reg.* 75(2):391-404. Doi: 10.1007/s10725-014-0013-y.
- Farquhar, G. D. 1991. Use of stable isotopes in evaluating plant water use efficiency. *In: Proceedings series of the International symposium on the use of stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies, organized by the International Atomic Energy Agency, Vienna (Austria) and the Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome (Italy). Vienna, Austria, 1-5 October, 1990. 475-488 pp.*
- Godoy-Ávila, C.; Pérez-Gutiérrez, A.; Torres-E, C. A.; Hermosillo, L. J. y Reyes-J, I. 2003. Uso de agua, producción de forraje y relaciones hídricas en alfalfa con riego por goteo subsuperficial. *Agrociencia.* 37(2):107-115.
- Grimes, D. W.; Wiley, P. L. and Sheesley, W. R. 1992. Alfalfa yield and plant water relations with variable irrigation. *Crop Sci.* 32(6):1381-1387.

- Harrison, M. T.; Tardieu, F.; Dong, Z.; Messina, C. D. and Hammer, G. L. 2014. Characterizing drought stress and trait influence on maize yield under current and future conditions. *Glob. Change Biol.* 20(3):867-878. Doi:10.1111/gcb.12381.
- He, S., Liu, G. and Yang, H. 2012. Water use efficiency by alfalfa: Mechanisms involving anti-oxidation and osmotic adjustment under drought. *Russ. J. Plant Physiol.* 59(3):348-355.
- Hinkelmann, K. and Kempthorne, O. 2008. Design and analysis of experiments. Volume 1: Introduction to experimental design. A John Wiley and Sons, Inc., United States of America. 631 p.
- López-Castañeda, C. 1993. Eficiencia en el uso del agua y discriminación de carbono en cereales. *Agrociencia.* 4(4):7-32.
- Morgan, J. M. 1995. Growth and yield of wheat lines with differing osmoregulative capacity at high soil water deficit in seasons of varying evaporative demand. *Field Crops Res.* 40(3):143-152.
- Morran, S.; Eini, O.; Pyvovarenko, T.; Parent, B.; Singh, R. and Ismagul, A. 2011. Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors. *Plant Biotech. J.* 9(2):230-249. Doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00547.x.
- Nadeem, M.; Li, J.; Yahya, M.; Sher, A.; Ma, C.; Wang, X. and Qiu, L. 2019. Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. *Inter. J. Mol. Sci.* 20(1):1-32.
- Orloff, S. 2015. Drought strategies for alfalfa. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 8522, July 2015. <http://anrcatalog.ucanr.edu>.
- Pembleton, K. G.; Rawnsley, R. P.; Donaghy, D. J. and Volenec, J. J. 2009. Water deficit alters canopy structure but not photosynthesis during the regrowth of alfalfa. *Crop Sci.* 49(2):722-731.
- Perdiguero, P.; Soto, Á. and Collada, C. 2015. Comparative analysis of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* dehydrins under drought stress. *Tree Genetics & Genomes* 11:70. Doi: 10.1007/s11295-015-0899-1.
- Sheaffer, C. C.; Tanner, C. B. and Kirkham, M. B. 1988. Alfalfa water relations and irrigation. *In: Hanson, A. A.; Barnes, D. K. and Hill, Jr. R. R. (Eds.). Alfalfa and alfalfa improvement.* Madison, WI, USA: ASA-CSSA-SSSA. 373-409 pp.
- Sim, R. E.; Brown, H. E.; Teixeira, E. I. and Moot, D. J. 2017. Soil water extraction patterns of lucerne grown on stony soils. *Plant Soil.* 414:95-112. Doi 10.1007/s11104-016-3112-x.
- Zhang, C.; Shi, S.; Liu, Z.; Yang, F. and Yin, G. 2019. Drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties is associated with enhanced antioxidative protection and declined lipid peroxidation. *J. Plant Physiol.* 232(1):226-240.
- Zhao, P., Liu, P., Yuan, G., Jia, J., Li, X., Qi, D., Chen, S., Ma, T., Liu, G. and Cheng, L. 2016. New insights on drought stress response by global investigation of gene expression changes in Sheepgrass (*Leymus chinensis*). *Front. Plant Sci.* 7:954. Doi: 10.3389/fpls.2016.00954.