



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN
CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN EDAFOLOGIA

CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS Y NUTRIMENTALES DE
ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CONDICIONES
DE ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO.

CHRISTOPHER SALGADO VARGAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO
MAYO, 2015

La presente tesis titulada: "CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS Y NUTRIMENTALES DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS HIDRICO Y SALINO" realizada por el alumno **Christopher Salgado Vargas**, con la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

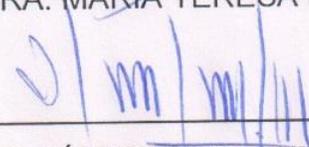
CONSEJERO:


DR. PROMETEO SÁNCHEZ GARCÍA

ASESORA:


DRA. MARÍA TERESA BERYL COLINAS LEÓN

ASESOR:


DR. VÍCTOR H. VOLKE HALLER

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Mayo de 2015

ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS HIDRICO Y SALINO.

**CHRISTOPHER SALGADO VARGAS^{1*}, PROMETEO SÁNCHEZ GARCÍA¹,
MARÍA TERESA BERYL COLINAS LEÓN² Y VÍCTOR H. VOLKE HALLER¹**

¹Postgrado en Edafología. Colegio de Postgraduados. Campus Motecillo. Km 36.5, Carretera México-Texcoco. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México. Fax 01 (595) 95 202 00. christopher.salgado@colpos.mx, promet@colpos.mx, vvolke@colpos.mx

²Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5, Carretera México-Texcoco. 56230. Chapingo, Texcoco, Estado de México. Teléfono: 01 (595) 95 216 16 Ext. 6163. lozcol@gmail.com

*Autor para correspondencia

CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS Y NUTRIMENTALES DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS HIDRICO Y SALINO.

RESUMEN

La salinidad y sequía afectan la producción de alimentos a escala mundial, desde el inicio de la agricultura existen registros de migraciones provocadas por la salinización del suelo cultivable, la escases de agua se debe a su mala distribución, administración y uso irracional, esta problemática impone a los investigadores buscar soluciones que ayuden a mitigar estos problemas, para ello, es necesario conocer los efectos de éstos problemas en la agricultura. En el presente trabajo, se determinaron y compararon compuestos bioactivos (fenoles totales, flavonoides), capacidad antioxidante, contenido nutrimental, calidad de fruto, crecimiento y rendimiento de raíz, tallo, hoja y fruto de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), en tratamientos de salinidad (-0.041 MPa y -0.054 MPa) y sequía (66% y 33%, con respecto al testigo). Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos para las variables: contenido de compuestos bioactivos, nivel de capacidad antioxidante, contenido nutrimental en planta y rendimiento de fruto. En la producción de flavonoides y compuestos fenólicos totales el tratamiento de salinidad -0.054 MPa mostró mayor concentración de éstos biocompuestos por gramo de materia seca en comparación del testigo, los tratamientos de sequía presentaron mayor concentración de éstos biocompuestos por gramo de materia seca, en la prueba realizada de capacidad antioxidante por el método DDPH y ABTS, el resultado mostró que el tratamiento con mayor capacidad antioxidante fue salinidad (-0.054 MPa) y sequía para inhibir con una menor concentración el 50% del radical DPPH pero no se encontraron diferencias en la capacidad antioxidante por el método ABTS entre tratamientos, en el rendimiento de fruto, el tratamiento testigo mostró un mayor rendimiento en fresco y seco en comparación con los tratamientos de salinidad y sequía. El tratamiento de salinidad no presentó diferencias en concentración nutrimental e índice de extracción en raíz, tallo y hoja, en fruto se encontraron diferencias en índice de extracción nutrimental para las variables Fe, Zn, B y Mn. En tratamientos de estrés hídrico se encontraron diferencias en concentración e índices de extracción en raíz, tallo, hoja y fruto.

Palabras clave: *Vaccinium corymbosum* L., salinidad, sequía, antioxidantes, rendimiento de fruto.

PHYTOCHEMICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERISTICS IN BLUEBERRY

(*Vaccinium corymbosum* L.) UNDER WATER AND SALT STRESS.

ABSTRACT

Salinity and drought affect food production worldwide, since the beginning of agriculture there are records migrations caused by salinization of arable land, the shortage of water is due to poor distribution, management and irrational use, this problem imposes researchers find solutions to help mitigate these problems. In this paper, we were determined and compared bioactive compounds (total phenols, flavonoids), antioxidant capacity, nutrient content, fruit quality, growth and yield of root, stem, leaf and fruit of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in treatments salinity (-0.041 and -0.054 MPa) and drought (66 % and 33 %, relative to the control). Content of bioactive compounds, level of antioxidant capacity, nutrient content in plant and fruit yield showed statistically significant differences ($p \geq 0.05$) between treatments for variables analyzed. In the production of total flavonoids and phenolic compounds, salinity treatment (-0.054 MPa) showed higher concentration of these biocomposites per gram of dry matter in comparison of the witness, drought treatments showed higher concentration of these biocomposites per gram of dry matter. In the antioxidant test carried out by the ABTS and DDPH method the result showed that treatment with highest antioxidant capacity was increased in -0.054 MPa treatments and drought (33 %) in compare with the witness, but no difference was found in the ability antioxidant by the ABTS method between treatments, in fruit yield, control treatment showed higher performance in fresh and dry weight compared to salinity and drought treatments. Salinity treatment no showed differences in nutrient concentration and extraction rate in root, stem and leaf. In fruit we found differences in rate of extraction for Fe, Zn, Mn and B in treatment of salinity. In water stress treatments differences in concentration and extraction rates in root, stem, leaf and fruit were found.

Keywords: *Vaccinium corymbosum* L., salinity, drought, antioxidants, fruit yield.

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar un trabajo tan arduo, lleno de complicaciones y al hacer un análisis objetivo sobre el proceso es inevitable mencionar que éste trabajo de investigación no hubiera sido posible sin el apoyo de personas e instituciones que facilitaron la realización de éste proyecto. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellos, expresándoles mi agradecimiento.

En específico debo agradecer al Colegio de Postgraduados quien es mi segunda *alma mater*, en especial el área de Nutrición Vegetal quienes me brindaron tanto los conocimientos como los espacios para realizar el proyecto de investigación y al área de traspatio. También no hubiera sido posible sin el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) quien proporcionó los recursos económicos que me permitieron realizar mis estudios de posgrado.

Debo agradecer de manera sincera al Dr. Prometeo Sánchez García por aceptarme como asesorado, por todo su apoyo a lo largo de éste proceso, alentarme y contagiarme la pasión por la nutrición vegetal. Por su comprensión, disposición y capacidad para guiar mis ideas, por haberme facilitado los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas en el proyecto de investigación. Y sobre todo por la huella que ha dejado tanto profesional como personalmente.

Deseo también agradecer al grupo de científicos que me apoyaron a lo largo de todo el proyecto, me refiero al Dr. Marcos Ramón Soto Hernández, la Dra. María Teresa Colinas y el Dr. Víctor Volke, quienes con su apoyo en laboratorio y oportunas observaciones enriquecieron el proyecto.

También agradecer a personas que me ayudaron en el establecimiento, facilitaron las actividades en el laboratorio y disposición, al M.C. Rubén, Dra. Libia, M.C. Juliana, Dr. Etchevers, jóvenes del verano científico, Uzi, Areli, Naybi, laboratoristas del área de nutrición, fertilidad y fitoquímica, a ustedes mi eterno agradecimiento.

DEDICATORIA

Indudablemente las personas que siempre han creído en mí, aun cuando yo había perdido la fe en mí, quienes han invertido esfuerzo, tiempo y dinero, a ustedes Ali, Kenny y Chris les dedico no solo mi tesis si no cada acción personal y profesional positiva que realice. A mi madre, por enseñarme el valor de la educación, quien con su muy peculiar forma de ser, me ha obligado a sacar el carácter en más de una ocasión, que me han llevado a cumplir mis objetivos y a no dejar de creer en mis convicciones. A Luis Manuel que casi toda mi vida ha sido como un padre y me inculco el amor a la tierra y a realizar las cosas con amor. A mi Danny quien es mi más grande fuente de motivación, por compartir esa sonrisa, abrazos y palabras de te amo tan oportunas, para ti mi sobrina favorita dedico mis noches de desvelo.

Los cimientos que me mantuvieron firme en ésta tarea siempre ha sido la familia, quienes no solo están conformados por las personas con las que comparto un lazo genético si no también cuyas personas me recibieron con los brazos abiertos, quien me estrecharon su mano y me dieron un voto de confianza, contribuyeron con su forma de ser e hicieron mis días más felices e interesantes, a ustedes los Jorges, Maty, Inés, doña Chuy, Juan Carlos, Rebe, Chucho, Fátima, Regina, Luis Salomé, Paul, Enhe, Ramón, Teby, Pitha y toda la familia Martínez les dedico un poco de lo mucho que me inculcaron, esfuerzo, compromiso y mucho trabajo que se vio reflejado en ésta tesis profesional.

Finalmente a mis amigos, compañeros de la vida que estuvieron al tanto desde el inicio de mi travesía, quienes me aportaron ideas, apoyo moral y brindaron su cálida amistad, ustedes Hilda, Eli, Olimpia, Fercha, Varela, Fátima, Adry, Ara, Fanny, Gary, Horacio, Jorge, Tonatiu, Netly, Daniel, Conchita, Ruby, Checolin, Maciel, Lili, y todos aquellos amigos en los que coincidí en un espacio en el tiempo, les dedico éste logro que significa el fin de uno de mis desafiantes objetivos, que sin lugar a duda será la base para conseguir muchos más.

A Dios por ser la fuerza motriz y guía para que todas estas personas coincidiéramos.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO.....	vii
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	5
1.1 Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	5
1.1.1. Importancia económica.....	5
1.1.2. Clasificación taxonómica	5
1.1.3. Descripción botánica.....	5
1.1.4. Características de la variedad Biloxi	6
1.2. Condiciones de crecimiento	7
1.3. Sustrato.....	9
1.3.1. Características y propiedades del sustrato	9

1.4. Nutrición.....	11
1.4.1. Minerales	11
1.4.2. pH	12
1.4.3. Conductividad eléctrica (CE)	12
1.5. Propiedades terapéuticas	13
1.6. Especies reactivas de oxígeno.....	14
1.7. Tipos de estrés.....	14
1.7.1. Estrés salino	16
1.7.2. Estrés hídrico	16
1.8 Metabolitos secundarios	17
1.8.1. Generalidades.....	17
1.8.2. Compuestos fenólicos.....	18
1.8.3. Flavonoides	19
1.8.4. Antioxidantes	20
1.8.5. Prueba ABTS.....	20
1.8.6. Ensayo de capacidad captadora de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	21
LITERATURA CITADA.....	23
CAPÍTULO II.	26

CRECIMIENTO, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE FRUTO DE ARÁNDANO EN RESPUESTA A ESTRÉS OSMÓTICO	26
2.1. Introducción.....	27
2.2. Materiales y métodos	28
2.2.1. Área de estudio.....	28
2.2.2. Material vegetal.....	28
2.2.3. Sustrato	29
2.2.4. Diseño experimental	29
2.2.5. Variables de respuesta	29
2.2.6. Análisis de datos.....	30
2.3. Resultados y discusión	30
2.3.1. Peso me materia fresca (MF) de raíz (R), tallo (T), hojas (H) y fruto (F).	30
2.3.2. Peso de materia seca (MS) de raíz (R), tallo (T), hojas (H) y fruto (F)..	32
2.3.3. Calidad de fruto.....	34
2.3.4. Número de hojas (NH), área foliar (AF), peso específico de la hoja (PEH), Longitud de raíz (LR) y altura de planta (AP).....	36
2.4. Conclusiones.....	37
Literatura.....	39
CAPÍTULO III.	41

ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO DE PRODUCCIÓN COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ARÁNDANO	41
3.1. Introducción.....	42
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	43
3.2.1. Área de estudio.....	43
3.2.2. Material vegetal y sustrato	43
3.2.3. Diseño experimental	43
3.2.4. Variables de respuesta	44
3.2.5. Análisis de datos.....	44
3.2.6. Análisis fitoquímico	44
3.3. Resultados y discusión	48
3.3.1. Concentración de flavonoides, peso de materia seca, y concentración de flavonoides por planta en tratamientos de diferentes potenciales osmóticos.	48
3.3.2. Concentración de compuestos fenólicos totales, peso de materia seca, y concentración de compuestos fenólicos totales por planta en tratamientos con diferente potencial osmótico de la SN.	51
3.3.3. Capacidad antioxidante	53
RADICAL DPPH	55
RADICAL ABTS.....	55
3.4. Conclusiones.....	56
Literatura.....	58

CAPÍTULO IV.....	60
ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO EN LA NUTRICIÓN DE ARÁNDANO	60
4.1. Introducción.....	61
4.2. Materiales y métodos	62
4.2.1. Área de estudio.....	62
4.2.2. Material vegetal y sustrato	62
4.2.3. Diseño experimental	62
4.2.4. Variables de respuesta	63
4.2.5. Análisis de datos.....	64
4.3. Resultados y discusión	64
4.3.1. Rendimiento, concentración nutrimental e índice de extracción en tratamientos bajo estrés hídrico y salino.....	64
4.4. Conclusiones.....	72
Literatura.....	73

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Ubicación taxonómica de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	5
Cuadro 2. Propiedades físicas del tezontle.	10
Cuadro 3. Propiedades químicas del tezontle (Burés, 1997).	11
Cuadro 4. Valores críticos de los constituyentes del agua utilizada para el riego por goteo en el cultivo del arándano (De Sebastián, 2010).	13
Cuadro 5. Diferentes tipos de estrés a los que son sometidas las plantas.	15
Cuadro 6. Contenido de compuestos fenólicos de algunos frutos con bayas.	19
Cuadro 9. Peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés salino.	31
Cuadro 10. Peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés hídrico.	32
Cuadro 11. Peso de materia seca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés salino.	33
Cuadro 12. Peso de materia seca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés hídrico.	34
Cuadro 13. Calidad de fruto de arándano en condiciones de estrés salino e hídrico.	35
Cuadro 14. Número de hojas, área foliar, peso específico de hoja, longitud de raíz y altura de planta de arándano, bajo condiciones de estrés salino e hídrico.	37
Cuadro 15. Concentración de flavonoides totales en tratamientos de estrés por salinidad e hídrico.	50

Cuadro 16. Concentración de flavonoides totales en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.	50
Cuadro 17. Concentración de fenoles totales en tratamientos de estrés por salinidad e hídrico.....	52
Cuadro 18. Concentración de fenoles totales en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.	52
Cuadro 19. Inhibición del radical DPPH en tratamientos de estrés salino e hídrico.	55
Cuadro 20. Inhibición del radical ABTS en tratamientos de estrés salino e hídrico.	55
Cuadro 21. Inhibición del radical ABTS en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.	56
Cuadro 22. Concentración nutrimental y rendimiento en condiciones de estrés salino.....	68
Cuadro 23. Concentración nutrimental y rendimiento en condiciones de estrés hídrico.	69
Cuadro 24. Extracción nutrimental en condiciones de estrés salino.	70
Cuadro 25. Extracción nutrimental en condiciones de estrés hídrico.	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A) Planta de arándano en sustrato; B) Planta de arándano en suelo.	6
Figura 2. Pedigree del arándano, cv. Biloxi (<i>Spiers et al.</i> , 2002).....	7

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.) es una de las especies cuya producción ha cobrado importancia en México, debido entre otras cosas a su valor comercial (SIAP, 2015) y alto contenido de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos al que pertenecen las antocianinas, ácidos clorogénicos y flavonoides, entre otros. Además de que poseen una alta actividad biológica y pueden proporcionar beneficios para la salud como antioxidantes (Cho *et al.*, 2005). En México, existen una gran diversidad de microclimas debidos a diferentes condiciones de relieve y precipitación, muchos de ellos son ideales para la producción de frutales; tal es el caso de las frutillas (berries) o moras, gracias a los cuales la producción de arándanos es posible, la variedad Biloxi, es la más importante debido a su adaptación a éstos microclimas.

La importancia del arándano radica en que es la cuarta frutilla de interés económico en el mundo, los principales productores de arándano son Estados Unidos de América y Canadá, donde la producción para el año 2013 ascendió a 420,379 toneladas, en México se producen alrededor de 10,160 toneladas que representa el 2.41% de la producción en el mundo (FAOSTAT, 2015), su demanda es gracias a que se han encontrado que tiene una alta capacidad antioxidante debido a la alto contenido en compuestos fenólicos, estos compuestos ayudan en gran medida a retardar el envejecimiento celular, fortalecer defensas y a prevenir el cáncer.

Con respecto a lo anterior la relevancia radica por un lado, en que la población mundial está aumentando a un ritmo alarmante y se espera que alcance alrededor de nueve mil cuatrocientos millones de habitantes a finales del año 2050. Y por otro en que, la producción de alimentos está disminuyendo debido a las condiciones climáticas cada vez más adversas; por lo tanto, minimizar estas pérdidas es una tarea importante de todas las naciones para hacer frente a la creciente necesidad

de alimentos. El frío, la salinidad y la sequía están entre los principales factores exógenos que afectan adversamente el crecimiento y la productividad de las plantas (Mahajan and Tuteja, 2005).

En climas áridos, la sequía y la salinidad son los principales tipos de estrés, los efectos en las plantas al estrés salino e hídrico tienen mucho en común, la salinidad limita la absorción de agua del suelo, ambas condiciones ocasionan deshidratación celular, junto con un conjunto de cambios metabólicos idénticos a los causados por el estrés hídrico (Munns, 2002), dichos cambios incluyen la producción de metabolitos secundarios, la distribución de éstos metabolitos secundarios son variables en los diferentes tejidos vegetales, así como su redistribución según avanza el desarrollo fenológico (Price et al., 1979; Johnson et al., 1985; Makkar et al., 1988), también en general todas las partes en crecimiento anual muestran una mayor concentración de compuestos secundarios o reactividad de éstos, que los tejidos viejos (Rhoades, 1979), en berries, el contenido de compuestos fenólicos está determinada por muchos factores, tales como la especie, la variedad, el cultivo, la región, las condiciones climáticas, la madurez, la cosecha, tiempo y condiciones de almacenamiento (Szajdek y Borowska, 2008).

El presente estudio se realizó en el Colegio de Postgraduados campus montecillo, Estado de México, con el objetivo de conocer el crecimiento, comportamiento nutrimental y fitoquímico del arándano en condiciones de estrés por salinidad y sequía. Los parámetros evaluados fueron: crecimiento, rendimiento por planta, concentración nutrimental de plantas, sólidos solubles, antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos y capacidad antioxidante.

OBJETIVOS

General

Evaluar las características de crecimiento, fitoquímicas y nutrimentales en arándano bajo condiciones de estrés osmótico por sales y estrés hídrico.

Específicos

Estudiar el crecimiento (área foliar, altura de planta, longitud de raíz) en plantas de arándano bajo condiciones de estrés por sequía y salinidad.

Evaluar el rendimiento de fruto en plantas de arándano bajo condiciones de estrés por sequía y salinidad.

Determinar los compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides) de arándano en condiciones de estrés por sequía y salinidad.

Evaluar la capacidad antioxidante por dos métodos DPPH y ABTS en frutos de arándano desarrollado en condiciones de estrés por sequía y salinidad.

Evaluar la concentración nutrimental en la producción de arándanos en condiciones de estrés hídrico y salino.

HIPÓTESIS

General

La respuesta de la planta de arándano al crecimiento, producción de compuestos bioactivos (flavonoides, fenoles totales), capacidad antioxidante y concentración nutrimental es afectada por estrés por sequía (33% del agua total) y salinidad (-0.054 MPa).

Específicas

El crecimiento de plantas (área foliar, altura de planta, longitud de raíz) y el rendimiento de frutos de arándano disminuyen conforme se incrementa el estrés por sequía y salinidad.

La producción de compuestos bioactivos en frutos de arándano es inversamente proporcional al porcentaje de humedad aprovechable y potencial osmótico de la solución nutritiva.

La capacidad antioxidante en frutos de arándano será mayor en los tratamientos de estrés.

La concentración nutrimental en plantas de arándano será afectada por el efecto del estrés salino e hídrico.

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)

1.1.1. Importancia económica

La importancia del arándano radica en que es la cuarta frutilla de interés económico en el mundo, los principales productores de arándano son Estados Unidos de América y Canadá, donde la producción para el año 2013 ascendió a 420,379 toneladas, abarcando 239,071 toneladas (56.9%) y 109,007 (25.9%) respectivamente. En México se producen alrededor de 10,160 toneladas, que representan el 2.41% de la producción en el mundo (FAOSTAT, 2015).

1.1.2. Clasificación taxonómica

Linneo (1753) señaló que el arándano se ubica taxonómicamente como se indica en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ubicación taxonómica de *Vaccinium corymbosum* L.

Reino	Plantae
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Equisetopsida</i>
Orden	<i>Ericales</i>
Familia	<i>Ericaceae</i>
Género	<i>Vaccinium</i>
Especie	<i>corymbosum</i>

1.1.3. Descripción botánica

Rzedowski *et al.* (2005) menciona que el género *Vaccinium* está caracterizado por ser arbustos pequeños hasta árboles bajos y que son alrededor de 140 especies ampliamente distribuidas en el mundo, principalmente en regiones de clima templado y en las montañas tropicales.

El arándano tiene hojas pecioladas o subsésiles, alternas, generalmente pequeñas y persistentes, coriáceas o rara vez membranáceas, enteras o aserradas. Las flores están dispuestas en racimos o fascículos axilares o terminales, rara vez solitarias, con brácteas; son pequeñas, blancas o rojizas; con corola globosa a turbinada, con cuatro ó cinco lóbulos cortos o largos; estambres ocho a diez, libres, filamentos cortos, generalmente pubescentes, anteras con o sin apéndices, de dehiscencia poricida; ovario ínfero, sobre un disco pulvinado o convexo, glabro o piloso, con 4 ó 5 lóculos y varios óvulos en cada lóculo, estilo recto, estigma diminuto, simple o discretamente capitado. El Fruto tiene forma de baya subglobosa, semillas pequeñas o diminutas, comprimidas, ovoides o reniformes; la testa es coriácea y el endosperma carnosos.



Figura 1. A) Planta de arándano en sustrato; B) Planta de arándano en suelo.

1.1.4. Características de la variedad Biloxi

Las plantas de arándano que se emplearon para el experimento fueron el cv. Biloxi de un año de edad, es un arándano tetraploide, denominado arbusto alto del sur (highbush southern) por su denominación en inglés y fue desarrollado por el Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de EE.UU de la cruce entre Sharpeblue y US329 (Figura 2).

Los tallos son rectos, vigorosos y productivos. La fruta madura temprano y tiene tamaño mediano, buen color, firmeza y sabor. Este cultivar de bajo requerimiento de frío fue lanzado en 1998 para la producción en las llanuras costeras del sudeste de los Estados Unidos y para facilitar su polinización requiere de otros arándanos del mismo tipo, como cv. Climax y Misty, entre otras. Los frutos del cv. Biloxi tienen un peso medio de 1.47 g, contenido de sólidos solubles 13.4%, pH 3.2, acidez titulable 0.97%, la relación contenido de sólidos solubles / acidez titulable es igual a 13.97 y la antocianina (ACY) presentó valores de 90 (Spiers *et al.*, 2002).

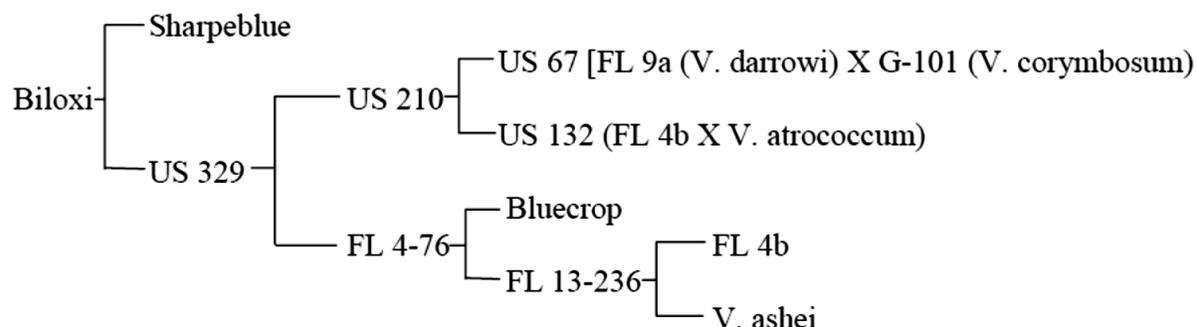


Figura 2. Pedigree del arándano, cv. Biloxi (Spiers *et al.*, 2002).

1.2. Condiciones de crecimiento

1.2.1 Horas frío

El arándano necesita acumular en el período invernal un determinado número de horas de frío para romper la “dormancia” o reposo vegetativo invernal. Esa cantidad de horas de frío (h/f) es una característica genética de cada especie o de cada variedad. Por lo tanto, a la hora de plantar en una zona determinada, es necesario saber las horas de frío acumuladas en esa zona y en consecuencia, elegir las variedades que mejor se pueden adaptar a dichas condiciones climáticas. La variedad Biloxi se encuentra clasificada en el grupo de las “southern highbush” o gigantes del sur con bajos requerimientos en h/f (500-300 o menos h/f) (De Sebastián, 2010).

1.2.2. El clima

De Sebastián (2010) menciona que el arándano es una planta bien adaptada a zonas climáticas templadas y húmedas. En período invernal puede soportar hasta -30 °C, mientras que en verano, si las temperaturas suben por encima de los 28 °C los frutos pueden sufrir escaldados y arrugamientos, perdiendo valor comercial. Resiste poco las heladas primaverales debido a su floración tardía y escalonada. La flor del arándano puede soportar hasta -2 y -3 °C.

1.2.3. Necesidades de agua

El arándano es una especie muy sensible a las carencias de humedad, por lo que es imprescindible mantener una humidificación uniforme en las plantas. Las mayores necesidades de agua del arándano corresponden al período de engrosamiento y maduración de los frutos (mayo a septiembre), pero son los meses de julio y agosto, en los que el arándano tiene la máxima evapotranspiración (ET) potencial y en esta etapa se observan los mayores requerimientos de agua, ya que coincide con la formación de los primordios florales. Si en este periodo las plantas sufren déficit hídrico, existe una merma importante en la producción y se puede resentir seriamente la formación de las yemas florales en los nuevos brotes, perjudicando, por tanto, la cosecha del próximo año (De Sebastián, 2010).

Aunque las condiciones de producción en suelo son diferentes a las condiciones de producción en sustrato, se debe procurar que la raíz siempre esté provista de agua y considerar los períodos en donde existe una mayor evapotranspiración y períodos críticos de crecimiento.

1.2.4. El sistema de riego.

De Sebastián (2010) menciona que el sistema de riego más recomendable para el cultivo del arándano es el “riego por goteo” o riego localizado de alta frecuencia. Este sistema permite localizar las necesidades de agua de las plantas cerca de la zona radicular sin crear situaciones extremas de humedad.

1.2.5. Calidad del agua de riego.

La calidad del agua de riego es muy importante en el cultivo del arándano. No todas las aguas son iguales, dependiendo de su origen (manantial, pozo o río), su composición puede presentar características muy contrastantes. Por lo tanto, es necesario realizar un análisis químico de la misma, también el físico y el bacteriológico en determinados casos, para conocer su composición y poder realizar las correcciones oportunas si fuera necesario. Según el contenido y la calidad de los minerales en el agua, se pueden prever los efectos que su uso puede causar en una plantación de arándanos. Los minerales pueden dificultar el desarrollo y crecimiento de las plantas (De Sebastián, 2010).

En producción bajo sistema hidropónico se debe usar agua de la mejor calidad u optar por la utilización de agua de lluvia siempre y cuando exista la posibilidad o también, por la incorporación de un sistema de desalinización.

1.3. Sustrato

El tezontle es el sustrato que se usó en el experimento y tiene la característica de ser una roca volcánica ígnea de estructura vesicular, es decir, son rocas que se forman del magma expulsado por erupción y presentan burbujas atrapadas (se les considera espuma de lava), el color rojizo se debe al grado de oxidación que presentan (Huang, 1968). Los tamaños de partícula más utilizados en hidroponía cuando se trata de cultivo en agregados no superan los 4 mm de diámetro; es un material estéril, al menos inicialmente (Martínez, 2007).

1.3.1. Características y propiedades del sustrato

Propiedades físicas

Muchos autores coinciden en que las características físicas del tezontle dependen en gran parte de tamaño de partícula, por ejemplo, en México, Flores (2007), menciona que en general el tezontle en su estado natural presenta partículas de tamaño variable, tiene buena aireación, pero la retención de humedad

está en función del tamaño de partícula, y tezontles con partículas pequeñas presentan alta retención de humedad. En España Burés (1997) señala que las propiedades físicas varían considerablemente con el tamaño de las partículas, y también varían con el origen del material. Estas propiedades se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Propiedades físicas del tezontle.

Parámetro	Valor (a)	Valor (b)
Densidad aparente (g cm ⁻³)	0.682	0.77
Densidad real (g cm ⁻³)	2.65	2.65
Espacio poroso total (vol. en %)	74.24	70.94
Capacidad de absorción de agua (g agua 100 g ⁻¹ materia seca)	26.79 - 35.00	-
Material solido (vol. en %)	25.76	-
Aire (vol. en %)	58.68	48.45
Agua fácilmente disponible (vol. en %)	5.42	6.55
Agua de reserva (vol. en %)	2.25	1.63
Agua difícilmente disponible (vol. en %)	7.89	14.31
Índice de grosor (%)	-	-

Fuente: Martínez y García (1993) (a); Burés (1997) (b); - datos no reportados.

Propiedades químicas

Bastida (2006) menciona que el tezontle es un material que aporta pocos nutrimentos, tiene baja capacidad de intercambio catiónico, pH neutro a alcalino y generalmente está libre de sustancias tóxicas. En cuanto al aporte de nutrimentos, Burés (1997) señala que el tezontle tiene las características que se muestran en el Cuadro 3.

Algunos materiales fijan amonio (NH_4^+), de la solución nutritiva. Además, los materiales retienen H_2PO_4^- , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ (Luque, 1981).

Cuadro 3. Propiedades químicas del tezontle (Burés, 1997).

Parámetro	Valor
pH	4.6
CE (dS m^{-1})	0.02
N (mg L^{-1})	6
P(mg L^{-1})	9
K (mg L^{-1})	52
Mg (mg L^{-1})	25
Ca (mg L^{-1})	330

1.4. Nutrición

1.4.1. Minerales

De Sebastián (2010) menciona que al ser los arándanos especies que han evolucionado en suelos ácidos y ricos en materia orgánica, donde los nutrientes se encuentran en niveles asimilables normalmente bajos, son plantas que no tienen grandes exigencias en fertilizantes y que, incluso, son muy sensibles a los excesos de abonado. Estas características hacen necesario dosificar con cuidado las aportaciones de fertilizantes minerales, resultando imprescindible aplicar un programa de abonado muy bien estudiado.

Los macronutrientes que el arándano toma del suelo en mayor cantidad son el nitrógeno, el fósforo y el potasio. El magnesio y el calcio los toma en menor proporción. Todos, junto con los micronutrientes, son necesarios para un normal desarrollo de la plantación (De Sebastián, 2010).

1.4.2. pH

El pH indica la actividad de los iones hidrógeno, es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH indica la concentración de iones hidronio [H_3O^+] presentes en determinadas sustancias. Los arándanos crecen mal y muy lentamente en suelos con un pH superior a 5. Por eso, el manejo del pH tiene gran importancia en los primeros años de vida de las plantas, el grado de acidez debe estar comprendido entre 4 y 5 (De Sebastián, 2010). El pH del agua por lo general es mayor de 7 a causa de la presencia de iones como los carbonatos o bicarbonatos por lo que se recomienda bajar el pH con ácido sulfúrico, fosfórico o nítrico (Sandoval *et al.*, 2009).

1.4.3. Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica (CE) mide el contenido de sales o salinidad del agua de riego, es función directamente proporcional de la concentración total de solutos, la cual depende de la concentración en el agua y de las sales que se agregan a la solución nutritiva (Sandoval, 2009). Para el riego del arándano se requieren aguas con muy baja CE, menores de 1 dS m^{-1} . La CE ideal del agua de riego para el cultivo del arándano se sitúa por debajo de 0.25 dS m^{-1} . Cuando la CE sobrepasa los 1.5 dS m^{-1} , surgen problemas graves para el desarrollo de las plantas (De Sebastián, 2010).

El sodio es uno de los iones más frecuentes en las aguas de riego y es el responsable, junto al ión cloruro, de la mayoría de las toxicidades específicas en los cultivos; además, tiene un efecto degradante sobre la estructura del suelo. En el Cuadro 4 se indican los valores de las concentraciones y los umbrales de diferentes índices en los que el arándano estaría expuesto a riesgos relativos de toxicidad (De Sebastián, 2010).

Cuadro 4. Valores críticos de los constituyentes del agua utilizada para el riego por goteo en el cultivo del arándano (De Sebastián, 2010).

Composición del agua de riego	Problema menor	Problema moderado	Problema grave
CE (dS m ⁻¹)	<0,75	0,75-3	>3
Bicarbonatos (mmol L ⁻¹)	<2	3-4	>4
Cloruros (mmol L ⁻¹)	<4	4-12	>12
Sodio (mmol L ⁻¹)	<5	5-15	>15
Boro (mg L ⁻¹)	<0,5	0,5-2	>2

1.5. Propiedades terapéuticas

Muchos autores han hablado acerca de los beneficios del consumo de arándano; por ejemplo, Szajdek y Borowska (2008) mencionan que el arándano contiene sustancias tales como compuestos fenólicos, incluyendo antocianinas, ácidos fenólicos y taninos, estilbenos, así como compuestos nutritivos tales como carotenoides y vitamina C, contenido en proteínas, en grasas saturadas, azúcares, minerales y fibra.

De las hojas del arándano se obtiene un extracto de acción hipoglucemiante que se usa conjuntamente con la insulina en el tratamiento de la diabetes. Por la presencia de hidroquinona también se usa como antiséptico de las vías urinarias. Las bayas de los arándanos son ricas en taninos, por lo que destacan sus propiedades antidiarreicas, antiinflamatorias y astringentes. Por otra parte, su alto contenido en fibra contribuye a regular el tránsito intestinal evitando el estreñimiento.

De Sebastián (2010) por su parte, menciona que las antocianinas del arándano aumentan la resistencia de los vasos sanguíneos y reducen su permeabilidad, por lo que son utilizadas en los tratamientos de los problemas circulatorios como venas varicosas. La propiedad altamente colorante de las antocianinas, se aprovecha para la elaboración de dentífricos, cremas y sombras

de la gama del azul al verde y al violeta. Los pigmentos naturales contenidos en los arándanos tienen una importante acción antioxidante y su alto contenido en vitamina C potencia el sistema inmunológico y contribuye a reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso el cáncer.

1.6. Especies reactivas de oxígeno

Las ROS (especies reactivas de oxígeno) que pueden generar daño oxidativo son el anión superóxido (O_2^-), el radical perhidroxido (HO_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^-), radical alcoxi (RO), radical peroxilo (ROO-), hidroperóxido orgánico (ROOH) entre otros, que son altamente reactivos y tóxicos y causan daños a las proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN que, resulta en la muerte celular (Bhattachrjee, 2005).

La molécula de O_2 es un radical libre, ya que tiene dos electrones deteriorados que tienen el mismo número cuántico de espín. Esta restricción de giro hace que el O_2 prefiera aceptar sus electrones uno a la vez, lo que conduce a la generación de las llamadas ROS, que puede llegar a dañar las células, se producen continuamente como subproductos de diversas rutas metabólicas que se localizan en diferentes compartimentos celulares tales como cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas (Gill, 2010).

El equilibrio entre la producción y la recolección de residuos de ROS puede ser perturbada por diversos factores de estrés biótico y abiótico, como la salinidad, la radiación UV, la sequía, los metales pesados, temperaturas extremas, deficiencia de nutrientes, ataques de patógenos, entre otros (Bhattachrjee, 2005).

1.7. Tipos de estrés

Mahajan y Tuteja (2005) mencionan que en general el estrés se puede dividir en bióticos y abióticos, mencionando que son varias las señales de estrés, tanto abiótico como biótico que sirven como inductores de la célula de la planta (Cuadro 5).

Cuadro 5. Diferentes tipos de estrés a los que son sometidas las plantas.

Estrés abiótico	Estrés biótico
Frío (enfriamiento y heladas)	Los agentes patógenos (virus, bacterias y hongos)
Calor (alta temperatura)	Insectos
Salinidad (sales)	Los herbívoros
Sequía (condición de déficit hídrico)	Los roedores
El exceso de agua (inundación)	
Radiaciones (alta intensidad de luz)	
Productos químicos y contaminantes (metales pesados, pesticidas y aerosoles)	
El estrés oxidativo (ROS)	
Viento (arena y partículas de polvo en el viento)	
Déficit de nutrientes en el suelo	

La salinidad y la sequía ejercen su efecto perjudicial principalmente mediante la interrupción del equilibrio iónico y osmótico de la célula. Ahora es bien conocido que la señal de estrés se percibe primero en el nivel de la membrana por los receptores y luego translucido en la célula para activar los genes de respuesta de estrés para la mediación de la tolerancia al estrés (Mahajan y Tuteja, 2005).

La respuesta de las plantas al estrés por sequía y salinidad tienen mucho en común. La salinidad reduce la capacidad de las plantas para absorber agua, lo que crea una sequía química, y esto impacta negativamente en la tasa de crecimiento, junto con un conjunto de cambios metabólicos idénticos a los causados por el estrés de agua, tales como estrés osmótico, el daño oxidativo, cierre de los estomas, la inhibición de la fotosíntesis, y el daño de las estructuras celulares, y la disminución de las tasas de cambio de gas (Ahmed *et al.*, 2013). La sequía y la salinidad son los dos principales tipos de estrés abiótico que limitan drásticamente el crecimiento del cultivo y la productividad de los cultivos en todo el mundo (Ahmed *et al.*, 2013).

1.7.1. Estrés salino

El aumento de la salinización de las tierras de cultivo tienen efectos globales devastadores, lo que resultará en la pérdida de tierras del 30% dentro de los próximos 25 años, y hasta el 50% para el año 2050 (Wang *et al.*, 2003).

La alta salinidad provoca estrés tanto hídrico e hiperosmótico, y puede conducir a la muerte de la planta. La salinidad en un área de tierra dada depende de varios factores, como la cantidad de evaporación (que conduce al aumento de la concentración de sal), o la cantidad de precipitación (que conduce a la disminución de la concentración de sal); la meteorización de las rocas también afecta a la concentración de sal, en el suelo pueden alterar la textura básica del suelo como consecuencia de la disminución de la porosidad del suelo y, en consecuencia reducida la aireación del suelo y la conductancia del agua (Mahajan y Tuteja, 2005).

Los depósitos de sal en el suelo generan un bajo potencial de agua en el suelo, por lo que es cada vez más difícil para que la planta adquiera tanto el agua, así como nutrientes. Por lo tanto, el estrés salino esencialmente resulta en una condición de déficit de agua en la planta y toma la forma de una sequía fisiológica. Los principales iones implicados en la señalización de estrés salino, incluyen Na^+ , K^+ , H^+ y Ca^{++} . Es la interacción de estos iones, que trae la homeostasis en la célula (Mahajan y Tuteja, 2005).

1.7.2. Estrés hídrico

Mahajan y Tuteja (2005) mencionan que el estrés hídrico puede surgir como resultado de dos condiciones, ya sea debido a un exceso de agua o déficit hídrico. La inundación es un ejemplo de exceso de agua, lo que se traduce principalmente en el suministro de oxígeno reducido a las raíces. La reducción del O_2 se traduce en el mal funcionamiento de las funciones críticas de la raíz, incluyendo la absorción de nutrientes y la respiración. El estrés hídrico más común encontrado es el estrés de déficit de agua, conocido como el estrés por sequía.

Las alteraciones que sufre la planta en sequía incluyen cambios morfológicos, anatómicos y fisiológicos. En hojas por ejemplo, promueve alta densidad de tejido foliar, gruesas capas de la cutícula y tricomas. La expansión de células se inhibe, resultando en una limitación del área de la hoja, además que afecta el número de hojas en la planta. Otra respuesta al déficit de agua es el cese del crecimiento de los brotes, mientras que el sistema de la raíz también se ve afectada (Petridis *et al.*, 2012).

Las plantas sometidas a déficit de agua pueden sintetizar y acumular aminoácidos, proteínas, azúcares, compuestos de amonio cuaternario metilados y ácidos orgánicos. Estos solutos, también secuestran las moléculas de agua, protegen las membranas celulares y complejos de proteínas y permiten que la maquinaria metabólica continúe funcionando (Petridis *et al.*, 2012).

La eliminación de agua altera el citosol, proteínas de organelos que pueden exhibir actividad reducida o sufrir desnaturalización completa cuando se deshidrata, la membrana también se ve afectada y puede resultar en el desplazamiento de proteínas de membrana, y con esto contribuye a la pérdida de integridad de la membrana, la selectividad, la interrupción de la compartimentación celular y una pérdida de actividad de las enzimas, que son principalmente a base de membrana. La alta concentración de electrolitos celulares por deshidratación de protoplasma también puede causar la interrupción del metabolismo celular (Mahajan y Tuteja, 2005).

1.8 Metabolitos secundarios

1.8.1. Generalidades

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples (Avalos y Pérez-Urria, 2009).

1.8.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o fenoles, se distinguen químicamente de otros compuestos, por presentar un grupo hidroxilo, unido a un anillo aromático, el benceno (Vermerris y Nicholson, 2006). La ruta de síntesis de estos compuestos, es la ruta del ácido shikímico o ruta del shikimato (Lattanzio, 2013).

Una gran variedad de compuestos están clasificados dentro de los compuestos fenólicos, de los cuales podemos mencionar a los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, chalconas, auronas, flavonas, leucoantocianidinas, antocianidinas, antocianinas, benzofenonas, estilbenos, xantonas, betacianinas, lignanos, taninos hidrolizables y condensados, entre otros (Vermerris y Nicholson, 2006).

Szajdek y Borowska (2008) menciona que las frutas de baya (berries) se caracterizan por un contenido alto y amplia diversidad de compuestos fenólicos. Se diferencian con respecto a la estructura y peso molecular y están representados por los ácidos fenólicos (benzoico y derivados del ácido cinámico), taninos y flavonoides, estilbenos tales como antocianinas, flavonoles y flavanoles (catequinas). Su concentración es generalmente más alta en la epidermis y en el tejido directamente debajo que en la parte central de la fruta.

El contenido de compuestos fenólicos en las frutillas está determinada por muchos factores, tales como la especie, la variedad, el cultivo, la región, las condiciones climáticas, la madurez, la cosecha, tiempo y condiciones de almacenamiento. Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios de la planta, y se necesitan para su crecimiento y desarrollo. Protegen las especies frente a factores adversos que ponen en peligro su supervivencia en un entorno desfavorable, como la sequía, la radiación UV, infecciones o daños físicos (Szajdek y Borowska, 2008).

Szajdek y Borowska (2008) reporta que el contenido de compuestos fenólicos de las especies de frutas de bayas depende de la especie, algunas de ellas se presenta en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Contenido de compuestos fenólicos de algunos frutos con bayas.

Especie	Compuestos fenólicos (mg 100 g ⁻¹ peso en fresco)
Arándano (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	525.0
Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>)	361
Grosella negra (<i>Ribes nigrum</i>)	318.15
Arándano azul (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	181.1–473
Aronia (<i>Aronia melanocarpa</i>)	662.5
Arandano rojo (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	315
Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	113.73–177.6
Fresa (<i>Fragaria x ananassa</i>)	317.2–443.4

1.8.3. Flavonoides

Las plantas producen pigmentos de color, y entre los principales están los flavonoides, que son compuestos fenólicos que se encuentran en plantas, semillas y frutos, y de los que se han identificado más de 5000 diferentes (Martínez *et al.*, 2002).

Los flavonoides tienen un esqueleto difenilpirano (C₆C₃C₆), incluyen flavanoles monoméricos, flavanonas, flavonas, antocianidinas y flavonoles. Junto con los fenilpropanoides o derivados de ácidos hidroxicinámicos (C₆C₃), flavonoles y en menor medida, flavonas se encuentran en casi todas las plantas (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Los flavonoides se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis, durante la cual catalizan el transporte de electrones. Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos como la fenilalanina, tirosina y también de unidades de acetato.

La fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido para hidroxicinámico, que al condensarse con unidades de acetato, originan la estructura cinamol de los flavonoides (Martínez *et al.*, 2002).

Los flavonoides tienen propiedades biológicas, farmacológicas, medicinales entre otros, además de la actividad de eliminación de radicales libres que tiene múltiples actividades biológicas que funciona como vasodilatador, anticancerígeno, antiinflamatorio, antibacteriano, inmuno estimulante, antialérgico, antiviral, y los efectos estrogénicos, entre otros (Rice-Evans *et al.*, 1996).

1.8.4. Antioxidantes

Un número de ensayos se han introducido para la medición de la actividad antioxidante total de fluidos corporales, extractos de alimentos, y compuestos puros. Cada método se refiere a la generación de un radical diferente, actuando a través de una variedad de mecanismos y la medición de una gama de puntos finales en un punto de tiempo fijo o sobre un rango. Se han tomado dos tipos de enfoque, a saber, los ensayos de inhibición en que la extensión de la captación de hidrógeno o por electrones, donación de un pre-formado radical libre es el marcador de la actividad antioxidante, así como ensayos que implican la presencia de sistema antioxidante durante la generación del radical (Re *et al.*, 1999).

Existen diferentes métodos empleados para la determinación de la capacidad antioxidante, entre los que se incluyen el ensayo ABTS, DPPH, FRAP, poder reductor y ORAC (Li *et al.*, 2012), en ésta investigación se utilizaron las pruebas ABTS y DPPH.

1.8.5. Prueba ABTS

Generación de la ABTS [2,29-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)], catión radical que constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que se han aplicado a la medición de la actividad antioxidante total de soluciones, sustancias puras, mezclas acuosas y bebidas.

El ensayo original ABTS se basó en la activación de metmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir el catión radical, en presencia o ausencia de antioxidantes. Esto ha sido criticado sobre la base de que los antioxidantes que reaccionan más rápido también pueden contribuir a la reducción del radical mioglobina ferril. Un formato más apropiado para el ensayo es una técnica de decoloración en que el radical se genera directamente en una forma estable antes de la reacción con antioxidantes putativos (Re *et al.*, 1999).

La técnica mejorada para la generación de ABTS implica la producción directa del ABTS cromóforo azul/verde a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio. Esto tiene máximos de absorción a longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm, así como la máxima más comúnmente utilizada a 415 nm. La adición de antioxidantes para el catión radical preformado reduce ABTS, hasta cierto punto y en una escala de tiempo dependiendo de la actividad antioxidante, la concentración del antioxidante y la duración de la reacción. Así, el grado de decoloración como porcentaje de inhibición de la ABTS catión radical se determina como una función de la concentración y el tiempo y calcula en relación a la actividad del estándar Trolox, en las mismas condiciones. El método es aplicable al estudio de ambos antioxidantes solubles en agua y solubles en lípidos, compuestos puros, y extractos de alimentos (Re *et al.*, 1999).

1.8.6. Ensayo de capacidad captadora de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Este método, desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH, por los antioxidantes de la muestra. El radical es estable y tiene una coloración púrpura que se pierde progresivamente cuando se añade la muestra conteniendo sustancias antioxidantes.

La decoloración del radical se determina a una longitud de onda de 515 nm hasta alcanzar el equilibrio. Entre las ventajas de usar este método, se tiene que el ensayo DPPH es un método rápido, sencillo y que no requiere de un equipamiento sofisticado. La desventaja que tiene este método es que el radical sólo puede disolverse en medio orgánico y en algunos casos la interpretación resulta complicada, ya que algunos antioxidantes pueden causar interferencias si poseen un espectro de absorción similar al DPPH.

LITERATURA CITADA

- Ahmed, I. M., Dai, H., Zheng, W., Cao, F., Zhang, G., Sun, D., and Wu, F.** 2013. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. *Plant Physiology and Biochemistry*. 63:49-60.
- Ávalos G., A. y Pérez-Urria C., E.** 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2:119-145.
- Bastida, T.A.** 2006. Manejo y operación de invernaderos. Universidad Autónoma Chapingo. México. 184 p.
- Bhattacharjee, S.** 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plant. *Curr Sci India*. 89:1113–1121.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.** 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol*. 28:25-30
- Burés, S.** 1997. Sustratos. Agrotécnicas S.L. España. 331 p.
- Cho, M.J., Howard, L.R., Prior, R.L., Clark, J.R.** 2005. Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric*. 85:2149–2158.
- De Sebastián P. J. I.** 2010. Los frutos del bosque o pequeños frutos en la Cornisa Cantábrica: El Arándano. Gobierno de Cantabria. Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad. pp: 156.
- FAOSTAT. 2015.** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Base de datos. Disponible en <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Revisado en abril 2015.
- Gill, S. S., y Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48:909-930.
- HUANG, W.T.,** 1968. Petrología. Traducción de la edición inglesa por Rafael García Días. México, D.F. UTEHA.

- Lattanzio, V.** 2013. Capítulo 50. Phenolic compounds: Introduction. Natural products, phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes. In: Ramawat, K. and Mérillon J-M. (Eds.). Springer. Berlin, Heidelberg. pp: 1543-1580.
- Linnaeus, C.** 1753. *Species plantarum*. Stockholm, Sweden: L. Salvii. 2 vols. Disponible en <http://www.tropicos.org/>. Revisado en diciembre 2014.
- Luque, A.** 1981. Physical and physicochemical properties of volcanic materials used in hydroponic *In* ESQUIVEL, T.S. 2001. Características y uso de los principales sustratos utilizados en los cultivos sin suelo. Universidad Autónoma Chapingo. México. 125 p.
- Martínez, C.E., García, L.M.** 1993. Cultivo sin suelo: hortalizas en climas mediterráneos. Compendio de Horticultura 3. Caja Rural de Almería. Almería, España.
- Martínez, F. S., González, J. G., Culebras J., M. y Tuñón J., M.** 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. 6:271-278.
- Martínez, P. L.G.** 2007. Tesis profesional en evaluación de Metodologías para la caracterización de propiedades físicas de sustratos. Universidad Autónoma Chapingo, México. 82 p.
- Mahajan, S., N. Tuteja, C.** 2005. salinity and drought stresses: an overview, *Arch. Biochem. Biophys.* 444:139-158.
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S., and Giannakoula, A.** 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 60:1-11.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G.** 1996. Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology, & Medicine*, 20:933-956.
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores.** 2005. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a. ed., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión

Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 pp.

Sandoval, V. M., Sánchez, G.P. y Alcántar, G.G. 2009. Principios de hidroponía y del fertirriego. pp. 373-438. *In*: Alcántar G.G y Trejo T.L.I. (eds.). Nutrición de cultivos. Colegio de Postgraduados, México.

Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. 2014. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.org.mx>. revisado en diciembre 2014.

Spiers J. M., S. J. Stringer, A. D. Draper, C.L. Gupton. 2002 'Biloxi' Southern Highbush Blueberry. *Acta Hort.* 574:153-155.

Szajdek, A. and E. J. Borowska. 2008. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition.* 63:147-156.

Wang, W., B. Vinocur and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218:1-14.

Vermerris, W. and Nicholson, R. 2006. Capítulo 6. The role of phenols in plant defense. *In*: Phenolic compound biochemistry. Editorial Springer. pp: 211-230.

CAPÍTULO II.

CRECIMIENTO, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE FRUTO DE ARÁNDANO EN RESPUESTA A ESTRÉS OSMÓTICO

El arándano covariedad Biloxi, es un arándano tetraploide de bajo requerimiento de horas frío lanzado 1998 para la producción en las llanuras costeras del sudeste de los Estados Unidos, en México la producción de arándanos ha ido en aumento gracias a su baja necesidad de horas frío y que está adaptada a la mayoría de los microclimas tropicales y subtropicales presentes en el país. Entre los principales factores de estrés abiótico que afectan negativamente la producción de arándano y su crecimiento vegetal está el estrés osmótico, sus principales efectos se observan en tallo, hoja y raíces como reducción de biomasa, área foliar y menor altura de la planta. El objetivo del estudio fue conocer el efecto del estrés hídrico y salino sobre variables agronómicas de plantas de arándano. Plantas de arándano de un año de edad se sometieron a estrés hídrico y salino, en un sistema hidropónico, utilizando tezontle como sustrato y la solución nutritiva universal de Steiner (1984) modificada. Los parámetros medidos en el experimento fueron peso de materia fresca y seca de raíz, tallo, hoja, fruto y biomasa total, área foliar, longitud de raíz, altura de planta, peso específico de frutos, diámetro ecuatorial y longitudinal del fruto. El tratamiento testigo recibió el 100% de la demanda diaria de agua y un potencial osmótico (PO) de -0.027 MPa. El tratamiento salino se midió en dos niveles de PO: -0.041 y -0.054 MPa, ambos con el 100% de la demanda diaria de agua. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66 % (H1) y 33 % (H2) de la demanda diaria de agua, ambos con un PO de -0.027 MPa. Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) en longitud de raíz, peso de materia fresca de raíz, tallo, hoja y biomasa total por efecto del estrés salino. En los tratamientos sometidos a estrés hídrico, se encontraron diferencias estadísticas para todas las variables analizadas.

Palabras clave: *estrés hídrico, estrés salino, rendimiento de fruto de arándano, análisis de crecimiento.*

2.1. Introducción

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) covariedad Biloxi, es un arándano tetraploide, denominado arbusto alto del sur, y fue desarrollado por el Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Estados Unidos de América de la cruce entre Sharpeblue y US329. Tiene la característica de tener tallos rectos, vigorosos y productivos. La fruta tiene tamaño mediano, buen color, firmeza y sabor en comparación de otras variedades como “Tifblue”, “Climax”, “Austin” y “Jubilee”. Este cultivar de bajo requerimiento de horas frío fue lanzado en 1998 para la producción en las llanuras costeras del sudeste de los Estados Unidos (Spiers et al., 2002).

Su importancia económica del arándano radica en que es la cuarta frutilla de interés económico en el mundo, los principales productores de arándano son Estados Unidos de América y Canadá, donde la producción para el año 2013 ascendió a 420,379 toneladas, abarcando 239,071 toneladas (56.9%) y 109,007 (25.9%), respectivamente, en México se producen alrededor de 10,160 toneladas que representa el 2.41% de la producción en el mundo (FAOSTAT, 2015).

En México la producción de arándanos ha ido en aumento, a pesar de ser una especie que está adaptada para climas templados y fríos, su producción es posible gracias a que variedades como “Biloxi”, que por su baja necesidad de horas frío, está adaptada a la mayoría de los microclimas tropicales y subtropicales presentes en el país.

El estrés osmótico es uno de los principales factores de estrés abiótico que afectan negativamente la producción de arándano y su crecimiento vegetal. Sus principales efectos se observan en tallo, hoja y raíces como reducción de biomasa, área foliar y menor altura de la planta (Erb *et al.*, 1993). Lo anterior ocurre cuando la transpiración excede la cantidad de agua absorbida por las raíces, pudiendo llegar hasta la muerte de la planta (Luna *et al.*, 2012).

Otros factores como el frío, la salinidad y la sequía están entre los principales tipos de estreses que también afectan de igual manera que el estrés hídrico al crecimiento y productividad en plantas (Mahajan y Tuteja, 2005).

En investigaciones en otras variedades de arándano, como Galestown y Berryland, se ha encontrado que la inducción de estrés hídrico disminuye la biomasa de las hojas, área foliar, entre otras (Erb *et al.*, 1993). En cultivos como fresa (*Fragaria sp.*) se ha encontrado que la acumulación de sales en la planta reduce el vigor, retarda el crecimiento y disminuye la producción de biomasa. (Casierra y García, 2005). Parra *et al.* (1999), reporta en zarzamora, que el peso seco de tallo y raíz disminuyeron en déficit hídrico, en cambio la relación raíz/tallo no fue afectada, lo que indica que el déficit hídrico redujo en proporciones similares la biomasa del tallo y raíz. Considerando lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue conocer la respuesta agronómica (acumulación de biomasa fresca y seca, calidad de fruto, entre otros) del arándano al someterlas a estrés hídrico y salino.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Área de estudio

El experimento se desarrolló en un invernadero tipo baticenital, ubicado en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en el municipio de Texcoco, Estado de México (19° 29' N, 98° 54' O, y 2250 m de altitud).

2.2.2. Material vegetal

Se utilizaron plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Biloxi), de 12 meses de edad, las cuales fueron plantadas en tezontle, tamizado con una malla de 1 cm², en bolsas de plástico con capacidad de 20 L.

2.2.3. Sustrato

Con el propósito de determinar que las diferencias entre tratamientos se debieron a un efecto causado por el tratamiento, y no por el sustrato, el sustrato fue caracterizado al inicio y al final del experimento con base a sus propiedades granulométricas (Cuadro 7), de porosidad, retención de humedad y aireación (Cuadro 8).

2.2.4. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue bloques completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, con un total de 20 unidades experimentales, cada unidad experimental lo constituyeron tres plantas. Plantas de arándano fueron sometidas a dos tratamientos de estrés osmótico: hídrico y salino. El agua utilizada se obtuvo del sistema de captación de agua de lluvia del Colegio de Postgraduados, con una conductividad eléctrica (CE) de 0.01 dS m^{-1} .

El tratamiento testigo recibió una cantidad de agua de acuerdo a la demanda diaria (100% hasta drenaje) y un potencial osmótico de -0.027 MPa de acuerdo con Steiner (1984), el tratamiento salino se evaluó en dos niveles: -0.041 MPa y -0.054 MPa con el 100% de humedad hasta drenaje. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66% y 33% de humedad con relación al 100% de la demanda diaria y con un potencial osmótico de -0.027 MPa en ambos casos.

2.2.5. Variables de respuesta

Las variables de respuesta fueron número de frutos, peso de materia fresca y seca de raíz, tallo, hojas y frutos, longitud de raíz, diámetro ecuatorial y longitudinal de frutos, área foliar y sólidos solubles.

Semanalmente se determinó el número de frutos por planta y posteriormente se cuantificó el peso de materia fresca de estos mismos por planta. El peso fresco fue expresado en gramos de materia fresca por planta. Por otro lado, se midió el diámetro ecuatorial y longitudinal de los frutos con un vernier digital de 6 pulgadas. Se consideró como diámetro, la distancia que existe entre la cicatriz pedicelar y la cicatriz calicinar del fruto.

Las hojas se cosecharon en la etapa vegetativa, reproductiva y al final del experimento, para obtener peso fresco y seco de este órgano. Para la obtención del peso seco, las hojas fueron secadas en una estufa con recirculación de aire forzado a $70^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante una semana. Posteriormente pesaron y el resultado fue expresado en gramos de materia seca por planta. Para finalizar, el material vegetal se molió y almacenó en frascos a 5°C para análisis posteriores. Las raíces y tallos fueron analizados al final del ciclo con el mismo procedimiento que se usó en hojas.

2.2.6. Análisis de datos

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9 (SAS Institute, 1999).

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Peso me materia fresca (MF) de raíz (R), tallo (T), hojas (H) y fruto (F).

Se observaron diferencias significativas para las variables peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas, y biomasa total de arándano por efecto del estrés salino de la solución nutritiva (SN) (Cuadro 9). Los tratamientos con un PO por debajo de -0.027 MPa limitaron el desarrollo de las raíces, tallos, hojas y de la biomasa total y fueron estadísticamente diferentes al tratamiento testigo. La disminución de la biomasa radical con relación a la biomasa aérea (tallo) es un mecanismo de tolerancia a la salinidad para mantener el balance hídrico (Shannon, 1979; Kafkafi, 1994), lo cual se observa claramente en el Cuadro 10, conforme se incrementa el PO la relación raíz/tallo disminuye.

De igual manera, se observa que el peso de MF de hojas disminuyó conforme se incrementó el PO de la SN, lo cual se debió seguramente a un ajuste osmótico a nivel radical, como lo indican Matsuda y Riazi (1981), quienes observaron que las hojas de cebada reducían su crecimiento a los pocos minutos de iniciar la salinización de forma proporcional a la disminución del potencial osmótico de la solución externa.

Cuadro 7. Peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés salino.

Tratamiento	Raíz	Tallo	Hojas	Frutos	MFT	Relación raíz/tallo
-----g/planta-----						
Testigo	74.15a	109.20a	10.83a	166.80a	360.98a	0.67a
PO1	50.80b	76.23b	8.43ab	135.48a	270.95b	0.66a
PO2	56.43ab	91.68ab	7.4b	149.50a	305.00b	0.61a
C.V.	16.65	12.17	14.65	8.55	8.22	17.73
D.M.S	21.83	24.38	2.94	39.77	49.15	0.09

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$ CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; Testigo: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; MFT: materia fresca total.

En el Cuadro 10 se observan diferencias estadísticas significativas para las variables peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas, frutos y MFT de arándano por efecto del estrés hídrico.

Hsiao (1973) menciona que uno de los procesos más sensibles al déficit de agua es el crecimiento celular, de modo que limitar el riego reduce la expansión foliar y el crecimiento del tallo y de las raíces, tal y como se observa en el Cuadro 11, donde la MF de R, T, H y F en plantas de arándano disminuyó proporcionalmente al nivel de humedad en el sustrato y fueron estadísticamente diferentes al testigo.

Balaguera *et al.* (2008) encontraron en un estudio en plántulas de tomate sometidas a estrés hídrico, que el peso de materia fresca de raíz, tallo y hoja fueron disminuyendo de forma simultánea con el contenido de agua aplicada.

Cuadro 8. Peso de materia fresca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	Raíz	Tallo	Hojas	Frutos	Biomasa	Relación raíz/vástago
-----g/planta-----						
Testigo	74.15a	109.20a	10.83a	166.80a	360.98a	0.25a
H1	59.23a	92.18ab	10.38a	119.65b	281.40b	0.27a
H2	41.18b	59.33b	6.18b	51.93c	158.63c	0.36a
C.V.	13.75	20.68	17.39	16.70	11.26	30.12
D.M.S	17.36	38.98	3.59	41.08	65.85	0.20

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; Testigo: 100% de la demanda diaria de agua (dda); H1: 66% de la dda; H2: 33% de la dda; MFT: materia fresca total.

2.3.2. Peso de materia seca (MS) de raíz (R), tallo (T), hojas (H) y fruto (F)

En el Cuadro 11 se muestran diferencias estadísticas significativas para las variables peso de MS de R, T, H, F y MFT de arándano por efecto del estrés salino de la solución nutritiva (SN). Los tratamientos con un PO por debajo de -0.027 MPa incidieron negativamente en el desarrollo de las raíces, tallos, hojas, frutos y biomasa total y fueron estadísticamente diferentes al tratamiento testigo.

Leidi y Pardo (2012) mencionan que el efecto evidente ante el estrés salino en la reducción en la capacidad de absorción de agua se puede manifestar en la disminución de la expansión foliar y pérdida de turgencia, por lo que la biomasa total

en las plantas de arándano se redujo conforme se incrementó el PO de la solución nutritiva debido a que las células vegetales expuestas a un medio salino equilibran su potencial hídrico con la pérdida de agua y esto a su vez, disminuye el PO y el potencial de turgencia.

Cuadro 9. Peso de materia seca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés salino.

Tratamiento	Raíz	Tallo	Hojas	Frutos	MST	Relación raíz/tallo
----- g planta ⁻¹ -----						
Testigo	18.45a	17.55a	7.67a	24.52a	69.10a	1.05a
PO1	11.38b	14.25a	5.48ab	18.09b	49.20b	0.79a
PO2	16.03ab	13.78a	5.03b	20.70ab	55.50b	1.16a
C.V.	15.00	17.46	17.40	9.63	6.86	12.59
D.M.S	4.97	5.75	2.37	4.41	8.62	0.11

Medias con la misma letra en cada columna y son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; Testigo: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; MST: materia seca total.

En el Cuadro 12 se observan diferencias estadísticas significativas para las variables peso de MS de raíz, tallo, hojas, frutos y MST de arándano por efecto del estrés hídrico.

La disminución del crecimiento no se debe a una reducción del metabolismo, sino a una pérdida de turgencia (proceso físico). A medida que disminuye el contenido hídrico de la planta ocurre lo mismo en el interior de las células, de modo que se desacelera el volumen celular y la turgencia de la célula y se incrementa la cantidad de solutos y los daños mecánicos sobre la célula.

El estrés hídrico inhibe directamente algún mecanismo de crecimiento celular, lo cual se observa en el Cuadro 12, donde la biomasa total y todos sus componentes disminuyeron proporcionalmente a la cantidad de agua en el sustrato, con relación al testigo. La relación raíz/vástago se incrementó inversamente proporcional a la cantidad de agua que recibió la planta, lo que indica que la biomasa aérea se vio más afectada por efecto del estrés hídrico.

Cuadro 10. Peso de materia seca de raíz, tallo, hojas y fruto de arándano en condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	Raíz	Tallo	Hojas	Frutos	MST	Relación raíz/vástago
	----- g planta ⁻¹ -----					
Testigo	18.45a	17.55a	7.67a	24.52a	69.10a	0.37b
H1	16.63ab	14.80a	7.00ab	17.08b	59.70b	0.45b
H2	12.93b	7.90b	3.40b	6.03c	31.10c	0.77a
C.V.	15.00	19.51	21.90	24.47	5.56	26.29
D.M.S	5.50	5.68	2.96	7.38	6.70	0.30

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; Testigo: 100% de la demanda diaria de agua (dda); H1: 66% de la dda; H2: 33% de la dda; MST: materia seca total.

2.3.3. Calidad de fruto

Para la mayoría de las variables calidad del fruto no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos por efecto del estrés salino e hídrico (Cuadro 13), sin embargo, se observa que al incrementar el PO de la SN hasta -0.041 MPa mayor es el peso promedio de los frutos (PPF), diámetro ecuatorial (DEF) y longitudinal (DLF), lo cual correlaciona negativamente con el número de frutos. Para el caso del estrés hídrico sólo hubo diferencias estadísticas significativas para la variable NF. La sequía afectó negativamente el NF, PPF, DEF y DLF.

Mingeau *et al.* (2000) observaron que al aumentar el estrés hídrico disminuyó el peso y tamaño de frutos, lo que impactó negativamente en el rendimiento de plantas de arándano tipo highbush. Ehret *et al.* (2012) detectaron que plantas de arándano concentraron más azúcares al disminuir la humedad del suelo con respecto al testigo, también se incrementó la firmeza del fruto y la pérdida de agua del fruto en postcosecha, sin embargo, en estos tratamientos disminuyó el peso del fruto, acidez titulable y contenido de agua en el fruto.

Cuadro 11. Calidad de fruto de arándano en condiciones de estrés salino e hídrico.

Tratamiento	NF	PPF g	DEF mm	DLF
Estrés salino				
Testigo1	619.00a	3.50a	8.94a	7.34a
PO1	480.00a	3.50a	9.37a	7.71a
PO2	615.00a	4.10a	9.13a	7.65a
C.V.	10.07	10.55	3.76	3.27
D.M.S	151.92	0.85	0.86	0.62
Estrés hídrico				
Testigo2	619.00a	3.50a	8.94a	7.34a
H1	455.00a	3.70a	8.92a	7.53a
H2	194.00b	3.90a	8.68a	7.21a
C.V.	18.31	10.83	3.35	1.55
D.M.S	167.77	0.92	0.77	0.33

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$); C.E: conductividad eléctrica ($dS m^{-1}$); H: humedad (%); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; NF: número de frutos; PPF: peso promedio de frutos; DEF: diámetro ecuatorial del fruto; DLF: diámetro longitudinal del fruto; Testigo1: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; Testigo2: 100% de la demanda diaria de agua (dda); H1: 66% de la dda; H2: 33% de la dda.

2.3.4. Número de hojas (NH), área foliar (AF), peso específico de la hoja (PEH), Longitud de raíz (LR) y altura de planta (AP).

En el Cuadro 14 se observan diferencias estadísticas significativas solo para los parámetros LR por efecto del estrés salino y AF, PEH y LR en los tratamientos con estrés hídrico. Aunque no hubo diferencias estadísticas significativas para NH, AF, PEH y AP, al incrementar el PO de la SN se afectaron estas variables seguramente porque disminuyó la conductancia estomática, transpiración, potencial hídrico en el xilema y el contenido de clorofila, lo cual evidenciaron Wright *et al.* (1993), quienes observaron que al incrementar la salinidad de la SN con 100 mM de Na⁺ en plantas de arándano estos parámetros se ven afectados significativamente.

Bryla y Machado (2011) observaron que al incrementar el PO de la solución nutritiva con (NH₄)₂SO₄ por encima de -0.054 MPa en plantas de arándano tipo highbush, se redujo el contenido de MS de raíces y el AF, lo cual coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación. El AF y PEH se redujeron significativamente, cuando las plantas de arándano recibieron el 33% de la demanda diaria de agua (dda), con respecto al testigo (100% de la dda). Mingeau *et al.* (2000) señalan que el arándano es muy sensible a la sequía y observaron que al aumentar el estrés hídrico disminuyó la transpiración, el diámetro del tallo y el área foliar en plantas de arándano tipo highbush.

La LR se vio favorecida al disminuir la humedad hasta el 33% de la dda, lo cual se explica como un mecanismo de respuesta de la planta a la sequía, en el cual las raíces tienden a elongarse más rápidamente para buscar el agua en áreas más lejanas.

Cuadro 12. Número de hojas, área foliar, peso específico de hoja, longitud de raíz y altura de planta de arándano, bajo condiciones de estrés salino e hídrico.

Tratamiento	NH	AF	PEH	LR	AP
		cm ²	mg cm ⁻²	Cm	
Estrés salino					
Testigo1	140.00a	739.76a	10.42a	32.00b	88.00a
PO1	102.00a	529.80a	10.34a	34.75ab	85.00a
PO2	102.00a	477.50a	10.76a	39.67a	85.25a
C.V.	18.24	18.90	7.51	8.29	3.16
D.M.S	48.63	246.97	1.71	6.70	5.91
Estrés hídrico					
Testigo2	140.00a	739.76a	10.42a	32.00b	88.00a
H1	123.00a	664.20a	10.67a	28.75c	81.50a
H2	83.00a	350.40b	9.65b	37.67a	81.67a
C.V.	25.30	22.42	3.12	3.20	6.11
D.M.S	63.32	294.43	0.69	2.39	11.79

Medias con la misma letra en cada columna y son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$); C.E: conductividad eléctrica (dS m⁻¹); H: Humedad en %; CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa; NH: número de hojas; AF: área foliar; PEH: peso específico de hojas; LR: longitud de raíz; AP: altura de planta; Testigo1: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; Testigo2: 100% de la demanda diaria de agua (dda); H1: 66% de la dda; H2: 33% de la dda.

2.4. Conclusiones

Las plantas de arándano fueron afectadas durante el desarrollo vegetativo y reproductivo por el potencial osmótico de la solución nutritiva de -0.054 MPa, con respecto al testigo (-0.027 MPa) lo cual se reflejó en la disminución significativa de las siguientes variables: MFR, MFT, MFH, MFT, MSR, MSH, MSF, MST y LR.

El efecto negativo del estrés hídrico (33% de la dda) con respecto al testigo (100% de la dda) en plantas de arándano se manifestó en las siguientes variables: MFR, MFT, MFH, MFF, MFT, MSR, MSH, MSF, MST, NF, AF, PEH y LR.

Literatura

Balaguera, H. E., Álvarez H, J. G., y Rodríguez, J. D. 2008. Efecto del déficit de agua en el trasplante de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Agronomía Colombiana*. 26: 246-255.

Bryla, D. R., and Machado, R. M. 2011. Comparative effects of nitrogen fertigation and granular fertilizer application on growth and availability of soil nitrogen during establishment of highbush blueberry. *Frontiers in plant science*. 2: doi: 10.3389/fpls.2011.00046

Casierra P, F., y García, N. 2005. Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria sp.*) bajo estrés salino. *Agronomía Colombiana*, 23:83-89.

EHRET, D. L., FREY, B., FORGE, T., HELMER, T., and BRYLA, D. R. 2012. Effects of drip irrigation configuration and rate on yield and fruit quality of young highbush blueberry plants. *HortScience*. 47:414-421.

Erb, W. A., Draper, A. D., and Swartz, H. J. 1993. Relation between moisture stress and mineral soil tolerance in blueberries. *Journal of the American Society for Horticultural Science*.118:130-134.

FAOSTAT. 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Base de datos. Disponible en <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Revisado en abril 2015.

Hsiao, T. 1973. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 24:519-570.

Kafkafi, V. 1994. Combined irrigation and fertilization in arid zones. *Isr. J. Plant Sci.* 42:301-310.

Leidi, E. O., y Pardo, J. M. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 2:2-10.

Luna F, W., Estrada M, H., Jiménez O, J. J. M., and Pinzón L, L. L. 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana*. 30: 343-353.

Mahajan, S., and N. Tuteja, C. 2005. Salinity and drought stresses: an overview, *Arch. Biochem Biophys*. 444:139-158.

Matsuda, K. and A. Riazi. 1981. Stress induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Physiol*. 68: 571-576.

Mingeau, M., Perrier, C., and Améglio, T. 2001. Evidence of drought-sensitive periods from flowering to maturity on highbush blueberry. *Scientia Horticulturae*. 89: 23-40.

Parra Q, R. A., Rodriguez O, J. L. R., and Gonzáles H, V. A. G. 1999. Transpiracion, potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo déficit hídrico. *Terra*. 17:125-130.

Shannon, M.C. 1979. In quest of rapid screening techniques for plant salt tolerance. *HortScience*. 14:587-589

SAS Institute. 1999 SAS/STAT® User's Guide. Version 9.0 SAS Institute Inc., Cary, NC: pp: 209-243.

Spiers, J. M., Stringer, S. J., Draper, A. D., and Gupton, C. L. 2000. 'Biloxi' southern highbush blueberry. In VII International Symposium on *Vaccinium* Culture 574: 153-155.

Steiner, A.A. 1984. The universal nutrient solution. pp. 633-650. In: Proceedings 6th International Congress on Soilles Culture. Wageningen, The Netherlands.

Wright, G. C., Patten, K. D., and Drew, M. C. 1993. Gas exchange and chlorophyll content of Tifblue'rabbiteye and Sharpblue'southern highbush blueberry exposed to salinity and supplemental calcium. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 118:456-463.

CAPÍTULO III.

ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO DE PRODUCCIÓN COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ARÁNDANO

Se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos (FT), flavonoides (FL) y capacidad antioxidante (CA) por el método DPPH y ABTS en frutos de arándano cv. Biloxi de un año de edad en tratamientos de sequía y salinidad. El tratamiento de salinidad se midió en dos niveles de PO: -0.041 y -0.054 MPa, ambos con el 100% de la demanda diaria de agua. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66% (H1) y 33% (H2) de la demanda diaria de agua, ambos con un PO de -0.027 MPa. Se estableció un sistema hidropónico, utilizando tezontle como sustrato y la solución nutritiva universal de Steiner (1984) modificada. Se encontró que CF, FL y CA difieren significativamente ($p \geq 0.05$), por efecto de tratamiento y la época de cosecha. La producción de FL se incrementó en los tratamientos de salinidad y sequía, en comparación con el tratamiento testigo. La prueba de capacidad antioxidante por el método DPPH fue mayor en el tratamiento H2. La cuantificación de CA por el método ABTS no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos, pero sí para la época de cosecha.

Palabras clave: *flavonoides, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.*

3.1. Introducción

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) es un fruto originario del norte de Europa y Estados Unidos de América. La variedad Biloxi, es un arándano tetraploide, denominado arbusto alto del sur (highbush southern), desarrollado por el Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de EE.UU de la cruce entre Sharpeblue y US329 (Spiers *et al.*, 2002).

La importancia del arándano radica, entre otras razones, a sus compuestos bioactivos (antocianinas, flavonoides, polifenoles y ácido ascórbico) cuyos beneficios son potenciales para la salud humana (Sinelli *et al.*, 2008). En plantas, su función se remonta a muchos años de evolución, ya que se sabe que estos compuestos forman parte de la principal defensa contra los diferentes tipos de estrés ambiental, como defensa contra los rayos ultravioleta, estrés hídrico y el ataque de herbívoros y patógenos. Para la síntesis de estos compuestos bioactivos la planta invierte grandes cantidades de energía y para que esto ocurra, se necesitan condiciones severas, como las que se observan en climas áridos. En éstas condiciones, las plantas tienden a aumentar sus defensas, sobre todo, de tipo cualitativo, ya que, en estos casos, les resulta mucho más difícil regenerar los tejidos dañados (Ramos, 1998).

En climas áridos, la sequía y la salinidad son los principales tipos de estrés y los efectos en las plantas al estrés salino e hídrico tienen mucho en común; la salinidad limita la absorción de agua del suelo, ambas condiciones ocasionan deshidratación celular, junto con un conjunto de cambios metabólicos idénticos a los causados por el estrés hídrico (Munns, 2002). Dichos cambios incluyen la producción de metabolitos secundarios, la distribución de éstos metabolitos secundarios son variables en los diferentes tejidos vegetales, así como su redistribución según avanza el desarrollo fenológico (Price *et al.*, 1979; Johnson *et al.*, 1985; Makkar *et al.*, 1988); también en general, todas las partes en crecimiento anual, muestran una mayor concentración de compuestos secundarios, o reactividad de éstos, que los tejidos viejos (Rhoades, 1979).

En frutillas, el contenido de compuestos fenólicos está determinado por muchos factores, tales como la especie, la variedad, el cultivo, la región, las condiciones climáticas, la madurez, la cosecha, tiempo y condiciones de almacenamiento (Szajdek y Borowska, 2008).

En el presente estudio se analizaron los efectos de la sequía y el estrés osmótico en la producción de metabolitos secundarios, como los flavonoides y fenoles totales, además, la capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Área de estudio

El experimento se desarrolló en un invernadero tipo baticenital, ubicado en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en el municipio de Texcoco, Estado de México (19° 29' N, 98° 54' O, y 2250 m de altitud).

3.2.2. Material vegetal y sustrato

Se utilizaron plantas de arándano cv. Biloxi, de 12 meses de edad, las cuales fueron plantadas en tezontle, tamizado con una malla de 1 cm², en bolsas de plástico con capacidad de 20 L.

3.2.3. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue bloques completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, con un total de 20 unidades experimentales, cada unidad experimental lo constituyeron tres plantas. Plantas de arándano fueron sometidas a dos tratamientos de estrés osmótico: hídrico y salino. El agua utilizada se obtuvo del sistema de captación de agua de lluvia del Colegio de Postgraduados, con una conductividad eléctrica (CE) de 0.01 dS m⁻¹.

El tratamiento testigo recibió una cantidad de agua de acuerdo a la demanda diaria (100% hasta drenaje) y un potencial osmótico de -0.027 MPa de acuerdo con Steiner (1984), el tratamiento salino se evaluó en dos niveles: -0.041 MPa y -0.054 MPa con el 100% de humedad hasta drenaje. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66% y 33% de humedad con relación al 100% de la demanda diaria y con un potencial osmótico de -0.027 MPa en ambos casos.

3.2.4. Variables de respuesta

Las variables de respuesta medidas en el experimento fueron rendimiento de fruto, fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS. Semanalmente se determinó el peso de materia fresco (BFF) y seca de frutos (BSF). Para la obtención del BSF, los frutos fueron secados en una estufa con recirculación de aire forzado a $50^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante una semana hasta alcanzar peso constante. Posteriormente se pesaron y el resultado fue expresado en gramos de materia seca por planta. Para finalizar el material vegetal se molió y almacenó en frascos ámbar a -5°C para análisis posteriores de FT, FL y CA por los métodos DPPH y ABTS.

3.2.5. Análisis de datos

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9 (SAS Institute, 1999).

3.2.6. Análisis fitoquímico

Flavonoides

En la determinación de flavonoides se utilizó el método colorimétrico de cloruro de aluminio, se modificó del procedimiento reportado por Woisky y Salatino

(1998), el cual se modificó para nuestro experimento. Se usó quercetina para hacer la curva de calibración. Se disolvieron 10 miligramos de quercetina en metanol al 80% y posteriormente se concentró a $100 \mu\text{g ml}^{-1}$. Se tomó una alícuota de 20, 40, 60, 80 y $100 \mu\text{L}$ y fueron colocadas por triplicado en tubos de ensayo, además de considerar 3 blancos, posteriormente se adicionaron 980, 960, 940, 920 y $900 \mu\text{L}$ de metanol al 80%, y se agregaron 2 mL de etanoato de potasio ó acetato de potasio (CH_3COOK) y 2 mL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%. Después de la incubación a temperatura ambiente durante 30 min, se midió la absorbancia de la mezcla de reacción se midió a una longitud de onda de 415 nm utilizando un espectrofotómetro (JENWAY® 6305).

Se pesaron 0.10 gramos de muestra que fueron colocados en tubos Corning, posteriormente se agregó a cada tubo 2.5 mL de metanol al 80%, seguidamente los tubos se incubaron a 70°C en baño maría por una hora, se dejó enfriar la muestra y se colocó en la centrífuga a 4500 rpm durante 13 minutos, se tomó una alícuota de 0.1 mL y se colocó en tubo de ensayo, se agregaron 0.9 mL de metanol al 80%, 2 mL de acetato de potasio y 2 mL de cloruro de aluminio al 10%, la muestra se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min, la absorbancia de la mezcla de reacción se midió a una longitud de onda de 415 nm, utilizando un espectrofotómetro (JENWAY® 6305).

Fenoles totales

Para este análisis se utilizó el método descrito por Folin y Ciocalteu en 1927, dicha técnica fue modificada para el experimento, se realizaron pruebas preliminares para estandarizar el método a las muestras. Una vez estandarizada la técnica se tomó 0.01g de cada muestra, se agregó 1 mL de metanol, posteriormente cada muestra fue agitada por un minuto; seguidamente se tomó una alícuota de $50\mu\text{L}$ y se agregó $450\mu\text{L}$ de agua y se agregaron $25\mu\text{L}$ de solución acuosa de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de un minuto de haber agregado el reactivo de Folin y antes de transcurridos ocho minutos, se añadió 0.975 mL de solución de

Na₂CO₃ (carbonato de sodio) al 20% y nuevamente se agitó cada muestra por alrededor de un minuto.

Después de procesar las muestras se dejaron en obscuridad total por un periodo de dos horas y posteriormente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (JENWAY® 6305) a una absorbancia de 760 nm. El blanco consistió en una mezcla de 0.5 mL de agua destilada, se añadió 25 µL de reactivo de Folin y 0.975 mL de carbonato de sodio al 20%, sin contenido de muestra.

Para la cuantificación de los fenoles totales, se elaboró una curva de calibración a partir de una solución de ácido gálico (C₆H₂ (OH)³ COOH), a concentración de 20 µg mL⁻¹ de la cual se obtuvo la ecuación de la recta obtenida al graficar la curva de calibración.

Capacidad antioxidante

La cuantificación de la capacidad antioxidante de las muestras se realizó de acuerdo a las pruebas ABTS [2,29-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)], propuesto por Re *et al.* (1998) y por el ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995).

PRUEBA DEL RADICAL ABTS

Para el análisis de la prueba ABTS, el catión radical ABTS, se disolvió en agua a una concentración de 7 mM, posterior a eso se hizo reaccionar con potasio persulfato (K₂S₂O₈) para obtener una concentración final de 2,45mM, posteriormente a eso se mezcló y se dejó reaccionar estequiométricamente en oscuridad a temperatura ambiente durante 16h, después se diluyó con etanol puro hasta obtener una absorbancia de 0.70± 0.02 con una longitud de onda de 734 nm a una temperatura de 30°C.

La curva de calibración se realizó con el estándar de Trolox, para esto en tubos de ensayo se adicionaron de 0 a 15 mM de dicho estándar y posteriormente se colocó 1 mL de ABTS previamente diluido, la lectura de la absorbancia fue tomada en 30°C, en los tiempos exactos de 1 min después de la mezcla inicial y hasta 6 min. Espacios en blanco disolvente apropiado se llevaron a cabo en cada ensayo por triplicado.

Las muestras fueron preparadas diluyendo 0.1 gramos de biomasa seca de la muestra en 10 mL de etanol (C₂H₆O) puro del cual después de filtrado se tomó una alícuota de 1 mL, posterior a eso se le adicionó 1 mL de ABTS diluido a una temperatura de 30°C, después de 1 y 6 min de la mezcla inicial fue medida la absorbancia a 734 nm. Muestras testigo con disolvente apropiado se llevaron a cabo en cada ensayo.

PRUEBA DEL RADICAL DPPH

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método del radical libre DPPH, como lo describen Liu *et al.* (2009) y Kubola y Siriamornpun (2008). Dicho radical tiene un electrón desapareado y presenta un color azul-violeta el cual cambia a amarillo pálido en presencia de una sustancia antioxidante, se midió ésta reacción en un espectrofotómetro a una absorbancia 517 nm. Se preparó una solución metabólica de DPPH 0.1 mM. La absorbancia inicial del DPPH en metanol al 80% se midió a una absorbancia de 517 nm y no hubo cambios durante el ensayo con las muestras. Se construyó gráficamente una curva patrón a partir de la medición de la absorbancia del radical DPPH a diferentes concentraciones DPPH (0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02, 0.01 y 0 milimolar [mM]), después, una alícuota de 0.5 mL de cada tratamiento y se agregó a 1.5 mL de solución metanólica con DPPH. La reacción fue medida a 517 nm después de una incubación por 30 minutos a 30°C en oscuridad. A partir de la ecuación de la curva se determinó la concentración a la cual se redujo el DPPH. Las mediciones fueron llevadas a cabo por triplicado. El porcentaje de DPPH inhibido (%DPPH) se calculó usando la ecuación:

$$\text{Porcentaje DPPH inhibido} = (A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) \times 100 / A_{\text{control}}$$

donde A control es la absorbancia del control, y A muestra es la absorbancia de la muestra. Los valores de CI₅₀ se calcularon graficando el porcentaje de inhibición y las concentraciones de los tratamientos. Este valor denota la concentración de un tratamiento requerida para inhibir la concentración del inicial del DPPH a 50% a una absorbancia de 517 nm.

Generalmente la capacidad antioxidante es determinada al menos por dos ensayos para establecer la autenticidad de del experimento y ésta depende del tipo de sustancias antioxidantes presentes, es decir, la cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos, entre otros, presentes en las plantas.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Concentración de flavonoides, peso de materia seca, y concentración de flavonoides por planta en tratamientos de diferentes potenciales osmóticos.

Se observaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en la concentración de flavonoides (CF) de frutos, las cuales fueron ocasionadas por efecto del estrés salino de la solución nutritiva (SN) (Cuadro 15). Los tratamientos con un PO por debajo de -0.027 MPa aumentaron la concentración de flavonoides a medida que incrementó el estrés osmótico, ocasionando diferencias significativas con respecto al testigo. Además, se observó que la CF presenta variaciones a lo largo del su ciclo de cosecha (Cuadro 16), lo cual se vio reflejado en las diferencias de concentración de flavonoides en cada fecha de muestreo. El rendimiento medido en peso de materia seca (MS) también fue diferente en las distintas fechas de muestreo, y como consecuencia, el rendimiento por planta de flavonoides es diferente de acuerdo a la época de muestreo como se mencionó anteriormente (Cuadro 16). La concentración entre flavonoides por planta y el rendimiento no mostraron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 15).

Ramakrishna y Ravishankar (2011) mencionan que el contenido de flavonoides puede variar debido a diferencias ambientales, tales como temperatura, humedad relativa, precipitación, radiación y salinidad; esta última causa deshidratación celular, que provoca estrés osmótico y eliminación de agua desde el citoplasma, lo cual resulta en reducción de los volúmenes citosólicos y vacuolares. El estrés salino a menudo ocasiona estrés iónico y osmótico en plantas, los cuales son factores que afectan la acumulación de dichos metabolitos, esto coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde se observa que el contenido de flavonoides se incrementa en condiciones de estrés por salinidad (Cuadro 15).

Al respecto, Ali y Abbas (2003) reportan que en cebada (*Hordeum vulgare* L.) la concentración de flavonoides es mayor cuando se produce bajo estrés salino. Por su parte, Chutipaijit *et al.* (2009) reportan incremento en la concentración de flavonoides en variedades de arroz resistente a salinidad, lo cual también coincide con lo observado en este estudio puesto que la CF aumento en los tratamientos de estrés osmótico mostrando diferencias significativas ($P < 0.05$). Lo cual sugiere que la producción de MS está influenciado por una dinámica de producción de las plantas y la CF está influenciado por factores ambientales tales como temperatura, humedad relativa y radiación.

Por otro lado la acumulación de flavonoides es influenciada por estrés hídrico. En el Cuadro 15 se puede observar que al disminuir el contenido de agua la CF se incrementa y presenta diferencias estadísticas significativas, también se puede observar como la MS influye en la concentración de flavonoides por planta (CFP). Ramakrishna y Ravishankar (2011) mencionan que la sequia a menudo, causa el estrés oxidativo y que bajo ésta condición, las cantidades de flavonoides y ácidos fenólicos se incrementan en hojas de sauce, también mencionan que un cultivar púrpura de chile resiste mejor el estrés hídrico que uno verde, debido a que los flavonoides tiene funciones protectoras durante estrés por sequía. Gill y Tuteja (2010) mencionan que muchos flavonoides se inducen en condiciones de estrés por sequía y deficiencia de nutrientes.

Cuadro 13. Concentración de flavonoides totales en tratamientos de estrés por salinidad e hídrico.

Tratamientos	CF mg g ⁻¹ MS	MS g planta ¹	CFP g planta ¹
Estrés salino			
Testigo	37.82b	11.05a	417.91a
PO1	48.29a	9.82a	442.33a
PO2	45.41a	10.73a	487.25a
D.M.S	7.19	2.03	112.80
Estrés hídrico			
Testigo	37.82b	11.05a	418.13a
H1	41.55a	10.12a	420.49a
H2	43.52a	4.90b	158.23b
D.M.S	2.81	5.71	214.92

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey=0.05) Testigo: -0.027 MPa y 100% de la demanda diaria de agua; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 Mpa; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua; D.M.S.: diferencia mínima significativa.

Cuadro 14. Concentración de flavonoides totales en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.

Muestreo	MS mg g ⁻¹ MS	CFP g planta ¹	CFP g planta ¹
1	42.61b	2.39b	101.84b
2	39.08b	1.65c	64.48c
3	39.03b	3.73a	145.58a
4	62.25a	1.20c	74.70bc
5	36.21b	1.55c	56.13c
D.M.S	10.87	0.62	34.12

Medias con la misma letra en cada columna y son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$); D.M.S.: diferencia mínima significativa.

3.3.2. Concentración de compuestos fenólicos totales, peso de materia seca, y concentración de compuestos fenólicos totales por planta en tratamientos con diferente potencial osmótico de la SN.

Se observaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) para las variables concentración de compuestos fenólicos por gramo de materia seca (CFT) de fruto de arándano por efecto del estrés salino de la solución nutritiva (SN) (Cuadro 17). Los tratamientos con un PO por debajo de -0.027 MPa aumentaron la concentración de flavonoides a medida que fue incrementado el estrés osmótico y, fueron estadísticamente diferentes al tratamiento testigo y entre ellos. También se encontró que la CFT tiene variaciones por la época de muestreo y, que el rendimiento medido como peso de materia seca (MS) es diferente en los tiempos de muestreo y, como consecuencia, el rendimiento por planta de la concentración de compuestos fenólicos totales es diferente de acuerdo a la época de muestreo (Cuadro 18).

La concentración de compuestos fenólicos totales por planta (CFTP) mostró diferencias significativas entre tratamientos, la CFT y el MS variaron de acuerdo a la época de muestreo, incidiendo sobre CFTP (Cuadro 18). Se puede suponer que la producción de MS está influenciada por una dinámica de producción de las plantas y la CF está influenciado por factores ambientales tales como temperatura, humedad relativa y radiación.

La baja disponibilidad de agua en el ambiente debido a la sequía, provoca cambios en el metabolismo, estos cambios en las plantas, pueden incrementar la concentración de ácido shikímico, compuesto involucrado en la ruta del ácido shikímico, que es la ruta de síntesis de compuestos fenólicos (Kaplan *et al.*, 2004). Así mismo, niveles moderados de salinidad en plantas chile, han demostrado incrementos en el contenido de compuestos fenólicos totales (Navarro *et al.*, 2006).

Cuadro 15. Concentración de fenoles totales en tratamientos de estrés por salinidad e hídrico.

Tratamientos	CFT mg g ⁻¹	MS g planta ⁻¹	CFTP mg planta ⁻¹
Estrés salino			
Testigo	292.16c	11.05a	3228.36b
PO1	394.39b	9.82a	3872.91b
PO2	491.50a	10.73a	5273.79a
D.M.S	86.72	2.03	1206.8
Estrés hídrico			
Testigo	292.15a	11.05a	3228.26a
H1	327.40a	10.12a	3313.28a
H2	295.03a	4.90b	1445.50b
D.M.S	133.36	5.71	1377.87

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$) Testigo: -0.027 MPa y 100% de la demanda diaria de agua; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 Mpa; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua.

Cuadro 16. Concentración de fenoles totales en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.

Muestreo	CFT mg g ⁻¹	MS g planta ⁻¹	CFTP mg planta ⁻¹
1	353.27b	2.39b	844.32b
2	330.09b	1.65c	544.65bc
3	346.75b	3.73a	1293.38a
4	633.86a	1.20c	760.64b
5	299.43b	1.55c	464.12c
D.M.S	131.16	0.62	364.99

Medias con la misma letra en cada columna y son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa.

La acumulación de compuestos fenólicos totales es influenciada en condiciones de sequía. En el Cuadro 17 se puede observar que al disminuir el contenido de agua la CFT se incrementa y en el caso del tratamiento H2 presenta diferencias estadísticas significativas, también se puede observar como la MS influye en la CFTP, de tal forma que la disminución del rendimiento por planta de materia seca afecta en el tratamiento más severo de sequía. Ramakrishna y Ravishankar (2011) menciona que la sequia a menudo, causa el estrés oxidativo y que bajo ésta condición, las cantidades de ácidos fenólicos se incrementan en hojas de sauce.

Petridis *et al.* (2012) encontraron en cuatro cultivos de olivo (*Olea europaea* L.) que al disminuir del 100% de la demanda diaria de agua a 66% el contenido total de compuestos fenólicos no se ve afectado significativamente en comparación que cuando se disminuye al 33%, de la misma forma que se encontró en el experimento el contenido de compuestos fenólicos totales por gramo de materia seca el contenido solo es afectado en el tratamiento en el que se disminuyó al 33%.

3.3.3. Capacidad antioxidante

En tratamientos de salinidad, la capacidad antioxidante medida por el método DPPH, el tratamiento PO2 presentó mayor capacidad antioxidante en comparación con el testigo y PO1 (Cuadro 19). En cuanto a los resultados obtenidos por la técnica de DPPH en tratamientos de estrés salino, se observó una relación directamente proporcional entre el aumento de la capacidad antioxidante y el aumento del estrés producido por salinidad, es decir, la capacidad antioxidante aumentó a medida que aumentó la intensidad del estrés (Cuadro 19). Con respecto al potencial antioxidante medido a través del radical ABTS no se encontraron diferencias estadísticas significativas en tratamientos de salinidad, lo cual indica que el potencial antioxidante de los extractos obtenidos no son diferentes entre tratamientos, además de depender de las concentraciones de metabolitos que presentan, también depende de la especie reactiva contra la que es probada (Cuadro 20).

Se detectaron diferencias significativas entre tratamientos por salinidad para las fechas de muestreo (Cuadro 21). Para la capacidad antioxidante en tratamientos de estrés hídrico, se observa la misma tendencia que en tratamientos de salinidad, determinada por el método de DPPH, es decir, a medida que se incrementa la condición de estrés, la capacidad antioxidante también aumenta (Cuadro 21). Esto coincide con lo encontrado por Petridis *et al.* (2012), quienes encontraron que en el cultivo de olivo (*Olea europaea* L.) al disminuir el suministro de la demanda diaria de agua total al 66 y 33%, la capacidad antioxidante se ve afectada positiva y significativamente.

Para el caso de la capacidad antioxidante, cuantificada a través del método ABTS, no se observaron diferencias significativas, tratamiento H2 mostró el mayor porcentaje de inhibición del radical (Cuadro 20).

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química ideal para la eliminación de radicales libres, debido a su alta reactividad como donantes de hidrógeno o de electrones, de la capacidad de estabilizar y deslocalizar el electrón no apareado y, de su capacidad de quelatar la transición de iones metálicos (Rice-Evans *et al.*, 1997), por lo cual es lógico pensar que plantas que tienen altos contenidos de compuestos fenólicos también van a tener una alta capacidad antioxidante. Otro mecanismo subyacente a las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos es la capacidad de los flavonoides de alterar la cinética de peroxidación por modificación del lípido para embalaje y para disminuir la fluidez de las membranas (Arora *et al.*, 2000). Finalmente cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios, lo cual en algunos casos explica porque la capacidad antioxidante varía de acuerdo el método de evaluación.

RADICAL DPPH

Cuadro 17. Inhibición del radical DPPH en tratamientos de estrés salino e hídrico.

Tratamiento	Concentración inhibitoria 50 [CI50] (mg mL ⁻¹)
Estrés salino	
Testigo	1.20b
PO1	0.64b
PO2	2.52a
D.M.S.	0.76
Estrés hídrico	
Testigo	1.20b
H1	1.62b
H2	2.53a
D.M.S.	0.61

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$) Testigo: -0.027 Mpa y 100% de la demanda diaria de agua; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua.

RADICAL ABTS

Cuadro 18. Inhibición del radical ABTS en tratamientos de estrés salino e hídrico.

Tratamiento	Contenido Equivalente trolox mg g ⁻¹ BSF
Estrés salino	
Testigo	2.52a
PO1	3.28a
PO2	2.65a
D.M.S.	1.25
Estrés hídrico	
Testigo	2.53a
H1	2.64a
H2	2.77a
D.M.S.	0.67

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha= 0.05$) Testigo: -0.027 MPa y 100% de la demanda diaria de agua; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua.

Cuadro 19. Inhibición del radical ABTS en tratamientos de estrés por salinidad en diferentes fechas de muestreo.

Muestreo	Contenido Equivalente trolox mg g-1 BSF
1	2.37b
2	2.07b
3	3.37b
4	5.02a
5	2.26b
D.M.S.	1.96

Medias con la misma letra en cada columna y son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$); CV: coeficiente de variación; D.M.S.: diferencia mínima significativa;

La producción de flavonoides y otros antioxidantes son respuesta al estrés, debido al incremento de la concentración de radicales libres, lo que dispara un incremento en el estrés oxidativo y por ende el mecanismo de defensa es el incremento en la concentración de ácido shikímico el cual es precursor de la producción de los compuestos fenólicos como antioxidantes.

3.4. Conclusiones

La respuesta de la planta de arándano a la producción de compuestos bioactivos, flavonoides y fenoles totales aumentó, conforme se incrementó el nivel de estrés al que es sometida la planta.

En los tratamientos con estrés salino la concentración de compuestos bioactivos dependió de la época de cosecha del fruto.

La producción de compuestos bioactivos en frutos de arándano es inversamente proporcional al porcentaje de humedad aprovechable y potencial osmótico de la solución nutritiva.

La capacidad antioxidante en frutos de arándano es dependiente del método con que es analizado, sin embargo, tiende a incrementarse conforme aumenta el estrés.

Literatura

Ali, R.M. and Abbas, H.M. 2003. Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea. *Plant Soil Environ.* 49:158-62.

Arora A, Byrem T.M., Nair M.G., and Strasburg G.M. 2000. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 373:102-109.

Chutipaijit, S., Cha-Um, S., and Sompornpailin, K. 2009. Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. *Pak J Bot.* 41:2497-2506.

Gill, S. S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* 48: 909-930.

Johnson, A.E., R.J. Molyneux and G.B. Merrill. 1985. Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. *J. Agric. Food Chem.* 33:50-55.

Navarro, JM, Flores P, G.C. and Martinez, V. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem.* 96:66-73.

Makkar, H.P.S., R.K. Dawra and B. Singh. 1988. Changes in tannin content, polymerization and protein precipitation capacity in oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. *J. Sci. Food Agric.*, 44:301-307.

Munns, R. 2002. "Comparative physiology of salt and water stress", *Plant, Cell and Environment*, 25:239-250.

- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S., and Giannakoula, A.** 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 60:1-11.
- Price, M.L., A.M. Stromberg and L.G. Butler.** 1979. Tannin content as a function of grain maturity and drying conditions in several varieties of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *J. Agric. Food Chem.* 27:1270-1274.
- Ramos, G., Frutos, P., Mantecón, Á. R., y García, F. J. G.** 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de zootecnia*. 47:1
- Ramakrishna, A., and Ravishankar, G. A.** 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6:1720-1731.
- Rhoades, D.F.** 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: G.A. Rosenthal and D.H. Janzen (Ed.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites* pp: 3-54. Academic Press, New York.
- Sinelli N., Spinardi A., Di Egidio V., Mignani I. and Casiraghi E.** 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*. 50:31-36.
- Spiers J. M., S. J. Stringer, A. D. Draper, C.L. Gupton.** 2002 'Biloxi' Southern Highbush Blueberry. *Acta Hort.* 574:153-155.
- Steiner, A.A.** 1984. The universal nutrient solution. pp. 633-650. In: *Proceedings 6th International Congress on Soils Culture*. Wageningen, The Netherlands.
- Szajdek, A. and E. J. Borowska.** 2008. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*. 63:147–156.
- Woisky, R. and Salatino, A.** 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Apic. Res.* 37:99-105.

CAPÍTULO IV.

ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO EN LA NUTRICIÓN DE ARÁNDANO

Se ha escrito bastante respecto al efecto sobre el déficit hídrico y salino en la agricultura, sin embargo, para el arándano las referencias son escasas, se sabe que el déficit hídrico y la salinidad son factores ambientales que inciden negativamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas, afectando la productividad agrícola y el rendimiento. Por lo que el objetivo del presente experimento fue evaluar el efecto del déficit hídrico y salino en el rendimiento, concentración de cationes, aniones y con ello se elaboró el índice de extracción nutrimental en raíz, tallo, hojas y fruta en plantas de arándano de un año de edad, en un sistema hidropónico, utilizando tezontle como sustrato y la solución nutritiva universal de Steiner (1984) modificada. El tratamiento testigo recibió el 100% de la demanda diaria de agua y un potencial osmótico (PO) de -0.027 MPa. El tratamiento salino se midió en dos niveles de PO: -0.041 y -0.054 MPa, ambos con el 100% de la demanda diaria de agua. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66% (H1) y 33% (H2) de la demanda diaria de agua, ambos con un PO de -0.027 MPa. No se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) para tratamientos de salinidad en concentración en raíz, tallo y hoja, más si se observaron diferencias significativas en fruto en la variable manganeso. Se encontraron diferencias significativas para tratamientos de estrés hídrico, en tallo se encontraron diferencias en las variables Mn y Cu, en hojas se encontraron diferencias para las variables Mg, Fe y Mn, en frutos se encontraron diferencias en la variable Fe. En el índice de extracción nutrimental en tratamientos de estrés salino no se encontraron diferencias significativas en raíz y tallo para ninguna variable analizada, más sí en hoja se observaron diferencias en Fe, Zn, Mn y B; en fruto se observaron diferencias significativas en Cu. En tratamientos de estrés hídrico se encontraron diferencias en raíz para las variables Fe y Cu, en tallo se encontraron diferencias significativas en todas las variables analizadas excepto Cu, en hoja se encontraron diferencias en K, Fe, Zn y B, en frutos se observaron diferencias en todas las variables analizadas excepto Zn.

Palabras clave: *Vaccinium corymbosum* L., déficit hídrico, concentración nutrimental, salinidad.

4.1. Introducción

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Biloxi) es una planta tetraploide, que pertenece a la familia de las Ericáceas creada en Florida, USA, denominada arbusto alto del sur, es una planta con alta demanda en el mundo y que ha cobrado gran importancia en México quien actualmente abarca el 2.41% de la producción total del mundo, dicha producción se ha incrementado en los últimos años (FAOSTAT, 2015). Sin embargo las amenazas que se enfrenta la productividad de éste y otros cultivos en todo el mundo son la sequía y la salinidad, los cuales son los principales tipos de estrés abiótico que limitan dramáticamente el crecimiento del cultivo y la productividad (Ahmed *et al.*, 2013).

Uno de las formas de amedrentar éste tipo de problemas es conociendo las relaciones entre la salinidad, sequía y la nutrición mineral de los cultivos puesto que se sabe que el manejo nutrimental balanceado ayuda en la obtención de mejores rendimientos, el conocimiento de la composición mineral de raíz, tallo, follaje y fruto y su interacción en condiciones de estrés (hídrico y salino) es un apoyo importante en la determinación de la causa de las diferencias en el crecimiento de plantas, dichas relaciones son extremadamente complejas y una comprensión completa de las interacciones complejas implicadas requeriría la colaboración de un equipo multidisciplinario de científicos (Grattan y Grieve, 1999).

Es razonable creer que numerosas interacciones de la salinidad en los nutrientes se producen simultáneamente, pero si en última instancia, afectan el rendimiento del cultivo y la calidad, la cual depende del nivel de salinidad, composición de sales, la respuesta del cultivo, el nutriente en cuestión y una serie de factores ambientales, el rendimiento a su vez puede verse afectado negativamente por trastornos nutricionales inducida por la salinidad, los cuales pueden resultar del efecto de la salinidad sobre la disponibilidad de nutrientes, la absorción competitiva, el transporte y/o de la distribución dentro de la planta. La salinidad también puede causar una combinación de interacciones complejas que

afectan el metabolismo de la planta, la susceptibilidad a las lesiones o el requerimiento interno de nutrientes (Grattan y Grieve, 1999).

Con respecto a lo anterior, se sabe que el arándano se desarrolla normalmente en condiciones de suelos ácidos, donde los niveles de macronutrientes se mantienen bajos, en general ésta especie requiere de poca fertilidad, siendo sensible a excesos de sales, por lo que el estudio nutrimental en condiciones de estrés de los diferentes órganos de la planta ayudaría en la comprensión y el manejo de una adecuada fertilidad con el fin de incrementar los rendimientos de la planta.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Área de estudio

El experimento se desarrolló en un invernadero tipo baticenital, ubicado en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en el municipio de Texcoco, Estado de México (19° 29' N, 98° 54' O, y 2250 m de altitud).

4.2.2. Material vegetal y sustrato

Se utilizaron plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L cv. Biloxi), de un año de edad, las cuales fueron plantadas en tezontle, tamizado con una malla de 1 cm², en bolsas de plástico con capacidad de 20 L.

4.2.3. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue bloques completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, con un total de 20 unidades experimentales, cada unidad experimental lo constituyeron tres plantas. Plantas de arándano fueron sometidas a dos tratamientos de estrés osmótico: hídrico y salino.

El agua utilizada se obtuvo del sistema de captación de agua de lluvia del Colegio de postgraduados, con una conductividad eléctrica (CE) de 0.01 dS m^{-1} . El tratamiento testigo recibió una cantidad de agua de acuerdo a la demanda diaria (100% hasta drenaje) y un potencial osmótico de -0.027 MPa de acuerdo con Steiner (1984), el tratamiento salino se evaluó en dos niveles: -0.041 MPa y -0.054 MPa con el 100% de humedad hasta drenaje. El tratamiento de estrés hídrico se evaluó en dos niveles: 66% y 33% de humedad con relación al 100% de la demanda diaria y con un potencial osmótico de -0.027 MPa en ambos casos.

4.2.4. Variables de respuesta

Para la obtención del peso de materia en seco, los frutos fueron secados en una estufa con recirculación de aire forzado a $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante una semana hasta alcanzar peso constante. Posteriormente se pesaron y el resultado fue expresado en gramos de materia seca por planta.

Las hojas se cosecharon en la etapa vegetativa, reproductiva y al final del experimento, para obtener peso fresco y seco de este órgano. Para la obtención del peso seco, las hojas fueron secadas en una estufa con recirculación de aire forzado a $70^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante una semana. Posteriormente pesaron y el resultado fue expresado en gramos de materia seca por planta. Para finalizar el material vegetal se molió y almacenó en frascos a 5°C para análisis posteriores. Las raíces y tallos fueron analizados al final del ciclo con el mismo procedimiento que se usó en hojas.

4.2.3. Variables

Las variables de respuesta fueron peso seco de frutos, concentración de macronutrientes. Se evaluaron la concentración nutrimental de algunos elementos (N total, P, K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , B, Mn, Cu, Mo y Zn^{++}) en raíz, tallo, hoja y frutos.

Las hojas de arándano se lavaron cuidadosamente con agua destilada, se retiró el exceso de agua con papel absorbente y posteriormente fueron etiquetadas y colocadas en bolsas de papel y se llevaron a una estufa con circulación de aire forzado a 70° C, hasta que estas alcanzaron un peso constante (aproximadamente 48 horas), se molieron y colocaron en frascos ámbar de 10 mL, el análisis nutrimental de raíz, tallo, hoja y fruto se realizó vía digestión húmeda y se analizó la concentración nutrimental en un espectrómetro de emisión atómica (AES-ICP) marca Varian®, cada muestra se analizó por cuadruplicado.

4.2.5. Análisis de datos

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9 (SAS Institute, 1999).

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Rendimiento, concentración nutrimental e índice de extracción en tratamientos bajo estrés hídrico y salino.

En el Cuadro 22 y 23 se pueden observar los valores de la concentración nutrimental en raíz, tallo, hoja y fruto en tratamientos de estrés salino e hídrico y el índice de extracción nutrimental se pueden observar en el Cuadro 24 y 25 para los tratamientos de estrés salino e hídrico.

El efecto que tiene la salinidad y la sequía en la acumulación de nutrientes puede ser respondido de dos formas una por la absorción nutrimental y por la competencia entre cationes y aniones, la habilidad de las plantas para obtener tanto el agua como los nutrientes minerales del suelo está relacionada con su capacidad para desarrollar un vasto sistema radicular (Barber, 1962), algunos investigadores sostienen que los nutrientes se absorben sólo en las regiones apicales de las raíces

principales o laterales (Bar-Yosef *et al.*, 1972), otros afirman que los nutrientes se absorben a lo largo de toda la superficie radicular (Nye y Tinker, 1977; Greenwood, 1982), independientemente de la forma en que se absorban, los nutrientes pueden moverse hacia la superficie de la raíz bien por flujo masivo o por difusión o bien las raíces pueden interceptar a los nutrientes (Barber, 1962). En el flujo masivo, los nutrientes son transportados por el movimiento del agua del suelo hacia la raíz. La cantidad de nutrientes que llegan a la raíz por el flujo masivo depende de la velocidad del flujo del agua del suelo a la planta, la cual depende de la velocidad de transpiración, y de la cantidad de nutrientes presentes en la solución del suelo.

Con respecto a lo anterior la sequía y la salinidad ocasionan deshidratación celular (Munns, 2002) y en el caso de la salinidad causa un estrés hiperionico e hiperosmótico, ocasionando problemas para la asimilación de nutrientes, en el caso de la sequía afecta principalmente la absorción por flujo masivo, de allí que en el experimento se hayan encontrado diferencias en algunas de las variables encontradas, por flujo de masas los nutrientes que se mueven con el agua son, N en forma de NO_3^- , S en forma de SO_4^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} , B en forma H_3BO_3 , Mn en forma de Mn_2O_3 , Mo en forma de MoO_4^{2-} y la cantidad que puede entrar en éste proceso es la concentración del elemento en la solución y el volumen de agua absorbida por el cultivo, en el caso de la difusión El elemento camina distancias cortas en una fase acuosa estacionaria, yendo de una mayor concentración a una menor concentración en la superficie de la raíz, a través de gradientes de concentración en la solución del suelo PO_4 , Zn^{+2} , K^+ , Fe^{+2} , para lo cual depende en gran medida de la transpiración de la planta de ahí que en condiciones de estrés la planta invierta una mayor energía en la adquisición de éstos elementos, cuando se presentan las condiciones de salinidad y sequía la concentración de elementos se ve afectada de tal forma que es más difícil a la planta absorber los elementos por difusión puesto que los nutrientes minerales se mueven de una región de alta concentración de nutrientes a otra región en la que la concentración es más baja. La concentración de nutrientes en la superficie de la raíz es muy baja, lo que genera un gradiente de concentración entre la solución del sustrato y la raíz.

En reportes con respecto al efecto del estrés osmótico en arroz crecido bajo condiciones de salinidad según Moradi e Ismail (2007) y en cultivares de trigo Sharma *et al.*, (2005), reportan que cultivares tolerantes y susceptibles de salinidad siguen diferentes estrategias de adaptación, por lo que indican que un cultivar sensible presentó menor concentración de Na⁺ en raíz lo que involucra un mecanismo de exclusión de Na⁺, mientras que especies tolerantes se comporta como acumuladora de este ión, en este sentido, las plantas de arándano manejadas en el experimentos serían cultivares tolerantes puesto que la acumulación de Na⁺ en raíz son altas. En estudios en frijol Meiri *et al.*, (1971) y Cachorro *et al.*, (1993) encontraron que en condiciones salinas las concentraciones de K⁺ aumentaron en el extracto de hoja, lo cual coincide con lo encontrado en el experimento puesto que en raíz, tallo, hoja y fruto la concentración de K⁺ se incrementó conforme se fue incrementando el estrés salino.

Tester & Davenport (2003) señalan que la intensidad con que cada condición de estrés afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que depende de varios factores, entre los cuales se incluye la especie, el cultivar, el estado fenológico, los tipos de sales solubles, la intensidad y duración del estrés y las condiciones edafoclimáticas. Aitazaz *et al.* (2012) mencionan que el riego incidió en la concentración de N, Ca y Mg en las hojas y la interacción, método de riego y fertilización afectó la concentración foliar de P, pero no a los micronutrientes. Gonzáles (2013) menciona que una de las causas del abatimiento de las plantas en los suelos salinizados, es la absorción y acumulación de un exceso de iones hidrofílicos osmóticamente activos en las células vegetales, esto provoca un cambio apreciable en la homeostasis iónico-osmótica y en el régimen acuoso del citoplasma, lo que a su vez induce una serie de desarreglos en el metabolismo de la planta, que inevitablemente debilita la intensidad de todas las reacciones de síntesis, y que se manifiestan en la reducción del crecimiento, la formación de biomasa y el rendimiento.

Todo lo anterior sustenta los resultados encontrados en el experimento, no se encontraron evidencias entre tratamientos para raíz y tallo que avalen que el índice de extracción nutrimental en tratamientos de salinidad sea diferente, más si se encontraron diferencias en hoja en las variables Fe, Zn y B entre el testigo y los tratamientos de salinidad, y en la variable Mn entre el tratamiento testigo y PO₂, también se encontraron diferencias en fruto en la variable Cu entre el testigo y PO₂.

En cuanto al índice de extracción nutrimental en estrés hídrico, se encontraron diferencias en raíz para las variables Fe y Cu entre el testigo y H₂, en tallo se encontraron diferencias en todas las variables analizadas excepto Cu que avalan la diferencia entre el testigo y H₂, en hoja se encontraron diferencias entre el testigo y los tratamientos de estrés hídrico para las variables Fe, Zn y Mn, y también entre el testigo y H₂ para las variables K y B. En fruto se encontraron diferencias en todas las variables analizadas excepto Zn entre el tratamiento testigo y H₂.

Cuadro 20. Concentración nutrimental y rendimiento en condiciones de estrés salino.

Tratamiento	MS	N	P	K	Ca	Mg	Fe	B	Zn	Cu	Mn	Na	
			mg g ⁻¹ MS.					mg Kg ⁻¹ MS.					
			Raíz										
Testigo	18.45a	ND	1.37a	1.33a	12.62a	10.87a	10593.08a	19.85a	62.61a	86.10a	536.57a	2443.24a	
PO1	11.38b	ND	1.76a	1.36a	12.56a	11.06a	12190.70a	20.97a	70.73a	119.58a	632.58a	2531.53a	
PO2	16.03ab	ND	1.4a	1.39a	12.79a	14.29a	13789.10a	16.85a	82.23a	97.29a	623.66a	3338.56a	
D.M.S	4.97	-	0.72	0.70	9.14	5.82	3988.15	10.19	36.05	45.74	149.63	1632.37	
			Tallo										
Testigo	17.55a	ND	0.83a	3.42a	6.87a	1.25a	363.62a	32.44a	29.23a	74.03a	766.25a	629.50a	
PO1	14.25a	ND	0.99a	3.45a	7.67a	1.66a	492.83a	34.73a	27.77a	86.69a	817.06a	686.35a	
PO2	13.78a	ND	0.93a	4.70a	6.92a	1.26a	323.55a	36.90a	30.18a	54.85a	639.95a	748.47a	
D.M.S	5.75	-	0.29	1.71	1.78	0.55	456.13	6.22	13.68	37.84	223.37	489.73	
			Hoja										
Testigo	7.67a	ND	0.51a	4.19a	3.28a	0.78a	100.50a	88.38a	15.39a	2.22a	338.20a	503.54a	
PO1	5.48ab	ND	0.53a	5.43a	3.62a	0.88a	67.19a	79.34a	6.87a	3.42a	388.37a	384.83a	
PO2	5.03b	ND	0.57a	5.85a	4.10a	0.89a	77.51a	75.59a	8.38a	1.87a	359.08a	496.58a	
D.M.S	2.37	-	0.17	2.72	1.03	0.40	47.81	35.01	4.30	2.42	128.65	291.66	
			Fruto										
Testigo	24.52a	10.13a	0.73a	1.85a	0.88a	0.60a	35.72a	13.24a	6.18a	2.24a	36.10b	ND	
PO1	18.09b	11.87a	0.89a	2.59a	1.12a	0.66a	46.14a	14.99a	5.55a	2.35a	59.26a	ND	
PO2	20.70ab	11.59a	0.77a	2.46a	1.15a	0.67a	49.48a	12.82a	4.09a	3.18a	52.41a	ND	
D.M.S	4.41	2.21	0.25	0.83	0.48	0.08	19.62	2.36	9.88	0.90	10.30	-	

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$) Testigo: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; ND: Datos no disponibles; D.M.S: diferencia mínima significativa.

Cuadro 21. Concentración nutrimental y rendimiento en condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	MS	N	P	K	Ca	Mg	Fe	B	Zn	Cu	Mn	Na
	mg g ⁻¹ MS.						mg Kg ⁻¹ MS.					
	Raíz											
Testigo	18.45a	N.D.	1.37a	1.33a	12.62a	10.87ab	10593.08a	19.85a	62.61a	86.10b	536.58a	2443.25a
H1	16.63ab	N.D.	1.38a	1.62a	13.33a	12.98a	11198.21a	16.24a	85.74a	112.51a	539.03a	2530.60a
H2	12.93b	N.D.	1.45a	2.00a	10.42a	8.85b	7109.13a	20.95a	59.84a	59.62c	491.42a	2126.27a
D.M.S	5.50	-	0.34	1.27	8.16	2.61	5192.80	4.71	35.12	25.11	59.65	929.44
	Tallo											
Testigo	17.55a	N.D.	0.83a	3.42a	6.87b	1.25b	363.62a	32.44a	29.23a	74.03b	766.25a	629.50a
H1	14.80a	N.D.	1.01a	4.62a	8.76a	1.80a	701.33a	41.26a	34.46a	126.68a	644.04ab	836.34a
H2	7.90b	N.D.	0.93a	3.28a	7.04ab	1.46ab	304.55a	35.17a	33.38a	119.27a	411.32b	705.64a
D.M.S	5.58	-	0.24	1.37	1.88	0.56	424.40	12.80	13.89	45.20	271.53	424.40
	Hoja											
Testigo	7.67a	N.D.	0.51a	4.19a	3.28a	0.78b	100.50a	88.38a	15.39a	2.22a	338.20a	503.54a
H1	7.00ab	N.D.	0.51a	5.07a	3.27a	0.95b	70.58ab	63.51a	7.26a	2.60a	208.38ab	537.57a
H2	3.40b	N.D.	0.50a	4.72a	4.09a	1.70a	55.85b	69.92a	8.18a	3.29a	177.51b	725.32a
D.M.S	2.96	-	0.23	1.29	1.43	0.55	48.06	37.35	13.89	3.68	107.87	334.13
	Fruto											
Testigo	24.52a	10.13a	0.73a	1.85a	0.88a	0.60a	35.72a	13.24a	6.18a	2.24a	36.10a	N.D.
H1	17.08b	9.14a	0.71a	1.92a	0.99a	0.65a	17.50ab	11.82a	9.12a	2.79a	34.95a	N.D.
H2	6.03c	9.72a	0.79a	1.93a	1.27a	0.76a	6.88b	17.97a	15.80a	2.72a	31.55a	N.D.
D.M.S	7.38	1.45	0.49	0.40	0.99	0.27	28.25	7.65	11.26	1.06	6.75	-

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$) Testigo: 100% de la demanda diaria de agua; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua; ND: Datos no disponibles; D.M.S: diferencia mínima significativa.

Cuadro 22. Extracción nutrimental en condiciones de estrés salino.

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg	Fe	B	Zn	Cu	Mn	Na
	g ⁻¹ planta					mg ⁻¹ planta					
	Raíz										
Testigo	ND	25.28a	24.54a	232.84a	200.55a	195442.33a	366.23a	1155.15a	1588.55a	9899.72a	45077.78a
PO1	ND	20.03a	15.48a	142.93a	125.86a	138730.17a	238.64a	804.91a	1360.82a	7198.76a	28808.81a
PO2	ND	22.44a	22.28a	205.02a	229.07a	221039.27a	270.11a	1318.15a	1559.56a	9997.27a	53517.12a
D.M.S	-	8.76	15.04	223.91	218.64	205271.00	223.27	1019.89	1170.80	4493.67	49602.00
	Tallo										
Testigo	ND	14.57a	60.02a	120.57a	21.94a	6381.53a	569.32a	512.99a	1299.23a	13447.69a	11047.73a
PO1	ND	14.11a	49.16a	109.30a	23.66a	7022.83a	494.90a	395.72a	1235.33a	11643.11a	9780.49a
PO2	ND	12.82a	64.77a	95.36a	17.36a	4458.52a	508.48a	415.88a	755.83a	8818.51a	10313.92a
D.M.S	-	5.60	41.32	84.74	20.62	8565.30	365.67	366.09	594.94	8115.10	11402.00
	Hoja										
Testigo	ND	3.91a	32.14a	25.16a	5.98a	770.84a	677.87a	118.04a	17.03a	2593.99a	3862.15a
PO1	ND	2.90a	29.76a	19.84a	4.82a	368.20b	434.78b	37.65b	18.74a	2128.27a	2108.87a
PO2	ND	2.87a	29.43a	20.62a	4.48a	389.88b	380.22b	42.15b	9.41a	1806.17b	2497.80a
D.M.S	-	1.87	11.44	9.69	4.34	155.22	193.25	54.59	10.10	1037.38	1838.35
	Fruto										
Testigo	248.39a	17.90a	45.36a	21.58a	14.71a	875.85a	324.64a	151.53a	54.92b	885.17a	ND
PO1	214.73a	16.10a	46.85a	20.26a	11.94a	834.67a	271.17a	100.40a	42.51c	1072.01a	ND
PO2	239.91a	15.94a	50.92a	23.81a	13.87a	1024.24a	265.37a	84.66a	65.83a	1084.89a	ND
D.M.S	37.81	4.60	11.69	9.62	4.29	460.96	70.07	94.36	8.19	364.04	-

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$) Testigo: -0.027 MPa; PO1: -0.041 MPa; PO2: -0.054 MPa; ND: Datos no disponibles; D.M.S: diferencia mínima significativa.

Cuadro 23. Extracción nutrimental en condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg	Fe	B	Zn	Cu	Mn	Na
	g ⁻¹ planta						mg ⁻¹ planta				
	Raíz										
Testigo	ND	25.28a	24.54a	232.84a	200.55a	195442.33a	366.23a	1155.15ab	1588.55a	9899.90a	45077.96a
H1	ND	22.95a	26.94a	221.68a	215.86a	186226.23a	270.07a	1425.86a	1871.04a	8964.07a	42083.88a
H2	ND	18.75a	25.86a	134.73a	114.43b	91921.05b	270.88a	773.73b	770.89b	6354.06a	27492.67a
D.M.S	-	8.78	26.52	176.71	72.89	83127.00	256.65	428.72	390.08	4142.35	24214.00
	Tallo										
Testigo	ND	14.57a	60.02a	120.57a	21.94ab	6381.53ab	569.32ab	512.99a	1299.23a	13447.69a	11047.73a
H1	ND	14.95a	68.38a	129.65a	26.64a	10379.68a	610.65a	510.01a	1874.86a	9531.79a	12377.83a
H2	ND	7.35b	25.91b	55.62b	11.53b	2405.95b	277.84b	263.70a	942.23a	3249.43b	5574.56b
D.M.S	-	6.18	29.82	57.72	12.59	7243.50	324.46	364.87	1045.93	5054.10	5071.90
	Hoja										
Testigo	ND	3.91a	32.14ab	25.16a	5.98a	770.84a	677.87a	118.04a	17.03a	2593.99a	3862.15a
H1	ND	3.57a	35.49a	22.89a	6.65a	494.06b	444.57ab	50.82b	18.20a	1458.66b	3762.99a
H2	ND	1.70a	16.05b	13.91a	5.78a	189.89c	237.73b	27.81b	11.19a	603.53b	2466.09a
D.M.S	-	2.20	17.27	19.97	9.73	252.90	336.37	45.44	9.02	1301.40	1410.40
	Fruto										
Testigo	248.39a	17.90a	45.36a	21.58a	14.71a	875.85a	324.64a	151.53a	54.92a	885.17a	ND
H1	156.11b	12.13ab	32.79a	16.91ab	11.10ab	298.90ab	201.89b	155.77a	47.65b	596.95a	ND
H2	58.61c	4.76b	11.64b	7.66b	4.58b	41.49b	108.36b	95.27a	16.40c	190.25b	ND
D.M.S	80.34	9.64	16.21	9.75	7.10	628.49	167.03	182.09	29.58	312.78	-

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$) Testigo: 100% de la demanda diaria de agua; H1: 66% de la demanda diaria de agua; H2: 33% de la demanda diaria de agua; ND: Datos no disponibles; D.M.S: diferencia mínima significativa.

4.4. Conclusiones

Las plantas de arándano no presentan diferencias significativas en concentración nutrimental en raíz, tallo y hoja en tratamientos de salinidad, más si reduce la biomasa en raíz, tallo hoja y fruto, lo cual influye en el índice de extracción nutrimental de Fe, Zn, B y Mn en hoja y Cu en Fruto.

El efecto del estrés hídrico (33% de la dda) con respecto al testigo (100% de la dda) en plantas de arándano se manifestó en la concentración en tallo para las variables Mn, en hoja para las variables Fe, Mn y Mg. En fruto para la variable Fe. También se encontró que el estrés hídrico reduce la producción de materia seca y como resultado se encontraron diferencias en raíz para la variable Fe y Cu entre el testigo y H2, en tallo para todas las variables analizadas excepto Cu entre el testigo y H2, en hoja se encontraron diferencias entre el testigo y H2 para K y B y entre los tratamientos de salinidad con respecto al testigo para las variables Fe, Zn y Mn. En frutos la diferencia significativa fue más marcada entre el testigo y H2 para todas las variables analizadas excepto Zn.

Literatura

Ahmed, I. M., Dai, H., Zheng, W., Cao, F., Zhang, G., Sun, D., and Wu, F. 2013. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. *Plant Physiology and Biochemistry*. 63:49-60.

Aitazaz A. Farooque, A Farhat, U Qamar, Z AliMadani, D C Percival, M Arshad. 2012. Soil Nutrient Availability, Plant Nutrient Uptake, and Wild Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) Yield in Response to N-Viro Biosolids and Irrigation Applications. *Applied and Environmental Soil Science*. doi: 10.1155/2012/638984

Bar-Yosef, B., Kafkafi, U., and Bresler, E. 1972. Uptake of phosphorus by plants growing under field conditions. I. Theoretical model and experimental determination of its parameters. *Soil. Sci.*, 36:783-800

Barber, S. A. 1962. A diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. *Soil Science*, 93: 39-49.

Cachorro, P., Ortiz, A., and Cerdá, A., 1993. Growth, water relations and solute composition of *Phaseolus vulgaris* L. under saline conditions. *Plant Sci*. 95:23-29.

FAOSTAT. 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Base de datos. Disponible en <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Revisado en abril 2015.

González, L. M. 2013. Reseña bibliográfica aspectos generales sobre la tolerancia a la salinidad en las plantas cultivadas. *Cultivos tropicales*. 23:27-37.

Grattan, S. R., and Grieve, C. M. 1999. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 78:127-157.

Greenwood DJ. 1982. Modelling of crop response of nitrogen fertilizer. *Philos. Trans. R. Soc. Lon. [Biol]*, 296:351-362

Meiri, A., Kamburoff, J., and Poljakoff-Mayber, A. 1971. Response of bean plant to sodium chloride and sodium sulphate salinization. *Ann. Bot.* 35:837-847.

- Moradi, F. and Ismail, A. M.** 2007. "Responses of Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and ROS-Scavenging Systems to Salt Stress During Seedling and Reproductive Stages in Rice". *Annals of Botany*. 99:1161-1173.
- Munns, R.** 2002. "Comparative physiology of salt and water stress", *Plant, Cell and Environment*. 25:239-250.
- Nye, P.H., Tinker P.B.** 1977. Solute movement in the soil-root system. University of California Press, Berkeley, CA.
- SAS Institute.** 1999 SAS/STAT® User's Guide. Version 9.0 SAS Institute Inc., Cary, NC: pp: 209-243.
- Sharma, N., Gupta, N. K., Gupta, S., and Hasegawa, H.** 2005. "Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate, and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotypes". *Photosynthetica*. 43:609-613.
- Steiner, A.A.** 1984. The universal nutrient solution. pp. 633-650. In: *Proceedings 6th International Congress on Soils Culture*. Wageningen, The Netherlands.
- Tester M., Davenport R.** 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* 91:503-527.