

**ACUMULACIÓN DE DEHIDRINAS EN CHILES SERRANOS
(*Capsicum annuum* L.) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS
HÍDRICO**

DAGOBERTO FLORES MARÍN

TESIS

Presentada Como Requisito Parcial para
Obtener al Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Julio de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

ACUMULACIÓN DE DEHIDRINAS EN CHILES SERRANOS (*Capsicum
annuum* L.) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO

TESIS POR

DAGOBERTO FLORES MARÍN

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y
aprobada como requisito parcial, para optar al grado de

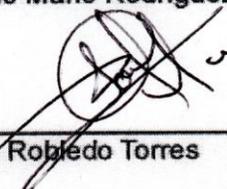
MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

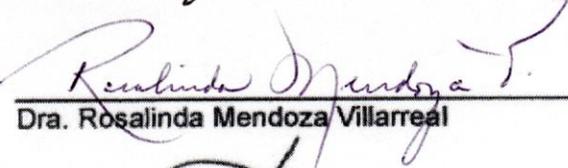
Asesor principal:


Dr. Edmundo Mario Rodríguez Campos

Asesor


Dr. Valentín Robledo Torres

Asesor


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor


M.C. Moisés Ramírez Meraz


Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Julio de 2013

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por ser el hogar en donde he pasado gran parte de mi vida fortaleciendo y desarrollándome profesionalmente

Al Dr. Edmundo Mario Rodríguez Campos por ser un buen mentor y compartir sus vastos conocimientos y experiencias, por haberme concedido el gusto de ampliar mis conocimientos, así como por su apoyo incondicional brindado durante mi formación y permitirme lograr el progreso profesional.

Al Dr. Valentín Robledo Torres por su apoyo y atención brindado durante mi permanencia en la Maestría.

A mis asesores: Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal; M.C. Moisés Ramírez Meraz, por su contribución en mi desarrollo académico así como las facilidades concedidas en el desarrollo de la presente investigación.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, Dr. Luis Alonso, Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo y todos los especialistas que formaron parte de mi desarrollo.

A mis amigos y compañeros Víctor Manuel Camacho Chávez, Alfredo Patichtan Moreno, Pedro Dajui Vixta, José de la Cruz Olivares, Gibran, Willian, Gloria Laura, Daily, Capula, Neymar, y los que faltan por mencionar.

DEDICATORIA

A mis padres Jesús Celso Flores Milán y María Marciana Marín Basurto, que dentro de sus alcances han hecho todo lo posible, por hacer de mi una mejor persona.

A mis hermanos: María, Gregorio, Lorenzo, por ser parte de mi inspiración para seguir fortaleciéndome.

A Shirley Lai Lan por los buenos momentos.

COMPENDIO

**ACUMULACIÓN DE DEHIDRINAS EN CHILES SERRANOS
(*Capsicum annuum* L.) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS
HÍDRICO**

POR

DAGOBERTO FLORES MARÍN

MAESTRO EN CIENCIAS

EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2013

Dr. Edmundo M. Rodríguez Campos.- Asesor

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., dehidrina, expresión genética, estrés hídrico.

En este estudio se compararon las variedades de chile serrano Tampiqueño 74

y Pánuco, en cuanto a su respuesta a condiciones de estrés hídrico en invernadero y en campo abierto. Los tratamientos consistieron en la limitación del agua durante un período de 15 días en invernadero y 38 días en campo, en comparación con los testigos los mismos tipos de chiles en condiciones óptimas de riego. Se registró la tensión de humedad en el suelo y se evaluó potencial hídrico en las hojas, el contenido relativo de agua en las hojas y la expresión del gen Cadhn1 que codifica para una dehidrina, mediante análisis de expresión con la técnica de RT-PCR. Se observaron diferencias en la acumulación de transcritos de la dehidrina 1 entre las variedades: en Tampiqueño 74, el gen mostró una expresión básicamente constitutiva, con poca respuesta al estrés impuesto; en cambio la variedad Pánuco se observó una clara inducción de expresión del gen Cadhn1 en plantas sujetas a tratamiento de sequía en invernadero y en campo. En el ensayo en el invernadero, la tensión de humedad en el suelo y el potencial hídrico en las hojas alcanzaron valores menores en las plantas de Chile Pánuco.

ABSTRACT

**THE EXPRESSION OF DEHYDRIN-1 GENE IS DIFFERENT BETWEEN CHILI
PEPPER VARIETIES UNDER DROUGHT**

BY

DAGOBERTO FLORES MARÍN

MASTER OF SCIENCE

IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2013

Dr. Edmundo M. Rodríguez Campos.- Adviser

Keywords: *Capsicum annuum* L., dehydrin, genetic expression, water stress

The response to water stress was studied in the chili pepper varieties

“Tampiqueño 74” and “Pánuco”. The experiment was performed twice, one in the greenhouse and other in field conditions. The treatment was imposed by water withholding for 15 days in the greenhouse and 38 days in the field. Stressed plants were compared with well-watered plants growing in the same conditions. Soil water tension, water potential in leaves and the foliar relative water content were recorded. The expression of Cadhn1 gene that codifies for a dehydrin protein, was analyzed by RT-PCR. The chili pepper varieties expressed Cadhn1 differently. Tampiqueño 74 had a constitutive expression of the dehydrin gene with a small response to water stress. The Pánuco variety showed a clear induced expression in stressed plants, both in the greenhouse and the field. In the greenhouse assay, the soil water tension and the leaf water potential developed the lower values in the Pánuco plants.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Mecanismos de defensa.....	5
Aspectos fisiológicos del estrés por sequía.....	6
Clasificación de las plantas de acuerdo con la tolerancia a la desecación celular.....	6
Clasificación de las dehidrinas	7
Estudios realizados sobre la acumulación de dehidrinas bajo diferentes condiciones de estrés.....	10
III. ARTICULO	14
LA EXPRESIÓN DEL GEN PARA DEHIDRINA-1 DIFIERE ENTRE VARIEDADES DE CHILE EN RESPUESTA A SEQUÍA.....	14
ABSTRACT.....	16
INTRODUCCIÓN.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES	32
LITERATURA CITADA.....	33
IV. CONCLUSIONES	37
V. LITERATURA CITADA	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las dehidrinas LEA D-11, de acuerdo a sus características estructurales (Battaglia <i>et al.</i> , 2008.)	9
--	---

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencia de aminoácidos de proteínas LEA II correspondientes a cada estructura de la Figura 1.	9
--	---

ÍNDICE DE FIGURAS DE ARTÍCULO

Figura. 1. Tensión de humedad en el suelo (KPa) en chiles serranos (<i>Capsicum annuum</i> L.) bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero y en campo. ...	26
Figura. 2. Potencial hídrico en las hojas antes del amanecer ψ_{aa} en condiciones de invernadero (A-B) en condiciones de campo (C-D).	27
Figura. 3. Contenido relativo de agua en las hojas antes del amanecer ψ_{aa} en condiciones de invernadero (A-B, páneles superiores) en condiciones de campo (C-D, páneles inferiores).	28
Figura. 4. Condiciones de temperatura y humedad relativa durante el desarrollo del tratamiento de sequía en el ensayo en campo.	30
Figura. 5. Expresión de la dehidrina DHN1 en chiles serranos Tampiqueño 74 (A y C), criollo Pánuco (B y D), en invernadero (A y B) y en condiciones de campo (C y D), M= Marcadores moleculares.	31

I. INTRODUCCIÓN

México es el país con la mayor diversidad genética de chiles, de los cuales, la tercera parte de la producción de chile verde es del tipo jalapeño, seguida por el tipo serrano. Este cultivo es una de las principales hortalizas en cuanto al valor de su producción. Si bien éste se concentra en unidades productivas de alta tecnología e insumos, no deja de estar sometido a condiciones ambientales adversas, entre las cuales destaca la limitación en el suministro de agua. La sequía en el ciclo primavera-verano de 2009 significó una reducción 1.6% en la superficie sembrada, en comparación con el año previo. La escasez del líquido en buena parte del territorio nacional se reflejó en la disminución del rendimiento promedio que pasó de 15.6 toneladas por hectárea en 2008 a 14.1 en 2009.

En México, el 10 % de la superficie agrícola irrigada es afectada por la salinidad y de ésta 64 % se localiza en la parte norte del país (Umali, 1993), donde el problema se agudiza a causa de la limitación de agua, además, los suelos presentan drenaje deficiente y alta evaporación que también inducen condiciones de sequía. La limitación en la disponibilidad fisiológica del agua es un componente del estrés por salinidad en el suelo.

La salinidad es uno de los principales factores abióticos que afectan el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas a través del estrés iónico y osmótico, limitando con ello la producción de alimentos de origen vegetal (Serrano, 1999; Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Cramer, 2002; Aktas *et al.*, 2005). Las bajas temperaturas y sobre todo las congelantes producen también un estrés hídrico en las plantas (Thomashow, 1998).

México a pesar de ser centro de origen de gran diversidad de chiles, presenta limitaciones en la producción debido a que cada vez es menor la disponibilidad de agua para riego, el régimen de lluvias es inestable originando como consecuencia el abatimiento de los acuíferos donde se disponen de pozos de agua para riego (Inzunza *et al.*, 2007). La sequía es uno de los principales factores que limitan la producción en el mundo, la adaptación de las plantas a la sequía es el resultado de mecanismos fisiológicos inducidos por proteínas.

Las plantas poseen mecanismos de defensa ante el estrés por déficit hídrico, estos mecanismos incluyen la protección de las células, síntesis de solutos compatibles y síntesis de novo de muchas proteínas, entre las que destacan las pertenecientes a la familia de proteínas abundantes en la embriogénesis tardía, las proteínas LEA por sus siglas en inglés (Late Embryogenesis Abundant), juegan un papel fundamental en la respuesta de la planta y la adaptación al estrés abiótico. La acumulación de proteínas LEA fue

descrito como el mecanismo más común desarrollada contra el estrés hídrico (Close, T.J. 1996), es decir la pérdida de agua en los órganos vegetativos, lo que sugiere que estas proteínas juegan un papel de protección durante el déficit hídrico.

Las LEA II son un tipo especial de proteínas altamente hidrofílicas que protegen a membranas y proteínas de su desnaturalización por deshidratación, estas proteínas llamadas dehidrinas juegan un papel fundamental en la sobrevivencia de las semillas en estado seco y en estado vegetativo, parecen proteger además a las células del estrés oxidativo y daños causados por los ciclos de congelamiento y descongelamiento (Reyes *et al.*, 2008).

Este trabajo se plantea como un estudio que nos permita conocer la acumulación de dehidrinas en tejidos vegetativos de plantas de Chile expuestas a condiciones de sequía, en invernadero así como condiciones de limitación de agua en campo abierto. El siguiente estudio documenta los niveles de acumulación de la dehidrina 1 en Chile serrano variedades Tampiqueño 74 y Pánuco.

OBJETIVOS:

Comparar la expresión de la dehidrina 1 en dos variedades de chile serrano en condiciones de estrés hídrico.

Objetivos específicos

a) Comparación de la acumulación de dehidrina 1 en las variedades de chile Tampiqueño 74 y Pánuco sujetos a estrés hídrico, en condiciones de invernadero y campo abierto.

HIPÓTESIS:

La expresión de la dehidrina 1 difiere entre variedades de chiles serrano bajo condiciones de estrés hídrico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Mecanismos de defensa

Las plantas desarrollaron a lo largo de su proceso evolutivo una variedad de mecanismos de protección para superar diversos problemas ambientales abióticos. La sequía, la alta salinidad, y las temperaturas congelantes que comparten un componente de estrés hídrico, inducen mecanismos de defensa similares (Thomashow, 1999; Hasegawa, *et al* 2002; Zhu, 2001a, b; Xiong *et al.*, 2002; Xiong y Zhu, 2002) éstas incluyen cambios en las actividades enzimáticas y en la expresión génica. Bajo condiciones de estrés hídrico, las células vegetales pierden agua y reducen su presión de turgencia (Holmberg y Bulow, 1998). Algunos de los mecanismos de defensa incluyen la acumulación de osmolitos (ajuste osmótico) que permiten a las células mantener su turgencia a menores potenciales de agua. Otro mecanismo es la síntesis de compuestos protectores que incluyen solutos compatibles como azúcares no reductores, el aminoácido prolina y principalmente proteínas que protegen a enzimas, membranas y otros componentes celulares actuando básicamente como chaperonas (Salekdeh *et al.*, 2009) entre las cuales sobresalen las dehidrinas.

Aspectos fisiológicos del estrés por sequía

La sequía, es decir, falta de agua conduce a la disminución del potencial de agua del suelo (contenido gravimétrico de agua en el suelo), que está a menudo acompañado por un descenso de la humedad relativa del aire, resultando en una mayor velocidad de transpiración de la hoja. Cuando disminuye el contenido de agua en el suelo se extrae del entorno con mayor potencial hídrico. La aclimatación de las plantas a la sequía trata de eliminar la pérdida excesiva de agua, lo que consiste en un ajuste osmótico, es decir, una disminución en la diferencia de potencial de agua que existe entre la célula de la planta y el suelo. El ajuste osmótico se asocia con la acumulación de metabolitos solubles de bajo peso molecular llamados solutos compatibles (carbohidratos de bajo peso molecular, monosacáridos: glucosa, fructosa, disacáridos: sacarosa, oligosacáridos: rafinosa, estaquiosa y verbascosa, alcoholes de azúcar como: manitol, sorbitol, pinitol; compuestos de amonio cuaternario llamados betaínas: betaín alanina, glicín betaína, prolina; poliaminas espermina, espermidina, putrescina) y con relativamente alto peso molecular, proteínas hidrófilas dentro de las células.

Clasificación de las plantas de acuerdo con la tolerancia a la desecación celular

De acuerdo con la tolerancia a la desecación celular, las plantas se pueden dividir en dos grandes grupos: plantas poikilohídricas y plantas

homoiohídricas. Las plantas poikilohídricas generalmente son mucho más tolerantes a la deshidratación celular que las plantas homoiohídricas debido a que poseen células relativamente pequeñas y a la baja proporción relativa de vacuolas en el citoplasma en comparación con las plantas homoiohídricas (Proctor y Tuba, 2002).

Las poikilohídricas incluyen plantas tolerantes a la desecación, plantas sin semillas, musgos, lycopodios del género *Selaginella* y helechos del género *Polypodium*. Sin embargo, también se incluyen angiospermas tolerantes a la desecación que tienen células con vacuolas pequeñas y se pueden recuperar después haber perdido hasta un 95% de agua. Estas plantas son llamadas "plantas de la resurrección", por ejemplo, *Craterostigma plantagineum*, *Ramonda serbica*, etc. (Scott, 2000).

Clasificación de las dehidrinas

Las proteínas abundantes durante la embriogenesis tardía (LEA) se acumulan en gran cantidad durante el desarrollo de las semillas de muchas plantas, en una relación temporal muy estrecha con el desarrollo de la desecación y durante la pérdida de agua en los órganos vegetativos. Las proteínas LEA se clasifican en tres grupos de acuerdo a similitudes en sus secuencias. Las dehidrinas constituyen el grupo II de las LEA. Además de su participación en el desarrollo de la semilla, las dehidrinas son un grupo de

proteínas que generalmente se encuentran en diferentes tejidos de plantas sujetas a algún tipo de estrés hídrico, como puede ser sequía, salinidad o bajas temperaturas, por lo que se les ha adjudicado un papel de protección contra este estrés (Close, 1997; Rorat, 2006). En general, las LEA se caracterizan por ser muy hidrofílicas, permanecer en solución a temperaturas de ebullición y tener poca estructura secundaria. Las dehidrinas en particular, se distinguen por poseer un dominio rico en lisinas conocido como segmento K. Usualmente poseen un serie continua de residuos de serina, el segmento S y un segmento consenso llamado el segmento Y. La presencia y número de cada uno de estos segmentos permite agrupar a las diferentes dehidrinas (Cambell y Close, 1997). Las DHNs se caracterizan por amplio rango de masas moleculares que van desde 9 a 200 kDa. Se definen como proteínas que poseen al menos una copia de una secuencia conservada conocida como segmento-K en su molécula.

La clasificación generalmente aceptada de las dehidrinas se basa en sus características estructurales, tales como la presencia de secuencias conservadas, designadas como segmento-K, S o Y. Se pueden dividir en cinco subgrupos estructurales: KN, SKN, KNS, YnKn y YnSKn, Figura 1.

Group 2 (D-11) 80-620 aa
PFAM:PF000257

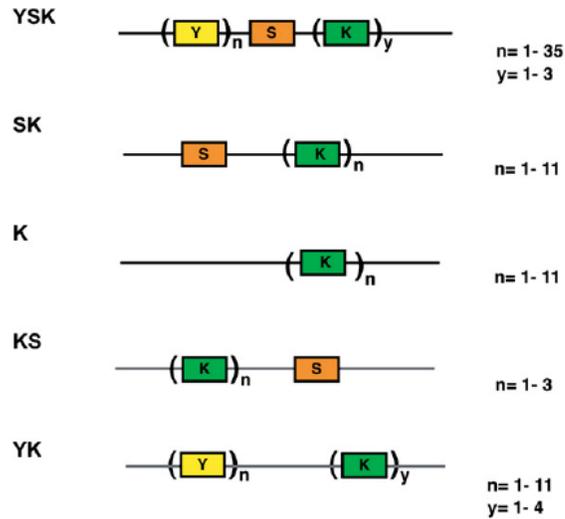


Figura 1. Clasificación de las dehidras LEA II, de acuerdo a sus características estructurales (Battaglia *et al.*, 2008.)

GROUP	MOTIF	CONSENSUS SEQUENCE
LEA 1 (D-19)	1	T V V P G G T G G K S L E A Q E H L A E N
PF00477	2	T R K E Q L G T E G Y Q E M G R K G G L M E K E
	3	D K S G G E R A A E E G I E I D E S K F E E R D Y
LEA 2 (D-11)	K	E K K G I M D K I K E K L P G K L L E D I R M K F
PF00257	S	L H R S G S W S S S S S D D D H H S E E E
	Y	R T D E Y G N P V H Q V I Q

Cuadro 1. Secuencia de aminoácidos de proteínas LEA II correspondientes a cada estructura de la Figura 1.

El segmento-K representa motivos muy conservados de 15 aminoácidos (Cuadro 1) que son capaces de formar un α -hélice anfífilico especialmente importante ya que se ha encontrado en todas las dehidras y se cree que

desempeñan un papel protector durante la deshidratación celular. El segmento-K es una secuencia de aminoácidos (aa), rico en lisina (EKK GIM E/DKI KEK LPG) presente en 1-11 copias cercanas al C terminal en las moléculas de dehidrinas.

Una correlación positiva entre adaptación a la deshidratación celular y la presencia de las dehidrinas está ampliamente documentada, pero las funciones específicas de las dehidrinas en la célula estresada permanecen poco claras. Los análisis recientes indican que los diferentes tipos estructurales de DHNs pueden tener diferentes funciones. El análisis de la secuencia del segmento K hace suponer que puede adoptar una conformación de α -hélice anfipática. Esta estructura está presente en proteínas que aparecen en la interfase lípido agua, como es el caso de las apolipoproteínas. La DHN1 de maíz (tipo YSK2) interacciona con vesículas de fosfolípidos mediante un cambio conformacional hacia la hélice, por lo que se supone que este tipo de dehidrinas pueden jugar un papel importante en la estabilización de las membranas celulares (Koag et al., 2003).

Estudios realizados sobre la acumulación de dehidrinas bajo diferentes condiciones de estrés.

Las dehidrinas se acumulan en plantas cuando están expuestas a estrés por sequía. Varios estudios han demostrado que la acumulación de dehidrina

durante el crecimiento vegetativo de las plantas se correlaciona con su tolerancia a la sequía, Labhilili *et al.*, (1995) y Brini *et al.*, (2007a) han mostrado que la acumulación de dehidrina confiere tolerancia al estrés por sequía y por sales en el trigo duro (*Triticum turgidum* ssp. Durum).

La dehidrina CuCOR19 de *Citrus unshiu*, tipo K₃S, sobrepresada en tabaco confirió mayor resistencia al frío y disminuyó *in vitro* la peroxidación de lípidos. Además, fue capaz de atrapar eficientemente radicales hidroxilos y peroxilos que se generan durante la deshidratación celular (Hara *et al.*, 2004) apuntando hacia un papel de este tipo de dehidrinas en la protección contra radicales libres. En la revisión de Rorat (2006) se resume la evidencia de la protección por diferentes dehidrinas, a enzimas sensibles al congelamiento. Por otra parte, la presencia de las DHNs puede modificar respuestas específicas al estrés hídrico. La expresión de la dehidrina 5 de trigo en plántulas de *Arabidopsis* confirió resistencia a estrés hídrico y a altas concentraciones de cloruro de sodio en la solución de crecimiento. Pero las plantas transgénicas mostraron además, mayores niveles de sodio y acumulación de prolina (Brini *et al.*, 2007), indicando alguna interacción o efecto epistático entre la expresión de las dehidrinas y el ajuste osmótico.

De manera similar (Pelah *et al.*, 1997) han observado una relación positiva entre la acumulación de dehidrinas y la tolerancia a la sequía en el álamo (*Populus tremula*). Análogamente (Tabaei-Aghdai *et al.*, 2000) compararon la

acumulación de proteínas de deshidratación en los tejidos de dos especies de trigo (*Agropyron desertorum*) tolerante a sequía y (*Lophopyrum elongatum*) menos tolerante a sequía, revelaron diferentes niveles de tolerancia bajo estrés por sequía (con 6 días sin riego), los investigadores detectaron niveles mucho más altos de polipéptidos de deshidratación en *A. desertorum* tolerante a la sequía que en *L. Elongatum*. Entre tanto que Volaire (2002) encontró una asociación en la acumulación de deshidratación de 22-24 kDa con mayor tolerancia a la sequía y la adquisición de latencia en el verano en la base de las hojas de dos variedades contrastantes de datil (*Dactylis glomerata*), uno de origen marroquí del Mediterráneo (una variedad tolerante a la sequía) y el otro de origen oceánico francés (una variedad sensible a sequía). En contraste, no se observaron diferencias en el nivel de transcritos (Voltaire *et al.*, 1998). Estos resultados sugieren la existencia de diferentes mecanismos de regulación entre las variedades de *Dactylis glomerata* con diferente tolerancia a la sequía a nivel postranscripcional.

Investigaciones realizadas por Cellier *et al.* (1998) en una variedad de girasol (*Helianthus annuus*) tolerante a la sequía en comparación con una variedad sensible a la sequía. Observaron altos niveles de transcritos de genes de deshidratinas HaDhn1 y HaDhn2 en la variedad tolerante a sequía. La acumulación de transcritos de HaDhn1 y HaDhn2 se correlaciona con el potencial hídrico en la hoja de la planta cuando se compararon los cultivares bajo el mismo contenido gravimétrico de agua del suelo. Cellier *et al.*, (2000)

observaron cambios diurnos en la expresión del gen HaDhn1 en plantas de girasol sometidas a sequía, con un máximo de expresión de HaDhn1 al mediodía, que se reflejó en los cambios en el potencial hídrico de las hojas. En contraste, el gen HaDhn2 no mostró cambios diurnos significativos en su patrón de expresión.

Claramente, la elucidación del papel de las dehidrinas en la respuesta de las plantas al estrés hídrico, requiere definir cuales dehidrinas se expresan como respuesta a condiciones específicas. El estudio sistemático de las dehidrinas y sus genes se ha realizado en varias especies, como son los casos de *Arabidopsis thaliana* (Nylander *et al.*, 2001) y de cebada (Choi *et al.*, 2000; Rodriguez *et al.*, 2005), trabajos que muestran la diversidad genética y funcional del grupo. Sin embargo, hasta donde es de nuestro conocimiento no se ha intentado tal esfuerzo en *Capsicum*. Las dehidrinas son marcadores moleculares para respuesta a estrés por sequía y/o frío y el estudio de su diversidad genética puede dar información sobre regiones del genoma sujetas a selección natural (Perdiguero *et al.*, 2012) ó humana que ayuden a esclarecer, en este caso particular, el origen del cultivo y el grado de diversidad disponible (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009, Dai *et al.*, 2012).

III. ARTICULO

**LA EXPRESIÓN DEL GEN PARA DEHIDRINA-1 DIFIERE ENTRE
VARIETADES DE CHILE EN RESPUESTA A SEQUÍA**

LA EXPRESIÓN DEL GEN PARA DEHIDRINA-1 DIFIERE ENTRE VARIETADES DE CHILE EN RESPUESTA A SEQUÍA

**D. Flores-Marín¹; V. Robledo-Torres¹; R. Mendoza-Villarreal¹; M. Ramírez-
Meraz²; E. M. Rodríguez-Campos^{3¶}.**

¹Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315. México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. INIFAP. Campo Experimental Las Huastecas. Carretera Tampico-Mante, km 55. Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas, C. P. 89610. México.

³Departamento de Ciencias Básicas Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. Correo-e: edmundor.dz@uaaan.mx ([¶]Autor responsable).

RESUMEN

En este estudio se compararon las variedades de chile serrano Tampiqueño 74 y Pánuco en cuanto a su respuesta a condiciones de estrés hídrico en invernadero y en campo. Los tratamientos consistieron en la limitación del agua durante un período de 15 días en invernadero y 38 días en campo, en comparación con los materiales testigo en donde los mismos materiales de chiles estuvieron en condiciones de óptimas de riego. Se registró la tensión de humedad en el suelo, se evaluó potencial hídrico en las hojas, el contenido relativo de agua en las hojas y la expresión del gen Cadhn1 que codifica para una dehidrina, mediante análisis de RT-PCR. Se observaron diferencias en la acumulación de transcritos de la dehidrina 1 entre las variedades: en Tampiqueño 74, el gen mostró una expresión básicamente constitutiva, con

poca respuesta al estrés impuesto; en cambio en el criollo Pánuco se observó una clara inducción de expresión del gen *Cadhn1* en plantas sujetas a tratamiento de sequía en invernadero y en campo. En el ensayo de invernadero, la tensión de humedad en el suelo y el potencial hídrico en las hojas alcanzaron valores menores en las plantas de chile Pánuco.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., dehidrina, expresión genética, estrés hídrico

THE EXPRESSION OF DEHYDRIN-1 GENE IS DIFFERENT BETWEEN CHILI PEPPER VARIETIES UNDER DROUGHT

ABSTRACT

The response to water stress was studied in the chili pepper varieties “Tampico 74” and “Pánuco”. The experiment was performed twice, one in the greenhouse and other in field conditions. The treatment was imposed by water withholding for 15 days in the greenhouse and 38 days in the field. Stressed plants were compared with well-watered plants growing in the same conditions. Soil water tension, water potential in leaves and the foliar relative water content were recorded. The expression of *Cadhn1* gene that codifies for a dehydrin-protein, was analyzed by RT-PCR. The chili pepper varieties expressed *Cadhn1*

differently. Tampiqueño 74 had a constitutive expression of the dehydrin gene with a small response to water stress. The Pánuco landrace showed a clear induced expression in stressed plants, both in the greenhouse and the field. In the greenhouse assay, the soil water tension and the leaf water potential developed the lower values in the Pánuco plants.

Keywords: *Capsicum annuum* L., dehydrin, genetic expression, water stress

INTRODUCCIÓN

México uno de los principales productores de chiles, presenta limitaciones en su producción debido a que cada vez es menor la disponibilidad de agua para riego y dado el régimen de lluvias inestable, su producción en un régimen de temporal es muy limitado. Su producción intensiva en regiones irrigadas ha propiciado el abatimiento de los acuíferos donde se disponen de pozos de agua para riego (Inzunza *et al.*, 2007).

El cultivo de chile es poco tolerante al estrés por falta de agua, pues permite solo un 30% de disminución en la cantidad de agua disponible en el suelo antes de sufrir estrés y disminución en la producción (Enciso, *et al.*, 2012). Aunque menos que en otras hortalizas, las respuestas y tolerancia del chile a la sequía se han estudiado por diferentes autores. Ismail y Davies (1997) encontraron claras diferencias en la disminución del potencial de agua, el potencial de turgencia y la acumulación de ácido abscísico entre genotipos como respuesta

a la imposición de un estrés por sequía. Delfine *et al.* (1999) compararon la fotosíntesis entre plantas de chile irrigadas y de temporal, encontrando una menor conductancia estomática en las segundas que se reflejó en la producción de mas frutos de mala calidad a partir del segundo corte. Un déficit en el riego del 70% la capacidad de campo en plantas de chile, significó un ahorro del 85% del agua irrigada, pero provocó una disminución del 40 % de la cosecha (Ismail, 2010). El chile “Mirasol” fue capaz de soportar una disminución del riego en un ensayo de riego parcial de la raíz permitiendo un ahorro del 32% del agua utilizada (Serna-Pérez *et al.*, 2011). En un estudio a mas largo plazo en el mismo sistema (Serna-Pérez *et al.*, 2012) se demostró que una disminución del 40% del riego con respecto al régimen comercial, produjo la mayor proporción de frutos comerciales.

Para avanzar en el uso de tecnologías que permitan la disminución sustancial del agua de riego, es necesario conocer más sobre los mecanismos bioquímicos y moleculares subyacentes en el desarrollo de la tolerancia a la limitación de agua. Las plantas desarrollaron a lo largo de su evolución una variedad de mecanismos de protección para superar diversos estreses abióticos. La sequía, la alta salinidad y las temperaturas de congelamiento, que comparten un componente de estrés hídrico, inducen mecanismos de defensa similares (Zhu 2002; Xiong *et al.*, 2002; Xiong y Zhu 2002). Bajo condiciones de estrés hídrico, las células vegetales pierden agua y reducen su presión de turgencia (Holmberg y Bulow, 1998). Algunos de los mecanismos de defensa incluyen la acumulación de osmolitos (ajuste osmótico) que permite a las

células mantener su turgencia a menores potenciales de agua. Otro mecanismo es la síntesis de compuestos protectores que incluyen solutos compatibles como azúcares no reductores, prolina y principalmente proteínas que protegen a enzimas, membranas y otros componentes celulares, actuando básicamente como chaperonas (Salekdeh *et al.*, 2009). Entre éstas sobresalen las dehidrinas, una familia de proteínas pertenecientes al grupo conocido como “proteínas abundantes durante la embriogenesis tardía” (LEA =late embryogenesis abundant).

Las LEA se acumulan en gran cantidad durante el desarrollo de las semillas de muchas plantas, en una relación temporal muy estrecha con el desarrollo de la desecación. Las dehidrinas constituyen el grupo II de las LEA. Además de su participación en el desarrollo de la semilla, las dehidrinas son un grupo de proteínas que generalmente se encuentran en diferentes tejidos de plantas sujetas a algún tipo de estrés hídrico, como puede ser sequía, salinidad o bajas temperaturas, por lo que se les ha adjudicado un papel de protección contra este estrés (Close, 1996; Rorat, 2006). En general, las LEA se caracterizan por ser muy hidrofílicas, permanecer en solución a temperaturas de ebullición y tener poca estructura secundaria. Las dehidrinas protegen a membranas y proteínas de su desnaturalización por deshidratación y parecen proteger además del estrés oxidativo y daños causados por los ciclos de congelamiento y descongelamiento (Reyes *et al.*, 2008).

Como parte de una investigación que tiene como objetivo el conocimiento de las dehidrinas de *Capsicum annuum* y su papel en la respuesta a diferentes tipos

de estrés, se presentan aquí los resultados de un estudio acerca de la acumulación de dehidrinas en hojas de plantas de chile, durante dos ensayos de sequía en los que se compara la respuesta en dos variedades de chile serrano: variedad Pánuco, reconocida por su mayor tolerancia a estrés hídrico (Pozo, 1981) y la variedad Tampiqueño 74, que es la variedad de serrano con mayor superficie sembrada en México (Elizondo y Maldonado, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en condiciones de invernadero y campo abierto. La primera etapa de la investigación se llevó a cabo en el invernadero de alta tecnología del Departamento Forestal de la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, durante el período de otoño-invierno de 2011. Se utilizó semilla proporcionada por el banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La siembra de los materiales se hizo en septiembre de 2011 en charolas de poliestireno de 200 cavidades, se utilizó como sustrato peat moss y perlita a una proporción 60-40. El trasplante se realizó cuando las plantas contaron con 6 hojas verdaderas y 15 cm de altura a macetas de 20 litros llenadas con suelo. El tratamiento de sequía consistió en limitar el agua durante un periodo de 15 días. En el trabajo en campo abierto se realizó en el periodo de primavera-verano de 2012 en una parcela (18 m x 20 m) ubicado en el Ejido el Pilar, en el municipio de General Cepeda, Coahuila. La siembra de los materiales se hizo en mayo de 2012. El

trasplante cuando las plantas tuvieron una altura de 15 cm, se utilizó acolchado plástico y riego por goteo con una separación de 0.3 m entre planta y planta y una distancia de 1.60 m entre surcos. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar, en donde se estableció en un surco el tratamiento de sequía con ambos materiales de chile serrano y en otro surco con los mismos materiales de chiles bajo condiciones optimas de riego, el experimento consistió en tres repeticiones y la unidad experimental de 5 plantas por repetición. El tratamiento de sequía consistió en suspender el riego durante un período de 38 días, en comparación con el testigo que estuvo bajo condiciones óptimas de riego. La nutrición del cultivo en condiciones de invernadero y en campo se hizo con la fórmula universal de Steiner (1961), ajustada a las condiciones del suelo y de agua de riego. Las plagas fueron controladas con metamidofos, endosulfan y dimetoato en invernadero, en campo se hicieron tres aplicaciones de extracto de neem para el control de plagas y una aplicación de PROZYCAR (Carbendazim) en las primeras fases de desarrollo del cultivo para el control de enfermedades. Para determinar la dinámica de pérdida de agua en el suelo se midió la tensión de humedad en el suelo con sensores de humedad. Se evaluó potencial hídrico en las hojas antes del amanecer ψ_{aa} , contenido relativo de agua en las hojas, y expresión del gen para la dehidrina 1 mediante la técnica de RT-PCR.

Tensión de humedad en el suelo

En el experimento de invernadero se instalaron sensores de humedad del suelo WATERMARK® 200SS y se monitoreó la dinámica de la pérdida de agua en las

macetas con plantas de chiles serranos bajo tratamiento de estrés por sequía. En el experimento en campo la instalación de los sensores de humedad del suelo se llevó a cabo a una profundidad de 0.3 m en donde alcanza la mayor cantidad de exploración de la raíces del cultivo de chile. Se registró la tensión de humedad en el suelo con un medidor digital tipo WATERMARK®.

Potencial hídrico en las hojas antes del amanecer (ψ_{aa})

El potencial hídrico en las hojas antes del amanecer se registró con un equipo de presión (Scholander *et al.*, 1965, 1966), las mediciones se hicieron alrededor de las 05:00 a 6:00 am. Se tomaron hojas con peciolo de plantas bajo tratamiento y plantas testigo a una altura donde se contó con las hojas más jóvenes, las mediciones se realizaron de acuerdo a la metodología descrita por Day y Walsh (1980).

Contenido relativo de agua en las hojas

En la misma planta en donde se obtuvo el potencial hídrico en las hojas, se tomaron hojas de plantas sujetas a tratamiento de sequía y en plantas testigo para obtener contenido relativo de agua en las hojas, se pesó 1 g de hoja en una balanza digital con precisión de 1 mg. Las hojas se colocaron en tubos Falcón de 50 mL que previamente se llenaron con agua destilada, se dejó en refrigeración a 4°C por toda la noche. Al siguiente día se sacaron los tubos con las hojas y se procedió a obtener el peso turgente. Posteriormente se procedió a colocar las hojas en bolsas de papel para su secado en una estufa

NOVATECH, a una temperatura de 60 °C por 48 h, por último se registró el peso seco. El contenido relativo de agua en las hojas (CRA) se obtuvo de acuerdo a la fórmula descrita por Barr y Weatherley (1962).

Expresión del gen que codifica para la dehidrina 1

El análisis de la expresión del gen para la dehidrina 1 de Chile (*dhn1*) se realizó mediante la transcripción reversa del ARN total, seguida de amplificación específica de un fragmento del *dhn1*. Se tomaron muestras de alrededor de 2 g de hojas, se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se conservaron a -80 °C hasta su procesamiento. La extracción de ARN se realizó a partir de 100 mg de tejido que se molieron en un mortero con nitrógeno líquido y a partir del polvo fino en congelación se realizó la extracción de ARN por el método de cloruro de guanidinio, fenol y cloroformo de Chomczynski y Sacchi (1987), utilizando el reactivo Trizol® de Molecular Research Center, Inc., siguiendo el protocolo del fabricante. La cuantificación y verificación de la pureza del ARN se hizo por espectrofotometría a 260 y 280 nm. La integridad del ARN se verificó por electroforesis desnaturante en gel de agarosa (Sambrook y Russell, 2001).

El ADN complementario (ADNc) se obtuvo a partir del RNA total tratado con DNAsa (Sigma), utilizando los reactivos de transcripción reversa TaqMan® de Applied Biosystems con hexámeros al azar como oligonucleótidos iniciadores. El ADNc resultante se utilizó para la amplificación, mediante la reacción en

cadena de la polimerasa (PCR), de un fragmento del gen *dhn1* y del *ARNr18S*, el cual se incluyó solo como un control interno (resultados no mostrados). Para cada uno de los genes se diseñaron oligonucleótidos cebadores usando el software Primer3 (Rozen y Skaletsky, 2000). Para *dhn1* se usó como base la secuencia depositada en el Genbank con la accesión AY225438 y para el 18S ribosomal la secuencia AB434922. Los oligonucleótidos diseñados para *dhn1* son 5'-CGGAAGACACTTCAGTTC-3' y 5'-CCGTCTTCTTCTGTCCTCCA-3 que generan un fragmento de 150 pb y para el *ARNr 18S* 5'-AAGTCTGGTGCCAGCAGCCG-3' y 5'-GGAGCGCATCGCCGACAGAA-3', que generan un fragmento de 175 pb. Las condiciones de la PCR fueron 94°C por 10 min, seguidos de 28 ciclos de amplificación a 94°C por 30 seg, 56°C por 30 seg y 72°C por 60 seg y una extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 3% y teñidos con GelRed®. Tanto la síntesis de ADNc como las reacciones PCR se realizaron en un termociclador ThermoSci.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tensión de humedad en el suelo

La dinámica de pérdida de agua en macetas en el experimento en invernadero fue más severa que en el experimento establecido en campo (Figura 1), las macetas con plantas de chile serrano Tampiqueño 74 alcanzaron una tensión

de humedad en el suelo de -64 KPa, mientras que las macetas con la variedad Pánuco bajaron hasta -103 KPa. Indicando que ésta última variedad fue capaz de extraer mayor cantidad de agua del suelo. Zermeño-Gonzalez *et al.*, (2007) en un trabajo realizado en limón italiano, usando como tratamiento la tensión de humedad en el suelo a 30, 50 y 70 KPa, observaron los mejores resultados de tamaño de fruto entre 30 y 50 KPa, obteniendo un mejor uso eficiente del agua. Kulkarni y Phalke (2009) encontraron en plantas de chile sujetas a una irrigación 50% de la óptima, que la relación entre biomasa radicular y aérea fue mayor que las plantas bien irrigadas y que fue significativamente diferente entre los cultivares evaluados.

El experimento en campo sufrió de un clima atípico, con días de alta humedad relativa incluso con presencia de neblina, por lo que la pérdida de agua en el suelo fue algo limitada. La humedad en el suelo fue estresante solo en el último tiempo de muestreo, cuando alcanzó un valor de -80 Kpa, sin embargo las diferencias entre plantas estresadas e irrigadas fueron evidentes en otros parámetros desde etapas más tempranas.

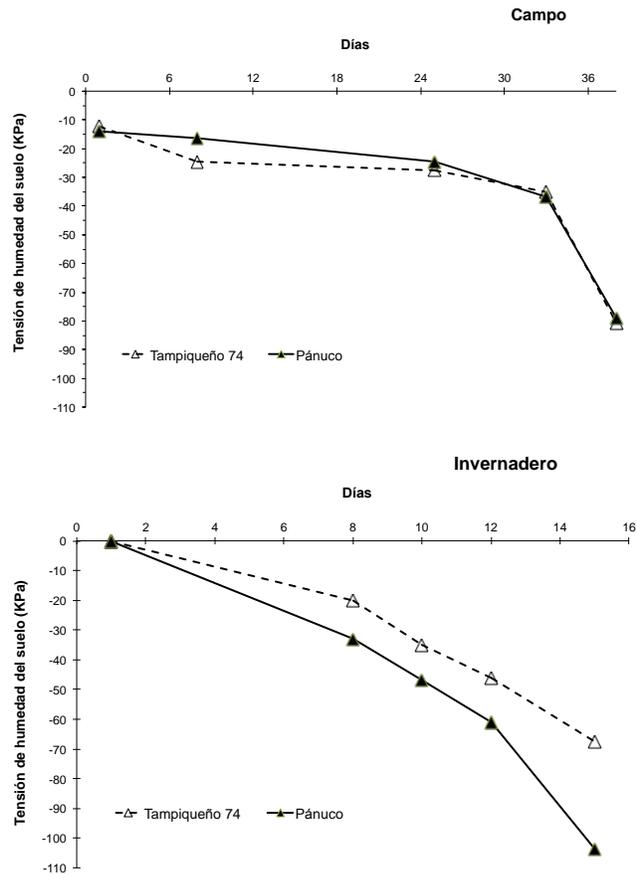


Figura. 1. Tensión de humedad en el suelo (KPa) en chiles serranos (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero y en campo.

Potencial hídrico en las hojas antes del amanecer ψ_{aa}

El potencial hídrico de las hojas antes del amanecer es un indicador de la intensidad del estrés inducido por déficit de agua (Hsiao, 1973). En el invernadero, las hojas de chile Tampiqueño 74 sujeto al estrés, mostraron una disminución de -0.5 a -2.0 MPa; en las plantas de la variedad Pánuco la disminución del potencial fue mayor, pues registró un cambio de -0.5 a -3 MPa,

en concordancia con la disminución del potencial hídrico en el suelo (Fig. 2).

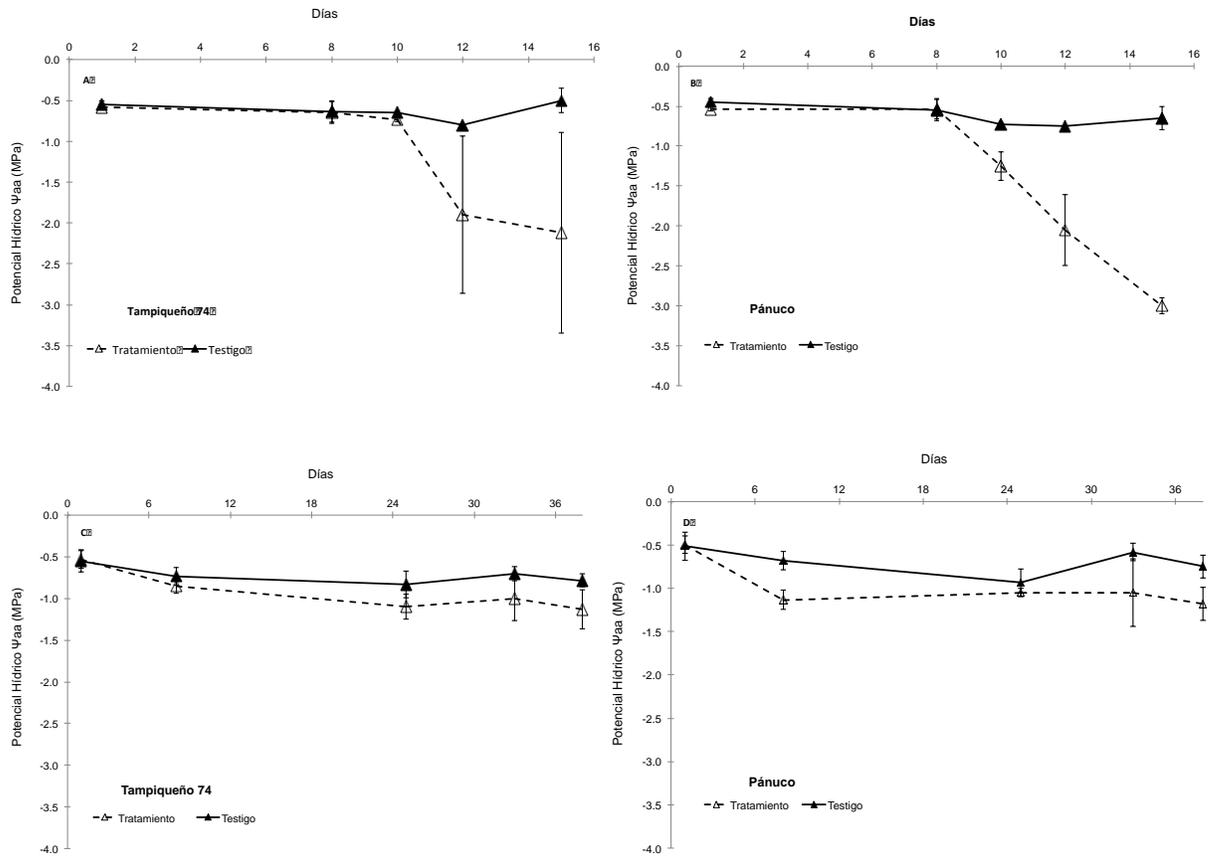


Figura. 2. Potencial hídrico en las hojas antes del amanecer Ψ_{aa} en condiciones de invernadero (A-B) en condiciones de campo (C-D).

En el ensayo de campo la disminución en el potencial hídrico de las hojas fue menor que en el invernadero en ambas variedades y no hubo diferencia entre ellas. En las plantas testigo el potencial fluctuó entre -0.5 a -0.9 MPa, en plantas del chile Pánuco sujetas a sequía el potencial disminuyó a -1.2 MPa, un valor muy similar que el alcanzado por las plantas de la variedad Tampico, pero significativamente menor que el de las plantas testigo (Fig. 2).

Contenido relativo de agua en las hojas

El contenido relativo de agua (CRA) en las hojas en chile tampiqueño 74 sujetas al estrés hídrico en el invernadero bajó de 92 % a 70 %, mientras que no hubo diferencia marcada entre el tratamiento y el testigo en el CRA en las hojas a campo abierto (Fig. 3. A y C). En chile serrano Pánuco la variación del CRA fue de 86 % a 56 % en invernadero y de 91 % a 74 % en condiciones de campo abierto (Fig. 3 B y D), pero sin una diferenciación con las plantas testigo. Las

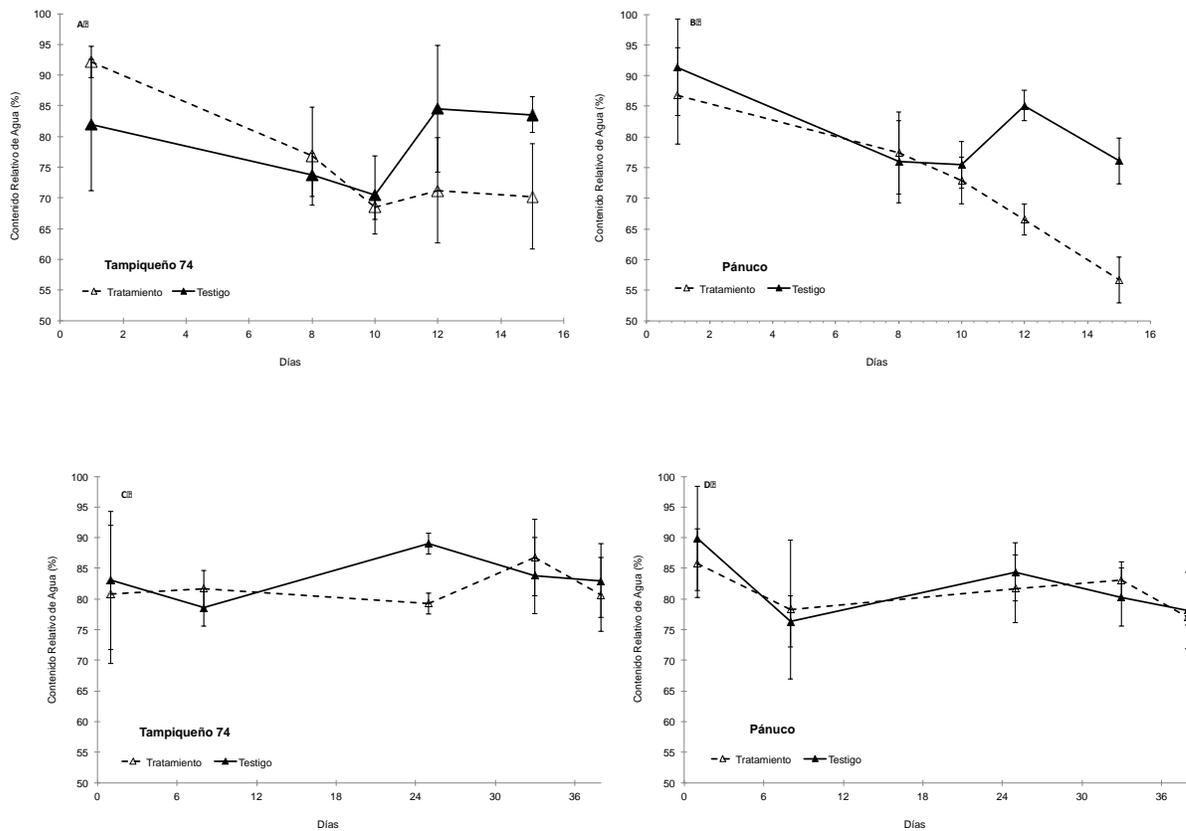


Figura. 3. Contenido relativo de agua en las hojas antes del amanecer ψ_{aa} en condiciones de invernadero (A-B, paneles superiores) en condiciones de campo (C-D, paneles inferiores).

variaciones en el contenido de agua en las hojas pudieron ser originadas por las condiciones ambientales que prevalecieron durante el experimento, ya que el tratamiento de sequía coincidió con el período de lluvias por lo que la humedad relativa fue muy alta durante los días en que se hicieron los muestreos (Fig. 4). En conjunto, estos datos nos indican que durante el desarrollo del estrés, las plantas variedad Pánuco mostraron con respecto a la variedad Tampiqueño 74, mayor consumo de agua en el invernadero, valores más negativos del potencial hídrico y menor contenido de agua en las hojas. Lo anterior pudiera explicarse en términos de que la variedad Tampiqueño 74 pudiera mostrar ajuste osmótico ó cierre estomático más temprano. Sin embargo una explicación más simple es que la variedad Pánuco, reputada como tolerante, tiene un sistema radicular más vigoroso, que agotó la reserva de agua en las macetas más rápidamente. Esto es consistente con el hecho que en condiciones de campo, donde las plantas no crecieron confinadas en un recipiente, no hubo diferencias significativas entre variedades en cuanto al potencial hídrico en las hojas.

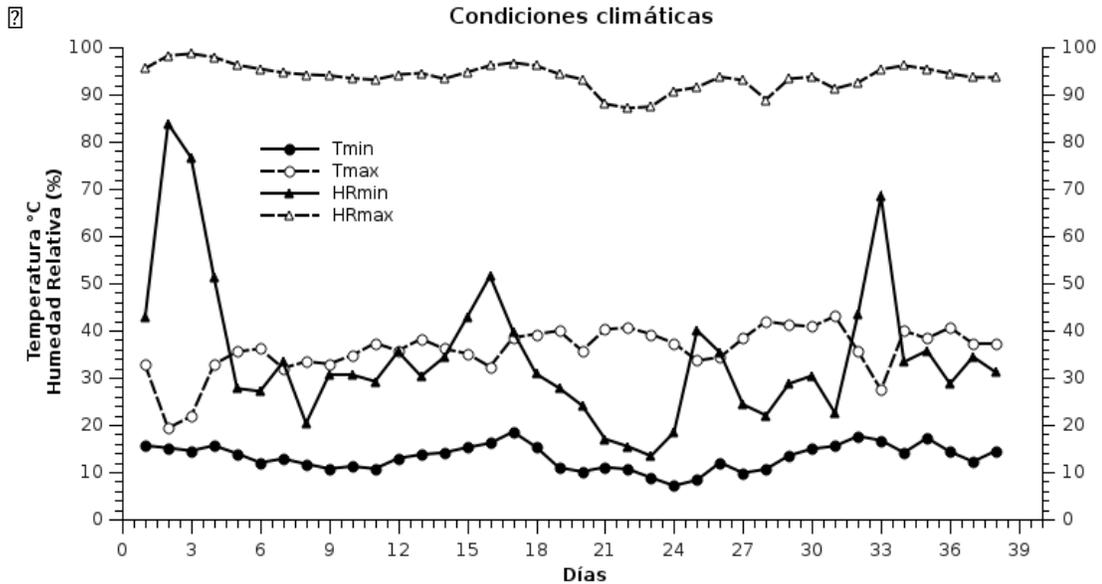


Figura. 4. Condiciones de temperatura y humedad relativa durante el desarrollo del tratamiento de sequía en el ensayo en campo.

Acumulación de transcritos de la dehidrina 1

En el ensayo en invernadero, las plantas de la variedad Tampiqueño 74 mostraron la transcripción del gen para la dehidrina 1 (Fig. 5) en todas las plantas muestreadas, presentándose en estas condiciones como un gen constitutivo, pues la intensidad de las bandas no varía al aumentar el estrés, como fue evidente a los 12 y 15 días, cuando el potencial hídrico fue menor a 2 MPa (Fig. 2). En el experimento en campo se observan diferencias de los transcritos de *dhn1*, pero como en el caso del invernadero, la intensidad de la banda fue muy similar en los diferentes tiempos de muestreo. La expresión de *dhn1* fue en los chiles variedad Pánuco en cambio, parece corresponder con el estrés hídrico impuesto (Figura 5 paneles B y D). Si bien los transcritos están

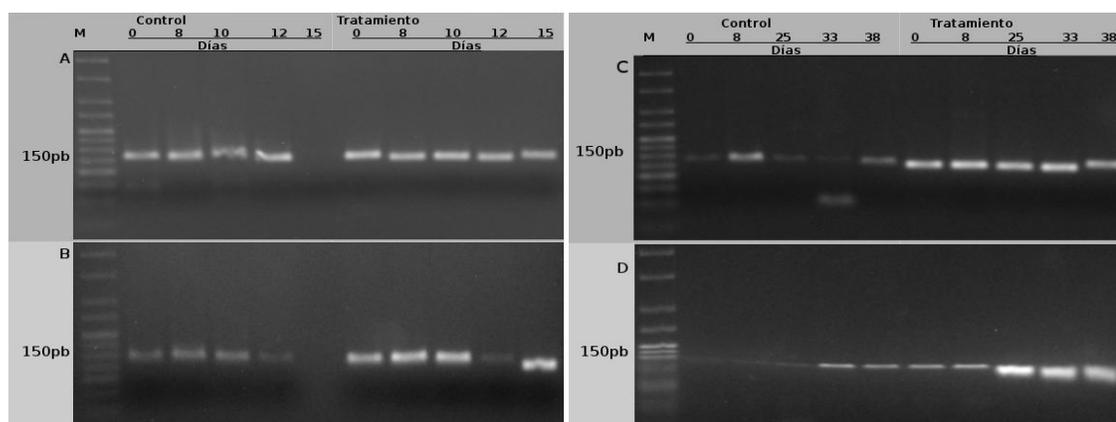


Figura. 5. Expresión de la dehidrina DHN1 en chiles serranos Tampiqueño 74 (A y C), criollo Pánuco (B y D), en invernadero (AyB) y en condiciones de campo (C y D), M= Marcadores moleculares.

presentes en todas las muestras, en las plantas bien irrigadas, las bandas son muy tenues. En las plantas estresadas, la intensidad de la banda aumenta con el tiempo, el efecto es mas claro en el experimento de campo.

La expresión del gen *dhn1* fue previamente estudiada por Chung *et al.* (2003) en una prueba rápida de desecación con plantas de chile de la variedad coreana Bukang. Los autores analizaron su expresión en hojas cortadas de las plantas y que se dejaron deshidratar en la mesa de trabajo, por diferentes tiempos hasta las 24 h. El transcrito fue evidente desde las 2 h de deshidratación, alcanzado la mayor acumulación del ARN mensajero para la dehidrina a las 4-8 horas y disminuyó a las 24 horas. En esas condiciones el tratamiento impuesto es muy drástico mientras que los datos aquí presentados son el resultado de un tratamiento más natural, donde las plantas tienen la

oportunidad de desplegar sus diferentes mecanismos de aclimatación.

En este trabajo se encontró diferencia en la respuesta al estrés por sequía entre las dos variedades ensayadas. La variedad Pánuco alcanzó en el ensayo de invernadero, valores menores de potencial de agua y de CRA y mostró mayor acumulación de los transcritos con respecto a la variedad Tampiqueño 74.

Cellier *et al.* (1998) observaron altos niveles de transcritos de genes de dehidras HaDhn1 y HaDhn2 en una variedad de girasol (*Helianthus annuus*) tolerante a la sequía cuando se compararon con una variedad sensible a sequía. La acumulación de transcritos de HaDhn1 y HaDhn2 se correlacionó con el potencial hídrico en la hoja de la planta cuando se compararon los cultivares bajo el mismo contenido gravimétrico de agua del suelo. En el experimento de campo aquí expuesto, la tensión de humedad fue prácticamente la misma en ambas variedades, sin embargo la acumulación de transcritos en respuesta al estrés fue claramente mayor en las plantas de la variedad Pánuco

CONCLUSIONES

Los transcritos para la dehidrina 1 en chiles serranos, muestran una expresión constitutiva que se ve claramente aumentada como respuesta al déficit hídrico.

El chile serrano Pánuco acumuló mayores niveles de los transcritos *dhn1* como respuesta al déficit hídrico.

LITERATURA CITADA

- BARRS, H.D.; WEATHERLEY, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 24: 519-570.
- CELLIER, F.; CONÉJÉRO, G.; BREITLER, J.C.; F. CASSE. 1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. *Plant Physiology*. 116:319–328.
- CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. 1987. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry* 162: 156-159.
- CHUNG, E.; KIM, S.; YI, S. Y.; CHOI, D. 2003. *Capsicum annuum* Dehydrin, An Osmotic-Stress Gene In Hot Pepper Plants. *Molecules and Cells*, 15, 327-32.
- CLOSE, T. J. 1996. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum*. 97:795–803.
- DAY R. J.; WALSH S. J. 1980. A manual for using the pressure chamber in nurseries and plantations. *Silviculture Report 1980-2*. Lakehead University School of Forestry. Thunder Bay, Ontario. Canada.
- DELFINE, S.; ALVINO, A.; LORETO, F.; CENTRITTO, M.; SANTARELLI, G. 1999. Effects of water stress on the yield and photosynthesis of field-grown sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). III International Symposium on Irrigation of Horticultural Crops 537: 223–229.

- ELIZONDO-BARRON, J.; MALDONADO-MORENO, N. 2007. Catálogo de Productos y Servicios. 2007. Catálogo 4. Centro de Investigación Regional del Noreste. INIFAP. México, DF. 102 p.
- ENCISO, J.; PORTER, D.; PERIES, X. 2007. Irrigation monitoring with soil water sensors. Texas A&M AgriLife Extension Service E618.
- HOLMBERG, N.; BULOW L. 1998. Improving stress tolerance in plants by gene transfer. Trends in Plant Science. 3: 61-66.
- HSIAO, T.C. 1973. Plant response to water stress. Annual Review Plant Physiology. 24: 519-570.
- INZUNZA, M. A.; MENDOZA, S. F.; CATALÁN, E. A.; VILLA, M. M.; SÁNCHEZ C. I.; ROMÁN, A. 2007. Productividad del chile jalapeño en condiciones de riego por goteo y acolchado plástico. Revista Fitotecnia Mexicana. 30:429-436.
- ISMAIL, M.R.; DAVIES, W.J. 1997. Water relations of Capsicum genotypes under water stress. Biologia plantarum 39: 293–297.
- ISMAIL, S.M. 2010. Influence of deficit irrigation on water use efficiency and bird pepper production (*Capsicum annum* L.). Meteorology, environment and arid land agriculture sciences. 21: 29–43.
- KULKARNI, M.; PHALKE, S. 2009. Evaluating variability of root size system and its constitutive traits in hot pepper (*Capsicum annum* L.) under water stress. Scientia Horticulturae. 120: 159–166.
- POZO C., O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.)

en México. SARH-Instituto de Investigaciones Agrícolas. Folleto Técnico No. 17. 40 p.

REYES, J. L.; CAMPOS, F.; WEI, H.; ARORA, R.; YANG, Y.; KARLSON, D.T.; COVARRUBIAS, A. A. 2008. Functional dissection of hydrophilins during *in vitro* freeze protection. *Plant, Cell and Environment*. 31: 1781-1790.

RORAT, T. 2006. Plant dehydrins - Tissue location, structure and function. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 11: 536–556.

ROZEN, S.; SKALETSKY, H. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers, pp. 365-386. In: *Bioinformatics Methods and Protocols*. KRAWETZ, S.; MISENER, S. (eds.). Humana Press, Totowa, NJ.

SALEKDEH, G.H.; REYNOLDS, M.; BENNETT, J.; BOYER, J. 2009. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in Plant Science*. 14: 488–496.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.

SCHOLANDER, P.F.; BRADSTREET, E.D.; HAMMEL, H.T.; HEMMINGSEN, E.A. 1966. Sap concentrations in halophytes and some other plants. *Plant Physiology*. 41: 529-532.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E. A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*. 148: 339-346.

SERNA-PÉREZ, A.; ZEGBE, J.A., MENA-COVARRUBIAS, J. 2011.

Rendimiento y calidad de chile seco 'Mirasol' cultivado bajo riego parcial de la raíz. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 17: 19–24.

SERNA-PÉREZ, A.; ZEGBE, J.A. 2012. Rendimiento, calidad de fruto y eficiencia en el uso del agua del chile 'mirasol' bajo riego deficitario. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35: 53–56.

STEINER, A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 15: 134-154.

WULLSCHLEGER, S. D.; OOSTERHUIS, D. M. 1991. Osmotic adjustment and the growth response of seven vegetable crops following water-deficit stress. *HortScience*, 26: 1210-1212.

XION, L.; SCHUMAKER, K. S.; ZHU, J. K. 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell*. 14:S165-S183.

XION, L.; ZHU, J. K. 2002. Molecular and genetic aspect of plant responses to osmotic stresses. *Plant Cell and Environment*. 25: 131-139.

ZERMEÑO-GONZÁLEZ, A.; GARCÍA-DELGADO, M.A., CASTRO-MEZA, B.I.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, H. 2007. Tensión de humedad del suelo y rendimiento de fruto en limón italiano. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(3), 295-303.

ZHU, .JK. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 53: 247–273

IV. CONCLUSIONES

Los transcritos para la dehidrina 1 en chiles serranos, muestran una expresión constitutiva que se ve claramente aumentada como respuesta al déficit hídrico.

El chile serrano Pánuco acumuló mayores niveles de los transcritos *dhn1* como respuesta al déficit hídrico.

La dehidrina 1 puede ser usada como marcador molecular de estrés por déficit hídrico.

V. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Melendez, A., P. L. Morell, M. L. Roose, and S.-C. Kim. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *Am. J. Bot.* 96: 1190-1202.
- Aktas H., Karni L., Dong-Chil C., Turhan E., Bar-Tal A., Alón B. (2005). The suppression of salinity-associated oxygen radicals production, in pepper (*Capsicum annuum*) fruit, by manganese, zinc and calcium relation to its sensitivity to blossom-end rot. *Physiol. Plant.* 123:67-74.
- Bray EA. (1993). Molecular Responses to Water Deficit. *Plant Physiol.* 103: 1035–1040.
- Brini F, Hanin M, Lumbreras V, Amara I, Khoudi H, Hassairi A, Pages M, Masmoudi K. (2007). Overexpression of wheat dehydrin DHN-5 enhances tolerance to salt and osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep.* 26: 2017–2026.
- Campbell S. A., Close T. J., (1997). Dehydrins: genes, proteins, and associations with phenotypic traits. *New Phytol.* 137: 61-74.
- Close T. J. (1996). Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum.* 97:795-803.

- Close T. J. (1997). Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiologia Plantarum*. 100: 291-296.
- Cramer G. R. (2002). Sodium-calcium interactions under salinity stress. In Läubli A, Lüttge U (Eds.) *Salinity: environment-plants-molecules*. Kluwer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 205-227.
- Choi DW, Zhu B, Close TJ (1999). The barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: sequences, allele types, chromosome assignments, and expression characteristics of 11 Dhn genes of cv Dicktoo. *Theoretical and applied genetics*. 98: 1234–1247.
- Hara M, Fujinaga M, Kuboi T (2004). Radical scavenging activity and oxidative modification of citrus dehydrin. *Plant Physiol Biochem*. 42: 657–662.
- Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J. K. And Bohnert H. J. (2002). Plant cellular and molecular response to high salinity; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51 463-499.
- Holmberg N. and Bulow L. (1998). Improving stress tolerance in plants by gene transfer; *Trends Plants Sci.* 3 61-66.
- Kawasaki S, Borchert C, Deyholos M, Wang H, Brazille S, Kawai K, Galbraith D, Bohnert H. J., (2001). Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*. 13(4):889-905.
- Koag MC, Fenton RD, Wilkens S, Close TJ (2003). The binding of maize DHN1 to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity. *Plant Physiol* 131: 309–316.

- Mahajan S., Tuteja N., (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. Arch Biochem Biophys. 444:139-158.
- Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytol. 167:643-663.
- Nylander M, Svensson J, Palva ET, Welin BV (2001). Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol Biol. 45: 263–279.
- Pozo C., O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.) en México. SARH-Instituto de Investigaciones Agrícolas. Folleto Técnico No. 17. 40 p.
- Ramírez S. R., Larrinaga M. A. L., Murillo A. B., Hernández S. N. Y., Fujiyama H. (2008). Respuesta antioxidante enzimática en frutos de chile ancho (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de estrés salino. Interciencia: 33. pp. 377-383.
- Reyes JL, Campos F, Wei H, Arora R, Yang Y, Karlson DT, Covarrubias AA (2008) Functional dissection of hydrophilins during in vitro freeze protection. Plant Cell Environ 31: 1781–1790.
- Rodriguez, E. M., Svensson, J. T., Malatrasi, M., Choi, D. W., & Close, T. J. (2005). Barley Dhn13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression. Theoretical and Applied Genetics, 110(5), 852-858.
- Rorat T. (2006) Plant dehydrins - Tissue location, structure and function. Cell Mol Biol Lett, 11: 536–556.

- Salekdeh GH, Reynolds M, Bennett J, Boyer J (2009). Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends Plant Sci.* 14: 488–496.
- Serrano R. (1999). A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress. *J. Exp. Bot.* 50: 1023-1036.
- Thomashow M. F. (1998) Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance; *Plant Physiol.* 118 1-8.
- Umali D. L. (1993). Irrigation induced salinity. Technical Paper N° 215. World Bank. Washington, DC, EEUU. pp. 3-25.
- Van Breusengem F., Slooten L., Stassart J. M., Botterman J., Moens T., Van Montagu M. and Inze D. (1999). Effects of overproduction of tobacco MnSOD in maize chloroplasts on foliar tolerance to cold and oxidative stress; *J. Exp. Bot.* 50 71-78.
- Xion L, Schumaker K. S. and Zhu J. K. (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress; *Plant Cell.* (suppl: S) 14 165-183.
- Xion L. and Zhu J. K. (2002). Molecular and genetic aspect of plant responses to osmotic stresses; *Plant Cell Environ.* 25 131-139.
- Yu L. X., Setter T. L. (2003). Comparative transcriptional profiling of placenta and endosperm in developing maize kernels in response to water deficit. *Plant Physiol.* 131:568-273.
- Zhu J. K. (2001a) Cell signaling under salt, water and cold stresses; *Curr. Opin. Biotechnol.* 9 214-219.

Zhu J. K. (2001b). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 66-71.

Zhu J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev. Plant Biol.* 53:247-273.