



Revisión bibliográfica TOLERANCIA A ESTRÉS POR DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Review

Water stress tolerance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)

Marilyn Florido Bacallao[✉] y Lourdes Bao Fundora

ABSTRACT. Water is one of the most important factors for the plant growth, therefore, its deficiency is a major source of stress. This article reviews some aspects about different responses at morphological, physiological and biochemical levels in tomato plant. These responses include changes in growth, development, closure of stomata and changes in gene expression, including those encoding protective proteins, antioxidant and osmolyte synthesis enzymes and transcription factors that regulate stress induced gene expression itself, as well as new tools about functional genomics. It also included some aspects related to tomato plant breeding for drought tolerance.

RESUMEN. El agua es uno de los factores más importantes para el desarrollo de las plantas, por lo tanto, su carencia constituye una de las principales fuentes de estrés. En este artículo se recogen algunos aspectos sobre las diferentes respuestas a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico en tomate que le permite adaptarse o tolerar el estrés por déficit hídrico. Estas respuestas incluyen modificaciones en el crecimiento, el desarrollo, cierre de estomas y cambios en la expresión de genes, incluyendo los que codifican proteínas protectoras, enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, enzimas antioxidantes y factores de transcripción que regulan la expresión de genes inducida por el estrés, así como las nuevas herramientas de genómica funcional. También se incluyen aspectos relacionados con la mejora para tolerancia a la sequía en el cultivo.

Key words: tomato, plant breeding, water stress, gene expression, abscisic acid

Palabras clave: tomate, mejora genética, estrés hídrico, expresión génica, ácido abscísico

INTRODUCCIÓN

El déficit hídrico es una de las limitaciones ambientales más grandes de la productividad de los cultivos agrícolas. Se plantea que cerca del 10 % de la superficie del planeta está afectada por estreses hídrico y salino, y muchas hectáreas de tierras son abandonadas constantemente por causa de los mismos (1).

Aproximadamente el 85 % de las tierras emergidas de nuestro planeta están sometidas a la acción de la sequía, y esta falta de agua para las actividades humanas, se ha convertido en uno de los principales problemas a nivel mundial (2). En Cuba los procesos de sequía se han intensificado y se presentan con mayor frecuencia, pues los períodos moderados y severos de déficit de lluvia en los últimos 40 años se han duplicado en cantidad e intensidad. Como consecuencia la sequía ha perjudicado cerca del 76 % de las áreas cultivables (3).

La mayoría de los cultivos, incluyendo el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), son sensibles

al estrés hídrico en diferentes fases de desarrollo, desde la germinación hasta el cuajado de los frutos (4, 5). En cada etapa la planta experimenta cambios a nivel molecular, morfológico, fisiológico y celular (6, 7). Las respuestas de la planta dependen del genotipo y el estadio de desarrollo de la misma en el momento del estrés, de la duración y la severidad del estrés y de los factores ambientales que lo provoquen. En dependencia de la severidad y duración del estrés, las plantas activan mecanismos de defensa a nivel molecular, morfológico, fisiológico y celular (8).

A pesar de la susceptibilidad del cultivo al estrés por déficit hídrico, dentro de sus especies

Dra.C. Marilyn Florido: Investigador Titular del Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700; Lourdes Bao Fundora, Reserva Científica del Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de la Habana.

✉ mflorido@inca.edu.cu; luli@fbio.uh.cu

afines existen especies silvestres que presentan una fuente de variación genética útil, fundamentalmente *S. pennellii*, *S. chilense*, *S. pimpinellifolium* y *S. cheesmanii*, las cuales han sido ampliamente utilizadas en los programas de mejoramiento genético para mejorar determinadas características deseables y caracterizar las bases genético-fisiológicas de la tolerancia a la sequía con vistas a desarrollar plantas tolerantes al estrés en tomate (9, 10). Sin embargo, los progresos logrados en este campo han sido escasos, debido a la complejidad de los caracteres vinculados a la respuesta al estrés hídrico y a los mecanismos fisiológicos, la presencia de numerosos genes, la gran influencia ambiental y la respuesta diferencial durante cada fase de desarrollo de la planta (8, 11, 12, 13).

Una de las principales respuestas al estrés hídrico es la modificación de la expresión génica, relacionada con la producción de enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, proteínas con función protectora, enzimas antioxidantes, factores de transcripción y otras proteínas involucradas en las respuestas al estrés hídrico (15, 16, 17). Los osmolitos, principalmente compuestos orgánicos de masa molecular baja, permiten el ajuste osmótico y facilitan la toma de agua por la planta (18, 19). Entre las proteínas más importantes por su efecto protector potencial están las proteínas abundantes en la embriogénesis tardía (*late embryogenesis abundant*, LEA, por sus siglas del inglés) y las que funcionan como antioxidantes (8, 20). Durante el estrés hídrico también se induce la expresión de varios factores de transcripción que median la respuesta de genes al estrés (21, 22).

Por otra parte, en el campo de la genética molecular, diferentes estudios relacionados con

la transcripción y la expresión génica, han identificado la activación y regulación de diferentes genes en condiciones de sequía. La manipulación de estos genes, relacionados con el mantenimiento de la estructura y función de los componentes celulares, es una de las vías para obtener plantas tolerantes al estrés por sequía (10, 23, 24).

En este artículo se recogen algunos aspectos sobre las diferentes respuestas a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico en tomate que le permite adaptarse o tolerar el estrés por déficit hídrico. Estas respuestas incluyen modificaciones en el crecimiento, el desarrollo, el cierre de estomas y los cambios en la expresión de genes, incluyendo los que codifican proteínas protectoras, enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, enzimas antioxidantes y factores de transcripción que regulan la expresión de genes inducida por el estrés, así como las nuevas herramientas de genómica funcional. También se incluyen aspectos relacionados con las estrategias de mejoramiento genético para tolerancia a la sequía en el cultivo.

RESPUESTAS MORFOLÓGICAS AL ESTRÉS POR DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE

Las plantas responden al estrés hídrico desarrollando adaptaciones evolutivas tanto a nivel morfológico, anatómico y celular, que les permiten vivir en condiciones de constante estrés hídrico (6, 25). Ellas también poseen mecanismos de aclimatación que se activan en respuesta a estrés hídrico (25). Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, se dan cambios en procesos de desarrollo que tienen varios efectos sobre el crecimiento. La limitación de la expansión foliar es uno de los procesos más afectados en estas

condiciones, pues de ella depende la fotosíntesis.

Otro proceso que se modifica es el crecimiento radicular. Se plantea que este es uno de los sitios primarios de percepción del daño. Las raíces son un órgano clave para la adaptación a la sequía. En muchas circunstancias la sensibilidad de las raíces al estrés limita la productividad de las plantas (26, 27). La planta necesita un sistema radical con una arquitectura (densidad, tamaño, proliferación) que responda a la demanda de agua de los órganos aéreos (28). En el cultivo del tomate, se ha detectado que una elongación de las raíces rápida y temprana es un indicador importante de resistencia al estrés (10).

La disponibilidad de agua afecta la relación entre el crecimiento de la parte aérea y la raíz; la raíz continúa su desarrollo mientras que la parte aérea deja de crecer por causa del estrés. Así, las plantas son capaces de continuar el desarrollo de sus raíces en búsqueda de agua en zonas más profundas del suelo (29, 30, 31, 32). La división celular, aunque resulta afectada por el estrés hídrico, normalmente es menos sensible que la expansión celular. Además de una inhibición del crecimiento, el déficit hídrico modifica el desarrollo y la morfología vegetal como cambios en la relación raíz/parte aérea (8).

En general, el déficit hídrico afecta cada aspecto del crecimiento de la planta que involucra a la anatomía, morfología, fisiología y bioquímica. Entre los efectos generales más obvios de estrés hídrico son los fallos en la germinación, la reducción en la altura de la planta, área foliar y rendimiento del cultivo. De aquí que las investigaciones en este campo deben incluir aspectos relacionados con el rendimiento, estatus de agua, así como de procesos fisiológicos y bioquímicos involucrados (5, 33, 34, 35).

En tomate, se han informado, además, disminuciones en el número de flores y frutos, en la masa promedio de los frutos, las masas fresca y seca de la planta y del porcentaje de fructificación conjuntamente con el potencial hídrico de la hoja y el uso eficiente de agua (*water use efficient*, WUE, por sus siglas en inglés), asociados con incrementos en la temperatura de la hoja y la resistencia estomática (10, 36, 37).

Durante la germinación, etapa esencial en el crecimiento y desarrollo de la planta, el déficit hídrico puede provocar alteraciones durante la imbibición y puede ocurrir activación de procesos metabólicos como la rehidratación, los mecanismos de reparación y la emisión de la radícula (38).

La adaptación al estrés hídrico implica la reducción de la deshidratación celular, ya sea por evitación de la sequía y de deshidratación o tolerancia al estrés. Algunos ejemplos de evitación son una rápida ontogenia, desprendimiento de las hojas y frutos, enrollamiento de estas y una baja conductancia estomática al vapor de agua. La tolerancia al estrés hídrico involucra el desarrollo de bajos potenciales osmóticos y acumulación de solutos en respuesta al estrés, que es una característica presente en muchas especies de plantas en ambientes áridos (18, 39, 40).

En general, este cultivo necesita un control del suministro hídrico durante toda la etapa de crecimiento para lograr una calidad óptima de sus frutos y altos rendimientos (20, 41). Las etapas más sensibles al déficit hídrico en tomate son las comprendidas durante el establecimiento de la planta (germinación y fase de plántula), inmediatamente después del trasplante, la de floración y la de desarrollo del fruto (6, 10).

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS AL ESTRÉS POR DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE

El estrés por déficit hídrico o por sequía se produce en las plantas en respuesta a un ambiente escaso en agua, en donde la tasa de transpiración excede a la toma de agua. El déficit hídrico no solo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por temperaturas bajas y por una salinidad alta en el suelo. Estas condiciones, capaces de inducir una disminución del agua disponible del citoplasma de las células, también se conocen como estrés osmótico (22).

Las respuestas de la planta dependen del genotipo y el estadio de desarrollo de la misma en el momento del estrés, de la duración y la severidad del estrés y de los factores ambientales que lo provoquen (42). Un mecanismo importante en el mantenimiento del consumo de agua y turgencia celular en condiciones de estrés hídrico es el ajuste osmótico.

El ajuste osmótico se produce en las plantas a través de la biosíntesis de osmolitos y por la acumulación de iones, fundamentalmente K^+ y NO_3^- (43, 44). La acumulación de iones durante el ajuste osmótico ocurre principalmente en la vacuola, mientras que en el citoplasma se acumulan solutos que no afectan la funcionalidad de macromoléculas celulares (45). Estos solutos son moléculas orgánicas de masa molecular baja (osmolitos) como azúcares solubles (principalmente glucosa y fructuosa), ácidos inorgánicos (22, 44, 46). Esta respuesta se conoce como osmoregulación que está dada por la capacidad estabilizadora de algunos de estos solutos sobre macromoléculas como las proteínas y los sistemas de membrana celulares y que son importantes en el mantenimiento del potencial de turgencia y el

funcionamiento de la maquinaria celular, cuando el potencial osmótico de las células disminuye (28). Este ajuste osmótico, influye en el crecimiento de la raíz para incrementar la extracción de agua, mientras existe la escasez de este recurso (47, 48). Diferentes tipos de organismos como plantas, bacterias, hongos y animales presentan osmolitos compatibles que se caracterizan por no alterar la estructura y función de las macromoléculas, cuando se acumulan en concentraciones altas. La sobreproducción de este tipo de compuestos protege a las plantas de tomate de los efectos causados por el estrés osmótico, (21, 49).

La acumulación de solutos compatibles como la prolina, glicina betaína (GB) y trehalosa también están involucradas en la tolerancia a estrés abiótico por protección de las proteínas y estructuras de la membrana de la deshidratación, regulando el estatus redox o actuando como desintoxicador de radicales libres (18, 50, 51, 52, 53). La trehalosa está presente en algunas plantas superiores tolerantes a la desecación, así como la glicina betaína (19, 54, 55). En diversas plantas hay una sobreexpresión de las enzimas clave en la biosíntesis de osmolitos como la prolina y otros aminoácidos durante condiciones de estrés, las poliaminas y los compuestos cuaternarios de amonio como la glicina betaína, la sacarosa, los polioles, los azúcares, alcoholes y otros oligosacáridos (35, 56). La GB solo se ha observado en algunas plantas superiores, y su síntesis se induce tanto por estrés hídrico como por estrés salino, por sobreexpresión de las enzimas colina monooxigenasa (CMO) y betaína aldehído deshidrogenasa (57). La GB ha mostrado proteger enzimas y membranas, así como estabilizar complejos proteína-pigmento del PSII en condiciones de estrés (58, 59). La sobreexpresión de

estos y otros osmolitos en plantas transgénicas confieren un cierto grado de tolerancia al estrés hídrico (21, 60).

La prolina es uno de los osmolitos más estudiados en tomate y su concentración se incrementa significativamente después de la exposición al estrés, aunque no se había logrado un consenso entre la tolerancia al estrés y la acumulación de prolina (21). Algunos autores plantean que la acumulación se considera como un síntoma de daño y no de tolerancia al estrés, mientras que otros autores informan que los incrementos observados en los niveles de prolina, estuvieron relacionados principalmente con mecanismos de tolerancia a corto plazo (21, 61, 62). Diversos autores señalan que los cambios inducidos por estrés en los contenidos de osmolitos son muy dependiente de la duración, intensidad y progresión del estrés, señalando que variaciones en el contenido de prolina pueden mostrar repuestas adaptativas de las plantas en orden a restablecer la homeostasis osmótica a mediano plazo, pero pueden también mostrar una estrategia de defensa de la planta para mitigar los efectos dañinos inducidos por estrés a largo plazo, después de una exposición prolongada a la sequía (46).

A nivel fisiológico uno de los mecanismos fundamentales de tolerancia al estrés por déficit hídrico es el cierre de estomas, ya que estos son los responsables de la mayor proporción de pérdida de agua en las plantas (63). El proceso de cierre de los estomas, cuando el mesófilo comienza a sufrir deshidratación, está regulado por el ácido abscísico (ABA) y posiblemente por otras señales generadas en respuesta al estrés abiótico (16). El contenido de ABA en la hoja se incrementa debido a la descompartmentación y redistribución desde los cloroplastos de las células del mesófilo y a la síntesis y transporte desde las raíces, siendo liberado al apoplasto

para llegar a las células guarda a través de la corriente de transpiración (64). El ABA produce una pérdida de iones K^+ y de aniones Cl^- o malato en las células guarda, que provoca una salida de agua del citoplasma, dando lugar al cierre del estomático (22, 65).

Diversos autores han indicado la relación del ABA con incrementos en la tolerancia a estrés por déficit hídrico (8, 17, 66, 67, 68, 69). En tomate, estudios recientes mostraron que plantas transgénicas tolerantes a la sequía indujeron la sobreexpresión de una dehidrina de tomate (*TAS14*), y lo que se asoció con un incremento rápido en los niveles de ABA en hojas (70), lo cual corroboró el papel de esta fitohormona en la tolerancia. La acción del ABA puede estar involucrada en la supresión de la producción de etileno (71, 72). Además, se ha señalado que la acumulación de ABA inducido de solutos compatibles como prolina, puede ser fundamental para evitar la deshidratación (73). Por tanto a nivel de organismo parece que la función principal del ABA es coordinar varios aspectos de la respuesta al estrés abiótico (21, 68, 74).

Otro indicador relacionado con la apertura o cierre de estomas, con la reducción de la tasa de transpiración y el área foliar (7) en condiciones de déficit hídrico es el WUE. Se plantea que este interviene en el mantenimiento de la transpiración y del área foliar, incrementando el vigor y la densidad de las raíces en respuesta a la sequía (28).

El estrés por déficit hídrico provoca asimismo, la disminución de la asimilación de CO_2 y consecuentemente una reducción de la tasa fotosintética, aunque las causas de la disminución de la fotosíntesis en condiciones de estrés abiótico no están todavía bien esclarecidas (16, 75). La disminución de la difusión de CO_2 de la atmósfera al sitio de carboxilación, generalmente se

considera la causa principal de la disminución de fotosíntesis en condiciones de déficit hídrico moderado (75, 76). Esta limitación incluye componentes del mesófilo y estomáticos (77, 78). Además de la disfunción del CO_2 , la síntesis de ATP y el estado reductor, las condiciones de estrés abiótico pueden afectar negativamente el ciclo de Calvin por reducción del contenido y actividad del carbono fotosintético en el ciclo enzimático, incluyendo la ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RUBISCO), fructuosa 1,6 bifosfato (FBPase) y la piruvato ortofosfato dikinasa (PDK). Además, durante este proceso ocurre una disminución en la síntesis de ATP (7, 79). En tomate la disminución fotosintética y la disponibilidad de carbohidratos no parece ser el principal factor involucrado en el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés, sino más bien la distribución y el uso de fotoasimilados en el órgano fuente (80).

Existen además cambios metabólicos, no menos importantes, que afectan la maquinaria fotosintética, entre estos hay que señalar el daño en los pigmentos fotosintéticos y en los componentes celulares (81, 82). Estos efectos pueden provocar la disminución de la expansión foliar y la senescencia prematura de la hoja. Asimismo, en condiciones de estrés hídrico se estiman disminuciones de la turgencia, del contenido relativo de agua (CRA) y de la conductancia estomática (7).

RESPUESTAS BIOQUÍMICAS AL ESTRÉS POR DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE

La respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés incluye la alteración en la expresión de proteínas. Estos cambios generalmente se relacionan con el aumento o la disminución de la expresión de genes específicos,

y dependen de la naturaleza, duración y severidad del estrés.

Una de las principales respuestas al estrés hídrico es la modificación de la expresión génica, relacionada con la producción de enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, proteínas con función protectora, enzimas antioxidantes, factores de transcripción y otras proteínas involucradas en las respuestas al estrés hídrico (8, 69, 83, 84). Entre las proteínas más importantes por su efecto protector potencial están las proteínas abundantes en la embriogénesis tardía y las que funcionan como antioxidantes como ubiquitininas (8, 20, 85). Se ha propuesto que las proteínas LEA protegen proteínas y membranas del daño debido a la deshidratación (8, 69, 86).

Las proteínas LEA se inducen por frío o estrés osmótico, por ácido abscísico exógeno o incluso son expresadas constitutivamente como es el caso de la *dhnX* de *Arabidopsis thaliana* (87). Las investigaciones indican un posible papel de estas proteínas en la tolerancia a la deshidratación, probablemente a través del mantenimiento de la estructura de proteínas o membranas, secuestro de iones, captación de agua y función como chaperonas moleculares (8, 42, 86). Las múltiples dianas de las proteínas LEA (eucromatina, citosol, etc.) sugieren que las consecuencias directas de dichas proteínas son bioquímicamente diversas (88).

Cuando las plantas están expuestas a sequía la disponibilidad de CO_2 se restringe y la síntesis de ATP es dañada, la concentración de NADP^+ es generalmente muy baja, lo cual conlleva a un exceso de excitación de energía en la fotosíntesis. Los altos estados de energía pueden ser disipados por *quenching* no fotoquímico (ciclo de xantofila) o procesos alternativos, tales como el metabolismo fotorespiratorio (16).

Si no se disipa los electrones acumulados en la cadena de transporte electrónico y son transferidos a oxígeno (reacción de Mehler), se generan especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS, por sus siglas en inglés). Este efecto es común en plantas expuestas a diferentes condiciones de estrés abiótico (15, 17, 89, 90), las cuales inducen la actividad de enzimas antioxidantes.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden dañar diferentes componentes celulares (membranas, ADN, lípidos) contribuyendo al estrés oxidativo. También inactivan la reacción centro de reacción fotoquímica del PSII, causando fotoinhibición. La mayoría de los estrés ambientales inactivan el PSII por inhibición de los mecanismos de reparación daño oxidativo más que por el ataque directo (91, 92).

Las plantas tienen un mecanismo defensivo y utilizan varias estrategias bioquímicas para sobreponerse el estrés oxidativo. La defensa enzimática de las plantas incluye las enzimas antioxidantes tales como peroxidasa (Prx), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), la mono dehidroascorbato reductasa (MDAR), junto con otras enzimas del ciclo ascorbato-glutatión, promotores de la eliminación de ROS (17, 90, 93). Otro grupo de proteínas que se expresan durante estrés hídrico incluye las de choque término, las proteínas transportadoras de iones y aquellas que permiten el transporte de agua (acuaporinas), las proteasas, las proteínas kinasas, las fosfatasa, las proteínas involucradas en el metabolismo de los fosfolípidos y los factores transcripcionales (14, 84, 94). El sistema de defensa bioquímica también incluye carotenoides, ascorbato, glutatión y tocoferol. Varios autores sugieren que la función de

azúcares, polioles, glicina betaína y prolina puede ser proteger a las células contra los radicales hidroxilo (95). Una correlación entre la capacidad antioxidante y tolerancia a la salinidad ha sido informada en tomate en estudios comparativos entre especies cultivadas y silvestres (11, 52, 96).

Apesar de los efectos nocivos provocados por incrementos de las ROS, estudios recientes han mostrado que estas juegan un papel clave en plantas como señal de transducción molecular involucrados en la mediación de respuestas a estrés abiótico, sugiriendo que las señales ROS como una parte integral de la respuesta adaptativa de las plantas a estrés hídrico (15, 17, 97). El H_2O_2 parece modular la actividad de muchos compuestos que contribuyen a señales celulares incluyendo los canales de K^+ y Ca^{2+} (98). Aunque las ROS han sido bastante estudiadas en plantas (17, 97), se necesitan más estudios para llegar a conclusiones sobre el papel de la producción de las mismas en condiciones de estrés en tomate, quizás el nivel de ROS puede ser un factor clave produciendo acciones favorables a concentraciones bajas y el estrés oxidativo se produzca a concentraciones altas.

En condiciones de estrés hídrico se sintetizan además proteínas secretoras destinadas al compartimento vacuolar o la matriz extracelular. Entre la familia de proteínas del RE identificadas en plantas, la proteína de unión al lumen BiP, (del inglés *Binding Protein*) es una de las más caracterizadas. La proteína BiP es una chaperona que forma parte de la familia de proteínas Hsp70 reguladas por el estrés. Su papel protector frente al estrés hídrico se puede asociar con la protección de la estructura proteica y la integridad de la membrana. Esta proteína puede facilitar la formación y maduración de un grupo de proteínas secretoras

inducidas por estrés hídrico, que probablemente están implicadas en el mecanismo de respuesta osmótica (99).

Otro mecanismo de protección frente al estrés hídrico consiste en regular el movimiento del agua, tanto a nivel intracelular como a través de los tejidos y órganos de la planta. En este proceso intervienen las proteínas intrínsecas de la membrana (MIP, del inglés *Membrane Intrinsic Proteins*). Estas constituyen canales de agua que facilitan el transporte pasivo de agua y solutos pequeños a través de membranas de distintos orgánulos (94, 100). Las acuaporinas pertenecen a la subfamilia de las MIP.

El descubrimiento de las acuaporinas en las plantas ha provocado un cambio significativo en la comprensión de las relaciones hídricas de las plantas. Sus niveles de expresión altos se muestran en regiones de rápido crecimiento, en los brotes y en las hojas, también en las raíces donde se produce la absorción de agua (94). Se sabe que el estrés hídrico actúa sobre la función de la acuaporina a nivel de transcripción, relocalización de proteínas y entrada mediante fosforilación reversible o mediante efectos directos sobre los gradientes osmóticos o hidrostáticos (84). Sin embargo, aún se desconoce como las plantas integran estos mecanismos en el tiempo y espacio y ajustan el transporte hídrico y las propiedades del transporte de solutos de sus membranas.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES DURANTE EL DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE

Una respuesta molecular de las plantas al estrés, y quizás una de las más importantes, es la modificación de la expresión de genes. Durante el déficit

hídrico, diferentes tipos celulares responden incrementando o disminuyendo la expresión de estos. Igualmente, se ha visto que muchos genes que no se expresan en condiciones de irrigación óptima pueden empezar a hacerlo en condiciones de estrés por déficit hídrico (14, 21, 101).

Diversos estudios han contribuido al conocimiento de los mecanismos y principales genes involucrados en la tolerancia a la sequía en plantas; sin embargo, estos se han identificado en cultivos modelos como *Arabidopsis* o en especies silvestres donde el papel puede variar de acuerdo a las especies, como parece ocurrir con el gen *SISOS1* (102). Recientemente en análisis comparativo de genes transportadores de membrana en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) y *Arabidopsis* se pudo conocer que aunque muchos genes transportadores eran similares, *Arabidopsis* presentaba arreglos más diversos de genes por transporte multiflujo de carbohidratos y nutrientes (103). Al respecto, se ha demostrado que después de la percepción del estrés, las plantas pueden desencadenar señales de transducción en cascadas, las cuales activan los genes de respuesta al estrés y finalmente conllevan al cambio de los niveles fisiológicos y bioquímicos (67, 103). La mayoría de los estudios tratan de descifrar la función de los genes que codifican a los componentes efectores, tales como los que codifican para antiporterios, HSP, SOD y proteínas LEA, más que componentes (reguladores), tales como los que codifican para factores de transcripción y kinasas.

Recientemente, se han obtenido plantas transgénicas para incrementar la tolerancia a estrés abiótico como la sequía (13). Esos genes incluyen los que codifican para enzimas y la síntesis de solutos como el manitol y poliaminas, los cuales contribuyen

a la osmorregulación. Las plantas transgénicas de tomate que sobreexpresan esos genes crecen y fructifican en condiciones de sequía, en condiciones donde los controles no sobreviven.

En plantas transgénicas de tomate se han descrito varios genes que codifican a enzimas que confieren tolerancia a estrés osmótico o por déficit hídrico. Entre ellos se encuentran los genes *BADH-1* (betaína aldehído dehidrogenasa), *TPS1* (trehalose-6-phosphato synthasa) de *S. cerevisiae*, *P5CS* (Δ^1 -pirrolina-5- carboxilato sintasa), *5PTse* (inositol 5 polifosfatasa tipo I) y *mt1D* (manitol-1-fosfato dehidrogenasa) y los que sobreexpresan la osmotina. Sin embargo, las plantas con estos genes a menudo presentan algunos cambios pleiotropicos indeseables en su morfología. Asimismo se ha encontrado que la supresión del gen *PO* (polifenol oxidasa) incrementa la tolerancia a la sequía en el cultivo (13, 20, 104).

Los patrones de expresión de los genes inducibles por estreses abióticos son complejos y muchos de ellos son inducidos también por la aplicación exógena de ABA (8, 13, 102, 105, 106). Existen, sin embargo, algunos genes inducibles por estrés abiótico que no responden a esta fitohormona. Esto sugiere que entre la señal inicial de sequía y la expresión de genes específicos existen cascadas de señales de transducción dependientes e independientes de ABA. Además, el ABA también induce la expresión de varios genes que intervienen en la tolerancia a la deshidratación en plantas. Los promotores de esos genes comparten secuencias regulatorias que son reconocidas por factores que actúan en *trans* o en *cis* (68). La expresión inducida de ABA depende frecuentemente de la presencia de elementos que actúan en *cis* llamados ABRE, a los cuales se unen factores de transcripción característicos

de plantas que contienen un homeodominio bZIP (*leucine-zipper* o cremallera de leucina) conocido como proteínas que unen a elementos de respuesta a ABA (ABRE) o factores AREB (*ABA response element binding factor*, *ABF*) (13, 20, 69, 86). El ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) que codifica a bZIP se aisló en plantas silvestres y cultivadas de tomate y se informó que su expresión se indujo por ABA y diferentes tipos de estrés abióticos incluido la sequía (107).

Entre los elementos que median la respuesta al ABA se han descrito elementos tipo Myb y Myc en el gen *rd22* de *A. thaliana*. Puesto que estos elementos median la respuesta del gen *rd22* a estrés hídrico y parecen regular la inducción de una manera dependiente de la síntesis de proteínas, se ha sugerido que Myb y Myc pueden regular genes cuya inducción por ABA depende de la síntesis de proteínas, lo cual no sucede en la regulación vía ABRE (13, 14). En tomate las plantas transgénicas que sobreexpresan los genes *Osmyb4* de arroz que codifican para MYB mostraron incrementos en la tolerancia a la sequía y a enfermedades virales (108). Asimismo, se han clonado y secuenciado los genes *sp12* y *sp5* relacionados con la sobreproducción de ABA y el incremento de WUE en condiciones de déficit hídrico (72) y *tos1*, el cual incrementa la sensibilidad al ABA (109).

La expresión de un clon ADNc de tomate bZIP (*SIAREB1*) en tomate y tabaco regularon la transcripción de genes de respuesta al estrés como *RD29B*, *ERD10B* y *TAS14*, y el factor de transcripción *PHI-2* (107), lo que sugiere que estas están involucradas en la tolerancia a la sequía en el género *Solanum*.

En condiciones de estrés en el cultivo están involucradas además, las proteínas de respuesta al

estrés ASR (del inglés *abscisic stress ripening*) en los procesos de adaptación fisiológica de especies silvestres a climas secos. El primer gen clonado en el tomate cultivado fue el gen *Asr*, la acumulación de su ARNm se observó en condiciones de estrés hídrico, al aplicar ABA exógeno y durante la maduración del fruto. Más tarde, se clonaron otros genes *Asr* en tomate. *Asr1*, *Asr2* y *Asr3* que presentan un alto grado de similitud en su secuencia nucleotídica (alrededor del 80 %) y se encuentran mapeados en el cromosoma 4 (110).

Se ha encontrado que las plantas transgénicas de tomate que expresan el gen *ABF4/AREB2* de *Arabidopsis* muestran mayor tolerancia a la sequía debido a una disminución de la pérdida de agua por unidad de área foliar. Recientemente se observó que la sobreexpresión de *SIAREB* incrementa la tolerancia al déficit hídrico (111). La sobreproducción de *SIAREB* estuvo relacionada con la expresión de *AtRD29A*, *AtCOR47* y *SIC17* (13).

La expresión de factores transcripcionales *DREB1A* (*dehydration response element binding factors*) conllevan a la expresión de genes constitutivos inducibles por el estrés que incrementan la tolerancia al estrés hídrico en tomate y *Arabidopsis* (14). En *Arabidopsis* se sobreexpresó el ADNc que codifica para *DREB1a* bajo el control de un promotor 35s. Las plantas mostraron incrementos en la tolerancia a la sequía, a expensas de una disminución significativa del crecimiento. Sin embargo, su sobreexpresión bajo el control del promotor *rd29A* minimizó estos efectos en condiciones normales de crecimiento y proporcionó mayor tolerancia al estrés. Resultados similares se han obtenido en tomate, donde la expresión de *CBF1* de *Arabidopsis* mejora la tolerancia al estrés, disminuyendo el crecimiento y rendimiento de las plantas en condiciones

normales (112). Al respecto, se ha señalado que el uso de promotores específicos inducibles por estrés puede proteger a las plantas transgénicas de tales anomalías del crecimiento. En tomate, las plantas transformadas *ABRC1-CBF1* exhiben incrementos en la tolerancia al estrés, asimismo mantienen un crecimiento normal y un rendimiento similar al de las plantas no transformadas (46).

La transducción de la señal en condiciones de estrés osmótico en plantas se produce a través de fosforilaciones catalizadas por proteínas kinasas. Su actividad puede estar modulada por el Ca^{2+} , directamente como en las proteínas kinasas dependientes del Ca^{2+} (CDPK), o a través de una proteína que se activa al unirse al Ca^{2+} (*calmodulina*, *calcineurin B-like*, sensor CBL) en las *CBL-interacting protein kinase* (CIPK). Hay también rutas independientes del Ca^{2+} , como la cascada de las MAPKs (proteínas kinasas activadas por mitógenos, del inglés *Mitogen-activated protein kinase*), que se activa por diferentes estreses abióticos como la sequía y está formada por tres proteínas interrelacionadas que median la fosforilación de residuos serina/treonina de proteínas específicas con las kinasas en plantas transgénicas de tomate incrementan la tolerancia a estrés abiótico (13, 15, 16, 46). Se necesitan más estudios para dilucidar los principales genes involucrados en los mecanismos de transporte de K^+ en condiciones de sequía (102).

Dentro de las proteínas más estudiadas que se acumulan en respuesta al déficit hídrico se encuentran las proteínas LEA o dehidrinas. En tomate la expresión del gen *TAS14*, muestra secuencias similares a otras dehidrinas, que son reguladas por ABA, salinidad y estrés osmótico. Se ha observado que la sobreexpresión de *TAS14* en plantas transgénicas de tomate

mejora la tolerancia a la salinidad y la sequía y que esta tolerancia se asocia a un incremento rápido en la producción de ABA en las hojas de las plantas transgénicas después de aplicar el estrés (46).

Estudios moleculares con plantas deficientes en la producción de ABA (como son los mutantes *flacca* (*flc*), *notabilis* (*not*), and *sitiens* (*sit*) de tomate) han demostrado que numerosos genes tienen una expresión anómala ante situaciones de estrés (14, 113). Igualmente, se han identificado varios genes importantes en dicha respuesta en estudios con mutantes afectados como las *aba* (bloqueadas en la síntesis de ABA) y las *abi* (insensibles a ABA).

Se ha demostrado que el ABA es un mediador esencial en la activación de la respuesta de las plantas a la deshidratación y a los estrés por frío y osmótico. Recientemente se clonó el gen *SINCE1* (*LeNCD1*) y se demostró que su sobreexpresión consigue un uso eficiente de agua en tomate (114). Asimismo, se ha estudiado la respuesta cruzada que ocurre entre el ABA y el etileno en tomate, siendo, al parecer, los loci *TSS2* y *TOS1*, los reguladores de este proceso. Apartir de una mutación espontánea de (*Aco1*) de la especie silvestre *S. pennelli* se clonó su homólogo de tomate, *SIFUM1*, el cual tiene un papel importante en la función estomática y consecuentemente en la tolerancia a estrés osmótico (46). Otros estudios relacionados con factores responsables de etileno (EFRs) mostraron que plantas transgénicas de tomate *LeERF1* presentaron mayor tolerancia a la sequía que el tipo silvestre no transformado (115).

Se aislaron además, varios genes transportadores de azúcar (*LeSut1*, *LeSUT2* y *LeSUT4* y se demostró que su inhibición afectó el desarrollo del fruto. Se piensa que estos genes estén involucrados en la respuesta del tomate a

estrés hídrico, pues las plantas usan regularmente el azúcar para reducir el potencial osmótico en las hojas y evitar la deshidratación en esas condiciones (46, 68, 102).

La sobreexpresión ha sido una estrategia ampliamente utilizada para incrementar la tolerancia a la sequía en plantas transgénicas (7, 14, 21, 28, 30). Pero cada vez hay más evidencias que explican que a veces promotores potentes y constitutivos como CaMV-35S, involucran un alto costo energético que disminuyen los rendimientos de estas plantas (70, 116) y en otros casos los efectos beneficiosos de los transgenes son enmascarados por efectos pleiotrópicos por el uso de promotores potentes (8, 14). Evidencias en este campo apoyan la idea de utilizar promotores inducibles.

Es difícil estimar la proporción de genes cuya sobreexpresión conlleva a efectos pleiotrópicos indeseables o disminución del rendimiento. En la mayoría de los casos los datos en la tolerancia en plantas transgénicas no están acompañadas por una caracterización fenotípica, e incluso menos, del rendimiento en o sin condiciones de estrés. Los resultados en análisis funcional de varios genes supuestamente relacionados con sequía han revelado que la sobreexpresión de algunos de ellos está ligada a esos tipos de efectos colaterales e indeseables, mientras otros no (46).

El algunos casos el uso de promotores inducibles o específicos puede ser esencial para evitar el silenciamiento génico basado en homología (13, 44, 46). La identificación de nuevos elementos *cis* regulatorios, los que siguen una expresión propia en tiempo y espacio, podrían ser un objetivo fundamental en un futuro cercano (14, 20).

Se ha determinado que una parte importante de la respuesta fisiológica al ABA es a través de la expresión génica de *novos*. Muchos

genes que se expresan durante la fase tardía de desarrollo del embrión pueden ser inducidos por el ABA exógeno en embriones y tejido vegetativo. También los niveles endógenos de ABA se incrementan en diferentes condiciones de estrés, incluido el déficit hídrico (46). Estos datos, junto con el estudio de promotores y la caracterización de los mutantes deficientes en ABA de *A. thaliana*, apoyan la participación del ABA endógeno en la regulación de la expresión de genes durante estrés. Los cambios en la expresión génica le pueden conferir a la planta la habilidad para responder apropiadamente al estrés y sobrevivir a esta condición. Sin embargo, no todos los genes que se inducen bajo estrés tienen una función adaptativa, ya que muchos son producto de daños a nivel celular. Las plantas sometidas a déficit hídrico presentan alteraciones en procesos fisiológicos y metabólicos, como reducción en las tasas de fotosíntesis, disminución de la síntesis de proteínas totales y en las tasas de crecimiento. Estas alteraciones pueden ocasionar un cambio en el nivel de expresión de genes específicos que indica el daño y que no están involucrados en procesos de adaptación a la condición estresante.

Ahora bien, teniendo en cuenta el escaso número de genes de tomate identificados hasta la fecha relacionados con el estrés hídrico, son objetivos prioritarios la identificación de nuevos genes involucrados en la respuesta y de mecanismos de tolerancia a la sequía.

COMPLEJIDAD DE LOS ENSAYOS Y FUENTES DE VARIACIÓN

Varias especies silvestres de tomate se han utilizado para la caracterización genética y fisiológica de la tolerancia al estrés abiótico y con fines de mejora

(11). Sin embargo, a pesar de décadas de investigación sobre la tolerancia a la sequía en tomate, hasta ahora sigue siendo un desafío importante para los fitomejoradores; hay unos pocos informes de cultivares de tomate tolerantes al estrés desarrollados a través de protocolos de mejora tradicionales. En general, la respuesta de una planta al estrés ambiental es modulada por diversas características fisiológicas y agronómicas, que pueden ser controlados por las acciones de varios a muchos genes cuyas expresiones están influenciadas por el ambiente (11, 64, 69, 117). Además, la tolerancia al estrés depende en gran medida de la etapa de desarrollo, la tolerancia en una etapa de desarrollo de la planta a menudo no se correlaciona con la tolerancia en otras etapas (7, 8, 10). Es por ello que la tolerancia a estrés hídrico debe evaluarse en diferentes etapas del desarrollo de la planta, incluyendo la germinación de la semilla y la fase vegetativa, de floración y la reproductiva. Cada etapa de desarrollo (que puede ser considerado como un carácter separado) pueden requerir un procedimiento de detección diferente y la detección simultánea o secuencial puede ser poco práctica o imposible (10, 11).

Además la cuantificación de la tolerancia a menudo presenta serias dificultades. La selección fenotípica en condiciones de campo es difícil porque diversos factores ambientales no controlables afectan la precisión y la repetitividad de estos ensayos. Es difícil que exista una técnica de detección fiable que pudiera ser usada año tras año, generación tras generación. Por otra parte, la selección utilizando mediciones fenotípicas, requiere personal especializado y áreas de campo. Por lo tanto, el reto ha sido incrementar la eficiencia en la selección y mejora genética para la tolerancia al estrés. Estas y otras

complejidades han conducido a un éxito limitado en el desarrollo de plantas de tomate tolerantes a la sequía o la mejora de rendimiento del cultivo en ambientes secos.

Existen estudios que evidencian que la germinación en tomate se ve afectada por condiciones de estrés por déficit hídrico. Se conoce que la mayoría de los cultivares comerciales son sensibles a este estrés durante esta etapa. Sin embargo, las fuentes de la tolerancia se han identificado en las especies silvestres, incluyendo *S. pennellii* y *S. pimpinellifolium* (10). Estos autores en estudios de herencia utilizando como progenitor tolerante la accesión LA722, perteneciente a *S. pimpinellifolium*, encontraron una heredabilidad en sentido estrecho de 0,41, indicando que la tolerancia al estrés hídrico durante la germinación era controlada genéticamente y que podría ser mejorada por la selección fenotípica direccional. En análisis de los *loci* de caracteres cuantitativos (QTL, del inglés *Quantitative Trait Loci*) utilizando este mismo progenitor encontraron cuatro QTLs ubicados en los cromosomas 1, 4, 8, 9 y 12 relacionados con la tolerancia al déficit hídrico, los que fueron estables durante la germinación en diferentes poblaciones de tomate derivadas del cruce de NC84173 x LA722, lo que sugiere su utilidad para evaluar la tolerancia al déficit hídrico durante esta etapa mediante selección asistida por marcadores (MAS, del inglés *Marker Assisted Selection*).

El crecimiento vegetativo y las etapas posteriores del desarrollo en tomate igualmente se afectan por este estrés. Las fuentes potenciales de genes durante estas fases se han identificado en las especies silvestres *S. chilense* y *S. pennellii*, sobre todo entre las accesiones nativas de hábitats secos (9, 10). Estos autores emplearon diferentes índices de tolerancia, fundamentalmente, características agronómicas relacionadas con

el rendimiento, la eficiencia del uso del agua, la recuperación después del riego, resistencia estomática, la supervivencia de la planta, el potencial hídrico foliar, el potencial osmótico de la hoja, la osmorregulación, daños oxidativos, la tasa de transpiración y fotosintética y la actividad enzimática (11, 36). Se sugieren dos mecanismos diferentes de tolerancia en estas especies, al parecer la base fisiológica en *S. chilense* podría relacionarse con su sistema radical vigoroso y profundo (9). Sin embargo, en *S. pennellii* accesión LA716 es más probable que sea debido a su capacidad para conservar la humedad durante períodos de escasez de lluvias, por presentar un alto WUE, pues su sistema radical es muy limitado (10, 36).

Aunque el crecimiento y la reproducción han sido muy estudiados en tomate, pocos han sido los ensayos relacionados con el control genético de la tolerancia a la sequía. Solamente se han identificado tres QTLs asociados con el WUE en cruces de LA716 x UC82B, sin resultados concluyentes para relacionar los mismos con incrementos del WUE en tomate (118). Otros estudios relacionados con la genética de la tolerancia a la sequía en tomate incluyen la identificación de varios genes o ARNm cuyas expresiones se incrementaron en respuesta al estrés. Por ejemplo, cuatro genes inducidos por sequía *le4*, *le16*, *le25* and *le20*, se identificaron y caracterizaron en tomate (10, 22). Se determinó que el aumento en la expresión de estos genes se produjo después de un largo periodo de déficit hídrico en *S. pennellii* con respecto a *S. lycopersicum* L., aunque estos no parecen ser responsable de la tolerancia a la sequía en *S. pennellii* (119).

La sequía es un carácter complejo (12, 42). Si se tiene en cuenta la diversidad de mecanismos involucrados, la pregunta obligada

es ¿si la introducción de un gen simple puede producir un nivel de tolerancia suficiente o si se necesita introducir varios genes involucrados en el proceso (ajuste osmótico, osmoprotección, homeostasis iónica, eliminación de radicales libres de oxígeno, respuesta al estrés, restauración de la actividad enzimática, fotorrespiración, etc)?.

Por supuesto, un gen particular (uno que codifica para un factor de transcripción) puede tener un efecto cascada y por tanto modificar la expresión de muchos genes. Parece poco probable que un simple gen pueda afectar todo el proceso influenciado por el estrés. Lo más probable es que la transferencia y expresión, de forma coordinada, de una serie de genes, cada uno de los cuales pueda afectar uno de los mecanismos principales del proceso, pueden producir plantas tolerantes. El problema es que aún no queda claro cuales genes se transfieren (46). Se proponen que las investigaciones se realicen en un número de especies modelo (halotolerantes) que son representativas de varios mecanismos de pudieran estar involucrados con la tolerancia (46, 55).

Sin embargo, se señala que estas investigaciones demorarán en las principales especies cultivadas. Desde el punto de vista de mejora, se podría quizás tomar ventaja de la existencia de accesiones halotolerantes de especies relacionadas con un cultivo dado. Al respecto, en el género *Solanum* hay accesiones de especies silvestres (fundamentalmente *S. pennellii*, *S. cheesmaniae* y *S. pimpinellifolium*), que tienen un alto nivel de tolerancia a salinidad y sequía (10, 46). Desafortunadamente, a pesar de la riqueza de las fuentes de variación existentes en el cultivo, todavía no se conoce cuáles son los genes claves que determinan el alto nivel de tolerancia en esas plantas.

En general, la tolerancia a estrés abiótico depende en la mayoría de los casos de caracteres multigénicos, lo cual hace muy difícil su control y manipulación. Las estrategias de manipulación genética para obtener tolerancia a estrés abiótico, dependen de la expresión de uno o varios genes que están involucrados en rutas de señalización y regulación (17, 89, 92, 120) o genes que codifican proteínas que confieren tolerancia a estrés (31, 59, 66) o enzimas presentes en rutas que conducen a la síntesis de metabolitos protectores (92, 102, 120). Los actuales esfuerzos para mejorar la tolerancia a estrés mediante transformación genética han dado importantes resultados pero los complejos mecanismos genéticos de la tolerancia a estrés abiótico hacen que la tarea continúe siendo difícil. Los avances en este campo de la tolerancia a estrés pasan por dos puntos clave: el primero es un mejor entendimiento de los mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares involucrados en la respuesta; y el segundo, el uso de una combinación entre la biotecnología, la mejora clásica y las técnicas de cultivo. En tomate a pesar de los esfuerzos realizados en dilucidar las bases genético-fisiológicas de la tolerancia a la sequía para justificar su uso en programas de mejoramiento con vistas a desarrollar cultivares tolerantes, los avances en este sentido han sido inferiores a los logrados en cultivos como soya (*Glycine max* L. Merrill) (28), arroz (*Oryza sativa* L.) (121), maíz (*Zea mays* L.) (122), caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) (123), entre otros.

MEJORA PARA LA TOLERANCIA A LA SEQUÍA EN TOMATE

El objetivo principal de un programa de tolerancia a la sequía es asegurar que los cultivos utilicen

eficientemente el agua disponible, sin afectar su productividad. Los caracteres a mejorar deben prevalecer a lo largo del período de cultivo y no afectar la expresión de otros caracteres (42, 49, 96).

Para buscar tolerancia a la sequía en la selección, hay que tener en cuenta, que los caracteres relacionados con esta son fisiológicamente complejos, con multitud de componentes, debido a que cuando una planta se desarrolla en un ambiente hostil, todos sus genes y todas sus reacciones fisiológicas están encaminados a sobrevivir en él. El manejo de estos caracteres se basa en la existencia de la variabilidad genética de los mismos y el conocimiento del sistema genético que los controla.

Para seleccionar a estrés abiótico se debe escoger siempre en un fondo genético de alta producción, mediante un programa combinado de selección sin y con estrés, alternándose generaciones de selección o duplicando los ensayos en cada generación, incluyendo pruebas de estabilidad puesto que la competencia entre plantas se acentúa en condiciones límite. Además de la cantidad de genes que están involucrados, hay que tener en cuenta su interacción con el ambiente, ya que son caracteres con heredabilidades bajas o moderadas (7, 10, 12, 49, 124). Es mejor llevar siempre el material a una F_4 por alta producción y ahí analizar la respuesta al estrés. Si se pierde alguna línea con resistencia en la F_3 , seguramente no sería la mejor desde el punto de vista agronómico.

Actualmente la información genético-fisiológica sobre tolerancia a sequía en tomate, que permita justificar el desarrollo de cultivares resistentes utilizando la mejora tradicional, es limitada. En esencia, la investigación debe extenderse a identificar otros recursos genéticos relacionados con la tolerancia a la sequía en tomate. Deben realizarse

ensayos en diferentes etapas del desarrollo como la germinación, fase vegetativa, floración y cuajado de los frutos, para los estudios genético-fisiológicos básicos y con fines de mejora. Teniendo en cuenta las condiciones climáticas normales de desarrollo del cultivo, donde cortos períodos de sequía pueden ocurrir intermitentemente a lo largo de la etapa de crecimiento, parece que la capacidad de la planta para sobrevivir a períodos transitorios de estrés hídrico y recuperarse rápidamente tras la re-disponibilidad de agua es mucho más importante que la capacidad de sobrevivir a largo plazo el estrés hídrico. Así, durante el proceso de evaluación de germoplasma y de mejora, la atención debe centrarse en evitar la deshidratación (7, 10).

Desde un punto de vista práctico, los criterios de mejora más fiables son características agronómicas, tales como rendimiento y crecimiento de las plantas en ambientes estresantes y no estresantes (7, 40, 42). Estos criterios; sin embargo, pueden no ser eficaces, ni factibles de aplicar, porque en la mayoría de los casos involucran un gran número de individuos, familias o poblaciones. Es por ello que criterios alternativos basados en las características fisiológicas, tales como las tasas fotosintéticas, resistencia estomática y potencial hídrico foliar podrían ser más eficientes. Estas características son más fáciles de medir, en comparación con el rendimiento, y en general, muestran en tomate correlaciones bastante fuertes con características agronómicas. Otras alternativas son la identificación de las características bioquímicas, como la actividad enzimática y contenido de proteína. Estos métodos; sin embargo, a menudo carecen de una fuerte correlación con características agronómicas y son algo más caros (10).

Un enfoque alternativo para mejorar la eficiencia de la selección en la tolerancia a

la sequía es complementar los programas convencionales con técnicas de biología molecular. Descubrir marcadores genéticos asociados con los genes o QTLs que controlan los caracteres de interés. El uso de marcadores y mapas pueden facilitar la determinación del número, localización cromosómica, y efectos individuales e interactivos de genes o QTLs que afectan estos caracteres deseables (7), los que pueden ser introgressados en las bases genéticas deseables a través de las MAS.

Estos métodos han sido complementados o sustituidos por la manipulación genética de uno a varios genes involucrados en rutas de respuesta al estrés. La mayoría de los estudios se basaban en lo que se denomina una estrategia "gen a gen", en la que se procede a la introducción en la planta, por ingeniería genética, de uno a varios genes en las rutas bioquímicas o de señalización de la respuesta a estrés por sequía (125, 126). Se han identificado diversos genes relacionados con la sequía, los cuales se han manipulado, obteniéndose variedades transgénicas tolerantes a la sequía (46, 117). Entre los genes más utilizados para realizar transformaciones genéticas están aquellos involucrados en la síntesis de osmolitos, detoxificación, proteínas protectoras y chaperonas (LEA, HSP), moléculas de señalización, factores de transcripción, canales selectivos de agua (acuaporinas), entre otras (13, 42, 121).

La mayoría de los programas de mejora en especies cultivadas se plantean a partir de conocimientos adquiridos de una planta modelo o de otras especies relacionadas. Los resultados en el propio cultivo no siempre han sido positivos, por lo que se hace necesario utilizar los conocimientos adquiridos en la especie que van a ser aplicados. Muchas de las diferencias en el desarrollo y anatomía entre

Arabidopsis thaliana y el tomate también pueden llevar a diferencias en muchos mecanismos de tolerancia al estrés. Intercambiar conocimientos entre *Arabidopsis thaliana* y las especies cultivadas, aunque en la mayoría de los casos es muy útil, en ocasiones los genes transportadores a pesar de ser similares, después de la percepción del estrés pueden desencadenar en cascadas de transducción en cascadas, las cuales en turno activan los genes de respuesta al estrés y finalmente conllevan al cambio de los niveles fisiológicos y bioquímicos (7, 95, 97). Se hace necesario, por tanto, un mayor incremento de los programas de investigación centrados en el cultivo y un mejor conocimiento de los mecanismos de respuesta al estrés por déficit hídrico.

Una nueva forma de abordar el problema ha sido posible a través de la genómica, en la que se plantea una visión de la respuesta a estrés a nivel de la planta en general. El procesamiento y análisis a través de herramientas bioinformáticas de la gran cantidad de datos que generan estas herramientas genómicas, ha permitido pasar de los simples datos a un conocimiento de la respuesta de la planta en general. Esto, sin dudas, permitirá en un futuro incrementar la eficiencia de los programas de mejoramiento genético encaminados a obtener genotipos tolerantes a la sequía.

Una estrategia relevante en la identificación de genes relacionados con el estrés hídrico se basa en las ESTs (etiquetas de secuencia expresada, del inglés *Expressed Sequence Tag*) generados a partir de diferentes genotecas de ADNc, obtenidas a partir de tejidos sometidos a tratamientos de deshidratación. La información específica de estas genotecas esta indexada en las bases de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de Estados Unidos (National Center

for Biotechnology Information, (NCBI) dbETS por sus siglas en inglés) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html). Otras aproximaciones recientes, como la PCR en tiempo real y los micro y macroarreglos, han permitido el análisis simultáneo de miles de genes en tejidos de plantas controles y estresadas en diferentes estadios de desarrollo (127).

AVANCES EN LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS POR DÉFICIT HÍDRICO EN TOMATE: HERRAMIENTAS GENÓMICAS, PROTEÓMICAS Y OTRAS HERRAMIENTAS “ÓMICAS”

Las aplicaciones de la genómica, proteómica y enfoques de transcriptómica pueden proveer las herramientas necesarias para identificar los principales genes que responden a la sequía y su regulación en relación a los acontecimientos que ocurren durante la adaptación al estrés (8, 13). Los genes, metabolitos y las proteínas descubiertas están siendo revolucionadas a través de la combinación de secuencias génicas, análisis de microarreglos y otras herramientas “ómicas” (46, 116, 128).

El análisis de transcriptomas permite cuantificar el nivel de expresión de cientos o miles de genes, empleando técnicas que analizan miles de moléculas de ARNm al mismo tiempo, mediante una técnica basada en micromatrices. Este tipo de enfoque se utiliza para identificar aquellos genes sobreexpresados o reprimidos en respuesta a la salinidad y sequía (13, 68). En este sentido varios estudios de transcriptomas en especies modelos tales como *Arabidopsis* y arroz han revelado nuevas vías relacionadas con el estrés,

además de los genes relacionados con el estrés ya descritos (127).

El primer paso hacia la caracterización de la respuesta compleja a estrés abiótico ha sido el descubrimiento de genes a partir de la secuenciación de genomas completos y la secuenciación parcial a gran escala de clones provenientes de genotecas de ADNc para obtener ESTs, además de la utilización de plataformas para determinar patrones de expresión transcripcional (microarreglos), sofisticadas tecnologías para la localización de proteínas y sensores para detectar metabolitos. El procesamiento y análisis a través de herramientas bioinformáticas de la gran cantidad de datos que generan estas herramientas genómicas, ha permitido pasar de los simples datos a conocimiento de la respuesta de la planta en general (69, 128).

La clonación progresiva de muchos genes relacionados con el estrés, los elementos de respuesta, y su relación con los QTLs relacionados con el estrés, sugiere que estos genes pueden representar las bases moleculares de la tolerancia al estrés (42). Por otra parte, la identificación de QTLs asociados con la tolerancia a la sequía, es también importante para la MAS (10).

En tomate, se han utilizado los análisis de microarreglos para detectar genes involucrados en la tolerancia a estrés abiótico. Estos estudios han permitido identificar genes expresados o silenciados por la salinidad. Se han identificado además que existen genes no redundantes que se expresan diferencialmente dependiendo de los niveles de estrés (46). Al respecto, resulta interesante el número de genes de respuesta temprana regulados por estrés que codifican para proteínas desconocidas indicando que hay todavía aspectos por descubrir sobre los mecanismos de tolerancia a la salinidad y a la sequía en tomate. Sin embargo,

en especies silvestres ocurre una expresión constitutiva de genes importantes en respuesta al estrés salino, incluyendo varias familias de factores de transcripción, asimismo, se ha estudiado la respuesta de los genes a la sequía, tales como acuaporinas y dehidrinas, así como genes involucrados en transporte bioenergético o iónico en la membrana, incluyendo algunas subunidades de ATPasa (46, 116).

Se han abierto nuevas perspectivas en la identificación de determinantes fundamentales involucrados en la tolerancia a salinidad y sequía. El análisis proteómico de plantas en condiciones normales y estresadas (estrés por salinidad y déficit hídrico) puede jugar un papel importante en el análisis de los cambios cualitativos y cuantitativos en los patrones de expresión proteica (19, 42, 68). Se ha observado que el déficit hídrico provoca cambios inducidos por el estrés en la acumulación de polipéptidos en raíces de tomate (10, 54). Recientemente se han utilizado las herramientas proteómicas para identificar las diferencias moleculares entre dos fenotipos de tomate que difieren en su tolerancia a la salinidad (129). Se identificaron 23 proteínas responsables del estrés, clasificadas en seis categorías funcionales y casi todas incrementaban su abundancia en fenotipos tolerantes. Estos autores (129) también evaluaron el efecto de glicina betaína aplicada exógenamente y encontraron que este soluto compatible puede aliviar la inhibición del crecimiento del tomate inducido por estrés, por cambios en la abundancia de expresión de seis proteínas en el fenotipo tolerante y dos proteínas el susceptible.

Los análisis simultáneos de microarreglos con estudios proteómicos han posibilitado encontrar genes relacionados con la tolerancia al estrés en

plantas mediante cambios en los niveles de transcripción y proteico, respectivamente. Sin embargo, estos no proveen información sobre los cambios en los patrones de expresión de proteínas (19). Se ha encontrado solo una correlación pobre o moderada entre los cambios en los niveles de ARNm específicos y sus proteínas correspondientes en *Arabidopsis* (101, 130, 131). Por lo tanto, una combinación de microarreglos y análisis proteómico puede indicar si la regulación génica es controlada a nivel de transcripción, traducción o modificación postraduccional, o por acumulación de proteínas. Aunque los estudios en este campo son escasos comparados con los de otros organismos, es predecible que pueden servir para entender algunos mecanismos de tolerancia a la sequía.

El análisis de transcriptomas puede ser útil para identificar nuevas rutas relacionadas con el estrés y genes regulados por el estrés que codifican proteínas no conocidas (y nuevas funciones esenciales) y para inferir los mecanismos principales responsables de las diferencias en la tolerancia al estrés entre especies silvestres y cultivadas. Sin embargo, estos métodos conllevan a la sobreestimación de un número de genes supuestamente involucrados, lo que hace que la identificación de genes relevantes entre un enorme número de otros genes con funciones secundarias o irrelevantes sea más difícil.

A pesar de esto, es previsible que la transcriptómica pueda convertirse en una herramienta de gran ayuda en el futuro cercano. Sin embargo, con vistas a completar las expectativas creadas en este campo, se debe tener en cuenta el estado de desarrollo al cual el estrés es aplicado, así como la intensidad y el tiempo de exposición. Por otro lado, en lugar de aplicar estas herramientas a especies modelos, pudiera ser mejor aplicarlos en

ambas especies y accesiones halotolerantes de especies silvestres relacionadas y por comparación tratar de identificar los genes responsables de la tolerancia (8, 13, 46, 55).

Los programas a gran escala basados en estas herramientas pudieran abrir una nueva era en el conocimiento de las bases genéticas y fisiológicas en la respuesta y mecanismos de tolerancia a la sequía, por tanto, siguiendo el diseño de estrategias más efectivas para mejorar la tolerancia a estrés abiótico en especies cultivadas, es necesario enfocarse en identificar los principales determinantes de la tolerancia. El análisis de transcriptomas hasta ahora provee un cuadro general de genes que son expresados o reprimidos en situaciones de estrés abiótico, así como el número de genes que pertenecen a diferentes categorías funcionales cuya expresión es significativamente cambiada. Aunque esta es una información útil, no provee las bases para diseñar un programa de mejora, pues es muy difícil aparejar el análisis funcional de cientos o miles de genes cuya expresión cambia en condiciones de estrés abiótico. Por ende, en un futuro cercano serán más importantes los cambios en el análisis de transcriptomas que expliquen cuáles son los genes responsables de la tolerancia al estrés (46).

De igual forma, los objetivos más importantes en estudios proteómicos e ionómicos pueden ser aclarar los principales procesos fisiológicos que determinan la tolerancia a un tipo de estrés abiótico, o sea, investigaciones en este campo no se deben enfocar en el incremento de la complejidad de los ensayos, que por ellos mismos son muy complejos, por el contrario, deben concentrarse en identificar los blancos para futuros programas de mejora (69).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La productividad del tomate se afecta seriamente en condiciones de estrés hídrico. La mayoría de los cultivares comerciales son sensibles a este estrés abiótico durante todas las etapas de desarrollo de la planta, de ahí que la mejora genética al estrés hídrico sea una tarea ardua que se ha venido desarrollando durante décadas. El tomate cultivado tiene una base genética muy estrecha debido a varios cuellos de botella ocurridos durante los procesos de domesticación y evolución (10). En el cultivo las fuentes de resistencia a la sequía provienen de las especies silvestres como *S. pennelli*; *S. chilense* y *S. pimpinellifolium*, fundamentalmente. Estos recursos se utilizan para caracterizar los mecanismos fisiológicos y bases celulares de la tolerancia al estrés en tomate.

Desafortunadamente, a pesar de la riqueza de las fuentes de variación existente, se necesita avanzar en el entendimiento de los mecanismos involucrados en la respuesta a la sequía en tomate y elucidar como las plantas coordinan su respuesta para superarla. Uno de los principales cambios en el futuro cercano será entender cuales mecanismos presentan diferencias fisiológicas entre cultivares tradicionales y especies silvestres tolerantes bajo condiciones de estrés.

Con la disponibilidad de herramientas avanzadas de biología molecular en plantas, el enfoque ha sido en gran parte, desplazado a la base genética de la tolerancia al estrés en tomate. Diversos componentes de tolerancia se han definido y caracterizado sus controles genéticos, y muchos genes que controlan QTL con efectos importantes se han identificado o clonado. Los nuevos enfoques

biotecnológicos de la transferencia de genes brindan oportunidades a los mejoradores en este sentido.

Investigaciones recientes han utilizado fundamentalmente la transformación genética como una herramienta para desarrollar plantas de tomate tolerantes al estrés, aunque las plantas transgénicas solo se han sometido a pruebas de laboratorio artificiales de la tolerancia al estrés. Estas técnicas permitirán comprender si la expresión de diferentes tipos de genes puede incrementar la tolerancia a la sequía, o concluir si los cultivares obtenidos vía transformación genética son verdaderamente tolerantes desde el punto de vista agronómico.

Además, teniendo en cuenta el escaso número de genes identificados hasta la fecha relacionados con el déficit hídrico, la identificación de nuevos genes que desempeñen papeles significativos en los mecanismos de respuesta a sequía, que expresan genes que codifiquen varios osmoprotectores, transportadores de iones y enzimas antioxidantes, es un objetivo prioritario. Los avances en la mejora de la tolerancia en tomate a estrés hídrico dependerán de descubrimientos de genes adicionales que jueguen un papel esencial en la tolerancia, pero también en conocer el nivel de expresión de los elementos regulatorios.

Los análisis de transcriptomas pueden ser útiles para identificar nuevas vías relacionadas con el estrés y genes regulados por el estrés que codifiquen proteínas desconocidas (y supuestamente nuevas funciones) e inferir en los principales mecanismos responsables de la tolerancia al estrés. Después de la identificación a través de análisis de microarreglos de los cientos de genes que son expresados diferencialmente en condiciones de estrés, el uso de estrategias basadas en mecanismos de

silenciamiento génico post-transcripcional, pudiera ser particularmente importante para discriminar genes claves para los procesos de tolerancia. Con estos análisis se podrá conocer si la regulación génica es controlada al nivel de la transcripción, traducción, si es una modificación postraduccional o por acumulación de proteínas.

La identificación de mutantes, especialmente mutantes de inserción, alterados en el nivel de tolerancia a la sequía, pueden ser particularmente útiles en la identificación de genes claves o esenciales involucrados en diferentes mecanismos de tolerancia. Además, estudios fisiológicos más profundos y el uso de aproximaciones proteómicas o de transcriptomas para esos mutantes puede proveer información de gran valor en el tipo de proceso fisiológico que alteran. El uso combinado de esas herramientas genómicas con la mejora tradicional, permitirá la disección genética y fisiológica de la tolerancia a la sequía y, por tanto, diseños más apropiados de los futuros programas de mejora. En conclusión, las oportunidades de investigación en este campo en los próximos años serán mayores, pues además de utilizarse con este fin las herramientas "ómicas" ahora disponibles, se podrá contar también con el conocimiento del genoma del tomate, el cual fue recientemente secuenciado (132).

REFERENCIAS

1. Frahm, M. A.; Rosas, J. C.; Mayek-Pérez, N. y López-Salinas, E. Breeding beans for resistance to Terminal drought in the lowland tropics. *Euphytica*, 2004, vol. 136, no. 2, pp. 223-232.
2. Pérez, O. El suelo y el déficit hídrico en los cultivos. Ediciones Mundi Prensa. Bilbao, España. 2007. pp. 206.
3. Sotolongo, J. A. Guantánamo vs Desertificación. Energía y Tú. *Revista Científico-Popular Trimestral de CUBASOL*. 2003. vol. 23, pp.12-14.
4. Hsiao, T. y Xu, L. K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *J. Exp. Bot.*, 2000, vol. 51, pp. 1595-1616.
5. Nahar, K. y Ullah, S. M. Gretzmacher, R. Influence of soil moisture stress on height, dry matter and yield of seven tomato cultivars. *Canadian J. Scientific Industrial Res.*, 2011, vol. 2, no. 4, pp. 160-163.
6. Witcombe, J. R.; Hollington, P. A.; Howarth, C. J.; Reader, S. y Steele, K.A. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biol. Sci.*, 2008, vol. 363, no. 1492, pp. 703-716.
7. Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D. y Basra, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 2009, vol. 29, pp. 185-212.
8. Peleg, Z.; Apse, M. P. y Blumwald, E. Engineering Salinity and Water-Stress Tolerance in Crop Plants: Getting Closer to the Field. *Advances Bot. Res.*, 2011, vol. 57, pp. 407-443.
9. Rick, C. M.; Chetelat, R. T. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Hort.*, 1995, vol. 412, pp. 21-38.
10. Foolad, M. R. Tolerance to Abiotic Stresses. En: Razdan, M. K. y Matoo, A. K. Eds. Genetic Improvement of Solanaceous Crops: Tomato. Science Publishers, Enfield, USA. 2007. vol. 2, pp. 521-590.
11. Foolad, M. R. Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007, vol. 2007, Article ID 64358, 52 pp.
12. Schwarz, D.; Rouphael, Y.; Colla, G. y Venema, J. H. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: Thermal stress, water stress and organic pollutants. *Scientia Horticulturae*, 2010, vol. 127, pp. 162-171.

13. Pandey, S. K.; Nookarajua, A.; Upadhyaya, Ch. P.; Gururani, M. A.; Venkatesh, J.; Kim, D. H. y Park, S. W. An Update on Biotechnological Approaches for Improving Abiotic Stress Tolerance in Tomato. *Crop Sci.*, 2011, vol. 51, pp. 2303-2324.
14. Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.*, 2007, vol. 58, pp. 221-227.
15. Cruz de Carvalho, M. H. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav.*, 2008, vol. 3, no. 3, pp. 156-160.
16. Saibo, N. J. M.; Lourenço, T. y Oliveira, M. M. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*, 2009, vol. 103, pp. 609-623.
17. Miller, G.; Suzuki, N.; Ciftci-Yilmaz, S. y Mittler, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.*, 2009, vol. 33, no. 4, pp. 453-67.
18. Hussain, M.; Malik, M. A.; Farooq, M.; Ashraf, M. Y. y Cheema, M. A. Improving Drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *J. Agron. Crop Sci.*, 2008, vol. 194, pp. 193-199.
19. Khan, M. S.; Yu, X.; Kikuchi, A., Asahina, M. y Watanabe, K. N. Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress in plants. *Plant Biotechnol.*, 2009, vol. 26, no. 1, pp. 125-134.
20. Amudha, J. y Balasubramani, G. Recent molecular advances to combat abiotic stress tolerance in crop plants. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 2011, vol. 6, no. 2, pp. 31-58.
21. Ashraf, M., Foolad, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, 2007, vol. 59, pp. 206-216.
22. Moreno, L. P. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 2009, vol. 27, no. 2, pp. 179-191.
23. Sanjari Pireivatlou, A. y Yazdarsepas, A. Evaluation of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes under Pre- and Post-anthesis Drought Stress Conditions. *J. Agric. Sci. Technol.*, 2008, vol. 10, pp. 109-121.
24. Díez, M. J. y Nuez, F. Tomato en Prohens, J. y Nuez, F. Vegetables II Fabaceae, Liliaceae, Solanaceae, and Umbelliferae. *Handbook of Plant Breeding*, 2008, vol. 2, no. 3, p. 249-323.
25. Nilsen, E. T. y Orcutt, D. M. Physiology of plants under stress. Abiotic factors. John Wiley and Sons, New York, NY. 1996.
26. Stepuhn, H. y Raney, J. Emergence, height, and yield of canola and barley grown in saline root zones. *Canadian J. Plant Sci.*, 2005, vol. 85, pp. 815-827.
27. Labate, J.; Grandillo, A. S.; Fulton, T. *et al.* Tomato. En: Kole, C. Eds. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2007. pp. 1-95.
28. Lakshmi, P.; Satish, K.; Tran, L. y Nguyen, H. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant & Cell. Physiol.*, 2009, vol. 50, no. 7, pp. 1260-1276.
29. Potters, G.; Pasternak, T. P.; Guisez, Y.; Palme, K. J. y Jansen M. A. K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble?. *Trends Plant Sci.*, 2007, vol. 12, no. 3, pp. 99-105.
30. Kavar, T.; Maras, M.; Kidric, M.; Sustar-Vozlic, J. y Meglic, V. Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Mol. Breed.*, 2007, vol. 21, pp. 159-172.
31. Dinneny, J. R.; Long, T. A.; Wang, J. Y.; Jung, J. W.; Mace, D.; Pointer, S.; Barron, C.; Brady, S. M.; Schiefelbein, J. y Benfey, P. N. Cell identity mediates the response of Arabidopsis roots to abiotic stress. *Science*, 2008, vol. 320, no. 5878, pp. 942-945.
32. Boursiac, Y.; Boudet, J.; Postaire, O.; Luu, D. T.; Tournaire-Roux, C. y Maurel, C. Stimulus-induced downregulation of root water transport involves reactive oxygen species-activated cell signalling and plasma membrane intrinsic protein internalization. *Plant J.*, 2008, vol. 56, no. 2, pp. 207-218.
33. Kaya, M. D.; Okçub, G.; Ataka, M.; Çikilic, Y. y Kolsarıca, Ö. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agron.*, 2006, vol. 24, pp. 291-295.
34. Nahar, K. y Gretzmacher, R. Response of Shoot and Root Development of Seven Tomato Cultivars in Hydroponic System under Water Stress. *Acad. J. Plant Sci.*, 2011, vol. 4, no. 2, pp. 57-63.
35. Rezaei, M. A.; Jokar, I.; Ghorbanli, M.; Kaviani, B. y Kharabian-Masouleh, A. Morphophysiological improving effects of exogenous glycine betaine on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. PS under drought stress conditions. *POJ*, 2012, vol. 5, no. 2, pp. 79-86.
36. Blum, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Res.*, 2009, vol. 112, pp. 119-123.
37. Wahb-Allah, M. A.; Alsadon, A. A.; Ibrahim, A. A. Drought Tolerance of Several Tomato Genotypes Under Greenhouse. *Conditions World Applied Sciences Journal*, 2011, vol. 15, no. 7, pp. 933-940.
38. Maldonado, C.; Oujado, E. y Squeo, F. El efecto de la disponibilidad de agua durante el crecimiento de *Lycopersicon chilensis* sobre la capacidad de sus semillas para germinar a distintas temperaturas y concentración de manitol y NaCl. *Revista chilena de Historia Natural*, 2002, vol. 75, pp. 651-660.

39. Dobra, J.; Motyka, V.; Dobrev, P.; Malbeck, J.; Prasil, I. T.; Haisel, D.; Gaudinova, A.; Havlova, M.; Gubis, J. y Vankova, R. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. *Journal of Plant Physiology*, 2010, vol. 167, pp. 1360-1370.
40. Talebi, R.; Fayaz, F. y Najj, A. M. Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Gen. Appl. Plant Physiol.*, 2009, vol. 35, pp. 64-74.
41. Kadioglu, A.; Terzi, R.; Saruhan, N. y Saglam, A. Current advances in the investigation of leaf rolling caused by biotic and abiotic stress factors. *Plant Science*, 2012, vol. 182, pp. 42-48.
42. Cattivelli, L.; Rizza, F.; Badeck, F. W.; Mazzucotelli, E.; Mastrangelo, A. M.; Francia, E.; Mare, C.; Tondelli, A. y Stanca, A. M. Drought tolerant improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res.*, 2008, vol. 105, pp. 1-14.
43. Cushman, J. C. Osmoregulation in plants: implications for agriculture. *Amer. Zool.*, 2001, vol. 41, pp. 758-769.
44. Krasensky, J. y Jonak, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exp. Bot.*, 2012, vol. 30, pp. 1-16.
45. Buchanan, B. B. y Balmer, Y. Redox regulation: a broadening horizon. *Annual Review of Plant Biology*, 2005, vol. 56, pp. 187-220.
46. Pineda, B.; García-Abellán, J. O.; Antón, T. *et al.* Tomato: Genomic Approaches for Salt and Drought Stress Tolerance. *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*, 2012, vol. 1 & 2, pp. 1085-1120.
47. Turner, N. C.; Wright, G. C. y Siddique, K. H. M. Adaptation of grain legumes (pulses) to water limited environments. *Adv. Agron.*, 2001, vol. 71, pp. 193-23.
48. Turner, N. C.; Abbo, S.; Berger, J. D.; Chaturvedi, S. K.; French, R. J.; Ludwig, C.; Mannur, D. M.; Singh, S. J. y Yadava, H. S. Osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.) results in no yield benefit under terminal drought. *J. Exp. Bot.*, 2007, vol. 58, pp. 187-194.
49. Wahid, A. y Close, T. J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. *Biol. Plant.*, 2007, vol. 51, pp. 104-104.
50. Tujeda, N. Mechanism of high salinity tolerance in plants. *Met. Enzymol.*, 2007, vol. 426, pp. 419-438.
51. Türkan, I. y Demiral, T. Recent development in understanding salinity tolerance. *Environ. Exp. Bot.*, 2009, vol. 67, pp. 2-9.
52. Zushi, K. y Matsuzoe, N. Seasonal and cultivar differences in salt-induced changes in antioxidant system in tomato. *Sci. Hort.*, 2009, vol. 120, pp. 181-187.
53. Miller, G.; Shulaev, V. y Mittler, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, 2008, vol. 133, pp. 481-489.
54. Chen, T. H. H. y Murata, N. Glycine betaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. *Trends Plant Sci.*, 2008, vol. 13, no. 9, pp. 499-505.
55. Flowers, T. J. y Colmer, T. D. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.*, 2008, vol. 179, pp. 945-963.
56. Tamura, T.; Hara, K.; Yamaguchi, Y.; Koizumi, N. y Sano, H. Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiol.*, 2003, vol. 131, pp. 454-462.
57. Nakamura, T.; Nomura, M.; Mori, H.; Jagendorf, A. T.; Ueda, A. y Takabe, T. An isozyme of betaine aldehyde dehydrogenase in barley. *Plant Cell Physiol.*, 2001, vol. 42, pp. 1088-1092.
58. Papageorgiou, G. C. y Morata, N. The usually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function in the oxygen evolving photosystem-II complex. *Photosynth. Res.*, 1995, vol. 44, pp. 243-252.
59. Wang, L. y Ruan, Y. L. Unraveling mechanisms of cell expansion linking solute transport, metabolism, plasmodesmal gating and cell wall dynamics. *Plant Signalling & Behaviour*, 2010, vol. 5, pp. 1551-1554.
60. Cortina, C. y Cullanez-Macia, F. A. Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci.*, 2005, vol. 169, pp. 75-82.
61. Bolarin, M. C.; Santa-Cruz, A.; Cayuela, E. y Perez-Alfocea, F. Short-term solute changes in leaves and roots of cultivated and wild tomato seedling under salinity. *J. Plant Physiol.*, 1995, vol. 147, no. 3-4, pp. 463-468.
62. Amirjani, M. R. Effect of salinity stress on grown, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *Am. J. Plant Physiol.*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. 350-201.
63. Taiz, L. y Zeiger, E. *Plant Physiology*. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland, M. A. 2006.
64. Zhang, S. Q. y Outlaw, W. H. Abscisic acid introduced into the transpiration stream accumulates in the guard cell apoplast and causes stomatal closure. *Plant Cell Environ*, 2001, vol. 24, pp. 1045-1054.
65. Roelfsema, M. R. G. y Hedrich, R. Studying guard cell in the intact plant: modulation of stomatal movement by apoplastic factors. *New Phytol.*, 2002, vol. 153, pp. 425-431.
66. Zhang, X.; Zhang, Z.; Chen, J.; Chen, Q.; Wang, X. y Huang, R. Expressing TERF1 in tobacco enhances drought tolerance and abscisic acid sensitivity during seedling development. *Planta*, 2005, vol. 222, pp. 494-501.
67. Wilkinson, S. y Davies, W. J.

- Drought, ozone, ABA and ethylene: New insights from cell to plant to community. *Plant Cell Envir*, 2010, vol. 33, pp. 510-525.
68. Hirayama, T. y Shinozaki, K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant Journal*, 2010, vol. 61, pp. 1041-1052.
 69. Cramer, G. R.; Urano, K.; Delrot, S.; Pezzotti, M. y Shinozaki, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective *BMC. Plant Biology*, 2011, vol. 11, pp. 163-176.
 70. Muñoz-Mayor, A.; Pineda, B.; García-Abellán, J. O.; García-Sogo, B.; Moyano, E.; Atares, A.; Vicente-Agulló, F.; Serrano, R.; Moreno, V. y Bolarin, M. C. The HAL1 function on Na⁺ homeostasis is maintained over time in salt-treated transgenic tomato plants, but the high reduction of Na⁺ in leaf is not associated with salt tolerance. *Physiol. Plant.*, 2008, vol. 133, pp. 288-297.
 71. LeNoble, M. E.; Spollen, W. G. y Sharp, R. E. Maintenance of shoot growth by endogenous ABA: genetic assessment of the involvement of ethylene suppression. *J. Exp. Bot.*, 2004, vol. 55, pp. 237-245.
 72. Thompson, A. J.; Andrews, J.; Mulholland, B. J.; McKee, J. M. T.; Hilton, H. W.; Horridge, J. S.; Farquhar, G. D.; Smeeton, R. C.; Smillie, I. R. A.; Black, C. R. y Taylor, I. B. Overproduction of abscisic acid in tomato increases transpiration efficiency and root hydraulic conductivity and influences leaf expansion. *Plant Physiol.*, 2007, vol. 143, pp. 1905-1917.
 73. Kavi, P. B. K.; Sangam, S.; Amrutha, R. N.; Laxmi, P. S.; Naidu, K. R.; Rao, K. R. S. S.; Rao, S.; Reddy, K. J. y Sreenivasulu, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.*, 2005, vol. 88, pp. 424-438.
 74. Wilkinson, S.; Kudoyarova, G. R.; Veselov, D. S.; Arkhipova, T. N. y Davies, W. J. Plant hormone interactions: innovative targets for crop breeding and management. *J. Exp. Bot.*, 2012, vol. 63, pp. 3499-3509.
 75. Chaves, M. M.; Flexas, J. y Pinheiro, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.*, 2009, vol. 103, no. 4, pp. 551-60.
 76. Pinheiro, C. y Chaves, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *J. Exp. Bot.*, 2011, vol. 62, no. 3, pp. 869-882.
 77. Flexas, J.; Ribas-Carbo, M.; Diaz-Espejo, A.; Galmés, J. y Medrano, H. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant Cell Environ*, 2008, vol. 31, pp. 602-612.
 78. Lovisolo, C.; Perrone, I.; Carra, A.; Ferrandino, A.; Flexas, J.; Medrano, H. y Schubert, A. Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* sp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Funct. Plant Biol.*, 2010, vol. 37, pp. 98-116.
 79. Galmés, J.; Ribas-Carbó, M.; Medrano, H. y Flexas, J. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress. *J. Exp. Bot.*, 2010, vol. 62, pp. 653-665.
 80. Pérez-Alfocea, F.; Albacete, A.; Ghanem, M. E. y Dodd, I. C. Hormonal regulation of source-sink relations to maintain crop productivity under salinity: a case study of root-to-shoot signalling in tomato *Funct. Plant Biol.*, 2010, vol. 37, pp. 592-603.
 81. Reddy, A. R.; Chaitanya, K. V. y Vivekanandan, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.*, 2004, vol. 161, pp. 1189-1202.
 82. Muller, B.; Pantin, F.; Génard, M.; Turc, O.; Freixes, S.; Piques, M.; Gibon, Y. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *J. Exp. Bot.*, 2011, vol. 62, pp. 1715-1729.
 83. Rashmi, S.; Laurentius, V.; Pierik, A. C. J. y Cell. R. Wall Modifying Proteins Mediate Plant Acclimatization to Biotic and Abiotic Stresses. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 2011, vol. 30, pp. 548-562.
 84. Hussain, S. S.; Iqbal, M. T.; Arif, M. A. y Amjad, M. Beyond osmolytes and transcription factors: drought tolerance in plants via protective proteins and aquaporins. *Biol. Plant.* 2011, vol. 55, pp. 401-413.
 85. Lyzenga, W. J. y Stone, S. L. Abiotic stress tolerance mediated by protein ubiquitination. *J. Exp. Bot.*, 2012, vol. 63, pp. 599-61.
 86. Khurana, P.; Vishnudasan, D. y Chhibbar, A. K. Genetic approaches towards overcoming water deficit in plants -special emphasis on LEAs. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 2009, vol. 14, no. 4, pp. 277-298.
 87. Lababidi, S.; Mejlhede, N.; Rasmussen, S. K.; Backes, G.; Al-Said, W.; Baum, M. y Jahoor, A. Identification of barley mutants in the cultivar "Lux" at the *Dhn* loci through TILLING. *Plant Breeding*, 2009, vol. 128, pp. 332-336.
 88. Close, T. J. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant*, 1997, vol. 100, pp. 291-296.
 89. Foyer, C. H. y Noctor, G. Redox homeostasis and antioxidant signalling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.*, 2005, vol. 17, pp. 1866-187.
 90. Pirasteh, H.; Emam, A. Y.; Ashraf, M. y Foolad, M. R. Exogenous Application of Salicylic Acid and Chloromequat Chloride Alleviates Negative Effects of Drought Stress in Wheat. *Advanced Studies in Biology*, 2012, vol. 4, no. 11, pp. 501-520.
 91. Murata, N.; Takahashi, S.;

- Nishiyama, Y. y Allakhverdiev, S. I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, vol. 1767, pp. 414-421.
92. Suzuki, N.; Koussevitzky, S.; Mitter, R. y Miller, G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ.*, 2012, vol. 35, pp. 259-270.
93. Hong, C.; Hsu, Y. T.; Tsai, Y. H. y Kao, C. H. Expression of ascorbate peroxidase 8 in root of rice (*Oryza sativa* L.) seedling in response to NaCl. *J. Exp. Bot.*, 2007, vol. 58, pp. 3273-3283.
94. Zhao, C. X.; Shao, H. B. y Chu, L. Y. Aquaporin structure-function relationships: water flow through plant living cells. *Colloid Surface*, 2008, vol. 62, pp. 163-172.
95. Sickler, C. M.; Edwards, G. E.; Kiirats, A.; Zhifang, G. y Loescher, W. H. Response of mannitol-producing *Arabidopsis thaliana* to abiotic stress. *Funct. Plant. Biol.*, 2007, vol. 34, pp. 382-391.
96. Kulkarni, M. y Deshpande, U. *In vitro* screening of tomato genotypes for drought resistance using poliethylen-glicol. *African J. Biotech.*, 2007, vol. 6, no. 6, pp. 691-696.
97. Armengaud, P.; Sulpice, R.; Miller, A. J.; Stütt, M.; Amtmann, A. y Gibon, Y. Multilevel analysis of primary metabolism provides new insights into the role of potassium nutrition for glycolysis and nitrogen assimilation in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol*, 2009, vol. 150, no. 2, pp. 772-785.
98. Weinl, S. y Kudla, J. The CBL-CLPKCa²⁺- decoding signaling network: function and perspectives. *New Phytol.*, 2009, vol. 184, pp. 517-528.
99. Alvim, F. C.; Carolino, S. M. B.; Cascardo, J. C. M.; Nunes, C. C.; Martinez, C. A.; Otoni, W. C. y Fontes, E. P. B. Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. *Plant Physiol*, 2001, vol. 126, pp. 1042-1054.
100. Maurel, C. Plant aquaporins: novel functions and regulation properties. *FEBS Lett.*, 2007, vol. 581, pp. 2227-2236.
101. Pardo, J. M. Biotechnology of water and salinity stress tolerance. *Curr. Opin. Biotech.*, 2010, vol. 21, pp. 185-196.
102. Villalta, I.; Reina-Sánchez, A.; Bolarín, M. C.; Cuartero, J.; Belver, A.; Venema, K.; Carbonell, E. A. y Asins, M. J. Genetic analysis of Na⁺ and K⁺ concentrations in leaf and stem as physiological components of salt tolerance in Tomato. *Theor. Appl. Genet.*, 2008, vol. 116, no. 6, pp. 869-80.
103. Fernandez, O.; Béthencourt, L.; Quero, A.; Sangwan, S. y Clément, Ch. Trehalose and plant stress responses: friend or foe?. *Trends Plant Sci.*, 2010, vol. 15, p. 409-417.
104. Khare, N.; Goyary, D.; Singh, N. K.; Shah, P.; Rathore, M.; Anandhan, S.; Sharma, D.; Arif, M. y Ahmed, Z. Transgenic tomato cv. Pusa Uphar expressing a bacterial mannitol-1-phosphate dehydrogenase gene confers abiotic stress tolerance. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 2010, vol. 103, pp. 267-277.
105. Miyasono, K.; Miyakawa, T.; Sawano, Y.; Fujita, Y.; Yoshida, T.; Kodaira, K. S.; Yamaguchi-Shinozaki, K. y Tanokura, M. Structural basis of abscisic acid signalling. *Nature*, 2009, vol. 462, pp. 609-614.
106. Raghavendra, A. S.; Gonugunta, V. K.; Christmann, A. y Grill, E. Erwin ABA perception and signaling. *Trends Plant Sci.*, 2010, vol. 15, pp. 395-401.
107. Yanez, M.; Caceres, S.; Orellana, S.; Bastias, A.; Verdugo, I.; Ruiz-Lara, S. y Casaretto, J. A. An abiotic stress-responsive bZIP transcription factor from wild and cultivated tomatoes regulates stress-related genes. *Plant Cell Rep.*, 2009, vol. 28, pp. 1497-1507.
108. Vannini, C.; Campa, M.; Iriti, M.; Genga, A.; Faoro, F.; Carravieri, S.; Rotino, G. L.; Rossoni, M.; Spinardi, A. y Bracale, M. Evaluation of transgenic tomato plants ectopically expressing the rice *Osmyb4* gene. *Plant Sci.*, 2007, vol. 173, pp. 231-239.
109. Borsani, O.; Cuartero, J.; Valpuesta, V. y Botella, M. A. Tomato *tos1* mutation identifies a gene essential for osmotic tolerance and abscisic acid sensitivity. *Plant J.*, 2002, vol. 32, pp. 905-914.
110. Rossi, M.; Lijavetzky, D.; Bernacchi, D. y Hop, H. E. lusem, N. *Asr* genes belong to a gene family comprising at least three closely linked loci on chromosome 4 in tomato. *Mol. Gen. Genet.*, 1996, vol. 252, no. 4, pp. 489-492.
111. Hsieh, T. H.; Li, C. W.; Su, R. C.; Cheng, C. P.; Sanjaya Tsai, Y. C. y Chan, M. T. A tomato bZIP transcription factor, SIAREB, is involved in water deficit and salt stress response. *Planta*, 2010, vol. 231, pp. 1459-1473.
112. Qin, F.; Kakimoto, M.; Sakuma, Y.; Maruyama, K.; Osakabe, Y.; Lam-Son, P.; Tran, L. Sp.; Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. *Plant J.*, 2007, vol. 50, pp. 54-69.
113. O'Connell, M. A.; Medina, A. L.; Sánchez-Peña, P. y Treviño, M. B. Molecular Genetics of drought resistance response in tomato and related species. En: Razdan, M. K. & Mataro, A. K. Eds. Genetic Improvement of Solanaceous Crops, vol 2: Tomato. Science Publishers, Enfield, USA. 2007. pp. 261-283.
114. Tung, S.; Smeeton, R.; White, C. A.; Black, C. R.; Taylor, I. B.; Hilton, H. W. y Thompson, A. J. Over-expression of *LeNCED1* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with the *rbcS3C* promoter allows recovery of lines that accumulate very high levels of abscisic acid and exhibit severe phenotypes. *Plant Cell Environ.*, 2008, vol. 31, pp. 968-981.

115. Lu, Ch.; Li, Y.; Chen, A.; Li, L.; Zhuo, J.; Tian, H.; Luo, Y. y Zhu, B. *LeERF1* improves tolerance to drought stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and activates downstream stress-responsive genes. *African J. Biotech.*, 2010, vol. 9, no. 38, pp. 6294-6300.
116. Gupta, V.; Mathur, S.; Solanke, A. U.; Sharma, M. K.; Kumar, R.; Vyas, S.; Khurana, P.; Khurana, J. P.; Tyagi, A. K. y Sharma, A. K. Genome analysis and genetic enhancement of tomato. *Critical Reviews Biotech*, 2009, vol. 29, no. 2, pp. 152-181.
117. Ramya, M.; Raveendran, M. y Ramalingam, S. J. Insilico analysis of drought tolerant genes in rice. *Int. J. Biol. Med. Res.*, 2010, vol. 1, no. 3, pp. 36-40.
118. Martin, B.; Nienhuis, J. y King, G. Restriction fragment length polymorphisms associated with water use efficiency in tomato. *Science*, 1989, vol. 243, pp. 1725-1728.
119. Kahn, T. L.; Fender, S. E.; Bray, E. A. y O'Connell, M. A. Characterization of Expression of Drought- and Abscisic Acid-Regulated Tomato Genes in the Drought-Resistant Species *Lycopersicon pennellii*. *Plant Physiol.* 1993, vol. 103, pp. 597-605.
120. Agarwal, P. K. y Jha, B. Transcription factors in plants and ABA dependent and independent abiotic stress signaling. *Biol. Plant*, 2010, vol. 54, pp. 201-212.
121. Yue, B.; Xue, W.; Luo, L. y Xing, J. Y. Identification of quantitative trait loci for four morphologic traits under water stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Genet. Genomics*, 2008, vol. 35, pp. 569-575.
122. Messina, C. D.; Podlich, D. y Dong, Z. Mitch Samples and Mark Cooper. Yield-trait performance landscapes: from theory to application in breeding maize for drought tolerance. *J. Exp. Bot.*, 2011, vol. 62, no. 3, pp. 855-868.
123. Agbicodo, E. M.; Fatokun, C. A.; Muranaka, S.; Visser, R. G. F. y Linden van der, C. G. Breeding drought tolerant cowpea: constraints, accomplishments, and future prospects. *Euphytica*, 2009, vol. 167, pp. 353-370.
124. Babu, C. R.; Nguyen, B. D. y Chamarek, V. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: association between secondary traits and field performance. *Crop Sci.*, 2003, vol. 43, pp. 1457-1469.
125. Bamabás, B.; Jäger, K. y Fehér, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ*, 2008, vol. 31, pp. 11-38.
126. Khurana, P.; Khurana, J. P.; Tyagi, A. K. y Sharma, A. K. Genome analysis and genetic enhancement of tomato. *Critical Reviews Biotechn*, 2009, vol. 29, no. 2, pp. 152-181.
127. Mir, R. R.; Zaman-Allah, M.; Sreenivasulu, N.; Trethowan, R. y Varshney, R. K. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *TAG*, 2012, vol. 125, pp. 625-645.
128. Zhou, L.; Liu, Y.; Liu, Z.; Kong, D.; Duan, M. y Luo, L. Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. *Journal of Experimental Botany*, 2010, vol. 61, no. 15, pp. 4157- 4168.
129. Chen, S. B.; Gollop, N. y Heuer, B. Proteomic analysis of salt-stressed tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings: effect of genotype and exogenous application of glycinebetaine. *J. Exp. Bot.*, 2009, vol. 60, no. 7, pp. 2005-2019.
130. Ashrafi, H.; Kinkade, M. P. y Foolad, M. R. A new genetic linkage map of tomato based on a *Solanum lycopersicum* × *S. pimpinellifolium* RIL population displaying locations of candidate resistance ESTs. *Genome*, 2009, vol. 52, pp. 935-956.
131. Ashraf, M.; Akram, N. A.; Al-Qurainy, F. y Foolad, M. R. Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, plant growth regulators and mineral nutrients. *Adv. Agron.*, 2011, vol. 111, pp. 249-296.
132. The Tomato Genome Consortium. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 2012, vol. 485, pp. 635-641.

Recibido: 21 de noviembre de 2012

Aceptado: 20 de junio de 2013

¿Cómo citar?

Florido Bacallao, Marilyn y Bao Fundora, Lourdes. Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). [en línea]. *Cultivos Tropicales*, 2014, vol. 35, no. 3, pp. 70-88. ISSN 1819-4087. [Consultado: ____]. Disponible en: <----->.