



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

RESPUESTAS MORFOLÓGICAS-BIOQUÍMICAS Y
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE TRIGO
(*Triticum durum* L.) CON TOLERANCIA O SUSCEPTIBILIDAD AL
ESTRÉS HÍDRICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

PRESENTA

ARTURO MUÑOZ PÉREZ



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Chapingo, Estado de México, Febrero 2014

Tesis realizada por el C. Arturo Muñoz Pérez bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

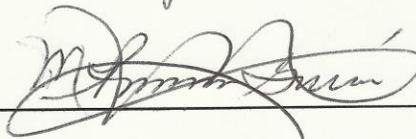
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

DIRECTOR:



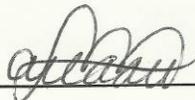
DR. JUAN PORFIRIO LEGARIA SOLANO

ASESOR:



DRA. MARIA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS

ASESOR:



DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos por sus grandes enseñanzas, apoyo, amor incondicional y aportar su confianza en mí a lo largo de toda mi vida.

A mi novia **Estephany Salazar Salinas** por todo su apoyo en las buenas y en las malas durante todo el camino que hemos recorrido juntos.

A mis amigos de la maestría **Pedro Humberto Martínez Rojo y Gustavo Acosta Santoyo** por todos los momentos de estudio y compañía durante esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por guiarme y permitirme llegar a esta etapa de mi vida ayudándome a no perder la esperanza y apoyarme en los momentos más difíciles a lo largo de mis estudios de maestría.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría y el presente trabajo de investigación.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** por brindarme el apoyo para seguir formándome como profesionista.

A mi director **Dr. Juan Porfirio Legaria Solano** por sus enseñanzas, dedicación y tiempo a lo largo de mis estudios en la maestría.

A mis asesores **Dra. María del Rosario García Mateos** y al **Dr. Jaime Sahagún Castellanos**, por brindarme su tiempo y consejos en la revisión de este trabajo.

Al **Dr. Pedro Figueroa López** y al **Dr. Karim Ammar** por las facilidades que me brindaron al proporcionarme material de estudio para esta investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de la presente tesis nació el 18 de Enero de 1987 en Ciudad Obregón, Sonora. En 2005 ingresa al Instituto Tecnológico de Sonora, de donde egresa en el año 2011 con el título de Ingeniero Biotecnólogo presentando la tesis titulada “Evaluación de Cinco Variedades de Remolacha Azucarera (*Beta vulgaris* L.) para la Producción de Bioetanol en el Sur de Sonora México”. En Enero de 2012 inicia sus estudios de Maestría en Biotecnología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo en el Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia.

RESPUESTAS MORFOLÓGICAS-BIOQUÍMICAS Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE TRIGO (*Triticum durum* L.) CON TOLERANCIA O SUSCEPTIBILIDAD AL ESTRÉS HÍDRICO

Muñoz-Pérez, A.¹, Legaria-Solano, J.²

¹Estudiante tesista de la Maestría en Biotecnología Agrícola. ²Director de tesis.

Posgrado de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México.

RESUMEN

La sequía es el factor abiótico que limita en gran medida la productividad y desarrollo del trigo. El presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización molecular de seis genotipos de trigo duro y la identificación de genotipos tolerantes y susceptibles al estrés hídrico por medio de respuestas morfológicas y bioquímicas. Se identificó al genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) como el más tolerante, mientras que Cirno C2008 y Huatabampo Oro C2009 resultaron los más susceptibles. La caracterización molecular de las variedades permitió la formación de tres grupos. Un grupo quedó integrado por la mayoría de los genotipos: Huatabampo Oro C2009, Patronato Oro C2008, Movas C2009 y CIMMYT (D11B_PCDW 10227), mientras que los dos grupos restantes se formaron con Cirno C2008 y Cevy Oro C2008 de manera individual, esta misma agrupación coincidió con la caracterización morfológica. Al realizar una comparación entre un genotipo tolerante y uno susceptible se detectaron marcadores moleculares que pudieran estar relacionados con características que determinan tolerancia.

Palabras clave: *Triticum durum* L., Estrés hídrico, caracterización molecular, respuestas al estrés hídrico.

MORPHOLOGICAL-BIOCHEMICAL RESPONSES AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF WHEAT GENOTYPES (*Triticum durum* L.) WITH TOLERANCE OR SUSCEPTIBILITY TO WATER STRESS

Muñoz-Pérez, A.¹, Legaria-Solano, J.²

¹ Master's student in Agricultural Biotechnology. ² Thesis director. Plant Science Postgraduate. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México.

ABSTRACT

Drought is the abiotic factor that greatly limits the productivity and development of wheat. This work had the objective of molecular characterization of six genotypes of durum wheat and the identification of tolerant and susceptible genotypes to water stress through morphological and biochemical responses. The CIMMYT genotype (D11B_PCDW 10227) was identified as the most tolerant, while Cirno C2008 and Huatabampo Oro C2009 were the most susceptible. The molecular characterization of the genotypes led to the formation of three groups. One group was composed by: Huatabampo Oro C2009, Patronato Oro C2008, Movas C2009 and CIMMYT (D11B_PCDW 10227), while Cirno C2008 and Cevy Oro C2008 formed the two remaining groups individually, these same groups coincided with the morphological characterization. When making a comparison between tolerant and susceptible genotypes, molecular markers that may be related to characteristics that determine tolerance were detected.

Key words: *Triticum durum* L., water stress, molecular characterization, drought responses.

CONTENIDO

| | Pág. |
|--------------------------------------------------------------|-------------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Objetivo general..... | 4 |
| 1.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| 1.3. Hipótesis..... | 4 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 5 |
| 2.1. Cultivo de cereales | 5 |
| 2.2. El trigo y su cultivo en el mundo | 5 |
| 2.2.1. Origen y distribución..... | 6 |
| 2.2.2. Producción de trigo..... | 7 |
| 2.2.2.1. Países productores de trigo | 7 |
| 2.2.3. Trigo en México | 9 |
| 2.2.4. Producción de trigo en México | 10 |
| 2.2.4.1. Trigo duro: producción en México y en el mundo..... | 11 |
| 2.3. Estrés vegetal..... | 13 |
| 2.3.1. Estrés biótico..... | 13 |
| 2.3.2. Estrés abiótico..... | 15 |
| 2.3.3. Estrés hídrico | 16 |
| 2.3.3.1. Sequía en el mundo | 18 |
| 2.3.3.2. Sequía en México | 20 |
| 2.3.4. Respuestas de las plantas a la sequía | 21 |
| 2.3.5. Mecanismos de tolerancia a la sequía | 22 |

| | |
|---------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.5.1. Rutas de señalización al estrés..... | 23 |
| 2.3.6. Efecto del estrés en plantas | 25 |
| 2.3.6.1. Crecimiento vegetal | 25 |
| 2.3.6.2. Estrés durante la germinación..... | 26 |
| 2.3.6.3. Raíz..... | 26 |
| 2.3.6.4. Altura..... | 27 |
| 2.3.6.5. Área foliar..... | 28 |
| 2.3.6.6. Fotosíntesis..... | 28 |
| 2.3.6.7. Azúcares | 29 |
| 2.3.6.8. Cierre estomático | 30 |
| 2.3.6.9. Ajuste osmótico..... | 30 |
| 2.3.7. Mejoramiento vegetal | 31 |
| 2.4. Marcadores moleculares | 32 |
| 2.4.1. Tipos de marcadores moleculares..... | 33 |
| 2.4.1.1. ISSR..... | 33 |
| 2.4.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) | 34 |
| 2.4.3. Mejoramiento molecular para tolerancia al estrés | 35 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 36 |
| 3.1. Material vegetal | 36 |
| 3.2. Análisis morfológico..... | 38 |
| 3.2.1. Estrés durante la etapa de germinación | 38 |
| 3.2.1.1. Desinfección de semillas..... | 38 |
| 3.2.1.2. Toma de datos | 39 |
| 3.2.1.2.1. Porcentaje de germinación | 39 |

| | |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1.2.2. Índice de velocidad de germinación..... | 40 |
| 3.2.1.2.3. Número de raíces, longitud de coleoptilo y raíz | 40 |
| 3.2.2. Estrés en etapa reproductiva..... | 40 |
| 3.2.2.1. Preparación del sustrato | 40 |
| 3.2.2.2. Fertilización | 41 |
| 3.2.2.3. Diseño experimental | 41 |
| 3.2.2.4. Evaluación de los descriptores..... | 41 |
| 3.3. Análisis Bioquímico..... | 42 |
| 3.3.1. Clorofila | 42 |
| 3.3.2. Azúcares | 43 |
| 3.3.3. Contenido Relativo de Agua (CRA) | 43 |
| 3.3.4. Cierre estomatal | 43 |
| 3.4. Análisis de datos..... | 44 |
| 3.5. Dendrograma de datos morfológicos y bioquímicos | 44 |
| 3.6. Análisis molecular..... | 45 |
| 3.6.1. Extracción y purificación de ADN genómico..... | 45 |
| 3.6.2. Cuantificación y calidad de ADN genómico..... | 46 |
| 3.6.3. Amplificación por PCR..... | 47 |
| 3.6.3.1. Genotipos..... | 49 |
| 3.6.3.2. Individuos..... | 49 |
| 3.6.4. Electroforésis..... | 49 |
| 3.6.5. Análisis de los datos..... | 49 |
| 3.7. Análisis de proteínas | 50 |
| 3.7.1. Extracción de proteínas..... | 50 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.7.2. Electroforesis unidimensional..... | 50 |
| 3.7.3. Análisis de datos de proteínas | 51 |
| 3.8. Prueba de Mantel | 51 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 52 |
| 4.1. Respuestas al estrés hídrico | 52 |
| 4.1.1. Respuestas al estrés durante la etapa de germinación..... | 52 |
| 4.1.1.1. Germinación a bajos potenciales hídricos..... | 52 |
| 4.1.1.2. Cantidad de agua embebida por los genotipos durante la germinación a bajos potenciales hídricos | 54 |
| 4.1.1.3. Eficiencia en el uso del agua por los genotipos de trigo | 55 |
| 4.1.1.4. Porcentaje de germinación..... | 57 |
| 4.1.1.5. Índice de velocidad de germinación | 57 |
| 4.1.1.6. Longitud de raíz y coleoptilo..... | 60 |
| 4.1.1.7. Número de raíces..... | 61 |
| 4.1.2. Respuestas al estrés durante la etapa reproductiva..... | 62 |
| 4.1.2.1. Altura de planta | 62 |
| 4.1.2.2. Efecto del estrés hídrico sobre las espigas | 64 |
| 4.1.2.2.1. Número de espigas..... | 64 |
| 4.1.2.2.2. Peso de espigas | 66 |
| 4.1.2.2.3. Longitud de espiga..... | 67 |
| 4.1.2.2.4. Ancho de espiga | 69 |
| 4.1.2.2.5. Número de granos | 70 |
| 4.1.2.2.6. Peso de granos..... | 72 |
| 4.1.2.3. Respuestas Bioquímicas..... | 73 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.2.3.1. Contenido de clorofila | 73 |
| 4.1.2.3.2. Azúcares | 75 |
| 4.1.2.3.3. Contenido Relativo de Agua (CRA) | 77 |
| 4.1.3. Comparación de variables entre los genotipos | 79 |
| 4.1.4. Cierre estomático | 81 |
| 4.2 Análisis de correlación de variables..... | 82 |
| 4.2.1. Correlación de variables en etapa de germinación bajo condiciones control..... | 82 |
| 4.2.2. Correlación de variables en etapa de germinación bajo condiciones de estrés severo | 83 |
| 4.2.3. Correlación de variables evaluadas durante la etapa reproductiva bajo condiciones control | 84 |
| 4.2.4. Correlación entre variables evaluadas durante la etapa reproductiva bajo condiciones de estrés severo | 85 |
| 4.3. Análisis de componentes principales..... | 88 |
| 4.4. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones morfológicas entre las variedades | 92 |
| 4.5. Análisis molecular: Caracterización molecular de las variedades | 93 |
| 4.5.1. Genotipos | 93 |
| 4.5.2. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones genéticas entre las variedades | 96 |
| 4.5.3. Análisis de escalado multidimensional para determinar la formación de grupos entre las variedades | 98 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.5.4. Comparación de los patrones de bandas entre los genotipos tolerante vs susceptible | 99 |
| 4.5.5. Determinación de la pureza de las variedades..... | 101 |
| 4.6. Caracterización de las variedades usando patrones de proteínas tipo gluteninas | 102 |
| 4.6.1. Construcción del dendrograma usando patrones de gluteninas..... | 103 |
| 4.7. Comparación entre matrices..... | 104 |
| 4.7.1. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con ISSR vs gluteninas | 104 |
| 4.7.2. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs proteínas..... | 105 |
| 4.7.3. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs ISSR | 106 |
| 4.7.4. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs proteínas + ISSR | 107 |
| 4.7.5. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs morfológicos + proteínas + ISSR..... | 108 |
| 4.7.6. Resumen de correlaciones de prueba de Mantel | 109 |
| 4.7.7. Comparación de dendrogramas | 110 |
| 4.8. Resumen de resultados para la identificación de los genotipos tolerantes y susceptibles | 115 |
| 4.9. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones morfológicas entre las variedades bajo condiciones de estrés hídrico severo | 119 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.10. Agrupación morfológica de genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.) en la etapa de reproducción bajo condiciones de estrés hídrico severo mediante un análisis de componentes principales | 120 |
| 4.11. Valores de componentes principales en etapa reproductiva de trigo duro bajo condiciones de estrés hídrico severo | 121 |
| V. CONCLUSIONES | 124 |
| VI. LITERATURA CITADA | 126 |

LISTA DE CUADROS

| | Pág. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Cuadro 1. Principales países productores de trigo durante el año 2012..... | 8 |
| Cuadro 2. Pedigrí de los seis genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.) estudiados. | 37 |
| Cuadro 3. Secuencias de iniciadores ISSR utilizados en la presente investigación. | 48 |
| Cuadro 4. Cantidad de agua embebida por seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas. | 55 |
| Cuadro 5. Uso eficiente del agua por seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas. | 56 |
| Cuadro 6. Porcentaje de germinación de semillas de trigo a diferentes presiones osmóticas..... | 57 |
| Cuadro 7. Índice de velocidad de germinación de seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas..... | 58 |
| Cuadro 8. Reducción en la longitud de raíz y coleoptilo con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a bajos potenciales hídricos..... | 61 |
| Cuadro 9. Reducción en el número de raíces con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas. | 62 |
| Cuadro 10. Reducción en la altura de planta con respecto al tratamiento control de seis genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico. | 63 |
| Cuadro 11. Reducción en número de espigas con respecto al tratamiento control por genotipo de trigo a diferentes tratamientos de estrés hídrico..... | 65 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 12. Reducción en peso de espiga principal con respecto al tratamiento control por genotipo de trigo a diferentes tratamientos de estrés hídrico..... | 66 |
| Cuadro 13. Reducción en la longitud de espiga con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico. | 68 |
| Cuadro 14. Reducción en el ancho de espiga con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico..... | 69 |
| Cuadro 15. Reducción en el número de granos por planta con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés. | 71 |
| Cuadro 16. Reducción de peso de granos con respecto al control por planta de trigo a diferentes tratamientos de estrés..... | 72 |
| Cuadro 17. Reducción de clorofila con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés. | 74 |
| Cuadro 18. Incremento de azúcares con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés. | 76 |
| Cuadro 19. Reducción en el contenido relativo de agua en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés..... | 78 |
| Cuadro 20. Valores de variables morfológicas y bioquímicas en genotipos de trigo bajo los diferentes tratamientos. | 80 |
| Cuadro 21. Valores de correlación entre las variables evaluadas durante la etapa de germinación bajo condiciones control. | 83 |
| Cuadro 22. Valores de correlación entre las variables evaluadas en etapa de germinación bajo condiciones de estrés severo. | 84 |
| Cuadro 23. Valores de correlación entre las variables evaluadas durante la etapa reproductiva bajo condiciones control..... | 86 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 24. Valores de correlación entre variables evaluadas en la etapa reproductiva bajo condiciones de estrés severo. | 87 |
| Cuadro 25. Eigen valores de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo..... | 88 |
| Cuadro 26. Contribución de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo a los primeros cuatro componentes principales.... | 89 |
| Cuadro 27. Iniciadores para la caracterización molecular de genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.). | 95 |
| Cuadro 28. Relación de progenitores entre genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.). | 97 |
| Cuadro 29. Correlaciones de prueba de Mantel utilizando diferentes tipos de marcadores. | 110 |
| Cuadro 30. Resumen de evaluación de características de los genotipos de trigo durante la etapa de germinación bajo tratamiento de estrés severo..... | 117 |
| Cuadro 31. Resumen de evaluación de características de los genotipos de trigo durante la etapa reproductiva bajo tratamiento de estrés severo. | 118 |
| Cuadro 32. Eigen-valores de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo bajo condiciones de estrés hídrico severo..... | 122 |
| Cuadro 33. Contribución de las variables morfológicas durante la etapa reproductiva del trigo a los primeros cuatro componentes principales..... | 123 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pág. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Figura 1. Principales estados productores de trigo en México..... | 11 |
| Figura 2. Sequía y disponibilidad de agua en el mundo | 19 |
| Figura 3. Localización de los estados de la República Mexicana más afectados por la sequía | 21 |
| Figura 4. Genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum L.</i>) utilizados en la presente investigación. | 36 |
| Figura 5. Germinación de genotipos CIMMYT (D11B_PCDW 10227) y Patronato Oro..... | 53 |
| Figura 6. Semillas germinadas de seis genotipos de trigo en el tratamiento control (0 MPa). | 59 |
| Figura 7. Semillas germinadas de seis genotipos de trigo en el tratamiento de estrés severo (-0.9 MPa). | 59 |
| Figura 8. Comportamiento de altura de planta en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 63 |
| Figura 9. Comportamiento de número de espigas en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 65 |
| Figura 10. Comportamiento de peso de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 67 |
| Figura 11. Comportamiento de longitud de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 68 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 12. Comportamiento del ancho de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 70 |
| Figura 13. Comportamiento de número de granos en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 71 |
| Figura 14. Comportamiento de peso de granos en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 73 |
| Figura 15. Comportamiento de contenido de clorofila total en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 75 |
| Figura 16. Comportamiento de contenido de azúcares en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 77 |
| Figura 17. Comportamiento de contenido relativo de agua en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos. | 79 |
| Figura 18. Cierre estomático de genotipos de trigo | 81 |
| Figura 19. Análisis de componentes principales de variables morfológicas evaluadas durante la etapa de reproductiva del trigo | 90 |
| Figura 20. Agrupación morfológica de genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.) en la etapa de reproducción bajo condiciones control | 91 |
| Figura 21. Dendrograma morfológico de genotipos de trigo (<i>Triticum durum</i> L.). | 92 |
| Figura 22. Patrones de bandeo ISSR de genotipos de trigo (<i>Triticum durum</i> L.) usando cuatro iniciadores diferentes | 93 |
| Figura 23. Dendrograma molecular ISSR de genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.). | 96 |
| Figura 24. Análisis de escalado multidimensional en genotipos de trigo | 99 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 25. Comparación de patrones de bandas entre mezclas de individuos del genotipo tolerante y susceptible..... | 100 |
| Figura 26. Patrones de bandeo obtenidos para siete individuos de variedades de trigo utilizando el iniciador ISSR P1 | 102 |
| Figura 27. Patrones de proteínas gluteninas de genotipos de trigo en gel SDS-PAGE..... | 103 |
| Figura 28. Dendrograma de proteínas gluteninas de genotipos de trigo (<i>Triticum durum</i> L.) | 104 |
| Figura 29. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de ISSR vs proteínas gluteninas..... | 105 |
| Figura 30. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de datos morfológicos vs proteínas gluteninas. | 106 |
| Figura 31. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de ISSR vs morfológicos..... | 107 |
| Figura 32. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir del análisis morfológico vs ISSR y proteínas. | 108 |
| Figura 33. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir del análisis morfológico vs ISSR, proteínas y morfológico..... | 109 |
| Figura 34. Dendrogramas de relaciones entre seis genotipos de trigo duro (<i>Triticum durum</i> L.) utilizando datos de: A) ISSR, B) Proteínas gluteninas, C) Morfológico, D) Consenso “ISSR + proteínas gluteninas”, E) Consenso “ISSR + proteínas glutetinas + morfológico” | 114 |
| Figura 35. Dendrograma morfológico de genotipos de trigo (<i>Triticum durum</i> L.) bajo condiciones de estrés hídrico severo. | 119 |

Figura 36. Gráfico en 2D donde se muestra el agrupamiento utilizando datos morfológicos de los genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) durante la etapa de reproducción y bajo condiciones de estrés hídrico severo..... 121

ABREVIATURAS USADAS

ABA (Ácido abscísico).

ADN (Ácido Desoxirribonucleico).

AFLPs (Polimorfismos de Longitud en Fragmentos Amplificados).

AO (Ajuste osmótico).

CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo).

CRA (Contenido Relativo de Agua).

FAO (Food and Agriculture Organization).

HSPS (Proteínas de choque térmico).

IBPGR (International Board of Plant Genetic Resources).

INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).

ISSRs (Inter-Secuencias simples repetidas).

LEA (Proteínas abundantes de la embriogénesis tardía).

NTSYs (Numerical Taxonomic Analysis System).

OCHA (Office for the Coordination of Humanitarian Affairs).

OTU (Operational Taxonomic Unit).

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

PEG (Polietilenglicol).

RAPDs (Polimorfismos de ADN amplificados al azar).

ROS (Especies reactivas de oxígeno).

SAR (Resistencia sistémica adquirida).

SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis).

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera).

SSRs (Secuencias Simples Repetidas).

UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

WUE (Water Use Efficiency).

WWAP (World Water Assessment Programme).

I. INTRODUCCIÓN

El trigo fue uno de los primeros cultivos domesticados, durante 8,000 años ha sido el alimento básico de las civilizaciones más importantes de Europa, Asia occidental y África del Norte. Hoy en día, el trigo se cultiva en la mayor parte del mundo en una superficie de 240 millones de hectáreas por lo que es una de las fuentes de alimento de grano más importante para los humanos, calculándose un consumo anual que supera las 600 mil millones de toneladas.

De acuerdo a la FAO, la demanda de trigo para el 2050 en relación con el crecimiento de la población no será suficiente para cubrir las necesidades de alimento ya que no se pronostica un incremento proporcional en la superficie de siembra, además de que la producción se verá afectada en gran medida por el cambio climático.

En el mundo más del 80 % del agua dulce es usada para la agricultura. En los países menos desarrollados el trigo se cultiva bajo condiciones de riego mientras que en los países más desarrollados lo hacen bajo condiciones de temporal. En los últimos años la escasez de agua derivada del cambio climático ha originado sequías severas que han obligado a los agricultores a reducir el número de riegos por el rápido descenso de los niveles freáticos del suelo (Dixon *et al.*, 2009).

El estrés abiótico más común que sufren los cultivos es el originado por la sequía, lo que está ocasionando un serio problema mundial (Almeselmani *et al.*, 2012) considerándose una de las causas principales que reducen en gran medida la producción de trigo. Algunas estimaciones indican que el 50 % de la superficie sembrada con trigo, se ve afectada seriamente por este concepto (Buck *et al.*, 2007). Por lo tanto, es necesario contar con nuevas variedades de trigo que sean capaces de adaptarse a las nuevas condiciones de clima para mantener la producción en las regiones propensas a la sequía.

Las respuestas a sequía en las plantas son complejas e involucran varias interacciones entre diferentes procesos moleculares, bioquímicos y morfológicos (Poland *et al.*, 2004) que afectan a todos los órganos vegetales. A nivel celular el déficit hídrico puede tanto dañar a la célula como desencadenar procesos de tipo adaptativo (Pereyra y Torroba, 2003).

El fitomejoramiento convencional mediante cruces de genotipos diferentes seleccionados implica la generación de variabilidad en características que al ser combinadas permiten el desarrollo de una población de plantas con una calidad superior. El desarrollo de variedades tolerantes a la sequía ha sido una gran preocupación para los investigadores por muchos años. El mejoramiento genético en esta área es un reto debido a la complejidad de los caracteres involucrados, a la difícil cuantificación y medición de las características de los materiales que responden a la sequía y a otros parámetros asociados con éstas (Hussain y Rivandi, 2007). Usando técnicas moleculares con diferentes

marcadores moleculares es posible obtener una mayor oportunidad para encontrar *loci* de caracteres cuantitativos y de esta manera comprender la base genética de la variación de un rasgo (Ribaut, 2006).

Al nivel celular y para los procesos bioquímicos, varios estudios han mostrado que la turgencia en las plantas juega un papel importante en la tolerancia al estrés hídrico, pudiendo estar involucrada en la regulación de la apertura estomatal y en la fotosíntesis (Raza *et al.*, 2012). Bajo estrés hídrico la pérdida de clorofila es considerada como una de las principales causas de la inactivación de la fotosíntesis (Anjum *et al.*, 2011).

De acuerdo con el contexto anterior, en la presente tesis se evaluaron las respuestas morfológicas y bioquímicas de seis genotipos de trigo duro con el fin de determinar su tolerancia o susceptibilidad al estrés hídrico, así como realizar su caracterización molecular.

1.1. Objetivo general

Evaluar las respuestas morfológicas y bioquímicas al estrés hídrico de genotipos de trigo a fin de determinar su grado de tolerancia o susceptibilidad.

1.2. Objetivos específicos

- Evaluar las respuestas de seis genotipos de trigo a condiciones de estrés hídrico y buena hidratación mediante análisis bioquímicos.
- Caracterizar morfológicamente los genotipos de trigo en base a descriptores para conocer su respuesta al estrés hídrico.
- Caracterizar molecularmente a los genotipos de trigo por medio de marcadores ISSR.

1.3. Hipótesis

Mediante la evaluación de respuestas moleculares, bioquímicas y morfológicas es posible la identificación y diferenciación de los genotipos de trigo con base en su susceptibilidad o tolerancia al estrés hídrico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cultivo de cereales

La producción de cereales tiene un papel preponderante en la actividad agrícola mundial. De todos los cultivos agrícolas, los cereales son generalmente considerados como los más importantes (Santoyo y Quiroz, 2004) ya que dos tercios de los alimentos provenientes de las plantas que representa el 93 % de la alimentación mundial son aportados por este grupo (Akhtar *et al.*, 2010). Los cereales que más destacan son el trigo, maíz, arroz, avena y sorgo debido a sus altos rendimientos promedio mundiales de alrededor de tres toneladas por hectárea (Morris y Bryce, 2000), además de que aportan más del 50 % de la energía total de alimentos en el mundo y de cantidades significativas de fibra, proteínas, minerales y vitaminas (López *et al.*, 2003).

Los cereales pertenecen a una gran familia de pastos monocotiledóneos llamada *Gramineae*. Esta familia lleva los órganos florales sobre un tallo llamado raquis, que puede estar ramificado y a su vez porta espiguillas con más de una flor en cada nodo de la raquilla. Las espiguillas pueden organizarse en panojas como en el sorgo y la avena o en una espiga ajustada como en el trigo (Morris y Bryce, 2000).

2.2. El trigo y su cultivo en el mundo

Uno de los primeros cereales domesticados fue el trigo y por 8,000 años ha sido la principal fuente de alimento de la mayoría de las civilizaciones en Europa,

Asia Occidental y el Norte de África. Hoy en día la superficie sembrada de trigo es mayor que la de cualquier otro cultivo (240 millones de ha) y continúa siendo una de las fuentes de alimento más importantes para los humanos (Dixon *et al.*, 2009). El trigo se encuentra entre los tres grandes cultivos de cereales que aportan cerca del 80 % de la producción global de cereales (Akhtar *et al.*, 2010), con más de 600 millones de toneladas cosechadas anualmente (Shewry, 2009) y un valor en el mercado de aproximadamente 150 mil millones de dólares (Dixon *et al.*, 2009).

2.2.1. Origen y distribución

Varias especies silvestres de *Triticum* se han encontrado en Líbano, Siria, el norte de Israel y en Turquía oriental (Dhillon *et al.*, 2006). A este género pertenecen las plantas cultivadas y silvestres que se clasifican dentro del grupo de los trigos. Este género está constituido por tres especies: diploides, tetraploides y hexaploides, dependiendo del número de genomas que constituyen su número básico duplicado de siete cromosomas (Villaseñor y Espitia, 2000).

El primer grupo lo conforman especies diploides como *Triticum boeoticum* y *Triticum monococcum* que son especies primitivas y su uso se remonta a la era Neolítica, estas especies están ampliamente distribuidas y se encuentran desde los Balcanes hasta Irán (Villaseñor y Espitia, 2000). En el segundo grupo se encuentran las especies tetraploides como *Triticum dicoccum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, entre otras y por último los trigos hexaploides como *Triticum*

aestivum, siendo el más comúnmente sembrado hoy en día (Morris y Bryce, 2000).

2.2.2. Producción de trigo

Actualmente, cerca del 95 % del trigo cultivado mundialmente es del tipo harinero hexaploide y el 5 % restante es trigo duro tetraploide (*Triticum turgidum* L. ssp. *Durum*) (Shewry, 2009). Este último es cultivado principalmente en la cuenca del Mediterráneo y en América del Norte en condiciones de temporal y de riego (Fang *et al.*, 2013) y está más adaptado al clima seco que el trigo harinero (Shewry, 2009).

2.2.2.1. Países productores de trigo

El trigo se produce en más de 40 países tanto desarrollados como en vías de desarrollo, ubicándose el área mayor de cultivo en éstos últimos desde los 67° N en Noruega, Finlandia y Rusia a 45° S en Argentina y Chile, donde las principales regiones productoras se encuentran en la zona templada y el sur de Rusia, las llanuras centrales de Estados Unidos, el sur de Canadá, la cuenca del Mediterráneo, el norte de China, India, Argentina y Australia (Carver, 2009). En el Cuadro 1 se muestran los países con mayor producción durante el año 2012.

Cuadro 1. Principales países productores de trigo durante el año 2012 (FAO, 2012).

| País | Millones de toneladas |
|-----------------------------------|------------------------------|
| Unión Europea | 130.8 |
| China | 119.0 |
| India | 93.9 |
| Estados Unidos | 61.8 |
| Rusia | 39.0 |
| Australia | 22.5 |
| Canadá | 26.7 |
| Pakistán | 24.0 |
| Turquía | 20.1 |
| Ucrania | 15.5 |
| Kazakstán | 10.8 |
| República Islámica de Irán | 13.8 |
| Argentina | 11.5 |
| Egipto | 8.7 |
| Uzbekistán | 6.7 |
| Otros países | 56.4 |
| Mundo | 661.2 |

Debido al incremento constante de la población mundial se han realizado esfuerzos para incrementar la producción global de trigo y tratado de

mantenerse al día con el aumento de la demanda los cuales han tenido un éxito relativo en mantener un aumento constante de la producción de trigo, lo que representa aproximadamente tres veces más los niveles de producción comparados con la década de 1960 (Carver, 2009).

2.2.3. Trigo en México

México es casa de la revolución verde para el trigo y uno de los primeros países en adoptar nuevos cultivares y tecnología desarrollada por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en colaboración con el Programa Nacional Mexicano (Lobell D *et al.*, 2005). Después del maíz y el frijol el cultivo del trigo es una de las fuentes más importantes de nutrientes de bajo costo en la dieta del mexicano, sobre todo para poblaciones rurales y urbanas de escasos recursos. Además, tanto su cultivo como su procesamiento y consumo generan una importante derrama económica y un gran número de empleos en varios sectores y actividades del Sistema Producto Trigo. Es por esto que el trigo como producto básico y su cultivo son de gran relevancia para el desarrollo socioeconómico de México.

En México se cultivan los dos tipos de trigos, el tipo harinero (*Triticum aestivum* L.) mismo que se utiliza en la elaboración de panes, tortillas, galletas y repostería y el trigo cristalino (*Triticum durum* L.) para elaborar pastas alimenticias (espagueti, sopas secas y otros productos). La primera transformación del trigo ocurre en el molino, donde se convierte en harina (a partir de *T. aestivum*) o sémola (harina gruesa de *T. durum*).

La productividad y la calidad industrial del trigo están controladas principalmente por las características genéticas de la variedad que se cultiva. Sin embargo, estas características son parcialmente modificadas positiva o negativamente por el manejo agronómico (la disponibilidad de nutrientes en el suelo, la fertilización nitrogenada, las fechas de siembra, el control de plagas y enfermedades) y por las condiciones climatológicas que prevalecen durante el ciclo de cultivo (la temperatura ambiental, el fotoperiodo y la disponibilidad de agua). Por ende, para establecer una producción rentable, competitiva y sostenible de trigo, es indispensable conocer el potencial genético de rendimiento y calidad que caracteriza a cada variedad, así como las condiciones climatológicas y agronómicas bajo las cuales pueda expresarse de manera óptima el potencial genético del cultivo (Peña *et al.*, 2008).

2.2.4. Producción de trigo en México

El trigo se cultiva en más de 20 estados de la República Mexicana. Sin embargo, el 80 % de la producción se concentra en la zona norte (principalmente en el noroeste) y en Guanajuato, en el ciclo otoño-invierno (O-I) bajo condiciones de riego. El resto se produce, en su mayoría en regiones del centro y el altiplano central en el ciclo primavera-verano (P-V) en condiciones de temporal. El rendimiento promedio del ciclo O-I es de 5.3 toneladas por hectárea mientras que el de P-V es de 2.0 toneladas por hectárea (Peña *et al.*, 2008).

En el año 2012 México produjo 3, 274, 336 toneladas siendo el estado de Sonora el mayor productor de trigo en México (1, 784, 562 ton), seguido de Baja California (471, 736 ton), Guanajuato (339,568 ton), Michoacán (108,950 ton) y Chihuahua (108, 950 ton), sus porcentajes de producción se muestran en la Figura 1 (SIAP, 2012).

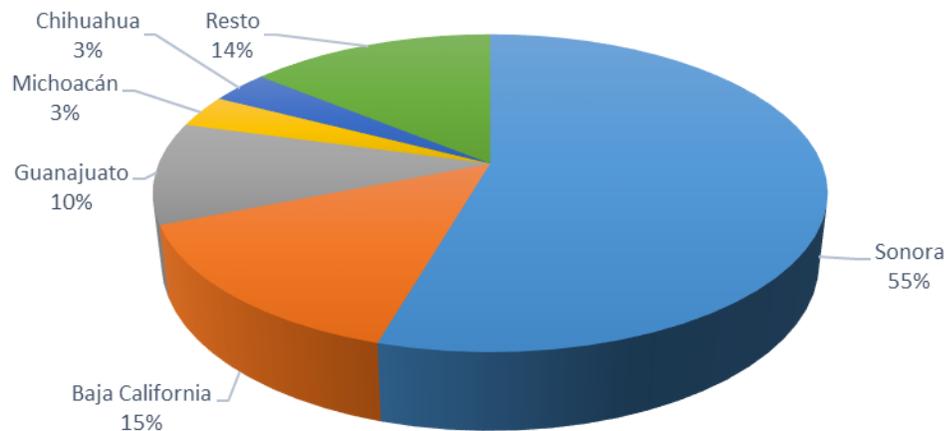


Figura 1. Principales estados productores de trigo en México (SIAP, 2012).

2.2.4.1. Trigo duro: producción en México y en el mundo

El trigo cristalino o duro (*Triticum durum* L.) se caracteriza por tener un tipo de grano muy duro. Un endospermo con alto contenido de pigmento amarillo (carotenoides), un gluten fuerte y tenaz (no extensible) necesario para la industria de elaboración de pastas alimenticias (Hernández *et al.*, 2011).

La producción mundial de trigo duro en el mundo es de 35.1 millones de toneladas, siendo el productor principal la Unión Europea con 8 millones de toneladas, seguido de Canadá (4.4 millones ton), Turquía y Argelia (3 millones

ton), Estados Unidos (2.2 millones ton) y México (2.1 millones ton) (FranceAgriMer, 2013).

El trigo duro está más adaptado que el harinero a áreas donde la precipitación anual es baja (300-450 mm). Se pueden obtener buenos rendimientos bajo condiciones de riego pero su práctica es limitada en pocas áreas por ejemplo en Estados Unidos en los estados de Arizona, Nuevo México y California (Bushuk y Rasper, 1996) mientras que en México en los estados de Sonora, Baja California, Chihuahua y Sinaloa (SIAP,2012).

Las temperaturas altas y la baja humedad durante el verano mejoran la calidad del grano. El trigo duro se desarrolla mejor cuando una considerable porción de lluvia anual ocurre durante la fase vegetativa y cuando ocasionalmente las lluvias se alternan con condiciones soleadas y secas durante el periodo del llenado de grano. Las lluvias durante el periodo de cosecha pueden causar problemas a los trigos duros ya que son mucho más susceptibles a germinar que los trigos harineros (Bushuk y Rasper, 1996).

En México, el trigo duro o cristalino se produce principalmente en el Noroeste de México siendo el principal productor el Estado de Sonora, donde a partir del ciclo 2001-2002 ocupó poco más de 70 % de la superficie sembrada (190 718 ha). La preferencia por esta clase de trigo se debe a su alto potencial de rendimiento, aceptación en el mercado de exportación y su tolerancia al carbón parcial y a la roya de la hoja (Fuentes *et al.*, 2012).

2.3. Estrés vegetal

Las plantas continuamente se ven sometidas a diversos tipos de estrés en su ambiente natural (Li *et al.*, 2011) y éste representa el mayor factor limitante para la productividad de la agricultura (Hirt y Shinozaki, 2004). El estrés en términos biológicos significa un cambio en la fisiología normal, el desarrollo y función de las plantas lo cual puede ser perjudicial e infligir daños irreversibles en el sistema vegetal (Pareek *et al.*, 2010).

El tipo de estrés que sufre la planta puede ser de dos tipos o una combinación de estos: estrés biótico y abiótico (Fujita *et al.*, 2006). Debido a que las plantas no pueden huir de los ambientes estresantes, han desarrollado varias estrategias durante su evolución para adaptarse a condiciones cambiantes en el ambiente y por lo tanto contrarrestar los efectos del estrés (Pessaraki, 2002).

Estas estrategias involucran una red de mecanismos moleculares que varían dependiendo de la naturaleza del patógeno o de la señal del estrés (AbuQamar *et al.*, 2009). A continuación se explicarán en que consiste cada uno de los tipos de estrés.

2.3.1. Estrés biótico

El estrés biótico se describe como un estrés producido por un organismo vivo que puede dañar a la planta (Pareek *et al.*, 2010). Las plantas están bajo constante asalto por agentes bióticos, incluyendo virus, bacterias y patógenos

fúngicos, plantas parásitas e insectos herbívoros con un enorme impacto económico y ecológico (Bilgin *et al.*, 2010).

Estos organismos pueden clasificarse según su estilo de vida: biótrofos y necrótrofos. Los patógenos biótrofos mantienen a la célula vegetal viva y absorben los nutrientes de los tejidos vivos. Para controlar este tipo de patógenos, la planta frecuentemente induce a una muerte celular programada que mata a la célula directamente próxima al microorganismo, limitando su propagación. En contraste, los patógenos necrótrofos crecen en tejidos muertos, frecuentemente después de inducir la muerte celular (Pareek *et al.*, 2010).

Las plantas han desarrollado mecanismos para prevenir la infección los cuales se basan en una detección temprana y una respuesta rápida a los organismos invasores. Las plantas utilizan proteínas de resistencia (R) y otros receptores para detectar la presencia o actividad de los patógenos. Las proteínas R reconocen las proteínas de virulencia que son secretados por los patógenos tratando de infectar los tejidos vegetales. La detección de estas proteínas de virulencia u otros elicitores generales disparan los eventos de señalización que llevan a diversas respuestas celulares incluyendo cambios en el flujo de iones, síntesis de la hormona etileno relacionada con el estrés, reprogramación transcripcional, producción de especies reactivas de oxígeno y frecuentemente una respuesta hipersensible. Además, la activación de una respuesta de defensa local puede activar la producción de ácido salicílico y la elicitación de

una respuesta de defensa de espectro amplio conocida como resistencia sistémica adquirida (SAR) (Pedley y Martin, 2005).

2.3.2. Estrés abiótico

El estrés abiótico es el factor principal que provoca pérdidas en los cultivos alrededor del mundo, reduciendo los rendimientos promedios en más del 50 % (Ahmad y Prasad, 2012). Es producido por niveles inapropiados de componentes físicos del ambiente, como las temperatura altas o bajas, niveles de CO₂, radiación solar (Oliveros, 2009), disponibilidad limitada de agua y nutrientes, alta salinidad, presencia de metales pesados y otras propiedades fisicoquímicas del suelo (Danquah *et al.*, 2013) y cualquiera de estos puede retardar el crecimiento y desarrollo o en casos extremos provocar la muerte vegetal (Chen y Murata, 2002).

Aunque las plantas han evolucionado un amplio espectro de programas para la detección, respuesta y adaptación al entorno cambiante, los mecanismos asociados con la habilidad de los cultivos para mantener el rendimiento bajo condiciones de estrés son poco entendidos y siguen estando bajo estudio (Reguera *et al.*, 2012).

El complejo sistema de respuestas vegetales al estrés abiótico, involucra varios genes y mecanismos bioquímicos-moleculares y fisiológicos (Wang *et al.*, 2003) y con frecuencia es difícil predecir las vías de señalización que se activan o desactivan en respuesta a diferentes tipos de estrés (Gupta *et al.*, 2013). Los

mecanismos de control molecular de la tolerancia al estrés abiótico se basan en la expresión de genes específicos relacionados al estrés. Estos genes incluyen tres grandes categorías: aquellos que están involucrados en cascadas de señalización y control transcripcional como MyC, MAP cinasas y SOS cinasas, aquellos que funcionan directamente en la protección de membranas y proteínas, como las proteínas de choque térmico (Hsps), chaperonas, proteínas abundantes en la embriogénesis tardía (LEA), osmoprotectores, secuestradores de radicales libres, y aquellos que están involucrados en toma y transporte de iones y agua como las acuaporinas y transportadores de iones (Wang *et al.*, 2003); mientras que los mecanismos fisiológicos principales de respuesta general al estrés están relacionados con respuestas plásticas como modificaciones en la época de senescencia, cambios en el funcionamiento de las células guarda o en el cierre estomático, mantenimiento de la estabilidad de las membranas celulares y de los organelos y cambios en la elasticidad de la pared celular (Tofiño *et al.*, 2007).

2.3.3. Estrés hídrico

La sequía puede considerarse como la disminución de las precipitaciones de una región respecto del valor normal en un periodo, lo que crea una escasez de agua para los diferentes usos (Esquivel, 2002). Esta es capaz de modificar en gran escala el ambiente de una región y sus efectos se manifiestan en la alteración de las actividades económicas habituales de la zona o región afectada así como en el deterioro del nivel y condiciones de vida de los habitantes (Velasco y Montesillo, 2007).

Una de las actividades más afectadas es la producción de cultivos agrícolas ya que el agua es uno de los factores de mayor importancia y una deficiencia afecta significativamente el rendimiento (López-Santillán *et al.*, 2001); además el agua es la molécula central en todos los procesos fisiológicos de las plantas, comprendiendo entre el 80 al 95 % de la biomasa de las plantas no leñosas. Si el estatus de agua en la planta es insuficiente, ésta experimentará un déficit de agua, también descrito como sequía (Hirt y Shinozaki, 2004).

Los cultivos agrícolas, principalmente en zonas semiáridas, sufren periodos de sequía durante alguna etapa de su desarrollo y a menudo la expresión del rendimiento depende de algunos mecanismos para disminuir la transpiración y así prevenir daños por deshidratación. Cuando el estrés hídrico alcanza un nivel significativo en las plantas, ocurren mecanismos como el cierre estomático, enrollamiento, doblado o pérdida de hojas, ajuste osmótico y otros que disminuyen la pérdida de agua por la planta (López-Santillán *et al.*, 2001).

Se han realizado investigaciones para lograr disminuir el efecto de la sequía en la agricultura y elevar los rendimientos, desde la mejora genética, hasta el riego de precisión, el uso de cultivos tolerantes a la sequía y con mayor eficiencia en el uso del agua. Estas investigaciones han sido de interés global, debido al rápido crecimiento de la población mundial y a la disminución acelerada del recurso hídrico destinado a la agricultura, el cual permite el aumento de la producción y brinda seguridad en ambientes marginales, que frecuentemente presentan altos riesgos debido a la sequía (Silvera *et al.*, 2013).

2.3.3.1. Sequía en el mundo

Cada día nuestro planeta experimenta numerosos desastres inducidos por el clima extremo: sequías, inundaciones, huracanes, ciclones tropicales, choques de calor, tornados, infestación por insectos y muchos otros. Entre estos, la sequía es el fenómeno ambiental que causa más daño. Las sequías han afectado al 50 % de las 2.8 mil millones de personas afectadas por desastres relacionados al clima.

Más de la mitad del territorio de la tierra es susceptible a la sequía cada año (Kogan, 1997). Más importante aún, casi todas las principales regiones agrícolas se encuentran allí. En años recientes se ha visto grandes sequías en todos los continentes afectando grandes áreas en Europa, África, Asia, Australia, América del Sur, América Central y Norte América (Mishra y Singh, 2010). Debido a que la sequía es un fenómeno recurrente y típico para la mayoría de las zonas mundiales, las tierras más productivas en el mundo pueden perder millones de toneladas en producción agrícola anualmente (Kogan, 1997).

Hoy en día hay altas probabilidades de que las regiones del mundo experimentarán condiciones cada vez más secas. Los escurrimientos en el mediterráneo, África del Sur, el oeste de Estados Unidos, el norte de México, y el noreste de Brasil disminuirán de un 10 al 30 % para el fin del siglo, además existen probabilidades de variabilidad en la precipitación. Las áreas afectadas por las sequías incrementarán sobre latitudes bajas y medias en los veranos

(Kallis, 2008). En la Figura 2 se muestra la distribución de la disponibilidad de agua en el mundo y por lo tanto las regiones que se han visto más afectadas por este fenómeno ambiental.

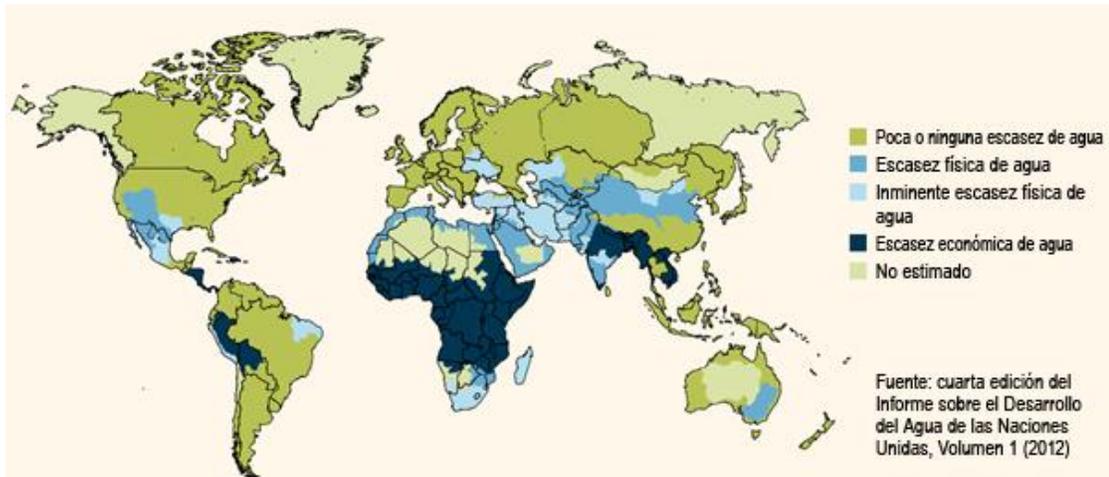


Figura 2. Sequía y disponibilidad de agua en el mundo (WWAP, 2012).

La primera impresión acerca de la climatología de la sequía puede obtenerse a partir de la observación de la distribución global de la superficie de equilibrio de humedad. La diferencia entre la precipitación anual y el potencial de evaporación caracteriza un balance entre la humedad que el área recibe en forma de precipitación y la cantidad de humedad que se evapora en la misma área. En las áreas con un balance negativo, la vegetación parece ser más vulnerable a la sequía durante el año, aunque los agricultores frecuentemente compensan la falta de agua irrigando sus cultivos (Kogan, 1997).

2.3.3.2. Sequía en México

En México la sequía se debe principalmente a la escasa y errática distribución de la precipitación que causa pérdidas en la producción de los cultivos que van desde 60 a 100 % (Barrios *et al.*, 2011).

En fechas recientes se han agudizado las disputas entre México y los Estados Unidos de América por la utilización del agua de la cuenca del río Bravo. Una sequía severa ha durado varios años en los estados del norte de México donde existen diversos reportes de la pronunciada escasez de agua en esta región.

En el estado de Tamaulipas durante la última década llovió entre 70 y 90 % del promedio de la década de los sesenta. En general, durante las dos últimas décadas ha existido una tendencia a la disminución de la lluvia, mostrándose negativo el promedio de las cuatro últimas décadas.

En los estados de Sonora y Sinaloa, la precipitación anual se ha incrementado principalmente como resultado de la precipitación en invierno. De hecho es en estos estados donde se han detectado las tendencias positivas más pronunciadas. Además, el nivel del agua en los ríos de la región también muestra una tendencia positiva para los últimos cincuenta años. Sin embargo, durante la década de los noventa han sido frecuentes las declaraciones de la ocurrencia de sequías (Esquivel, 2002). Según la OCHA los estados de México más afectados por la sequía lo conforman Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Zacatecas y Guanajuato donde alrededor de 1,500

comunidades carecen de agua y más de 2.5 millones de personas han sido afectadas. La localización de estos estados se presenta en la Figura 3.



Figura 3. Localización de los estados de la República Mexicana más afectados por la sequía (OCHA, 2011).

2.3.4. Respuestas de las plantas a la sequía

A lo largo de la evolución, las plantas han desarrollado diferentes respuestas y adaptaciones que les permiten sobrevivir en condiciones de constante déficit hídrico. Muchas de estas adaptaciones están relacionadas con una mayor capacidad para tomar agua o con un uso más eficiente de este recurso (Moreno, 2009). Entender el concepto y los componentes de la resistencia y adaptación a la sequía es un factor clave para el mejoramiento de cultivos tolerantes al estrés. Los mecanismos de resistencia al estrés han sido extensamente revisados y resumidos a partir de la fisiología del cultivo,

mejoramiento vegetal y perspectivas moleculares para diferentes cultivos (Shabala, 2012).

2.3.5. Mecanismos de tolerancia a la sequía

Los mecanismos de adaptación a sequía se han clasificado de distintas formas, según Martínez-Trinidad *et al.* (2002) los mecanismos principalmente se pueden dividir en dos: los de posposición y los de tolerancia.

Los mecanismos de posposición mantienen un potencial hídrico alto dentro de la planta, ya sea incrementando la tasa de absorción de agua para satisfacer la demanda por transpiración (plantas derrochadoras) o reduciendo el consumo de la misma (plantas ahorradoras). En cambio los mecanismos de tolerancia inducen a la supervivencia con bajos potenciales hídricos, ya sea mediante un ajuste osmótico u otros procesos bioquímicos para tolerar la deshidratación. En el caso de los mecanismos de posposición, aumentar la tasa de absorción de agua puede ser favorable para mantener altas tasas de crecimiento; sin embargo, esta estrategia conduce a un agotamiento más rápido de la humedad del suelo. Por otro lado, reducir el consumo de agua mediante un cierre estomatal, puede tener un efecto negativo en la tasa de crecimiento. Otros autores como Aroca (2012) y Lichtfouse *et al.* (2009) clasifican a los mecanismos como de escape y evasión a la sequía.

El escape a la sequía es la habilidad de la planta para completar su ciclo de vida antes del comienzo de la sequía y someterse a dormancia antes del

comienzo de la temporada seca (Aroca, 2012). La etapa de floración es una característica importante relacionada con la adaptación, donde un ciclo corto de vida puede llevar al escape a la sequía. En cuanto a la duración del cultivo, esta es interactivamente determinada por el genotipo y el ambiente y determina la habilidad del cultivo para escapar del estrés climático. El escape a la sequía ocurre cuando el desarrollo fenológico es exitosamente igualado a los periodos de disponibilidad de humedad en el suelo.

La evasión a la sequía consiste en mecanismos que reducen la pérdida de agua de las plantas, debido al control estomatal y a mantener la toma de agua a través de un sistema de raíces extenso y prolífico. Las características de las raíces como biomasa, longitud, densidad y profundidad son las principales características de la evasión a la sequía, en el caso de las hojas la serosidad ayuda a mantener un alto potencial hídrico en el tejido y por lo tanto es una característica deseable en la tolerancia al estrés (Lichtfouse *et al.*, 2009).

Por lo tanto para llevar acabo estos mecanismos, las plantas se someten a ciertos cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos para minimizar las perdidas inducidas por el estrés (Aroca, 2012) por medio de rutas de señalización al estrés.

2.3.5.1. Rutas de señalización al estrés

La célula está separada del ambiente exterior por una barrera física denominada membrana plasmática. Esta membrana es permeable a solo moléculas lipídicas pequeñas como los esteroides, los cuales pueden difundir a

través de la membrana hacia el citoplasma, además esta barrera es impermeable a material soluble en agua como iones, proteínas y otras macromoléculas. Las respuestas celulares son iniciadas primeramente por la interacción de material extracelular con una proteína de la membrana plasmática. Esta molécula extracelular es llamada ligando (o un elicitor) y la proteína de membrana plasmática, la cual se une e interactúa con la molécula es llamada receptor. Varias señales de estrés tanto abióticas como bióticas sirven como elicitores a la célula vegetal.

El estrés es primeramente percibido por un receptor presente en la membrana de las células vegetales, la señal se transduce 'río abajo' y esto se traduce en la generación de segundos mensajeros incluyendo calcio, especies reactivas de oxígeno (ROS) y fosfatidil inositol. Estos segundos mensajeros, como los fosfoinosítidos, modulan los niveles intracelulares de calcio. Las perturbaciones en los niveles de Ca^{2+} son detectadas por proteínas de unión a calcio, conocidas como sensores de Ca^{2+} . Estos sensores aparentemente no tienen actividad enzimática y cambian su conformación en una forma dependiente de calcio. Dichas proteínas interactúan con sus respectivas parejas frecuentemente iniciando una cascada de fosforilación y transcripción de genes de respuesta al estrés. Los productos de estos genes promueven la adaptación de la planta y ayudan a ésta a sobrevivir y sobrepasar las condiciones desfavorables. Los productos de los genes inducidos por el estrés a su vez pueden participar en la síntesis de hormonas como el ABA, ácido salicílico y el etileno. Estas moléculas pueden amplificar la señal inicial e iniciar una segunda

ronda de señalización que puede seguir la misma ruta o usar diferentes compuestos en la ruta de señalización.

Los genes de respuesta a estrés pueden ser ampliamente categorizados como genes de inducción temprana y tardía. Los genes de inducción temprana son inducidos en minutos a partir de la percepción de la señal de estrés y frecuentemente expresados transitoriamente. Varios factores de transcripción son incluidos en la lista de genes tempranos ya que estos genes no requieren síntesis de nuevas proteínas, en contraste con los otros genes que son activados más lentamente después de horas de la percepción del estrés ya que codifican y modulan proteínas necesarias para la síntesis por ejemplo de las proteínas LEA, antioxidantes, proteínas estabilizadoras de membrana y síntesis de osmolitos y otras (Mahajan y Tuteja, 2005).

2.3.6. Efecto del estrés en plantas

Los efectos de la sequía varían desde el nivel morfológico al molecular y son evidentes en todas las etapas fenológicas del crecimiento de la planta (Farooq *et al.*, 2009). Varios de estos efectos se describen a continuación.

2.3.6.1. Crecimiento vegetal

El crecimiento se logra a través de la división celular, alargamiento celular y diferenciación e involucra la interacción de eventos genéticos, fisiológicos, ecológicos y morfológicos. La calidad y cantidad del crecimiento de la planta depende de estos eventos y se ve afectado por el déficit de agua.

El crecimiento celular es uno de los procesos fisiológicos más sensibles a la sequía debido a la reducción de la turgencia celular, donde bajo una severa deficiencia de agua, la elongación celular de las plantas superiores puede ser inhibida por la interrupción del flujo de agua del xilema (Farooq *et al.*, 2009).

2.3.6.2. Estrés durante la germinación

El principal efecto de la sequía es un daño en la germinación y un pobre establecimiento. La sequía reduce la germinación y el mantenimiento de la plántula. En estudios con alfalfa el potencial de germinación, la longitud del epicotilo y el peso fresco y seco de la raíz y la parte aérea se reducen por un déficit de agua utilizando polietilenglicol, mientras que la longitud de la raíz se incrementó (Farooq *et al.*, 2009).

2.3.6.3. Raíz

Las raíces son las primeras en percibir una condición de déficit de agua siendo uno de los tejidos de plantas más importantes para estudiar el efecto de aclimatación a la sequía (Selote y Khanna-Chopra, 2010), además de que este órgano percibe cambios en la compactación del suelo, el contenido de oxígeno y cambios en la composición nutricional del suelo (Schachtman y Goodger, 2008).

Una característica importante de las respuestas del sistema radicular a la sequía es la habilidad que tienen algunas raíces para continuar elongándose aún a potenciales hídricos que son lo suficientemente bajos para inhibir el

crecimiento aéreo. Algunas especies agronómicas mantienen las tasa de elongación de la raíz principal a potenciales hídricos menores a -1.5 MPa, donde el crecimiento aéreo es completamente inhibido a potenciales hídricos mayores (Sharp *et al.*, 2004).

Algunas características como una mayor profundidad de raíces, proliferación y densidad son consideradas de gran importancia para la evasión a la sequía, por lo tanto, los genotipos con un mayor crecimiento radicular en ambientes estresados son preferibles. La sequía inhibe el crecimiento en general, incluso en genotipos tolerantes, pero el efecto es más prominente en genotipos susceptibles debido a una disminución global en sintetizados de polisacáridos de pared celular como pectinas, hemicelulosas y celulosa (Aroca, 2012).

2.3.6.4. Altura

La altura de planta es una característica controlada poligénicamente, relacionada con la arquitectura de la planta y el potencial de rendimiento y modificada por el ambiente. Un suministro limitado de agua frecuentemente inhibe el desarrollo de la planta y consecuentemente afecta el rendimiento (Wu *et al.*, 2010) ya que la planta necesita alcanzar suficiente tamaño para tener una adecuada fotosíntesis (Sari-Gorla *et al.*, 1999). La interacción con el ambiente también es un factor determinante para la estabilidad de la producción del cultivo, sobre todo en ambientes desfavorables (Wu *et al.*, 2010).

2.3.6.5. Área foliar

La reducción de la biomasa es un fenómeno común bajo sequía. La sequía reduce el peso seco de las yemas y la raíz y sus efectos son más severos en las yemas.

Un tamaño reducido de hoja está bien correlacionado con la sequía. Una reducción en la pérdida de agua por transpiración es otra adaptación importante de evasión por sequía. Un incremento en la resistencia estomatal y cuticular, estomas más pequeños, una menor área foliar, y una orientación vertical foliar están entre las características mayores que permiten minimizar la transpiración con el fin de evitar la pérdida de agua bajo condiciones de estrés (Aroca, 2012).

2.3.6.6. Fotosíntesis

Las respuestas fotosintéticas a la sequía son altamente complejas. Estas involucran una interacción de las limitaciones que toman lugar en diferentes sitios de las células de las hojas y a diferentes escalas de tiempo en relación al desarrollo vegetal. La intensidad, duración y tasa de la progresión del estrés influenciarán las respuestas a la escasez del agua.

Las respuestas de aclimatación bajo estrés, las cuales indirectamente afectan la fotosíntesis, incluyen aquellas relacionadas a la inhibición del crecimiento o caída de hojas que, restringiendo el gasto de agua de los tejidos ayudan a mantener el estado hídrico de la planta y por lo tanto la asimilación de carbono. Los efectos de la sequía en la fotosíntesis van desde la restricción de la difusión

de CO₂ al cloroplasto, a través de las limitaciones a la apertura estomatal mediado por las hormonas generadas en los brotes y raíces y en el transporte de CO₂ al mesófilo alterando la fotoquímica y el metabolismo del carbono. Estos efectos variarán de acuerdo a la intensidad y duración del estrés así como a la edad de la hoja, ya que las hojas más viejas son las más afectadas por la sequía y acumulan altas cantidades de sal (Chaves *et al*, 2009).

2.3.6.7. Azúcares

Los carbohidratos tienen diferentes funciones en las plantas (desde almacenamiento de energía hasta señalización), estas usan varias estrategias para adaptarse a distintos tipos de estrés ambiental. A pesar del conocimiento que se tiene de los mecanismos de transducción de señales de los azúcares y la regulación de la expresión de genes por éstos, la misma está incompleta. Parece que los azúcares favorecen la expresión de genes en conexión con la biosíntesis y almacenamiento de reservas y reprimen a aquellos genes asociados con la fotosíntesis y la movilización de reservas.

En varias especies de plantas, los polioles (formas reducidas de azúcares aldosas y cetosas) y ciclitoles se acumulan en las hojas y responden al estrés hídrico. El manitol y el sorbitol son los polioles más frecuentes encontrados en plantas. La acumulación de estos dos polioles bajo condiciones de sequía puede considerarse por arriba del 80 % del total de los solutos involucrados en los procesos de ajuste osmótico en algunas especies. El manitol funciona como un osmoprotector y protege a las enzimas reguladoras en contra de la

inactivación por radicales hidroxilo los cuales son abundantes durante los procesos de estrés oxidativo asociados al estrés hídrico (Chaves, 2003).

2.3.6.8. Cierre estomático

El estoma, es la célula especializada en llevar acabo el intercambio gaseoso y pérdida de agua a través de la transpiración. La tasa de transpiración es influenciada por la resistencia a la difusión ejercida por los poros estomatales y por el gradiente de humedad entre los espacios internos de aire de la hoja y el aire del ambiente. El estoma se cierra cuando el potencial hídrico foliar decrece.

La hormona vegetal ABA está involucrada en el cierre estomatal y se sintetiza para activar el cierre estomatal incluso antes de que ocurra un declive significativo de agua. Cuando la humedad relativa de agua baja alrededor del 70 %, la fotosíntesis en la mayoría de las especies se reduce y por lo tanto la resistencia del aparato fotosintético a desecación constituye un potencial activador del cierre estomatal. Las plantas muestran adaptación a la sequía por el cierre estomatal. Se ha argumentado que la conductancia estomatal no es una característica deseable ya que afecta la productividad bajo condiciones de no estrés (Shabala, 2012).

2.3.6.9. Ajuste osmótico

El ajuste osmótico (AO) se ha mostrado en un número de especies diferentes como la cebada, canola y maíz y puede contribuir a los mecanismos de ajuste estomatal y fotosintético en estos cultivos (Bowne *et al.*, 2012).

El ajuste osmótico es la llave de la adaptación de las plantas a nivel celular minimizando los efectos del daño inducido por la sequía en los cultivos de plantas y ayuda a la planta bajo sequía de dos maneras: permite mantener la turgencia celular y mejorar la conductancia estomatal para una toma eficiente de CO₂ y promueve la habilidad de las raíces para tomar más agua (Aroca, 2012), además promueve la síntesis de varios compuestos, incluyendo a la prolina, los polioles (manitol e inositol) y compuestos de amonio cuaternario como la glicina betaina. Estos compuestos rodean a las proteínas y las protegen para prevenir su degradación bajo condiciones de estrés osmótico (Bowne *et al.*, 2012).

2.3.7. Mejoramiento vegetal

El mejoramiento vegetal se basa en la identificación y utilización de la variación genética. Los mejoradores toman decisiones en varios puntos del proceso de mejoramiento. El primero consiste en elegir al genotipo parental más apropiado para el uso en una o varias cruza iniciales y después en decidir la estrategia de selección a utilizar para la identificación de los individuos más deseables entre la progenie resultante de la cruza. Los ensayos de campo pueden ser caros así como la evaluación de algunas características, como estabilidad de la calidad y el rendimiento, es por eso que los marcadores moleculares han probado ser una herramienta poderosa para remplazar a los bioensayos y se han encontrado varios ejemplos que muestran la eficacia de dichos marcadores (Lörz y Wenzel, 2008).

2.4. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son secuencias de ADN que permiten diferenciar entre un genotipo y otro a nivel del ADN. Pueden ser genes o segmentos de ADN sin ninguna función o codificación conocida, pero su herencia puede seguirse fácilmente mediante el empleo de procedimientos de laboratorio bien establecidos (Miles *et al.*, 1998).

La tecnología de los marcadores genéticos ha evolucionado rápidamente donde los métodos basados en el fenotipo o isoenzimas han sido remplazados por los métodos basados en el ADN. Los marcadores moleculares son de gran uso para la identificación de plantas y para determinar la relación entre ellas ya que esta puede ser muy importante en el mejoramiento vegetal, la producción de planta y procesamiento así como en derechos de propiedad. La determinación de relaciones genéticas es requerida en análisis de genética evolutiva y de conservación y en la selección de germoplasma para el mejoramiento vegetal (Henry, 2012).

Los organismos individuales difieren en las secuencias de ADN que comprenden sus genomas. Esta variación genética puede considerarse a nivel génico o genotípico. El destino de una variante genética determinada en el tiempo y en el espacio se verá influenciada por la biología y las circunstancias por las que pasan los individuos, como el éxito reproductivo, la migración, tamaño de población, selección natural y los acontecimientos históricos (Sunnucks, 2000).

2.4.1. Tipos de marcadores moleculares

Los marcadores moleculares han demostrado ser una herramienta valiosa en el mejoramiento vegetal, especialmente en estudios de diversidad genética y mapeo de genes.

Los sistemas de marcadores más comunes basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa son los Polimorfismos de ADN Amplificados al Azar (RAPDs), Polimorfismos de Longitud en Fragmentos Amplificados (AFLPs) y más recientemente las Secuencias Simples Repetidas (SSRs) o microsatélites. La mayor limitación de estos métodos son la baja reproducibilidad de los RAPDs, el alto costo de los AFLPs y la necesidad de conocer las secuencias flanqueantes para desarrollar iniciadores específicos en especies por polimorfismos de SSR.

2.4.1.1. ISSR

La técnica de PCR-ISSR supera la mayoría de estas limitaciones y está siendo utilizada rápidamente por la comunidad científica en varios campos del mejoramiento vegetal. Esta técnica es de gran ayuda en muchas áreas de la diversidad genética, estudios filogenéticos, mapeo de genes y biología evolutiva en un amplio rango de especies. En este método los SSRs son usados como 'primers', lo que involucra la amplificación de segmentos de ADN presentes entre dos regiones repetidas de microsatélites orientados en direcciones opuestas.

La técnica usa microsatélites con una longitud de 16-25 pb. Las repeticiones de 'primers' de microsatélites utilizados pueden ser di-nucleótidos, tri-nucleótidos, tetra-nucleótidos o penta-nucleótidos. La técnica combina la mayoría de los beneficios de los AFLP y microsatélites con la universalidad de los RAPD. Los ISSRs tienen una alta reproducibilidad debido posiblemente al uso de iniciadores de mayor tamaño en comparación con los cebadores usados para RAPDs (10 pb) lo cual permite el uso subsecuente de una temperatura de alineación más alta (54-60 °C) (Pradeep *et al.*, 2002).

2.4.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La amplificación del ADN vía Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) se ha convertido en una herramienta importante en la Biología Molecular (Agarwal y Perl, 1993).

El análisis PCR es un procedimiento *in vitro* para la síntesis y duplicación de secuencias específicas de ADN. Esta tecnología utiliza secuencias de oligonucleótidos que inician la síntesis de fragmentos de ADN de longitudes variables, no mayores de 6 Kb en promedio. Según la técnica se usa uno o dos oligonucleótidos sintéticos (iniciadores), generalmente de entre 10 a 30 pares de bases de longitud y complementarios a la secuencia nucleotídica de los extremos del ADN blanco y diseñados para hibridar en dirección contraria. El método implica la ejecución de una serie repetitiva de ciclos (conocidos como ciclos térmicos), cada uno de los cuales involucra la desnaturalización del ADN, la unión de un iniciador a la cadena desnaturalizada y la síntesis, a partir del

iniciador, de una doble cadena mediante la acción de la ADN polimerasa. Lo anterior resulta en una acumulación exponencial de un fragmento específico del ADN (Azofeifa, 2006).

2.4.3. Mejoramiento molecular para tolerancia al estrés

Los enfoques de mejoramiento molecular a través de la identificación de *loci* de rasgos cuantitativos y selección asistida con marcadores ofrecen una oportunidad para el mejoramiento significativo de la tolerancia a la sequía en cultivos. La utilización de marcadores moleculares ha sido de gran ayuda para tener un mejor conocimiento de las bases genéticas de la tolerancia al estrés y para la selección más eficientemente de esta característica. Para características como longitud de raíz y ajuste osmótico, el marcaje molecular con marcadores específicos facilitará la eficiente identificación de genes que las controlan. El otro tipo de mejoramiento involucra la contribución de los agricultores para seleccionar plantas que presentan tolerancia al estrés (Shabala, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Se utilizaron seis genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) de los cuales cinco fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Ciudad Obregón, Sonora y un genotipo tolerante a sequía por el CIMMYT en El Batán, Estado de México. Los genotipos se muestran en la Figura 4 y su pedigrí en el Cuadro 2.



Figura 4. Genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) utilizados en la presente investigación.

Cuadro 2. Pedigrí de los seis genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) estudiados.

| Genotipo | Pedigrí |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cirno | SOOTY_9/RASCON_37//CAMAYO, CGS02Y00004S-2F1-6Y-0B-1Y-0B GUAYACAN |
| Huatabampo Oro | INIA/POMA_2//SNITAN/4/D86135/ACO89//PORRON_4/3/SNITAN |
| Movas | CMH83.2578/4/D88059//WARD/YAV79/3/ACO89/5/2*SOOTY_9/RASCON_37/6/1A.1D5+106/3*MOJO/3/AJAIA_12/F3LOCAL (SEL.ETHIO.135.85)//PLATA_13 SULA/AAZ_5//CHEN/ALTAR84/3/AJAIA_12/F3LOCAL(SEL.ETHIO.135.85)//PLATA_13 |
| Patronato Oro | HIO.135.85)//PLATA_13/4/ARMENT//SRN_3/NIGRIS_4/3/CANELO_9.1 |
| CIMMYT(D11B_PCD W 10227) | STOT//ALTAR84/ALD/3/PATKA_7/YAZI_1/SOMAT_3/PHAX_1//TILO_1/5/SOOTY_9/RASCON_37//WODUCK/CHAM_3 |
| Cevy Oro | SCRIP_1//DIPPER_2/BUSHEN_3/4/ARMENT//SRN_3/NIGRIS_4/3/CANELO_9.1 |

3.2. Análisis morfológico

3.2.1. Estrés durante la etapa de germinación

Para obtener una prueba rápida para la identificación de genotipos tolerantes o susceptibles de trigo en la etapa de germinación, se realizó un ensayo de imbibición de semillas a diferentes presiones osmóticas y se midió el número de raíces, la longitud del coleoptilo y de raíz, y se evaluó la eficiencia en el uso del agua de cada variedad.

3.2.1.1. Desinfección de semillas

Las semillas de cada genotipo fueron desinfectadas previamente en una solución de cloro al 10 % por 5 minutos y posteriormente se lavaron dos veces con agua destilada estéril.

Para el análisis de imbibición se colocaron 10 semillas de cada genotipo en cajas Petri con tres repeticiones. Cada caja contuvo un filtro previamente humedecido con 8 mL de agua o con concentraciones diferentes de PEG-6000 para proporcionar potenciales osmóticos de 0 (control), -0.3 MPa, -0.6 MPa y -0.9 MPa. Los potenciales osmóticos de las soluciones se calcularon de acuerdo a la ecuación descrita por Michel y Kaufmann (1973). Se tomaron datos de cantidad de agua embebida y uso eficiente del agua.

3.2.1.2. Toma de datos

Se pesaron las semillas al principio del experimento y cada 8 h por 72 h en una balanza digital OHAUS, permanecieron en las cajas durante 8 días donde posteriormente se tomó el peso fresco y se secaron en un horno a 70 °C por 72 h para registrar el peso seco. Finalmente, se calculó la eficiencia en el uso del agua con la siguiente ecuación:

$$WUE = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{Peso inicial de semillas}}{\text{Peso seco}}$$

Para realizar un análisis más a fondo sobre el comportamiento de los genotipos sometidos a las ya mencionadas presiones osmóticas se siguió el mismo proceso de desinfección anteriormente mencionado y se colocaron 15 semillas de cada genotipo por caja Petri con tres repeticiones conteniendo un filtro previamente humedecido con 8 mL de solución a las presiones osmóticas establecidas. En este ensayo se evaluó el porcentaje de germinación, el índice de velocidad de germinación, el número de raíces y la longitud de coleoptilo y raíz.

3.2.1.2.1. Porcentaje de germinación

Se consideró como semilla germinada a aquella que presentó aproximadamente 2 mm de longitud de raíz. El número de semillas germinadas se contó diariamente y se estimó el porcentaje y el índice de velocidad de germinación (Moayedi *et al.*, 2009).

3.2.1.2.2. Índice de velocidad de germinación

El índice de velocidad de germinación se calculó usando la ecuación de Maguire:

$M (GR) = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots + n_8/t_8$; donde n_1, n_2, \dots, n_8 representan el número de semillas germinadas y el tiempo t_1, t_2, \dots, t_8 en días (Sayar *et al.*, 2010).

3.2.1.2.3. Número de raíces, longitud de coleoptilo y raíz

Al final de los 8 días de germinado se seleccionó 5 plántulas de cada repetición y se midió el número de raíces, la longitud de coleoptilo y de la raíz principal, así como de la plántula completa (Moayedi *et al.*, 2009).

3.2.2. Estrés en etapa reproductiva

Se evaluaron los seis genotipos de trigo bajo condiciones de invernadero a diferentes condiciones de estrés considerando descriptores relacionados con la etapa reproductiva para determinar su respuesta al estrés hídrico.

3.2.2.1. Preparación del sustrato

Las plántulas de trigo se cultivaron en macetas con capacidad de 4 L que se llenaron con una mezcla de suelo de 4 'peat moss': 1 agrolita (v/v). Estas fueron humedecidas hasta alcanzar la capacidad de campo, registrando un peso inicial de 4.280 kg para todas las macetas.

3.2.2.2. Fertilización

Cada maceta se fertilizó con la dosis 250-50-250, donde al momento de la siembra se aplicó el 50 % de nitrógeno y potasio y el 100 % de fósforo y a los 30 días después de la siembra (dds) se aplicó el 50 % restante de nitrógeno y potasio.

3.2.2.3. Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones y tres diferentes tratamientos: T1: Condiciones de capacidad de campo (Control), T2: 35 % CC, T3: 25 % CC. Para estimar estos valores se utilizó una balanza y se llevó al peso establecido en cada tratamiento con agua corriente. Cada unidad experimental constó de una maceta con dos plantas.

3.2.2.4. Evaluación de los descriptores

Se evaluó los descriptores siguientes de acuerdo al International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR, 1985) utilizando 5 plantas de cada genotipo por tratamiento:

- Altura de la planta. Se registró cada dos semanas de cada planta en cm. Esta se midió de la superficie del sustrato hasta la inicio de la espiga.
- Peso de la espiga. Se pesó todas las espigas por planta.
- Longitud de la espiga. Se midió con una regla el largo de la espiga principal de cada planta.

- Ancho de la espiga. Con la ayuda de un vernier se midió el ancho de la espiga principal de cada planta.
- Número de granos. Se contó el número de granos por planta al final de la cosecha.
- Peso de granos. Se pesó los granos por planta y se registró los valores en g.

3.3. Análisis Bioquímico

3.3.1. Clorofila

Se cuantificó el contenido de clorofila a los 90 dds utilizando el método de extracción por acetona en el cual se tomó 0.5 g de hoja fresca y se agregó 5 mL de acetona al 80 %, se maceró y se tomó el extracto para ser centrifugado a 2000 rpm por 10 min, se tomó el sobrenadante y se ajustó el volumen a 6 mL con acetona al 80 %. Se tomó 100 μ L de muestra y se diluyó hasta 1 mL con acetona al 80 % y se cuantificó en un espectrofotómetro de UV a longitudes de onda de 645 y 663 nm para obtener el contenido de clorofila a, clorofila b y clorofila total con base a las ecuaciones siguientes:

$$\text{Clorofila A} = 12.7 \cdot \text{Abs}_{663\text{nm}} - 2.69 \cdot \text{Abs}_{645\text{nm}}$$

$$\text{Clorofila B} = 22.9 \cdot \text{Abs}_{645\text{nm}} - 4.68 \cdot \text{Abs}_{663\text{nm}}$$

$$\text{Clorofila total} = \text{Clorofila A} + \text{Clorofila B}$$

(Fernández y Johnston, 1986).

3.3.2. Azúcares

El total de azúcares solubles (mg/g de peso fresco) se tomó a los 90 dds y fue determinado en base al método descrito por Dubois (1951) con algunas modificaciones. Se tomó 0.1 g de hojas frescas, se les añadió 5 mL de etanol al 80 % y se calentó por 1 h a 80 °C. Se tomó 250 µL del extracto y se mezcló con 250 µL de fenol al 18 % y 250 µL de agua destilada, se mezcló y se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 h. Luego se añadió 1.25 mL de ácido sulfúrico y se mezcló. La absorbancia se leyó a 490 nm en un espectrofotómetro Genesys10 UV/vis utilizándose como blanco etanol al 80 %.

3.3.3. Contenido Relativo de Agua (CRA)

El contenido relativo de agua (CRA) se evaluó a los días 56 y 76 dds registrándose el peso fresco de segmentos de hojas completamente expandidas dentro de dos horas después de la escisión, usando una balanza analítica. El peso túrgido se obtuvo después de colocar los segmentos de hojas en tubos de cultivo con agua destilada de 16 a 18 h. El peso seco se obtuvo luego de secar los segmentos de hoja por 72 h a 70 °C. El contenido relativo de agua se calculó usando la ecuación siguiente:

$$\text{CRA (\%)} = [(\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}) / (\text{Peso túrgido} - \text{Peso seco})] \times 100$$

(Siddique *et al.*, 2000).

3.3.4. Cierre estomatal

Para observar el comportamiento estomatal de cada genotipo, se aplicó barniz de uñas transparente a lo largo de una de las hojas jóvenes, se esperó a que

seca y con la ayuda de una aguja se desprendió uniformemente el barniz de la hoja. Las muestras se visualizaron en un microscopio compuesto marca Leica utilizando el objetivo de 40X.

3.4. Análisis de datos

Durante el análisis estadístico realizado para los datos morfológicos y bioquímicos anteriormente mencionados se aplicó un análisis de varianza ($\alpha \leq 0.05$) y una prueba de comparación de medias (Tukey $\alpha \leq 0.05$ y Duncan $\alpha \leq 0.05$). Este análisis se realizó utilizando el paquete computacional Statgraphics Centurion XVI.

3.5. Dendrograma de datos morfológicos y bioquímicos

Con los datos obtenidos en los análisis morfológicos y bioquímicos se procedió a realizar una matriz. Fue necesario una estandarización previa de los datos con el paquete computacional NTSYs v.2.1 (Numerical Taxonomic Analysis System) con el fin de realizar un análisis de correlación entre las variables, así como un análisis de componentes principales y obtener un dendrograma con datos morfológicos y bioquímicos el cual posteriormente fue comparado con el dendrograma molecular mediante pruebas de Mantel y así conocer la correlación entre estos dos análisis.

3.6. Análisis molecular

3.6.1. Extracción y purificación de ADN genómico

Para la obtención de ADN genómico se pesó 0.3 g de tejido joven y fresco de hoja de cada una de los 6 genotipos, y se maceraron en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino, mismo que se transfirió a microtubos de 1.5 mL. Para la extracción del ADN se utilizó el método descrito por Dellaporta (1983). Se agregó 600 μ L de la solución extractora (Tris-HCl 100 mM, EDTA- Na_2 50 mM, NaCl 500 mM, 2-Mercaptoetanol 10 mM, SDS 0.1 % pH 8.0) a cada microtubo y se incubó a 65 °C por 10 min con inversión ocasional de los tubos. Se adicionó 200 μ L de acetato de potasio a una concentración 5 M, se agitaron los tubos por inversión y se dejaron por 30 min a una temperatura de 4 °C. Se centrifugó a temperatura ambiente por 10 min a una velocidad de 12,000 rpm, se transfirió el sobrenadante a otro microtubo de 1.5 mL conteniendo 700 μ L de isopropanol frío, se mezcló por inversión y se incubó por 30 min a una temperatura de -20 °C.

Se centrifugó a temperatura ambiente durante 5 min a una velocidad de 12,000 rpm, eliminando el sobrenadante y se disolvió el precipitado en 200 μ L de solución para diluir, una vez disuelto el precipitado se añadió a cada tubo 2 μ L de ARNasa A y se dejó incubar por 1 h a una temperatura de 37 °C.

Posteriormente se adicionó 20 μ L de acetato de sodio 3 M y 200 μ L de isopropanol, se mezcló por inversión y se dejó incubando 2 h a una temperatura de -20 °C.

Finalmente, se centrifugó a temperatura ambiente por 5 min a una velocidad de 12,000 rpm, se eliminó el sobrenadante y se lavó el precipitado dos veces con 300 μL de etanol al 70 %, se dejó secar la pastilla y se disolvió en 100 μL de TE. Las muestras se almacenaron a 4 °C para futuros análisis.

3.6.2. Cuantificación y calidad de ADN genómico

Para conocer la concentración de ADN ($\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$) de cada muestra se realizó una dilución 1 en 100 agregando 10 μL de muestra de ADN + 990 μL de H_2O bi destilada estéril y por medio de un Espectrofotómetro Genesys10 UV/Vis a una longitud de onda de 260 nm se obtuvo su absorbancia y su concentración por medio de la fórmula siguiente:

$$\text{Concentración ADN } (\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}) = \frac{\text{Abs}_{260\text{nm}} * 50 * 100}{1000}$$

La calidad del ADN se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % (p/v). Se mezcló 3 μL de ADN y una gota de amortiguador de carga (0.1 % azul de bromofenol, 0.1 % de xylen cianol, 30% de Ficol y 1 % de SDS) y se cargó a los pozos del gel.

Como amortiguador de corrida se utilizó TAE 10X (40 mM Tris-acetato, pH 7.6, 1 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$), diluido a una proporción de 0.5X. La electroforesis se realizó a 100 V hasta que las muestras recorrieron tres cuartas partes del gel para luego ser teñido con bromuro de etidio (0.5 mg.mL^{-1}) por 15 min.

Posteriormente el gel se visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta KODAK EDAS-290.

3.6.3. Amplificación por PCR

La reacción de PCR se llevó a cabo en 25 μL de reacción compuesta de: 2.2 μL de H_2O PCR, 10 μL de dNTPs (500 μM), 2.5 μL de amortiguador 10X, 2.0 μL de MgCl_2 (25 mM), 3.0 μL de iniciador (10 pMol), 0.3 μL de Taq ADN polimerasa ($5\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) y 5.0 μL de ADN ($10\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$).

Con el fin de detectar polimorfismos entre los genotipos de trigo se procedió a realizar la técnica ISSR-PCR, donde se probaron 50 iniciadores de los cuales se obtuvo productos de PCR con 20 de ellos. En el Cuadro 3 se muestran estos iniciadores y su secuencia.

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador marca Techne TC-512 bajo las condiciones siguientes: un ciclo de desnaturalización a 94 °C por 3 min, luego 30 ciclos con un paso de desnaturalización a 94 °C por 1 min, alineación a 50 °C por 1 min y la amplificación a 72 °C por 2 min, y un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min.

Cuadro 3. Secuencias de iniciadores ISSR utilizados en la presente investigación.

| Iniciador | Secuencia 5'-3' |
|------------------|-------------------------|
| A3 | CTC CTC CTC CTC CTC CTC |
| A4 | CAC ACA CAC ACA CAC AAG |
| A5 | CAC ACA CAC ACA CAC AGG |
| A6 | CTC TCT CTC TCT CTC TTG |
| A7 | CAC ACA CAC ACA CAC AAC |
| A8 | AGA GAG AGA GAG AGA GT |
| RAH01 | ACG GAT CCT G |
| RAH04 | AAA GCT GCG G |
| IAH03 | GAG AGA GAG AGA CC |
| IAH04 | CACCACCACGC |
| P1 | GAG CAA CAA CAA CAA CAA |
| U810 | GAGAGAGAGAGAGAGAT |
| U812 | GAGAGAGAGAGAGAGAA |
| U834 | AGAGAGAGAGAGAGAGYT |
| U873 | GACAGACAGACAGACA |
| ISSR4 | GAGAGAGAGAGAGAGAC |
| ISSR5 | GAGAGAGAGAGAGAGAT |
| (AG)8YA | AGAGAGAGAGAGAGAGYA |
| DBD(AC)7 | DBDACACACACACACAC |
| (CA)8RT | CACACACACACACACART |

3.6.3.1. Genotipos

Para detectar polimorfismos entre las variedades se realizaron mezclas de cada uno de los genotipos adicionando 5 μL de cada individuo en un microtubo de 200 μL , se cuantificó y se llevó cada mezcla a una concentración de $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ para la realizar la técnica de PCR utilizando los 20 iniciadores descritos anteriormente.

3.6.3.2. Individuos

Con el fin de determinar pureza varietal se realizaron pruebas de detección de polimorfismos en 10 individuos de cada genotipo, utilizando 5 iniciadores del tipo ISSR.

3.6.4. Electroforésis

La electroforesis para la separación de productos de PCR se llevó a cabo en geles de agarosa al 1.2 % (p/v) utilizando TAE 0.5X como amortiguador, se realizó en una cámara electroforética horizontal a 120 V cargando 12.5 μL de muestra por pozo. Finalmente, el gel se tiñó con bromuro de etidio durante 10 minutos. Para la documentación de las huellas de ADN se utilizó el sistema Kodak High Performance Ultraviolet Transiluminator EDAS-290.

3.6.5. Análisis de los datos

Con los patrones de bandas obtenidos se determinó el número de las mismas o los polimorfismos detectados para cada genotipo y se realizó una matriz binaria de presencia o ausencia con cada uno de los iniciadores usando el programa

Office Excel. La matriz binaria se analizó con el software NTSYS 2.1 donde se utilizó un coeficiente de similitud de Jaccard y se hizo un análisis de conglomerados por el método de medias aritméticas (UPGMA) para obtener un dendrograma tomando cada genotipo como una unidad taxonómica operacional (OTU).

3.7. Análisis de proteínas

3.7.1. Extracción de proteínas

Para la extracción de proteínas se eliminó el embrión a 10 semillas por genotipo y se diseccionó en partes pequeñas para colocarlas en un microtubo de 1.5 mL, la extracción se llevó a cabo agregando 50 µL/endospermo de solución de extracción (Tris-HCl pH 6.8 125 mM, SDS 8 %, Glicerol 20 %, Azul de bromofenol 0.002 % y 2-Mercaptoetanol 0.03 %) a cada tubo y se dejó los tubos a temperatura ambiente durante toda la noche. Posteriormente se tomó el extracto, se centrifugó a 6,000 rpm x 5 min y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo, esto con el fin de eliminar solutos no deseados.

3.7.2. Electroforesis unidimensional

La electroforesis se realizó en geles de SDS-poliacrilamida al 12 % (p/v) de acuerdo al método descrito por Laemmli (1970). Antes de colocar las muestras de proteínas en el gel SDS-PAGE se calentaron las muestras en una placa de calentamiento a 65 °C por 5 min para desnaturalizar las proteínas. La electroforesis se llevó a cabo en una cámara vertical a 100 V utilizando una

solución amortiguadora de corrida (Trizma base 0.025 M, glicina 0.192 M y SDS al 0.1 %) y se colocó en cada carril 18 μ L de muestra. La electroforesis se detuvo hasta que las muestras recorrieran todo el gel, una vez terminado el proceso se desprendió el gel de las micas y se sumergió en una solución de tinción (Azul de Coomassie 0.1 %, Metanol 50 % y Ácido acético 10 %) por 1 h, para después colocarse en una solución de desteñir (Metanol 5 % y Ácido acético 10 %) hasta eliminar el fondo azul del gel. Una vez que se terminó de desteñir el gel se envolvió en papel celofán y se obtuvo una imagen por medio de un escáner marca Hewlett Packard.

3.7.3. Análisis de datos de proteínas

Con los patrones obtenidos se determinó el número de bandas de cada genotipo y se elaboró una matriz binaria de presencia o ausencia en el programa Office Excel. La matriz binaria se analizó con el software NTSYS 2.1 donde se utilizó un coeficiente de similitud de Jaccard y se hizo un análisis UPGMA para obtener un dendrograma tomando cada genotipo como una OTU.

3.8. Prueba de Mantel

Con el fin de determinar la correlación existente entre matrices generadas a partir de patrones de bandeo moleculares y proteicos se realizó una prueba de Mantel con las matrices binarias de ambos análisis utilizando el software NTSYS 2.1.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Respuestas al estrés hídrico

4.1.1. Respuestas al estrés durante la etapa de germinación

Tanto la germinación de semillas como el crecimiento de las plántulas son características importantes para definir la producción de grano, observándose que el vigor de la semilla y la longitud de las hojas son los más sensibles al estrés hídrico seguido de la longitud de la raíz y longitud del coleoptilo. Con el incremento de los niveles de estrés la tasa de germinación de semillas y el porcentaje final de germinación son considerablemente bajos (Almaghrabi, 2012).

4.1.1.1. Germinación a bajos potenciales hídricos

Al someter las semillas de los seis genotipos de trigo a bajos potenciales hídricos (-0.3, -0.6 y -0.9 MPa), en todos ellos se presentó una fuerte inhibición en el crecimiento de la raíz, el coleoptilo, el índice de velocidad de germinación, el porcentaje de germinación y en el uso eficiente del agua en comparación con el control. En la Figura 5 se muestra la inhibición de longitud de raíz y coleoptilo a los tres y ocho días después de la siembra en los genotipos CIMMYT (D11B_PCDW 10227) y Patronato Oro. Se observa que a potenciales hídricos más negativos mayor es la inhibición en el crecimiento.

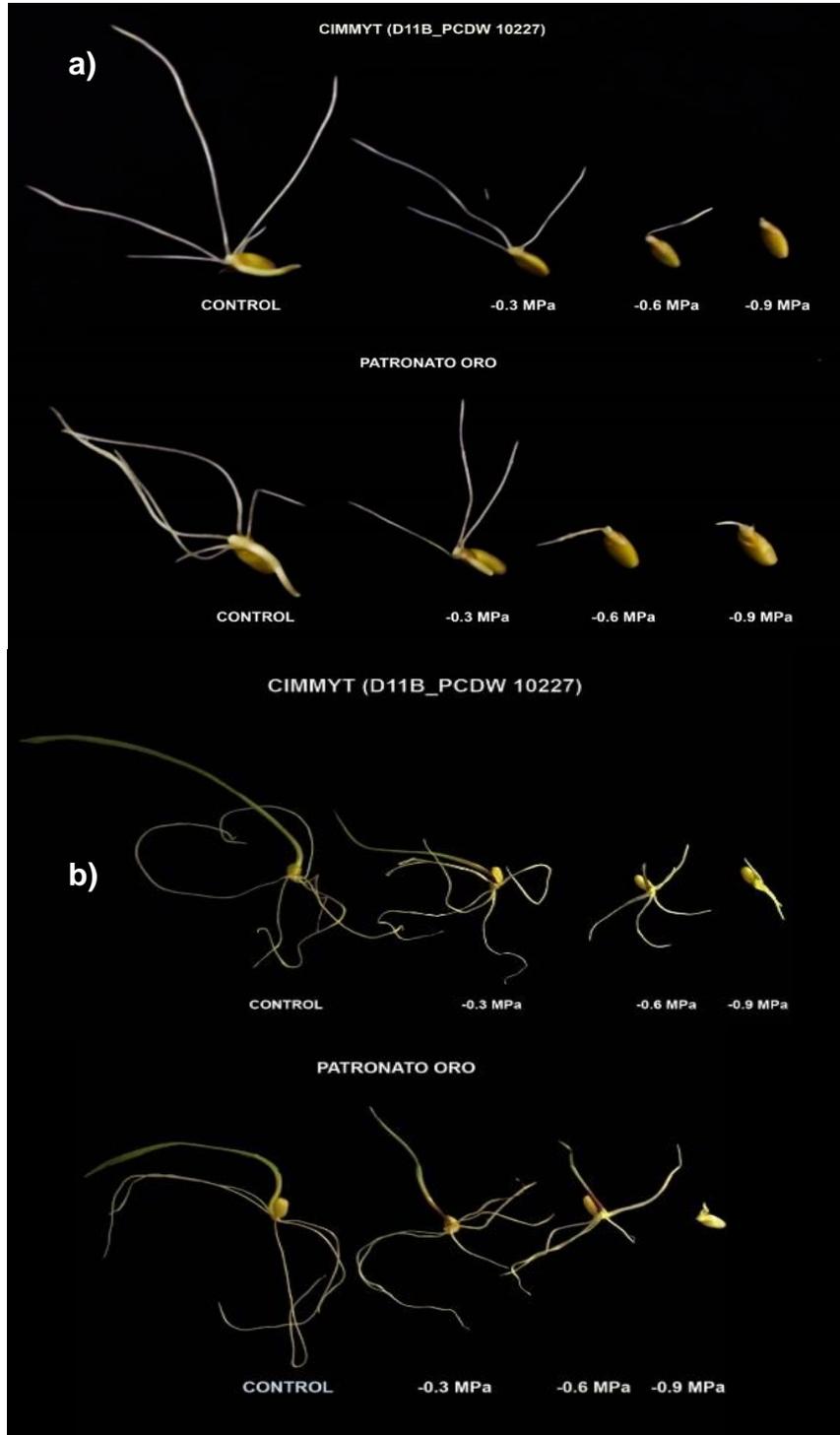


Figura 5. Germinación de genotipos CIMMYT (D11B_PCDW 10227) y Patronato Oro. A) a los tres días de siembra. B) a los ocho días de siembra.

4.1.1.2. Cantidad de agua embebida por los genotipos durante la germinación a bajos potenciales hídricos

La imbibición durante las primeras horas es crucial para realizar el proceso de la germinación, seguido de la movilización de reservas y síntesis de proteínas (Harb, 2013). Uno de los efectos de la exposición de las semillas a bajos potenciales osmóticos ocasiona una reducción en la imbibición y en los ejes del crecimiento embriogénico los cuales se deshidratan debido al desbalance de iones y daños en la membrana, entre otros (Sayar *et al.*, 2010). Levitt (1980) indica que las pruebas de germinación no son usualmente buenos indicadores de diferencias de tolerancia entre genotipos, mientras que Rhoades (1990) reporta que algunas plantas son relativamente tolerantes durante la germinación pero se vuelven más sensibles en etapas posteriores.

La capacidad que tienen las raíces de absorber agua y mantener la turgencia de las células es una característica importante para la identificación de la tolerancia al estrés hídrico. Se encontraron diferencias significativas en esta característica entre los genotipos solo en el tratamiento de -0.3 MPa (Cuadro 4), donde el genotipo Cirno fue el que embebió mayor cantidad de agua (0.60 g), mientras que Cevy Oro embebió la menor (0.40 g).

Cuadro 4. Cantidad de agua embebida por seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas.

| Genotipo | Agua embebida (g) | | | |
|---------------------------------|-------------------|----------------|---------------|---------------|
| | Control | -0.3 MPa | -0.6 MPa | -0.9 MPa |
| CIRNO | 0.90 ± 0.14 a | 0.60 ± 0.14 a | 0.35 ± 0.07 a | 0.30 ± 0.01 a |
| HUATABAMPO ORO | 0.90 ± 0.01 a | 0.50 ± 0.01 ab | 0.35 ± 0.07 a | 0.30 ± 0.01 a |
| MOVAS | 0.80 ± 0.01 a | 0.50 ± 0.01 ab | 0.35 ± 0.07 a | 0.30 ± 0.01 a |
| PATRONATO ORO | 0.85 ± 0.21 a | 0.55 ± 0.07 ab | 0.40 ± 0.01 a | 0.30 ± 0.01 a |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.75 ± 0.07 a | 0.45 ± 0.07 ab | 0.30 ± 0.01 a | 0.25 ± 0.07 a |
| CEVY ORO | 0.75 ± 0.07 a | 0.40 ± 0.01 b | 0.30 ± 0.01 a | 0.30 ± 0.01 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

4.1.1.3. Eficiencia en el uso del agua por los genotipos de trigo

Bajas condiciones de estrés las plantas están diseñadas fisiológicamente para reducir su uso de agua. Dado que la producción de la planta está en función del consumo del agua el problema para el productor es cómo reducir el uso del agua bajo condiciones de estrés sin minimizar la producción (Blum 2005), es por eso que es importante evaluar esta característica que relaciona la cantidad de materia seca formada por cantidad de agua utilizada.

Para observar el comportamiento de los genotipos sometidos a diferentes niveles de estrés hídrico en el Cuadro 5 se muestra que el uso eficiente del agua se vio afectado con los diferentes tratamientos de estrés comparados con el tratamiento control, se redujo la cantidad de materia seca producida por los

genotipos en relación a la cantidad de agua utilizada. Bajo el tratamiento de mayor estrés (-0.9 MPa) el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) resultó ser el más eficiente en el uso del agua con un valor de 0.90, mientras que el genotipo Cirno fue el menos eficiente con un valor de 0.57. Comparando los resultados obtenidos durante la imbibición con los presentes resultados, es posible percatarse que Cirno es capaz de embeber gran cantidad de agua pero hace un uso eficiente menor de la misma (produce menor cantidad de materia seca), mientras que el genotipo CIMMYT (D11B_PCW 10227) embebe una cantidad menor de agua pero hace un uso más eficiente de ella (produce mayor cantidad de materia seca por cantidad de agua utilizada).

Cuadro 5. Uso eficiente del agua por seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas.

| Genotipo | Eficiencia en el uso del agua | | | |
|---------------------------------|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | Control | -0.3 MPa | -0.6 MPa | -0.9 MPa |
| CIRNO | 3.60 ± 0.01 a | 1.665 ± 0.23 c | 1.00 ± 0.23 b | 0.57 ± 0.01 c |
| HUATABAMPO ORO | 3.95 ± 0.77 a | 1.83 ± 0.23 c | 1.17 ± 0.01 b | 0.62 ± 0.06 bc |
| MOVAS | 4.25 ± 0.01 a | 2.2 ± 0.28 bc | 1.60 ± 0.56 ab | 0.80 ± 0.01 ab |
| PATRONATO ORO | 4.37 ± 0.53 a | 2.7 ± 0.14 ab | 2.10 ± 0.14 a | 0.58 ± 0.11 c |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 4.25 ± 0.70 a | 2.9 ± 0.42 a | 1.60 ± 0.28 ab | 0.90 ± 0.14 a |
| CEVY ORO | 3.75 ± 0.70 a | 2.8 ± 0.01 ab | 1.50 ± 0.42 ab | 0.80 ± 0.01 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

4.1.1.4. Porcentaje de germinación

Bajo los tratamientos control, -0.3 MPa y -0.6 MPa se observó porcentajes altos de germinación. A partir del tratamiento -0.9 MPa la germinación se redujo de forma dramática sobre todo en el genotipo Cirno alcanzando un valor de 37.77 %, mientras que el genotipo Huatabampo Oro fue el menos afectado con un valor de 77.77 % (Cuadro 6). Alam *et al.* (2002) han demostrado que un decremento en el gradiente del potencial hídrico entre las semillas y su medio afecta la germinación y subsecuentemente el proceso de crecimiento.

Cuadro 6. Porcentaje de germinación de semillas de trigo a diferentes presiones osmóticas.

| Genotipo | Control | -0.3 Mpa | -0.6 Mpa | -0.9 Mpa |
|--------------------------|----------|----------|----------|----------|
| CIRNO | 97.77 a | 95.55 a | 95.55 a | 37.77 b |
| HUATABAMPO ORO | 100.00 a | 100.00 a | 91.11 a | 77.77 a |
| MOVAS | 95.55 a | 95.55 a | 91.11 a | 48.88 ab |
| PATRONATO ORO | 100.00 a | 100.00 a | 86.66 a | 42.22 b |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 100.00 a | 93.33 a | 93.33 a | 57.77 ab |
| CEVY ORO | 100.00 a | 100.00 a | 88.88 a | 60.00 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

4.1.1.5. Índice de velocidad de germinación

El índice de velocidad de germinación nos indica la velocidad diaria de germinación de semillas bajo diferentes presiones osmóticas. Hegarty (1977) indica que el estrés hídrico puede retardar, reducir, o bien inhibir

completamente el índice de velocidad de germinación. Al igual que el porcentaje de germinación ésta característica mostró una reducción a potenciales osmóticos más negativos (Cuadro 7). En el tratamiento -0.9 MPa el genotipo Patronato Oro fue el más afectado con un índice de 1.00, mientras Huatabampo Oro presentó un índice mayor de 2.54.

Cuadro 7. Índice de velocidad de germinación de seis genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas.

| Genotipo | Control | -0.3 MPa | -0.6 Mpa | -0.9 Mpa |
|--------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|
| CIRNO | 8.27 ± 1.64 a | 6.71 ± 0.24 a | 4.50 ± 1.61 a | 1.25 ± 1.23 ab |
| HUATABAMPO ORO | 8.55 ± 0.09 a | 6.61 ± 0.34 a | 5.00 ± 0.88 a | 2.54 ± 0.61 a |
| MOVAS | 8.05 ± 0.38 a | 6.22 ± 0.53 ab | 4.17 ± 0.78 a | 1.13 ± 0.22 b |
| PATRONATO ORO | 7.83 ± 1.01 ab | 5.72 ± 0.25 bc | 3.23 ± 1.14 a | 1.00 ± 0.43 b |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 8.11 ± 0.63 ab | 6.48 ± 0.69 ab | 5.30 ± 0.88 a | 2.26 ± 0.87 ab |
| CEVY ORO | 6.58 ± 0.22 b | 5.41 ± 0.16 c | 3.95 ± 0.82 a | 2.26 ± 0.05 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

En las Figuras 6 y 7 se muestra el comportamiento de la germinación de las semillas en función del tiempo bajo el tratamiento control (0 MPa) y de estrés severo (-0.9 MPa), respectivamente. Se puede apreciar que en el tratamiento control las semillas de los diferentes genotipos presentan una velocidad de germinación muy similar, sin embargo en el tratamiento de estrés severo este comportamiento se ve afectado. Bajo estas últimas condiciones, los genotipos Huatabampo Oro, CIMMYT (D11B_PCDW 10227) y Cevy Oro fueron los que

tuvieron una mayor cantidad de semillas germinadas y un mayor índice de velocidad de germinación, mientras que en los genotipos Cirno, Movas y Patronato Oro fueron menores.

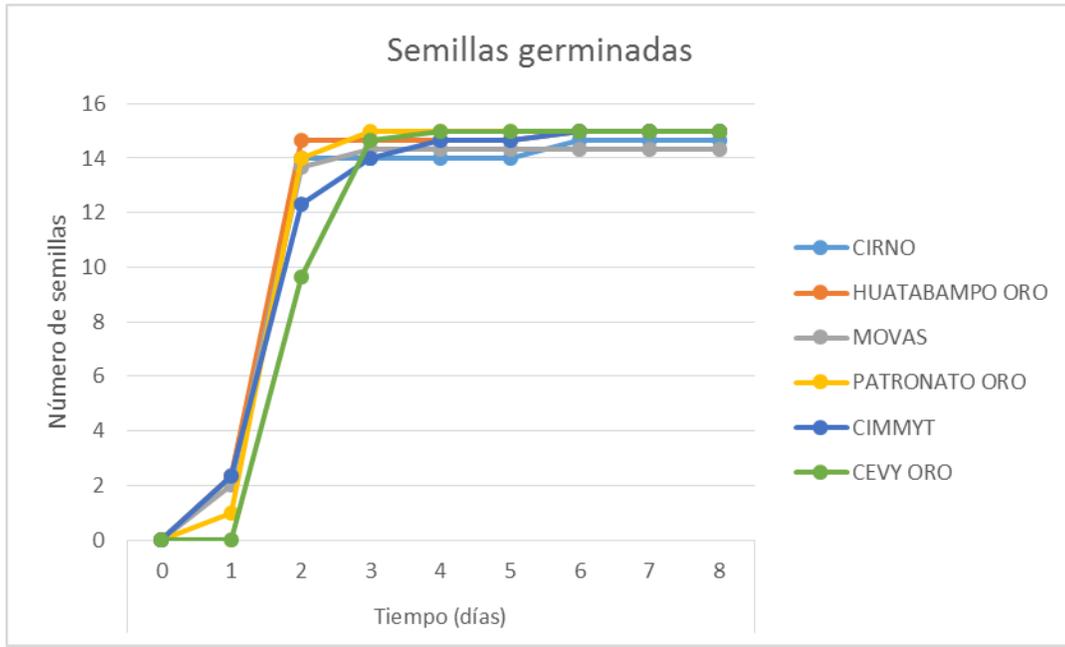


Figura 6. Semillas germinadas de seis genotipos de trigo en el tratamiento control (0 MPa).

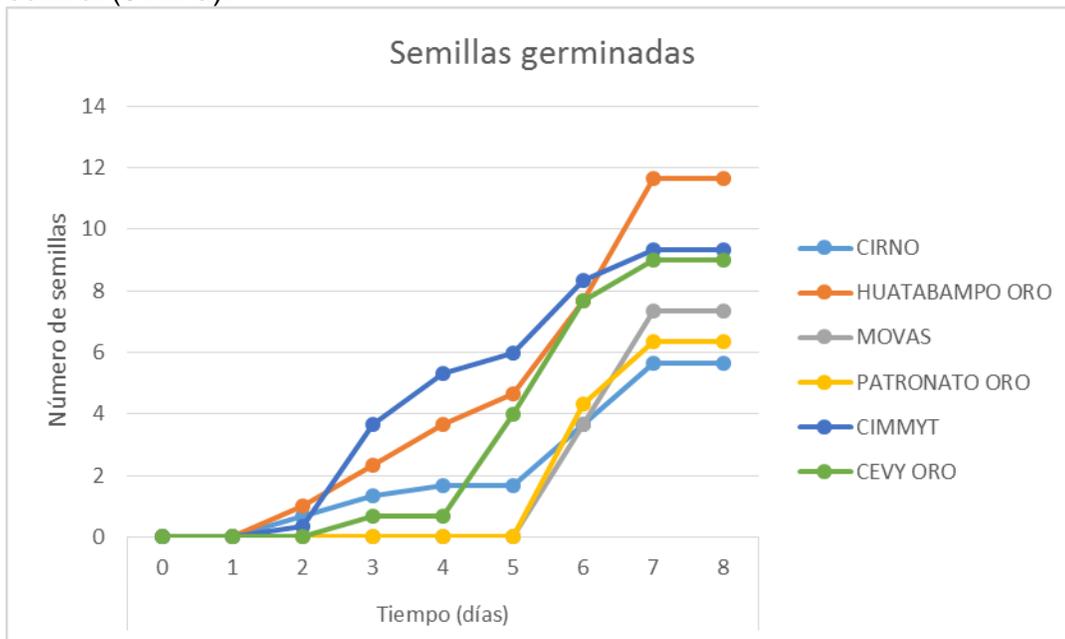


Figura 7. Semillas germinadas de seis genotipos de trigo en el tratamiento de estrés severo (-0.9 MPa).

4.1.1.6. Longitud de raíz y coleoptilo

Como se muestra en el Cuadro 8 la longitud de coleoptilo y raíz se inhibió en gran medida en todos los tratamientos de estrés, siendo la primera variable la más afectada. Esto coincide con los resultados obtenidos por Almaghrabi (2012) quien menciona que el polietilenglicol (PEG) es un reactivo que reduce el potencial hídrico causando una reducción en el crecimiento de la semilla germinada y deteniendo el crecimiento vegetal por lo que su efecto es mayor en el coleoptilo que en las raíces primarias; ello debido según Fraser *et al.* (1990) a un impedimento de la división y elongación celular.

Bajo el tratamiento -0.9 MPa el genotipo Patronato Oro sufrió una mayor reducción en la longitud de raíz de aproximadamente -20.90 cm con respecto al control, mientras que Cevy Oro la redujo menos con un valor de -16.47 cm. En el caso de la longitud de coleoptilo en el mismo tratamiento el genotipo Cevy Oro fue el más afectado en aproximadamente -13.87 cm mientras que el menos afectado fue Cirno con un valor de -11.02 cm.

Cuadro 8. Reducción en la longitud de raíz y coleoptilo con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a bajos potenciales hídricos.

| Reducción en la longitud de raíz y coleoptilo (cm) a bajos potenciales hídricos | | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|
| Genotipos | -0.3 MPa | | -0.6 MPa | | -0.9 MPa | |
| | Raíz | Coleoptilo | Raíz | Coleoptilo | Raíz | Coleoptilo |
| CIRNO | -12.34±2.03 bc | -7.61±2.61 a | -16.94±1.92 cd | -10.88±1.34 a | -18.40±1.85 a | -11.02±1.33 a |
| HUATABAMPO ORO | -12.66±2.86 c | -7.80±2.33 a | -16.26±2.85 bc | -11.81±1.65 ab | -18.40±2.63a | -12.04±1.66 a |
| MOVAS | -8.82±3.64 a | -6.48±1.80 a | -16.82±2.33 bcd | -12.03±1.37 abc | -18.56±2.55 a | -12.25±1.32 ab |
| PATRONATO ORO | -13.22±2.92 c | -6.70±2.24 a | -19.16±1.87 d | -11.08±1.48 a | -20.90±1.65 a | -11.31±1.40 a |
| CIMMYT (D11B_PCW 10227) | -8.76±3.51a | -6.50±2.45 a | -13.56±3.37 a | -13.20±1.84 bc | -16.68±2.71 a | -13.62±1.48 bc |
| CEVY ORO | -9.32±2.45 ab | -7.66±2.01 a | -14.32±1.90 ab | -13.50±0.96 c | -16.47±1.48 a | -13.87±1.01 c |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$.

4.1.1.7. Número de raíces

El número de raíces se redujo considerablemente bajo presiones osmóticas más negativas, lo cual puede deberse a una menor absorción de agua del medio. De acuerdo al Cuadro 9 el genotipo Cirno bajo una presión osmótica de -0.9 MPa redujo en mayor proporción el número de raíces con un valor de -4.93 raíces, mientras que el genotipo Patronato Oro las redujo menos, con un valor de -4.4.

Cuadro 9. Reducción en el número de raíces con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes presiones osmóticas.

| Reducción en número de raíces a bajos potenciales hídricos | | | |
|------------------------------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | -0.3 MPa | -0.6 MPa | -0.9 MPa |
| CIRNO | -1.13 ± 0.91 a | -4.33 ± 0.97 a | -4.93 ± 0.25 b |
| HUATABAMPO ORO | -0.60 ± 1.12 a | -3.80 ± 0.77 a | -4.86 ± 0.35 b |
| MOVAS | -0.53 ± 0.51 a | -4.00 ± 0.84 a | -4.80 ± 0.56 ab |
| PATRONATO ORO | -0.33 ± 0.72 a | -4.13 ± 0.83 a | -4.4 ± 0.50 a |
| CIMMYT (D11B_PCW 10227) | -0.80 ± 1.46 a | -3.86 ± 1.16 a | -4.66 ± 0.82 ab |
| CEVY ORO | -0.86 ± 1.30 a | -3.93 ± 1.03 a | -4.80 ± 0.56 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$.

4.1.2. Respuestas al estrés durante la etapa reproductiva

4.1.2.1. Altura de planta

La altura de la planta es un indicador de crecimiento confiable que refleja la resistencia a la sequía (Yan y Shi, 2013). En éste trabajo la mayoría de los genotipos mostraron una reducción en la altura de planta bajo los dos tratamientos de estrés hídrico (Cuadro 10). En el tratamiento con 25 % CC el genotipo Cevy Oro fue el que redujo en mayor proporción su altura, en un valor de -9.41 cm, mientras que el genotipo de CIMMYT (D11B_PCDW 10227) fue el único que no se vio afectado por los tratamientos de estrés. Lo anterior coincide con los resultados obtenidos por Khakwani *et al.* (2011) quienes observaron un decremento significativo en la altura de planta con el tratamiento 25 % CC.

Cuadro 10. Reducción en la altura de planta con respecto al tratamiento control de seis genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico.

| Reducción de altura de planta (cm) | | |
|------------------------------------|----------------|------------------|
| Genotipo | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -1.00 ± 4.13 a | -3.58 ± 4.18 ab |
| HUATABAMPO ORO | -1.66 ± 7.17 a | -7.16 ± 5.96 bc |
| MOVAS | -0.41 ± 4.79 a | -4.00 ± 5.02 abc |
| PATRONATO ORO | -1.41 ± 4.29 a | -3.12 ± 3.58 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 2.16 ± 5.21 a | 0.58 ± 4.67 a |
| CEVY ORO | -1.41 ± 4.05 a | -9.41 ± 4.75 c |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$.

En la Figura 8 se muestra el comportamiento de altura de planta para los genotipos sometidos a los diferentes tratamientos. Se observa la existencia de interacción entre los genotipos y los niveles de sequía para esta variable.

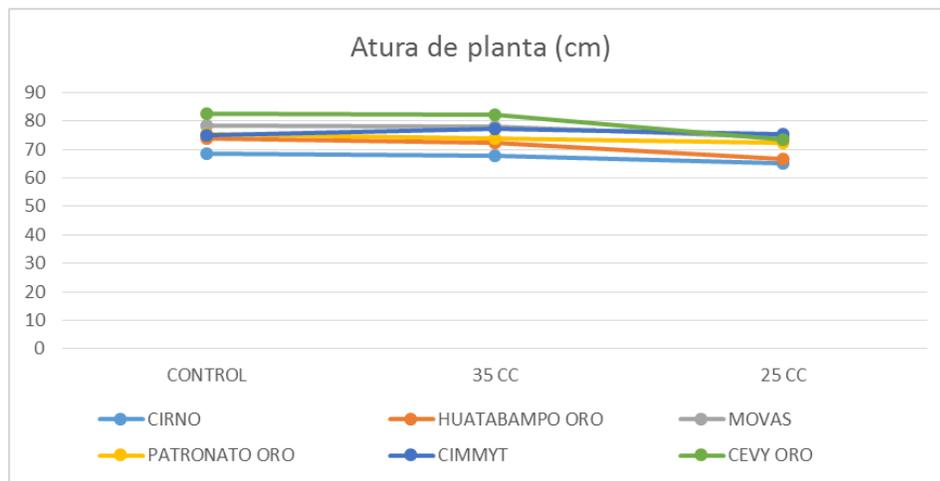


Figura 8. Comportamiento de altura de planta en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2. Efecto del estrés hídrico sobre las espigas

El estrés hídrico puede reducir todos los componentes de la producción, particularmente el número de espigas fértiles por unidad y el número de granos por espiga (Giunta *et al.*, 1993; Simane *et al.*, 1993; Abayomi and Wright, 1999). Chmielewski y Kohn (2000) demostraron que el peso del grano está influenciado negativamente por altas temperaturas y estrés hídrico en la etapa de maduración.

4.1.2.2.1. Número de espigas

El número de espigas por planta se redujo considerablemente en ambos tratamientos con respecto al tratamiento control. En el tratamiento 25 % CC el genotipo Cirno tuvo una mayor reducción en número de espigas con un valor de -1.00, mientras que Movas mostró un efecto menor, de -0.66 (Cuadro 11), sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los genotipos.

Cuadro 11. Reducción en número de espigas con respecto al tratamiento control por genotipo de trigo a diferentes tratamientos de estrés hídrico.

| Genotipo | Reducción en número de espigas | |
|---------------------------------|--------------------------------|----------------|
| | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -0.41 ± 1.16 a | -1.00 ± 1.04 a |
| HUATABAMPO ORO | -0.25 ± 0.96 a | -0.83 ± 0.38 a |
| MOVAS | -0.16 ± 0.83 a | -0.66 ± 0.98 a |
| PATRONATO ORO | -0.58 ± 1.24 a | -0.83 ± 1.40 a |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | -0.75 ± 1.13 a | -0.75 ± 1.13 a |
| CEVY ORO | -0.25 ± 1.05 a | -0.75 ± 1.13 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$.

En la Figura 9 se muestra el comportamiento del número de espigas en los genotipos sometidos a los diferentes tratamientos, en la misma gráfica se puede observar la existencia de interacción entre los genotipos y los niveles de sequía.

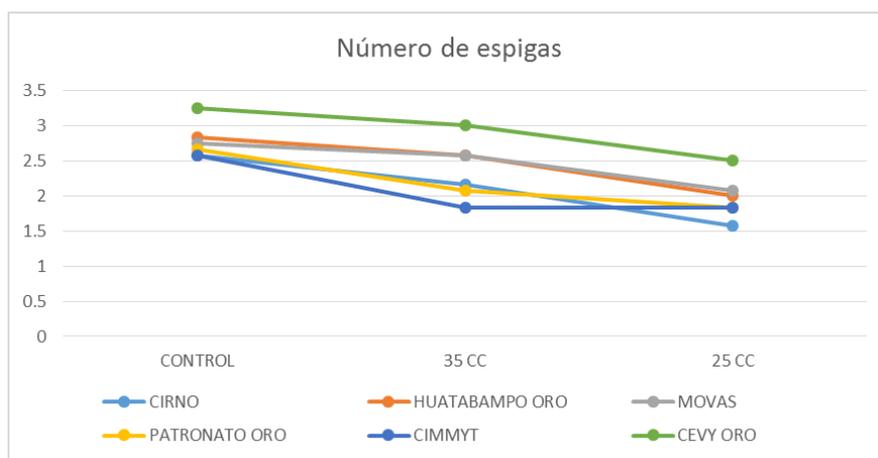


Figura 9. Comportamiento de número de espigas en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2.2. Peso de espigas

El peso de espigas por planta se redujo de igual manera en todos los tratamientos de sequía con respecto al control (Cuadro 12). En el tratamiento 25 % CC el genotipo Cevy Oro fue el que más redujo su peso en -2.76 g, mientras que los genotipos Cirno y CIMMYT (D11B_PCDW 10227) fueron los que menos redujeron su peso en -0.62 y -0.67 g, respectivamente.

Cuadro 12. Reducción en peso de espiga principal con respecto al tratamiento control por genotipo de trigo a diferentes tratamientos de estrés hídrico.

| Genotipo | Reducción en peso de espiga principal (g) | |
|--------------------------|-------------------------------------------|-----------------|
| | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -0.10 ± 1.44 a | -0.62 ± 1.21 a |
| HUATABAMPO ORO | -1.21 ± 1.04 a | -2.36 ± 0.97 ab |
| MOVAS | -1.05 ± 1.63 a | -1.66 ± 0.96 ab |
| PATRONATO ORO | -1.33 ± 1.45 a | -1.51 ± 1.51 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.30 ± 2.13 a | -0.67 ± 1.17 a |
| CEVY ORO | -1.34 ± 1.63 a | -2.76 ± 1.40 b |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

En la Figura 10 se muestra el comportamiento de peso de espiga en los genotipos sometidos a los diferentes tratamientos, en la gráfica se puede observar también la existencia de interacción entre los genotipos y los niveles de sequía.

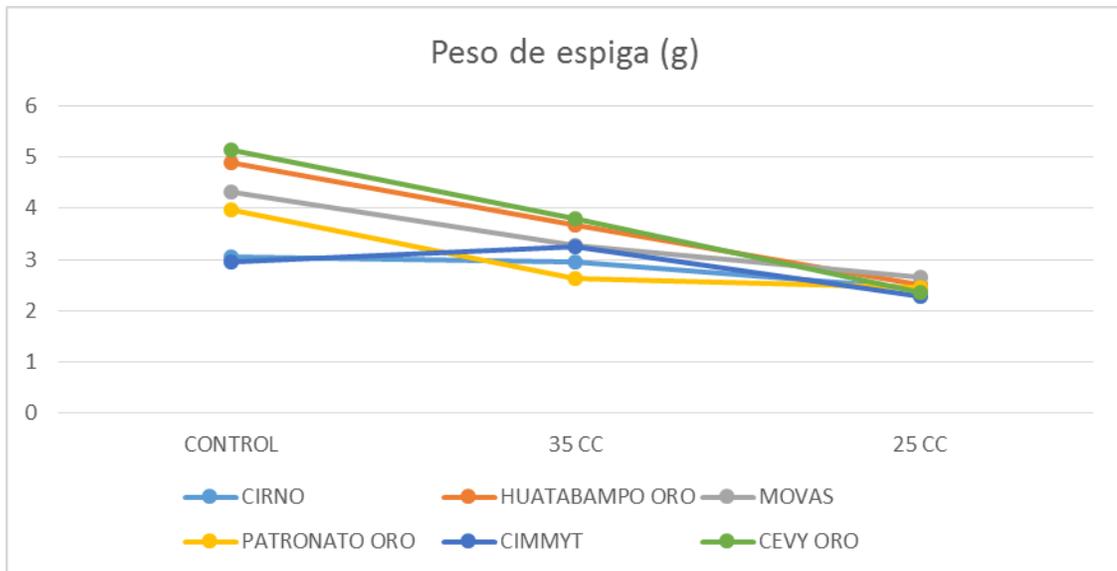


Figura 10. Comportamiento de peso de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2.3. Longitud de espiga

La longitud de espiga principal por planta se redujo en algunos genotipos con respecto al tratamiento control. En el tratamiento 25 % CC el genotipo Huatabampo Oro tuvo una mayor reducción en longitud de espiga con un valor de -0.34 cm, mientras que Cevy Oro fue el menos afectado con un aumento de 0.28 cm (Cuadro 13).

Cuadro 13. Reducción en la longitud de espiga con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico.

| Genotipo | Reducción de longitud de espiga (cm) | |
|--------------------------|--------------------------------------|-----------------|
| | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | 0.42 ± 0.64 a | 0.28 ± 0.80 ab |
| HUATABAMPO ORO | -0.36 ± 0.43 a | -0.34 ± 0.26 b |
| MOVAS | 0.02 ± 0.70 a | 0.08 ± 0.23 ab |
| PATRONATO ORO | 0.1 ± 0.46 a | -0.16 ± 0.57 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.16 ± 0.35 a | -0.2 ± 0.44 ab |
| CEVY ORO | 0.16 ± 0.59 a | 1.04 ± 1.18 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

En la Figura 11 se muestra el comportamiento de peso de espiga en los genotipos sometidos a los diferentes tratamientos, en la gráfica se puede observar también la existencia de interacción entre los genotipos y los niveles de sequía.

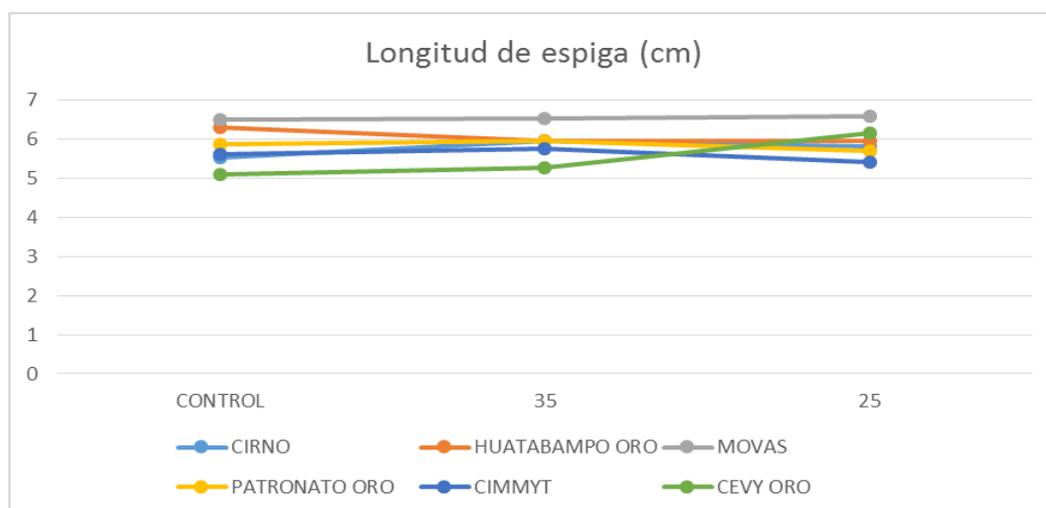


Figura 11. Comportamiento de longitud de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2.4. Ancho de espiga

El ancho de espiga principal por planta se redujo de igual manera en todos los tratamientos de sequía con respecto al control (Cuadro 14). En el tratamiento 25 % CC el genotipo Cevy Oro fue el más afectado con -0.28 cm, mientras que el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) redujo en menor medida con -0.02 cm.

Cuadro 14. Reducción en el ancho de espiga con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés hídrico.

| Genotipo | Reducción de ancho espiga (cm) | |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------|
| | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -0.04 ± 0.08 ab | -0.09 ± 0.12 ab |
| HUATABAMPO ORO | 0.06 ± 0.08 a | -0.1 ± 0.1 ab |
| MOVAS | -0.08 ± 0.16 ab | -0.1 ± 0.18 ab |
| PATRONATO ORO | -0.08 ± 0.19 ab | -0.1 ± 0.17 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.06 ± 0.15 a | -0.02 ± 0.08 a |
| CEVY ORO | -0.18 ± 0.21 b | -0.28 ± 0.13 b |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

En la Figura 12 se muestra el comportamiento del número de espigas en los genotipos sometidos a los diferentes tratamientos, en la misma gráfica se puede observar la existencia de interacción entre los genotipos y los niveles de sequía.

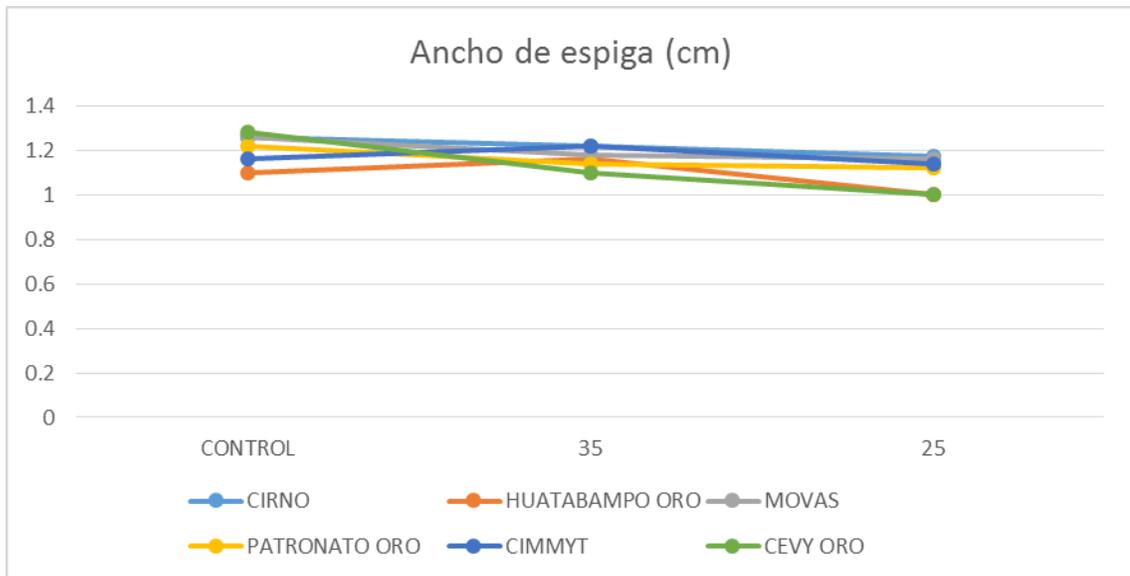


Figura 12. Comportamiento del ancho de espiga en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2.5. Número de granos

Se observó una mayor reducción en número de granos bajo el tratamiento 25 % CC, donde el genotipo Huatabampo Oro lo redujo en una mayor proporción con un valor de -45.33, mientras que el genotipo Cevy Oro lo hizo de menor manera con -9.33 (Cuadro 15).

Cuadro 15. Reducción en el número de granos por planta con respecto al tratamiento control de genotipos de trigo en diferentes tratamientos de estrés.

| Reducción de número de granos por planta | | |
|------------------------------------------|------------------|------------------|
| Genotipo | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | 0.66 ± 17.61 a | -19.00 ± 3.60 a |
| HUATABAMPO ORO | -22.33 ± 37.22 a | -45.33 ± 32.39 a |
| MOVAS | 7.00 ± 30.51 a | -20.66 ± 5.03 a |
| PATRONATO ORO | -12.33 ± 44.63 a | -18.00 ± 34.69 a |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.66 ± 19.50 a | -11.33 ± 20.20 a |
| CEVY ORO | 8.33 ± 32.65 a | -9.33 ± 10.69 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

En número de granos se encontró interacción entre los genotipos y los diferentes tratamientos, tal como se aprecia en la Figura 13.

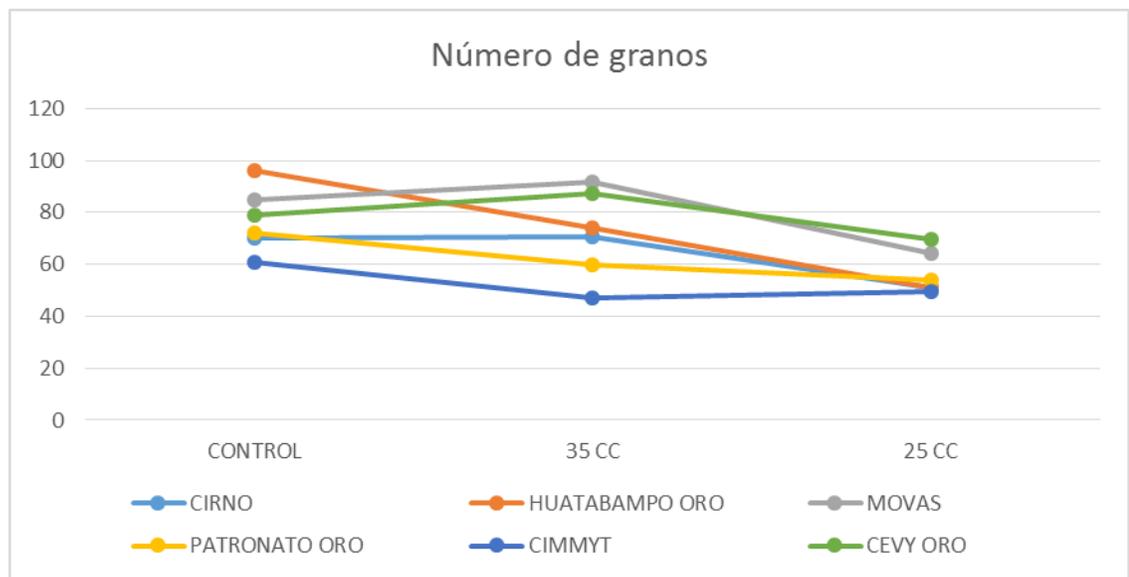


Figura 13. Comportamiento de número de granos en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.2.6. Peso de granos

En el tratamiento de 25 % CC el genotipo Cevy Oro fue el que redujo en mayor medida el peso de granos con un valor de -1.57 g, a pesar de que este genotipo tuvo una menor pérdida de número de granos desarrolló granos de menor tamaño, mientras que los genotipos Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227) lo redujeron en menor medida con valores de -0.80 y -0.81 g, respectivamente (Cuadro 16).

Cuadro 16. Reducción de peso de granos con respecto al control por planta de trigo a diferentes tratamientos de estrés.

| Reducción en peso de granos por planta (g) | | |
|--------------------------------------------|----------------|----------------|
| Genotipo | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -0.82 ± 0.94 a | -1.18 ± 0.83 a |
| HUATABAMPO ORO | -0.87 ± 1.14 a | -1.46 ± 1.31 a |
| MOVAS | -0.27 ± 0.67 a | -0.93 ± 0.32 a |
| PATRONATO ORO | -0.52 ± 0.61 a | -0.80 ± 1.06 a |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | -0.86 ± 0.92 a | -0.81 ± 0.64 a |
| CEVY ORO | -0.23 ± 0.67 a | -1.57 ± 1.16 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

Para el peso de granos se registró un comportamiento similar a otras variables ya que también mostró interacción entre los genotipos y las condiciones de sequía, en la Figura 14 se muestra el comportamiento en los diferentes tratamientos en la cual se aprecia una reducción en la producción de grano por planta.

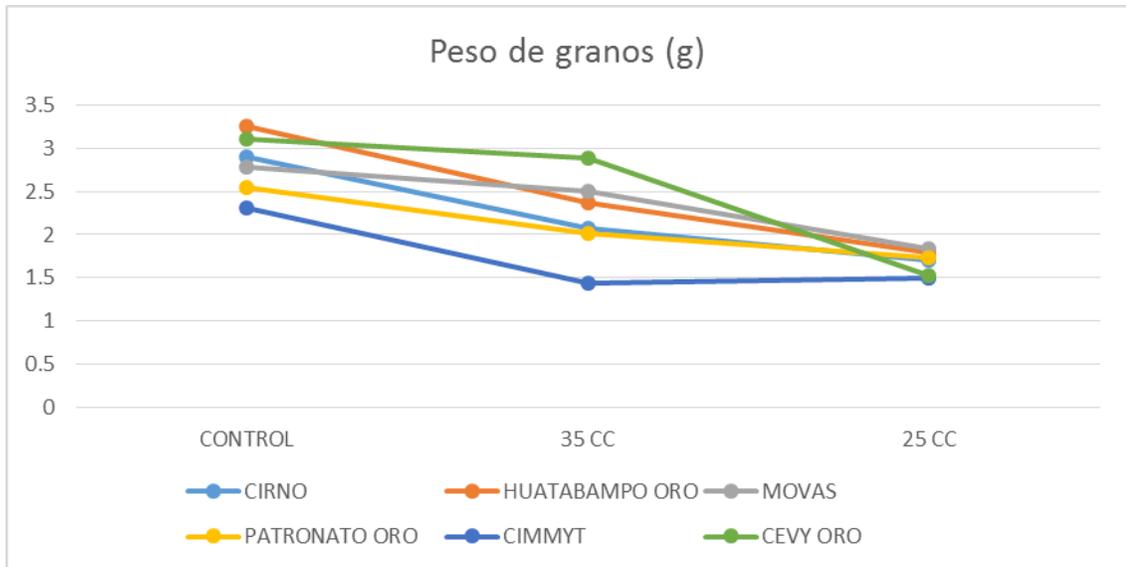


Figura 14. Comportamiento de peso de granos en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.3. Respuestas Bioquímicas

4.1.2.3.1. Contenido de clorofila

El estrés hídrico dificulta la fotosíntesis debido a la reducción de la síntesis de pigmentos de clorofila que resulta en la disminución de reacciones de recolección de luz. Otras causas en la reducción de la tasa fotosintética son la disminución de la expansión de las hojas, una alteración en la maquinaria fotosintética, una reducida afluencia de CO₂ debido a la baja conductancia estomática y una prematura senescencia foliar (Muhammad *et al.*, 2012). En el caso del trigo el contenido de clorofila total resultó más sensible al tratamiento 25 % CC, y la clorofila A fue la más afectada. El genotipo Cirno fue el más afectado en el contenido de clorofila total y clorofilas A y B en el tratamiento 25 % CC, mientras que el genotipo de CIMMYT (D11B_PCW 10227) fue el menos

afectado, donde en algunos tratamiento incluso no sufrió pérdidas en clorofila total y clorofila B (Cuadro 17).

Cuadro 17. Reducción de clorofila con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés.

| Genotipo | Reducción de clorofila ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) | | | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | Clorofila total | | Clorofila A | | Clorofila B | |
| | 35 % CC | 25 % CC | 35 % CC | 25 % CC | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -3.56 \pm 3.12 a | -9.09 \pm 2.35 c | -2.71 \pm 1.98 a | -6.55 \pm 1.51 a | -0.85 \pm 1.14 a | -2.53 \pm 0.83 a |
| HUATABAMPO ORO | -1.59 \pm 1.90 a | -4.65 \pm 3.62 abc | -1.24 \pm 1.67 a | -3.39 \pm 2.81 ab | -0.33 \pm 0.23 a | -1.25 \pm 0.80 a |
| MOVAS | -4.54 \pm 4.48 a | -6.43 \pm 1.32 bc | -3.09 \pm 3.26 a | -4.50 \pm 1.00 ab | -1.44 \pm 1.21 a | -1.92 \pm 0.32 a |
| PATRONATO ORO | -0.80 \pm 0.59 a | -0.94 \pm 0.89 ab | -0.14 \pm 1.06 a | 0.009 \pm 1.39 b | -0.65 \pm 0.46 a | -0.95 \pm 0.49 a |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | -1.12 \pm 1.65 a | 0.58 \pm 4.07 a | -0.043 \pm 1.33 a | -0.45 \pm 2.97 b | -1.07 \pm 0.31 a | 1.04 \pm 1.10 b |
| CEVY ORO | -3.90 \pm 2.48 a | -5.27 \pm 1.97 abc | -2.74 \pm 1.96 a | -3.81 \pm 1.25 ab | -1.15 \pm 0.51 a | -1.46 \pm 0.71 a |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Duncan a una $p \leq 0.05$.

Para el contenido de clorofila total se encontró interacción entre genotipos y los diferentes tratamientos tal como se aprecia en la Figura 15.

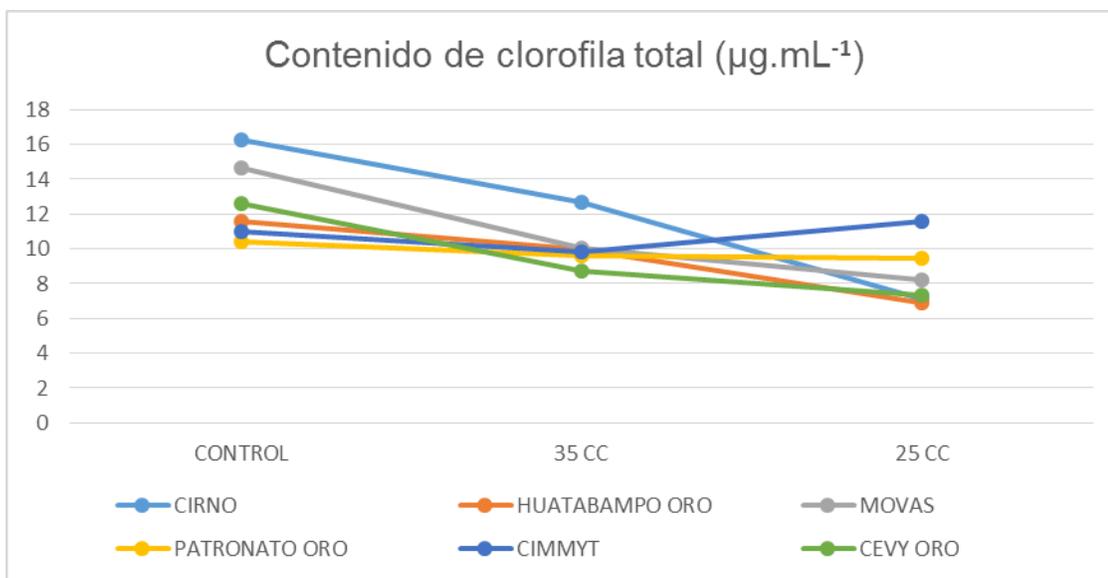


Figura 15. Comportamiento de contenido de clorofila total en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.3.2. Azúcares

El ajuste osmótico es un mecanismo natural para mantener las relaciones hídricas bajo estrés osmótico, esta involucra la acumulación de un amplio rango de moléculas o iones osmóticamente activas incluyendo azúcares solubles, azúcares alcoholes, prolina, glicina betaína, ácidos orgánicos, calcio, potasio, iones cloruro, entre otros. Según los estudios de Nazarli y Faraji (2011) el contenido de prolina y azúcares solubles se vio altamente afectado por el régimen de riego pero no afectó las etapas de crecimiento y la interacción entre etapas y régimen de riego; así mismo, se encontró que el contenido menor de azúcares solubles está relacionado con los tratamientos donde se mantiene el cultivo a capacidad de campo, mientras que el contenido mayor lo encontró en el régimen de riego de 25 % CC. Estos datos concuerdan con lo obtenido en el presente trabajo ya que el contenido de azúcares fue aumentando conforme se

aplicaba un mayor grado de estrés (Cuadro 18) donde el genotipo Huatabampo Oro fue el que incremento más su contenido en aproximadamente 38.20 mg.g⁻¹ con respecto al tratamiento control, mientras que CIMMYT (D11B_PCDW 10227) en los dos tratamientos de estrés mantuvo estable su contenido de azúcar, esto debido a un contenido inicial mayor de azúcares bajo condiciones control con respecto al resto de los genotipos.

Cuadro 18. Incremento de azúcares con respecto al tratamiento control en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés.

| Incremento de azúcares (mg.g ⁻¹) | | |
|----------------------------------------------|------------------|------------------|
| Genotipo | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | 12.92 ± 11.91 ab | 12.91 ± 10.32 ab |
| HUATABAMPO ORO | 33.71 ± 19.06 a | 38.20 ± 3.17 a |
| MOVAS | 0.56 ± 3.97 b | 8.43 ± 15.09 ab |
| PATRONATO ORO | 2.81 ± 2.38 b | 21.91 ± 10.32 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | -2.81 ± 7.15 b | -1.69 ± 7.15 b |
| CEVY ORO | 2.25 ± 9.53 b | 11.80 ± 19.86 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una P ≤ 0.05.

Para el contenido de azúcares también se encontró interacción entre los genotipos y los diferentes tratamientos tal como se aprecia en la Figura 16.

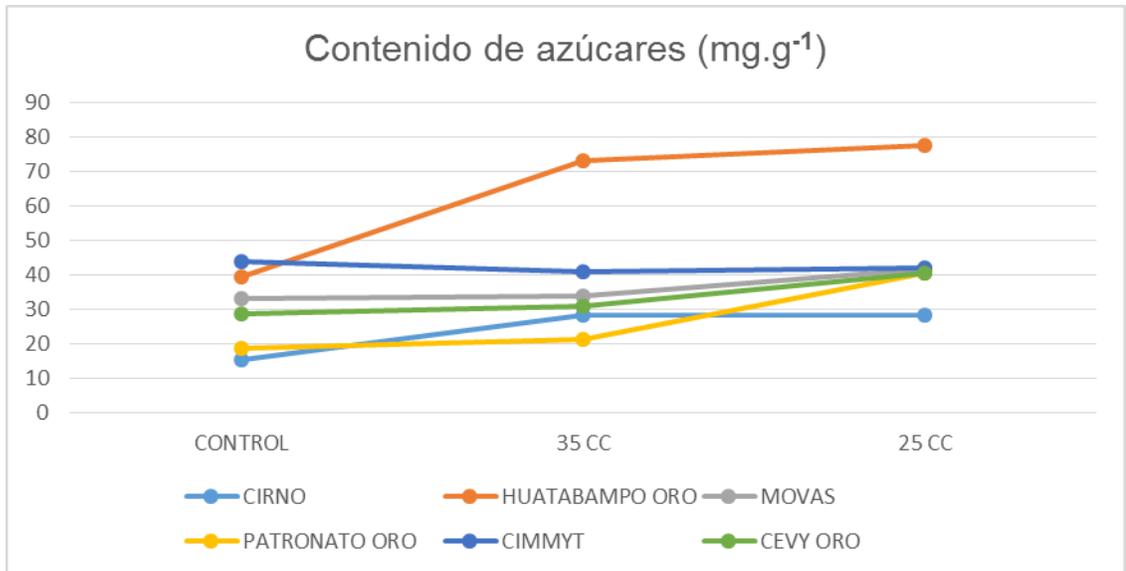


Figura 16. Comportamiento de contenido de azúcares en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.2.3.3. Contenido Relativo de Agua (CRA)

Varios estudios ponen en evidencia la asociación entre el ajuste osmótico y la estabilidad de rendimientos o biomasa bajo condiciones limitadas de agua. El ajuste osmótico ayuda a mantener un alto contenido relativo de agua a un bajo potencial hídrico de la hoja, es evidente que el ajuste osmótico ayuda a mantener el crecimiento mientras la planta presenta transpiración, reduciendo el potencial hídrico de hoja (Blum, 2005). En este contexto como se observa en el Cuadro 19 el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) cuando se sometió a condiciones de estrés no mostró pérdidas en el contenido relativo de agua bajo ninguno de los tratamientos, indicando valores positivos.

Cuadro 19. Reducción en el contenido relativo de agua en genotipos de trigo a diferentes tratamientos de estrés.

| Reducción de Contenido Relativo de Agua (%) | | |
|---------------------------------------------|-----------------------|------------------------|
| Genotipo | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | -2.68 ± 0.64 a | -6.24 ± 4.66 ab |
| HUATABAMPO ORO | -2.40 ± 2.24 a | -15.87 ± 5.53 a |
| MOVAS | -2.02 ± 3.44 a | -9.48 ± 5.23 ab |
| PATRONATO ORO | -0.44 ± 2.45 a | -7.21 ± 5.86 ab |
| CIMMYT (D11B_PCDW 10227) | 0.16 ± 5.47 a | 0.13 ± 1.57 b |
| CEVY ORO | -3.95 ± 2.92 a | -10.61 ± 11.45 ab |

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

Para el contenido relativo de agua también se encontró interacción entre los genotipos y los diferentes tratamientos tal como se aprecia en la Figura 17.

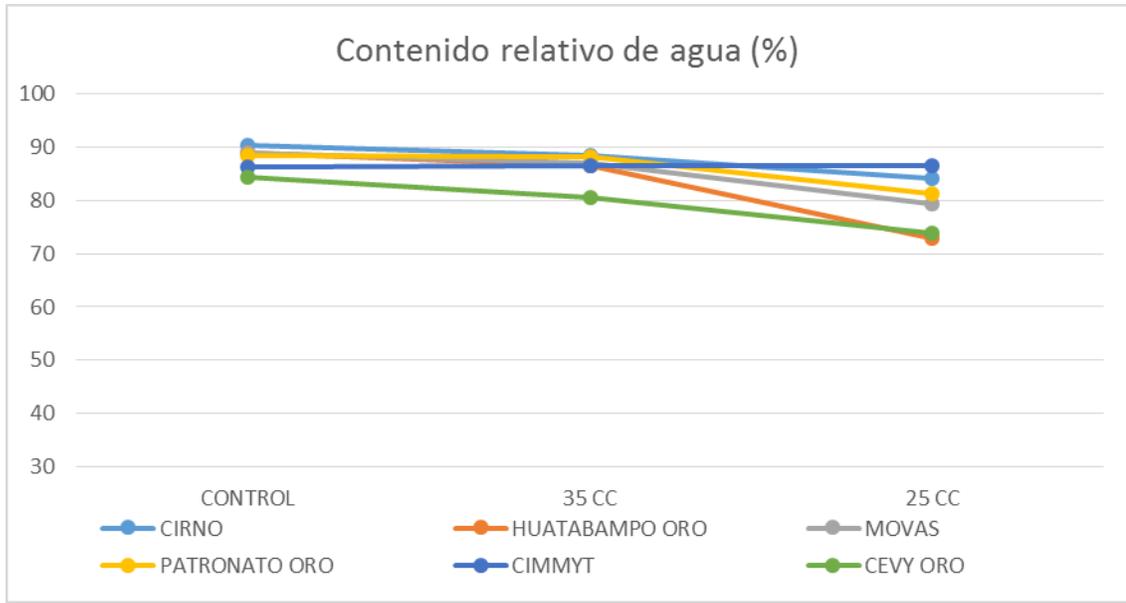


Figura 17. Comportamiento de contenido relativo de agua en genotipos de trigo duro a diferentes tratamientos.

4.1.3. Comparación de variables entre los genotipos

Se eligió 7 variables de importancia para hacer una comparación entre los genotipos bajo los diferentes tratamientos. Estas variables fueron: peso de espiga, número de espigas, número de granos, peso de granos, CRA, clorofila total y azúcares (Cuadro 20). Se detectó una reducción en los valores de las variables para cada genotipo a medida que se incrementaban las condiciones de estrés, se observó una mayor reducción en el número de granos, peso de granos y clorofila total, mientras en azúcares se encontró un incremento de su contenido por arriba del 40 % en la mayoría de los genotipos con excepción de Movas que solo aumentó un 25 % y CIMMYT (D11B_PCW 10227) mantuvo estable su contenido de azúcares.

Cuadro 20. Valores de variables morfológicas y bioquímicas en genotipos de trigo bajo los diferentes tratamientos.

| GENOTIPO | PESO ESPIGA (g) | | | NÚMERO DE ESPIGAS | | | NÚMERO DE GRANOS | | | PESO DE GRANOS (g) | | |
|-------------------------|-----------------|---------|---------|-------------------|---------|---------|------------------|----------|---------|--------------------|---------|---------|
| | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | 3.04 b | 2.94 ab | 2.42 ab | 2.58 a | 2.16 bc | 1.58 b | 70.00 a | 70.66 ab | 51.00 a | 2.90 a | 2.08 b | 1.71 |
| HUATABAMPO ORO | 4.88 a | 3.66 a | 2.51 ab | 2.83 a | 2.58 ab | 2.00 ab | 96.33 a | 74.00 ab | 51.00 a | 3.25 a | 2.37 b | 1.79 |
| MOVAS | 4.33 ab | 3.27 ab | 2.66 b | 2.75 a | 2.58 ab | 2.08 ab | 84.66 a | 91.66 a | 64.00 a | 2.78 a | 2.50 ab | 1.84 |
| PATRONATO ORO | 3.97 ab | 2.64 b | 2.45 ab | 2.66 a | 2.08 bc | 1.83 b | 72.00 a | 59.66 ab | 54.00 a | 2.54 a | 2.01 b | 1.73 |
| CIMMYT (D11B_PCW 10227) | 2.95 b | 3.25 ab | 2.27 b | 2.58 a | 1.83 c | 1.83 b | 60.66 a | 47.00 b | 49.33 a | 2.31 a | 1.44 c | 1.50 |
| CEVY ORO | 5.13 a | 3.79 a | 2.36 ab | 3.25 a | 3.00 a | 2.5 a | 79.00 a | 87.33 a | 69.66 a | 3.11 a | 2.88 a | 1.53 |

| GENOTIPO | CRA (%) | | | CLOROFILA TOTAL($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | | | AZÚCARES ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | | |
|-------------------------|----------|---------|----------|-----------------------------------------------------|---------|---------|--------------------------------------------|----------|---------|
| | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC | CONTROL | 35 % CC | 25 % CC |
| CIRNO | 90.38 a | 88.28 a | 84.14 ab | 16.24 a | 12.68 a | 7.15 a | 15.16 c | 28.08 bc | 28.08 b |
| HUATABAMPO ORO | 88.82 a | 86.41 a | 72.94 b | 11.58 ab | 9.99 a | 6.93 a | 39.32 a | 73.03 a | 77.52 a |
| MOVAS | 88.91 a | 86.88 a | 79.43 ab | 14.62 ab | 10.08 a | 8.19 a | 33.14 ab | 33.70 bc | 41.57 b |
| PATRONATO ORO | 88.48 ab | 88.04 a | 81.27 ab | 10.43 b | 9.63 a | 9.49 a | 18.53 bc | 21.34 c | 40.44 b |
| CIMMYT (D11B_PCW 10227) | 86.29 ab | 86.45 a | 86.43 a | 10.97 b | 9.84 a | 11.55 a | 43.82 a | 41.01 b | 42.13 b |
| CEVY ORO | 84.42 b | 80.46 b | 73.81 ab | 12.64 ab | 8.73 a | 7.37 a | 28.65 abc | 30.89 bc | 40.44 b |

4.1.4. Cierre estomático

La primera respuesta de todas las plantas a una escasez aguda es el cierre estomatal para evitar la pérdida de agua por la transpiración, lo que puede resultar en respuesta a la disminución de la turgencia de la hoja y el potencial de agua (Muhammad *et al.*, 2012).

En la Figura 18 se observan los distintos estados de apertura estomatal observados en las hojas de los genotipos de trigo evaluados bajo los diferentes tratamientos. Todos los genotipos de trigo estudiados presentaron el mismo comportamiento estomatal, observándose que a medida que se incrementan las condiciones de estrés hubo un mayor cierre de estomas.

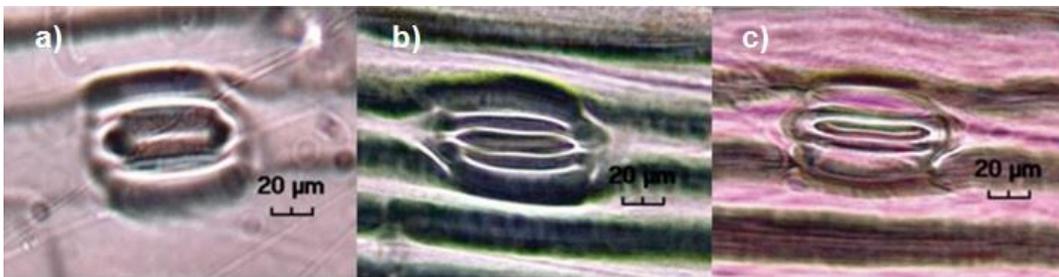


Figura 18. Cierre estomático de genotipos de trigo. A) Estoma en tratamiento control; b) estoma en tratamiento 35 % CC; c) estoma en tratamiento 25 % CC.

4.2 Análisis de correlación de variables

4.2.1. Correlación de variables en etapa de germinación bajo condiciones control

En la etapa de germinación bajo condiciones control se encontraron correlaciones positivas y negativas entre las variables evaluadas (Cuadro 21), donde las variables imbibición de agua y longitud de raíz se correlacionaron positivamente con un valor de 0.6288, esto puede significar que entre mayor sea su longitud de raíz las plantas embeben una mayor cantidad de agua. Dentro de las correlaciones negativas se tuvo a la longitud del coleoptilo con la imbibición de agua con un valor de -0.8737. Además, la longitud de raíz con la longitud de coleoptilo y el número de raíces con el uso eficiente del agua mostraron correlaciones de -0.8281 y -0.8110, respectivamente. En cuanto a la correlación de longitud de raíz y coleoptilo se observó en los genotipos una proporción mayor de longitud de raíz en comparación a la longitud del coleoptilo lo que genera una correlación negativa. También se observó que el uso eficiente del agua no está correlacionada positivamente con el número de raíces por lo que no es necesario un gran número de raíces para hacer un uso más eficiente del agua.

Cuadro 21. Valores de correlación entre las variables evaluadas durante la etapa de germinación bajo condiciones control.

| | IM | UEA | LR | LC | NR |
|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| IM | 1 | | | | |
| UEA | -0.2851 | 1 | | | |
| LR | 0.6288** | 0.4132 | 1 | | |
| LC | -0.8737** | 0.0523 | -0.8281** | 1 | |
| NR | 0.0410 | -0.8110** | -0.6649** | 0.2273 | 1 |

IM= Imbibición, **UEA=** Uso eficiente del agua, **LR=** Longitud de raíz, **LC=** Longitud de coleoptilo, **NR=** Número de raíces.

**= Altamente significativo

4.2.2. Correlación de variables en etapa de germinación bajo condiciones de estrés severo

Bajo condiciones de estrés severo también se encontraron correlaciones positivas y negativas entre las variables evaluadas (Cuadro 22). Las variables uso eficiente del agua y longitud del coleoptilo se correlacionaron positivamente con un valor de 0.5938, mientras que las variables imbibición de agua con uso eficiente del agua e imbibición de agua con longitud de coleoptilo se correlacionaron negativamente con valores de -0.6628 y -0.6292, respectivamente. La correlación de imbibición y uso eficiente de agua se presenta de forma negativa ya que se observó que algunos genotipos embebían una mayor cantidad de agua pero con bajos rendimientos en su uso eficiente del agua, es decir consumían gran cantidad de agua y producían poca materia seca.

Cuadro 22. Valores de correlación entre las variables evaluadas en etapa de germinación bajo condiciones de estrés severo.

| | IM | UEA | LR | LC | NR |
|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| IM | 1 | | | | |
| UEA | -0.6628** | 1 | | | |
| LR | -0.4075 | 0.1092 | 1 | | |
| LC | -0.6292** | 0.5938** | 0.5348** | 1 | |
| NR | 0.0752 | 0.4567 | 0.3029 | 0.1321 | 1 |

IM= Imbibición, **UEA**= Uso eficiente del agua, **LR**= Longitud de raíz, **LC**= Longitud de coleoptilo, **NR**= Número de raíces.

**= Altamente significativo

4.2.3. Correlación de variables evaluadas durante la etapa reproductiva bajo condiciones control

En la etapa reproductiva bajo condiciones controles se encontraron correlaciones positivas y negativas entre las variables evaluadas (Cuadro 23), las correlaciones positivas mayores fueron entre las variables relacionadas con el contenido de la clorofila, la clorofila total se correlacionó con la clorofila A a un valor de 0.9984 y con la clorofila B a 0.9894, así mismo entre tipos de clorofilas a un valor de 0.9798. Otras variables que presentaron valores altos de correlación fueron la altura de planta con el número de espigas con un valor de 0.7326 y altura de planta con el peso de la espiga a 0.6898, lo cual nos indica que el número de espigas y el peso de la espiga están influenciado por la altura de planta.

Entre variables relacionadas con la espiga también se encontraron correlaciones positivas donde el número de espigas con el peso de espigas se correlacionan a un valor de 0.8069, el número de granos con el peso de espiga a correlacionan con un valor de 0.8043, el número de espigas con el peso de grano a 0.6721, el peso de grano con el peso de espiga a 0.7250 y finalmente el peso de grano con el número de granos a 0.8121. El único valor alto con correlación negativa fue la altura de la planta con el contenido relativo de agua a un valor de -0.7936, esto puede indicar que a menor altura la planta muestra un mayor contenido relativo de agua.

4.2.4. Correlación entre variables evaluadas durante la etapa reproductiva

bajo condiciones de estrés severo

Bajo condiciones de estrés se encontraron correlaciones positivas entre las variables relacionadas con el contenido de clorofila, entre el contenido de clorofila total con la altura de planta y entre variables relacionadas con la espiga como peso de grano con peso de la espiga y peso de espiga con longitud de la espiga tal como se observa en el Cuadro 24. Las correlaciones negativas que se presentaron fueron entre el contenido relativo de agua con el número de espigas, entre el ancho de la espiga con el contenido de azúcares y el ancho de la espiga con el número de espigas.

Cuadro 23. Valores de correlación entre las variables evaluadas durante la etapa reproductiva bajo condiciones control.

| | AP | CT | CA | CB | AZ | CRA | NE | PE | LE | ANE | NG | PG |
|-----|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|---------|----------|----|
| AP | 1 | | | | | | | | | | | |
| CT | -0.3127 | 1 | | | | | | | | | | |
| CA | -0.3520 | 0.9984** | 1 | | | | | | | | | |
| CB | -0.2068 | 0.9894** | 0.9798** | 1 | | | | | | | | |
| AZ | 0.2983 | -0.4269 | -0.4429 | -0.3806 | 1 | | | | | | | |
| CRA | -0.7936** | 0.4679 | 0.4998 | 0.3824 | -0.4054 | 1 | | | | | | |
| NE | 0.7326** | 0.0180 | 0.0054 | 0.0480 | 0.0102 | -0.6406** | 1 | | | | | |
| PE | 0.6898** | -0.1884 | -0.1911 | -0.1780 | 0.1520 | -0.3561 | 0.8069** | 1 | | | | |
| LE | -0.1459 | 0.0364 | 0.0443 | 0.0209 | 0.2375 | 0.6026** | -0.3722 | 0.1914 | 1 | | | |
| ANE | 0.3084 | 0.5628** | 0.5326** | 0.6326** | -0.6088** | -0.1351 | 0.3185 | -0.0287 | -0.3868 | 1 | | |
| NG | 0.2107 | 0.0549 | 0.0713 | 0.0138 | 0.1941 | 0.1839 | 0.4229 | 0.8043** | 0.6116** | -0.3162 | 1 | |
| PG | 0.1245 | 0.3090 | 0.3313 | 0.2460 | -0.0777 | 0.0537 | 0.6721** | 0.7250** | 0.1051 | -0.0602 | 0.8121** | 1 |

AP= Altura de planta, **CT=** Clorofila total, **CA=** Clorofila A, **CB=** Clorofila B, **AZ=** Contenido de azúcares, **CRA=** Contenido relativo de agua, **NE=** Número de espigas, **PE=** Peso de espiga, **LE=** Longitud de espiga, **ANE=** Ancho de la espiga, **NG=** Número de granos, **PG=** Peso de granos.
****=** Altamente significativo

Cuadro 24. Valores de correlación entre variables evaluadas en la etapa reproductiva bajo condiciones de estrés severo.

| | AP | CT | CA | CB | AZ | CRA | NE | PE | NG | PG | LE | ANE |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|---------|-----|
| AP | 1 | | | | | | | | | | | |
| CT | 0.6892** | 1 | | | | | | | | | | |
| CA | 0.6128** | 0.9122** | 1 | | | | | | | | | |
| CB | 0.6114** | 0.8575** | 0.5715** | 1 | | | | | | | | |
| AZ | -0.2217 | -0.2356 | -0.2674 | -0.1326 | 1 | | | | | | | |
| CRA | 0.1789 | 0.6887** | 0.6323** | 0.5842** | -0.6440** | 1 | | | | | | |
| NE | 0.4408 | -0.2587 | -0.3204 | -0.1160 | 0.2228 | -0.7374** | 1 | | | | | |
| PE | -0.1416 | -0.4769 | -0.3007 | -0.5742** | 0.2384 | -0.3522 | 0.0678 | 1 | | | | |
| NG | 0.4209 | -0.3424 | -0.3223 | -0.2820 | -0.1996 | -0.5245** | 0.8573** | 0.2726 | 1 | | | |
| PG | -0.4113 | -0.4787 | -0.2493 | -0.6423** | 0.3008 | -0.2395 | -0.2414 | 0.9234** | -0.0655 | 1 | | |
| LE | 0.0636 | -0.5968** | -0.5381** | -0.5179** | -0.0754 | -0.5563** | 0.5408** | 0.8106** | 0.7449** | 0.5561** | 1 | |
| ANE | 0.1141 | 0.4279 | 0.4593 | 0.2802 | -0.6709** | 0.8758** | -0.6997** | 0.1200 | -0.3188 | 0.1762 | -0.1260 | 1 |

AP= Altura de planta, **CT=** Clorofila total, **CA=** Clorofila A, **CB=** Clorofila B, **AZ=** Contenido de azúcares, **CRA=** Contenido relativo de agua, **NE=** Número de espigas, **PE=** Peso de espiga, **LE=** Longitud de espiga, **ANE=** Ancho de la espiga, **NG=** Número de granos, **PG=** Peso de granos.

**= Altamente significativo

4.3. Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales con las variables evaluadas en la etapa reproductiva del cultivo. Se determinó las variables que tuvieron mayor contribución a cada uno de los componentes así mismo se obtuvo los eigen valores donde con 4 componentes se explica casi el 100 % de la variabilidad (Cuadro 25).

Cuadro 25. Eigen valores de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo.

| | Eigen valores | Porcentaje | Acumulado |
|----------|----------------------|-------------------|------------------|
| 1 | 4.25270724 | 35.4392 | 35.4392 |
| 2 | 3.49686473 | 29.1405 | 64.5798 |
| 3 | 2.62966663 | 21.9139 | 86.4937 |
| 4 | 0.88108569 | 7.3424 | 93.8360 |
| 5 | 0.73967571 | 6.1640 | > 100% |

Las variables que contribuyen en mayor proporción al componente 1 fueron la altura de planta, clorofila total, clorofila A, clorofila B y CRA. Las variables número de espigas, peso de la espiga y peso de grano explican el componente 2. El componente 3 es explicado por la variable longitud de espiga, ancho de la espiga y número de granos mientras que el componente 4 por la variable contenido de azúcares (Cuadro 26).

Cuadro 26. Contribución de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo a los primeros cuatro componentes principales.

| | C1 | C2 | C3 | C4 |
|------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| AP | 0.6453 | 0.4976 | 0.3810 | 0.3021 |
| CT | -0.8694 | 0.4367 | 0.0219 | 0.1977 |
| CA | -0.8784 | 0.4302 | -0.0096 | 0.1570 |
| CB | -0.8345 | 0.4469 | 0.0996 | 0.3003 |
| AZ | 0.6014 | -0.1546 | -0.2667 | 0.6523 |
| CRA | -0.7093 | -0.1813 | -0.6350 | -0.1839 |
| NE | 0.4063 | 0.8452 | 0.3099 | -0.0968 |
| PE | 0.5579 | 0.7784 | -0.2135 | -0.0960 |
| LE | -0.0572 | -0.0038 | -0.8582 | 0.2871 |
| ANE | -0.4603 | 0.4088 | 0.6882 | 0.0681 |
| NG | 0.2341 | 0.6546 | -0.7165 | -0.0296 |
| PG | 0.0369 | 0.8374 | -0.3669 | -0.2649 |

AP=Altura de planta, **CT**= Clorofila Total, **CA**= Clorofila A, **CB**= Clorofila B, **AZ**= Contenido de azúcares, **CRA**= Contenido relativo de agua, **NE**= Número de espigas, **PE**= Peso de espiga, **LE**= Longitud de espiga, **ANE**= Ancho de la espiga, **NG**= Número de granos, **PG**= Peso de grano.

En la Figura 19 se muestran gráficos en dos y tres dimensiones (2D y 3D, respectivamente) de los componentes principales de las variables en la etapa de reproducción de trigo bajo el tratamiento control. Se observa una fuerte asociación entre las variables relacionadas con la clorofila como lo son clorofila total, clorofila A y clorofila B, así como un agrupamiento entre las variables peso de grano, número de granos, número de espigas, peso de espiga y altura de la planta.

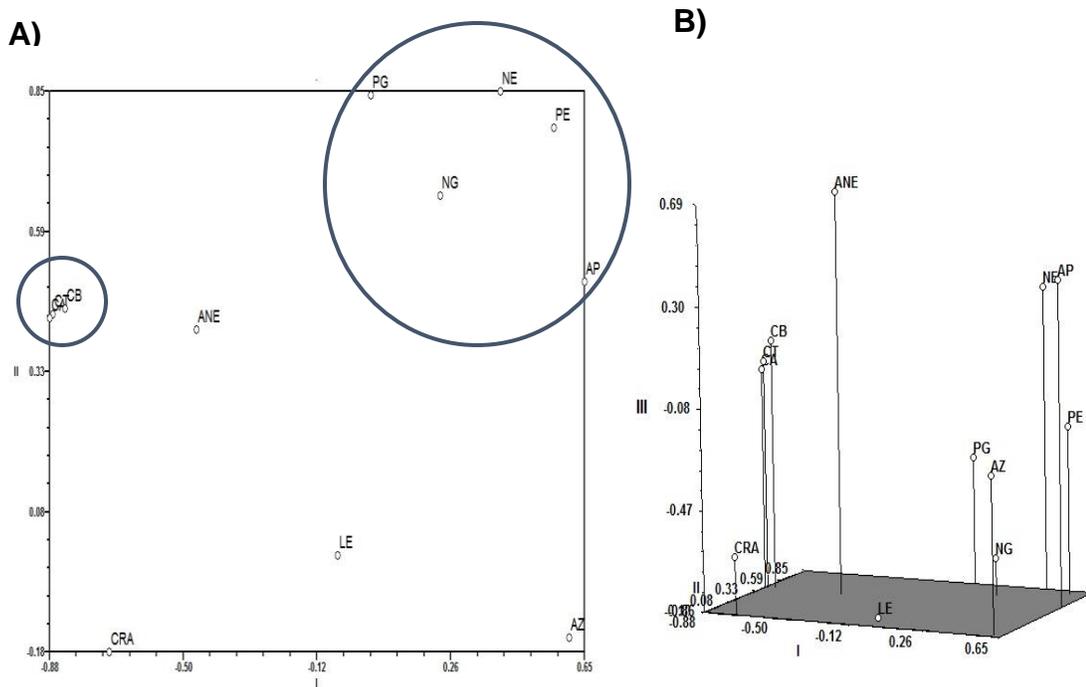


Figura 19. Análisis de componentes principales de variables morfológicas evaluadas durante la etapa de reproductiva del trigo. A) Gráfico 2D, B) Gráfico 3D.

En la Figura 20 se muestran gráficos en dos y tres dimensiones (2D y 3D, respectivamente) de la agrupación morfológica de los genotipos en la etapa de reproducción de trigo bajo el tratamiento control, se observa la formación de cuatro grupos donde estos difieren ligeramente de los generados con el dendrograma.

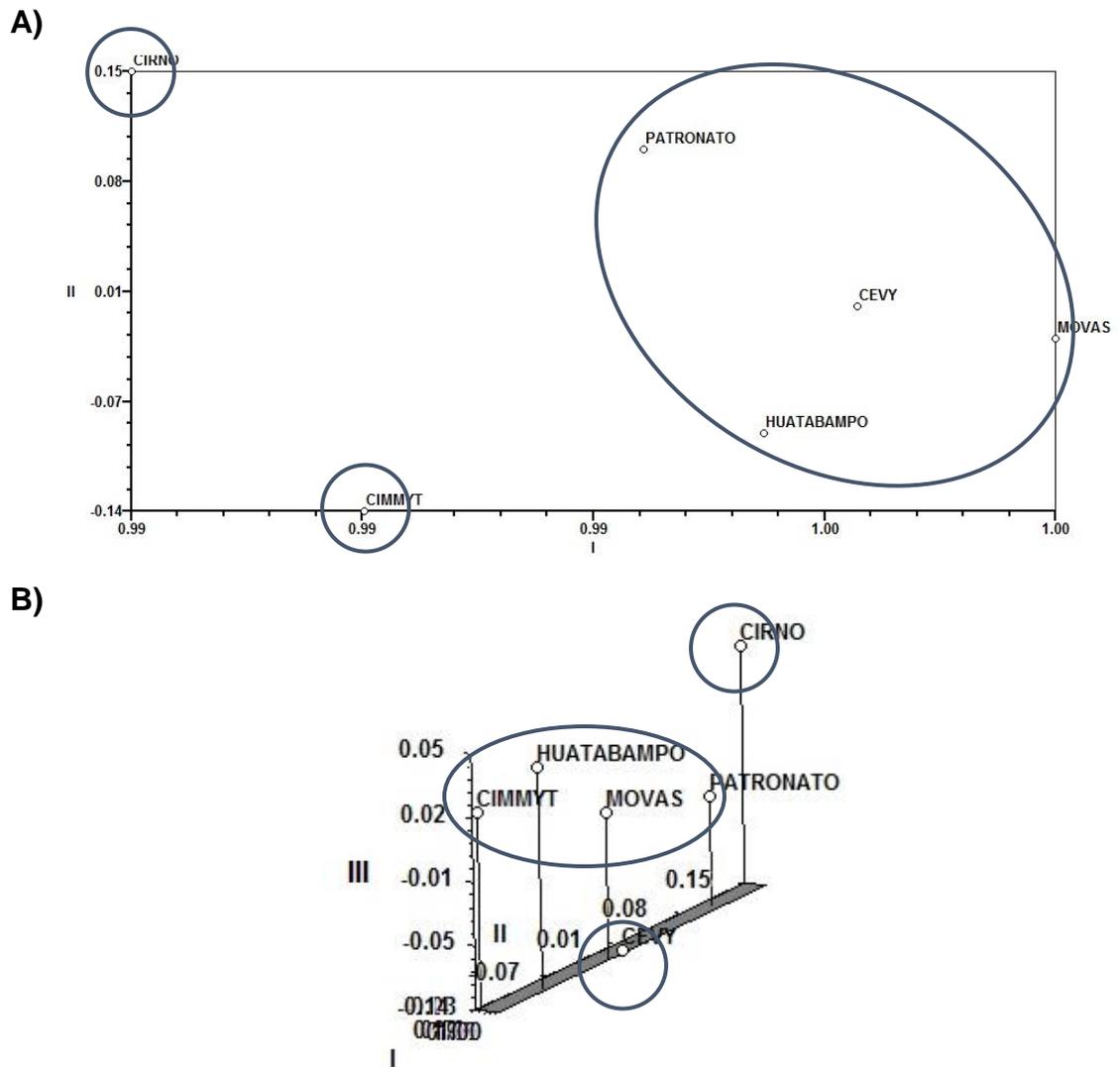


Figura 20. Agrupación morfológica de genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) en la etapa de reproducción bajo condiciones control. A) Gráfico 2D, B) Gráfico 3D.

4.4. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones morfológicas entre las variedades

Mediante un análisis de UPGMA se obtuvo un dendrograma de relaciones entre los genotipos, formándose tres grupos a un coeficiente de distancia DIST de 1.30 (Figura 21) quedando integrado de la manera siguiente:

Grupo I: variedad Cirno.

Grupo II: variedades Huatabampo Oro, Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

Grupo III: variedad Cevy Oro.

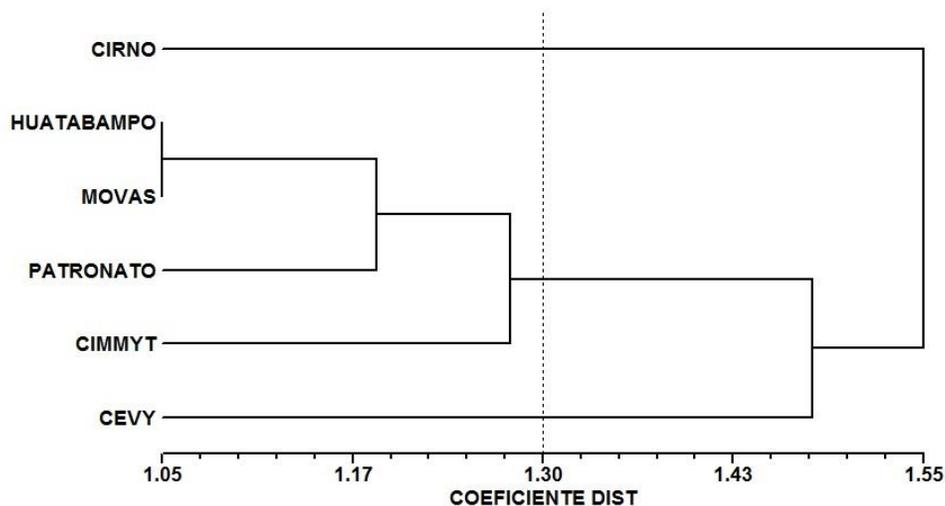


Figura 21. Dendrograma morfológico de genotipos de trigo (*Triticum durum* L.).

En el dendrograma se observa que los genotipos más relacionados son Huatabampo oro y Movas, mientras que el menos relacionado fue Cirno.

4.5. Análisis molecular: Caracterización molecular de las variedades

4.5.1. Genotipos

El uso de marcadores del tipo ISSR permitió la detección de polimorfismos entre los genotipos de trigo evaluados, mediante la obtención de bandas bien definidas tal como se muestra en la Figura 22.

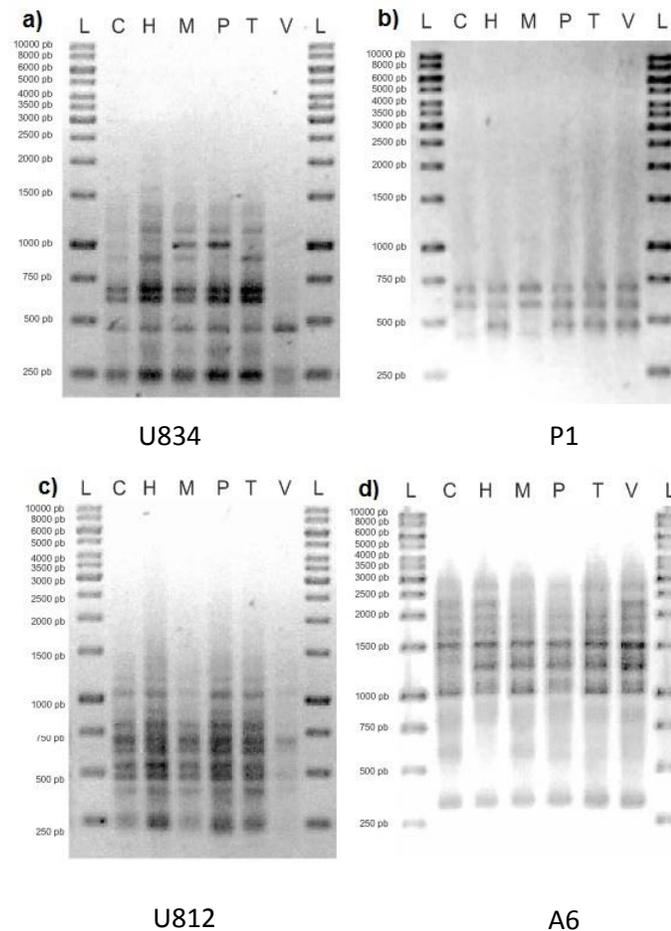


Figura 22. Patrones de bandeo ISSR de genotipos de trigo (*Triticum durum* L.) usando cuatro iniciadores diferentes. A) U834 B) P1 C) U812 D) A6 L= marcador, C= Cirno, H= Huatabampo Oro, M= Movas, P= Patronato Oro, T= CIMMYT (D11B_PCDW 10227), V= Cevy Oro.

Se probaron 50 iniciadores ISSR de los cuales solo 20 mostraron amplificación y buena resolución de bandas. De estos se determinó el número de bandas generadas, bandas monomórficas, bandas polimórficas, así como su porcentaje de polimorfismo, estos datos se muestran en el Cuadro 27.

Se obtuvo un total de 138 bandas donde el iniciador A4 mostró el mayor número (16 bandas), mientras que el iniciador (CA)₈RT mostró el menor número (una banda). Con dicha información se procedió a la elaboración de una matriz binaria para la construcción de un dendrograma molecular.

En cuanto al polimorfismo detectado por los iniciadores ISSR se obtuvo un promedio de porcentaje de 46.23 %, donde los iniciadores A7, ISSR5, (AG)₈YA y (CA)₈RT revelaron 100 % de polimorfismo, mientras que los iniciadores A3, RAH04 no mostraron polimorfismo.

Cuadro 27. Iniciadores para la caracterización molecular de genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.).

| Iniciador | Secuencia 5'-3' | No. De Bandas | Bandas | | % de polimorfismo |
|-----------------|-------------------------|---------------|--------------|--------------|-------------------|
| | | | monomórficas | polimórficas | |
| A3 | CTC CTC CTC CTC CTC CTC | 3 | 3 | 0 | 0 |
| A4 | CAC ACA CAC ACA CAC AAG | 16 | 10 | 6 | 37.5 |
| A5 | CAC ACA CAC ACA CAC AGG | 9 | 5 | 4 | 44.44 |
| A6 | CTC TCT CTC TCT CTC TTG | 13 | 10 | 3 | 23.07 |
| A7 | CAC ACA CAC ACA CAC AAC | 2 | 0 | 2 | 100 |
| A8 | AGA GAG AGA GAG AGA GT | 11 | 10 | 1 | 9.09 |
| RAH01 | ACG GAT CCT G | 4 | 1 | 3 | 75 |
| RAH04 | AAA GCT GCG G | 5 | 5 | 0 | 0 |
| IAH03 | GAG AGA GAG AGA CC | 9 | 7 | 2 | 22.22 |
| IAH04 | CACCACCACGC | 5 | 3 | 2 | 40 |
| P1 | GAG CAA CAA CAA CAA CAA | 4 | 2 | 2 | 50 |
| U810 | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 12 | 11 | 1 | 8.33 |
| U812 | GAGAGAGAGAGAGAGAA | 12 | 9 | 3 | 25 |
| U834 | AGAGAGAGAGAGAGAGYT | 10 | 5 | 5 | 50 |
| U873 | GACAGACAGACAGACA | 3 | 1 | 2 | 66.66 |
| ISSR4 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 10 | 6 | 4 | 40 |
| ISSR5 | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 4 | 0 | 4 | 100 |
| (AG)8YA | AGAGAGAGAGAGAGAGYA | 2 | 0 | 2 | 100 |
| DBD(AC)7 | DBDACACACACACACAC | 3 | 2 | 1 | 33.33 |
| (CA)8RT | CACACACACACACACART | 1 | 0 | 1 | 100 |
| Total | | 138 | 90 | 48 | |
| Promedio | | 6.9 | | | 46.23 |

4.5.2. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones genéticas entre las variedades

El análisis de conglomerados usando UPGMA permitió generar un dendrograma donde se observó la formación de tres grupos mediante el establecimiento de una línea de corte a un coeficiente de similitud de Jaccard de 0.85 (Figura 23), quedando los grupos integrados de la manera siguiente:

Grupo I: variedad Cirno.

Grupo II: variedades Huatabampo Oro, Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227), agrupándose a un coeficiente de similitud de 0.86.

Grupo III: variedad Cevy Oro.

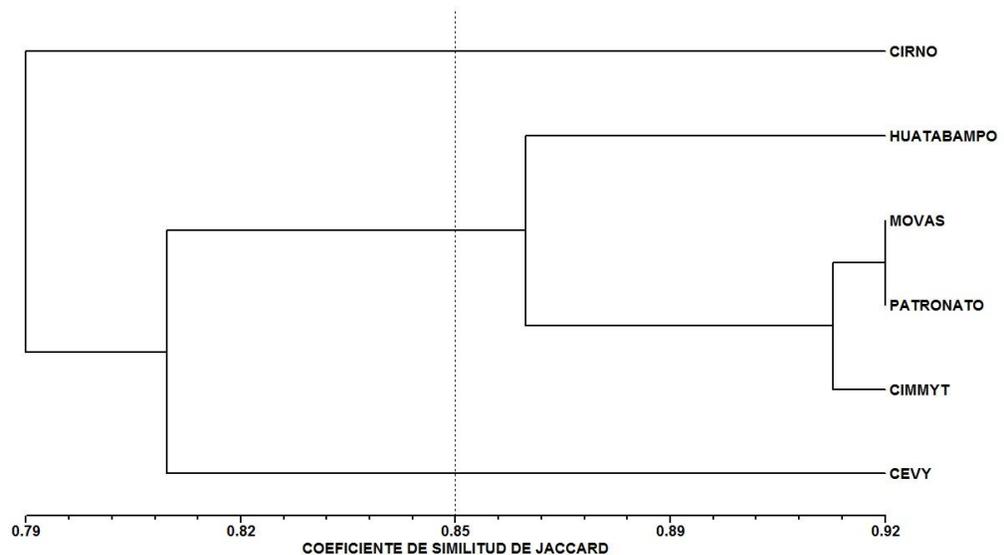


Figura 23. Dendrograma molecular ISSR de genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.).

Los genotipos que presentaron una mayor similitud genética fueron Movas y Patronato Oro con un coeficiente de 0.92, mientras que el genotipo Cirno presentó una menor similitud con el resto de las variedades, con un coeficiente

de 0.79. La poca disimilitud entre los genotipos de trigo se debe a que de acuerdo a su pedigrí comparten algunos progenitores (Cuadro 28), sin embargo utilizando los marcadores del tipo ISSR fue posible encontrar algunos polimorfismos entre las variedades, por lo que los marcadores moleculares constituyen una herramienta eficaz para poder determinar diferencias y detectar algunas bandas de interés que pueden estar presentes en algún genotipo en particular.

Cuadro 28. Relación de progenitores entre genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.).

| GENOTIPO | SOOTY_9 /RASCON _37 | ACO89 | AJAIA_12/F3LOC AL(SEL.ETHIO.13 5.85)//PLATA_13 | ARMENT//SRN _3/NIGRIS_4/3/ CANELO_9.1 | ALTAR 84 |
|---------------------------------|---------------------------|-------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------|
| Cirno C2008 | X | | | | |
| Huatabampo Oro C2009 | | X | | | |
| Movas C2009 | X | X | X | | |
| Patronato Oro C2008 | | | X | X | X |
| CIMMYT (D11B_PCDW_1 0227) | X | | | | X |
| Cevy Oro C2008 | | | | X | |

Fuente (Figueroa-López *et al.*, 2010; Félix-Fuentes *et al.*, 2011; Fuentes-Dávila *et al.*, 2012; Chávez-Villalba *et al.*, 2012).

Tanto con marcadores moleculares como morfológicos los dendrogramas generados muestran la formación de los mismos grupos, por lo que se puede decir que existe una alta concordancia entre estos dos tipos de análisis.

4.5.3. Análisis de escalado multidimensional para determinar la formación de grupos entre las variedades

Con la matriz binaria de datos obtenidos a partir de los marcadores ISSR se realizó un análisis de escalado multidimensional con el fin de observar la distribución y agrupamiento de los genotipos. Se realizaron gráficos en dos y tres dimensiones (2D y 3D, respectivamente), los cuales se muestran en la Figura 24. En ambos gráficos se observó la formación de 4 grupos, donde el grupo 1 lo integró el genotipo Cirno, el grupo dos Cevy Oro, el grupo tres se formó con los genotipos CIMMYT (D11B_PCDW 10227), Movas y Patronato Oro y finalmente el grupo 4 lo constituyó Huatabampo Oro.

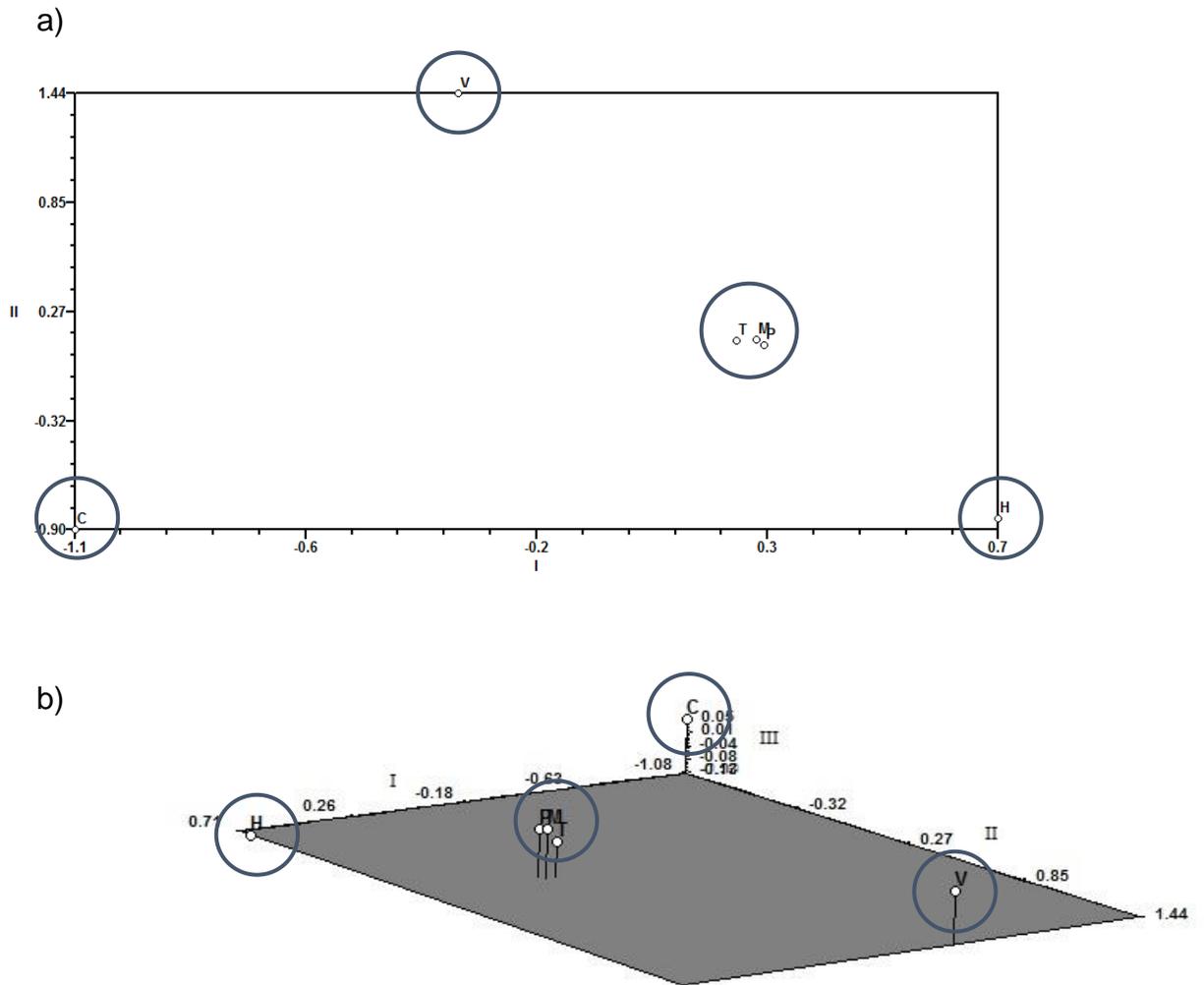


Figura 24. Análisis de escalado multidimensional en genotipos de trigo. A) Gráfico 2D, b) Gráfico 3D. C=Cirno, H=Huatabampo Oro, M=Movas, P=Patronato Oro, T=CIMMYT (D11B_PCDW 10227), V= Cevy Oro.

4.5.4. Comparación de los patrones de bandas entre los genotipos tolerante vs susceptible

Los análisis de germinación permitieron una rápida identificación de genotipos tolerantes y susceptibles. Con el fin de encontrar marcadores que pudieran posiblemente estar asociados con alguna característica de tolerancia al estrés se procedió a realizar una comparación molecular entre una mezcla de

individuos del genotipo Cirno identificado como susceptible y una mezcla de individuos del genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) considerado como tolerante. De los 20 iniciadores utilizados anteriormente solo 4 mostraron bandas polimórficas, tal como se presenta en la Figura 25.

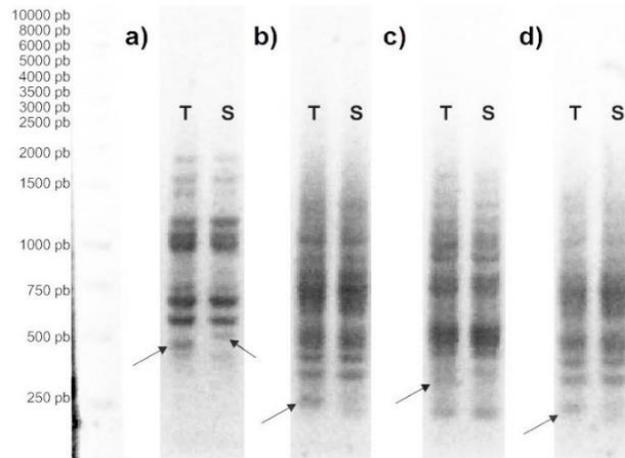


Figura 25. Comparación de patrones de bandas entre mezclas de individuos del genotipo tolerante y susceptible. T= Genotipo tolerante CIMMYT (D11B_PCDW 10227), S= Genotipo susceptible Cirno. a) Iniciador P1, b) U810, c) ISSR4 y d) ISSR5.

Tres de los iniciadores utilizados en la comparación (U810, ISSR4 e ISSR5) mostraron una banda polimórfica en el genotipo tolerante, mientras que para el iniciador P1 se apreciaron bandas polimórficas tanto en el genotipo tolerante como en el susceptible. Para identificar si estos marcadores pudieran estar relacionados con alguna característica de tolerancia al estrés es necesario realizar una secuenciación de los mismos y comparar las secuencias con una base de datos o bien demostrar ligamiento entre las bandas y características

que determinen tolerancia. En caso de dar positivo es posible la utilización de estos marcadores en mejoramiento vegetal.

4.5.5. Determinación de la pureza de las variedades

Con el fin de evaluar la pureza varietal se utilizó 5 de los 20 iniciadores ISSR para obtener los patrones de bandas de siete individuos de cada genotipo. Como se muestra en la Figura 26 no se encontraron diferencias en los patrones de bandeo arrojados por cada iniciador. Ello significa que las variedades son puras y no han sufrido contaminación por mezcla de semillas o por cruzamiento con otros genotipos. Con este análisis se tiene la certeza de que al momento de la recolección mecánica de la semilla no hubo mezcla con otros genotipos.

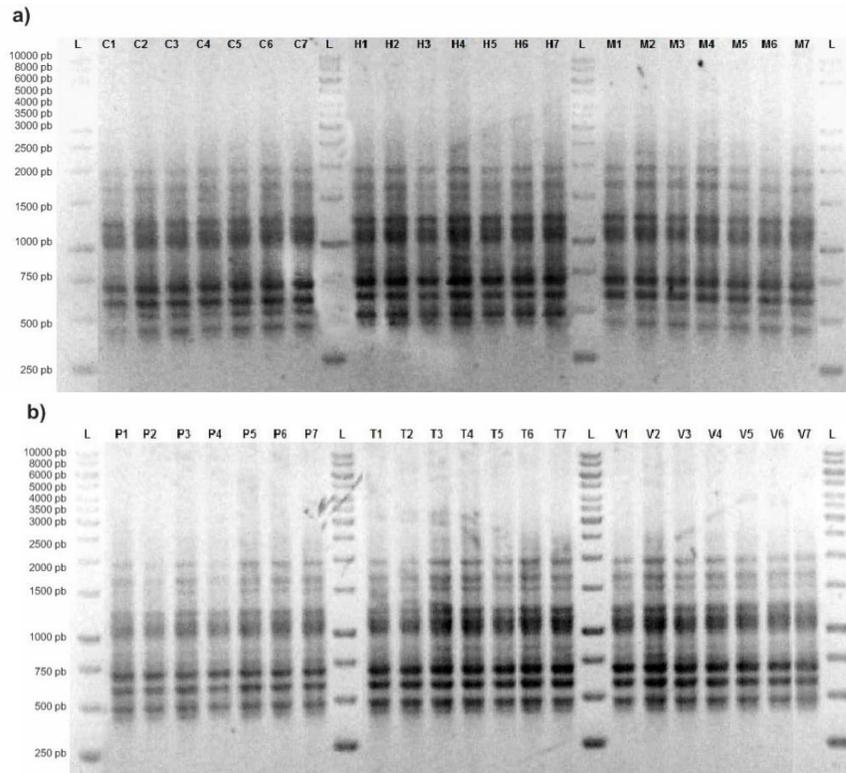


Figura 26. Patrones de bandeo obtenidos para siete individuos de variedades de trigo utilizando el iniciador ISSR P1. a) Genotipos C= Cirno, H= Huatabampo Oro, M= Movas. b) Genotipos P= Patronato Oro, T= CIMMYT (D11B_PCDW 10227), V= Cevy Oro. L= Marcador.

4.6. Caracterización de las variedades usando patrones de proteínas tipo gluteninas

El uso de la técnica SDS-PAGE permitió detectar polimorfismos en los patrones proteicos de gluteninas en semillas de los genotipos de trigo (Figura 27), se obtuvo un total de 6 bandas de las cuales una mostró ser monómorica mientras que 5 fueron polimórficas, dando un porcentaje de polimorfismo de 83.33 %.

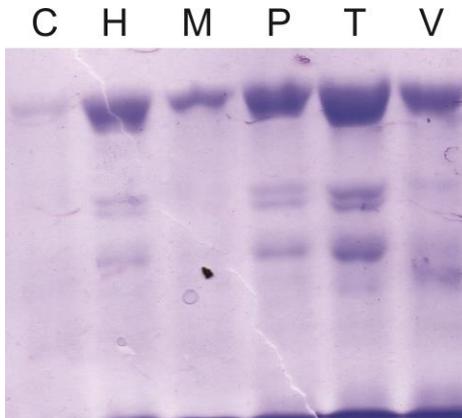


Figura 27. Patrones de proteínas gluteninas de genotipos de trigo en gel SDS-PAGE. C=Cirno, H= Huatabampo Oro, M=Movas, P= Patronato Oro, T=CIMMYT (D11B_PCDW 10227), V= Cevy Oro.

4.6.1. Construcción del dendrograma usando patrones de gluteninas

Mediante un análisis de conglomerados usando UPGMA se obtuvo un dendrograma de relaciones entre los genotipos, formándose tres grupos a un coeficiente de similitud de Jaccard de 0.67 (Figura 28) quedando integrado de la manera siguiente:

Grupo I: variedad Cirno.

Grupo II: variedad Movas.

Grupo III: variedades Huatabampo Oro, Patronato y CIMMYT (D11B_PCDW 10227), agrupándose en un coeficiente de similitud de 0.80.

Grupo IV: variedad Cevy Oro.

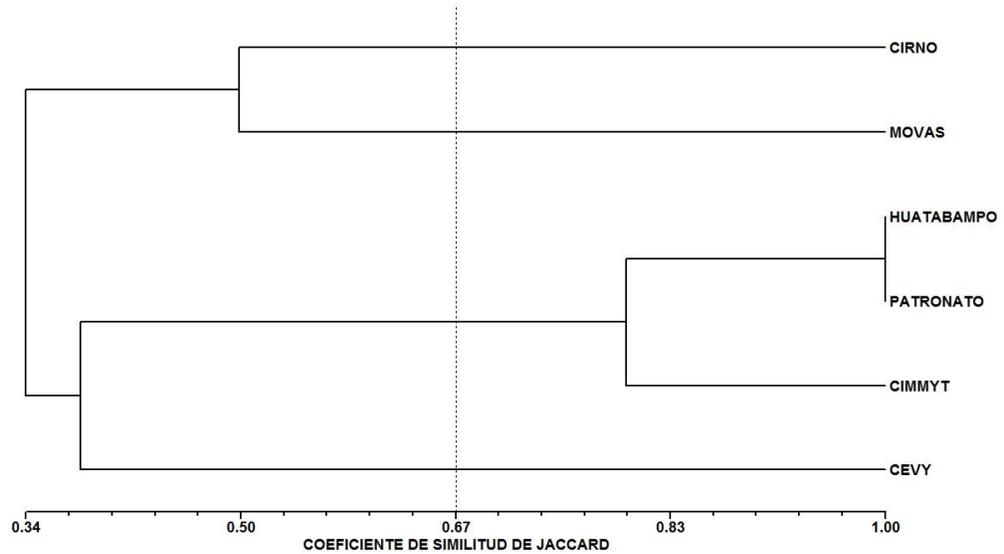


Figura 28. Dendrograma de proteínas gluteninas de genotipos de trigo (*Triticum durum* L.).

Los genotipos que presentaron una mayor similitud fueron Huatabampo Oro y Patronato Oro con un coeficiente de 1.00, mientras que los genotipos Cirno y Movas tuvieron menor similitud, con un coeficiente de 0.34.

4.7. Comparación entre matrices

4.7.1. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con ISSR vs gluteninas

Para determinar la correlación entre matrices generadas con ISSR y proteínas se realizó una prueba de Mantel dando una $r = 0.36$, lo que sugiere que las matrices están poco correlacionadas debido a que las proteínas gluteninas representan solo a unas cuantas secuencias de ADN (pocos genes) y no a la

mayor parte del genoma del trigo como es el caso de los marcadores moleculares ISSR. En la Figura 29 se muestra la correlación detectada entre las matrices.

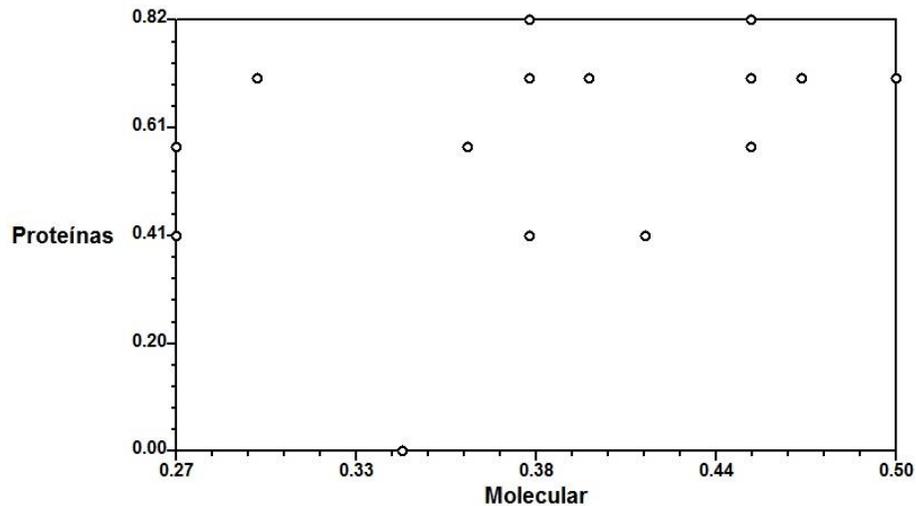


Figura 29. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de ISSR vs proteínas gluteninas.

4.7.2. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs proteínas

La correlación entre matrices generadas con la matriz de datos morfológicos y proteínas dio una $r = 0.53$ de acuerdo a la prueba de Mantel., por lo que se puede decir que existe una correlación media entre las presentes matrices. En la Figura 30 se muestra la correlación detectada entre las matrices.

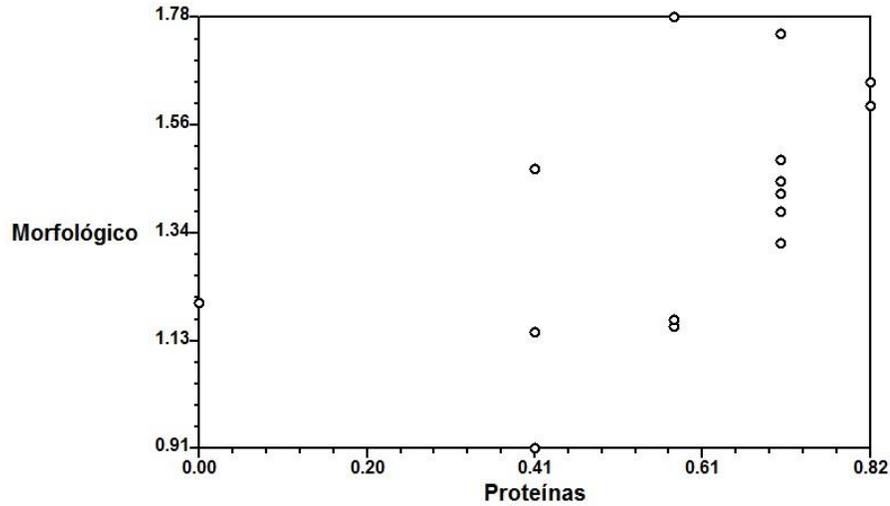


Figura 30. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de datos morfológicos vs proteínas gluteninas.

4.7.3. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs ISSR

La correlación entre matrices generadas con la matriz morfológica y la matriz generada con ISSR dio una $r = 0.69$ de acuerdo a la prueba de Mantel, por lo que estos dos análisis fueron los que presentaron una mayor correlación de manera individual en todo el experimento. En la Figura 31 se muestra la correlación detectada entre las matrices.

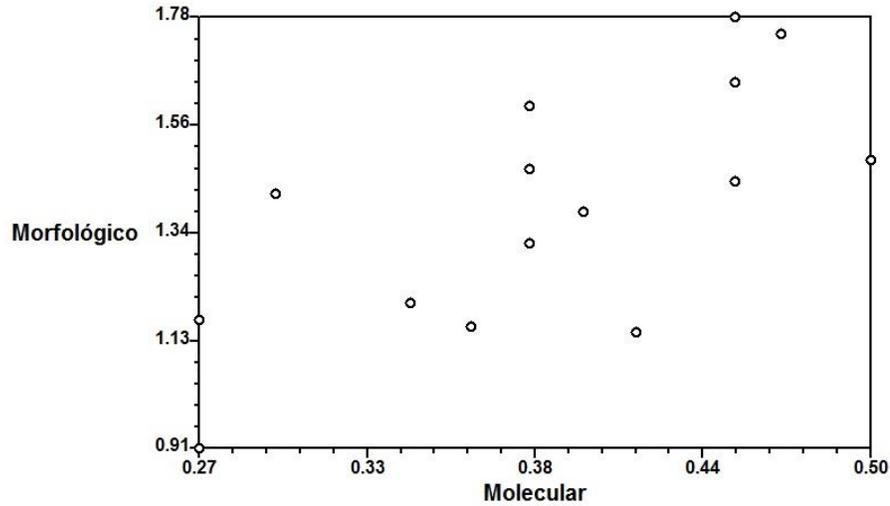


Figura 31. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir de ISSR vs morfológicos.

4.7.4. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs proteínas + ISSR

La correlación entre matrices generadas con la matriz morfológica contra la matriz generada con ISSR y proteínas dio una correlación con una $r= 0.73$ de acuerdo a la prueba de Mantel. En la Figura 32 se muestra la correlación detectada entre las matrices. Se observa que la suma de un mayor número de marcadores moleculares más bioquímicos incrementa la correlación al compararlos con los marcadores morfológicos.

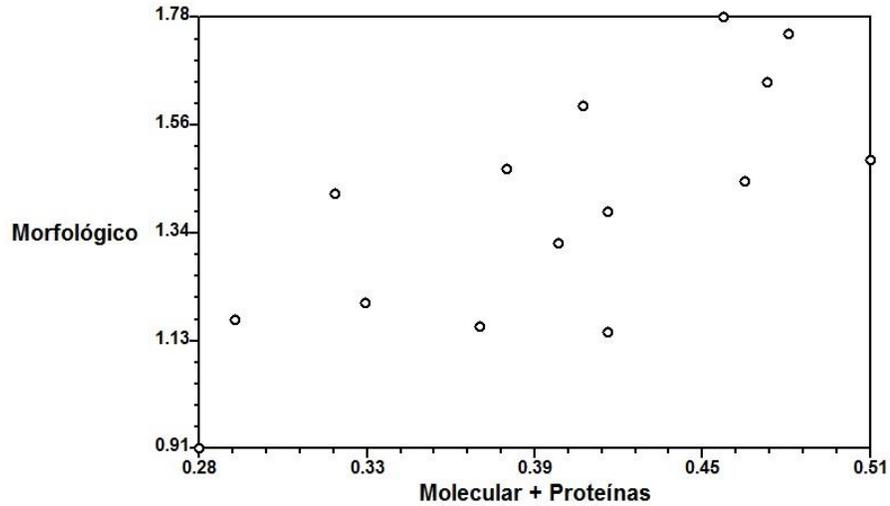


Figura 32. Prueba de correlación de Mantel entre matrices generadas a partir del análisis morfológico vs ISSR y proteínas.

4.7.5. Prueba de Mantel entre matrices de datos generados con datos morfológicos vs morfológicos + proteínas + ISSR

La correlación entre matrices generadas con la matriz morfológica contra la matriz generada con ISSR, proteínas y morfológica dio una correlación con una $r= 0.82$ de acuerdo a la prueba de Mantel. En la Figura 33 se muestra la correlación detectada entre las matrices.

Cuadro 29. Correlaciones de prueba de Mantel utilizando diferentes tipos de marcadores.

| Marcador | Correlación de prueba de Mantel |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------|
| ISSR vs Proteínas gluteninas | 0.36 |
| Morfológico vs Proteínas gluteninas | 0.53** |
| Morfológico vs ISSR | 0.69** |
| Morfológico vs ISSR + Proteínas gluteninas | 0.73** |
| Morfológico vs Morfológico + ISSR+ Proteínas gluteninas | 0.82** |

**= Altamente significativo

4.7.7. Comparación de dendrogramas

Utilizando el coeficiente DIST se realizaron dendrogramas correspondientes para ISSR, proteínas gluteninas, morfológico, un consenso entre ISSR y proteínas gluteninas y un consenso entre ISSR, proteínas gluteninas y morfológico (Figura 34), esto con el fin comparar la agrupación en cada uno de estos análisis.

El análisis de conglomerados ISSR resultó en la formación cuatro grupos a un coeficiente DIST de 0.36, quedando integrados de la manera siguiente:

Grupo I: Cirno.

Grupo II: Huatabampo Oro.

Grupo III: Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

Grupo IV: Cevy Oro.

El dendrograma obtenido con los datos de proteínas gluteninas mostró la formación de 5 grupos a un coeficiente DIST de 0.35 quedando integrados de la manera siguiente:

Grupo I: Cirno.

Grupo II: Movas.

Grupo III: Cevy Oro.

Grupo IV: Huatabampo Oro y Patronato Oro.

Grupo V: CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

El dendrograma obtenido con los datos morfológicos mostró la formación de 3 grupos a un coeficiente DIST de 1.30 quedando integrados de la manera siguiente:

Grupo I: Cirno.

Grupo II: Huatabampo Oro, Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

Grupo III: Cevy Oro.

Con el fin de determinar una mejor agrupación entre los genotipos estudiados se realizó un dendrograma con el consenso "ISSR + proteínas gluteninas" formándose tres grupos a un coeficiente DIST de 0.37 y quedando integrados los grupos de la manera siguiente:

Grupo I: Cirno.

Grupo II: Huatabampo Oro, Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

Grupo III: Cevy Oro.

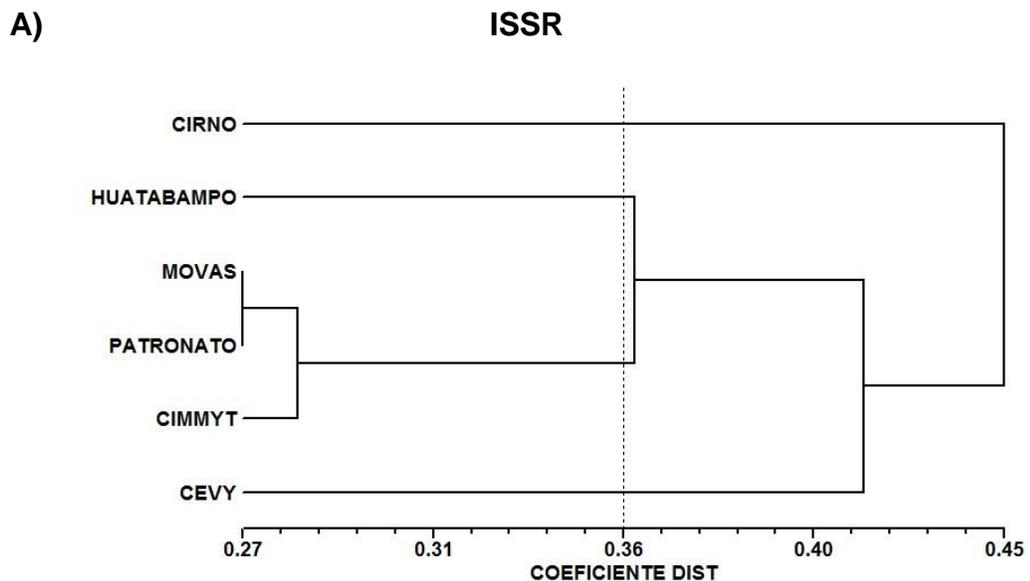
Así también realizando un dendrograma con el consenso “ISSR + proteínas gluteninas + morfológico” se formó 4 grupos a un coeficiente DIST de 1.28, integrándose de la forma siguiente:

Grupo I: Cirno.

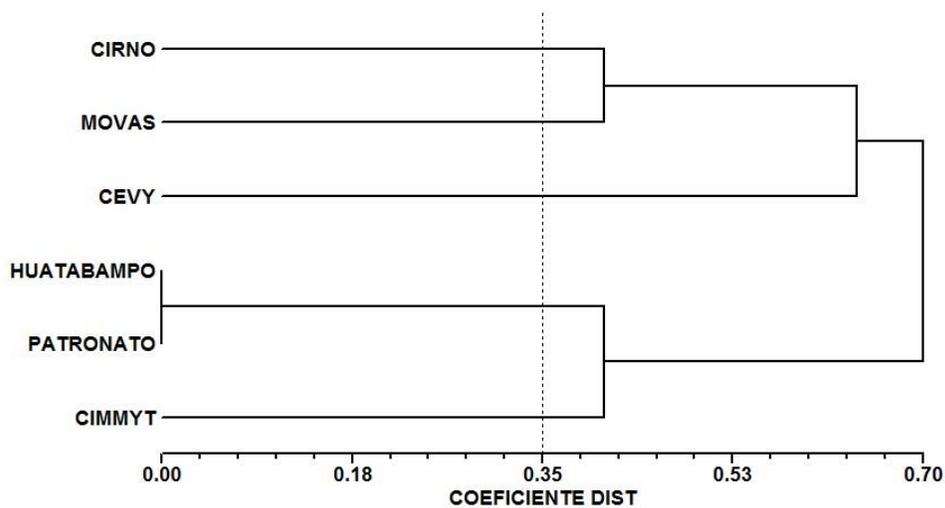
Grupo II: Huatabampo Oro.

Grupo III: Movas, Patronato Oro y CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

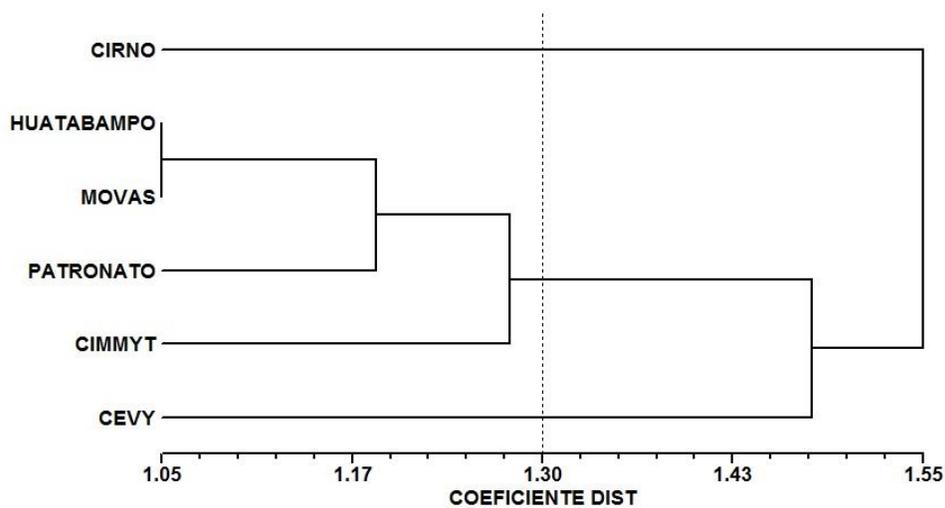
Grupo IV: Cevy Oro.



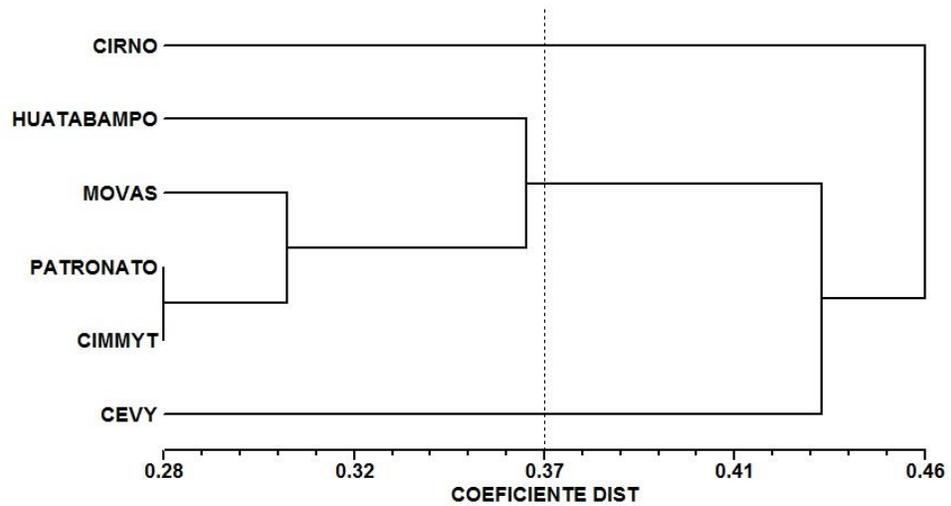
B) Proteínas gluteninas



C) Morfológico



D) Consenso (ISSR + proteínas gluteninas)



E) Consenso (ISSR + proteínas gluteninas + morfológico)

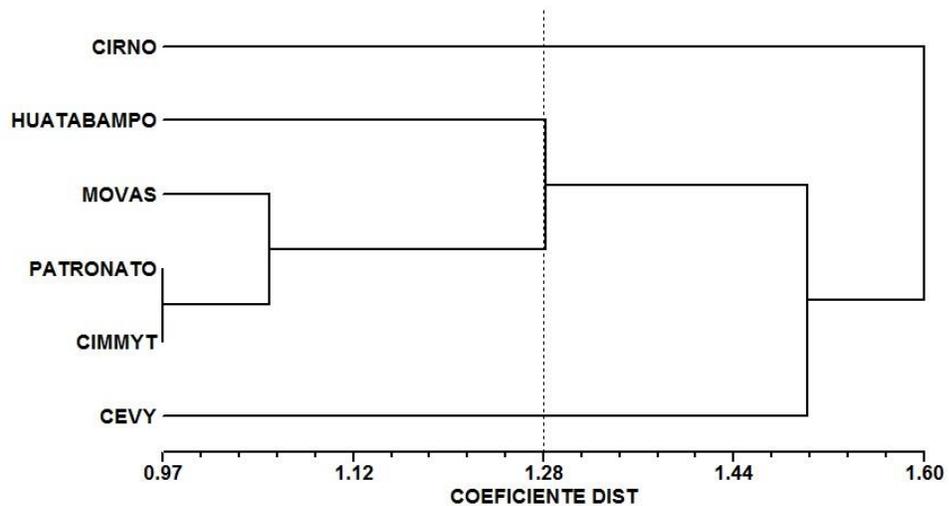


Figura 34. Dendrogramas de relaciones entre seis genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) utilizando datos de: A) ISSR, B) Proteínas gluteninas, C) Morfológico, D) Consenso “ISSR + proteínas gluteninas”, E) Consenso “ISSR + proteínas glutetinas + morfológico”.

4.8. Resumen de resultados para la identificación de los genotipos tolerantes y susceptibles

Para la identificación de genotipos tolerantes y susceptibles se procedió a realizar una evaluación en la etapa de germinación y reproductiva según una escala de valores para cada variable, calificando a los genotipos como: +++ con tolerancia, ++ tolerancia media, + tolerancia mínima y finalmente con el signo – al que no presentaba tolerancia según la variable evaluada, al final se contabilizaron el número de signos + y en base al total se clasificaron los genotipos en tolerantes, medio tolerantes y susceptibles. Al final se consideró como genotipos tolerantes a los que sumaban las mejores características y como susceptibles a los que sumaban las peores características.

Para la etapa de germinación el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) fue el identificado con mayor tolerancia al estrés hídrico con una calificación de 15 puntos, mientras que el genotipo Cirno se identificó como el más susceptible con una calificación de 8 puntos.

Para la etapa reproductiva también el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) se mostró como el más tolerante a la sequía con un puntaje igual a 31 y el más susceptible fue Huatabampo Oro con 8 puntos.

Finalmente, luego de hacer un conteo del total de puntos obtenidos en ambas etapas el genotipo CIMMYT (D11B_PCDW 10227) fue considerado como el

más tolerante al estrés hídrico con una calificación de 46 puntos, seguido de Patronato Oro y Movas con 32 y 30 puntos, respectivamente; luego Cevy Oro y Huatabampo Oro con 27 y 22 puntos, respectivamente; mientras que Cirno fue el más susceptible con 21 puntos.

En el Cuadro 30 y 31 se muestran el resumen de resultados obtenidos durante las etapas de germinación y reproductiva, respectivamente.

Cuadro 30. Resumen de evaluación de características de los genotipos de trigo durante la etapa de germinación bajo tratamiento de estrés severo.

| VARIABLES | CIRNO | HUATABAMPO ORO | MOVAS | PATRONATO ORO | CIMMYT | CEVY ORO |
|------------------------------------------|-------|-------------------|-------|------------------|--------|----------|
| IMBIBICION | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| UEA | - | + | ++ | - | +++ | ++ |
| % GERMINACIÓN | - | +++ | + | + | ++ | ++ |
| ÍNDICE VELOCIDAD DE GERMINACIÓN | + | +++ | + | - | ++ | ++ |
| LONGITUD DE RAÍZ | + | + | + | - | ++ | +++ |
| LONGITUD DE COLEOPTILO | +++ | ++ | ++ | +++ | + | - |
| NÚMERO DE RAÍCES | - | + | + | +++ | ++ | + |
| TOTAL | 8 | 14 | 11 | 10 | 15 | 13 |

Cuadro 31. Resumen de evaluación de características de los genotipos de trigo durante la etapa reproductiva bajo tratamiento de estrés severo.

| VARIABLES | CIRNO | HUATABAMPO ORO | MOVAS | PATRONATO ORO | CIMMYT | CEVY ORO |
|-----------------------|-------|-------------------|-------|------------------|--------|----------|
| ALTURA DE PLANTA | ++ | + | ++ | ++ | +++ | - |
| CLOROFILA TOTAL | - | + | + | ++ | +++ | + |
| CLOROFILA A | - | + | + | +++ | ++ | + |
| CLOROFILA B | - | ++ | + | ++ | +++ | + |
| AZÚCARES | ++ | - | ++ | + | +++ | ++ |
| CRA | ++ | - | + | ++ | +++ | + |
| NÚMERO DE ESPIGAS | - | + | +++ | + | ++ | ++ |
| PESO ESPIGA | +++ | + | ++ | ++ | +++ | - |
| LONGITUD DE ESPIGA | + | - | ++ | + | + | +++ |
| ANCHO DE ESPIGA | + | + | + | + | +++ | - |
| NÚMERO DE GRANOS | + | - | + | ++ | ++ | +++ |
| PESO DE GRANOS | + | - | ++ | +++ | +++ | - |
| TOTAL | 13 | 8 | 19 | 22 | 31 | 14 |

Nota: Las evaluaciones se llevaron de acuerdo a las pérdidas de cada genotipo en las variables evaluadas bajo condiciones de estrés severo (25 % CC) en comparación con el tratamiento control.

4.9. Construcción del dendrograma y determinación de relaciones morfológicas entre las variedades bajo condiciones de estrés hídrico severo

Con el fin de verificar la agrupación de genotipos bajo condiciones severas de estrés hídrico se obtuvo un dendrograma de relaciones mediante un análisis de UPGMA, formándose tres grupos a un coeficiente de distancia de DIST de 1.29 (Figura 35) quedando integrado de la manera siguiente:

Grupo I: variedad Cirno, Patronato y Movas.

Grupo II: variedades Huatabampo Oro y Cevy Oro.

Grupo III: variedad CIMMYT (D11B_PCDW 10227).

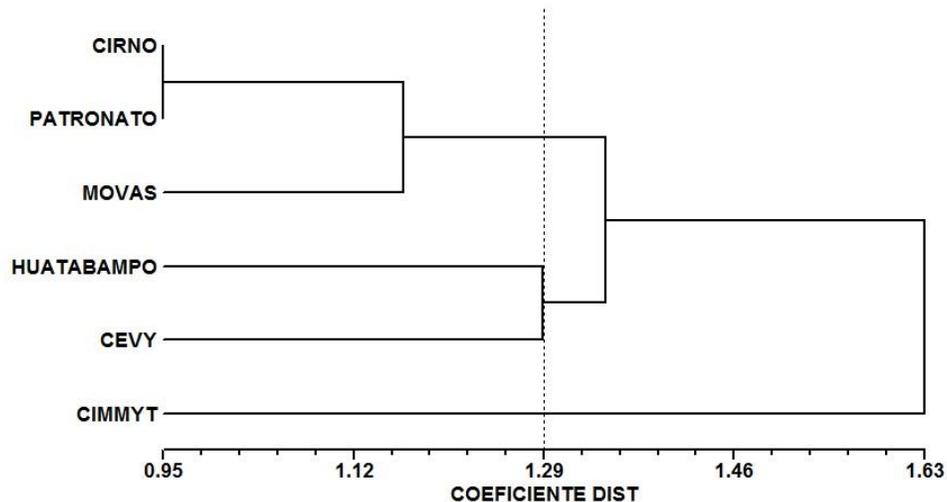


Figura 35. Dendrograma morfológico de genotipos de trigo (*Triticum durum* L.) bajo condiciones de estrés hídrico severo.

En el dendrograma se observa cierta similitud con los resultados mostrados en el resumen del Cuadro 30 donde se muestra que el genotipo CIMMYT (DB11_PCDW 10227) resultó ser el más tolerante y según el dendrograma de

la Figura 36 es el que se separa a mayor distancia respecto al resto de los genotipos. De la misma manera se aprecia la agrupación de genotipos medio tolerantes como Patronato Oro, Movas y Cirno, donde los primeros dos genotipos se comportaron como medios tolerantes y el restante como medio susceptible en los análisis realizados según el Cuadro 30 mencionado. El tercer grupo lo conformaron el genotipo Huatabampo Oro que es considerado el más susceptible al estrés, y Cevy Oro que se consideró previamente como medio susceptible.

4.10. Agrupación morfológica de genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) en la etapa de reproducción bajo condiciones de estrés hídrico severo mediante un análisis de componentes principales

Al realizar un ordenamiento de los genotipos de trigo en la etapa reproductiva bajo condiciones de estrés hídrico severo, se observó una mejor separación y concordancia de los grupos formados de acuerdo a su tolerancia o susceptibilidad al estrés hídrico (Figura 36) con respecto al resumen de resultados mostrado previamente (Cuadro 30). En la misma Figura 37 se observa la formación de tres grupos, el primero de ellos integrado por los genotipos CIMMYT (DB11_PCDW 10227), Movas y Patronato Oro, los cuales mostraron mayor tolerancia en la etapa reproductiva; en un segundo grupo se encuentran Cirno y Cevy Oro con tolerancia media y en el grupo restante estuvo Huatabampo Oro como el susceptible.

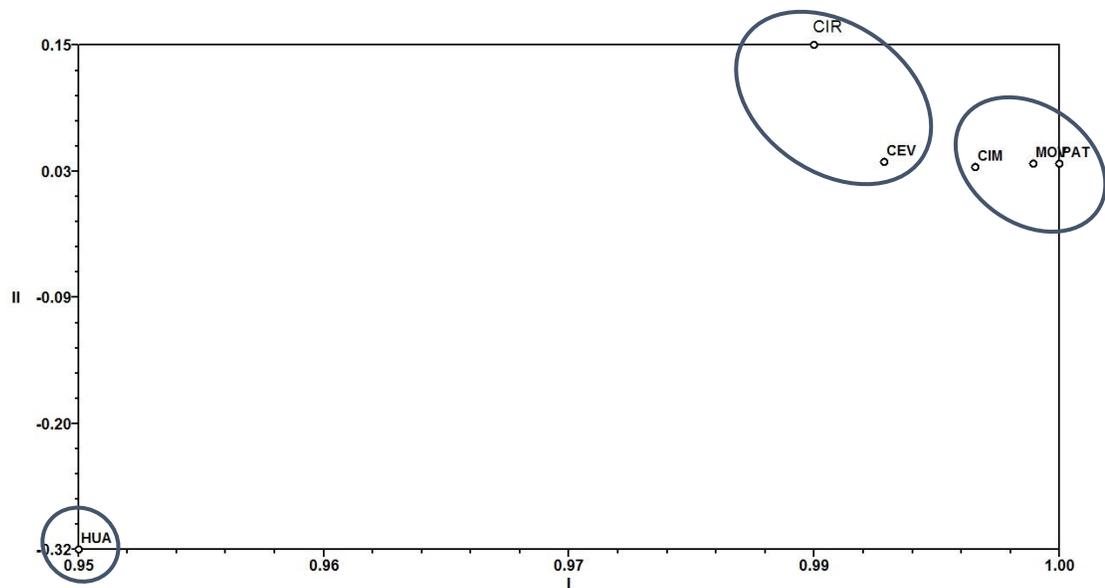


Figura 36. Gráfico en 2D donde se muestra el agrupamiento utilizando datos morfológicos de los genotipos de trigo duro (*Triticum durum* L.) durante la etapa de reproducción y bajo condiciones de estrés hídrico severo. CIR= Cirno C2008, HUA= Huatabampo Oro C2009, MOV= Movas C2009, PAT= Patronato Oro C2008, CIM= CIMMYT (DB11_PCDW 10227), CEV= Cevy Oro C2008.

4.11. Valores de componentes principales en etapa reproductiva de trigo duro bajo condiciones de estrés hídrico severo

El análisis de componentes principales con las variables evaluadas en la etapa reproductiva del cultivo bajo condiciones de estrés severo permitió determinar las variables que tuvieron mayor contribución a cada uno de los componentes, así como los valores eigen, de tal modo que con 4 componentes es posible explicar cerca del 100 % de la variabilidad (Cuadro 31).

Cuadro 32. Eigen-valores de las variables morfológicas evaluadas durante la etapa reproductiva del trigo bajo condiciones de estrés hídrico severo.

| | Eigen valores | Porcentaje | Acumulado |
|----------|----------------------|-------------------|------------------|
| 1 | 5.43418483 | 45.2849 | 45.2849 |
| 2 | 2.82025930 | 23.5022 | 68.7870 |
| 3 | 2.05627517 | 17.1356 | 85.9227 |
| 4 | 1.25863480 | 10.4886 | 96.4113 |
| 5 | 0.43064591 | 3.5887 | 100.0000 |

Las variables que contribuyeron en mayor proporción al componente 1 fueron la clorofila total, clorofila A, clorofila B, CRA, peso de la espiga y longitud de la espiga. Las variables altura de planta, número de espigas, número de granos y peso de granos explican el componente 2. El componente 3 es explicado por la variable ancho de la espiga, mientras que el componente 4 por la variable contenido de azúcares (Cuadro 32).

Cuadro 33. Contribución de las variables morfológicas durante la etapa reproductiva del trigo a los primeros cuatro componentes principales.

| | C1 | C2 | C3 | C4 |
|------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| AP | 0.3897 | 0.7092 | 0.5077 | 0.2952 |
| CT | 0.9010 | 0.2404 | 0.1354 | 0.3334 |
| CA | 0.8005 | 0.0886 | 0.2364 | 0.3788 |
| CB | 0.7982 | 0.3692 | -0.0249 | 0.1966 |
| AZ | -0.4425 | 0.0337 | -0.5460 | 0.6982 |
| CRA | 0.8830 | -0.3421 | 0.2534 | -0.1678 |
| NE | -0.5312 | 0.8422 | 0.0910 | 0.0147 |
| PE | -0.6422 | -0.3893 | 0.5448 | 0.3692 |
| LE | -0.7807 | 0.0874 | 0.5888 | 0.0340 |
| ANE | 0.5771 | -0.5280 | 0.5969 | -0.1268 |
| NG | -0.5329 | 0.6315 | 0.5000 | -0.2510 |
| PG | -0.5437 | -0.6717 | 0.3213 | 0.3820 |

AP=Altura de planta, **CT**= Clorofila Total, **CA**= Clorofila A, **CB**=Clorofila B; **AZ**= Contenido de azúcares, **CRA**= Contenido relativo de agua, **NE**= Número de espigas, **PE**= Peso de espiga, **LE**= Longitud de espiga, **ANE**= Ancho de la espiga, **NG**= Número de granos, **PG**= Peso de grano.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los análisis morfológicos y bioquímicos realizados en el presente trabajo fue posible identificar genotipos de trigo tolerantes y susceptibles al estrés hídrico en las etapas de germinación y reproducción. Se identificó al genotipo CIMMYT (D11B_PCW 10227) como el más tolerante a pesar de que su rendimiento de grano es muy bajo, mientras que Cirno C2008 y Huatabampo C2009 resultaron los más susceptibles.

En la etapa de germinación de los genotipos de trigo bajo condiciones control las variables imbibición de agua y la longitud del coleoptilo, la longitud de raíz y la longitud del coleoptilo, así como el uso eficiente del agua con el número de raíces mostraron correlaciones altas pero negativas. Durante la germinación y bajo condiciones de estrés severo las variables que mostraron mayor correlación negativa fueron la imbibición de agua con el uso eficiente de agua e imbibición de agua con la longitud del coleoptilo.

En la etapa reproductiva del trigo las variables bajo condiciones control que mostraron una mayor correlación fueron los relacionados con la clorofila como lo son clorofila total, clorofila A y clorofila B, así como el peso de granos con el número de granos y el número de granos con el peso de la espiga, mientras que en el tratamiento de estrés severo (25 % CC) las variables más

correlacionadas fueron la clorofila total con la clorofila A, el peso de grano con el número de espigas y el número de granos con el número de espigas.

Los marcadores tipo ISSR fueron de gran utilidad para detectar variabilidad genética entre los genotipos de trigo duro evaluados, se encontró una variabilidad muy baja entre los mismos, ello debido a que los genotipos están muy emparentados entre sí.

Mediante el uso de marcadores del tipo ISSR se determinó que los genotipos evaluados fueron genéticamente puros.

Se encontraron marcadores entre genotipos tolerantes y susceptibles que pudieran estar relacionados con alguna característica de tolerancia al estrés hídrico.

Las pruebas de Mantel indicaron una mayor correlación entre las matrices de datos morfológicos vs el consenso ISSR + proteínas gluteninas + morfológico, mientras que la correlación entre matrices ISSR vs proteínas fue la menor.

VI. LITERATURA CITADA

Abayomi Y. & Wright D. (1999). Effects of water stress on growth and yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Trop. Agric.76:120-125.

AbuQamar S., Luo H., Laluk K., Mickelbart M., & Mengiste T. (2009). Crosstalk between biotic and abiotic stress responses in tomato is mediated by the *AIM1* transcription factor. The Plant Journal 58:347-360.

Agarwal R. & Perl A. (1993). PCR amplification of highly GC-rich DNA template after denaturation by NaOH. Nucleic Acids Research 21:5283-5284.

Ahmad P. & Prasad M. (2012). Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. Springer. Estados Unidos. pp: 2.

Akhtar L., Hussain M., Tariq A., & Nasim M. (2010). A review of hundred years of wheat research and development in punjab (1911-2010). Pakistan Journal of Science 62:128-134.

Alam M., Stuchbury T., & Naylos R. (2002). Effect of NaCl and PEG Induced Osmotic Potentials on Germination and Early Seedling Growth of Rice Cultivars

Differing in Salt Tolerance. Pakistan Journal of Biological Sciences 5(11):1207-1210.

Almaghrabi O. (2012). Impact of Drought Stress on Germination and Seedling Growth Parameters of Some Wheat Cultivars. Life Science Journal 9(1):590-598.

Almeselmani M., Saud A., Al-zubi K., Hareri F., Nassan M., Ammar M., Kanbar O., Al Naseef H., Al-nator A., Al-gazawy A., & Abu Al-sael H. (2012). Physiological attributes associated to water deficit tolerance of Syrian durum wheat varieties. Experimental Agriculture and Horticulture.1:21-41.

Anjum S., Xie X., Wang L., & Saleem W. (2011). Morphological, physiological and biochemical response of plants to drought stress. African Journal of Research 6:2026-2032.

Aroca R. (2012). Plant responses to drought stress: from morphological to molecular features. Springer; Alemania pp:12-13.

Azofeifa A. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. Agronomía mesoamericana 17(2):221-242.

Barrios E., López C. López C., Kohashi J., Acosta J., Miranda S., & Mayek N. (2011). Avances en el mejoramiento genético de frijol en México por tolerancia a temperatura alta y a sequía. *Rev. Fitotec. Mex.* 34(4):247-255.

Bilgin D., Zavala J., Zhu J., Clough S., Ort D., & DeLucia E. (2010). Biotic stress globally down regulates photosynthesis genes. *Plant, Cell and Environment* 33:1597-1613.

Blum A. (2005). Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential- are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research* 56:1159-1168.

Bowne J., Erwin T., Juttner J., Schnurbusch T., Langridge P., Bacic A., & Roessner U. (2012). Drought Responses of Leaf Tissue from Wheat Cultivars of Differing Drought Tolerance at the Metabolite Level. *Molecular Plant* 5:418-429.

Buck H. (2007). Wheat breeding for water stressed environments. Springer; Holanda. pp:289.

Bushuk W., & Rasper V. (1996). Wheat production, properties and quality. Blackie Academic & Professional. Gran Bretaña. 170p.

Carver B. (2009). *Wheat Science and Trade*. Wiley-Blackwell.; Estados Unidos. pp:6-7.

Chaves M., Maroco J., & Pereira J. (2003). Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239-264.

Chaves M., Flexas J., & Pinheiro C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103:551-560.

Chávez-Villalba G., Figueroa-López P., Camacho-Casas M., Fuentes-Dávila G., Félix-Fuentes J., & Valenzuela-Herrera V. (2012). Patronato Oro C2008, trigo cristalino con calidad industrial para el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3(7): 1441-1446.

Chen T., & Murata N. (2002). Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5(3):250-257.

Chmielewski F., & Kohn W. (2000). Impact of weather on yield components of winter rye over 30 years. *Agric. Forest. Meteorol.* 102:253-261.

Danquah A., Zelicourt A., Colcombet J., & Hirt H. (2013). The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances* (in press).

Dellaporta S., Wood J., & Hicks J. (1983). A Plant DNA Miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.

Dhillon B., Saxena S., Agrawal A., & Tyagi R. (2006). *Plant Genetic Resources: Foodgrain Crops*. Narosa.; India. 60 p.

Dixon J., Braun H., Kosina P., & Crouch J. (2009). *Wheat Facts and Futures 2009*. México, D.F.: CIMMYT. pp:1-10.

Dubois M., Gilles K., Hamilton, Rebers P., & Smith F. (1951). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.

Esquivel E. (2002). Lluvia y sequía en el norte de México. Un análisis de la precipitación histórica en Chihuahua. *Gaceta Ecológica* 65:24-42.

FAO. (2012). *Food Outlook: Global Market Analysis*. FAO. Italia. 12 p.

Fang Y., Wu Y., Hernandez N., & Peña R. (2013). Heat and drought stress on durum wheat: Responses of genotypes, yield, and quality parameters. *Journal of Cereal Science* 57:398-404.

Farooq M., Whaid A., Kobayashi N., Fujita D., & Basra S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29:185-212.

Fernández G., & Johnston M. (1986). Fisiología vegetal experimental. Servicio editorial IICA.; Costa Rica. 28 p.

FranceAgriMer. (2012). Mercado de trigo duro: Mundo, Europa, Francia. *Les Études de FranceAgriMer.*; Francia. 34 p.

Fraser, T., Silk W., & Rosr, T. (1990). Effect of low water potential on cortical cell length in growing region on maize roots. *Plant Physiology* 93:648-651.

Figuroa-López P., Félix-Fuentes J., Fuentes-Dávila G., Valenzuela-Herrera V., Chávez Villalba G., & Méndoza-Lugo J. (2010). Cirno C2008, Nueva variedad de trigo cristalino con alto rendimiento potencial para el estado de Sonora. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1(5):745-749.

Félix-Fuentes J., Fuentes-Dávila G., Figueroa-López P., Chávez-Villalba G., Valenzuela-Herrera V., & Mendoza-Lugo J. (2011). Movas C2009: Trigo cristalino con resistencia a roya del tallo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(6):979-984.

Fuentes-Dávila G., Figueroa-López P., Valenzuela-Herrera V., Chávez-Villalba G., Félix-Fuentes J., & Mendoza-Lugo J. (2012). Huatabampo Oro C2009, Nueva variedad de trigo cristalino para el noroeste de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 35(4):351-353.

Fuentes-Dávila G., Valenzuela-Herrera V., Chávez-Villalba G., Félix-Fuentes J., Figueroa-López P., & Mendoza-Lugo J. (2012). Cevy Oro C2008, trigo cristalino con resistencia a roya de la hoja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3(2):403-408.

Fujita M., Fujita Y., Noutoshi Y., Takahashi F., Narusaka Y., Yamaguchi K., & Shinozaki K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology* 9:436-442.

Giunta F., Motzo R., & Deidda M. (1993). Effect of drought on yield and yield components of durum wheat and triticale in a Mediterranean environment. *Field Crops Res.* 33:399-409.

Gupta B., Sengupta A., Saha J., & Gupta K. (2013). Plant Abiotic Stress: 'Omics' Approach. *Plant Biochem. Physiol.* 1(3):108.

Harb A. (2013). Reserve Mobilization, Total Sugars and Proteins in Germinating Seeds of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) under Water Deficit after Short Period of Imbibition. *Jordan Journal of Biological Sciences* 6(1):67-72.

Hegarty, T. (1977). Seed activation and seed germination under moisture stress. *New Phytol.* 78:349-359.

Hernández B., Alvarado J., & Valenzuela J. (2011). Descripción de las variedades de trigo para el valle de Mexicali, B.C. y Norte de Sonora. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Folleto Técnico Num. 18.; México. pp: 5.

Henry R. (2012). *Molecular Markers in Plants.* John Wiley & Sons. Estados Unidos. pp: 12-14.

Hirt H., & Shinozaki K. (2004). *Plant Responses to Abiotic Stress.* Springer; Alemania. pp: 2.

Hussain S., & Rivandi A. (2007). Molecular Breeding for Drought Tolerance in Plants: Wheat Perspective. *Proc. Pakistan Acad. Sci.* 44(1):35-62.

IBPGR. (1985). Descriptors for wheat. International Board for Plant Genetic Resources. Rome. 12 p.

Kallis G. (2008). Droughts. *Annu. Rev. Environ. Resources* 33:85-118.

Khakwani A., Dennett M., & Munir M. (2011). Drought tolerance screening of wheat varieties by inducing water stress conditions. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33(2):135-142.

Kogan F. (1997). Global Drought Watch from Space. *Bulletin of the American Meteorological Society* 78(4):621-636.

Laemmli U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 227(5259):680-685.

Levitt J. (1980): Responses of Plant to Environmental Stress. Vol. II. Water, Radiation, Salt and other Stresses. Academic Press, New York. pp: 365–406.

Li W., Zhang C., Lu Q., Wen X., & Lu C. (2011). The combined effect of salt stress and heat shock on proteome profiling in *Suaeda salsa*. *Journal of Plant Physiology* 168:1743-1752.

Lichtfouse E., Navarrete M., Debaeke P., Souchere V., & Alberola C. (2009). Sustainable Agriculture. Springer. Estados Unidos. 163 p.

Lobell D., Ortiz J., Asner G., Matson P., Naylor R., & Falcon W. (2005). Analysis of wheat yield and climatic trends in Mexico. Field Crops Research 94: 250-256.

López H., Krespine V., Lemaire A., Coudray C., Feillet C., Messenger A., Demigne., & Remesy C. (2003). Wheat Variety has a Major Influence on Mineral Bioavailability; Studies in Rats. Journal of Cereal Science 37:257-266.

López-Santillán J., Castro S., & Huerta A. (2001). Influencia del estrés hídrico sobre el contenido de ceras epicuticulares en etapas fenológicas del sorgo. Rev. Fitotec. Mex. 24(1):57-62.

Lörz H., & Wenzel G. (2008). Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement. Springer; Alemania. 3p.

Mahajan S., & Tuteja N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics 444:139-158.

Martínez-Trinidad T., Vargas-Hernández J., Muñoz-Orozco A., & López-Upton. (2002). Respuesta al deficit hídrico en *Pinus leiophylla*: consumo de

agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia* 36(3):365-376.

Michel B., & Kaufmann A. (1973). The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiol.* 51:914-916.

Miles J., Maass B., & Valle C. (1998). *Brachiaria: Biología, Agronomía y Mejoramiento.* CIAT.;Colombia. 216 p.

Mishra A., & Singh V. (2010). A review of drought concepts. *Journal of Hydrology* 391:202-216.

Moayedi A., Boyce A., & Barakbah S. (2009). Study on Osmotic Stress Tolerance in Promising Durum Wheat Genotypes Using Drought Stress Indices. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 5(5):603-607.

Moreno L. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27(2):179-191.

Morris P., & Bryce J. (2000). *Cereal Biotechnology.* CRC Press.; Estados Unidos. pp:9-12.

Muhammad H., Sattar A., Ali A., & Nadeem M. (2012) Agro-physiological performance of wheat genotypes under normal moisture and drought conditions. Iranian Journal of Plant Physiology. 2(2):361-369.

Nazarli H. & Faraji F. (2011). Response of Proline, Soluble Sugar and Antioxidant Enzymes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) to Different Irrigation Regimes in Greenhouse Condition. Cercetări Agronomice in Moldova. 44(148): 27-33.

OCHA (2011). Mexico: Mexico: Drought (as of 27 Nov 2011) - Location Map. OCHA. Estados Unidos.

Oliveros A. (2009). Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. Quim. Nova. 32(1):198-213.

Pareek A., Sopory S., Bohnert H., & Govindjee A. (2010). Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation. Springer; Holanda pp:105-106.

Pedley K., & Martin G. (2005). Role of mitogen-activated protein kinase in plant immunity. Current Opinion in Plant Biology 8:541-547.

Peña R., Pérez P., Villaseñor E., Gómez M. & Mendoza M. (2008). Calidad de la cosecha de trigo en México. Ciclo primavera-verano 2006. CONASIST-CONATRIGO. México D.F. pp:1-2.

Pereyra, M & Torroba M. (2003). Molecular and physiological responses to water deficit in wheat (*Triticum aestivum* L.). Rev. Fac. Agronomía-UNLPam. 14: 13-22.

Pessaraki M. (2002). Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press.; Estados Unidos. 315 p.

Poland D., Sawkins M., Ribaut J., & Hoisington D. (2004). Resilient crops for water limited environments. Proceedings for a workshop held at Cuernavaca, México. México, DF. CIMMYT. pp:81.

Pradeep M., Sarla N. & Siddiq E. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9-17.

Raza M., Saleem M., Khan I., Jamil M., Ijaz M., & Khan M. (2012). Evaluating the drought stress tolerance efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences 12(12):41-46.

Reguera M., Peleg Z., & Blumwald E. (2012). Targeting metabolic pathways for genetic engineering abiotic stress-tolerance in crops. *Biochim. Biophys. Acta* 1819(2):186-194.

Rhoades J. (1990). Principle effects of salts on soils and plants. Water, soil and crop management relating to the saline water. Expert consultation, AGL/MISC/16/90. FAO. Roma Italia.

Ribaut J. (2006). Drought Adaptation in Cereals. Haworth Press. Estados Unidos pp:230.

Santoyo E., & Quiroz J. (2004). Guía para el cultivo de cereales en el Estado de México. 1a Edición. Gobierno del Estado de México; México pp:1.

Sari-Gorla M., Krajewski P., Di Fonzo N., Villa M., & Frova C. (1999). Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 99:289-295.

Sayar R., Bchini H., Mosbahi M., & Khemira H. (2010). Response of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Growth to Salt and Drought Stresses. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 46:54-63.

Schachtman D., & Goodger J. (2008). Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science* 13(6):281-287.

Selote D. & Khanna Chopra R. (2010). Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation. *Protoplasma* 245:153-163.

Shabala S. (2012). *Plant Stress Physiology*. CABI.; Gran Bretaña. pp:3-9.

Sharp R., Poroyko V., Hejlek L., Spollen W., Spinger G., Bohnert H., & Nguyen H. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany* 55(407):2343-2351.

Shewry P. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany* 60:1537-1553.

SIAP. (2012). Cierre de la producción agrícola por cultivo. Recuperado el 7 de Octubre de 2013, del sitio web de Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: <http://www.siap.gob.mx/agricultura-produccion-anual>.

Siddique M., Hamid A., & Islam M. (2000). Drought stress effects on water relations of wheat. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 41:35-39.

Silvera C., Nieto A., Escobar I., Troyo E., Ruiz F., & Murillo B. (2013). Tolerancia al estrés hídrico en variedades de albahaca *Ocimum Basilicum* L. Terra Latinoamericana 31(2):145-154.

Simane B., Struik P.C., Nachit M., & Peacock J.M. (1993). Ontogenic analysis of yield components and yield stability of durum wheat in water-limited environments. Euphytica 71:211–219.

Smith R. & Kliewer W. (1984). Estimation of Thompson Seedless grapevines leaf area. Am. J. Enol. Vitic. 35:16-22.

Sunnucks P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. Trends in Ecology & Evolution 15(5):199-203.

Tofiño A., Romero H., & Ceballos H. (2007). Efecto del estrés abiótico sobre la síntesis y degradación de almidón. Una revisión. Agronomía Colombiana 25(2):245-254.

Khayatnezhad M., & Gholamin R. (2011). Effects of water and salt stresses on germination on seedling growth in two durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes. Scientific Research and Essays 6(21):4597-4603.

Velasco I., & Montesillo J. (2007). Elementos en la gestión de cuencas en condiciones de sequía. *Gestión y Política Pública* 16(1):5-27.

Villaseñor H., & Espitia E. (2000). El trigo de temporal en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias : México pp:25-26.

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

Wu X., Wang Z., Chang X. & Jing R. (2010). Genetic dissection of the developmental behaviors of plant height in wheat under diverse water regimes. *Journal of Experimental Botany* 61(11):2923-2937.

WWAP (World Water Assessment Programme). (2012). The United Nations World Water Development Report 4: Managing Water under Uncertainty and Risk. Paris. UNESCO. pp:125.

Yan L. & Shi Y. (2013). Effect of Drought Stress on Growth and Development in Winter Wheat with Aquasorb-Fertilizer. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 5(11):1502-1504.