

TOLERANCIA AL ESTRÉS DE PLANTINES DE YERBA MATE INOCULADOS CON BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL NATIVAS DE MISIONES.

Fermin Gortari

Laboratorio de propagación vegetativa, Facultad de Ciencias Forestales, UNaM.

Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María EbeReca”, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Químicas, UNaM.

CONICET.

fermingortari@facfor.unam.edu.ar

Nardia M. Bulfe

Estación Experimental Agropecuaria Montecarlo, INTA

Margarita Laczeski

Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María EbeReca”, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Químicas, UNaM.

CONICET

Andrea Onetto

Julieta Cortese

Lorena Castrillo

Gustavo Bich

Pedro D. Zapata

Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María EbeReca”, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Químicas, UNaM.

CONICET.

Laura L. Villalba

Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María EbeReca”, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Químicas, UNaM.

Fernando Niella

Laboratorio de propagación vegetativa, Facultad de Ciencias Forestales, UNaM.

Yvyraretá
Revista Forestal País de Arboles

STRESS TOLERANCE OF YERBA MATE SEEDLINGS INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIAS NATIVE OF MISIONES.

Fecha de Recepción: 07/03/2019 // Fecha de Aceptación: 05/06/2019

RESUMEN

La yerba mate es una planta que crece bajo dosel en condiciones naturales, donde la disponibilidad de luz y el estado hídrico están regulados por el canopy. Sin embargo, en condiciones de monocultivo podría encontrarse ante situaciones de estrés. En la raíz de esta planta se han encontrado gran cantidad de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) que podrían también atenuar dicha situación de estrés. Se realizó un ensayo donde se evaluó la capacidad de bacterias PGPR nativas de Misiones que podrían mitigar el estrés ambiental (100% de radiación solar y disponibilidad de agua según precipitaciones). Para ello, se evaluó el crecimiento en altura y la conductancia estomática (gs) de plantas de yerba inoculadas y no inoculadas (control) con bacterias PGPR, creciendo en condiciones controladas como así también bajo estrés. El estrés ambiental repercutió negativamente en el crecimiento en altura de las plantas de yerba mate. La altura de las plantas control bajo estrés fue significativamente menor al de las plantas control sin estrés, mientras que las plantas inoculadas presentaron alturas similares estuvieran o no estresadas. Además, en condiciones de estrés, las plantas inoculadas presentaron un valor de gs mayor a las plantas control. Por lo tanto, la inoculación con bacterias PGPR nativas podría mitigar los efectos negativos del estrés ambiental.

Palabras clave: *Ilex paraguariensis*, PGPR, estrés hídrico, *Bacillus* sp., *Kosakonia* sp.

SUMMARY

The yerba mate plant grows under canopy in natural conditions where light and water status are regulated. However, in monoculture conditions the plant may undergo stress situations. A great quantity of growth promoting bacteria (PGPR) have been found in the roots of this plant, which could mitigate stress too. An experiment was done where PGPR capacity to mitigate environmental stress was evaluated (100% of solar radiation and water availability according to rainfall). For this purpose, height and stomatal conductance (gs) were evaluated in yerba mate plants, inoculated and not inoculated (control), with PGPR bacteria, growing under controlled or stressed conditions. Environmental stress impacted negatively in height growth of yerba mate plants. The height of control plants under stress was significantly lower than control plants under unstressed conditions, while the height for inoculated stressed plants (regardless of strain) did not differ from that of non-stressed ones. Inoculated plants presented a higher gs than control plants under stress conditions. Therefore, the inoculation with native PGPR bacteria allowed to mitigate the negative effects of stress.

Key words: *Ilex paraguariensis*, PGPR, water stress, *Bacillus* sp, *Kosakonia* sp

INTRODUCCIÓN

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) es una especie arbórea cuya distribución natural ocurre en Argentina, Paraguay y Brasil, siendo estos países los principales productores de dicho cultivo (PARRA 2010). Es una planta que crece bajo dosel en condiciones naturales (EIBL *et al.*, 2000), donde la disponibilidad de luz y el estado hídrico están regulados por la presencia del canopeo. En el sistema de producción actual, monocultivo de yerba mate, las plantas están expuestas a condiciones estresantes dadas por la radiación directa del sol y mayores demandas evapotranspirativas ya que no cuentan con esa regulación que ejerce en condiciones naturales el dosel superior, como se ha demostrado para *Acacia gerrardii* y la vegetación asociada que crece debajo (AL-NAMAZI *et al.*, 2017). El crecimiento de plantines de yerba mate es mayor cuando estos presentan una condición de radiación del 50% en relación a plantines que crecen bajo radiación directa del sol; y este crecimiento puede aumentar incluso, si se evita el estrés por falta de agua (SANSBERRO *et al.*, 2004).

En la rizósfera y raíces de la yerba mate se ha encontrado una amplia diversidad de bacterias con capacidad de promover el crecimiento vegetal (PGPR) (BERGOTTINI *et al.*, 2015, 2017). Estas bacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, quelar hierro (PII *et al.*, 2015) y/o liberar ácidos orgánicos que solubilizan el fósforo (ALTO-MARE *et al.*, 1999, SABIR *et al.*, 2011). Además, el hecho de que liberan auxinas y otras hormonas (RAMOS *et al.*, 2003) podría explicar el efecto positivo sobre el crecimiento al estimular la proliferación de raíces finas, y de esta manera aumentar el contacto raíz/suelo y consecuentemente la capacidad de absorber todos los nutrientes presentes en el suelo (NUÑEZ *et al.*, 2012). Si bien el aumento en la tasa de crecimiento podría disminuir la tolerancia al estrés, las PGPR mejoran dicha tolerancia, ya que aumentan la capacidad de absorber nutrientes, la síntesis de antioxidantes y sintetizan hormonas que pueden mejorar la tolerancia de las plantas a estreses abióticos (SHUKLA *et al.*, 2012, NADEEM *et al.*, 2014).

Existen antecedentes de selección de diversas cepas bacterianas endófitas de yerba mate con amplia capacidad PGPR. Al tratarse de bacterias que se encuentran naturalmente en las plantas de yerba mate de nuestra zona, se asegura que las cepas estén adaptadas a la especie y a las condiciones climáticas y edáficas locales, derivando en una interacción planta - bacteria endófito - suelo y ambiente más adecuada que la inoculación con bacterias PGPR disponibles comercialmente para otros cultivos.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de bacterias PGPR nativas de suelos misioneros, en plantines de yerba mate bajo condiciones de estrés ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se utilizaron tres cepas bacterianas endófitas de yerba mate, aisladas previamente en plantaciones de la provincia de Misiones

(Argentina) de suelos rojos profundos. Suelos caracterizados por ser arcillosos, bien drenados, ácidos y de baja fertilidad natural (LIGIER *et al.*, 1990). Estas cepas se encuentran resguardadas en el cepario de interés biotecnológico del Instituto de Biotecnología Misiones de la Universidad Nacional de Misiones, codificadas como *Bacillus altitudinis* 19R, *B. altitudinis* T5S y *Kosakonia radicincitans* YD4. Las cepas del género *Bacillus* se caracterizan por ser endófitas y esporulantes; y la cepa YD4 se caracteriza por ser de la rizósfera y no producir esporas.

Como material vegetal se utilizaron plantines de 3 meses de edad de yerba mate provenientes de la Fundación Roth (Santo Pipo, Misiones), creciendo en tubetes con sustrato compuesto de corteza de pino en los invernáculos de la Facultad de Ciencias Forestales (Eldorado, Misiones). Los plantines fueron inoculados con las tres cepas de bacterias nativas de suelos misioneros, con capacidad comprobada de promover el crecimiento vegetal (BERGOTTINI *et al.*, 2015, LACZESKI *et al.*, 2019). Los tratamientos fueron los siguientes: Control (plantas sin inocular), YD4, T5S, 19R, 19R-T5S, 19R-YD4 y T5S-YD4. Se inocularon 40 plantines por tratamiento. Se realizaron tres inoculaciones por planta, a intervalos de 7 días (la primera inoculación se realizó a principios de noviembre de 2017). Cada inoculación consistió en la aplicación de 5 ml de una suspensión de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (unidades formadoras de colonias por ml). La preparación de cada una de las cepas fue realizada mediante un inóculo primario (cultivo de 24 hs en medio Luria Bertani, LB, Britania Labs) y ajustándose la concentración mediante el método de turbidimetría midiendo la densidad óptica a 600 nm.

Una semana posterior a la última inoculación (diciembre de 2017), los plantines fueron trasplantados a macetas de 2 L, utilizando como sustrato tierra roja. Los plantines permanecieron en invernáculo, bajo condiciones controladas de luz (media sombra, 50% de la radiación solar directa) y humedad (riego por aspersión, sustrato a capacidad de campo). En la primera semana de febrero de 2018, la mitad de los plantines de cada tratamiento (20 plantines) se colocó fuera del invernáculo, recibiendo el 100% de la radiación directa del sol y la humedad relativa del sustrato varió en función de las precipitaciones. Esta condición se definió como plantas estresadas mientras que las plantas que permanecieron dentro del invernáculo se consideraron no estresadas. Por lo tanto, el ensayo consistió en dos factores: por un lado, el factor PGPR con 7 niveles (las diferentes cepas de PGPR y sus combinaciones) y por otro lado el factor Estrés (E), con dos niveles (plantas sin estrés y plantas con estrés). Transcurridos 2 meses (abril de 2018), se procedió a la medición de la altura de la planta como parámetro de su crecimiento. También se midió la conductancia estomática ($gs, mmol H_2O m^{-2} s^{-1}$) diaria (11, 13 y 16 hs) con porómetro (Decagon SC1, Pullman, Washington, USA) en días soleados, solo en plantas bajo condiciones de estrés. Se realizó una medición por planta, en el lado inferior de la primera hoja completamente expandida. Durante el periodo que duro el estrés la temperatura media fue de 25,5°C (1°C mas que el promedio histórico) y las precipitaciones sumaron 250 mm (aproximadamente 180 mm menos que

el promedio histórico), siendo además muy irregulares, con periodos entre lluvias de 5 a 7 días (Eibl *et al.*, 2018); por lo tanto, salvo los días en que llovió, el sustrato se encontró con valores de humedad menores al de capacidad de campo.

Los datos de altura se analizaron estadísticamente mediante modelos lineales generales y mixtos (MLG) debido a la heterogeneidad de las varianzas del factor PGPR. Para la variable altura se consideraron como factores: PGPR (C, YD4, T5S, 19R, 19R-T5S, 19R-YD4 y T5S-YD4) y E (plantas estresadas o plantas no estresadas), como también la interacción entre factores. Como enfoque complementario, se realizó un análisis con MLG donde se agruparon todos los tratamientos con PGPR para compararlos con el control no inoculado. En este análisis se modeló la varianza del factor PGPR. Para la variable gs solo se analizó el factor PGPR de las plantas estresadas mediante ANOVA. En el caso de diferencias significativas, las medias fueron comparadas por el test de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS

La altura de las plantas varió en función del factor estrés, pero no en función del factor PGPR y no hubo interacción entre los factores, cuando se analizaron por separado las cepas. La altura promedio de las plantas no estresadas fue de $20,2 \pm 10,4$ cm mientras que las plantas estresadas tuvieron una altura promedio de $18,8 \pm 0,4$ cm (Figura 1A). Sin embargo, cuando se juntaron todas las cepas como un solo tratamiento (PGPR) existió interacción entre factores. La altura promedio de las plantas control estresadas fue menor a la de las plantas control no estresadas; mientras que no hubo diferencias significativas para el tratamiento PGPR estresado y no estresado, teniendo valores similares a las plantas control sin estresar (Figura 1B).

La conductancia estomática de las plantas estresadas fue significativamente diferente en la medición de las 13hs, mientras que en las mediciones de las 11 hs y 16 hs no hubo diferencias significativas. En la medición de las 13 hs, el valor más bajo de gs fue para el tratamiento control, $241,4 \pm 38,6$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$; y el valor más alto para el tratamiento YD4, $539,6 \pm 89,2$ mmol H_2O $m^{-2} s^{-1}$, mientras que los demás tratamientos presentaron valores intermedios (Tabla 1).

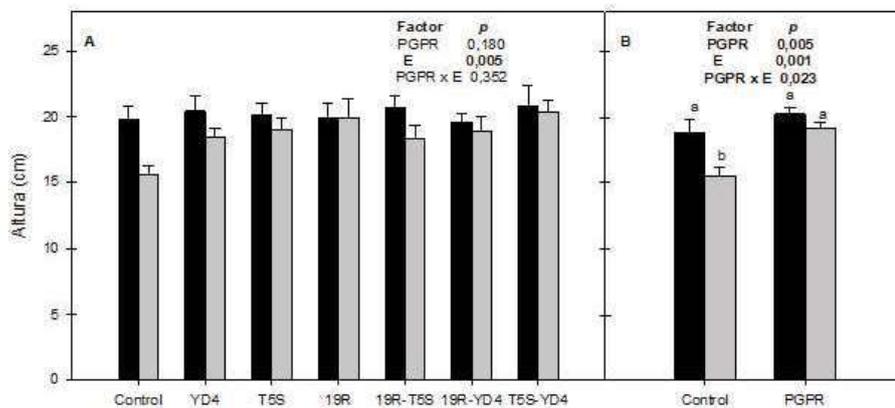


Figura 1. Altura (cm) de plantas de yerba mate para los diferentes tratamientos aplicados. Barras negras, plantas sin estrés; barras grises, plantas con estrés. Las barras corresponden a la media \pm 1 error estándar. Se indican los valores de p del MLG para cada factor y la interacción. Diferencias significativas se resaltan en negrita ($p < 0,05$). Diferentes letras indican diferencias entre tratamientos.

Figure 1. Height (cm) of yerba mate plants for the different treatments. Black bars, not stressed plants; grey bars, stressed plants. Bars contain means \pm 1 standard error. p -value from MLG are indicated for each factor and the interaction. Significant differences are in bold letters ($p < 0,05$). Different letters indicate differences between treatments.

Tabla 1. Conductancia estomática (gs, mmol H₂O m² s⁻¹) de hojas de yerba mate en condiciones de estrés en diferentes horas del día. Se indican los valores de *p* de los ANOVA. Diferencias estadísticamente significativas se resaltan en negrita (*p*<0,05). Las medias fueron analizadas por el test de Duncan (*p*<0,05). Diferentes letras indican diferencias entre tratamientos.

Table 1. Stomatal conductance (gs, mmol H₂O m² s⁻¹) of yerba mate leaves under stress at different times at a day. *p*-values from ANOVA were indicated. Significant differences are in bold letters (*p* < 0,05). Means were evaluated by Duncan tests (*p*<0,05). Different letters indicate differences between treatments.

Tratamiento	gs 11h	gs 13h	gs 16h
Control	341,4 ± 51,1	241,4 ± 38,6 a	212,3 ± 34,6
YD4	604,4 ± 71,4	539,6 ± 89,2 c	222,6 ± 41,1
T5S	510,2 ± 50,6	459,7 ± 89,3bc	207,3 ± 34,9
19R	437,3 ± 28,12	464,8 ± 15,7bc	228,8 ± 16,7
19R-T5S	440,5 ± 130,5	336,3 ± 51,9 ab	174,6 ± 15,9
19R-YD4	568,1 ± 58,5	456,6 ± 50,7bc	224,7 ± 15,7
T5S-YD4	462,3 ± 70,1	452,9 ± 46,6bc	209,2 ± 18,1
ANOVA	<i>p</i> =0,180	<i>p</i> =0,029	<i>p</i> =0,880

DISCUSIÓN

La yerba mate es una planta adaptada al crecimiento bajo dosel, por lo que si las plantas están expuestas a altas tasas de radiación solar o altas demandas evapotranspirativas se podría considerar que se encuentran en situación de estrés. Estas condiciones son normales en el monocultivo de yerba mate en la Provincia de Misiones y se agudizan en la temporada estival. En nuestro ensayo, las plantas expuestas a condiciones de estrés crecieron menos en altura que las plantas no estresadas (Figura 1A y 1B). El exceso de luz, al no poder ser disipado, causa foto-inhibición del fotosistema II y la consiguiente pérdida de crecimiento y rendimiento (NISHIYAMA y MURATA 2014). Por otro lado, cuando las plantas se encuentran bajo situaciones de estrés por sequía, rápidamente se produce una disminución de la actividad fotosintética y la conductancia estomática, dando como resultado una menor biomasa total, disminución del área foliar, pérdida de hojas o incluso defoliación total (TSCHAPLINSKI *et al.*, 1998, MARRON *et al.*, 2003, YIN *et al.*, 2005, MONCLUS *et al.*, 2006). Estos dos factores de estrés están estrechamente relacionados, pudiéndose dar ambos en simultáneo e incluso, el estrés hídrico puede exacerbar el daño sobre el sistema fotosintético causado por el exceso de luz (TAMBUSSI *et al.*, 2002).

Las bacterias PGPR no solo estimulan el crecimiento sino que también pueden mejorar la tolerancia al estrés de las plantas (BERG 2009). Si analizamos comparativamente el comportamiento de la aplicación de bacterias PGPR observamos que las diferencias son mínimas y no significativas entre las plantas estresadas y no estresadas; mientras que para las plantas que no fueron inoculadas (control) existe una diferencia en altura entre las plantas que crecen sin estrés y con estrés, siendo significativamente menor el crecimiento de las plantas control estresadas (Figura 1B). Esta mínima o nula reducción del crecimiento en altura de las plantas inoculadas y estresadas en comparación a las

plantas inoculadas pero no estresadas puede tener su explicación en el comportamiento de gs. En los tratamientos de plantas inoculadas, independientemente de la cepa o combinación de cepas, gs se mantuvo en los mismos valores entre las 11h y las 13h, para decaer hacia la tarde mientras que en el tratamiento control se observa una disminución de gs desde la medición de la mañana. Esto hace que gs de las plantas inoculadas y estresadas sea mayor a la de las plantas control estresadas al mediodía (Tabla 1), existiendo una asociación positiva entre gs y tasa de fotosíntesis. En plantas de maíz y *Arabidopsis* inoculadas con PGPR se demostró que estas plantas mediante cambios en el sistema radicular, en la fisiología y en los niveles de fitohormonas toleraban mejor la sequía y mejoraban su crecimiento en relación a plantas sin inocular (HUANG *et al.*, 2017). También, de un meta análisis se concluye que si bien en buenas condiciones hídricas la aplicación de PGPR mejora el crecimiento de plantas al compararlas con plantas sin inocular, cuando la comparación se hace en plantas con estrés hídrico, el crecimiento atribuido a la aplicación de PGPR es aún mayor (RUBIN *et al.*, 2017).

CONCLUSIÓN

Plantas de yerba mate que crecieron en condiciones de estrés (alta radiación solar directa y alta demanda evapotranspirativas) presentaron menor altura que plantas que crecieron sin estrés.

Plantas de yerba mate inoculadas con bacterias PGPR, independientemente de la cepa o combinación de cepas, no resienten su crecimiento en altura en condiciones estresantes. Mientras que plantas de yerba mate sin inocular resienten significativamente su crecimiento en altura en condiciones estresantes.

La conductancia estomática disminuye significativamente en las plantas de yerba mate control en comparación a las inoculadas bajo condiciones de estrés.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el INYM. La Fundación A. Roth brindó el material vegetal para el ensayo. FG posee una beca Posdoctoral cofinanciada por la UNaM y el CONICET.

BIBLIOGRAFÍA

AL-NAMAZI AA, El-Bana MI, Bonser SP (2017) Competition and facilitation structure plant communities under nurse tree canopies in extremely stressful environments. *Ecol Evol* 7:2747-2755.

ALTOMARE C, Norvell WA, Bjorkman T, Harman GE (1999) Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *trichoderma harzianum* rifai 1295-22. *Appl Environ Microbiol* 65:2926-33.

BERG G (2009) Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl Microbiol Biotechnol* 84:11-18.

BERGOTTINI VM, Hervé V, Sosa DA, Otegui MB, Zapata PD, Junier P (2017) Exploring the diversity of the root-associated microbiome of *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Yerba Mate). *Appl Soil Ecol* 109:23-31.

BERGOTTINI VM, Otegui MB, Sosa DA, Zapata PD, Mulot M, Rebord M, Zopfi J, Wiss F, Benrey B, Junier P (2015) Bio-inoculation of yerba mate seedlings (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) with native plant growth-promoting rhizobacteria: a sustainable alternative to improve crop yield. *Biol Fertil Soils* 51:749-755.

EIBL B, Fernandez RA, Kozarik JC, Lupi A, Montagnini F, Nozzi D (2000) Agroforestry systems with *Ilex paraguariensis* (American holly or yerba mate) and native timber trees on small farms in Misiones, Argentina. *Agrofor Syst* 48:1-8.

EIBL B, Silva F, Bobadilla E, Klein E (2018) Estacion Meteorologica. Fac Ciencias For UNaM. <http://www.facfor.unam.edu.ar/la-facultad/proyectos-institucionales-transversales/estacion-meteorologica/>

HUANG X-F, Zhou D, Lapsansky ER, Reardon KF, Guo J, Andales MJ, Vivanco JM, Manter DK (2017) *Mitsuaria* sp. and *Burkholderia* sp. from *Arabidopsis* rhizosphere enhance drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil*:1-17.

LACZESKI M, Onetto A, Cortese IJ, Mallozzi G, Castrillo ML, Bich GA, Gortari F, Zapata PD, Otegui MB (2019) Isolation and selection of endophytic spore-forming bacteria with plant growth promoting properties isolated from *ilex paraguariensis* st. hil. (Yerba mate). *Ann Brazilian Acad Sci*

LIGIER H, Matteio H, Polo H, Rosso J (1990) Atlas de suelos de la República Argentina: Provincia de Misiones. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires.

MARRON N, Dreyer E, Boudouresque E, Delay D, Petit J-M, Delmotte FM, Brignolas F (2003) Impact of successive drought and re-watering cycles on growth and specific leaf area of two *Populus x canadensis* (Moench) clones, 'Dorskamp' and 'Luisa_Avanzo'. *Tree Physiol* 23:1225-1235.

MONCLUS R, Dreyer E, Villar M, Delmotte FM, Delay D, Petit J-M, Barbaroux C, Le Thiec D, Bréchet C, Brignolas F (2006) Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytol* 169:765-777.

NADEEM SM, Ahmad M, Zahir ZA, Javaid A, Ashraf M (2014) The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol Adv* 32:429-448.

NISHIYAMA Y, Murata N (2014) Revised scheme for the mechanism of photoinhibition and its application to enhance the abiotic stress tolerance of the photosynthetic machinery. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:8777-8796.

NUÑEZ JAD, Muñoz D, Planelles R, Grau JM, Artero F, Anriquez A, Albanesi A (2012) Inoculation with *Azospirillum brasilense* enhances the quality of mesquite *Prosopis juliflora* seedlings. *For Syst* 21:364-372.

PARRA PA (2010) Informe de coyuntura cadena infusiones: Yerba mate (Yerba mate, maté). MINAGRI Dir Nac Econ Reg

PII Y, Penn A, Terzano R, Crecchio C, Mimmo T, Cesco S (2015) Plant-microorganism-soil interactions influence the Fe availability in the rhizosphere of cucumber plants. *Plant Physiol Biochem* 87:45-52.

RUBIN RL, van Groenigen KJ, Hungate BA (2017) Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. *Plant Soil* 416:309-323.

SABIR A, Yazici MA, Kara Z, Sahin F (2011) Growth and mineral acquisition response of grapevine rootstocks (*Vitis* spp.) to inoculation with different strains of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *J Sci Food Agric* 92:2148-2153.

SANSBERRO PA, Mroginski LA, Bottini R (2004) Foliar sprays with ABA promote growth of *Ilex paraguariensis* by alleviating diurnal water stress. *Plant Growth Regul* 42:105-111.

SHUKLA N, Awasthi RP, Rawat L, Kumar J (2012) Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiol Biochem* 54:78-88.

TAMBUSSI EA, Casadesus J, Munné-Bosch S, Araus JL (2002) Photoprotection in water-stressed plants of durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*): changes in chlorophyll fluorescence, spectral signature and photosynthetic pigments. *Funct Plant Biol* 29:35.

TSCHAPLINSKI TJ, Tuskan GA, Gebre GM, Todd DE (1998) Drought resistance of two hybrid *Populus* clones grown in a large-scale plantation. *Tree Physiol* 18:653-658.

YIN C, Wang X, Duan B, Luo J, Li C (2005) Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environ Exp Bot* 53:315-322.