

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
Subdirección de Estudios de Postgrado



*Evaluación de Algunos Aspectos Fisiológicos y
Bioquímicos Relacionados con la Resistencia a
Diferentes Factores de Estrés en Sorgo Glossy*

TESIS

*Que Como Requisito Parcial para Obtener
el Grado Académico de*

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLOGICAS
con Especialidad en Botánica

Presenta:

MANUEL DE LA ROSA IBARRA

Monterrey, N. L.

Octubre de 1996

TD
SB235
R6
C.1



1080072447

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
Subdirección de Estudios de Postgrado



*Evaluación de Algunos Aspectos Fisiológicos y
Biorreguladores Relacionados con la Resistencia a
Diferentes Factores de Estrés en Sorgo Glaseo*

TESIS

*Que Como Requisito Parcial para Obtener
el Grado Académico de*

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLOGICAS
con Especialidad en Botánica

Presenta:

MANUEL DE LA ROSA IZARRA

Monterrey, N. L.

Octubre de 1994

TD
SB235
R6



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**"EVALUACION DE ALGUNOS ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y
BIOQUÍMICOS RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA A
DIFERENTES FACTORES DE ESTRÉS EN SORGO GLOSSY"**

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
ACADEMICO DE**

**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLOGICAS
CON ESPECIALIDAD EN BOTANICA**

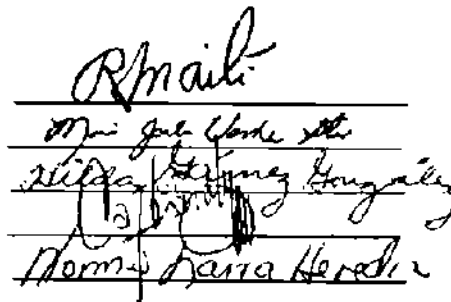
PRESENTA:

MANUEL DE LA ROSA IBARRA

COMISION DE TESIS

Aprobada

**DR. RATIKANTA MAITĪ (DIRECTOR)
DRA. JULIA VERDE STAR (CO-DIRECTOR)
DRA. HILDA GAMEZ GONZALEZ (ASESOR)
DR. CARLOS HERNANDEZ LUNA (ASESOR)
DRA. NORMA L. HEREDIA ROJAS (ASESOR)**


The image shows four handwritten signatures, each written over a horizontal line. From top to bottom, the signatures appear to be: 'Ratikanta Maiti', 'Julia Verde Star', 'Hilda Gamez Gonzalez', and 'Norma L. Heredia Rojas'. The signatures are in cursive and somewhat stylized.

Monterrey, N.L.

Septiembre de 1996.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. R.K. Maiti por su excelente dirección y sus acertados comentarios y sugerencias para la terminación de este trabajo. Le agradezco también el apoyo y estímulos brindados desde siempre, además de su amistad personal. Gracias Doctor Maiti.

A La Dra. Ma. Julia Verde Star por sus buenos comentarios y por su buena disposición para ayudarme a resolver siempre los problemas que se me presentaron. Gracias por brindarme siempre una sonrisa.

A la Dra. Hilda Gámez González por su buena disposición y apoyo en todos los aspectos, así como en la revisión y las valiosas sugerencias y correcciones aportadas al escrito final.

A la Dra. Norma L. Heredia Rojas por su invaluable colaboración y por su desinteresado apoyo en la elaboración de las pruebas de electroforesis además de su excelente revisión del escrito.

Al Dr. Carlos Hernández Luna por su activa participación en la revisión del escrito final así como por sus importantes correcciones, sugerencias y consejos.

Al Dr. Rahim Foroughbakhch P., Dr. Mohammed Badii, Dr. Idelfonso Fernández S. y Dr. José Santos García A. integrantes del Comité Doctoral, por sus valiosos comentarios y sugerencias y por su final aprobación del presente trabajo.

INDICE

Contenido	Páginas
Introducción	1
Objetivo General	3
Objetivos Específicos	3
Hipótesis	4
Antecedentes	5
Características anatómicas relacionadas con la resistencia a la sequía	7
Adaptaciones fisiológicas a diferentes condiciones de estrés	14
El déficit hídrico y su relación con la absorción de CO ₂ fotosintético	16
El Déficit hídrico y la resistencia estomática	17
El Déficit hídrico y la resistencia intercelular	19
Efecto del déficit hídrico en el proceso bioquímico de fotosíntesis.....	21
Recuperación del proceso fotosintético después del déficit hídrico	23
Adaptaciones bioquímicas para la tolerancia a diferentes factores de estrés	26
Contenido de prolina	26
Contenido de ácido cianhídrico	29
Contenido de ceras epicuticulares	31
Contenido de clorofila total	32

Síntesis de proteínas específicas bajo diferentes condiciones de estrés...	33
Estrés por salinidad	36
Estrés hídrico	42
Estrés por alta temperatura	48
Material es y Métodos	53
Resultados	64
Discusión	85
Conclusiones	95
Recomendaciones.....	97
Literatura Citada	98

RESUMEN

25 genotipos de sorgo glossy y no-glossy fueron evaluados en una primera etapa de este trabajo para seleccionar genotipos resistentes y susceptibles a sequía, salinidad y altas temperaturas respectivamente en etapa de plántula. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 25 x 2 en tres repeticiones. Como resultado de estos experimentos, se seleccionaron las líneas resistentes y susceptibles en base a los valores más altos y más bajos de los índices de tolerancia. En general las líneas glossy mostraron una mayor resistencia a los diferentes factores de estrés comparadas con las líneas no-glossy. En una segunda etapa de este trabajo, los genotipos seleccionados fueron sometidos a una combinación de los tres factores de estrés. Se evaluaron algunos aspectos fisiológicos (Asimilación de CO₂, Transpiración y Uso eficiente del agua) y la fluctuación de algunos compuestos bioquímicos (Clorofila total, Acido Cianhídrico, Prolina, Ceras Epicuticulares y la síntesis de Proteínas específicas). Se encontró una gran variabilidad genética entre los genotipos glossy y no-glossy en sus características fisiológicas y bioquímicas bajo las condiciones de sequía, salinidad y alta temperatura. Las líneas resistentes a los diferentes factores de estrés produjeron una mayor cantidad de prolina y de ácido cianhídrico los cuales son considerados como compuestos de regulación osmótica. Se observó la producción de varias proteínas específicas como resultado del efecto de estrés, que podrían actuar como compuestos osmorreguladores o induciendo la síntesis de compuestos con esta función como son la prolina o el ácido cianhídrico. Las líneas resistentes sintetizaron una proteína específica en la banda de 26 kDa que no fue producida por las líneas susceptibles. La producción de estas proteínas por los genotipos resistentes (glossy) y su ausencia en los genotipos susceptibles (no-glossy), es una fuerte evidencia del importante papel que juegan estas proteínas en el mecanismo de resistencia del sorgo glossy a los diferentes factores de estrés.

ABSTRACT

25 genotypes of sorghum glossy and non-glossy were evaluated in this work in order to select resistant and susceptible genotypes to drought, salinity and high temperature respectively in the seedling stage. An experimental design was used completely at random with factorial arrangement of 25 x 2 in three replications. As a result of these experiments, the resistant and susceptible lines based on the highest and lower values were selected of the indexes of tolerance. In general the glossy lines showed a resistance to the several stress factors compared with the lines non-glossy. In a second stage of this work, the selected genotypes were subjected to a combination of the three stress factors. Some physiological aspects (assimilation of CO₂, transpiration and efficient use of water) were evaluated and the fluctuation of some biochemical compounds (chlorophyll, hydrocyanic acid, proline, epicuticular waxes and the synthesis of specific proteins). It was a great genetic variability between the glossy and non-glossy genotypes in their biochemical characteristics under conditions of drought, salinity and high temperature. The production of several specific proteins was observed as a result of the stress effect, which they could act like osmotic regulators compounds or inducing the synthesis of compounds with this function how they are proline or hydrocyanic acid. The production of these proteins for the resistant genotypes (glossy) and their absence in the susceptible genotypes (non-glossy), it is strong evidence of the important role that they play these proteins in the mechanism of resistance of the sorghum glossy to the several stress factors.

INTRODUCCION

El sorgo es un cultivo que aunque no es utilizado como alimento humano en nuestro país, significa el ingrediente básico en la fabricación de alimentos balanceados para la industria pecuaria.

En México el cultivo del sorgo se siembra bajo riego y temporal ocupando las zonas temporaleras casi el 67 % de la superficie sembrada. Las precipitaciones pluviales, especialmente en la zona noreste del país son escasas y mal distribuídas presentándose períodos de sequía muy severos. En esta región del país, además de las bajas precipitaciones, existen otros factores como la salinidad en el suelo, altas temperaturas, plagas y enfermedades que disminuyen substancialmente el rendimiento o causan la pérdida total de los cultivos.

El sorgo se ha caracterizado desde tiempos muy remotos por su rusticidad y gran tolerancia a algunos factores adversos lo que le permite prosperar en los ambientes mas hostiles y donde la mayoría de los demás cultivos fracasan o producen muy bajos rendimientos (House, 1980). Al igual que los demás cultivos, el sorgo ha sido objeto de múltiples cruzas para lograr un mejoramiento genético, lo que ha ocasionado que variedades que producen altos rendimientos bajo las condiciones óptimas de cultivo (riego, fertilización, plaguicidas, etc,) hayan perdido parte o toda la resistencia natural que sus antepasados mostraron hacia diferentes factores de estrés.

Algunos trabajos de investigación han demostrado que existe una amplia variabilidad genética en el sorgo con

respecto a la tolerancia hacia factores de estrés como la sequía, salinidad y las altas temperaturas (Jordan, 1983; Cabrera, 1987; Leal, 1990; Sandoval, 1991; De La Rosa, 1993). Dentro de esta variabilidad genética, la característica "glossy" que presentan solamente algunos genotipos, ha sido relacionada con la resistencia a la sequía y al ataque de la mosca del vástago, comparada con la susceptibilidad de las líneas "no-glossy" (Maití y Bidinger, 1979; Maití *et al.*, 1984).

Recientemente se ha encontrado que plantas de sorgo "glossy" y "no-glossy" que fueron sometidas a diferentes factores de estrés, mostraron diferencias en la fluctuación del contenido de algunos compuestos bioquímicos como prolina en las raíces, ácido cianhídrico, clorofila y ceras epicuticulares en las hojas y la acumulación de iones de sodio tanto en la vaina como en la hoja (De La Rosa y Maití, 1995). La acumulación de estos compuestos proporciona a las células de las diferentes estructuras de la planta, la capacidad de regular el agua del citoplasma al actuar como ajustadores osmóticos y mantener un potencial hídrico a favor de la célula aún en situaciones severas de estrés.

El presente trabajo fué realizado para conocer a un nivel más profundo el origen de la capacidad que tienen algunos genotipos de sorgo "glossy" de poder sintetizar y acumular compuestos en el citoplasma cuando se encuentran afectados por algunos factores de estrés. Esta información pudiera ser utilizada en algún programa de fitomejoramiento y restaurar la capacidad de resistencia a diferentes factores de estrés, en genotipos caracterizados por sus altos rendimientos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el posible origen de la resistencia y susceptibilidad a diferentes factores de estrés, en algunos genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy"

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar y seleccionar genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" por su resistencia a diferentes factores de estrés.

Evaluar algunos compuestos bioquímicos y algunos aspectos fisiológicos relacionados con la respuesta de resistencia de los genotipos seleccionados, bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

Determinar la posible formación de proteínas específicas como respuesta de la planta a diferentes factores de estrés.

HIPOTESIS

La diferente capacidad de tolerancia hacia los diferentes factores de estrés mostrada por genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" está dada por la presencia y ausencia de proteínas específicas que actúan en la síntesis de compuestos bioquímicos con funciones osmorreguladoras.

ANTECEDENTES

La población mundial actual está creciendo a un ritmo aproximado de casi 75 millones de personas por año y su crecimiento es mayor que la producción de alimento en muchas áreas del mundo. La investigación y la tecnología agrícola aplicada, organizada y conducida cuidadosamente, puede ayudar a remediar las lamentables condiciones socioeconómicas de los países en desarrollo.

México es uno de los países del mundo que presenta graves problemas en la producción de alimentos para el sostén de su población e incremento de su desarrollo económico. Algunas de las causas por las cuales nuestro país no ha llegado a ser autosuficiente en la producción de granos básicos, es la falta de aplicación real de recursos económicos al campo. Muchos programas del gobierno federal tienen una excelente concepción y son originados con buenas bases, aunque por desgracia y debido al enorme aparato burocrático, los recursos se pierden en el camino y casi nunca llegan al destino para el que fueron concebidos. Otra causa importante del desabasto alimenticio que puede ser considerada, es lo variable de las condiciones climáticas en nuestro país, donde factores como la precipitación y temperatura son muy variables.

El crecimiento y desarrollo de un cultivo está fuertemente influenciado por las condiciones climáticas adversas que existen en las regiones semiáridas del mundo donde el sorgo es uno de los cultivos más importantes. En las zonas subtropicales del mundo, la sequía periódica causada por una distribución irregular de las lluvias, ocasiona severas reducciones en los rendimientos de los cultivos en general.

Escasa precipitación, baja fertilidad del suelo y otros factores bióticos y ambientales, son las principales limitantes del rendimiento del sorgo en muchas regiones donde se cultiva este grano (Jordan, 1983).

De acuerdo a la Organización Mundial para la Alimentación, el sorgo se siembra a nivel mundial en casi 45 millones de hectáreas que comprenden las zonas tropicales y templadas de Africa, el sureste y suroeste de Asia y el continente Americano (Higgins, 1978; Jiménez, 1979; Castillo, 1980).

El cultivo del sorgo es uno de los 5 cereales más importantes del mundo por las grandes superficies que se cultivan y por el volumen de su producción. Su empleo va desde el consumo humano en algunos países del Norte de Africa y la India, hasta su uso en nuestro país en la preparación de alimentos balanceados para animales y para el hombre (House, 1980).

En México, el sorgo empezó a adquirir importancia hacia el año de 1958, en la zona norte de Tamaulipas, al iniciarse el desplazamiento del cultivo del algodón en aquella región. Con el transcurso de los años, este cultivo ha adquirido cada vez más popularidad y se ha extendido, prácticamente, a todos los estados de la República. La región norte de Tamaulipas sigue siendo una de las zonas donde se cultiva una mayor superficie, así como la zona del Bajío (principalmente Guanajuato) y la costa del Pacífico (Sinaloa y Sonora); le siguen en importancia Michoacán y Jalisco (SARH, 1992).

Actualmente México ocupa el tercer lugar en la producción mundial de sorgo, superado sólo por Estados Unidos y la India, además el sorgo ocupa el segundo lugar en producción y el

tercero en superficie cultivada a nivel nacional (Ortiz y Hurtado, 1986).

En nuestro país el cultivo del sorgo se lleva a cabo bajo condiciones de riego y temporal. Las zonas temporaleras del país ocupan casi el 67 % de la superficie sembrada, con precipitaciones pluviales característicamente escasas y mal distribuidas en el año, lo que da lugar a períodos de sequía muy severos sobre todo en la zona noreste del país donde además de la sequía, existen otros factores limitantes de los cultivos como salinidad en el suelo, altas temperaturas en los meses del cultivo y el ataque de algunas plagas y enfermedades (Maití, 1986).

Las plantas desérticas pueden resistir ciertos niveles de sequía gracias a diversas adaptaciones anatómicas y fisiológicas. El sorgo presenta algunas adaptaciones que le permiten tolerar niveles críticos de sequía, estas adaptaciones se pueden clasificar como; anatómicas, morfológicas, fisiológicas y bioquímicas (Maití, 1996).

CARACTERISTICAS ANATOMICAS RELACIONADAS CON LA RESISTENCIA A LA SEQUIA.

Ciertas características anatómicas y morfológicas pueden contribuir a que la planta sea resistente o no a la sequía (Jordan, 1983; Maití, 1996). Entre estas características que retardan el desarrollo de la planta en un déficit hídrico están básicamente la raíz y las hojas (Arima y Tanaka, 1988; Turner y Begg, 1981; Sullivan, 1983).

El sistema radical de los cereales esta compuesto por dos tipos de raíces, el temporario y el permanente. El sistema

temporario se encuentra comprendido por la raíz primaria y por las raíces adventicias.

La raíz seminal resulta de la base del tallo y puede distinguirse de las raíces adventicias en que su eje principal es más delgado. Las raíces adventicias nacen sobre la región del mesocotilo (primer entrenudo del tallo), por debajo de la superficie del suelo y crecen rápidamente formando un sistema de ramificaciones secundarias y terciarias (Jesko, 1989; Richards y Pasioura, 1981; Upchurch y Ritchie, 1983).

Las raíces adventicias son la principal ruta de suministro de agua y nutrientes para la planta durante los primeros estados del desarrollo. El sistema permanente se forma durante la maduración de la planta y esta constituido únicamente por raíces adventicias, las cuales tienen su origen en el segundo entrenudo del coleoptilo (Bassiri *et al*, 1991).

El tamaño y desarrollo de la raíz depende del clima, de la frecuencia y duración de la sequía. Si la planta tiene gran tolerancia a la desecación y el calor, un sistema radical pequeño o somero puede ser más deseable durante una sequía larga que un sistema radical profundo (Bawazir y Idle, 1989). Estas consideraciones fueron hechas tomando en cuenta que bajo una sequía moderada o severa, pero corta, el sistema radicular extenso provee a la planta del agua suficiente, pero en una sequía severa y prolongada, este sistema radical puede terminar con la humedad aprovechable.

Galaway *et al*, (1991) encontraron que al someter plantas de sorgo a condiciones limitadas de humedad, sus raíces presentaron un menor diámetro y fueron más largas. La longitud de la raíz en estas plantas fue de 0.8 cm diarios. Jordan y Miller (1980) encontraron que el alto valor de la relación

raíz/tallo tuvo una buena correlación con la resistencia a la sequía y con la variabilidad genética en maíz. Sin embargo, Jesko, (1989) observó que las líneas de sorgo creciendo en condiciones óptimas de humedad presentaron la mayor longitud radicular en comparación con plantas sometidas a estrés.

Algunas características anatómicas como son una gran cantidad de células de tejido esclerenquimatoso en el periciclo de la raíz y partículas de sílice en las células de la endodermis, mostraron estar relacionadas con la resistencia a la sequía en sorgo (Esau, 1986). Investigaciones en el sistema radicular, indican que más del 80% de la masa de la raíz se encuentra localizada en los primeros 20 a 30 cm del perfil del suelo, lo que le permite tener una mayor e inmediata captación del agua. Sin embargo, algunos genotipos que mostraron sensibilidad a condiciones de estrés de humedad, desarrollaron un sistema radicular más profundo y con menos ramificaciones (Maití, 1983).

El tamaño y desarrollo de la raíz depende del clima, de la frecuencia y duración de la sequía (Giorgio *et al*, 1990). Pardales y Kono (1990), en Oklahoma, E.U.A. evaluaron 10 variedades de sorgo para observar su resistencia a sequía, en base a características radiculares y encontraron que el cultivar más resistente produjo raíces más pesadas y volúmenes más grandes, así como también el diámetro de las raíces fue menor. Iijima y Kono (1991) y Myers (1980) encontraron que al someter plantas de sorgo a condiciones limitadas de humedad, sus raíces presentaron un menor diámetro y fueron más largas y ramificadas.

A medida que disminuye el agua en el suelo, el crecimiento de las raíces es importante, porque aumenta el radio y la

profundidad de los tejidos radicales, capaces de absorber agua y porque incrementa la densidad radicular, acortando las distancias a todos los puntos con humedad en el suelo (Soriano y Montaldi, 1980). Estos autores concluyeron que especies con esa capacidad de crecimiento radicular en suelos secos, fueron comparativamente mejor tolerantes a la sequía.

Sandoval (1991), encontró que casi el 50% de los genotipos de sorgo resistentes a la sequía, presentaron mayor longitud y peso seco de raíz comparados con el testigo, lo que se pudo considerar como un posible mecanismo de adaptación a las condiciones de estrés de humedad.

Kuruvadi *et al.*, (1980) evaluaron 14 genotipos de trigo duro en rizotrones con el objetivo de estudiar el potencial del sistema e identificar los mejores modelos del mismo; y encontraron que los genotipos que tuvieron 40% o más de su masa de raíces entre 60 y 120 cm de profundidad fueron más importantes; indicando que esto pudo contribuir a la resistencia a la sequía como mecanismo de evitación.

Mayaki *et al.* (1986) observaron que el maíz irrigado produjo 60% de peso seco de raíz en los 3 cm superiores del suelo y el no irrigado solamente el 39%; en cambio, el sorgo produjo 86% y 79% para las mismas condiciones respectivamente.

El sorgo presenta varias características que le dan una mayor resistencia a la sequía: la profusa ramificación y la amplia distribución del sistema radicular (Arima y Tanaka, 1988); también una serie de hileras higroscópicas que se encuentran a los lados de la nervadura central causan que las hojas se doblen en lugar de enrollarse como en el maíz; este doblamiento de la hoja se lleva a cabo más rápidamente que el enrollamiento, disminuyendo la transpiración (Aspinall, 1986);

además, la hoja del sorgo tiene una capa cerosa que contribuye a hacer las especies más resistentes a la sequía (Maití *et al.*, 1983b). Las hojas del sorgo se desarrollan aún durante los períodos de sequía. Esta característica, unida a la película cerosa de su superficie, contribuye a la resistencia que a la sequía tiene la especie (Mauseth, 1988).

Las hojas de una planta de sorgo se distribuyen en forma alterna y se encuentran dispuestas en dos hileras a lo largo del tallo. Consisten principalmente de una vaina foliar y una lámina o limbo, la vaina se encuentra unida a un nudo y rodea por lo general al entrenudo y también frecuentemente al nudo que le sigue arriba, antes de que el limbo se expanda totalmente, las hojas son anchas en su base y van disminuyendo gradualmente hacia arriba hasta llegar al ápice (House, 1982).

Entre las modificaciones de las hojas que pueden ayudar a una mayor retención de agua en la planta, Esau (1986) menciona las siguientes: la presencia de una nervadura principal central gruesa, la existencia de tricomas con paredes celulares gruesas y la presencia de una cutícula que retarda la transpiración; si lo anterior se combina con una capacidad de cierre rápido de estomas, puede reducirse en gran medida la pérdida de agua y prolongar la supervivencia de la planta.

La epidermis típica de una planta presenta células largas y dos tipos de células cortas, que son las células de sílice y las células suberosas, las primeras se encuentran completamente llenas de óxido de sílice (SiO_2), el cual se solidifica en forma variada, las células suberosas poseen membranas suberificadas y frecuentemente contienen material creánico solidificado (Esau, 1986).

Las células buliformes que se encuentran en el sorgo y en muchos otros cereales son muy grandes, de membranas delgadas y muy vacuoladas. Estas células contribuyen al enrollamiento de las hojas durante los períodos de sequía (Mausath, 1988).

McCree y Davis (1974) han observado que el tamaño y la división celular de las células epidérmicas en hojas de sorgo, disminuye al incrementarse el estrés de humedad. El tamaño de estas células es más pequeño debido a la falta de turgencia ocasionada por la escasez de humedad. Como consecuencia de estos efectos, ocurre una disminución del área foliar.

Los tricomas son estructuras o protuberancias de las células epidérmicas frecuentemente llamados pelos. Estos exhiben diversas formas y pueden estar formados por una o varias células. El tamaño y morfología de los tricomas difieren en las distintas especies y se encuentran más frecuentemente en la superficie superior que en la inferior (Esau, 1986). En el sorgo se han reportado dos tipos de tricomas del tipo de los no-glandulares, es decir, terminados en punta y los micropelos glandulares (Maití, 1980; Gibson y Maití, 1983; Rodríguez et al, 1983) . La abundancia de estas estructuras en asociaciones con el caracter "glossy" han sido utilizados los últimos años para seleccionar genotipos resistentes a la sequía en estado de plántula (Maití et al, 1980b; Maití et al, 1984).

Otra función que se ha atribuído a los tricomas es de que pueden ayudar a evitar la excesiva pérdida de agua por transpiración, aunque no existe uniformidad en estos resultados. También se ha sugerido que protegen a las células del mesófilo de un excesivo calor en la superficie de la hoja (Esau, 1986).

Existe una característica especial de las células epidérmicas que presentan algunos genotipos de sorgo, que es la presencia de una capa cerosa llamada cutícula. Se considera que esta estructura puede ser de gran importancia como un factor que proporciona cierta resistencia a la sequía al disminuir la cantidad de agua que se pierde por transpiración (Mauseth, 1988).

En sorgo se han identificado dos tipos de plántulas de acuerdo a la brillantez de sus hojas: "glossy" y "no-glossy". Las líneas que poseen el carácter "glossy" se distinguen por presentar en sus hojas un color amarillento brillante, en cambio en las líneas "no-glossy" el color de las hojas es verde oscuro; esta diferencia se debe a que las líneas "glossy" presenta una acumulación de cristales de cera grandes y de forma prismática, además, se presenta una capa lisa de cera en adición a estos; probablemente esta capa de ceras aumente la reflexión de la luz, disminuyendo de tal forma la temperatura de la hoja y con esto la transpiración, mientras que en las líneas "no-glossy", sus cristales son pequeños y en forma de aguja (Maití *et al.*, 1984; Ramírez-Sarquis, 1988; Tarumoto *et al.*, 1981).

La presencia de ceras epicuticulares aumentan la resistencia a la sequía. Líneas con ceras epicuticulares tuvieron un mejor rendimiento bajo condiciones de estrés de humedad, con una alta eficiencia en el uso del agua (Jordan *et al.*, 1981; Atkins y Hamilton, 1982; Jordan *et al.*, 1984; Premchandra *et al.*, 1993). También Jenks *et al.* (1992), encontraron que cultivares con un alto contenido de ceras epicuticulares se adaptaron mejor bajo condiciones de estrés de humedad.

ADAPTACIONES FISIOLÓGICAS A DIFERENTES CONDICIONES DE ESTRES.

Un gran número de investigadores han estudiado los cambios fisiológicos en las plantas que confieren una mayor resistencia a la sequía. Estos cambios le permiten a la planta una mejor adaptación a las zonas áridas con escasa precipitación pluvial.

El déficit hídrico en las hojas, generalmente es aceptado como el resultado de un exceso en la pérdida de agua por transpiración sobre un aporte simultáneo de agua.

El flujo de agua a través de la planta desde la interfase raíz-suelo hasta la interfase planta-atmósfera, para reemplazar la cantidad de agua transpirada, está manejado o influenciado por los gradientes de potencial hídrico, o más generalmente, por la diferencia en potencial hídrico entre la superficie de absorción de la raíz y la superficie de transpiración de la planta, principalmente en las hojas.

Teóricamente cualquier pérdida de agua debido a la transpiración, trae como consecuencia una disminución del potencial hídrico de la hoja y por lo tanto, de un gradiente de potencial hídrico causando un inmediato movimiento de agua desde las partes de la planta con altos potenciales hídricos (Salisbury y Ross, 1994)

Sin embargo, durante una rápida transpiración, el aporte de agua hacia la hoja solamente puede ser logrado por medio de la formación de gradientes de potencial hídrico al disminuir el potencial hídrico de la hoja. Esto significa que a resistencias constantes, el déficit de agua en las hojas como resultado de la transpiración, podría ser determinado por la velocidad de transpiración. Así, el déficit hídrico de las hojas es primeramente debido a las resistencias que presentan

las estructuras de la planta al flujo del agua a través de ellas, desde la fuente de agua en el suelo alrededor de las raíces, hasta el depósito final en la atmósfera alrededor de las hojas (Richard y Pasioura, 1981; Jordan, 1983)

La disminución del potencial hídrico de la hoja es también una función de la relación existente entre el potencial hídrico y el contenido relativo de agua. Esta relación difiere para diferentes hojas y en diferentes especies. También es una función de la velocidad del desarrollo del déficit, siendo generalmente más alto con un rápido aumento del déficit hídrico (Kramer, 1969; Sánchez-Díaz y Kramer, 1971).

Cuando el potencial hídrico de la fuente del agua en el suelo es disminuido, una reducción posterior en el potencial hídrico de la hoja deberá tener lugar para poder restablecer el gradiente de potencial hídrico requerido para mantener el aporte de agua hacia las hojas al nivel requerido. Además, una disminución local en el contenido de agua del suelo, justamente en la capa alrededor de las raíces, deberá ser desarrollada como resultado de una rápida absorción de agua. Esto lleva a una disminución en la conductividad hidráulica de este suelo, el cual en cambio disminuye lentamente el aporte de agua al gradiente de potencial hídrico dado (Kramer, 1969; Lang y Gardner, 1970).

La resistencia del mesófilo de la hoja se incrementa con un déficit hídrico. La resistencia total de una planta decrece con un incremento en el flujo del agua, aparentemente porque ocurren cambios en la resistencia a nivel de la raíz (Al-Hamadni *et al.*, 1991)

Se puede concluir que el déficit hídrico de la hoja es ocasionado por la existencia de resistencias al flujo de agua líquida en las vías de conducción y es determinada inicialmente por estas resistencias y por la velocidad de transpiración.

El déficit hídrico y su relación con la absorción de CO_2 fotosintético.

La relación entre la absorción de CO_2 fotosintético y el déficit hídrico, ha sido confirmada por muchos investigadores (Khanna-Chopra, 1982; Bishnoi, 1983; Evans, 1980; Hirota y Takeda, 1988).

Kappen *et al.*, (1972) consideraron que el efecto del déficit hídrico sobre la fotosíntesis, generalmente se pudo dividir en dos grupos principales de procesos que se vieron afectados: el primer grupo estuvo involucrado en la transferencia del CO_2 atmosférico desde la superficie de la planta hacia los centros de carboxilación en los cloroplastos de los tejidos fotosintetizadores. En este caso el problema fue la relación entre la velocidad de flujo del CO_2 , los gradientes de concentración de CO_2 y la resistencia al transporte del CO_2 a través de las diferentes vías.

Un segundo grupo involucró los procesos bioquímicos de la fotosíntesis más que el propio transporte del CO_2 . Una parte del espacio por donde entró el CO_2 fue compartido en un momento dado por la salida de vapor de agua. Esto ocurrió de tres maneras: en la capa de aire que estuvo adherida justamente sobre la superficie de la hoja (resistencia difusiva límite r_i), en la difusión del aire a través de la apertura estomática (resistencia difusiva estomatal r_s) y a

través de los espacios intercelulares en el mesófilo (resistencia difusiva interna r_i). Estas partes de la vía se encuentran en la fase gaseosa, la difusión del CO_2 y del vapor de agua también fueron determinados por su coeficiente de difusión en el aire. Las porciones restantes de la vía estuvieron ocupadas por la fase líquida y fueron diferentes para el CO_2 y para el agua.

Frecuentemente todas las resistencias del CO_2 (o sus formas disueltas) en la fase líquida son tratadas como una resistencia intracelular (r_a) los cuales, pueden incluir componentes que corresponden a una parte del proceso bioquímico fotosintético.

El déficit hídrico y la resistencia estomática.

Los cambios en la resistencia estomática son el mecanismo más claro y obvio por medio del cual el déficit hídrico en la hoja afecta la absorción de CO_2 fotosintético en las plantas superiores. Cuando aumenta la apertura estomática, la resistencia estomatal disminuye, cuando la presión de turgencia de las células oclusivas excede la presión de turgencia de las células epidérmicas adyacentes (Salisbury y Ross, 1985; Bishnoi, 1983). El incremento de la presión de turgencia de las células oclusivas, es inicialmente debido a la absorción de agua la cual resulta a partir de una disminución en el potencial osmótico inducido por una entrada de cationes dependientes de ATP (la mayoría son iones K^+), en segundo lugar, por la síntesis de carbohidratos solubles en las células oclusivas. Estos podrían considerarse como movimientos hidroactivos y fotoactivos de las células oclusivas (Pallas y Dilley, 1972).

Un hidropasivo cierre de los estomas es causado por un exceso de la turgencia en las células epidérmicas adyacentes las cuales así, mecánicamente, presionan las células oclusivas (Esau, 1986). Lo anterior se traduce en una disminución de la fotosíntesis neta en hojas completamente saturadas de agua.

La sensibilidad directa del cierre de los estomas a la humedad del aire (cierre con aire seco) sugiere una posible regulación de la transpiración estomática debido a una transpiración peristomatal local llevada a cabo por las células oclusivas y por las células adyacentes (Evans, 1980). De esta manera, una disminución en el potencial hídrico (presión de turgencia) de las células oclusivas es inducida por una pérdida de transpiración junto con un insuficiente aporte de agua, debido a que, por un lado, al aislamiento hidráulico de las células oclusivas por los espacios intercelulares subepidérmicos y por otro lado, a la alta resistencia al transporte de agua líquida en la epidermis. Esta disminución peristomática en la presión de turgencia podría inducir el cierre de los estomas incluso antes de que el potencial hídrico del mesófilo de la hoja disminuya (Schultz y Gatherum, 1971).

González-Hernández *et al.*, (1986) encontraron una relación lineal entre el potencial de turgencia y la conductancia estomática y reportaron una dependencia curvilínea de la resistencia de la hoja con el potencial de turgencia así como en el potencial hídrico total en sorgo. Hsiao *et al.* (1970), trabajando con maíz bajo condiciones de campo, encontraron dependencia de la resistencia estomática en el déficit de saturación de agua sobre un período de 24 horas, el cual interfirió con cambios fotoactivos de la apertura estomática.

Estas discrepancias son probablemente debido a situaciones de equilibrio y desequilibrio durante los cambios de déficit de agua en las hojas.

Cambios periódicos inducidos en la apertura estomática, detectados la mayoría de las veces por una medición del intercambio gaseoso en las hojas de muchas plantas, pueden también ser usados cuando se busca la dependencia entre la resistencia estomática y la absorción de CO_2 fotosintético (Khanna-Chopra, 1982).

Kriedemann (1971) consideró que se pueden distinguir dos tipos de oscilaciones 1) ciclos hídricos basados en grandes períodos de tiempo (10 a 50 min.) inducidos la mayoría de las veces por cambios rápidos en el contenido de agua de la hoja y 2) ciclos de CO_2 con períodos de 2 a 5 min. la mayoría de las veces inducidos por un cambio en la concentración de CO_2 , o por un corto intervalo de obscuridad. Las oscilaciones basadas en agua fueron detectadas por estar a menudo en una fase sincrónica por todas partes de la planta completa. De esta manera, las oscilaciones las cuales resultan en pronunciados cambios cíclicos en la absorción de CO_2 , puede representar una influencia especial del estrés hídrico en la fotosíntesis bajo condiciones de campo (Kriedemann y Downton, 1981).

El déficit hídrico y la resistencia intercelular.

El papel de la resistencia estomática en la fotosíntesis ha sido extensamente enfatizado, probablemente debido a una mayor correlación directa de la tasa de transpiración con la apertura estomática (Donatelli et al, 1992; Flower et al, 1990; Heslehurst y Wilson, 1986). Pero son estas diferencias en la dependencia de la tasa de transpiración y de la

velocidad de fotosíntesis neta en los cambios en la apertura estomática, los que indican que el cierre de los estomas no es el único mecanismo por el cual el déficit hídrico influye en la absorción del CO_2 fotosintético. Wang *et al* (1991), encontraron un incremento en la tasa de transpiración y al mismo tiempo una disminución en la velocidad de fotosíntesis en sorgo.

El papel más importante en este aspecto es atribuido a la resistencia al CO_2 en la fase líquida, una resistencia la cual es usualmente interpretada como una resistencia intracelular del mesófilo (r_m). Esto es a menudo calculado como la resistencia residual después de restar las resistencias de la capa límite y estomática, o la velocidad de evaporación respectivamente y el gradiente de concentración de vapor de agua. Por lo tanto, esta resistencia intercelular incluye no sólo la resistencia del transporte del CO_2 en la fase líquida desde la pared celular en las células del mesófilo hasta los centros de carboxilación en sus cloroplastos, sino también la velocidad de las reacciones de las vías bioquímicas de la fotosíntesis, expresadas en términos de resistencia de transferencia (Barrs, 1971).

Meidner (1962, 1967) y Heath y Meidner (1961) encontraron un incremento en el punto de compensación del CO_2 en hojas de maíz y trigo con un déficit hídrico inducido por inmersión de los pecíolos en soluciones de manitol. Boyer (1970) encontró que mientras la suma de las resistencias foliares al CO_2 se incrementaron progresivamente con una disminución del potencial hídrico de las hojas, la resistencia intracelular fue mucho menos afectada.

Chen *et al* (1971), encontraron en hojas de remolacha que por arriba de un déficit de saturación de agua del 30%, la resistencia estomática fue ligeramente incrementada cerca de 4 s cm^{-1} , mientras la resistencia intracelular permaneció casi sin cambios, promediando entre 5 y 10 s cm^{-1} , pero ambas resistencias aumentaron claramente cuando se incrementó el déficit de saturación de agua. Boyer (1969), reportó un incremento en el promedio de la resistencia estomática y una disminución simultánea en la resistencia intracelular en pastos creciendo en un suelo con déficit hídrico.

Se puede concluir que el problema de la contribución relativa de las resistencias estomática e intracelular al transporte de CO_2 durante el estrés hídrico está aún muy lejos de ser entendido totalmente. La mayoría de los resultados indican que un bajo déficit hídrico tiene poco efecto en la resistencia intracelular, la cual en plantas superiores, no se manifiesta hasta que el contenido relativo de agua (o potencial hídrico) es muy bajo.

Efecto del déficit hídrico en el proceso bioquímico de fotosíntesis.

Una muy buena parte de la dependencia de los procesos bioquímicos de la fotosíntesis están incluidos en el valor de la resistencia intracelular, aunque es separable como una resistencia a la carboxilación (r_x), este tipo de correlación fue descrita por Chartier (1972) aunque no ha quedado muy clara la influencia del déficit hídrico en la resistencia a la carboxilación.

En trabajos con cloroplastos aislados y segmentos de lámina foliar, se encontró que la síntesis de ATP, la

reducción de NADP y el nivel del ácido fosfoglicérico, disminuyeron sólo a un nivel muy alto de déficit hídrico (contenido relativo de humedad por abajo del 50%).

Boyer y Bowen (1970) determinaron la evolución del oxígeno en cloroplastos aislados de chícharo y girasol bajo estrés hídrico. Encontraron que la evolución del oxígeno disminuyó con un tratamiento previo por abajo de -12 bares (chícharo) y -8 bares (girasol) y fue linealmente proporcional a un potencial hídrico por abajo de estos valores. Estos autores concluyeron a partir de la medición paralela de la velocidad de fotosíntesis en hojas intactas, que una disminución moderada del potencial hídrico de la hoja también afectó la fotosíntesis por la inhibición de la evolución del oxígeno, además del efecto conocido del cierre de los estomas.

Es importante conocer las diferencias en la sensibilidad entre las plantas C_3 y C_4 con respecto al déficit hídrico. Slatyer (1970) sugirió que las plantas C_4 pueden ser menos sensibles a períodos de sequía comparadas con las plantas C_3 . Evaluó dos especies de *Atriplex*: *A. spongiosa* (C_4) y *A. hastata* (C_3). La absorción de CO_2 fotosintético fué más alta en la especie C_4 , la cual tuvo una alta resistencia estomática de 1.0 a 2.6 $s\ cm^{-1}$ en comparación con valores de 0.7 a 0.8 $s\ cm^{-1}$ en la especie C_3 , además de una más baja tasa de transpiración y por lo tanto una mayor eficiencia en el uso del agua. También la especie C_4 tuvo la más baja resistencia intracelular, 0.4 a 1.5 $s\ cm^{-1}$ en comparación con 2.5 a 2.9 $s\ cm^{-1}$ en la especie C_3 .

Por otro lado, Boyer (1970) encontró que en soya (planta C_3) la fotosíntesis neta no fue disminuida hasta que el potencial hídrico de la hoja estuvo de -10 a -11 bares,

mientras que en maíz (planta C4), el valor crítico fue a -3.5 bares. Con una mayor disminución del potencial hídrico, la fotosíntesis neta disminuyó paralelamente con un incremento en la resistencia estomática a -16 bares en soya y a -10 bares en maíz. Se pudo concluir que el maíz, a pesar de tener una alta tasa absoluta de fotosíntesis, fue mas sensible a una disminución en el potencial hídrico de la hoja que la soya.

Recuperación del proceso fotosintético después del déficit hídrico.

La recuperación depende principalmente del grado de sequía al cual fue expuesta la planta. Si este déficit fue muy alto, se puede esperar una recuperación incompleta, tanto como el contenido de agua haya disminuido. La restauración del déficit puede ser expresado como la diferencia entre el contenido relativo de agua después de la restauración y a una completa saturación previa al déficit (Rychnovská, 1969), o como la diferencia análoga en el potencial hídrico (Hsiao *et al.*, 1970).

Un efecto temporal posterior en fotosíntesis fue encontrado después de una recuperación completa a partir de un pequeño déficit el cual no fue acompañado por ningún déficit de recuperación. Fisher (1970) y Hsiao (1970) describieron una lenta recuperación de la apertura estomática después del cierre debido a un estrés hídrico. La absorción de CO₂ fotosintético en las hojas de girasol bajo alta radiación (donde los estomas parecen ser el factor limitante) no se recuperó completamente de un déficit hídrico de -12 bares durante dos días después de la restauración de las condiciones de humedad, mientras que a una baja radiación, la tasa

fotosintética se recuperó completamente después de una disminución en el potencial hídrico de -17 bares (Boyer (1971).

La actividad fotosintética durante un severo estrés hídrico fue descrito en la planta desértica *Artemisa herba-alba* durante la estación seca. Se detectaron valores por la mañana de un potencial de presión en el xilema de -100 bares y un potencial osmótico de la savia del xilema de -50 bares, la planta fue fotosintéticamente activa todavía por dos horas durante la mañana (Whiteman y Koller, 1964).

Es obvio que el déficit hídrico disminuye la absorción de CO₂ fotosintético por una limitación del transporte del CO₂ hacia los cloroplastos en la fase gaseosa y en la fase líquida, además de una restricción de la actividad bioquímica en los cloroplastos. La importancia relativa de estos factores limitantes, usualmente son sumados en la forma de resistencias de transporte (incluyendo las resistencias bioquímicas de la carboxilación y excitación) y de cambios a diferentes niveles de estrés hídrico (Slatyer, 1969).

Aunque el mecanismo que controla la apertura estomática es medianamente entendido, el movimiento estomático en respuesta a factores externos como: luz, CO₂ y presión de vapor de agua y de factores internos incluyendo las retroalimentaciones y sus interacciones, es extremadamente complejo. Los cambios hidropasivos e hidroactivos en la apertura estomática y por lo tanto cambios en la resistencia estomática pueden, de alguna manera, ser enmascarados por otros factores (Hirota y Takeda, 1988; Muchow y Sinclair, 1994). Sin embargo, la resistencia estomática parece cambiar generalmente en forma lineal con una disminución del potencial

hídrico de la hoja, probablemente en forma más directa con los componentes del potencial de la presión de turgencia o con la diferencia en la presión de turgencia entre las células oclusivas y las células adyacentes epidérmicas (Evans, 1980; Salisbury y Ross, 1985). Esto significa que la resistencia estomática se incrementa exponencialmente con un aumento en el déficit de saturación de agua.

En valores bajos de déficit hídrico, la dependencia de la resistencia intracelular (incluyendo resistencias bioquímicas) en un déficit hídrico de la hoja, se encontró que no fue excesivo en la mayoría de los casos. La resistencia intracelular fue de tres a diez veces más alta que los valores simultáneos de la resistencia estomática bajo ligeros déficits hídricos (Raschke, 1970). Las plantas C_4 se caracterizan por tener la más baja resistencia intracelular, lo cual da como resultado la más alta absorción de CO_2 fotosintético a pesar de mostrar la más alta resistencia estomática.

La fotosíntesis completa en las plantas, está fuertemente determinada por el crecimiento. Tanto la actividad mitótica como el alargamiento celular parecen ser muy sensibles al déficit hídrico. El crecimiento disminuye a bajos niveles de déficit hídrico, dependiendo principalmente de la presión de turgencia la cual se recupera rápidamente después de una rehidratación. Esta característica al parecer es muy significativa, así como la capacidad de recuperación después de un severo estrés de agua y a menudo depende de la capacidad de la planta para formar nuevas hojas y vástagos respectivamente.

En resumen, puede considerarse que la influencia del estrés hídrico en la producción fotosintética, generalmente es

muy compleja, especialmente debido a la larga cadena de interrelaciones que están involucradas en el proceso.

ADAPTACIONES BIOQUIMICAS PARA LA TOLERANCIA A DIFERENTES FACTORES DE ESTRES.

Las plantas sobreviven a la sequía porque sus tejidos internos, están protegidos contra el alto grado de tensión; y en la mayoría de las plantas la resistencia es conferida, aparentemente por la presencia de sustancias hidrofílicas del protoplasma, que puede ser complejas y de alto peso molecular como las propias proteínas, o algunos carbohidratos, y además polisacáridos coloidales como los encontrados en muchas algas marinas (Bidwell, 1976). Al parecer los factores más importantes de resistencia a la sequía y a algunos otros factores de estrés, residen más profundamente en la química del protoplasma. Una amplia variedad de compuestos químicos han sido estudiados como posibles solutos responsables del ajuste osmótico en muchos cultivos.

Contenido de prolina en plantas bajo estrés.

Zúñiga *et al* (1989), encontraron un incremento de prolina y betaína en plantas de cebada bajo estrés de humedad, mientras que Kapoya *et al* (1985), observaron una correlación positiva entre la acumulación de prolina y la tolerancia al estrés de humedad en plantas de frijol.

La reducción de la síntesis de proteína es un resultado general de la tensión por sequía y una prueba de resistencia a sequía pudiera ser el alto contenido de prolina (Nir *et al*,

1970; Tang y Wu, 1987; Lansac, 1990). Sing et al (1972), reportaron que la acumulación de prolina en semillas germinadas de cebada, bajo condiciones controladas, fue causada por el estrés de humedad.

Voetberg y Sharp (1991), trabajaron con semillas de maíz, las cuales crecieron en vermiculita con bajos potenciales hídricos incrementándose la concentración de prolina en la zona de crecimiento de la raíz primaria. Los niveles de prolina fueron particularmente más altos hacia el ápice. También Kohl et al (1991), examinaron el efecto del estrés de sequía en la acumulación de prolina, actividad de la nitrogenasa y actividades de enzimas relacionadas con el metabolismo de la prolina en nódulos de frijol de soya (*Glycine max* L. Merr).

Sivaramakrishnan et al (1988), reportaron que las líneas de sorgo resistentes a sequía acumularon altos niveles de prolina mientras que las líneas susceptibles no mostraron acumulación significativa de prolina. En flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) Shen et al (1989), observaron que los niveles de prolina se incrementaron con la edad de la planta y el estrés de sequía.

Lai y Liu (1988), demostraron que los cambios en el contenido de prolina en callos de plantas de arroz fueron debido al efecto del estrés hídrico. Takur (1987), estudió el incremento de aminoácidos en raíces de maíz y observó que los contenidos de prolina y ácido aspártico cambiaron significativamente cuando se incrementó el estrés hídrico. Por otra parte, Vyas et al (1985), observaron cambios en los niveles de metabolitos en hojas de *Sesamum indicum* L. (prolina libre, aminoácidos libres, almidón, reducción de azúcar y clorofila total) y las actividades de las enzimas en las hojas

(nitrato reductasa, peroxidasa y pirofosfatasa ácida y alcalina) fueron estimadas justamente antes de terminar los períodos de sequía de diferentes intensidades. Los efectos del estrés de agua en los diferentes parámetros medidos, generalmente aumentaron con el incremento en la intensidad del estrés. Pero un cambio significativo, grande o pequeño, ocurrió en todos los casos bajo un estrés moderado.

Patil *et al* (1984), estudiaron la acumulación de prolina libre en las raíces de 5 variedades de maíz y observaron que cuando se incrementó el estrés, el contenido de agua relativa decreció, mientras la prolina libre se incrementó. Blum y Ebercon (1976) citados por Wong (1979), demostraron que la acumulación de prolina libre en las hojas de plantas de sorgo bajo deficiencia de humedad, estuvo asociada positivamente con la recuperación de las plantas después de que la deficiencia de agua terminó; la prolina sirvió como una fuente de energía respiratoria, al recobrarse la planta.

Fallon y Phillips (1989), observaron que la concentración de prolina se incrementó hasta 40 veces en células adaptadas al estrés hídrico y 12 veces en células no adaptadas. Otros aminoácidos incluyendo alanina, histidina y la arginina mostraron cambios similares. Veeranjaneeyulu y Kumari (1989), estudiaron la influencia del estrés hídrico en el metabolismo de la prolina, en plantas de mora desarrolladas con 4 niveles de humedad. En todos los tratamientos el potencial hídrico en las hojas fue decreciendo drásticamente, sin embargo el área de las hojas y contenido relativo de agua fueron disminuyendo, sólo en los tratamientos de estrés muy severos. La acumulación de prolina fue observada tanto en raíz y hojas de los tratamientos en estrés; pero la acumulación fue más grande en

las raíces que en las hojas. Las enzimas prolina dehidrogenasa y prolina oxidasa fueron inhibidas bajo condiciones de estrés. La prolina oxidasa fué más inhibida en raíces que en las hojas.

Contenido de Acido Cianhídrico en plantas bajo estrés.

El ácido cianhídrico (HCN) es un compuesto que normalmente es producido por las plantas de sorgo. Se forma por la hidrólisis de un glicósido cianogénico conocido como durrina; la hidrólisis de este compuesto proporciona otros productos como el p-hidroxibencilaldehído y la glucosa (Mao *et al.*, 1965).

Se ha demostrado que el ácido cianhídrico es producido en mayores concentraciones en plantas bajo estrés hídrico comparadas con plantas bien irrigadas. Franzke y Hume (1945) reportaron que al cultivar sorgo en suelos con 15, 25 y 35 % de humedad, produjeron ácido cianhídrico aproximado a 1200, 500 y 250 ppm base peso seco respectivamente. Por otra parte, Heinrichs y Andersen (1947) mencionaron que el ácido cianhídrico se encontró un 50% mas concentrado en plantas que crecieron bajo sequía comparadas con plantas que crecieron bajo condiciones ideales de humedad.

Maiti *et al.*, (1986) y De la Rosa y Maiti, (1990), demostraron que el contenido de carbohidratos, ácido cianhídrico y ceras epicuticulares, aumentaron en plantas de sorgo bajo sequía. De igual forma, Leal (1990) en su estudio sobre variabilidad del carácter "glossy" y su relación con la resistencia a sequía demostró que el contenido de HCN se incrementó al agudizarse el déficit de humedad, siendo proporcionalmente más alto en los genotipos "glossy".

Las heladas, la sequía, marchitez y pisoteo por el ganado, aumentaron la cantidad de ácido cianhídrico en plantas de sorgo

y zacate Jhonson (Vinalli, 1921). Nelson (1953) reportó que se pueden producir cantidades mayores de ácido cianhídrico en plantas de segundo crecimiento que en plantas más viejas, las plantas bajo sequía favorecen el desarrollo de HCN.

Lee et al (1993), observaron que existió un incremento significativo en el contenido de ácido cianhídrico, en plantas que crecieron bajo humedad restringida, comparadas con plantas que se desarrollaron bajo condiciones ideales de riego, además consideraron que los incrementos en las concentraciones del ácido cianhídrico causados por la sequía, pudieron ocurrir sin importar la etapa fenológica de la planta. Aguirre (1965), encontró que bajo condiciones de helada, daños por frío y daños por sequía, aumentaron la cantidad de HCN producido por las plantas con respecto a los sorgos en estado masoso del grano.

Parece ser que la síntesis del ácido cianhídrico requiere de la presencia de alguna enzima específica la cual a su vez pudiera acumularse como resultado de una situación de estrés. Lamb et al (1991), encontraron que el ácido cianhídrico se produjo cuando las condiciones favorecieron el desarrollo de una enzima en el sorgo. También Moran y Couch citados por Kingsbury (1958), encontraron que en condiciones naturales la hidrólisis de glucósidos se llevó a cabo por una acción enzimática en la planta o en el animal. Vinalli (1921), reportó la fórmula empírica de la durrina como $C_{14}H_{17}O_7N$, y que por hidrólisis con ácido clorhídrico diluido y caliente, o por acción de la enzima emulsina se produjo una molécula de ácido cianhídrico (HCN), parahidroxibenzaldeído y dextrosa. También Carlson (1958), encontró que la variación en la cantidad de HCN producido podría ser debido a la variación en el tipo o

cantidad de glucósido presente o a variaciones en la actividad enzimática.

Boyd (1938), encontró que el Cianuro es formado en ciertas plantas debido a un tipo peculiar de síntesis de proteína, en el cual el Nitrógeno absorbido en forma de nitratos del suelo fue cambiado a HCN como un paso intermedio, entre nitratos y aminoácidos.

Contenido de ceras epicuticulares en plantas bajo estrés.

La presencia de una capa de cera llamada cutícula, es una de las principales características de las células de la epidermis de las plantas (Esau, 1986). Esta estructura es de gran importancia porque representa un factor que da resistencia a la sequía al disminuir la cantidad de agua que se pierde por transpiración (Atkins y Hamilton, 1982). Como ya se mencionó, entre los diferentes cultivares de sorgo, existen catalogados dos tipos de plántulas de acuerdo a la brillantez de sus hojas (glossy y no-glossy). Las líneas que presentan el caracter glossy se distinguen por presentar en sus hojas un color amarillento brillante, en cambio en las líneas no-glossy el color de las hojas es verde oscuro. Esta diferencia se debe a que las líneas glossy presentan cristales de cera grandes y de forma prismática además de una delgada capa de ceras, lo que hace que la luz se refleje, mientras que en las líneas no-glossy los cristales de cera son pequeños, en forma de aguja además de una capa mas gruesa de cera, que absorbe la luz dando una apariencia opaca (Maiti et al, 1984).

Además de las ceras que determinan el caracter glossy, las plantas de sorgo pueden presentar otro tipo de ceras que forman una capa espesa y amorfa sobre el pedúnculo, la vaina foliar y

la porción basal de la superficie abaxial de las hojas, dando a estos tejidos una apariencia blanca. A este tipo de ceras se le conoce como caracter "bloom" y se encuentra controlado por un gen dominante de herencia simple, aunque también existen plantas sin este caracter, o bien con las ceras muy espaciadamente distribuidas (Blum, 1975; Premchandra *et al*, 1993; Jenks *et al*, 1992).

Ebercon *et al* (1977), demostraron que existe variabilidad en el contenido de ceras epicuticulares en diferentes genotipos de sorgo y que la presencia de estas estuvo influenciada por el medio ambiente en el cual se encontraban creciendo.

Cultivares con bajo contenido de ceras epicuticulares se adaptan mejor bajo condiciones de estrés de humedad (Ebercon *et al*, 1979; Jordan y Miller, 1980). Jordan *et al* (1984), encontraron que existe una correlación negativa entre la transpiración y el contenido de ceras epicuticulares y sugirieron que esto puede ser debido a que con menor contenido de ceras la luz se refleja y por lo tanto disminuye la temperatura de la hoja ocurriendo menor transpiración, mientras que un alto contenido de ceras muestra un aspecto opaco que absorbe mayor cantidad de luz incrementando la temperatura de la hoja y elevando la transpiración.

Contenido de Clorofila Total en plantas bajo estrés.

La importancia de la clorofila en la productividad de los cultivos a través del proceso de fotosíntesis, ha sido considerada desde hace mucho tiempo. Hou *et al*, (1987) consideró que la tolerancia a la sequía en sorgo estuvo relacionada con un incremento en el número de hojas y un incremento en el contenido de la clorofila. Sin embargo, otros

autores han demostrado lo contrario en el sentido de que el contenido de clorofila total en líneas de sorgo disminuye drásticamente al estar bajo condiciones limitadas de humedad (Saucedo, 1985; Maiti, 1990; De La Rosa y Maití, 1990; Rajasekhar et al, 1983a; Rajasekhar et al, 1983b). Esta reducción puede afectar significativamente la capacidad fotosintética de la planta, por lo que la acumulación de materia seca también debe ser afectada (Peterson y Onken, 1992).

Leal (1990) y Sandoval, (1991), encontraron que el contenido de clorofila total disminuyó drásticamente al cultivar genotipos de sorgo bajo estrés de humedad y que la reducción afectó significativamente la capacidad fotosintética de los cultivares evaluados.

Ortega et al (1984), observaron cambios metabólicos en caña de azúcar, cuando se incrementó el estrés de agua, la clorofila a y la clorofila b en las hojas, carotenos, proteínas solubles y los contenidos de ácidos nucleicos decrecieron, mientras el nivel de actividad de la nitrato reductasa y el contenido de prolina libre se incrementó con el aumento del estrés de agua.

Síntesis de proteínas específicas bajo diferentes condiciones de estrés.

Las respuestas de las plantas a los diferentes factores ambientales de estrés, son muy complejas e involucran muchos tipos de cambios fisiológicos y bioquímicos. Muchas reacciones se inician cuando las plantas son sometidas a los factores de estrés, y se forman diversos compuestos para neutralizar los efectos adversos. De esta forma, la tolerancia o sensibilidad

a una condición particular de estrés, depende del contenido genético y bioquímico de las especies (Dubey, 1994.)

Las plantas son incapaces de expresar su potencial genético completo con respecto al rendimiento, si son expuestas a condiciones ambientales desfavorables (Vierling, 1991). Muchos factores de estrés provocan modificaciones en la expresión de los genes y estos cambios pueden llevar a una acumulación o excreción de ciertos metabolitos, alteraciones en el comportamiento de muchas enzimas, y síntesis de nuevos conjuntos de proteínas que son específicas para un particular tipo de estrés (Jacobsen *et al*, 1986). Se ha demostrado que diferentes condiciones ambientales adversas inducen la producción de nuevas proteínas en la planta, las cuales probablemente le significan un avance evolutivo para sobrevivir bajo estrés. Así, se ha demostrado la producción de nuevas proteínas específicas para factores como: salinidad, estrés osmótico (sequía), altas y bajas temperaturas, anaerobiosis e infecciones de bacterias, virus y hongos (Ericson y Alfinito, 1984; Hurkman y Tanaka, 1987; Sing *et al*, 1987; Ricard *et al*, 1991).

El objetivo principal de llevar a cabo estudios de la síntesis de proteínas en plantas bajo estrés, es debido a que los diferentes condiciones de estrés permiten observar la expresión de información genética diferencial, resultando en cambios en los productos de los genes, incluyendo RNAm y proteínas. De esta manera, algunas de las proteínas sintetizadas después del estrés, pueden ser específicas para una condición particular de estrés y posiblemente le den a la planta un valor de supervivencia (Sing *et al*, 1987).

Si bien estas proteínas son sintetizadas en las plantas cuando están bajo estrés, y pueden aparecer en tejidos adaptados al estrés, las funciones metabólicas específicas de la mayoría de estas proteínas no han sido todavía establecidas ni de que manera pueden proporcionarle a la planta cierta adaptabilidad a las condiciones adversas (Ben-Hayyim *et al.*, 1989).

Las proteínas de choque térmico, las cuales son sintetizadas bajo situaciones de estrés por altas temperaturas, posiblemente tengan un efecto en las interacciones proteína-proteína o en la translocación de proteínas a través de los compartimentos celulares. De esta manera, como un resultado de una reorganización de macromoléculas celulares, las proteínas de choque térmico parecen tener un posible papel en la protección del organismo al estrés por altas temperaturas (Vierling, 1991).

En una condición de estrés por salinidad, se sugiere que las nuevas proteínas sintetizadas, junto con algunos aminoácidos y compuestos nitrogenados solubles, actúan como componentes de un mecanismo de tolerancia hacia la salinidad (Greenway y Munns, 1980). Dubey y Rani (1989) consideraron que podrían funcionar como solutos citoplasmáticos compatibles en un ajuste osmótico para igualar el potencial osmótico del citoplasma con las vacuolas en una condición adversa de salinidad.

La tolerancia a los diferentes factores de estrés depende de las características genéticas y bioquímicas de las especies. Por esta razón, muchos investigadores han realizado trabajos tratando de diferenciar genotipos tolerantes y genotipos susceptibles al estrés en muchos cultivos, basándose

en los perfiles o en los niveles de las proteínas solubles ya sea en semillas germinadas, algunas partes de la planta o bien en plantas completas (Dubey y Rani, 1987). Los resultados de estos trabajos indicaron la existencia de diferentes niveles de proteínas solubles y enzimas proteolíticas entre los dos grupos de genotipos con diferencias en la tolerancia al estrés.

Síntesis de proteínas bajo estrés por salinidad.

La salinidad en el suelo es uno de los factores de estrés que más drásticamente afectan la productividad de los cultivos. En nuestro país se estima que cada año se pierden miles de hectáreas de tierras cultivables debido al incremento en los niveles de salinidad en el suelo.

Para incrementar la producción de alimentos en las regiones con suelos salinos, es recomendable utilizar variedades locales que han mostrado ser tolerantes a la salinidad de cada región. El avance en el desarrollo de variedades de cultivos tolerantes a la salinidad, ha sido muy lento debido en gran parte al poco y limitado conocimiento de como algunos cultivares logran tolerar cierto grado de salinidad en el suelo. Además de que el comportamiento de tolerancia varía de acuerdo a las especies que se cultivan. Se ha demostrado que la salinidad afecta la germinación de la semilla, el crecimiento de la planta, la absorción de los nutrientes, el metabolismo debido a la inhibición osmótica de la disponibilidad del agua y el efecto tóxico de los iones de sal (Levitt, 1972).

El metabolismo de las proteínas también es fuertemente afectado en plantas desarrolladas bajo condiciones de

salinidad y se ha demostrado que la salinidad promueve la síntesis de ciertas proteínas específicas además de causar tanto una disminución, como un incremento en el nivel total de proteínas solubles, dependiendo de las partes de la planta estudiadas y permite un incremento en la actividad y síntesis de muchas enzimas (Ben-Hayyim *et al.*, 1989; Sing *et al.*, 1987).

Las plantas que se desarrollan en un medio ambiente salino, muestran cambios en el patrón de la síntesis y acumulación de proteínas. La salinidad, al igual que otros factores de estrés, altera la expresión de los genes en la planta permitiendo una síntesis específica del producto de los genes, las proteínas (Ericson y Alfinito, 1984).

La mayoría de los experimentos para estudiar el efecto de la salinidad en la síntesis de proteínas ha sido a nivel de cultivo de células. Este sistema, a diferencia de la planta completa, proporciona más ventajas para este tipo de estudios ya que los parámetros ambientales pueden ser mejor controlados y las líneas generadas tolerantes al estrés, pueden ser rápidamente seleccionadas y probadas nuevamente para una síntesis de proteínas por los métodos bioquímicos tradicionales.

Se ha establecido que la sensibilidad y tolerancia hacia la salinidad depende de la composición genética y bioquímica de las especies, aunque ha sido difícil de explicar específicamente de que manera el contenido genético responsable de la adaptación a la salinidad, permite la expresión de la síntesis de estas proteínas por parte de las plantas adaptadas a condiciones de salinidad.

Estas proteínas sintetizadas específicamente bajo condiciones de salinidad parecen tener un papel importante en

proporcionar la tolerancia o adaptación a las plantas. Sin embargo, el mecanismo de como estas proteínas le dan la capacidad de adaptación todavía no está muy claro (Dubey, 1994).

Ericson y Alfinito (1984) tratando de entender el mecanismo de resistencia a la salinidad de células de tabaco, examinaron el patrón de proteínas en líneas adaptadas y no adaptadas a NaCl. Sus resultados indicaron que las células adaptadas a un medio conteniendo NaCl presentaron dos proteínas (32 y 20 kD) en mayor abundancia que las células no adaptadas. Además, en las células adaptadas apareció una proteína única y específica de 26 kD que no apareció en las células no adaptadas o en las células control que crecieron sin NaCl. Estos investigadores sugirieron que las tres proteínas sintetizadas en las células creciendo en NaCl, podrían estar involucradas en el proceso de adaptación a la salinidad.

En cultivo de células de tabaco, el proceso de adaptación celular a un estrés osmótico en un ambiente salino, involucra una alteración específica en la expresión de los genes de las células adaptadas, permitiendo la síntesis de varias proteínas nuevas, incluyendo la proteína predominante de 26 kD. En virtud de que esta proteína es sintetizada y acumulada específicamente en las células sometidas a un ajuste osmótico por salinidad o por estrés por desecación, se le ha llamado *osmotina* (Sing *et al.*, 1987). La *osmotina* es considerada como una proteína única asociada con las células de tabaco adaptadas al NaCl. La síntesis de *osmotina* no es inducida por el choque osmótico pero se inicia solamente cuando las células están adaptadas al NaCl o polietilen glicol (Sing *et al.*,

1985). En células que están adaptadas a la salinidad, la osmotina constituye del 10 al 12 % del total de proteínas en la célula. Por esta razón se cree que el papel de la osmotina radica en proporcionar un ajuste osmótico a las células ya sea facilitando la acumulación de solutos o bien provocando ciertas alteraciones metabólicas en la célula, las cuales pueden ayudar en el ajuste osmótico (Sing *et al*, 1987).

También en cultivo de células de maíz, en raíces de cebada, en cítricos y en células de tomate, se han sintetizado nuevas proteínas como resultado de una inducción por salinidad. Las raíces de cebada, cuando son expuestas por un período corto de tiempo a NaCl, muestran un perfil de proteínas diferente comparado con el contenido en raíces no estresadas (Hurkman y Tanaka, 1987). En un cultivo de células de maíz se encontró una acumulación predominante de una proteína de 26 kD bajo condiciones de salinidad (Ramagopal, 1986). Por otro lado, la comparación de los perfiles de proteínas de células adaptadas y no adaptadas al NaCl de cítricos y tomate indicaron que en los cítricos, el nivel de proteínas disminuyó, mientras que en tomate se incrementó bajo un estrés por salinidad (Ben-Hayyim *et al*, 1989). En células de tabaco, el incremento en el nivel de ciertas proteínas y la disminución en otras ha sido observado cuando las células son expuestas a NaCl. Esto indica que los cambios en las proteínas inducidos por el estrés de salinidad, son específicos para cada especie y que son diferentes las proteínas que están asociadas con la tolerancia a la salinidad en diferentes especies (Sing *et al*, 1985).

En plantas de arroz y de naranja se demostró que los genotipos susceptibles y tolerantes tuvieron diferentes

patrones del contenido de proteínas mientras fueron desarrollados en presencia o ausencia de NaCl. Los genotipos tolerantes de arroz tuvieron una proteína de 28 kD en los tallos que no se encontró en los genotipos susceptibles, y además, el nivel de esta proteína se incrementó cuando las plántulas de arroz fueron cultivadas en un medio salino. Esto mostró que la presencia de la banda de proteína de 28 kD, estuvo asociada con las características de tolerancia a la salinidad en arroz. En genotipos de arroz susceptibles a la salinidad, algunas de las proteínas preexistentes desaparecieron y aparecieron nuevas proteínas con un incremento de NaCl (Dubey y Rani, 1987). Al igual que en el arroz, en los cítricos apareció una proteína de 25 kD que fue asociada con la tolerancia a la salinidad. Esta proteína parece ser determinante en la tolerancia a este tipo de estrés en células de cítricos y se presentó cuando las células fueron crecidas en ausencia o presencia de NaCl. El nivel de esta proteína se incrementó cuando las células crecieron en un medio salino. El incremento pudo ser rápidamente observado cuando las células se desarrollaron en un medio que contenía 1 % de NaCl (Ben-Hayyim *et al*, 1989).

La síntesis de proteínas esenciales asociadas con la tolerancia a la salinidad en arroz o cítricos, no depende de la presencia de la sal en el medio de cultivo, mas bien parece ser que la característica de tolerancia a la sal es estable en estas especies. Las líneas tolerantes de estas especies muestran tener una capacidad para sintetizar proteínas esenciales por muchas generaciones cuando son desarrolladas en presencia o ausencia de NaCl. También se han asociado a ciertas proteínas esenciales con algunos genotipos

susceptibles, aunque esta asociación no se muestra en los genotipos tolerantes.

En general, la síntesis de proteínas en plantas creciendo en medios salinos se ve afectada durante la germinación de la semilla, así como en los últimos estados de crecimiento de las plantas, la salinidad provoca un efecto negativo tanto en la síntesis como en la degradación de las proteínas. Para dilucidar el impacto general del daño de la sal en el crecimiento y metabolismo de la planta, algunos investigadores han intentado estudiar el estatus del total de proteínas y el patrón de la síntesis de proteínas en diferentes partes de la planta creciendo bajo estrés de salinidad (Dubey, 1994).

La salinidad en la mayoría de los casos disminuye el nivel de proteínas en las partes de la planta estresadas como un resultado de la disminución de la síntesis de proteínas, así como un incremento en la actividad de las enzimas hidrolíticas de las proteínas. En ciertos casos, sin embargo, se ha notado un incremento en el nivel de proteínas en plantas bajo salinidad, posiblemente como un resultado del aumento en la síntesis de nuevas proteínas o por la disminución de las enzimas proteolíticas.

En varias especies de cultivos, una disminución en el nivel de proteínas en las partes estresadas de la planta, es atribuido a una disminución en la síntesis de proteínas, a una disminución en la disponibilidad de los aminoácidos, y a la desnaturalización de las enzimas involucradas en la síntesis de aminoácidos y proteínas (Levitt, 1972).

Aunque la salinidad causa una disminución en la síntesis de proteínas y un aumento en la proteólisis en varias especies de plantas, en la mayoría de los casos se han observado

aumentos en los niveles de proteínas en semillas germinando bajo salinidad, plántulas y partes de la planta en desarrollo (Ohashi y Matsuoka, 1985).

Se ha observado un aparente aumento en el nivel de proteínas en los endospermos de semillas germinando con un incremento en la salinidad. Esto puede ser explicado como un resultado de la disminución de la proteólisis causada por la salinidad permitiendo un lento agotamiento de las reservas de proteínas, y no como un resultado de un aumento en la síntesis de proteínas (Dubey y Rani, 1987).

Síntesis de proteínas bajo estrés hídrico.

El estrés hídrico reduce el crecimiento de la planta y le provoca severas alteraciones morfológicas y bioquímicas, que al final se traducen en una pérdida masiva del rendimiento. Entre las alteraciones bioquímicas, el estrés hídrico provoca una reducción en la eficiencia de procesos claves como son síntesis de proteínas, fotosíntesis, respiración y la síntesis de ácidos nucleicos. La falta de humedad inhibe la síntesis de proteínas, induce la síntesis de pequeños grupos de proteínas específicas, promueve importantes modificaciones en la expresión de los genes, lo que causa la activación o inhibición de muchas enzimas y permite cambios en la ultraestructura de los tejidos.

El estrés hídrico causa una alteración en la expresión de los genes en las plantas permitiendo una inhibición de la síntesis de proteínas así como incrementando la síntesis de ciertas proteínas específicas del estrés (Bewley y Larsen, 1982). Se ha investigado ampliamente y en varios cultivos, como el estrés hídrico provoca una expresión genómica

diferencial en tejidos y órganos específicos lo cual resulta en cambios en los patrones de la síntesis de proteínas en las células (Heikkila *et al*, 1984; Dasgupta y Bewley, 1989).

El proceso de la síntesis de proteínas no ocurre uniformemente en un mismo órgano. Proteínas muy particulares son sintetizadas en mayor cantidad en ciertas regiones que en otras. Por ejemplo, la enzima fotosintética clave Ribulosa 1,5-bifosfatocarboxilasa, es más abundante en las regiones apicales de la hoja que en otras regiones. Sin embargo, la imposición de un estrés hídrico causa una reducción en la síntesis de proteínas en todas las células de un órgano, y así una disminución total en la tasa de la síntesis de proteínas ocurre cuando la planta está bajo estrés hídrico (Claes *et al*, 1990).

Varios investigadores han demostrado la síntesis de proteínas específicas durante el estrés hídrico en varios cultivos. Dasgupta y Bewley (1984), estudiaron el patrón de la síntesis de proteínas en hojas de plántulas de cebada bajo estrés hídrico, y observaron una proteína de 60 kD que fue específicamente sintetizada en todas las regiones de la hoja bajo estrés. Heikkila *et al* (1984), encontraron un incremento en la concentración de dos proteínas de 70 kD, así como la aparición de ciertas proteínas específicas únicas en estrés hídrico, en el mesocotilo de plántulas de maíz.

Se ha observado que la osmotina, proteína de 26 kD que es sintetizada y acumulada en células bajo ajuste osmótico a NaCl, también se acumula en células bajo ajuste osmótico al polietilen glicol (Sing *et al*, 1987). El ácido abscísico, el cual se sabe induce el ajuste osmótico en algunas células, también induce la síntesis de la osmotina. La síntesis de esta

proteína es regulada por el ácido abscísico, pero su acumulación depende de la magnitud del estrés hídrico y del ajuste de las células al estrés (Dubey, 1994).

La osmotina es la proteína más extensamente estudiada que se acumula bajo estrés hídrico y por salinidad en varias especies vegetales. También, otra proteína citoplásmica rica en glicina ha sido identificada y caracterizada en embriones de maíz que la acumulan en respuesta a un estrés hídrico. Esta es una proteína de 15.4 kD con un punto isoeléctrico de 5.7 (Gómez *et al.*, 1988).

El estrés osmótico impuesto por el polietilen glicol induce un incremento en el nivel del ácido abscísico, el cual a su vez cambia el gen *rab21* y lo induce a sintetizar una proteína rica en glicina y treonina en tejidos de plantas de arroz. Una proteína inducida osmóticamente de 15 kD, similar a las encontradas en maíz y arroz, ha sido aislada y caracterizada a partir de un cultivar criollo de arroz por Claes *et al.*, (1990). Esta proteína se acumula en las vainas de las hojas y raíces de plantas maduras de arroz cuando están bajo estrés osmótico o tratadas con ácido abscísico.

Damerval *et al.* (1988), al estudiar el patrón de proteínas producido, bajo diferentes condiciones de estrés hídrico, en raíces de plantas de *Brassica napus* var. *oleifera*, detectaron 13 polipéptidos producidos únicamente por raíces cortas bajo sequía. Estos polipéptidos al parecer son producidos únicamente bajo estrés hídrico ya que no están presentes en las raíces normales y sólo aparecen cuando las plantas son sometidas a un déficit de agua. Estos investigadores observaron un aumento en la síntesis de ciertos grupos de proteínas y una disminución simultánea en la síntesis de otro

grupo de proteínas en raíces normales, con la imposición de un estrés hídrico. Lo anterior indica que, bajo estrés, la expresión genética es simultáneamente modificada para cambiar los productos de ciertos genes. Después de la rehidratación de las plantas bajo estrés, los polipéptidos únicos desaparecieron y los patrones de proteínas fueron semejantes a los producidos por las plantas no estresadas.

Diferentes estudios relacionados con el efecto del estrés hídrico en la síntesis de proteínas en muchos cultivos económicamente importantes, sugieren que el estrés de agua afecta en forma muy severa la síntesis de proteínas, altera el perfil de proteínas en los tejidos estresados e induce la síntesis de ciertas proteínas específicas. Algunas de las proteínas parecen ser específicas de algunos tejidos y otras parecen no ser específicas de algún tejido u órgano en particular. Los estudios de expresión genética revelan que entre las proteínas inducidas por el estrés de sequía, algunas son el producto de la respuesta de los genes al ácido abscísico. Aún es objeto de estudio el cómo las condiciones de estrés señalan un incremento en la cantidad de ácido abscísico, cómo el ácido abscísico modula la expresión de los genes y el papel de las proteínas producidas como respuesta al estrés (Dubey, 1994).

Los niveles de proteínas totales y proteínas solubles son alterados en plantas creciendo bajo ambientes de sequía comparados con los niveles de plantas creciendo bajo condiciones sin estrés. Varios investigadores han observado tanto un incremento como una disminución en los niveles de proteínas totales y solubles en diferentes órganos de plantas sujetas a estrés hídrico (Barnett y Naylor, 1966; Hsiao, 1973;

Kumar y Sing, 1991). El aumento o disminución en el nivel de proteínas depende de el órgano estudiado así como de la severidad del estrés.

Shah y Loomis (1965), observaron una disminución en el contenido de proteínas totales y solubles en hojas de remolacha bajo sequía. Estos investigadores observaron que la respuesta al estrés hídrico fue rápida y pudo ser revertida cuando las plantas fueron irrigadas. Esto indicó que los efectos del estrés hídrico fueron reversibles hasta cierto grado. De acuerdo a Hsiao (1973), la rápida respuesta de las plantas bajo estrés y su inmediata reversibilidad por irrigación, sugieren que el estrés hídrico afecta la síntesis de proteínas principalmente a un nivel de traducción. En cloroplastos completos así como en fracciones aisladas de membrana de cloroplasto de genotipos de trigo tolerantes y susceptibles a la sequía, se observó una disminución en el contenido de proteínas comparado con plantas no estresadas. En plántulas de frijol mungo se observó diferencia en la tolerancia al estrés por sequía, cuando fueron cultivados bajo sequía, se mostró una disminución en el nivel de proteínas en el eje (Kumar y Sing, 1991).

La disminución en el nivel de proteínas totales así como en las proteínas solubles en tejidos bajo estrés hídrico, parece ser debido a una mayor degradación de proteínas así como a una completa inhibición de la síntesis de proteínas. Se ha observado que las partes de las plantas bajo estrés hídrico, muestran una alta actividad de proteasas comparadas con las mismas partes de plantas no estresadas. La alta actividad de las proteasas en plantas bajo estrés parece ser de una significancia adaptativa porque permite la acumulación

de aminoácidos libres como un resultado de la degradación de las proteínas (Hsiao, 1970).

Los genotipos de algunos cultivos difieren en la tolerancia al estrés por sequía. Cuando son cultivados bajo diferentes grados de sequía, algunos genotipos muestran diferentes niveles de proteínas, así como actividades específicas de proteasas. Cultivares de maíz resistentes a la sequía, muestran una alta actividad de proteasas a niveles elevados de sequía, mientras que una inhibición de la actividad de estas enzimas es notada en los genotipos susceptibles cultivados bajo situaciones drásticas de humedad. Rai *et al* (1983), comparando el nivel total de proteínas y aminoácidos libres en genotipos resistentes y susceptibles a la sequía en maíz, observaron que las plantas resistentes se caracterizan por un incremento, sobre las plantas no estresadas, en el contenido total de proteínas y en el nivel de aminoácidos libres.

Los niveles de muchas enzimas se incrementan bajo condiciones moderadas y altas de estrés. Muchas enzimas hidrolíticas muestran un aumento en su actividad en tejidos sometidos a sequía. Por ejemplo, la actividad de la α -amilasa, la cual es responsable de la hidrólisis del almidón in vivo, se aumenta bajo estrés hídrico, explicando el aumento de los niveles de azúcares y la disminución del almidón, que se ha observado en tejidos bajo estrés hídrico (Hsiao, 1973).

Ciertas enzimas hidrolíticas y oxidativas muestran diferentes comportamientos en los cultivos que difieren en su tolerancia al estrés hídrico. Thakur y Thakur (1987) al estudiar el comportamiento de cultivares de maíz resistentes y susceptibles a la sequía, observaron un incremento en la

actividad de la proteasa con un incremento en el potencial osmótico en el cultivar resistente Ageti-76, mientras que en el cultivar susceptible Vijay, observaron una disminución de la actividad de la proteasa bajo un severo estrés hídrico.

Goyal y Kochhar (1988) estudiaron el comportamiento de ciertas enzimas hidrolíticas y oxidativas en las hojas de plantas de arroz bajo estrés hídrico de dos genotipos que fueron diferentes en su tolerancia al estrés, encontrando que las actividades de las enzimas proteasa, ribonucleasa, peroxidasa y AIA-oxidasa, fueron inhibidas por el estrés hídrico. Sin embargo, la actividad de la ácido ascórbico-oxidasa se incrementó en ambos grupos de cultivares.

Estas observaciones sugieren que el estrés hídrico induce cambios en los niveles de varias enzimas en las partes de las plantas bajo estrés y que el efecto del estrés depende de las propiedades de las enzimas, del grado del estrés y de los órganos de la planta estudiados.

Síntesis de proteínas bajo estrés de alta temperatura.

Las altas temperaturas o el estrés por calor afectan adversamente el crecimiento y rendimiento de las plantas en muchas áreas del mundo. Algunas plantas pueden sobrevivir cuando las temperaturas sobrepasan los 20 °C por encima del ambiente, mientras que en la mayoría de los campos de cultivo las temperaturas por arriba de los 40 °C causan daños por calor, limitan severamente la fotosíntesis y alteran el metabolismo de las proteínas por desnaturalización, inactivación de las enzimas y otros efectos (Mansfield y Key, 1988; Brown y Brodi, 1988; Burke et al, 1985).

Cuando las plantas están sujetas a tratamientos de calor más allá de las temperaturas óptimas de crecimiento, la síntesis normal de proteínas es inhibida y se incrementa la síntesis de un pequeño grupo de proteínas conocido como proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés). Se cree que la tolerancia al calor en las plantas está asociada con la síntesis de las HSP, las cuales protegen a las plantas de temperaturas letales y les proporcionan un sistema de protección endógeno para una termotolerancia (Cooper y Ho, 1983; Crauford y Peacock, 1993; Frova *et al.*, 1991). Si las HSP actúan directamente como agentes protectores contra el estrés por calor o si inducen la síntesis de agentes secundarios involucrados en la protección de las plantas, no está muy claro todavía. La síntesis de las HSP ocurren en muy diversas especies de plantas cuando son expuestas a temperaturas de 10-15 °C por arriba de las temperaturas óptimas de crecimiento (Kee y Nobel, 1986; Nguyen *et al.*, 1989; Ougam y Stoddart, 1985).

Las plantas cultivadas como: maíz, soya, chícharo y trigo, empiezan sintetizando HSP con un rango en la temperatura de los tejidos por arriba de los 32-33 °C. Se ha observado que la exposición de las plantas a las altas temperaturas permite una rápida inducción de un tipo especial de ARNm relacionado con las HSP específicas (Vierling, 1991).

La síntesis de las HSP ocurre en cultivo de células vegetales bajo termoadaptación o en plantas intactas sujetas a un estrés por calor. Se ha demostrado que no sólo el estrés por calor sino también otras condiciones, como son tratamientos con arsenita, metales pesados, etanol, ácido abscísico, sequía y daños físicos en la planta, inducen

algunos cambios en un tipo de ARNm que llevan a la expresión de las HSP. Esto muestra que la síntesis de las HSP puede ser inducida igualmente en la ausencia de estrés por calor y la protección para las altas temperaturas puede ser proporcionada sin un choque de calor inicial (Key *et al*, 1981; Ougham *et al*, 1988; Vierling, 1991).

La distribución citoplasmática y la localización subcelular de las HSP indican que ellas permanecen asociadas específicamente con varios organelos celulares como son: el núcleo, cloroplastos, mitocondrias, y la membrana plasmática (Lin *et al*, 1984). También se pueden encontrar como agregados citoplasmáticos diferentes de los gránulos de los ribosomas. Con la síntesis de las HSP las plantas adquieren termotolerancia ya que se ha observado que el desarrollo de la termotolerancia es paralelo a la síntesis de las HSP, aunque aún no está muy claro como las HSP proveen la termotolerancia.

De acuerdo a algunos investigadores las HSP están involucradas en el desdoblamiento y estabilización de las proteínas, transporte de proteínas a través de las membranas, ensamble de proteínas y modulación las actividades de receptor (Vierling, 1991; Jorgensen *et al*, 1993; Maiti *et al*, 1994).

Key *et al*, (1981) observó que plántulas de soya cuando fueron expuestas a un choque de calor, revelaron 10 nuevas bandas de HSP. Así mismo, un choque térmico en cultivo de células de soya y tabaco, causó la aparición de nuevas proteínas. En células de zanahoria un tratamiento de calor causó la inhibición de la síntesis de proteínas con la simultánea aparición de nuevas proteínas. En suspensiones de células de tabaco, Kanakus *et al* (1984), encontraron que se sintetizan HSP en diferentes fases del ciclo de crecimiento.

En tejidos de maíz, cuando fueron expuestos a calor, mostraron una inducción de un tipo especial de ARNm y la síntesis de un grupo de 10 HSP. Diferentes tejidos de la misma planta, así como diferentes estados de desarrollo de los tejidos, mostraron diferentes patrones de HSP.

Se considera que la acumulación de las HSP provee termotolerancia en las plantas. Kee y Nobel, (1986) han estudiado muchas plantas suculentas desérticas y demostraron que acumulan HSP cuando las temperaturas del aire del día y la noche están por arriba de los 50 y 40 °C y 30 y 20 °C respectivamente. El patrón de la acumulación de HSP es específica de las especies en este tipo de plantas; sin embargo, una proteína única de 25-27 kD se acumuló en todas las especies examinadas, la cual parece estar asociada con la termotolerancia en estas plantas.

Algunas HSP están asociadas con los ribosomas y permanecen como agregados citoplasmáticos. Mansfield y Key (1988) encontraron ciertas proteínas de bajo peso molecular asociadas con los ribosomas en plántulas de soya bajo estrés de calor. Estas HSP permanecen unidas a los polisomas, no a los monosomas. Además de esto, ciertas HSP de bajo peso molecular junto con otras no-HSP forman complejos y permanecen en forma de agregados o gránulos en el citoplasma.

El estrés por calor induce la síntesis de un amplio rango de HSP en las plantas. Muchas de estas proteínas han sido aisladas de fracciones citosólicas y de fracciones subcelulares de plantas que han tenido una exposición a altas temperaturas y han sido bien caracterizadas. Un sistema general de clasificación para estas proteínas está basado en sus pesos moleculares y su localización en la célula. Algunas

de las HSP mas comunes sintetizadas en las plantas incluyen HSP70, HSP60, HSP de bajo peso molecular y HSP de alto peso molecular (Dubey, 1994).

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en varias fases o etapas; con varios experimentos en cada una de ellas. La primera fase constó de tres experimentos, donde en cada uno de ellos se evaluaron, para su selección a diferentes factores de estrés (sequía, salinidad y altas temperaturas), 25 genotipos de sorgo (15 "glossy" y 10 "no-glossy"). Esta fase se realizó en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" en la ciudad de Saltillo, Coah. La cual se ubica en los 25° 22" Latitud Norte y 101° 02" Longitud Oeste y a una altitud de 1743 msnm.

Los genotipos evaluados en este trabajo fueron proporcionados en parte por el Instituto Internacional de Investigaciones sobre Cultivos en los Trópicos Semi-Aridos (ICRISAT) de la India, además de algunos genotipos proporcionados por el programa de sorgo de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" y algunos otros con origen comercial. A continuación se enlistan los genotipos evaluados: IS-1054, IS-1082, IS-1096, IS-2146, IS-2205, IS-2312, IS-2394, IS-3962, IS-4473, IS-4476, IS-5359, IS-5484, IS-5567, IS-5587, IS-5604, IS-5642, IS-8311, IS-8315, IS-22201, RB-3006, RB-3030, M-3751, P-2620, AN-56 y AN-135.

Las líneas anteriormente descritas fueron evaluadas en esta primer etapa en tres experimentos los cuales fueron diseñados de la siguiente manera:

PRIMERA ETAPA.

Experimento 1. Evaluación y selección de 25 genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" por su resistencia a la sequía.

Para este experimento se sembraron 8 semillas de cada genotipo en vasos de poliuretano de 300 mL de capacidad. Se utilizó suelo agrícola como substrato y una vez sembradas las semillas, se regaron los vasos con suficiente agua destilada para provocar la germinación y emergencia de las plántulas. Los vasos fueron dispuestos en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 25 x 2 en tres repeticiones. Los vasos fueron colocados en una cama dentro del invernadero con una temperatura media de 27 °C. Posterior a la emergencia se llevó a cabo un aclareo y sólo se dejaron cuatro plantas por vaso. Después de la emergencia, se aplicó el tratamiento de sequía el cual consistió en disminuir el agua en los vasos del tratamiento hasta llegar a un 20% de humedad en el suelo, utilizando el método gravimétrico. A los vasos del testigo se les mantuvo la humedad a capacidad de campo. El experimento se terminó 25 días después de la emergencia y se consideraron las siguientes variables: altura de la planta (cm), peso seco de tallo (g), peso seco de raíz (g) y peso seco total (g). Los resultados fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza.

En base a los resultados de peso seco total se determinó el índice de tolerancia a la sequía (ITS) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{ITS} = \frac{\text{Peso seco (g) de la planta bajo estrés}}{\text{Peso seco (g) de la planta testigo}}$$

Una vez determinado el índice de tolerancia, se seleccionaron los genotipos que obtuvieron los índices más altos como los genotipos resistentes a la sequía y con los

índices más bajos los genotipos susceptibles a este factor de estrés.

Experimento 2. Evaluación y selección de 25 genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" por su resistencia a la salinidad.

Para este experimento se sembraron 8 semillas de cada genotipo en vasos de poliuretano de 300 mL de capacidad: Se usó perlita como sustrato y una vez sembradas las semillas, se regaron los vasos con suficiente agua destilada para provocar la germinación y emergencia de las plántulas. Los vasos fueron dispuestos en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 25 x 2 en tres repeticiones y colocados en una cama de invernadero a una temperatura media de 27 °C. Posterior a la emergencia se realizó un aclareo dejando solamente cuatro plantas por vaso a las cuales se les añadieron 100 mL de solución nutritiva completa. Después de 10 días de la emergencia, se les aplicó el tratamiento de salinidad el cual consistió en 100 mL de NaCl 0.25 M a cada vaso. A las plantas testigo se les aplicó riego suficiente con agua destilada. El experimento se terminó 25 días después de la emergencia y se evaluaron las siguientes variables: altura de la planta (cm), peso seco del tallo (g), peso seco de raíz (g) y peso seco total (g).

En este experimento también se determinó el índice de tolerancia a la salinidad (ITSa) y se seleccionaron los genotipos con los valores más altos, como los resistentes a la salinidad y los genotipos con los valores más bajos como los susceptibles a este factor de estrés.

Experimento 3. Evaluación y selección de 25 genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" por su resistencia a las altas temperaturas.

En este experimento se sembraron 8 semillas de cada genotipo en vasos de poliuretano de 300 mL de capacidad. Se utilizó suelo agrícola como substrato y una vez sembradas las semillas, se regaron los vasos con suficiente agua destilada para provocar la germinación y emergencia de las plántulas. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 25 x 2 en tres repeticiones. Los vasos con las plantas del tratamiento de alta temperatura se colocaron en una cámara bioclimática con una temperatura de 42°/27 °C (día/noche) y con un fotoperíodo de 12 horas. Los vasos con las plantas testigo se colocaron en una mesa de laboratorio a una temperatura ambiente de 27°/18 °C y con el fotoperíodo natural (aproximadamente 12 horas). Tanto los vasos en la cámara bioclimática como los del laboratorio fueron regados diariamente y a capacidad de campo.

Al igual que en los experimentos anteriores, esta prueba se terminó a los 25 días de la emergencia de las plántulas y se evaluaron las mismas variables. También se determinó el índice de tolerancia hacia altas temperaturas (ITT) y se seleccionaron dos genotipos por sus valores más altos como resistentes y dos genotipos con los valores más bajos como los susceptibles a las altas temperaturas.

SEGUNDA ETAPA

Como resultado de la selección de genotipos de los tres experimentos anteriores, en esta etapa se evaluaron los genotipos seleccionados bajo condiciones combinadas de sequía,

salinidad y altas temperaturas. Esta etapa estuvo formada por tres experimentos.

Experimento 1. Cuatro de los genotipos seleccionados en la primera etapa (dos resistentes y dos susceptibles) fueron evaluados en este experimento bajo condiciones combinadas de sequía (20% de humedad en el suelo), salinidad (0.25 M de NaCl) y alta temperatura (42°/27° C). Se utilizó la misma metodología de siembra de los tres experimentos de la primera etapa solo que en este caso se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 4 x 4 en cuatro repeticiones. Se utilizaron dos condiciones de temperatura (42°/27°C como tratamiento de alta temperatura y 27°/18°C como control), dos de salinidad (0.25 M de NaCl como tratamiento de salinidad y agua destilada como control), dos de sequía (20% de humedad en el suelo como tratamiento de sequía y agua a capacidad de campo como control) y se evaluaron los genotipos IS-22201, IS-4473, IS-5484 y IS-1096 en cuatro repeticiones. Las variables evaluadas fueron: altura (cm), peso seco de tallo (g), peso seco de raíz (g) y peso seco total (g).

Experimento 2. Evaluación de algunas características fisiológicas de 5 genotipos de sorgo bajo una condición combinada de sequía, salinidad y alta temperatura.

Se sembraron 8 semillas de cada uno de los genotipos seleccionados en vasos de poliuretano de 300 mL de capacidad utilizando nuevamente perlita como substrato. Los vasos se regaron con agua destilada hasta provocar la germinación y

emergencia de las plántulas y cuando esto ocurrió, se agregó a cada vaso 100 mL de solución nutritiva completa. El experimento se estableció en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 5 x 2 en tres repeticiones. Los vasos del tratamiento de factores combinados fueron colocados en la cámara bioclimática a temperaturas de 42°/27 °C (día/noche) con un fotoperíodo de 12 horas y regados con una solución de NaCl 0.25 M. Los vasos del tratamiento testigo fueron colocados en una mesa de laboratorio a temperatura ambiente de 27°/18 °C, con el fotoperíodo natural (aproximadamente 12 horas) y regados con agua destilada hasta capacidad de campo. A los genotipos seleccionados les fueron evaluados las siguientes variables fisiológicas: tasa de asimilación de CO₂, transpiración y uso eficiente del agua. Los resultados fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza.

Para la medición de estas variables se utilizó un analizador infrarrojo de gases (IRGA) portátil de sistema cerrado marca LI-COR modelo 1537. Las mediciones para cada muestra fueron hechas durante un período de 20 segundos. La tasa de asimilación de CO₂ ($\mu\text{m CO}_2/\text{m}^2 \text{ seg}$) y la transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2 \text{ seg}$) fueron leídos directamente del IRGA mientras que el uso eficiente del agua (g/Kg) fue calculado dividiendo los gramos de materia seca producida entre los Kilogramos de agua transpirada.

Experimento 3. Evaluación de algunas características bioquímicas de 5 genotipos de sorgo bajo una condición combinada de sequía, salinidad y alta temperatura.

Este experimento fue establecido de la misma forma que el experimento anterior utilizando el mismo diseño experimental, aunque solamente difirió en las variables evaluadas que en este caso fueron: contenido de clorofila, ácido cianhídrico, ceras epicuticulares, prolina y análisis de proteínas.

Determinación del contenido de clorofila.

Para el análisis de clorofila se siguió el método de Goodwin (1976), el cual consistió en lo siguiente: 1 g de tejido foliar fue macerado en 100 mL de acetona 80 % y luego filtrado a través de un embudo buchner. El filtrado fue leído directamente en un espectrofotómetro Coleman JR-35 registrando la absorbancia (A) a una longitud de onda de 648 y 663 nm. Posteriormente con los valores registrados se calculó el contenido de clorofila total usando la siguiente fórmula:

$$\text{Clorofila Total} = [(20.2) (A \ 648)] + [(8.02) (A \ 663)]$$

Determinación del contenido de ácido cianhídrico.

Para la determinación del contenido de ácido cianhídrico se utilizó el método de Pethybridge (1915) el cual consistió en lo siguiente: 0.15 g de material vegetal (hojas) fueron colocados en un tubo de ensaye, se le agregaron 4 gotas de cloroformo y se le suspendió una tira de papel filtro (12 x 0.5 cm) humedecida con una solución saturada de picrato de sodio. La tira de papel filtro fue sostenida con un tapón de hule, el cual además sirvió para sellar el tubo. Los tubos fueron colocados a temperatura ambiente por un período de 24 horas. El

color producido en el papel filtro luego fue disuelto en un tubo que contenía 10 mL de agua destilada. Después el color producido fue igualado con los colores estándar.

Los resultados para este método fueron expresados en términos relativos como: alto, medio y bajo, o bien en ppm basándose en el porcentaje de la muestra de materia seca.

Reactivos y estándares.

Solución de Picrato de Sodio. Se disolvieron 25 g de Na_2CO_3 y 5 g de Acido Pícrico en 1000 mL de agua destilada.

Colores estándar. Se disolvieron 0.241 g de KCN en 1000 mL de agua destilada, esta solución contenía 0.1 mg de HCN por mL. Se colocaron 5 mL de la solución de picrato alcalino y 5 mL de la solución de KCN en un tubo de ensaye y se calentaron por cinco minutos en baño María. Luego se añadieron las siguientes cantidades a tubos de ensaye:

Tubo No.	mL de solución	mg de HCN
1	0.00	0.0000
2	0.05	0.0025
3	0.10	0.0050
4	0.15	0.0075
5	0.20	0.0100
6	0.30	0.0150
7	0.40	0.0200
8	0.50	0.0250
9	0.60	0.0300
10	0.70	0.0350
11	0.80	0.0400
12	0.90	0.0450
13	1.00	0.0500
14	1.30	0.0650
15	1.60	0.0800

Contenido de ceras epicuticulares.

Se utilizó la técnica de Ebercon *et al.*, (1977) y consistió en lo siguiente: 10 discos foliares de 1 cm² (20 cm² de área total incluyendo el haz y el envés) fueron sumergidas en 15 mL de cloroformo redestilado durante 15 segundos. El extracto fue filtrado, evaporado y colocado en baño María hasta que el olor a cloroformo no fue detectado. Posteriormente se añadieron 5 mL de reactivo de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) y las muestras fueron puestas en agua hirviendo por 30 minutos. Luego de ser enfriadas en un baño de hielo, se les agregaron 12 mL de agua desionizada y después de 10 minutos se desarrolló el color. Posteriormente la densidad óptica fue leída a 590 nm.

Determinación del contenido de prolina.

Se utilizó la técnica de Bates (1972) para la determinación del contenido de prolina y que consiste en lo siguiente: 0.5 gr de raíz fueron homogenizados en 10 mL en una solución acuosa de ácido sulfosalicílico al 3 %, posteriormente se filtró a través de un papel Whatman No. 2. Luego 2 mL del filtrado fueron colocados en un tubo de ensaye y se les agregaron 2 mL de ácido ninhidrínico y 2 mL de ácido acético glacial y después el tubo fue calentado a 100°C durante una hora, finalizando la reacción en un baño de hielo. Después se agregaron 4 mL de tolueno y el contenido del tubo fue mezclado vigorosamente durante 20 segundos. Posteriormente se aspiró la parte de tolueno con una pipeta, se estabilizó a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó un tubo con tolueno como blanco para calibrar el aparato. La concentración de prolina se

determinó a partir de una curva estándar y se calculó en base a peso fresco (g) de la siguiente manera:

$$\frac{(\text{mg prolina/mL} \times \text{mL tolueno}) / 115.5 \text{ mg/mmol}}{(\text{g muestra}) / 5} = \frac{\text{mMoles de prolina/}}{\text{g de material}} = \text{peso fresco}$$

Análisis de proteínas.

Los análisis de proteínas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Cuatro de los genotipos de sorgo seleccionados en la primera etapa de este trabajo, por su comportamiento a diferentes factores de estrés (dos resistentes y dos susceptibles), fueron sembrados bajo condiciones separadas de sequía, salinidad y alta temperatura. Las condiciones de cada factor de estrés fueron dadas de la misma forma que en los experimentos de la primera etapa. También se sembraron estos mismos genotipos bajo condiciones combinadas de estos tres factores al igual que en la segunda etapa de este trabajo.

Para el análisis de proteínas se siguió la metodología de electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes descrita por Hames (1981) con ligeras modificaciones. Esta consistió en lo siguiente: la muestra de proteínas de las hojas (1 mg/ml) se colocó en una solución desnaturalizante (10 % de β -mercaptoetanol o Ditriotreitol 0.05M, SDS al 5 % (p/v), 0.01 % de azul de bromofenol, glicerol al 20 % (p/v) y Tris al 1.5 % con un pH de 6.8) en proporción

1:1. Después la suspensión se mantuvo en un baño de agua hirviendo por 2 o 3 minutos.

Esta solución se centrifugó a 6,000 x g para eliminar el material insoluble. Una alícuota (20 a 40 μ L) se sometió a electroforesis en un gel separador de poliacrilamida al 10 % de 3 mm de grueso con un gel concentrador al 2.5 %. Se aplicaron 130 volts para la concentración de las proteínas y después 150 volts para su separación. Se utilizó ventilación para mantener fresco el gel.

Después de la electroforesis, el gel se colocó en una solución colorante (azul Coomassie R-250 al 0.1 % (p/v), metanol al 50 % y ácido acético al 10%) durante toda la noche (12 a 14 horas) con agitación continua. Para eliminar el exceso de colorante, el gel se colocó en ácido acético al 10 % con agitación continua y con varios cambios de la solución. Como marcadores de peso molecular se utilizó un set SDS-6H (SIGMA Chemical Co.) el cual comprende proteínas con pesos moleculares desde 29 hasta 205 kDa.

Para determinar el peso molecular de las proteínas contenidas en las muestras, se determinó el Rf de cada estándar y se hizo una curva de calibración. Posteriormente conociendo el Rf de cada proteína en el gel, se ubicó en la curva y se determinó su peso molecular aproximado.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los tres experimentos de la Etapa 1, fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza, y se muestran en la tabla 1.

Tabla 1.- Análisis de varianza (Valores de F observada) para las variables altura, peso seco de tallo, peso seco de raíz y peso seco total, de 25 genotipos de sorgo evaluados bajo tratamientos de sequía, salinidad y alta temperatura.

F.V.	G.L.	ALTURA (cm)	P.S. TALLO (g)	P.S. RAIZ (g)	P.S. TOTAL (g)
GENOTIPOS SEQUIA	24 1	10.60 ** 2.18 *	4.67 * 7.82 **	3.23 NS 5.13 **	5.22 * 6.18 **
GENOTIPOS SALINIDAD	24 1	11.58 ** 3.35 **	6.92 ** 4.18 **	10.24 ** 8.51 **	6.51 ** 5.64 **
GENOTIPOS ALTA TEMP.	24 1	7.39 ** 3.35 **	8.67 ** 6.48 **	3.97 NS 3.18 **	4.27 * 2.38 **

**= $P < 0.01$ *= $P < 0.05$ NS= Dif. No Significativa

Como puede observarse en la tabla anterior, en el experimento 1 llevado a cabo para el factor sequía, la mayoría de las variables evaluadas mostraron diferencias significativas a niveles de $P < 0.05$ y $P < 0.01$ con excepción la variable peso seco de raíz, donde la diferencia no resultó significativa entre los tratamientos lo cual muestra que en general los genotipos formaron una masa radicular muy semejante bajo sequía y bajo condiciones de riego. A nivel individual los genotipos evaluados mostraron una diferencia altamente significativa para todas las variables lo cual indicó que existe una amplia variabilidad genética entre los materiales evaluados para este factor de estrés.

Los resultados del experimento 2 donde la evaluación fue bajo condiciones de salinidad se explican a continuación. Los genotipos mostraron una diferencia altamente significativa para cada una de las variables consideradas al más alto nivel de significancia ($P < 0.01$).

También a nivel de tratamientos la respuesta del material evaluado tuvo una diferencia altamente significativa en todas las variables consideradas a un nivel de $P < 0.01$.

En el experimento 3 donde se evaluó el factor de alta temperatura, los resultados del análisis de varianza mostraron al igual que en el factor sequía, que todas las variables consideradas tuvieron diferencias estadísticas significativas a niveles de $P < 0.05$ y $P < 0.01$ tanto entre los tratamientos de temperatura como entre los genotipos evaluados, a excepción de la variable peso seco de raíz, donde el efecto de los tratamientos no provocó una diferencia significativa.

Una vez determinada la respuesta de los genotipos evaluados bajo los diferentes factores de estrés, se determinó el índice de tolerancia en base al peso seco total para cada uno de ellos y en cada experimento. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Tomando como base estos resultados, fueron seleccionados los dos genotipos que mostraron los valores más altos en cada factor de estrés como genotipos resistentes y los dos genotipos con los valores más bajos se seleccionaron como los genotipos susceptibles. Los genotipos escogidos para cada factor de estrés se muestran en el cuadro 1.

Tabla 2. Indices de tolerancia en base al peso seco total (g) de 25 genotipos de sorgo "glossy" y "no-glossy" evaluados por separado bajo condiciones de sequía, salinidad y alta temperatura.

GENOTIPOS RESISTENTES		INDICES DE TOLERANCIA		
	GENOTIPOS	SEQUIA	SALINIDAD	ALTA TEMP.
GLOSSY	1. IS-1054	0.521	0.560	0.789
	2. IS-1082	0.533	0.632	0.769
	3. IS-1096			
	4. IS-2146	0.729	0.794	0.860
	5. IS-2205	0.741	0.700	0.833
	6. IS-2312	0.520	0.578	0.776
	7. IS-2394	0.650	0.557	0.766
	8. IS-3962	0.571	0.554	0.809
	9. IS-4473	0.761	0.799	0.867
	10. IS-4776	0.667	0.588	0.736
	11. IS-5359	0.717	0.578	0.767
	12. IS-5484			
	13. IS-5567	0.588	0.614	0.773
	14. IS-5587	0.608	0.631	0.684
	15. IS-5604	0.736	0.732	0.692
	16. IS-5642	0.652	0.640	0.722
	17. IS-8311	0.911	0.708	0.769
	18. IS-8315	0.835	0.595	0.721
	19. IS-22201	0.874	0.890	0.918
NO-GLOSSY	20. RB-3006	0.735	0.595	0.621
	21. RB-3030	0.766	0.640	0.756
	22. M-3751	0.670	0.684	0.732
	23. P-2620	0.775	0.700	0.689
	24. AN-56	0.750	0.708	0.729
	25. AN-135	0.618	0.596	0.654

De esta manera, los genotipos IS-8311 y IS-22201 fueron seleccionados como resistentes y los genotipos IS-5484 y IS-1096 como susceptibles al factor sequía del experimento 1. Los genotipos IS-22201 y IS-4473 fueron seleccionados como resistentes y los genotipos IS-5484 y IS-1096 como susceptibles

GENOTIPOS	SEQUIA	SALINIDAD	ALTA TEMP.
RESISTENTES	IS-8311	IS-22201	IS-22201
	IS-22201	IS-4473	IS-4473
SUSCEPTIBLES	IS-1096	IS-1096	IS-1096
	IS-5484	IS-5484	IS-5484

Cuadro 1.- Relación de los genotipos seleccionados como resistentes y susceptibles a sequía, salinidad y alta temperatura.

al factor salinidad en el experimento 2. Los genotipos IS-22201 y IS-4473 se seleccionaron como los más resistentes y los genotipos IS-1096 y IS-5484 como los más susceptibles al factor alta temperatura en el experimento 3.

Una vez seleccionados los cinco genotipos (tres resistentes y dos susceptibles) se iniciaron los experimentos de la segunda etapa.

SEGUNDA ETAPA.

En el primer experimento de esta segunda etapa, cuatro de los cinco genotipos seleccionados como resistentes y susceptibles a los diferentes factores de estrés fueron evaluados simultáneamente bajo condiciones de sequía, salinidad y alta temperatura. Los resultados de este experimento se sometieron a un análisis de varianza el cual proporcionó los resultados que se muestran en la tabla 3.

El análisis de varianza demostró que existe una diferencia altamente significativa para los factores temperatura, sequía y salinidad en todas las variables consideradas. Los genotipos también mostraron una diferencia altamente significativa en

todas las variables a excepción del peso seco de tallo, donde la diferencia encontrada no resultó significativa.

Tabla 3.- Análisis de varianza (Valores de F observada) de cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones de sequía, salinidad y alta temperatura.

F.V.	G.L.	ALTURA (cm)	P.S.TALLO (g)	P.S.RAIZ (g)	P.S.TOTAL (g)
TEMPERATURA	1	186.27 **	104.78 **	48.37 **	108.60 **
TRATAMIENTOS	3	166.80 **	203.41 **	183.31 **	308.17 **
GENOTIPOS	3	5.31 **	1.55 NS	20.54 **	15.52 **
TEMP. x TRAT.	3	12.84 **	16.06 **	1.09 NS	8.37 **
TEMP. x GENOT.	3	0.96 NS	12.19 **	6.46 **	12.92 NS
TRAT. x GENOT.	9	15.22 **	10.53 **	36.31 **	33.70 **
TEM x TRAT x GEN	9	0.65 NS	1.44 NS	2.46 *	1.62 NS
ERROR	96				
COEF. DE VAR.		6.857 %	8.779 %	3.987 %	5.764 %

**=P< 0.01

*= P< 0.05

NS= Dif. No Significativa

Con respecto a las interacciones entre factores, en la temperatura x genotipos no se encontró diferencia ni en la altura ni en el peso seco total, mientras que en el peso seco de tallo y peso seco de raíz, la diferencia encontrada fue altamente significativa. La interacción temperatura x tratamientos mostró diferencias altamente significativas en todas las variables excepto en el peso seco de raíz, donde la diferencia encontrada no fue significativa.

En la interacción tratamiento x genotipos todas las variables mostraron una diferencia altamente significativa y en la interacción temperatura contra tratamientos y genotipos, solamente en el peso seco de raíz se encontró una diferencia significativa, en el resto de las variables las diferencias encontradas no fueron significativas.

En la tabla 4 se muestra una comparación de medias obtenidas por el método de Tukey entre los tratamientos de

sequía y salinidad con sus respectivos testigos, bajo las dos condiciones de temperatura a que fueron sometidos.

Tabla 4. Comparación de medias por el método de Tukey de cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo dos condiciones de temperatura, dos niveles de salinidad y dos niveles de sequía a una $P < 0.05$.

TRATAMIENTO	GENOTIPOS				VARIABLE
	IS-22201	IS-4473	IS-5484	IS-1096	
27°C TEST. SAL.	21.900 abcdefg	23.050 abcde	24.600 ab	24.225 abc	ALTURA
SALINID.	19.625 efghij	20.900 cdefgh	16.350 jklm	14.725 mn	
TEST. SEQ	21.650 bedfgh	22.600 abodef	23.875 abod	25.200 a	
SEQUIA	20.325 efg	19.175 fghij	19.100 ghijk	18.375 hijkl	
42°C TEST. SAL.	20.550 defgh	21.800 abcdefgh	23.000 abcde	22.825 abcde	
SALINID.	16.500 ijklm	19.150 ghijk	14.575 mn	12.700 n	
TEST. SEQ	18.500 ghijkl	18.725 ghijkl	18.775 ghijkl	19.800 efghi	
SEQUIA	15.400 lmn	15.725 klmn	13.250 mn	13.100 mn	
					T= 3.4377
27°C TEST. SAL.	0.1287 bed	0.1337 abc	0.1363 ab	0.1370 ab	PESO SECO DE TALLO
SALINID.	0.1173 fghij	0.1187 fghij	0.1135 ijk	0.1128 jk	
TEST. SEQ	0.1248 def	0.1240 def	0.1343 abc	0.1380 a	
SEQUIA	0.1145 ghijk	0.1145 ghijk	0.1120 jk	0.1123 jk	
42°C TEST. SAL.	0.1217 defghi	0.1230 defg	0.1225 defgh	0.1180 efghij	
SALINID.	0.1170 fghij	0.1165 fghijk	0.1120 jk	0.1102 jk	
TEST. SEQ	0.1220 defghi	0.1243 def	0.1248 def	0.1260 cde	
SEQUIA	0.1152 ghijk	0.1140 hijk	0.1080 kl	0.1003 l	
					T= 0.0086
27°C TEST. SAL.	0.2110 defg	0.2163 bedef	0.2218 bc	0.2340 a	PESO SECO DE RAIZ
SALINID.	0.2120 cdefg	0.2145 cdef	0.2057 fgh	0.1970 hij	
TEST. SEQ	0.2122 cdefg	0.2163 bedef	0.2182 bed	0.2265 ab	
SEQUIA	0.2115 cdefg	0.2068 efgh	0.1903 jkl	0.1852 kl	
42°C TEST. SAL.	0.2100 defg	0.2125 cdefg	0.2160 bodef	0.2170 bode	
SALINID.	0.2085 defg	0.2122 cdefg	0.1945 ijk	0.1905 jkl	
TEST. SEQ	0.2127 cdefg	0.2172 bode	0.2150 cdef	0.2120 cdefg	
SEQUIA	0.2063 fgh	0.2032 ghi	0.1870 jkl	0.1830 l	
					T= 0.0107
27°C TEST. SAL.	0.3397 cdef	0.3500 bed	0.3580 ab	0.3710 a	PESO SECO TOTAL
SALINID.	0.3293 efghij	0.3332 efghi	0.3192 ijkl	0.3098 klm	
TEST. SEQ	0.3370 defg	0.3403 cdef	0.3525 bc	0.3602 ab	
SEQUIA	0.3260 fghij	0.3213 hijkl	0.3022 m	0.2975 mn	
42°C TEST. SAL.	0.3317 efghij	0.3355 defgh	0.3385 cdef	0.3350 defgh	
SALINID.	0.3255 fghij	0.3288 efghij	0.3065 lm	0.3008 m	
TEST. SEQ	0.3347 efgh	0.3415 cde	0.3398 cdef	0.3380 cdef	
SEQUIA	0.3223 ghijk	0.3173 jkl	0.2973 mn	0.2833 n	
					T= 0.0151

T- Valor de Tukey

Nota: las medias con letras iguales son semejantes, las medias con letras distintas son diferentes.

En la tabla de medias se observa que no existe mucha diferencia entre las medias de los genotipos IS-22201 y IS-4473 en los tratamientos de salinidad y sequía con sus respectivos testigos, mientras que en los genotipos IS-5484 y IS-1096 las medias son muy diferentes para todas las variables evaluadas en

las condiciones de temperatura, sequía y salinidad lo cual indica una alta susceptibilidad a estos factores.

En la tabla 5 se muestra un análisis de las diferencias de las medias obtenidas por el método de Tukey de cuatro genotipos de sorgo en los tratamientos de sequía y salinidad con sus respectivos testigos, bajo dos condiciones de temperatura. En general puede observarse que las diferencias fueron menores en los genotipos IS-22201 y IS-4473 (genotipos resistentes) y mayores en los genotipos IS-5484 y IS-1096 (genotipos susceptibles) para todas las variables evaluadas.

Tabla 5.- Diferencia de medias absolutas (Tukey) de cuatro repeticiones entre los valores de los tratamientos y sus respectivos testigos, bajo dos condiciones de temperatura, para las variables altura (cm), peso seco de tallo (g), peso seco de raíz (g) y peso seco total (g).

TRATAMIENTO	GENOTIPOS				VARIABLE
	IS-22201	IS-4473	IS-5484	IS-1096	
27°C SALINID	2.275	2.150	8.250	9.500	ALTURA
SEQUIA	1.325	3.420	4.770	6.825	
42°C SALINID	4.050	2.650	8.420	10.025	
SEQUIA	3.100	3.000	5.525	6.700	
27°C SALINID	0.0114	0.0150	0.228	0.0242	P.S. DE TALLO
SEQUIA	0.0103	0.0095	0.0223	0.0257	
42°C SALINID	0.0047	0.0065	0.0105	0.0078	
SEQUIA	0.0068	0.0103	0.0168	0.0257	
27°C SALINID	-0.0010	0.0018	0.0161	0.0370	P.S. DE RAIZ
SEQUIA	0.0007	0.0095	0.0279	0.0413	
42°C SALINID	0.0015	0.0003	0.0215	0.0265	
SEQUIA	0.0064	0.0140	0.0280	0.0290	
27°C SALINID	0.0104	0.0168	0.0388	0.0612	P.S. TOT
SEQUIA	0.0110	0.0190	0.0503	0.0627	
42°C SALINID	0.0062	0.0067	0.0320	0.0342	
SEQUIA	0.0124	0.0242	0.0425	0.0547	

También se observó que en general las diferencias entre el tratamiento y el testigo fueron mayores en el tratamiento de salinidad y menores en el tratamiento de sequía para la variable altura a las dos temperaturas evaluadas y para el peso seco de tallo a 27° C, mientras que para el peso seco de tallo a 42° C fue mayor la diferencia en sequía para los cuatro genotipos.

En el caso del peso seco de raíz y peso seco total las diferencias fueron mayores en sequía comparadas con las diferencias en salinidad bajo los dos valores de temperatura, lo cual indicó probablemente una mejor adaptación de los genotipos hacia la salinidad que hacia las condiciones de sequía tomando en cuenta estas variables.

En el segundo experimento de la segunda etapa, los genotipos seleccionados fueron evaluados bajo una condición combinada de los factores de estrés: sequía, salinidad y alta temperatura. Se analizaron algunos aspectos fisiológicos como son: tasa de asimilación de CO₂, transpiración y uso eficiente del agua. Los resultados de las evaluaciones de las variables fisiológicas fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6.

Como puede observarse, las variables fotosíntesis, transpiración y uso eficiente del agua, mostraron diferencias altamente significativas a un nivel de $P < 0.01$ tanto en la evaluación entre los genotipos como entre los tratamientos.

Tabla 6. Análisis de varianza (Valores de F observada) de las variables fotosíntesis, transpiración y uso eficiente del agua de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

F.DE VAR.	G.L.	FOTOSINTESIS $\mu\text{mol CO}_2\text{cm}^{-2}\text{seg}^{-1}$	TRANSPIRACION $\text{mmol H}_2\text{O cm}^{-2}\text{seg}^{-1}$	USO EFIC. AGUA g Kg^{-1}
GENOTIPOS	4	13.03 **	4.84 **	15.74 **
TRATAM.	1	28.95 **	212.45 **	206.80 **
ERROR	20			
COEF. DE VAR.		14.15 %	15.24 %	12.56 %

** = $P < 0.01$

* = $P < 0.05$

NS = Dif. No Significativa

Tasa de Asimilación de CO_2 .

En la Figura 1, se muestra la respuesta de los cinco genotipos evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

En el tratamiento testigo se muestra una variación entre los cinco genotipos en la asimilación de CO_2 , aunque esta variación es mucho mas marcada en el tratamiento bajo estrés.

Los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-8311 (seleccionados como resistentes), presentaron una diferencia mínima al comparar su tasa de asimilación de CO_2 entre las condiciones de óptimas del testigo y las condiciones de estrés. En cambio los genotipos IS-5484 y IS-1096 (seleccionados como susceptibles) mostraron una gran diferencia en la absorción de CO_2 bajo condiciones ideales comparada con el tratamiento de estrés.

Tasa de Asimilación de CO₂

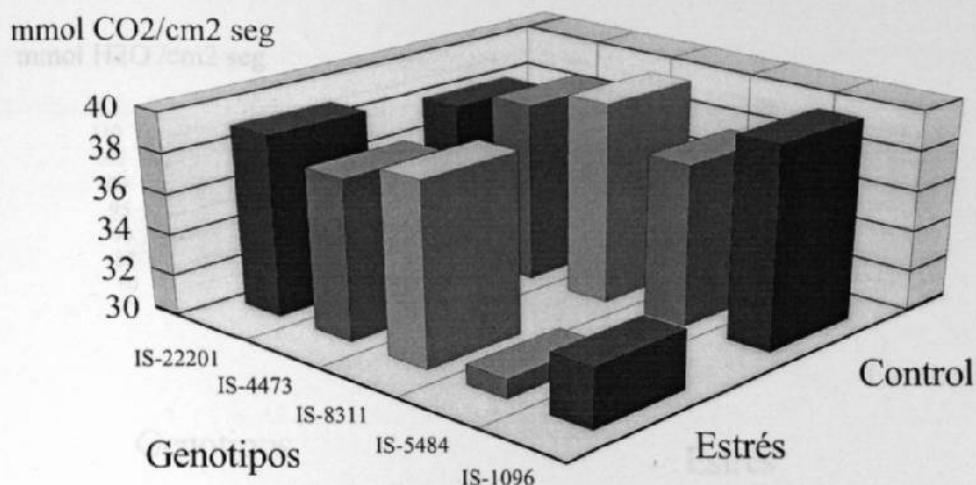


Figura 1. Tasa de asimilación de CO₂ de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

Transpiración. del Agua

Los resultados de la evaluación de los genotipos seleccionados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura para la variable transpiración, se muestran en la figura 2. Los genotipos seleccionados como resistentes disminuyeron considerablemente su transpiración bajo las condiciones de estrés comparados con el tratamiento testigo, mientras que los genotipos susceptibles aunque su transpiración bajo estrés es menor que en el testigo, no la disminuyeron en la misma proporción que los resistentes. Los genotipos susceptibles disminuyeron su transpiración en promedio en un 18%, mientras que los genotipos resistentes la disminuyeron en un 29%.

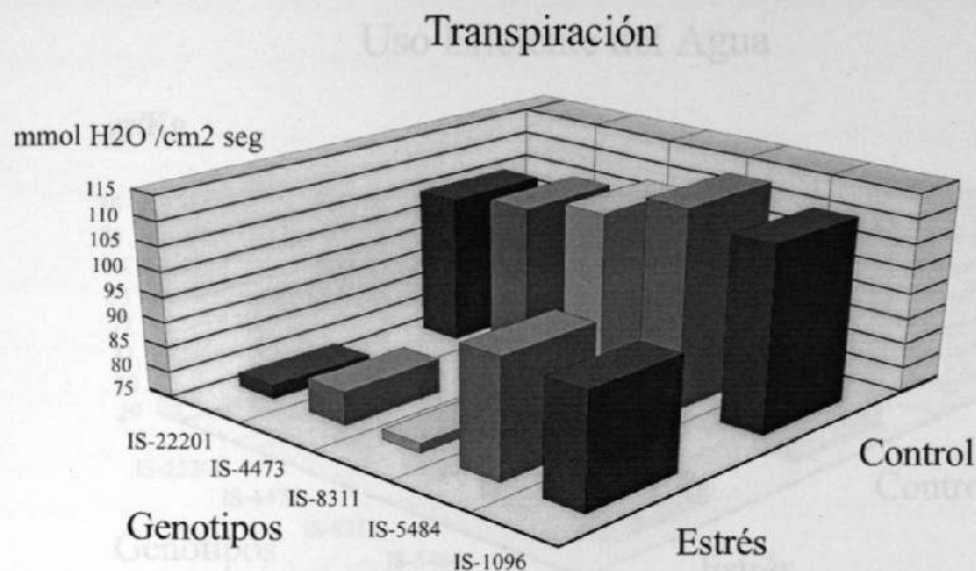


Figura 2. Transpiración de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

Uso Eficiente del Agua.

En la figura 3 se muestra la respuesta de los genotipos evaluados para la eficiencia en el uso del agua. Como puede observarse, aún bajo las condiciones óptimas del testigo, existe una amplia variabilidad en la respuesta de los genotipos seleccionados, lo que nos confirma el historial agronómico que tienen estos genotipos, algunos de ellos son altamente productivos y otros tienen rendimientos, aunque aceptables, muy por abajo de los primeros. Los genotipos IS-5484 y IS-1096, caracterizados por sus altos rendimientos bajo condiciones de riego, en este experimento mostraron una mayor productividad en el tratamiento testigo, mientras que los

Uso Eficiente del Agua

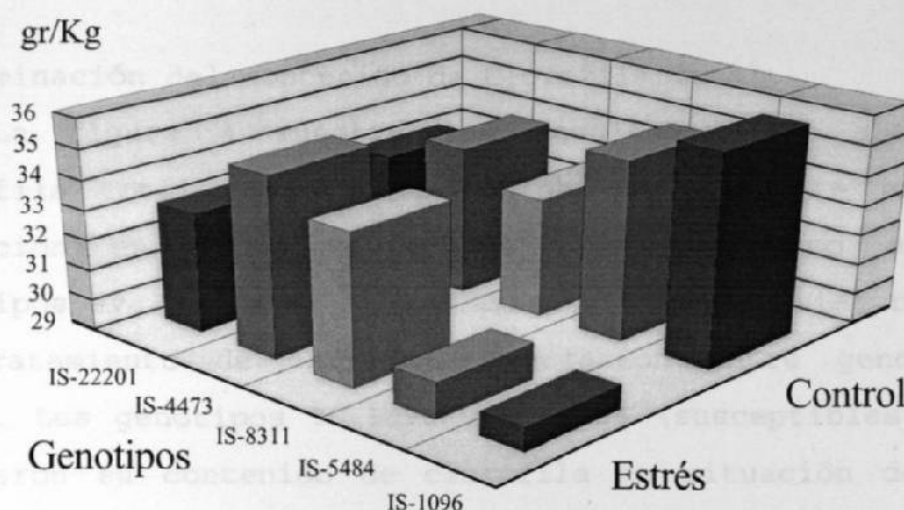


Figura 3. Uso Eficiente del Agua de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

genotipos IS-22201, IS-8311 y IS-4473 (resistentes) tuvieron una menor productividad. Sin embargo, bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura, los genotipos IS-1096 y IS-5484 redujeron considerablemente su producción de biomasa por cada litro de agua transpirada, mientras que el cambio de esta variable en los genotipos resistentes fue mínima e inclusive en los genotipos IS-4473 y IS-8311 fue ligeramente mayor en condiciones de estrés comparado con el control.

Figura 4. Contenido de Clorofila Total de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

Experimento 3. los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-8311
 res Evaluación de algunos compuestos bioquímicos de cinco
 genotipos de sorgo bajo condiciones combinadas de sequía,
 salinidad y alta temperatura.

Determinación del contenido de Prolina.

Determinación del contenido de Clorofila Total. contenido de
 prol La figura 4 muestra los resultados del análisis de
 clorofila total. Como se puede observar, existe una ligera
 variación en el contenido de este compuesto entre los
 genotipos evaluados en el tratamiento testigo, mientras que en
 el tratamiento de estrés la variación entre genotipos es
 mayor. Los genotipos IS-1096 y IS-5484 (susceptibles) casi no
 redujeron su contenido de clorofila en situación de estrés,

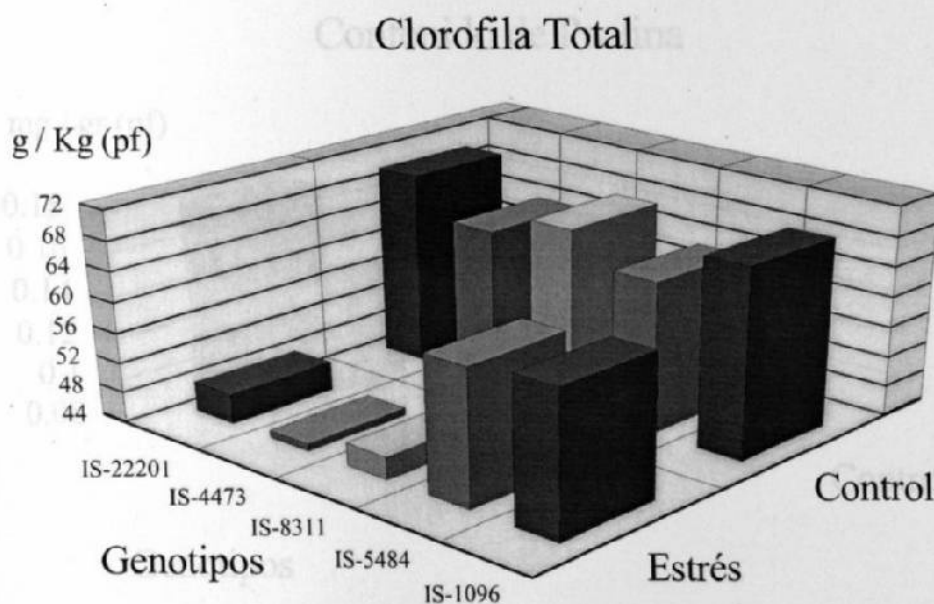


Figura 4. Contenido de Clorofila Total de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

mientras que los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-8311 (resistentes), mostraron una reducción considerable de este compuesto bajo estrés, comparada con el tratamiento testigo.

una variación significativa y su producción de prolina fue muy

Determinación del contenido de Prolina.

Los resultados de la determinación del contenido de prolina en las raíces de los cinco genotipos evaluados se muestran en la figura 5. Todos los genotipos mostraron tener un contenido de prolina muy similar y con mínimas diferencias bajo las condiciones óptimas del tratamiento testigo, sin embargo, bajo las condiciones del tratamiento de estrés, se mostró una clara diferencia en la producción de prolina. Los genotipos IS-22201 y IS-4473 (resistentes) mostraron un

Contenido de Prolina

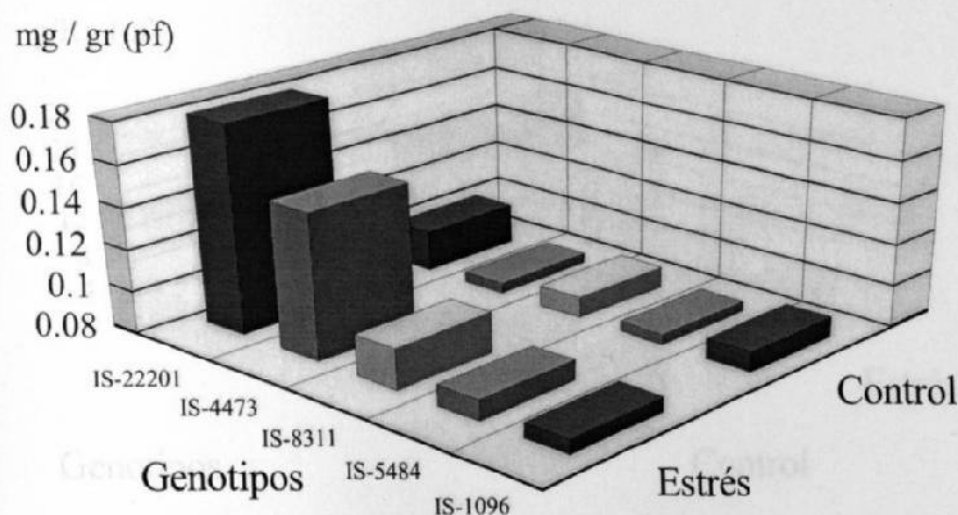


Figura 5. Contenido de Prolina de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

aumento de prolina muy significativo bajo estrés comparado con el testigo, mientras que los genotipos IS-8311 (resistente) y IS-5484 y IS-1096 (susceptibles) no tuvieron una variación significativa y su producción de prolina fue muy similar en los dos tratamientos.

Determinación del contenido de Acido Cianhídrico.

Los resultados del análisis del contenido de ácido cianhídrico de los genotipos evaluados se muestran en la figura 6. Los cinco genotipos mostraron una producción de ácido cianhídrico muy similar bajo las condiciones óptimas del tratamiento testigo, mientras que en el tratamiento de estrés las diferencias en el contenido de este compuesto fueron muy

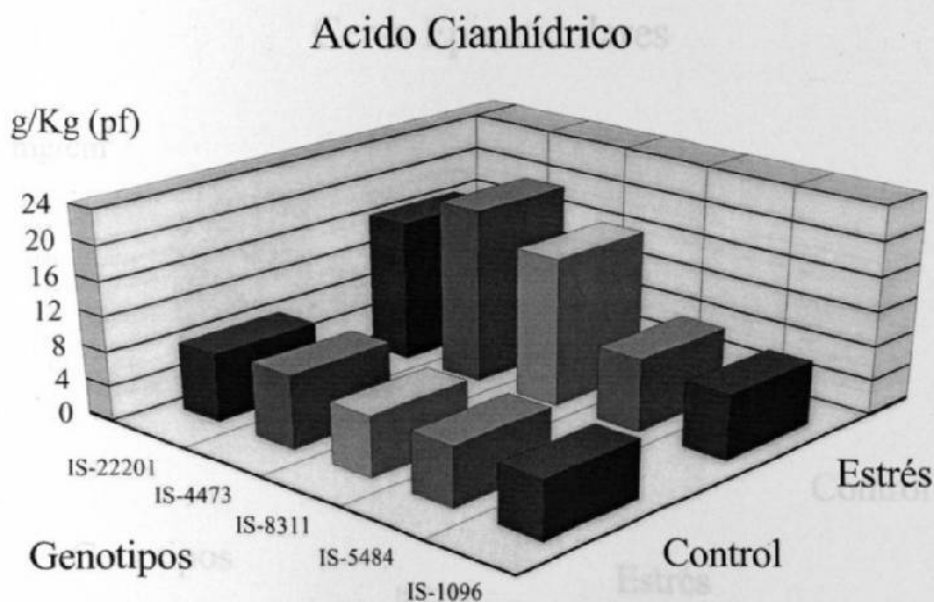


Figura 6. Contenido de Acido Cianhídrico de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

notables. Los tres genotipos seleccionados como resistentes incrementaron su contenido de ácido cianhídrico en el tratamiento de estrés comparado con el testigo. Los genotipos susceptibles presentaron una concentración de este compuesto casi sin cambios comparando los dos tratamientos.

ceras epicuticulares que los genotipos resistentes (IS-8311).
 Determinación del contenido de Ceras Epicuticulares.

El contenido de ceras epicuticulares de los genotipos evaluados se presenta en la figura 7. Los resultados no mostraron variación alguna entre el contenido de ceras producido por los genotipos bajo estrés, comparado con el producido bajo las condiciones del testigo. Estos resultados fueron apoyados por el análisis de varianza donde se encontró

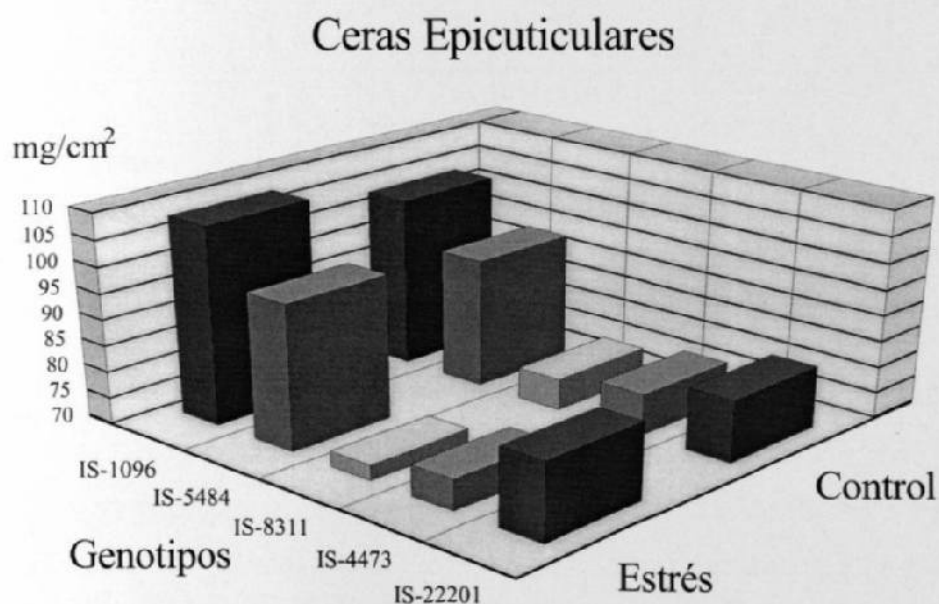


Figura 7. Contenido de Ceras Epicuticulares de cinco genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura.

que las diferencias entre los dos tratamientos no fueron significativas.

Por otro lado, donde si hubo diferencias importantes fue en la producción de ceras por cada genotipo. Los genotipos susceptibles (IS-1096 y IS-5484) mostraron mayor cantidad de ceras epicuticulares que los genotipos resistentes (IS-8311, IS-4473 y IS-22201). Los resultados en general demuestran que la presencia de ceras epicuticulares no es el resultado de una respuesta inmediata de la planta a una condición de estrés, sino mas bien podría ser la consecuencia de un largo proceso evolutivo.

Determinación del contenido de proteínas.

Los resultados del análisis de proteínas se muestran a manera de resumen en la Tabla 6.

Tabla 6.- Relación de las proteínas específicas encontradas en cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones individuales y combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura. * Masa molecular en kDa.

TRATAMIENTOS	GENOTIPOS			
	IS-22201	IS-4473	IS-5484	IS-1096
SEQUIA (20% H.S.)	-	-	-	-
	24*	-	-	-
	56	-	-	-
	62	62	-	-
	120	120	-	-
SALINIDAD (0.25 M NaCl)	-	-	-	-
	-	-	-	-
	52	52	-	-
	137	137	-	-
SEQUIA + SALINIDAD + ALTA TEMP.	26	26	26	-
	52	-	-	-

En el experimento bajo condiciones de sequía se detectaron cuatro proteínas de 24, 56, 62 y 120 kDa. Estas proteínas fueron producidas principalmente por el genotipo IS-22201 (resistente a la sequía) bajo condiciones de estrés. No se detectó la formación de estas proteínas por este mismo genotipos en el tratamiento testigo. El genotipo IS-4473 también bajo condiciones de estrés, formó sólo dos proteínas de 62 y 120 kDa y bajo condiciones del testigo no produjo

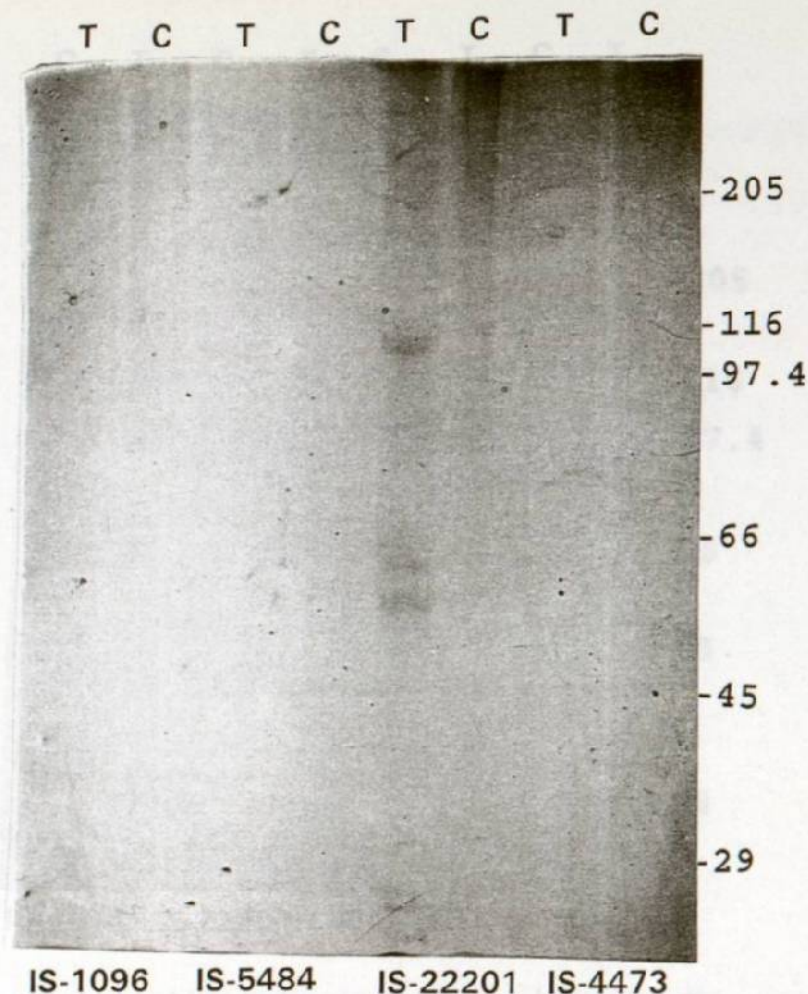


Figura 8. Análisis de proteínas por medio de electorforesis de gel de cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones de sequía. A la derecha de la figura se ubican los marcadores de peso molecular. T= Tratamiento C= Control.

ninguna proteína. Los dos genotipos susceptibles (IS-5484 y IS-1096) no formaron ninguna proteína ni bajo condiciones de sequía ni en el tratamiento testigo. Estos resultados se observan en la figura 8.

En el experimento bajo condiciones de salinidad los genotipos produjeron dos proteínas de 52 y 137 kDa. Estas proteínas fueron formadas por los genotipos IS-22201 y IS-4473 en el tratamiento de estrés, mientras que en el tratamiento testigo estos mismos genotipos no formaron ninguna proteína.

genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-5484. En los primeros dos

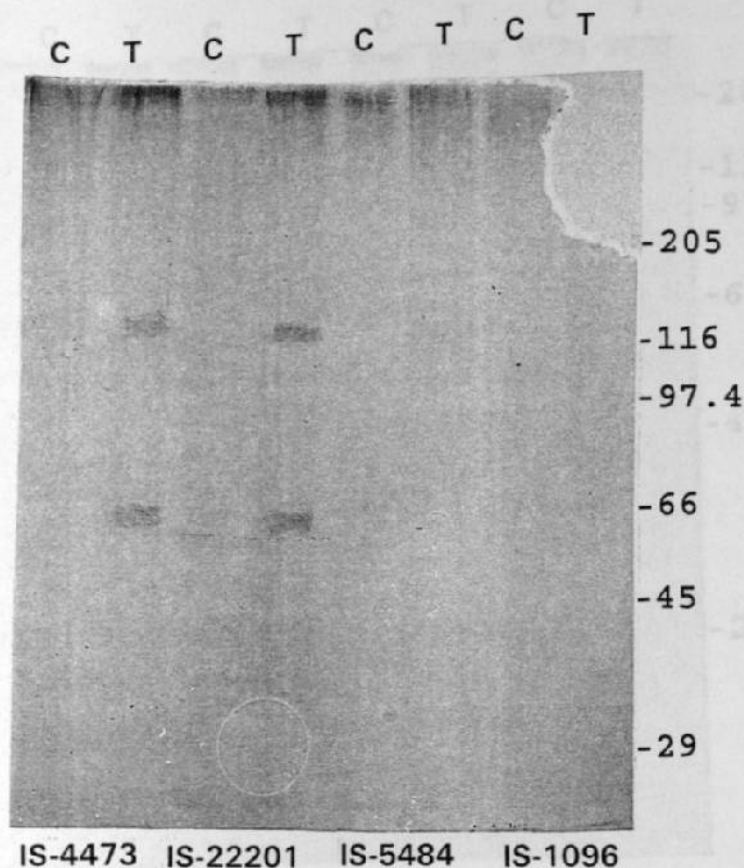


Figura 9. Análisis de proteínas por medio de electorforesis de gel de cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones de salinidad. A la derecha de la figura se ubican los marcadores de peso molecular. T= Tratamiento C= Control.

Los genotipos IS-5484 y IS-1096 (susceptibles) no mostraron ninguna formación de este tipo de proteínas ni en el tratamiento de salinidad ni en el tratamiento testigo. Estos resultados se pueden observar en la figura 9.

En el experimento donde se combinaron los tres factores de estrés (sequía, salinidad y alta temperatura) el análisis de proteínas mostró que fueron producidas dos proteínas de 26 y 52 kDa. Estos resultados se observan en la figura 10. La producción de la proteína de 26 kD se presentó en los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-5484. En los primeros dos

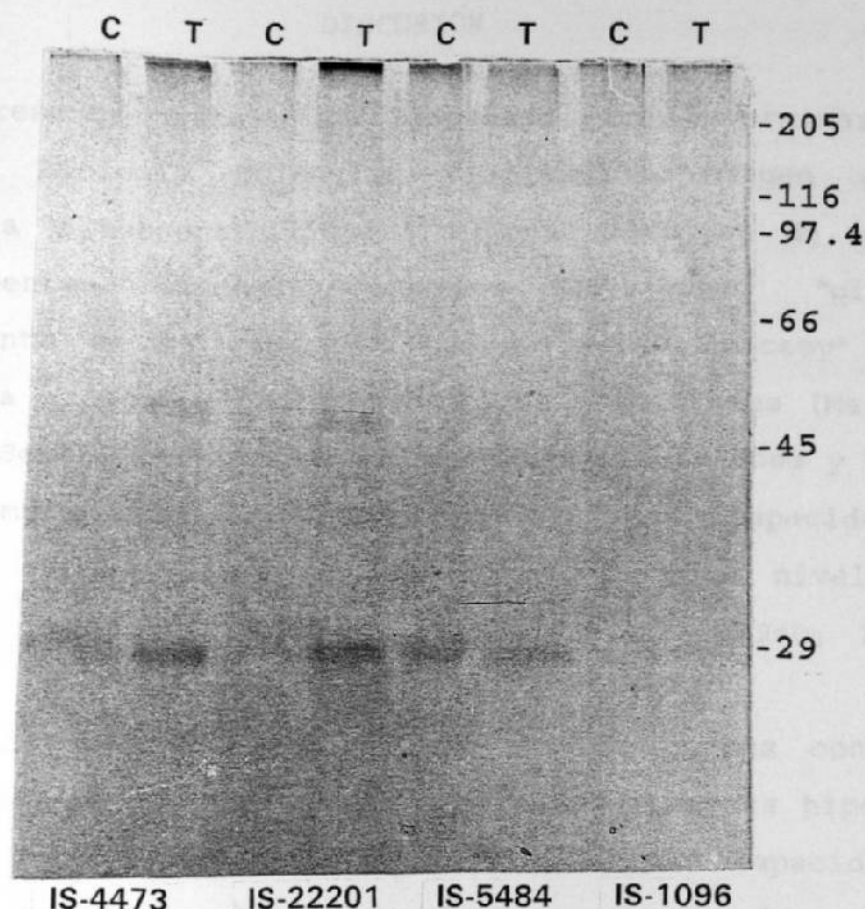


Figura 10. Análisis de proteínas por medio de electorforesis de gel de cuatro genotipos de sorgo evaluados bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura. A la derecha de la figura se ubican los marcadores de peso molecular. T= Tratamiento C= Control.

genotipos su concentración es mucho mayor en el tratamiento de estrés comparado con el tratamiento testigo donde esta proteína también aparece aunque en una concentración muy baja, mientras que en el genotipo IS-5484 esta relación es inversa ya que esta proteína se muestra más concentrada en el testigo comparada con el tratamiento de estrés donde se produjo en menor concentración. En el genotipo IS-1096 no se muestra ningún rastro de este tipo de proteínas ni en el tratamiento de estrés ni en el testigo.

DISCUSION

El presente trabajo fue planteado para determinar a un nivel de Biología Molecular el posible origen de la resistencia y susceptibilidad a algunos factores de estrés, que presentan algunos genotipos de sorgo "glossy". Anteriormente se ha reportado que el sorgo "glossy" tiene resistencia a algunos factores bióticos y abióticos (Maiti *et al*, 1989; Soman, 1990; Maiti *et al*, 1994a; De La Rosa y Maiti, 1995). También se ha demostrado una alta capacidad de adaptación de estas líneas a suelos con bajos niveles de fertilidad (Raju *et al*, 1987; Maiti *et al*, 1994b; Núñez, 1995).

Este trabajo se llevó a cabo en dos etapas con tres experimentos en cada una de ellas para demostrar la hipótesis planteada, en el sentido de que la diferente capacidad de tolerancia hacia los diferentes factores de estrés mostrada por genotipos de sorgo "glossy", está dada por la presencia y ausencia de proteínas específicas que podrían actuar, ya sea en la síntesis de compuestos bioquímicos con funciones osmorreguladoras, o bien por sí mismas con la misma función.

Los resultados de los tres experimentos de la primera etapa indican que los genotipos de sorgo evaluados en este trabajo, mostraron una amplia variabilidad genética con respecto a la tolerancia y susceptibilidad a cada uno de los tres factores de estrés considerados. Estos resultados coinciden con otros trabajos realizados con líneas de sorgo glossy reportadas por diferentes autores: Leal, (1990); Ambriz, (1991); Maiti *et al*, (1994c); De La Rosa y Maiti, (1995), quienes también encontraron una amplia variabilidad

genética en la respuesta del sorgo "glossy" a diferentes factores de estrés.

Los resultados del experimento 1 de la segunda etapa demuestran la confiabilidad de los tres experimentos anteriores y del mecanismo utilizado para la evaluación y selección de los genotipos resistentes y susceptibles a los factores de estrés considerados. Los genotipos resistentes mostraron los valores mas bajos de las diferencias de las medias de todas las variables, lo cual significa que los tratamientos no afectaron en la misma medida a estos genotipos comparados con los genotipos susceptibles, donde las diferencias de las medias fueron mayores.

Los genotipos IS-5484 y IS-1096 (susceptibles) mostraron los valores mas altos en todas las variables evaluadas bajo las condiciones ideales de cultivo (testigo), ya que por sus características agronómicas son ubicados como altamente productivos y con altos rendimientos, sin embargo, estas características sólo se muestran bajo condiciones ideales de cultivo ya que al ser evaluados bajo condiciones de estrés, son los más afectados por lo que las diferencias en sus medias resultaron ser las más altas.

También se demostró que la salinidad afecta en mayor medida las variables altura y peso seco de tallo, esto es, las partes aéreas de la planta, mientras que la sequía influyó mas drásticamente en las variables peso seco de raíz y peso seco total. Es muy probable que el efecto de la salinidad además de afectar significativamente las partes aéreas de la planta, también incremente el pH del suelo y provoque un bloqueo en la absorción de algunos nutrientes esenciales para el proceso fotosintético y respiratorio como son algunos de los elementos

metales (Fierro, Cobre, Zinc, etc..) y por consecuencia sean las partes aéreas las afectadas.

Como resultado del experimento 2 de la segunda etapa, donde se evaluaron algunos aspectos fisiológicos involucrados en la tolerancia del sorgo a diferentes factores de estrés, se encontró que la asimilación de CO_2 , la transpiración y el uso eficiente del agua, son variables que mostraron estar fuertemente relacionadas entre sí e inclusive dependientes una de otra, tanto en la evaluación bajo condiciones de control como en el tratamiento combinado de sequía, salinidad y alta temperatura. Se ha reportado que bajo condiciones de sequía las líneas glossy tienen una mayor eficiencia en el uso del agua y una mayor elongación de la raíz (Ramírez-Sarquis, 1988).

Bajo condiciones de estrés, al presentarse una alta transpiración (alta conductancia estomática), la asimilación del CO_2 disminuye debido al incremento de la resistencia difusiva (r_a) del CO_2 desde la capa de aire sobre la hoja hasta el interior de la misma (Chartier, 1972) lo que significa que la asimilación del CO_2 disminuye por la ocupación del espacio del ostíolo por las moléculas de agua transpiradas que no permiten el libre flujo del CO_2 en sentido inverso. Al reducirse la asimilación del CO_2 por el incremento de la transpiración, se observó también una reducción en la eficiencia en el uso del agua. Resultados similares encontraron Yadava *et al*, 1991; Peng y Krieg, 1992 ; Ma (1992) y Corlett *et al*, 1994, quienes encontraron que genotipos de sorgo tolerantes a sequía tuvieron una menor conductancia estomática y su tasa fotosintética no varió significativamente bajo condiciones de estrés por sequía, comparados con

genotipos susceptibles los cuales al incrementar su transpiración, disminuyeron considerablemente su tasa fotosintética. Por otro lado, Al-Hamdani *et al.*, (1991) al evaluar cuatro genotipos de sorgo bajo sequía, encontraron que el potencial hídrico, la conductancia estomática y la asimilación de CO_2 , disminuyeron con una menor disponibilidad de agua en el suelo, aunque la disminución fue menor en el genotipo IN15 (resistente) y mayor en los genotipos BOK111, TX622 y BOK11 (no resistentes). También Donatelli *et al.*, (1992) al evaluar genotipos de sorgo bajo sequía, encontraron un incremento de hasta un 28% en la eficiencia en la transpiración (biomasa/agua transpirada) en genotipos resistentes comparados con los no tolerantes a sequía.

En este trabajo se encontró la relación antes mencionada ya que los genotipos resistentes presentaron una menor transpiración bajo estrés lo que les permitió mantener casi sin variación su tasa de asimilación de CO_2 e incrementar su eficiencia en el uso del agua, en cambio los genotipos susceptibles aumentaron su transpiración bajo las condiciones de estrés, disminuyeron la asimilación de CO_2 y por lo tanto también disminuyó su eficiencia en el uso del agua.

Como resultado del experimento 2 de la segunda fase, donde se evaluaron algunos compuestos bioquímicos relacionados con la resistencia del sorgo a diferentes factores de estrés, se encontró que los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-8311 para el análisis de clorofila total, mostraron una respuesta similar a la encontrada por Maiti *et al.*, (1991) y De La Rosa y Maiti (1995) quienes demostraron que el nivel de clorofila en las hojas tiende a disminuir con respecto al incremento de sequía y salinidad respectivamente. Es muy probable que la

tendencia a disminuir de la clorofila se deba en parte a la síntesis de compuestos nitrogenados que actúan como reguladores osmóticos (Zúñiga *et al*, 1989; Basnayake *et al*, 1993; Ludlow *et al*, 1994).

Con respecto al contenido de ceras epicuticulares, se encontró que los genotipos IS-22201, IS-4473 y IS-8311 (resistentes) tuvieron un menor contenido de ceras que los genotipos IS-5484 y IS-1096 (susceptibles), los cuales presentaron una mayor concentración. Esta respuesta es similar a la encontrada por De La Rosa y Maiti, (1995) en genotipos de sorgo bajo estrés por salinidad; Leal, (1990) y Premachandra *et al*, (1992) en sorgo bajo sequía y Maiti *et al*, (1994) en sorgo bajo estrés múltiple, quienes demostraron una variabilidad genética en el contenido de ceras epicuticulares bajo diferentes condiciones de estrés. En el caso de las líneas de sorgo no-glossy, la superficie de la hoja es opaca e irregular y con un alto contenido de cera lo cual hace que se absorba una mayor cantidad de luz y se eleve la temperatura de la hoja, incrementándose la transpiración. En cambio, en las líneas glossy la superficie es regular, lisa y con un menor contenido de cera lo que hace que se refleje la luz dando una apariencia brillante, con menor temperatura y por consiguiente menor transpiración y mayor eficiencia en el uso del agua (Maiti *et al*, 1992; Maiti, 1996). Traere *et al*, (1989) demostraron que la apariencia brillante de la hoja se relacionó con las vellosidades o tricomas y en un mayor grado con el contenido de ceras.

Otro compuesto evaluado fue la prolina en las células de las raíces. La concentración de prolina mostró un aumento en los genotipos IS-22201 y IS-4473 (resistentes) bajo

condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura, mientras que en los genotipos IS-8311 (resistente) y IS-5484 y IS-1096 (susceptibles) no se observó ningún cambio significativo comparado con el testigo. La acumulación de prolina en las células, ha sido demostrada como respuesta hacia factores de estrés por salinidad (Jain *et al.*, 1991; LaRosa *et al.*, 1991; De La Rosa y Maiti, 1995) y sequía (Hou *et al.*, 1990; Mohammed y Sen, 1990; Yadava *et al.*, 1991; Tovar, 1994).

Es muy probable que el incremento de prolina se deba a la capacidad que tienen algunas plantas de acumular compuestos orgánicos e inorgánicos en el citoplasma de sus células para disminuir el potencial hídrico celular y cambiar el gradiente osmótico a su favor, asegurando así el flujo del agua hacia la planta (De La Rosa y Maiti, 1995).

Estudios a nivel de ultraestructura de la hoja en plantas de sorgo, muestran que características como abundancia y tipo de cristales de cera, tricomas y tamaño y densidad de estomas, son características morfológicas que difieren entre líneas glossy y no-glossy (Maiti *et al.*, 1980; Tarumoto *et al.*, 1981; Maiti *et al.*, 1984; Maiti *et al.*, 1992; Maiti, 1996). Estas características han sido relacionadas con la tolerancia de las líneas glossy a diferentes factores de estrés tanto bióticos como abióticos. Maiti y Bidinger, (1979), Agrawal y House, (1982) y Gibson y Maiti, (1983) han demostrado que la resistencia que algunas líneas de sorgo glossy tienen al ataque de la mosca del vástago, se debe a la presencia y variabilidad de los tricomas. También la resistencia de las plantas de sorgo al ataque del barrenador del tallo, ha sido

relacionada con la presencia y tipo de cristales de las ceras epicuticulares (Woodhead y Taneja, 1987).

La variabilidad entre las líneas de sorgo glossy y no-glossy en la resistencia a diferentes factores abióticos también ha sido demostrada. La diferente tolerancia a la sequía (Sullivan, 1983; Leal, 1990; Tovar, 1994; Maiti et al, 1994a), salinidad (Terán, 1990; De La Rosa, 1993; De La Rosa Y Maiti, 1995) y temperatura (López, 1990; Ramones, 1991), ha sido relacionada con una fluctuación en la cantidad que de algunos compuestos como prolina en las raíces, ácido cianhídrico, clorofila y ceras epicuticulares en las hojas, presentan las líneas resistentes y susceptibles de sorgo glossy y no-glossy. En este trabajo se demostró que bajo estrés hay un ligero incremento de cera epicuticular comparado con el control y se observaron las mayores cantidades en los genotipos susceptibles comparados con los genotipos resistentes. Estos resultados concuerdan con Jordan et al, (1981), Leal (1990) y Maiti et al, (1992). Al parecer la presencia variable de estos compuestos en los diferentes órganos de la planta, es interpretada por muchos investigadores como una respuesta inmediata de las células para provocar un ajuste osmótico y tener la capacidad de tolerancia hacia estos factores de estrés (Flower et al, 1990; Santamaria et al, 1990; Ludlow et al, 1990; Tangpremsri et al, 1991; Basnayaque et al, 1994; Ludlow et al, 1994).

Los cambios bioquímicos observados como respuesta a los diferentes factores de estrés, pueden obedecer a una nueva formación de enzimas provocada a su vez por la modificación que ejercen los factores ambientales sobre el RNA (Cheng et al, 1993) o incluso en el propio DNA (Xing y Nguyen, 1991).

En base a lo anterior, en este trabajo se planteó como un objetivo específico, investigar la posible formación de nuevas proteínas como resultado de la exposición de las plantas a diferentes factores de estrés.

Al analizar la respuesta en la formación de nuevas proteínas de los genotipos de sorgo bajo diferentes factores de estrés, se encontró que el genotipo IS-22201, que precisamente fue el genotipo mas resistente a los factores evaluados, produjo cuatro diferentes proteínas de 24, 56, 62 y 110 kDa bajo sequía, dos bajo salinidad a 52 y 137 kDa y dos bajo condiciones combinadas de sequía, salinidad y alta temperatura a 26 y 52 kDa. El genotipo IS-4473, también seleccionado como resistente, solo formó dos nuevas proteínas de 62 y 110 kDa bajo sequía, las mismas dos que el IS-22201 a 62 y 110 kDa en salinidad y solo una de 26 kDa bajo el estrés combinado de factores. Es posible que la proteína formada en la banda de 26 kDa sea la osmotina, la proteína que ha sido mas extensamente estudiada y que se acumula en varias especies vegetales bajo estrés hídrico y por salinidad (Singh *et al*, 1985; Singh *et al*, 1987; Dubey, 1994). Probablemente esta proteína esté involucrada o relacionada con la respuesta de resistencia del genotipo IS-22201 a diferentes factores de estrés ya que apareció tanto en sequía como en salinidad y en el estrés combinado (sequía, salinidad y alta temperatura). También es posible que la proteína detectada en la banda de los 62 kDa en el tratamiento de sequía, corresponda a la encontrada por Dasgupta y Bewley (1984) en hojas de plántulas de cebada bajo estrés hídrico.

El hecho de que estas proteínas sólo se formaron bajo condiciones de estrés y no en los testigos, y que los

genotipos susceptibles (IS-5484 y IS-1096) no formaron ninguna ni bajo condiciones de estrés ni en el testigo, necesariamente nos permite deducir que estas proteínas son sintetizadas como una respuesta inmediata de la planta a los diferentes factores de estrés.

En base a lo anterior, es posible considerar que los factores ambientales adversos a la planta, modifican la expresión de los genes de ciertas áreas del DNA y se producen nuevas proteínas (Bewley y Larsen, 1982; Heikkila *et al*, 1984; Dasgupta y Bewley, 1989; Dubey, 1994), las cuales a su vez podrían actuar por sí mismas como reguladoras del ajuste osmótico como la osmotina, ó bien actuando como enzimas que inducen la síntesis de compuestos osmorreguladores, como la prolina en las raíces o el ácido cianhídrico o algunas betaínas en las hojas. También es posible pensar que algunas de las adaptaciones morfológicas relacionadas con la tolerancia a factores de estrés, como la formación de una mayor masa radicular o los diferentes cristales de cera, se originen a partir de la producción de nuevas proteínas.

Las líneas de sorgo glossy están adaptadas a condiciones de aridez en la India y en algunos países del norte de África, donde algunos factores bióticos y abióticos afectan significativamente los cultivos. Los resultados de investigación del sorgo glossy en México han demostrado que este tipo de sorgo tiene una alta capacidad de producción de forraje y grano y pudieran ser utilizadas como apoyo y como fuente de resistencia a factores ambientales adversos en las regiones semiáridas de México (Maiti *et al*, 1994c; Maiti, 1996).

CONCLUSIONES

1. Se determinó la variabilidad genética entre líneas de sorgo glossy y no-glossy por sus características fisiológicas y bioquímicas bajo diferentes condiciones de estrés.
2. Comparadas con las líneas no-glossy, las líneas glossy mostraron su resistencia a diferentes factores abióticos (sequía, salinidad y alta temperatura), su eficiencia fotosintética y eficiencia en el uso del agua bajo condiciones de estrés.
3. Las nuevas proteínas producidas como resultado del efecto de diferentes factores de estrés, están fuertemente relacionadas con la resistencia de algunos genotipos de sorgo y podrían actuar en tres diferentes niveles: a) actuando por sí mismas como compuestos osmorreguladores (osmotina), b) induciendo la síntesis de compuestos con la misma función de ajuste osmótico (prolina, HCN, betaínas), c) modificando aspectos fisiológicos (transpiración) como resultado del incremento del nivel del ácido abscísico, lo que a su vez trae como consecuencia un aumento en la eficiencia en el uso del agua.
4. La resistencia de un genotipo a un determinado factor de estrés, esta relacionada con la resistencia a otros factores y a un estrés múltiple y a su vez se relaciona con la producción de proteínas específicas.
5. La producción de estas proteínas, por los genotipos resistentes en los diferentes tratamientos y su baja producción o ausencia total en el testigo y en los genotipos susceptibles, es una clara evidencia del papel que juegan

CONCLUSIONES

1. Se determinó la variabilidad genética entre líneas de sorgo glossy y no-glossy por sus características fisiológicas y bioquímicas bajo diferentes condiciones de estrés.
2. Comparadas con las líneas no-glossy, las líneas glossy mostraron su resistencia a diferentes factores abióticos (sequía, salinidad y alta temperatura), su eficiencia fotosintética y eficiencia en el uso del agua bajo condiciones de estrés.
3. Las nuevas proteínas producidas como resultado del efecto de diferentes factores de estrés, están fuertemente relacionadas con la resistencia de algunos genotipos de sorgo y podrían actuar en tres diferentes niveles: a) actuando por sí mismas como compuestos osmorreguladores (osmotina), b) induciendo la síntesis de compuestos con la misma función de ajuste osmótico (prolina, HCN, betaínas), c) modificando aspectos fisiológicos (transpiración) como resultado del incremento del nivel del ácido abscísico, lo que a su vez trae como consecuencia un aumento en la eficiencia en el uso del agua.
4. La resistencia de un genotipo a un determinado factor de estrés, esta relacionada con la resistencia a otros factores y a un estrés múltiple y a su vez se relaciona con la producción de proteínas específicas.
5. La producción de estas proteínas, por los genotipos resistentes en los diferentes tratamientos y su baja producción o ausencia total en el testigo y en los genotipos susceptibles, es una clara evidencia del papel que juegan

estas proteínas en el mecanismo de resistencia a los diferentes factores de estrés.

RECOMENDACIONES

Las líneas glossy IS-22201 y IS-4473, que demostraron tener la mayor resistencia a los factores de estrés evaluados en este trabajo, deben ser aprovechadas como una fuente genética de resistencia a factores de estrés en los programas de mejoramiento genético de sorgo, además de que estos genotipos glossy han mostrado tener una buena adaptación en nuestro país por ser líneas que pudieran utilizarse con el doble propósito de obtención de grano y forraje.

LITERATURA CITADA

- Agrawal, B.L. and L.R. House. 1982. Breeding for insect resistance in sorghum. In: "Sorghum in the Eighties". Proc. Intl. Symp. On Sorghum. ICRISAT, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, India.
- Aguirre, V.E.L. 1965. Rendimientos, análisis químico proximal y ácido cianhídrico en sorgos forrajeros (*Sorghum vulgare* Pers.). Tesis, I.T.E.S.M. Monterrey, N.L.
- Al-Hamdani, S.H., J.M. Murphy and G.W. Todd. 1991. Stomatal conductance and CO₂ assimilation as screening tools for drought resistance in sorghum. Can J. Plant Sci. 71:689-694.
- Ambriz, G.L.A. 1991. Evaluación de 25 genotipos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.) para su tolerancia a la salinidad y algunos aspectos bioquímicos relacionados con la tolerancia en etapa de plántula. Tesis de Lic. FCB. UANL. Monterrey, N.L. México.
- Arima, S. and N. Tanaka. 1988. Studies on the growth of seminal roots in cereal crop plants. 2. Effects of soil hardness on elongation of seminal roots. Bull. Faculty of Agric., Saga Univ. 65:17-26.
- Aspinall, D. 1986. Metabolic effects of water and salinity in relation to expansion of the leaf surface. Austr. J. Plant Physiol. 13:59-73.
- Atkins, D.S.J. and R.J. Hamilton. 1982. The changes with age in the epicuticular wax of *Sorghum bicolor*. J. Natural Prod. 45:697-703.
- Barnett, N.M. and A.W. Naylor. 1966. Amino acids and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. Plant Physiol. 41:1222.
- Barrs, H.D. 1971. Cyclic variations in stomatal aperture, transpiration and leaf water potential under constant environmental conditions. Ann.Rev Plant Physiol. 22: 223-36.

- Basnayake, J.U., M.M. Ludlow and M. Cooper. 1993. Genotypic variation of osmotic adjustment and desiccation tolerance sorghum inbred lines. *Field Crops Res.* 35:51-62.
- Basnayake, J.U., M. Cooper, M.M. Ludlow and R.G. Henzell. 1994. Combining ability variation for osmotic adjustment among a selected range of grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) lines. *Field Crops Res.* 38(3):147-155.
- Bassiri, R.H., J.W. Radin and K. Matsuda. 1991. Temperature dependient water and ion transport properties of barley and sorghum roots. I. Relationships to leaf growth. *Plant Physiol.* 97:426-432.
- Bates, L.S.; R.P. Waldren and I. D. Teare. 1972. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil.* 39: 205-207.
- Bawazir, A.A.A. and D.B. Idle. 1989. Droughth resistance and root morphology in sorghum. *Plant and Soil* 119:217-221.
- Ben-Hayyim, G., Y. Vaadia, and B.G. Williams. 1989. Protein associated with salt adaptation in citrus and tomato cells: Involvement of 26 kD polypeptides. *Physiol. Plant.* 77:332.
- Bewley, J.D. and K.M. Larsen. 1982. Differences in the responses to water stress of growing and non-growing regions of maize mesocotyls: Protein synthesis on total, free and membrane bound polyribosome fractions. *J. Exp. Bot.* 33:406.
- Bidwell, R.G.S. 1976. *Fisiología vegetal*. AGT Editor, S.A. Méx.; D.F. p. 690-692.
- Bishnoi, L.K. 1983. Canopy development, light interception, leaf photosynthesis and respiration in maize (*Zea mays* L.), sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.), and pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) K. Schum) fodder crops in relation to soil moisture stress. Ph.D. Thesis, Haryana Agricultural University, Hisar, Haryana, India.
- Blum, A. 1975. Effect of EM gene on epicuticular wax position and the espectral characteristics of sorghum.

Sabrao Journ. 7:45-52.

Boyd, F.T. 1938. Sudan grass management for control of cyanide poisoning. Jour. Amer. Soc. Agron. 30: 569-582.

Boyer, J.S. 1969. Free-energy transfer in plants. Science, 163:1219-20.

Boyer, J.S. & Bowen, B.L. 1970. Inhibition of oxygen evolution in chloroplasts isolated from leaves with low water potentials. Plant Physiology, 45:612-15.

Boyer, J.S. 1970a. Differing sensitivity of photosynthesis to low leaf water potentials in corn soybean. Plant Physiology, 46:236-9.

Boyer, J.S. 1971. Recovery of photosynthesis in sunflower after a period of low leaf water potential. Plant Physiology, 47:816-20.

Brown, P.H. and M.R. Brodi. 1988. Hormone and heath stress regulation of protein synthesis in the aleurone layers of barley seeds. BioEssays 8(6):199-202.

Burke, J.J., J.L. Hatfield, R.R. Klein and J.E. Mullet. 1985. Accumulation of heath shock proteins in field grown cotton. Plant Physiol. 78:394-397.

Cabrera, E.R. 1987. Efecto del gradiente de humedad del suelo sobre genotipos de sorgo para grano (*Sorghum bicolor* L. Moench.) con características glossy y no-glossy. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Agronomía. UANL. Monterrey, N.L. México.

Carlson, I.T. 1958. Inheritance of HCN production in crosses between sorghum and sudan grass. Agron. Jour. 50 (6): 302-306.

Castillo, G.E. 1980. El rendimiento de grano en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.), su relación con los periodos de desarrollo y otros caracteres. Efectos de aptitud combinatoria. Tesis de M.C. Centro de Genética, Colegio de Postgrado, Chapingo, México.

- Chartier, P. (1972). Net assimilation of plants as influenced by light and carbon dioxide. In Crop Processes in Controlled Environments, eds. A.R. Rees, K.E. Cockhull, D.W. Hand & R.G. Hurd, pp.203-16. New York, Academic Press.
- Chen, L.H., Mederski, H.J. & Curry, R. Bruce (1971). Water stress effects on photosynthesis and stem diameter in soybean plants. Crop Science, 11:428-31.
- Cheng, Y., J. Weng, C.P. Joshi and H.T. Nguyen. 1993. Dehydration stress-induced changes in traslatable RNAs in sorghum. Crop Sci. 33(6):1397-1400.
- Claes, B., R. Dekeyser, R. Villarroel, M.V.D. Bulcke, G. Bauw, M. Montagu and R. Caplan. 1990. Characterization of a rice gene showing organ specific expression in response to salt stress and drought. Plant Cell. 2:19.
- Cooper, P. and H.D. Ho. 1983. Heat shock proteins in maize. Plant Physiol. 71:215.
- Corlett, J.E., H.G. Jones, A. Massacci and J. Masojidek. 1994. Water deficit, leaf rolling and susceptibility to photoinhibition in field grown sorghum. Physiol. Plant. 92(3):423-430.
- Craufurd, P.Q. and J.M. Peacock. 1993. Effect of heat and drought stress on sorghum (*Sorghum bicolor*). II. Grain yield. Exp. Agr. 29:77-86.
- Damerval, C., N. Vartaian and D. De Vienne. 1988. Differential two dimensional proteins patterns as related to tissue specificity and water conditions in *Brassica napus* var. *olifera* root system. Plant Physiol. 86:1304.
- Dasgupta, J. and D. Bewley. 1984. Variations in protein synthesis in different regions of greening leaves of barley seedlings and effects of imposed water stress. J. Exp. Bot. 35:1450.
- De la Rosa, M. y R.K. Maití. 1990. Determinación del posible mecanismo bioquímico de resistencia a sequía en sorgo.

Resumen del V congreso Latinoamericano de Botánica. La Habana, Cuba.

- De La Rosa, M. 1993. Contribución a la determinación del mecanismo morfofisiológico y bioquímico de resistencia a la salinidad de sorgo "glossy". Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. Monterrey, N.L. México.
- De La Rosa, M. y R.K. Maití. 1995. Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. *J. Plant Physiol.* 146:515-519.
- Donatelli, M., G. Hammer and R.L. Vanderlip. 1992. Genotype and water limitations effects on phenology, growth, and transpiration efficiency in grain sorghum. *Crop Sci.* 32:781-786.
- Dubey, R.S. and M. Rani. 1987. Proteases and proteins in germinating rice seeds in relation to salt tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 12:9.
- Dubey, R.S. and M. Rani. 1989. Influence of NaCl salinity on growth and metabolic status of proteins and aminoacids in rice seedlings. *J. Agron. Crop Sci.* 162:97.
- Dubey, R.S. 1994. Protein synthesis by plants under stressful conditions. In: *Handbook of plant and crop stress*. M. Pessarakli Edit. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Ebercon, A., A. Blum and W.R. Jordan. 1977. A rapid colorimetric method for epicuticular wax sorghum leaves. *Crop Sci.* 17:179-180.
- Ericson, M.C. and S.H. Alfinito. 1984. Proteins produced during salt stress in tobacco cell culture. *Plant Physiol.* 74:506.
- Esau, K. 1986. *Anatomy of the seed plants*. John Wiley and Sons. 2a. Edition New York. U.S.A.
- Evans, L.T. 1980. Book review of: *Stress Physiology in Crop Plants*. H. Mussell and R.C. Staples (Eds.) *Field Crop*

Res. 3:194-196.

Fallon, K.M.; Phillips, R. 1989. Responses to water stress in adapted and unadapted carrot call suspension cultures. J. Exp. Bot. 40(215):681-687.

Fischer, R.A. (1970). After-effect of water stress on stomatal opening potential II. Possible causes. J. Exp. Bot. 21:386-404.

Flower, D.J., A.U. Rani and J.M. Peacock. 1990. Influence of osmotic adjustment on the growth, stomatal conductance and light interceptions of contrasting sorghum lines in a harsh environment. Austr. J. Plant Physiol. 17:91-105.

Franzke, C.J. and A.N. Hume. 1945 Effect of manure and moisture on sorghum. Jour. Amer. Soc. of Agron. 35:523-531

Frova, C., G. Taramino and E. Ottaviano. 1991. Sporophytic and gametophytic heat shock protein synthesis in *Sorghum bicolor*. Plant Sci. Limerick 73:1-6.

Galaway, T.O., Y. Kono, A. Yamauchi and M. Shimizu. 1991. Comparative root anatomy of seminal and nodal root axes of summer cereals with special reference to the development of hypodermis and cortical sclerenchyma. Jap. Crop Sci. 60:184-190.

Gibson, P.T. and R.K. Maiti. 1983. Trichomes in segregating generations of sorghum matings. I. Inheritance of presence and density. Crop Sci. 23:73-75.

Giorgio, D., M. Stelluti, V. Rizzo and A. Castrignano. 1990. Preliminary observations on development of root systems in sorghum in rotation at two different agrotechnical input levels. Ann. Inst. Sperim. Agron. 21(2):207-217.

Gómez, J., D. Sánchez-Martínez, V. Stiefel, J. Rigau, P. Puigdomenach and M. Pages. 1988. A gene induced by the plant hormone abscisic acid in response to water stress encodes a glycine rich protein. Nature 334:262.

González-Hernández, V.A., P. Manjarrez-Sandoval, L. Mendoza-

- Onofre and E.M. Engleman. 1986. Leaf elongation rate and stomatal diffusive resistance of sorghum plants under water stress at different developmental stages. Sorghum Newsletter 29:31.
- Goodwin, T.W. 1976. Chemistry and biochemistry of plant pigments. Vol. 1 & 2. Academic Press. New York.
- Goyal, A. and V.K. Kochhar. 1988. Effect of water stress on some enzymes and free proline contents in the leaves of two genotypes of rice. Indian J. Agric. Biochem. 1:23.
- Greenway, H. and R. Munns. 1980. Mechanism of salt tolerance in non halophytes. Ann. Rev. Plant Physiol. 31:149.
- Hames, B.D. 1981. An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In: Gel electrophoresis of proteins. Hames, B.D. and D. Rickwood (Edit.) IRL Press. Oxford, Washington, D.C.
- Heath, O.V.S. & Meidner, H. (1961). The influence of water strain on the minimum intercellular space CO₂ concentration, P, and stomatal movement in wheat leaves. J. Exp. Bot. 12:226-42.
- Heikkila, J.J., J.E.T. Papp, G.A. Schultz and J.D. Bewley. 1984. Induction of heat shock protein messenger RNA in maize mesocotyls by water stress, abscisic acid, and wounding. Plant Physiol. 76: 270.
- Heinrichs, O.H. and L.J. Andersen. 1947. Toxicity of sorghum in South Western Sasktchewan. Sci. Agri. 27:186-190.
- Heslehurst, M.R. and G.L. Wilson. 1986. Comparative photosynthetic efficiency and grain yield development for a range of cultivars. In: Proceedings of the first Australian Sorghum Conference. M.A. Foale and R.G. Henzell (Eds.) Gatton, Queensland, Australia.
- Higgins, G.M. 1978. Report on the agro-ecological zones. Vol. 1. Methodology and results for Africa. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Hirota, O. and T. Takeda. 1988. Relationship between canopy

architecture and crop production with reference to light and CO₂ environments. V. Effects of the canopy height on foliage photosynthesis of grain sorghum stands. Sci. Bull. Faculty of Agric., Kyushu University 42:137-151.

Hou, H.T., S.Y. Zhang and G.D. Zhao. 1987. A preliminary study on the inheritance of drought tolerance in sorghum. Hereditas 9:8-12.

Hou, H.T., B.D. Li and G.D. Zhao. 1990. Genetic correlation of drought-resistant characters and selection effectiveness in sorghum. Hereditas 12(1):5-8.

House, L.R. 1980. A guide to sorghum breeding. ICRISAT. Patancheru, A.P. India.

House, L.R. 1982. El Sorgo. Grupo Editorial Gaceta, S.A. México, D.F.

Hurkman, W.J. and C.K. Tanaka. 1987. The effects of salt on the pattern of protein synthesis in barley roots. Plant Physiol. 83:517.

Hsiao, T.C. 1970. Rapid changes in level of polyribosomes in *Zea mays* in response to water stress. Plant Physiol. 46:281.

Hsiao, T.C. Acevedo, E. & Henderson, D.W. (1970). Maize leaf elongation : continuous measurements and close dependence on plant water status. Science, 1168:590-1.

Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519.

Iijima, M. and Y. Kono. 1991. Interspecific differences of the root system structures of four cereal species as affected by soil compaction. Jap. J. Crop Sci. 60:130-138.

Jacobsen, J.V., A.D. Hanson and P.T. Chandler. 1986. Water stress enhances expression of an alpha-amylase gene in barley leaves. Plant Physiol 80:350.

Jain, S., H.S. Nainawatee, R.K. Jain and J.B. Chowdhury. 1991. Proline status of genetically stable salt-

tolerant *Brassica juncea* L. somaclones and their parent cv. Parkash. Plant Cell Rep. 9(12):684-687.

Jenks, M.A., P.J. Rich and P.J. Peters. 1992. Epicuticular wax morphology of bloomless (bm) mutants in *Sorghum bicolor* L. Int. J. Plant Sci. 153:311-319.

Jesko, T. 1989. Roots as an integral part of the plant. In "Fyziologia Korenoveho Systemu Rastlin". J.Kolek and V. Kosinka (Eds.). Bratislava, Czechoslovakia, 13-36.

Jiménez, C.A. 1979. Yield stability and some physiotechnical components in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.), Thesis. Esc. Nal. De Agricultura, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

Jordan, W.R. and F.R. Miller. 1980. Genetic variability in sorghum root systems: implications for drought tolerance. In: Adaptation of plants to water and high temperature stress. N.C. Turner and P.J. Kramer Eds. Wiley Interscience. New York, USA.

Jordan, W.R., R.L. Monk, F.R. Miller, D.T. Rosenow and L.E. Clark. 1981. Environmental physiology of sorghum. I. Environmental and genetic control of epicuticular wax load. Crop Sci. 21:37-43.

Jordan, W.R. 1983. Whole plant responses to water deficit. An overview. In: H.M. Taylor., W.R. Jordan and T.R. Sinclair Eds.; Limitations to efficient water use in crop production. Amer. Soc. of Agronomy Madison, U.S.A.

Jordan, W.R., P.J. Shouse, A. Blume, F.R. Miller and R.L. Monk. 1984. Environmental physiology of sorghum. II. Epicuticular wax load and cuticular transpiration. Crop Sci. 24:1168-1173.

Joregensen, J., D.T. Rosenow and H. Nguyen. 1993. Genotypic comparison of heat shock protein synthesis in sorghum. Crop Sci. 33:638-641.

Kanakus, J., C.S. Pikaard and J.H. Cherry. 1984. Heat shock proteins in tobacco cell suspension during growth cycle.

- Kapoya, J.A.; Borendse, G.W.M.; Linskens, H.F. 1985. Water stress tolerance and proline accumulation in *Phaseolus vulgaris* L. Acta Bot. Neerl. 34 (3): 293-300 (Eng).
- Kappen, L., O.L. Lange, E.D. Shulze, M. Evenari and U. Bushbom. 1972. Extreme water stress and photosynthetic activity of the desert plant *Artemisa herba-alba* Asso. Oecologia, 10:177-82.
- Kee, S.C. and P.S. Nobel. 1986. Concomitant changes in high temperature tolerance and heat shock proteins in desert succulents. Plant Physiol. 80:596.
- Key, J.L., C.Y. Lin and Y.M. Chen. 1981. Heat shock proteins of higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78:3526.
- Kingsbury, S.M. 1958. Plants poisonous to livestock. A Review Jour. Dairy Sci. 41(7):875-907.
- Khanna-Chopra, R. 1982. Photosynthesis, photosynthetic enzymes and leaf area development in relation to hybrid vigour in *Sorghum vulgare* L. Photosynth. Res. 3:113-133.
- Kohl, D.H.; Kennelly, E.J.; Zhu, Y.; Schubert, K.R.; Shearer, G. 1991. Proline accumulation, nitrogenase (C_2H_2 reducing) activity and activities of enzyme related to proline metabolism in drought-stressed soybean nodules. J. Exp. Bot. 42(240):831-83.
- Koukol, L.J.; P. Miljanich y E.E. Conn. 1962. The metabolism of aromatic compound in higher plants. VI. Studies on the biosynthesis of dhurrin the cyanogenic glucoside of *Sorghum vulgare*. The Jour. of Biol. Chem. 237 (10-12): 3223-3228.
- Kramer, P.J. 1969. Plant and soil relationships: a modern synthesis. 2nd. Edition. McGraw Hill, Bombay, India.
- Kriedemann, P.E. 1971. Photosynthesis and transpiration as a function of gaseous diffusive resistances in orange leaves. Physiologia Plantarum 24:218-25.

- Kriedemann, P.E. and J.S. Downton. (1981). Photosynthesis. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Paleg, L.G. and D. Aspinall. Academic Press. New York. U.S.A.
- Kumar, P.K. and R.A. Singh. 1991. Germination and metabolism in susceptible and tolerant mung bean genotypes under moisture stress. Indian J. Plant Physiol. 34:267.
- Kuruvadi, S.T.F., J.N. Townley and M.B. Smith. 1980. Modelo de raíces en trigo macarronero en rizotrones. Instituto Mexicano de Cooperación para la Agricultura. 36 (4). San José, Costa rica.
- Lai, K.L.; Liu, L.F. 1988. Increased plant regeneration frequency in water-stressed rice tissue culture. Japanese Journal of Crop Science. 57(3):533-557.
- Lamb, J.F.S., F.A. Haskins and H.J. Gorz. 1991. Seed weight influence on seedling hydrocyanic acid potential in sorghum. Crop Sci. 31:1014-1016.
- Lang, A.R.G. and W.R. Gardner. 1970. Limitation to water flux from soils to plants. Agron. J. 62:693-5.
- Lansac, A.R. 1990. Effects of cold on proline accumulation in sorghum pollen. Dissert. Abs. Intl. B. Sciences and Engineering 51:3195B.
- LaRosa, P.C., D. Rhodes, J.C. Rhodes, R.A. Bressan and L.N. Csonka. 1991. Elevated accumulation of proline in NaCl-adapted tobacco cells is not due to altered delta 1-pyrroline-5-carboxylate reductase. Amer. Soc. Plant Physiol. 96(1):245-250.
- Leal, R.F. 1990. Variabilidad del carácter "glossy" y ceras epicuticulares en sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] y su relación con la resistencia a la sequía. Tesis M.C. en Producción Agrícola. Fac. de Agronomía. U.A.N.L. Marín, N.L., México.
- Lee, R.D., B.E. Johnson and J.F. Pedersen. 1993. Sources of variation in the spectrophotometric assay of hydrocyanic acid potential in sorghum seedlings. Agron. J. 85:1095-1096.

- Levitt, J. 1972. Salt and ion stresses, Response of plants to environmental stresses. Academic Press, New York. p489.
- Lin, C.Y., J.K. Roberts and J.L.Key. 1984. Aquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Plant Physiol. 74:152.
- López, I.M.A. 1990. Evaluación de líneas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) para su tolerancia a diferentes niveles de temperatura en etapa de plántula. Tesis de Lic. FCB. UANL. Monterrey, N.L. México.
- Ludlow, M.M., J.M. Santamaría and S. Fukai. 1990. Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Under water-limited conditions. II. Water stress after anthesis. Austr. J. Agric. Res. 41(1):67-71.
- Ludlow, M.M., J. Basnayake, J. Cooper, Y. Tao, R.G. Henzell, J.M. Manners, I.D. Godwin and S.M.C. Duncan. 1994. A physiological-genetic analysis of osmotic adjustment to water stress in grain sorghum. Proceedings of an ODA plant Sciences Research Program Conference. Norwick, U.K.
- Ma, H.L. 1992. Study on comparison of photosynthetic capacity and yield components among different types of grain sorghum cultivars. Sorghum Newsletter 33:49.
- Maiti, R.K. and F.R. Bidinger. 1979. A simple approach to the identification of shoot fly tolerance in sorghum. Indian Journ. of Plant Protection. 7:135-140.
- Maiti, R.K. 1980. The role "glossy" and trichome traits in sorghum crop improvement. Paper presented at the Annual Meeting of All India Sorghum Improvement Project. held at Coimbatore, 12-14 May.
- Maiti, R.K., K.V. Reddy, P.T. Gibson and J.C. Davis. 1980b. Nature and occurrence of trichomes in sorghum lines with resistance to the sorghum shootfly. In: Joint Progress Report. Sorghum physiology-3, Sorghum entomology-3. ICRISAT, Patancheru, A.P. India.

- Levitt, J. 1972. Salt and ion stresses, Response of plants to environmental stresses. Academic Press, New York. p489.
- Lin, C.Y., J.K. Roberts and J.L.Key. 1984. Aquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Plant Physiol. 74:152.
- López, I.M.A. 1990. Evaluación de líneas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) para su tolerancia a diferentes niveles de temperatura en etapa de plántula. Tesis de Lic. FCB. UANL. Monterrey, N.L. México.
- Ludlow, M.M., J.M. Santamaría and S. Fukai. 1990. Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Under water-limited conditions. II. Water stress after anthesis. Austr. J. Agric. Res. 41(1):67-71.
- Ludlow, M.M., J. Basnayake, J. Cooper, Y. Tao, R.G. Henzell, J.M. Manners, I.D. Godwin and S.M.C. Duncan. 1994. A physiological-genetic analysis of osmotic adjustment to water stress in grain sorghum. Proceedings of an ODA plant Sciences Research Program Conference. Norwick, U.K.
- Ma, H.L. 1992. Study on comparison of photosynthetic capacity and yield components among different types of grain sorghum cultivars. Sorghum Newsletter 33:49.
- Maiti, R.K. and F.R. Bidinger. 1979. A simple approach to the identification of shoot fly tolerance in sorghum. Indian Journ. of Plant Protection. 7:135-140.
- Maiti, R.K. 1980. The role "glossy" and trichome traits in sorghum crop improvement. Paper presented at the Annual Meeting of All India Sorghum Improvement Project. held at Coimbatore, 12-14 May.
- Maiti, R.K., K.V. Reddy, P.T. Gibson and J.C. Davis. 1980b. Nature and occurrence of trichomes in sorghum lines with resistance to the sorghum shootfly. In: Joint Progress Report. Sorghum physiology-3, Sorghum entomology-3. ICRISAT, Patancheru, A.P. India.

- Maiti, R.K. 1983. Evaluación del sorgo bajo condiciones de estres multiple en el noreste de México. Boletín No. 1 Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Agronomía de la UANL. Marín, N.L. México.
- Maiti, R.K., K.S. Manohar and P.S. Raju. 1983. Anatomía del sorgo. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. México.
- Maiti, R.K., K.E. Rao, P.S. Raju and L.R. House. 1984. The glossy traits in sorghum: its characteristics and significance in crop improvement. Field Crop Research. 9:279-288.
- Maiti, R.K. 1986. Morfología, crecimiento y desarrollo del sorgo. Facultad de Agronomía. U.A.N.L.
- Maiti, R.K., R.P. Agrawal, B.S. Jhorar, P.S. Raju and J.M. Peacock. 1986. Effect of soil crusting on seedling emergence in sorghum. Intl. Trop. Agric. 4:15-22.
- Maiti, R.K., P.S. Raju, B.V.S. Redy and J.M. Peacock. 1989. Evaluation of techniques to screen for drought resistance in sorghum seedlings. Turrialba 39(1):106-110.
- Maiti, R.K. 1990. Evaluación y selección de líneas de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para su tolerancia a las condiciones en las regiones áridas y semiáridas del Noreste de México. Reporte del proyecto financiado por la Secretaria de Educación Pública. Inédito. Fac. de Ciencias Biológicas. U.A.N.L., Monterrey, N.L.
- Maiti, R.K., M. López-Irison y M. De La Rosa. 1991. Evaluación de líneas de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.) para su tolerancia a diferentes niveles de temperatura en etapa de plántula. Publicaciones Biológicas UANL/México 5:18-21.
- Maiti, R.K., J.L. Heranández, S. Martínez-Lozano. 1992. Variability in leaf epicuticular wax and surface characteristics in glossy sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) and its possible relation to shootfly (*Atherigona soccata* Rond.) and drought

resistance at the seedling stage. Publicaciones
Biológicas UANL/México 6:159-168.

- Maiti, R.K., M. De La Rosa-Ibarra and N.D. Sandoval. 1994a. Genotypic variability in glossy sorghum lines for resistance to drought, salinity and temperature stress at the seedling stage. J. Plant Physiol. 143:241-244.
- Maiti, R.K., Núñez-González, A., González, E.S. and García-Díaz, G. 1994b. Variability in uptake of minerals of 21 glossy sorghum genotypes under stress. Intl. Sorghum and Millet Newsletter 109-110.
- Maiti, R.K., Flores-Campos, L. and López-Domínguez, U.A. 1994c. Growth analysis and productivity of 15 glossy sorghums for forage and grain production. Intl. Sorghum and Millet Newsletter 133-134.
- Maiti, R.K. 1996. Sorghum Science. Science Publishers, Inc. Lebanon, NH 03766, USA. pp. 352.
- Mansfield, M.A. and J.L. Key. 1988. Cytoplasmic distribution of heat shock proteins in soybean. Plant Physiol. 86:1240.
- Mao, C.A., J.P. Blocker, L. Andersen and D.C. Smith. 1965. Cyanogenesis in *Sorghum vulgare* and improved method for the isolation of dhurrin. Physical properties of dhurrin. Phytochem. 4:297-303.
- Mauseth, J.D. 1988. Plant Anatomy. The Benjamin/Cummings Publishing Co. California, U.S.A.
- Mayaki, N.C.; L.R. Stone and I.D. Teare. 1978. Irrigated and nonirrigated soybean, corn and grain sorghum root systems. Agron. J. 68: 532-534.
- McCree, K.J. and S.D. Davis. 1974. Effect of water stress and temperature on leaf size and number of epidermal cells in grain sorghum. Crop Sci. 14:751-755.
- Meidner, H. (1962). The minimum intercellular-space CO₂ concentration (T) of maize leaves and its influence on stomatal movements. Journal of Experimental

Botany, 13,284-93.

- Meidner, H. (1967). Further observations on the minimum intercellular space carbon dioxide concentration (T) of maize leaves and the postulated role of photorespiration and glycollate metabolism. J. Exp. Bot. 18:177-185.
- Mohammed, S. and D.N. Sen. 1990. Environmental changes and proline content in some desert plants. Jour. Arid Environ. 19(2):241-243.
- Muchow, R.C. and T.R. Sinclair. 1994. Nitrogen use response of leaf photosynthesis and canopy radiation use efficiency in yield-grown maize and sorghum. Crop Sci. 34:721-727.
- Myers, R.J.K. 1980. The root system of a grain sorghum crop. Field Crop Res. 3:53-64.
- Nelson, C.E. 1953. HCN content of certain sorghums under irrigation as affected by nitrogen fertilizer and soil moisture stress. Agron. Jour. 45: 615-618.
- Nguyen, H.T., M. Krishnan, J.J. Burke, D.R. Porter and R.A. Vierling. 1989. Genetic diversity of heat shock proteins synthesis in cereal plants. In: Environmental Stress in Plants: Biochemical and physiological mechanisms. J.M.J. Cherry (Editor). Springer-Verlag, Germany.
- Nir, I; A. Poljakoff-Mayber and S. Klein. 1970. The effect of the water stress on the polysome population and the ability to incorporate aminoacids in maize root tips. Israel. J. Bot. 19: 451-462.
- Núñez, G.A. 1995. Respuesta en la asimilación diferencial de minerales de líneas de sorgo glossy y no-glossy. Tesis Maestría ec Ciencias. FCB. UANL. Monterrey, N.L. México.
- Ohashi, Y. and M. Matsuoka. 1985. Synthesis of stress proteins in tobacco leaves. Plant Cell Physiol. 26:473.
- Ortega, D.E.; Pardo, J.; González, M.A. 1984. Metabolic changes in sugarcane plants subjected to water stress. Ciencias de la Agricultura. N° 21, p. 37-43.

- Ortíz, V.M. y S. Hurtado. 1986. Evaluación de genotipos de sorgo bajo condiciones de riego en Zacatecas. En: Memorias de la 11 Reunión Nacional sobre sorgo. Culiacán, Sinaloa. México.
- Ougham, H.J. and J.L. Stodart. 1985. Development of a laboratory screening technique, based on embryo protein synthesis, for the assesement of high-temperature susceptibility during germination of *Sorghum bicolor*. Exp. Agric. 21:343-355.
- Ougham, H.J., J.M. Peacock, J.L. Stodart and P. Soman. 1988. High temperature effects on seedling emergence and embryo protein synthesis of sorghum. Crop Sci. 28:251-253.
- Pallas, J.E. and R.A. Dilley. 1972. Photophosphorilation can provide sufficient adenosine 5'-triphosphate to drive K⁺ movements during stomatal opening. Plant Physiol. 49:649-50.
- Pardales, J.R. and Y. Kono. 1990. Development of sorghum root system under increasing drought stress. Jap. J. Crop Sci. 59:752-761.
- Patil, S.J.; Panchal, Y.C.; Janardhan, K.V. 1984. Effect of short term moisture stress on free proline and relative water content in different plant parts of maize genotypes. Indian Journal of Plant Physiology. 27(4): 322-327.
- Peng, S. and D.R. Krieg. 1992. Gas exchange traits and their relationship to water use efficiency of grain sorghum. Crop Sci. 32(2):386-391.
- Peterson, G.C. and A.B. Onken. 1992. Relationship between chlorophyll concentrations and iron chlorosis in grain sorghum. Crop Sci. 32:964-967.
- Pethybridge, G.H. 1915. Is it possible to distinguish the seed of wild white clover by chemical means during the germination. Test. Econ. Proc. Royal Dublin Soc. 2:248-258.

- Premchandra, G.S., H. Saneoka, K. Fujita and S. Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journ. Exp. Bot.* 43(257):1569-1576.
- Premchandra, G.S., D.T. Hahn and R.J. Joly. 1993. A simple method for determination of abaxial and adaxial epicuticular wax loads in intact leaves of *Sorghum bicolor* L. *Can. J. Plant Sci.* 73:521-524.
- Rai, V.K., G. Sing, P.S. Takur and S. Banyal. 1983. Protein and amino acid relationship during water stress in relation to drought resistance. *Plant Physiol. Biochem.* 10:161.
- Rajasekhar, V.K., S. Guha-Mukherjee and S.K. Sopory. 1983a. The effects of delta-aminolevulinic acid and inhibitors of RNA and protein synthesis on phytochrome mediated chlorophyll accumulation in *Sorghum bicolor*. *J. Exp. Bot.* 34(148):1444-1454.
- Rajasekhar, V.K., S. Guha-Mukherjee and S.K. Sopory. 1983b. Time dependence of phytochrome-mediated carotenoid and chlorophyll synthesis in *Sorghum bicolor* L. *Ann. Bot.* 52(2):159-163.
- Raju, P.S., R.B. Clark, R.K. Maití and J.W. Marraville. 1987. Phosphorus uptake, distribution and use by glossy and non-glossy sorghum. *Journal of Plant Nutrition* 10:2017-2024.
- Ramagopal, S. 1986. Protein synthesis in maize callus exposed to NaCl and mannitol. *Plant Cell Rep.* 5:430.
- Ramírez-Sarquis, J.I. 1988. The growth of glossy and nonglossy sorghum subjected to water deficit. M.Sc. Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas.
- Ramones, E.J. 1991. Evaluación de la tolerancia a bajas temperaturas de 60 genotipos de sorgo mesoamericano (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Lic. FCB. UANL. Monterrey, N.L. México.

- Raschke, K. 1970a. Leaf hydraulic system : rapid epidermal and stomatal responses to changes in water supply. *Science*, 167:189-91.
- Raschke, K. 1970b. Stomatal responses to pressure changes and interruptions in the water supply of detached leaves of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 45:415-23.
- Ricard, B., J. Rivoal, A. Spiteri and A. Pradet. 1991. Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. *Plant Physiol.* 95:669.
- Richards, R.A. and J.B. Pasioura. 1981. Seminal root morphology and water use. I. Environmental effects. *Crop Sci.* 21:249-252.
- Rodríguez, E., P.L. Healey and I. Mehetre. 1983. Biology and chemisrty of plant trichomes. Plenum Press. New York.
- Rychnovská, M. 1969. The relationship between sublethal water saturation deficit and the dynamics of soil moisture in some xerophilous grasses. *Biologia Plantarum*, 9:13-41.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamericano, S.A. de C.V. México, D.F.
- Sánchez-Díaz, M.F. and P.J. Kramer. 1971. Behavior of corn and sorghum under water stress and during recovery. *Plant Physiol.* 48:613-6.
- Sandoval, G.N.D. 1991. Evaluación y selección de líneas de sorgo "glossy" [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para su tolerancia a diferentes factores de estres en etapa de plantula. Tesis licenciatura. Fac. de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. Monterrey, N.L.
- Santamaría, J.M., M.M. Ludlow and S. Fukai. 1990. Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Under water-limited conditions. I. Water stress before anthesis. *Austr. J. Agric. Res.* 41(1):51-56.

S.A.R.H. 1992. Reporte Técnico. Subdelegación de Agricultura. México, D.F.

Saucedo, R.J.M. 1985. Comparación de algunas características anatómicas, morfológicas y para su resistencias a la sequía en estado de plántula, en Marín, N.L. Tesis licenciatura. Fac. de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. Monterrey, N.L.

Schultz, R.C. and G.E. Gatherum. 1971. Photosynthesis and distribution of assimilate of Scotch pine seedlings in relation to soil moisture and provenance. Botanical Gazette, 132:91-6.

Shah, C.B. and R.S. Loomis. 1965. Ribonucleic acid and protein metabolism in sugar beet during drought. Physiol. Plant. 18:240.

Shen, L.; Foster, J.G.; Orcutt, D.M. 1989. Composition and distribution of free aminoacid in flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as influenced by water deficit and plant age. J. Exp. Bot. 40(210):71-79.

Sing, T.N.; Aspinall, D.; Paleg, L.G. 1972. Proline acumulation and varietal adatability to drought in barley a potential metabolic measure of drought resistance. Nature. 236: 188-190.

Singh, N.K., A.K. Handa, P.M. Hasegawa and R.A. Bressan. 1985. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. Plant Physiol. 79:126.

Singh, N.K., C.A. Bracker, P.M. Hasegawa, A.K. Handa, S. Buckel, M.A. Hermodson, E. Pfankoch, F.E. Regnier and R.A. Bressan. 1987. Characterization of osmotin, a thoumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells. Plant Physiol. 85:529-538.

Sivaramakrishnan, S.; Patell, V.Z.; Flower, D.J.; Peacock, J.M. 1988. Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid-season drought stress. Physiologia Plantarum. 74(3):418-426.

- Slatyer, R. O. (1969). Physiological significance of water relations to crop yield. In: Physiological Aspects of Crop Yield, eds. J.D. Eastin, F.A. Haskins, C. Y. Sullivan & C. H. M. Van Bavel, pp. 53-83. Madison, Wisconsin, Amer.Soc. Agron.
- Slatyer, R.O. (1970). Comparison photosynthesis, growth and transpiration of two species of Atriplex. *Planta* 93: 175-89.
- Soman, P. 1990. Development of a technique to study seedling emergence in response to moisture deficit in the field. The seed bed environment. *Annals of Applied Biology*. 116:1357-1364.
- Soriano, A. y E. Montaldi, R. 1980. Relaciones hídricas. Fisiología vegetal. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, República de Argentina.
- Sullivan, Y.Ch. 1983. Genetic variability in physiological mechanism of drought resistance. *Iowa State. J. Res.* 57 (4): 423-439.
- Takur, P.S. 1987. Amino acid spectrum and water stress in roots of maize cultivars during juvenile period. *Annals of Plant Physiology*. 1(1):10-18. India.
- Takur, P.S. and A. Takur. 1987. Protease activity in response to water stress in two differentially sensitive *Zea mays* L. cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 14:36.
- Tang, Z.C. and Y.H. Wu. 1987. Free proline and drought resistance in sorghum seedlings. *Plant Physiol. Comm.* 1:29-31.
- Tangpremsri, T., S. Fukai, K.S. Fisher and R.G. Henzell. 1991. Genotypic variation in osmotic adjustment in grain sorghum. I. Development of variation in osmotic adjustment under water-limited conditions. *Austr. J. Agric. Res.* 42(5):747-757.
- Tarumoto, I., M. Mityazaki and T. Matsumura. 1981. Scanning electron microscope study of glossy and non-glossy leaves in sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Bull.*

Nat. Grassland Res. Inst. 18:38-43.

- Terán, H.M.L. 1990. Evaluación y selección de 30 genotipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) en etapa de plántula para resistencia a los estrés de sequía y salinidad. Tesis de Lic. FCB. UANL. México.
- Tovar, P.R. 1994. Contribución a la determinación del mecanismo bioquímico de resistencia a la sequía en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.). Tesis de Lic. ICCAC. Saltillo, Coah. México.
- Traere, M., C.Y. Sullivan, J.R. Rososki and K.W. Lee. 1989. Comparative leaf surface and glossy characteristics of sorghum, maize, and pearl millet. *Ann Bot.* 64:447-453.
- Turner, N.C. and J.E. Begg. 1981. Plant water relations and adaptations to stress. *Plant and soil.* 58: 57-131.
- Upchurch, D.R. and J.T. Ritchie. 1983. Root observations using a video recording system in mini-rhizotrons. *Agron. Jour.* 75:1009-1015.
- Veeranjaneyulu, K.; Kumari, B.D.R. 1989. Proline metabolism water stress in mulberry. *J. Exp. Bot.* 40(214):581-583.
- Vierling, E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 42:579.
- Vinalli, H.N. 1921. A study of the literature concerning poisoning of cattle by prussic acid in sorghum, sudan grass and Jhonson grass. *Jour. Amer. Soc. Agron.* 13: 267-280.
- Voetberg, G.S.; Sharp, R.E. 1991. Growth of the maize primary root at low water potentials III. Role of increase proline deposition in osmotic adjustment. *Plant Physiol.* 96(4):1125-1130.
- Vyas, S.P.; Kathjua, S.; Garg, B.K.; Lahiri, A.N. 1985. Performance and metabolic alterations in *Sesamum indicum* L. under different intensities of water stress. *Annals of Botany.* 56(3):323-331.
- Wang, Y., J. Ying and S. Wang. 1991. The effects of osmotic

adjustment in sorghum leaves on stomatal conductance and transpiration rate under water stress. *Acta Agric. Boreali-Sinica* 6:68-73.

Whiteman, P.C. & Koller, D. (1964). Saturation deficit of the mesophyll evaporating surfaces in a desert halophyte. *Science* 146:1320-31.

Wong, R.R. 1979. Comportamiento de las características agronómicas, índices fisiológicos y patrones de crecimiento de 50 genotipos de sorgo bajo el esquema riego-sequia. Tesis. Maestría. Colegio de postgrado, Chapingo, México. p. 10.

Woodhead, S.J. and S.L. Taneja. 1987. The importance of the behaviour of young larvae in sorghum resistance to *Chilo partellus*. *Entom. Exp. Applic.* 45:47-54.

Xiang, Z.X. and H.T. Nguyen. 1991. Gene expression in sorghum during drought stress. *Sorghum Newsletter* 32:9-10.

Yadava, R.B.R., R.K. Ehatt and D.S. Katiyar. 1991. Physiological evaluation of fodder genotypes for drought tolerance. *Sorghum Newsletter* 32:59.

Zúñiga, G.E.; Argandona, V.H. & Corcuera, L.J. 1989. Distribution of glycine, betaine and proline in water stress and unstressed barley leaves. *Phytochemistry*. 28 (2): 419-420.

