

Respuesta de cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. al estrés por sequía

Amalia Domínguez^{1*}, Yunel Pérez¹, Silvia Alemán¹, Marila Sosa¹, Leticia Fuentes¹, Rodolfo Darias¹, Johny Demey², Ramón Rea², Daynet Sosa^{2*} *Autoras para correspondencia.

¹Centro de Estudios Biotecnológicos, Facultad de Agronomía, Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Autopista a Varadero km 3 1/2, Matanzas, Cuba. e-mail: domnguezamalia94@gmail.com, daynet.sosa@gmail.com

²Area de Agricultura y Soberanía Alimentaria, Instituto de Estudios de Avanzados (IDEA). Caracas 1080, Venezuela.

RESUMEN

La tolerancia al estrés por sequía es un carácter deseado en cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de 22 cultivares de frijol común durante los primeros estadios del desarrollo vegetativo. Las plantas se sometieron a riego al 70% o 20% de capacidad de campo (CC) durante siete días y se midieron los indicadores: contenido relativo de agua, apertura estomática, índice estomático, contenido de prolina y de fenoles totales en hojas. Los datos obtenidos fueron procesados mediante un Análisis de Componentes Principales y las variables estudiadas fueron representadas mediante un gráfico bivariado (Biplot). Fue posible agrupar los cultivares en base a su respuesta en tolerantes, medianamente tolerantes y susceptibles a la condición de estrés hídrico inducida por el riego al 20% de CC. La apertura estomática y el contenido relativo de agua fueron los indicadores recomendados para ser utilizados como criterio de selección de cultivares de frijol tolerantes al estrés hídrico.

Palabras clave: ACP, estrés hídrico, frijol común, prolina

Response of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars to drought stress

ABSTRACT

Tolerance to drought is a desired cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. The present study aimed to determine the response of 22 cultivars of common bean during the early stages of vegetative development character. The plants were subjected to irrigation at 70% or 20% of field capacity (FC) for seven days and the indicators were measured relative water content, stomatal opening, stomatal index, proline content and total phenols in leaves. The data obtained were processed using a principal component analysis and the variables studied were represented by a bivariate graph (biplot). It was possible to group the cultivars based on their response in tolerant, moderately tolerant and susceptible to water stress condition induced by irrigation at 20% FC. Stomatal opening and relative water content were recommended to be used as criteria for selecting cultivars tolerant to water stress indicators bean.

Key words: PCA, *Phaseolus vulgaris* L., proline, water stress

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye una de las principales fuentes de alimentación por su amplio consumo y valor nutritivo (Phillip *et al.*, 2006). Sin embargo, varios factores abióticos como el estrés hídrico, provocan una disminución en el rendimiento de este cultivo (Campos *et al.*, 2011). Se ha estimado que la sequía reduce en un 60% la producción mundial de granos de frijol común (Porch *et al.*, 2009). Por ello, se hace necesario el desarrollo de investigaciones encaminadas

a la identificación y la obtención de cultivares tolerantes a la sequía, que contribuyan al incremento de la producción de este cultivo.

Además, el déficit hídrico afecta negativamente procesos fisiológicos y bioquímicos importantes tales como la fotosíntesis, la respiración, el metabolismo de los carbohidratos, la nutrición mineral de la planta y la síntesis de promotores del crecimiento (Abdellatif *et al.*, 2012).

Las plantas presentan mecanismos antiestrés que les permiten una mejor adaptación a los

cambios variables de humedad en el ambiente, que ocurren normalmente durante su ciclo de vida. Entre estos se encuentran la producción de compuestos osmóticamente activos como la prolina, los azúcares y las poliaminas (Celikkol *et al.*, 2010), la activación de los mecanismos de defensa antioxidante, enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasas) y no enzimáticos (ácido ascórbico, glutatión, fenoles) (Petridis *et al.*, 2012); así como el aumento de las concentraciones de ácido abscísico que provocan el cierre estomático, lo cual evita la pérdida excesiva de agua y la muerte por deshidratación de la planta (García, 2005).

Numerosos trabajos de selección de variedades tolerantes a estrés hídrico han basado su estudio en el análisis independiente de indicadores tales como: velocidad de crecimiento, contenido relativo de agua, área foliar, estabilidad de membrana (Praba *et al.*, 2009); así como el contenido de prolina y de clorofilas totales y la actividad de las enzimas antioxidantes (Kalefetođlu y Ekmekçi, 2009). Sin embargo, el Análisis de Componentes Principales (ACP) y bivariados, podrían constituir herramientas útiles para la selección de cultivares que muestren tolerancia a estrés hídrico.

El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de cultivares de frijol común al estrés por sequía mediante la evaluación de indicadores fisiológicos y bioquímicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon semillas de 22 cultivares de frijol común suministrados por la Empresa Provincial de Semillas de Matanzas de Cuba (CC 25-9 - colorado C₅E₈T- 1551, CC 25-9 negro C₆E₁₁T- 1567, CC 25-9 blanco, Milagro Villaclareño -negro C₅E₃T - 1460 y BAT - 58 C₅E₇T- 1380,) y el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP) de Venezuela (MGM – 08-02-072 negro 2261, MGM- 08-02-026 La Poncha blanco 2839, MGM – 08-02-023 rojo 2238, MGM- 08-02-066 negro 2256, MGM- 10-02-011 Negro 2288, MGM- 10-02-012 Negro 2289, MGM-10-02-029 Negro 2305, MGM- 10 – 02- 078 Rosada con pinta 2350, MGM – 10-02- 083 Rosada 2215,

MEM – 03-02- 002 Poncha Negro 2215, MEM – 03-01-01 Plomito Negro 2150, MGM – 09-02-01 Negro 2279, MGM- 03-99-03 Vaina Blanca Negro 2025, DP- 03-01- 009 Negro Vaina Blanca 2141, DP- 03- 01-026 Negro de Macaira 2148, Tacarigua Negro 07-875 y Montalbán Negro 07-875).

Las semillas se sembraron en envases plásticos de 400 ml de capacidad con sustrato compuesto por suelo vegetal y turba (3:2). Previo a la siembra se determinó la capacidad de campo (CC) del sustrato mediante el método gravimétrico. El riego se mantuvo a plena capacidad de campo (CC) durante 28 días, hasta que las plantas desarrollaron el primer trifolio. Posteriormente se dividieron en dos tratamientos: T1: 70% CC (riego normal) y T2: 20% CC (estrés hídrico severo). El experimento se detuvo 7 días después de inducido el estrés, cuando los cultivares más susceptibles mostraron la presencia de marchitez e inicio de clorosis en las hojas.

Se utilizó un diseño completamente al azar y tres réplicas por cada tratamiento y cultivar. Las plantas fueron mantenidas en casa de cultivo, con un fotoperíodo de 13 horas luz y a temperatura promedio diaria de 24°C ± 2.

Se determinó la respuesta de los cultivares al estrés hídrico mediante la caracterización de cinco indicadores fisiológicos y bioquímicos, durante los primeros estadios del desarrollo vegetativo. Los indicadores fueron: índice estomático, apertura estomática, contenido relativo de agua, contenido de fenoles totales y contenido de prolina. Los resultados se analizaron de conjunto a través de un análisis de componentes principales (ACP) y fueron representados mediante un gráfico bivariado (Biplot) (Jolliffe, 2002). Los cultivares se agruparon según su respuesta a los indicadores evaluados y se clasificaron en tolerantes (T), medianamente tolerantes (MT) y susceptibles (S) a la condición de estrés hídrico inducido por el riego al 20% de CC.

Índice estomático y apertura estomática

Para el estudio epidérmico se utilizó la técnica de la huella epidérmica descrita por Rodés y Collazo (2006). Se seleccionaron porciones de aproximadamente 1.5 cm² tanto de la superficie adaxial como abaxial de la hoja y se evaluaron

cinco campos por muestra de cada tratamiento. Se empleó para la observación un microscopio de contraste de fase marca Olympus B a un aumento de 400x y se tomaron microfotografías de las muestras. El índice estomático (IE) se determinó utilizando la fórmula de Salisbury sugerida por Wilkinson (1979).

$$IE = [NE/NCE + NE] * 100$$

dónde, NE es el número de estomas por campo de observación y NCE es el número de células epidérmicas típicas en el campo de observación.

La apertura estomática fue observada en un microscopio óptico Leica con un aumento de 400x. Las imágenes fueron capturadas y procesadas con el programa Micrometrics SE Premium. Para el cálculo se utilizaron cinco muestras por cada variante experimental.

Contenido relativo de agua (CRA)

Se utilizaron discos foliares de 1 cm de diámetro obtenidos con un horador, los cuales fueron pesados en una balanza digital Sartorius para la determinación de la masa fresca (cinco discos por tratamiento de plantas diferentes). Para la determinación de la masa seca los discos fueron introducidos en una estufa a 60°C hasta obtener peso constante. La fórmula para la determinación del CRA fue la descrita por Ascón y Taylón (2000).

$$CRA = [PF - PS / PT - PS] * 100$$

dónde:

PF: masa fresca de la hoja.

PS: masa seca de la hoja.

PT: masa de la hoja turgente.

Para la determinación del contenido de fenoles y prolina se tomaron hojas de todos los cultivares de ambos tratamientos, las cuales fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a - 80°C hasta el momento del ensayo.

Contenido de fenoles totales

La extracción de los fenoles solubles se realizó en 10 volúmenes de metanol. Las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 27 200 g. El precipitado se resuspendió en NaOH 2M para la extracción de los fenoles ligados a

las paredes celulares, neutralizándose en igual volumen de HCl 2M (Gurr *et al.*, 1992). Para la determinación de la concentración de fenoles se midió la absorbancia a 760 nm, empleando ácido clorogénico (0.05 mol l⁻¹) (Serva, Heidelberg, Alemania) como patrón. A partir de los valores obtenidos de concentración de fenoles solubles y ligados a pared se calcularon las concentraciones de fenoles totales.

Contenido de prolina

La determinación de prolina se realizó según lo descrito por Bates *et al.* (1973) a partir de una curva estándar de prolina (mg ml⁻¹) (Merck, Darmstadt-Alemania).

Análisis e interpretación de los datos

Todos los análisis fueron realizados utilizando el programa InfoStat ver. 2010 (Di Rienzo *et al.*, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de componentes principales (ACP), con los cinco indicadores mostró que la mayor parte de la variabilidad fue explicada por los dos primeros, CP1 (48.40%) y CP2 (24.79%) y explicaron en conjunto un 73.19% de la varianza total del ensayo. Los vectores, según su magnitud y dirección, mostraron la participación de los indicadores fisiológicos y bioquímicos dentro de cada componente (Tabla 1).

Se encontró una asociación alta entre el contenido de prolina, contenido de fenoles totales en hoja, IE por el envés y por el haz en condiciones de 20% CC. La apertura estomática y el CRA correlacionaron positivamente con la tolerancia al estrés, en cambio el índice estomático se asoció opuestamente a la apertura estomática (formaron un ángulo obtuso entre ellos) (Figura 1). Este gráfico permitió agrupar los cultivares y los patrones similares de respuesta al estrés hídrico según los indicadores evaluados. Las variables con ángulo agudo entre ellas, indican asociación positiva o de comportamiento similar. La ausencia de asociación entre variable es dada por el ángulo recto (90°) entre vectores y la asociación negativa por un ángulo obtuso 180° (Yan y Tinker, 2005).

Tabla 1. Valores de la contribución de los componentes en la variación total.

Indicadores	CP 1	CP 2
Apertura estomática	-0.6934	0.2461
Contenido de prolina (20% CC)	0.6286	0.5953
Fenoles totales hoja	0.5933	0.4711
IE envés (20%CC)	0.9063	-0.0906
IE haz (20% CC)	0.8808	-0.1676
CRA (20% CC)	-0.2808	0.9022

Correlación cofenética= 0.943

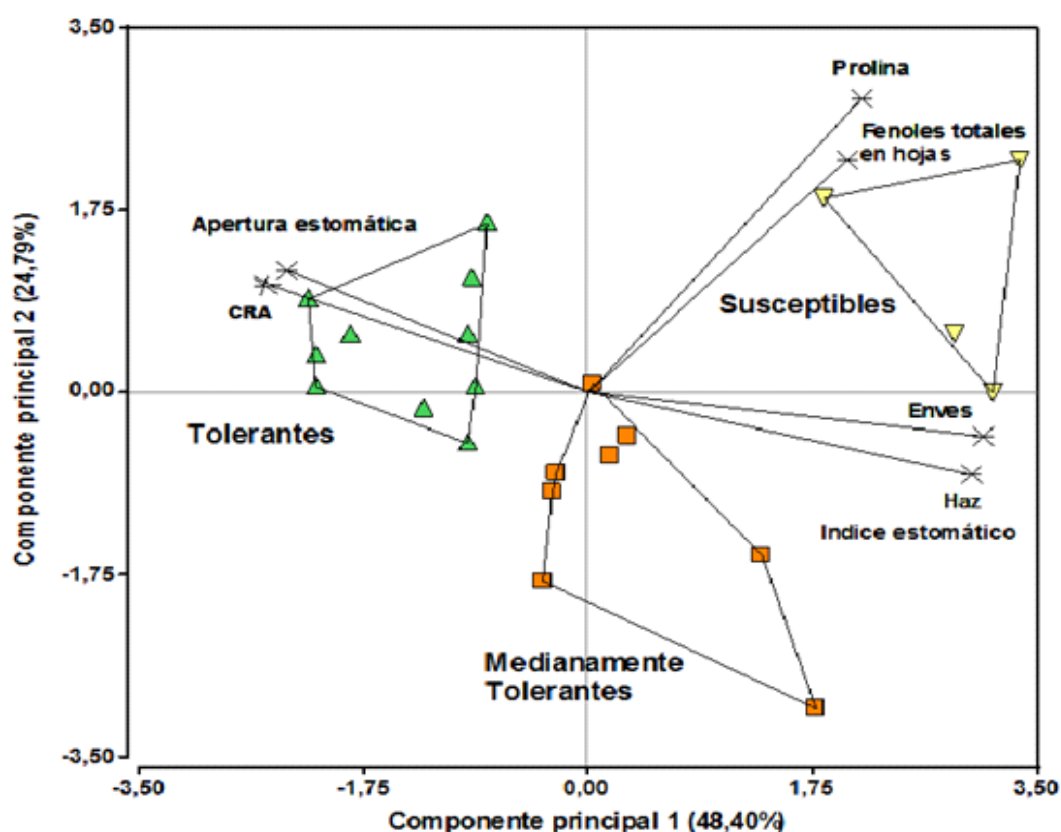


Figura 1. Distribución de los cultivares de *P. vulgaris* y las variables evaluadas según el análisis de componentes principales.

En cuanto a la distribución de los tratamientos (T1: 70% riego normal y T2: 20% de CC) en función de los 22 cultivares se encontró dispersión en la ubicación de estos en los componentes CP1 y CP2 (Figuras 1 y 2), que pudiera estar dado por las características intrínsecas de cada genotipo que condiciona la respuesta a los indicadores evaluados. Se conformaron tres grupos de cultivares bien diferenciados, los tolerantes ubicados en el

sector izquierdo y arriba del gráfico y los susceptibles en el sector derecho (Figura 1).

El grupo I incluyó 10 cultivares (CC 259 - colorado C₅E₈T- 1551, MGM-08-02-026 La Poncha blanco 2239, MGM-08-02-023 rojo 2238, MGM-10-02-011 Negro 2288, MGM-10-02-029 Negro 2305, MGM-10-02-078 Rosada con pinta 2350, MGM-03-99-03 Vaina Blanca Negro 2025, DP-03-01-026 Negro de Macaira 2148, Milagro Villaclareño

-negro C₅E₃T - 1460, BAT 58C₅E₇T- 1380) que mostraron una tolerancia al estrés hídrico (20% CC).

El grupo II incluyó ocho cultivares (MEM – 03-02- 002 Poncha Negro 2215, CC 25-9 blanco, MGM – 08-02-072 negro 2261, MGM – 10-02-083 Rosada 2215, MEM – 03-01-01 Plomito Negro 2150, MGM- 08-02-066 negro 2256, MGM- 10-02- 012 Negro 2289, DP- 03-01- 009 Negro Vaina Blanca 2141) que mostraron un comportamiento intermedio para el estrés hídrico y fueron clasificados como medianamente tolerantes.

El grupo III incluyó a cuatro cultivares (Tacarigua Negro 07-875, Montalbán Negro 07-875, MGM – 09-02-01 Negro 2279, CC 25-9 negro C₆E₁₁T- 1567) que se mostraron como susceptibles al estrés hídrico (20% CC).

Las respuestas de los cultivares ubicados en cada grupo a los indicadores evaluados mostró que los valores de IE fueron en general mayores en los cultivares susceptibles que en los tolerantes, tanto en la superficie adaxial como en la abaxial. Por

otra parte, la apertura estomática para los cultivares tolerantes fue superior en comparación con los susceptibles. Estos resultados sugieren, que los cultivares tolerantes deben poseer otros mecanismos que garanticen el control osmótico y un estado hídrico que permita un funcionamiento fisiológico adecuado para la planta, como por ejemplo la síntesis de otros osmolitos como proteínas, aminoácidos, azúcares y poliaminas, así como un mejor control en la expresión de acuaporinas (Sunita *et al.*, 2014).

El CRA de las hojas disminuyó significativamente (p<0.05) al comparar el resultado obtenido entre los tratamientos 70% CC y 20% CC (estrés hídrico), en la mayoría de los cultivares susceptibles, a diferencia de los tolerantes cuyos valores para dichos tratamientos no mostraron diferencias significativas. El contenido relativo de agua constituye un indicador importante que caracteriza el estado hídrico interno de las plantas. Bajo condiciones de estrés hídrico ha sido utilizado exitosamente en la identificación de cultivares resistentes a sequía en diferentes cultivos entre ellos *Phaseolus vulgaris* L. (Yagmur y Kaydan, 2008).

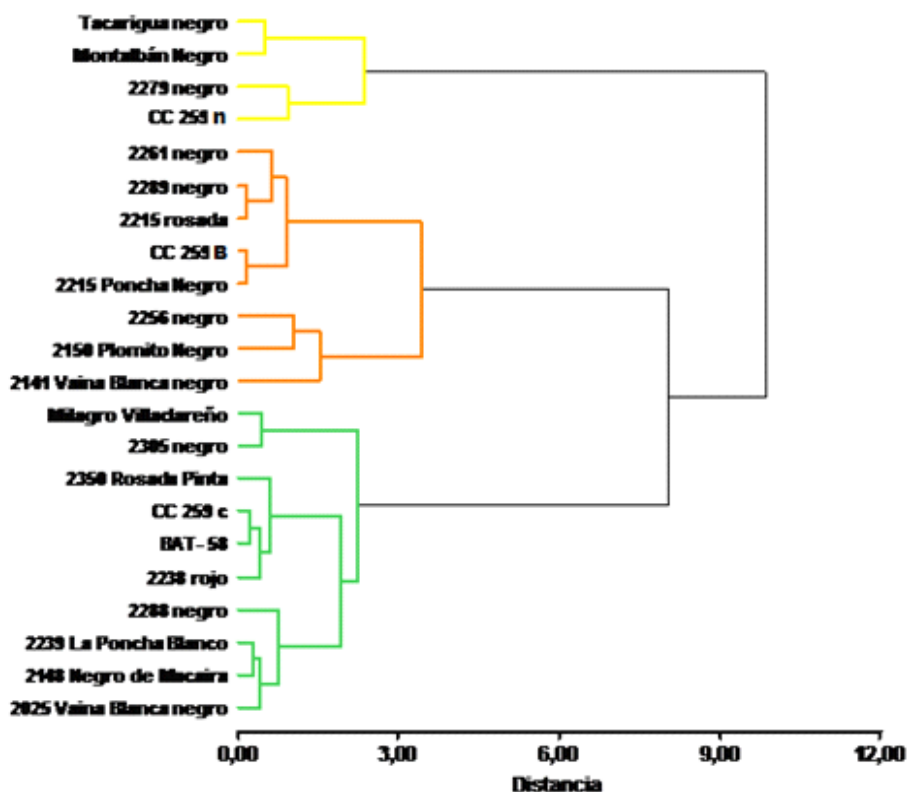


Figura 2. Dendrograma obtenido del análisis de conglomerado para los indicadores evaluados.

En el contenido de fenoles totales se pudo observar una respuesta heterogénea tanto de los cultivares tolerantes como en los susceptibles al estrés hídrico. En este sentido, Tomasz *et al.* (2007) al realizar estudios con cultivares de *Triticosecale* sp. resistentes y tolerantes al estrés hídrico, encontraron individuos clasificados como tolerantes en estudios de campo con una mayor concentración de fenoles totales en las plantas sometidas a estrés, mientras que otros refirieron un decremento con respecto al control. De manera similar, se encontraron individuos susceptibles que respondieron indistintamente al estrés hídrico tanto con un aumento, una disminución o sin cambios en el contenido de fenoles.

El contenido de fenoles ha sido referido como un posible mecanismo de protección frente al estrés hídrico (Abbas *et al.*, 2014), ya que participan en la eliminación de las especies reactivas del oxígeno, cuyos niveles se exacerban en condiciones de estrés abiótico. Sin embargo, los resultados obtenidos no reflejan una asociación entre los contenidos de fenoles y el carácter tolerancia al déficit hídrico. Esto pudiera estar dado porque en la respuesta antiestrés pueden operar otros mecanismos de desintoxicación como el aumento de la expresión de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas; así como otros compuestos de naturaleza no proteica como el ácido ascórbico y los pigmentos caroteoides (Celikkol *et al.*, 2010; Mervat y Dawood, 2014).

El contenido de prolina libre fue significativamente ($p < 0.05$) más elevado en las plantas en condiciones de estrés hídrico que en las desarrolladas en condiciones normales; mientras que las especies susceptibles mostraron mayores niveles de este compuesto que las tolerantes. Estos resultados concuerdan con lo informado en diferentes especies por otros autores (Montesinos-Pereira *et al.*, 2014). La prolina ha sido referida como un compuesto protector frente a cambios osmóticos por efecto de estreses abióticos como el déficit hídrico y la salinidad (Abbas *et al.*, 2014). Muchas especies de plantas acumulan prolina libre como respuesta rápida a la sequía previniendo el desbalance osmótico y evitando la deshidratación sin alterar su metabolismo (Avendaño *et al.*, 2005), lo que

permite mantener la turgencia de los tejidos y por ende la función celular.

Estos resultados sugieren que la prolina por sí sola no es capaz de lograr un ajuste osmótico en el caso del frijol, ya que los cultivares susceptibles, las cuales mostraron mayores niveles de este compuesto fueron las de mayor marchitez. Por el contrario, Misra y Gupta (2005), refirieron valores superiores del contenido de prolina en brotes de cultivares de *Phaseolus aureus* tolerantes con respecto a los susceptibles. Esta contradicción pudiera estar asociada con el hecho de que la prolina, más que un indicador de tolerancia a sequía, refleja el estado hídrico de la planta.

La respuesta de tolerancia de las plantas a la sequía, implica la intervención de una serie de mecanismos anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares. Por esta razón, la utilización de criterios de selección basados en indicadores de estos mecanismos, se convierte en herramienta valiosa para la selección de cultivares tolerantes. En el caso del frijol común, algunos autores han descrito la importancia de combinar diferentes criterios de selección a la hora de identificarlos (Lizana *et al.*, 2006; Muñoz-Perea *et al.*, 2006).

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo permitieron agrupar 22 cultivares de frijol común a partir de su respuesta a cinco indicadores fisiológicos y bioquímicos y sientan las bases para la selección de cultivares tolerantes al estrés hídrico. La apertura estomática y el CRA presentaron correlaciones con la tolerancia y pueden ser utilizados como criterio de selección. En estudios posteriores se podrán combinar con otras variables y dilucidar el papel del genotipo en esta respuesta. El empleo del Análisis de Componentes Principales junto al Biplot, constituyeron herramientas útiles para la clasificación de los cultivares.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Empresa Provincial de Semillas de Matanzas, la donación de las semillas cubanas de *Phaseolus vulgaris* y al Banco de germoplasma del INIA-CENIAP de Venezuela, la donación de los materiales venezolanos que permitieron la realización del

estudio. Fuente de financiamiento: Proyecto Cuba-Venezuela: Utilización de herramientas biotecnológicas para la identificación y caracterización de variedades de leguminosas resistentes a estrés abiótico. 2007

REFERENCIAS

- Abbas, SR, Ahmad SD, Sabir SM, Shah AH (2014) Detection of drought tolerant sugarcane genotypes (*Saccharum officinarum*) using lipid peroxidation, antioxidant activity, glycine-betaine and proline contents. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14 (1): 233-243
- Abdellatif, KA, El S, El Ab, Zakaria A (2012) Drought stress tolerance of faba bean as studied by morphological traits and seed storage protein pattern. *Journal of Plant Studies* 1 (2):47-54
- Ascón, J, Taylón M (2000) Fundamentos de fisiología vegetal. Mc Graw - Hill/ Interamericana de España. Primera Edición
- Avendaño, CH, Trejo C, López C, Molina JD, Santacruz A, Castillo F (2005) Comparación de la tolerancia a la sequía de cuatro variedades de maíz (*Zea mays* L.) y su relación con la acumulación de prolina. *INCI* 9: 560-564
- Bates, LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207
- Campos, GM, Garcia D, Perez Y, Ramis C (2011) Respuesta de 20 variedades de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) ante el estrés por NaCl durante la germinación y en fase plantular. *Biagro* 23(3): 215-224
- Celikkol, AU, Ercan O, Kavas M, Yildiz L, Yilmaz C, Oktem HA, Yucel M (2010) Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation* 61:21–28
- Di Rienzo, JA, Balzarini M, Casanoves F, González L, Tablada M, Robledo CW (2011) InfoStat/ profesional versión 1.1. Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba
- García, P (2005) Plasticidad estructural de la pared celular durante la habituación-deshabituación de cultivos celulares de alubia a diclobenil. Tesis en opción del grado de Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de León, España
- Gurr, SI, Mc Pherson MI, Bowles DJ (1992) Lignin and associated phenolic acids in cell walls. *Molecular Plant Pathology and Practical Approach* 3: 62-69
- Jolliffe, IT (2002) *Principal Component Analysis*, Series. Springer Series in Statistics. 2nd ed, pp.1-63. Springer. Dordrecht
- Kalefetođlu, MT, Ekmekçi Y (2009) Alterations in Photochemical and Physiological Activities of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. *Journal of Agronomy & Crop Science* 195: 335–346
- Lizana, C, Wentworth M, Martinez JP, Villegas D, Meneses R, Murchie EH, Pastenes C, Lorzri B, Vernieri P, Horton P, Pinto M (2006) Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. *Journal of Experiment of Botany* 57 685–697
- Mervat, Sh, Dawood MG (2014) Role of ascorbic acid and á tocopherol in alleviating salinity stress on flax plant (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 10 (1): 93-111
- Misra, N, Gupta AK (2005) Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Science* 169: 331–339
- Montesinos-Pereira, D, Barrameda-Medina Y, Romero L, Ruiz JM, Sánchez-Rodríguez E (2014) Genotype differences in the metabolism of proline and polyamines under moderate drought in tomato plants. *Plant Biology* 15 (2):89-97
- Muñoz-Perea, CG, Teran H, Allen RG, Wright JL, Westermann DT, Singh SP (2006) Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Science* 46: 2111–2120
- Petridis, A, Therios I, Samouris G, Tananaki C (2012) Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. *Environment Experimental Botany* 79: 37–43
- Phillip, N, Kelly J, Steve D, Beebe E, Blair MW (2006) Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 147: 105–131
- Porch, T, Ramírez V, Santana D, Harmsen E (2009) Evaluation of common bean for drought tolerance in Juana Diaz, Puerto Rico. *Journal of Agronomy & Crop Science* 195:328-334
- Praba, ML, Cairns JE, Babu RC, Lafitte HR (2009) Identification of Physiological Traits Underlying Cultivar Differences in Drought Tolerance in Rice and Wheat. *Journal Agronomy & Crop Science* 195: 30–46
- Rodés, GR, Collazo OM (2006) *Manual de Prácticas de Fotosíntesis*: 7.1era ed. Universidad Autónoma de México. México DF

- Sunita, K, Srivastava M, Abbasi P (2014) Response of *Tephrosia purpurea* L. to salinity stress in relation to germination, carotenoid content and proline content. *Biolife* 2 (1): 276-281
- Tomasz H, Grzesiak S, Hura K, Thiemt E, Tokarz K, Wedzony M (2007) Physiological and biochemical tools useful in drought-tolerance detection in genotypes of winter triticale: accumulation of ferulic acid correlates with drought tolerance. *Annals of Botany*: 1–9
- Wilkinson, H (1979) The plant surface (mainly leaf) En: Metcalfe CR, L Chalk (Eds.). *Anatomy of dicotyledons*. Second edition. Vol. 1. Oxford Clarendon Press. London
- Yagmur, M, Kaydan D (2008) Early seedling growth and relative water content of triticale varieties under osmotic stress of water and NaCl. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 4(6): 767-772
- Yan, W, Tinker NA (2005) A biplot approach to the investigation of QTL-by environment patterns. *Molecular Breeding* 15:31-43

Recibido: 4-10-2013

Aceptado: 20-12-2013