



2

Respuestas fisiológicas a diferentes dosis de reposición hídrica y formulaciones de ácido abscísico y metil jasmonato



Capítulo

2

Capítulo 2

Respuestas fisiológicas a diferentes dosis de reposición hídrica y formulaciones de ácido abscísico y metil jasmonato

Cristian Balbontín Sepúlveda
Ingeniero Agrónomo, Dr.

Hamil Uribe Cifuentes
Ingeniero Civil Agrícola, Dr.

Marisol Reyes Muñoz
Ingeniera Agrónoma, Dra.

Victoria Urrutia Moya
Ingeniera en Biotecnología

2.1 Efectos del estrés hídrico en plantas de arándano

El ácido abscísico (ABA) es una molécula orgánica que pertenece a la clase de compuestos llamados sesquiterpenos. Este compuesto se encuentra naturalmente en las plantas y desempeña un papel fundamental en la regulación del crecimiento, desarrollo y respuesta a diferentes estímulos ambientales, incluyendo la respuesta a la sequía (Wang et al., 2020).

En condiciones de estrés, el ABA puede regular la expresión de genes involucrados en la síntesis de compuestos protectores, como osmolitos y proteínas de choque térmico, los cuales protegen las células de la deshidratación y el estrés oxidativo (Wei et al., 2015). Asimismo, el ABA promueve el incremento de tolerancia de las plantas a condiciones de sequía mediante diversos mecanismos, los cuales se inician con la regulación de la apertura estomática, lo que permite reducir la pérdida de agua por transpiración, ayudando a mantener el equilibrio hídrico de la planta (Li et al., 2000).

Durante situaciones de estrés hídrico, el ácido abscísico (ABA) se acumula en las hojas y tiene un efecto directo en las células "guarda", las cuales controlan la apertura y cierre de los estomas. Estas células tienen la capacidad de bombear selectivamente iones, como el potasio (K⁺) y el calcio (Ca²⁺), desde y hacia el espacio extracelular. Esta acción conduce a una reducción en el potencial eléctrico de las células y en la absorción de agua. Como resultado, la turgencia celular disminuye, lo que a su vez provoca el cierre parcial o completo de los estomas (Franks et al., 2001).

El cierre estomático inducido por el ABA como respuesta a condiciones de menor disponibilidad hídrica, puede en algunos casos, afectar la fotosíntesis dada la menor captación de CO₂. Sin embargo, el cierre de los estomas también puede tener un efecto protector en la planta durante el estrés, dado que en estas condiciones la pérdida excesiva de agua a través de la transpiración podría tener efectos negativos en la planta, como la reducción de la tasa de fotosíntesis neta y el crecimiento final de la planta (Setter y Brun, 1980). En este sentido, el cierre parcial de los estomas limitaría la pérdida de agua a través de la transpiración, aumentando la eficiencia de uso y ayudando a mantener el equilibrio hídrico de la planta. Además, el ABA también puede modular la actividad de los pigmentos fotosintéticos, mejorando la captación de la luz y la eficiencia de la fotosíntesis en condiciones de estrés (Franks et al., 2001).

Se ha demostrado que la manipulación genética de la síntesis de ABA en las plantas puede mejorar su tolerancia a la sequía. Por ejemplo, varios estudios han reportado que la sobreexpresión de genes involucrados en la síntesis de ABA puede aumentar la tolerancia a la sequía en cultivos como arroz o soya, (Wu et al., 2016; Molinari et al., 2020). Sin embargo, la manipulación genética de cultivos puede ser controversial para algunos sectores de la opinión pública. Frente a ello, la aplicación exógena de ABA constituye una herramienta valiosa para mejorar la tolerancia de las plantas a la sequía u otras condiciones de estrés. Por ejemplo, en un estudio realizado con plantas de trigo expuestas a sequía, la aplicación exógena de ABA mejoró la eficiencia en el uso del agua, redujo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y aumentó la actividad enzimática antioxidante (Du et al., 2013). Asimismo, en especies frutales, se ha demostrado que la aplicación exógena de ABA puede incrementar la síntesis de ceras de la cutícula (Gutiérrez et al., 2021), lo cual podría ayudar a impermeabilizar las superficies foliares, reduciendo la pérdida de agua y aumentando la reflexión de los rayos solares (Guo et al., 2016).

El ácido jasmónico (JA) y sus derivados, como el metil jasmonato (MeJA), también han demostrado tener efectos positivos en el aumento de la tolerancia de las plantas a condiciones de sequía. Estos compuestos, derivados de ácidos grasos, desempeñan un papel importante en la coordinación de respuestas de defensa inducibles, lo que mejora la capacidad de las plantas para resistir plagas de insectos y patógenos necrotróficos (Wasternack y Hause, 2013). Además de su función en la defensa, el JA también es necesario para regular procesos específicos del desarrollo de la planta, como la reproducción y la foto morfogénesis (Svyatyna y Riemann, 2012).

Durante condiciones de estrés hídrico, se ha observado que el ácido jasmónico (JA) desempeña un papel importante. Por ejemplo, en *Arabidopsis*, una pequeña planta que se utiliza como modelo de estudio, se ha reportado un aumento transitorio en el contenido de JA endógeno después del estrés por sequía (Balbi y Devotto, 2008). Además, en otras especies como cebada y coliflor, la aplicación de jasmonato ha demostrado incrementar la respuesta del sistema antioxidante enzimático y reducir el daño en las membranas celulares causado por la falta de agua (Wu et al., 2012). Estos hallazgos sugieren que el JA podría contribuir a mejorar la capacidad de las plantas para hacer frente al estrés hídrico y protegerlas contra los efectos perjudiciales de la sequía. Sin embargo, el efecto de esta hormona en el incremento de la tolerancia al estrés hídrico en especies frutales no ha sido mayormente reportado hasta la fecha, aunque se ha mostrado que la aplicación de JA puede inducir una acumulación de betaína (una molécula osmoprotectora) en hojas de peral sometidas a condiciones restrictivas de agua (Gao et al., 2004).

Dadas las condiciones actuales de cambio climático que afectan nuestro país, así como las proyecciones de aumento de temperaturas y disminución del volumen de precipitaciones para la región del Maule, es fundamental contar con herramientas que permitan incrementar la tolerancia de las plantas de arándano a condiciones de menor disponibilidad de agua, sobre todo considerando la alta susceptibilidad de esta especie al estrés hídrico. Por tal motivo, en el proyecto se evaluó el efecto de dos formulaciones de combinaciones de ácido abscísico y metil jasmonato sobre la atenuación del estrés hídrico en plantas de arándano cultivadas en maceta. Para ello se midieron diferentes respuestas fisiológicas registradas bajo tres regímenes de riego: 100, 50 y 25% del consumo de plantas cultivadas en maceta. El cálculo de las reposiciones correspondientes a cada volumen se realizó estimando gravimétricamente el diferencial de agua consumida durante cierto periodo de tiempo. Los resultados se presentan a continuación.

2.2 Potencial hídrico (PH)

Éste es uno de los indicadores más importantes para determinar la condición hídrica de las plantas y es considerado un método efectivo para ajustar el riego. Para medirlo, se utilizan hojas o brotes que se colocan en una cámara de presión, conocida como cámara de Scholander, manteniendo el tallo en el exterior. A medida que se incrementa la presión dentro de la cámara, llegará un punto en el que el brote liberará el agua contenida en sus tejidos (Figura 2.1). Las plantas bien hidratadas solo necesitarán una pequeña presión (medida en Bares o Mega Pascales) para empujar el contenido xilemático desde la lámina foliar hacia el tallo, mientras que las plantas más estresadas retendrán con mayor fuerza el agua y se necesitará una mayor presión para liberarla de sus tejidos. Por esta razón se expresa en términos negativos, indicando que una planta con un potencial más negativo tiene una peor condición hídrica.

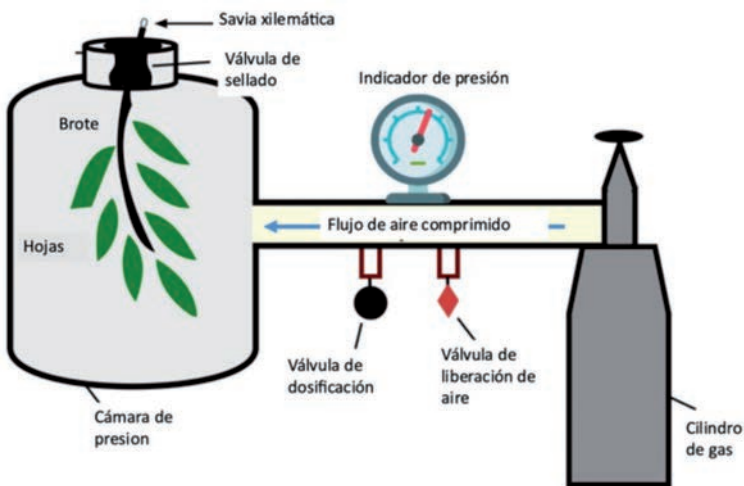


Figura 2.1. Esquema de una cámara de presión de medición de potencial hídrico. Adaptado de Zuecco *et al.*, 2022).

En nuestro ensayo, los brotes de plantas de distintos tratamientos fueron oscurecidas mediante su embolsado alrededor de las 10:00 a.m. (hora local) en bolsas plásticas recubiertas con papel aluminio. Después de dos horas en la oscuridad, estos brotes fueron utilizados para la determinación del PH.

En la Figura 2.2 se puede observar que en el tratamiento control, sin inductores hormonales (barras en azul), las plantas sometidas a estrés hídrico del 50% y 25% presentaron un incremento del 13% y 43% respectivamente en la fuerza de retención de agua de los tejidos, en tanto que las plantas en que se aplicaron distintas formulaciones de ácido abscísico y metil jasmonato, estos valores fueron menores incluso que en el control con 100% de reposición hídrica. Para la formulación 1 (barras en verde), las plantas sometidas a las mismas condiciones de estrés presentaron variaciones porcentuales de - 25% y 0,5%, es decir que las plantas bajo el régimen de 50% de la suplementación hídrica presentaron mejor estado que el control totalmente regado, no encontrándose variaciones entre este último (100% riego, control sin hormonas) y la condición de riego del 25%.

En el caso de la segunda formulación de hormonas (barras anaranjadas), también se observaron diferencias significativas en el potencial hídrico de las hojas, en función del nivel de estrés al que fueron sometidas las plantas. En particular, las plantas expuestas al 50% y al 25% de suministro de agua, mostraron valores porcentuales de PH más bajos que el grupo de control (sin inductores hormonales) con una reducción del 29% y un aumento del 21%, respectivamente.

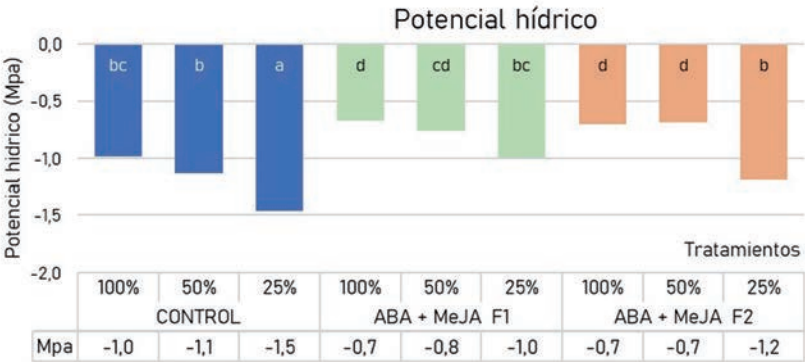


Figura 2.2. Potencial hídrico de plantas de arándano sometidas a estrés y bajo la acción de diferentes formulados (F1 y F2) de ácido abscísico (ABA) y metil jasmonato (MeJA). Suplementación hídrica de 100, 50 y 25 % del consumo estimado gravimétricamente. Letras distintas en la base de las barras indican diferencias estadísticas significativas (LSD Fisher; $\alpha=0,05$).

Nuestros resultado sugieren que en condiciones hídricas óptimas (100%), las formulaciones fueron capaces de aumentar el PH significativamente. Por otra parte, un déficit hídrico moderado del 50%, presentó con ambas formulaciones un incremento del PH significativo, sin encontrarse diferencias entre las formulaciones. Además, en condiciones de déficit hídrico más severo (25%) ambas formulaciones lograron reducir el efecto en PH significativamente respecto al control, siendo la formulación 1 más efectiva.

2.3 Niveles de clorofila

La concentración de clorofila presente en las hojas de la planta también puede ser un indicativo de estrés hídrico. En algunas especies, este pigmento puede verse incrementado en las hojas de las plantas en condiciones de restricción hídrica (Zhou et al., 2017; Rustioni y Bianchi, 2021). Esto se debería a la reducción del tamaño de las células: el estrés hídrico puede hacer que las células de las hojas se contraigan, aumentando la concentración de clorofila en una unidad de área de hoja y, por lo tanto, aumentan la densidad de clorofila en las hojas.

Nuestros resultados muestran que al suministrar únicamente el 25% de la suplementación hídrica, la concentración de clorofila puede aumentar hasta un 48%. Sin embargo, en las plantas tratadas con formulados que contienen ABA o MeJA, la concentración de clorofila se mantiene en niveles similares al grupo de control que recibe riego adecuado, incluso en condiciones de restricción de hasta el 75% del riego (Figura 2.3).

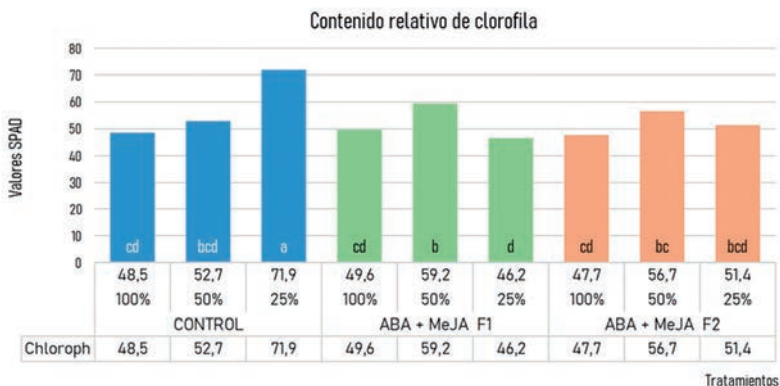


Figura 2.3. Contenido relativo de clorofila en hojas de plantas de arándano sometidas a estrés y bajo la acción de diferentes formulados (F1 y F2) de ácido abscísico (ABA) y metil jasmonato (MeJA). Suplementación hídrica de 100, 50 y 25 % del consumo estimado gravimétricamente. Letras distintas en la base de las barras indican diferencias estadísticas significativas (LSD Fisher; $\alpha=0,05$).

2.4 Fluorescencia de clorofila

El análisis de fluorescencia de clorofilas se basa en que la energía absorbida por las clorofilas de la hoja, proveniente de la luz del sol, puede tomar tres destinos: (1) fotosíntesis (fase fotoquímica); (2) disipación de calor y (3) emitirse como fluorescencia (Figura 2.4). Estos procesos ocurren en competencia, por lo que cuando la fotosíntesis disminuye se incrementa la disipación de calor en las hojas y la fluorescencia de clorofilas. Así la determinación de la fluorescencia de clorofilas es un parámetro, de fácil medición y que aporta información sobre los cambios en la eficiencia fotoquímica de las hojas (Maxwell y Johnson, 2000).

La determinación de fluorescencia puede realizarse tanto a la luz, como en hojas adaptadas a la oscuridad. En plantas adaptadas a oscuridad los equipos nos entregan la determinación del rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII, por sus siglas en inglés) o Fv/Fm. La determinación a la luz se denomina rendimiento cuántico efectivo del PSII (ϕ PSII) (Tambusi y Graciano, 2010) y es proporcional al rendimiento cuántico de la asimilación de CO₂ en condiciones no-foto respiratorias (Genty et al., 1989). Para este estudio se determinó ϕ PSII,

mediante un Fluorómetro MultispeQ. Este dispositivo además nos entrega información sobre la temperatura de la hoja y la disipación térmica. Estos parámetros se determinan mediante la disipación no fotoquímica de la energía absorbida (NPQt), según el protocolo propuesto por Fernández, et al., 2020.

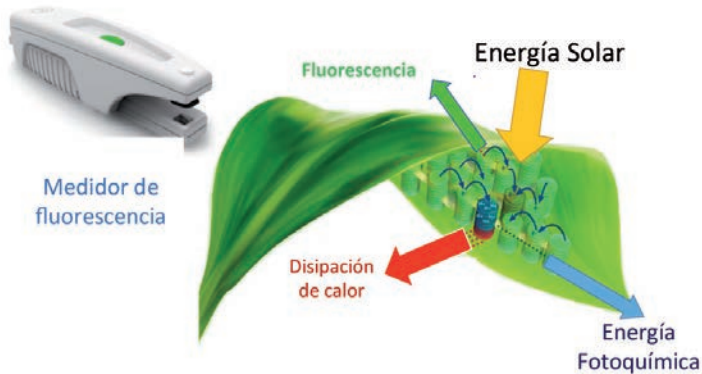


Figura 2.4. Flujo esquemático de las diferentes direcciones que puede seguir la energía solar que llega a las hojas de la planta e instrumento (genérico) usado para la medición de fluorescencia. Adaptado de Fernandez *et al.*, 2020.

2.5 Rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II

Los resultados de nuestro ensayo muestran que en condiciones control, sin inductores hormonales, no se observaron cambios significativos en el ϕ PSI, aunque existe una disminución al incrementar la restricción hídrica que podría afectar a largo plazo. Sin embargo, las plantas sometidas a regímenes hídricos restrictivos y que recibieron la aplicación de formulados a base de ABA y MeJA no vieron afectado este parámetro (Figura 2.5), siendo equivalentes a las plantas bien regadas.

El ácido abscísico ha sido asociado con la regulación de la apertura y cierre de los estomas, limitando la pérdida de agua y evitando la fotoinhibición del PSII en condiciones de estrés hídrico. Por otro lado, el jasmonato ha sido relacionado con la activación de los sistemas antioxidantes de las plantas, lo que ayuda a proteger el PSII contra el daño oxidativo producido por el exceso de luz. Además, el jasmonato también puede regular la expresión de genes que codifican para proteínas del PSII, mejorando la síntesis y el ensamblaje

de las mismas. Esto indica que la aplicación de ABA y MeJA podría mejorar la capacidad de las plantas para mantener su funcionamiento fotosintético incluso en condiciones de estrés hídrico, lo que podría ser beneficioso para su supervivencia en condiciones con limitaciones de agua. Cabe destacar que las plantas tratadas con ABA y MeJA presentaron valores de Φ_{PSII} equivalentes a las plantas bien regadas, lo que sugiere una mayor tolerancia al estrés hídrico.

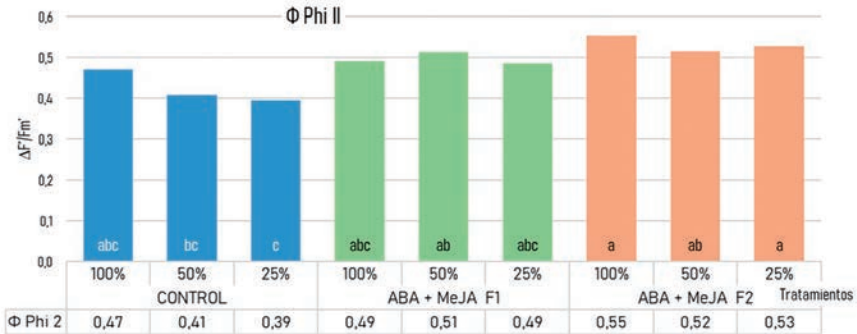


Figura 2.5. Rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II en hojas de plantas de arándano sometidas a estrés y bajo la acción de diferentes formulados (F1 y F2) de ácido abscísico (ABA) y metil jasmonato (MeJA). Suplementación hídrica de 100, 50 y 25 % del consumo estimado gravimétricamente. Letras distintas en la base de las barras indican diferencias estadísticas significativas (LSD Fisher; $\alpha=0,05$).

2.6 Coeficiente de disipación no regulada (NPQ)

También conocido como apagamiento no fotoquímico mide la proporción de energía radiante absorbida por la PSII que es disipada como calor, como un mecanismo de foto protección inducido por la luz a través de disipación térmica de energía. Los resultados de este ensayo indicaron que a medida que se disminuye el régimen de 50 a 25 % de la reposición hídrica, este coeficiente aumenta en 42 y 73 %, respectivamente. Lo anterior sucede como una forma de proteger a la planta del daño foto oxidativo causado por el exceso de energía que no puede ser ocupada en el proceso de fotosíntesis. Sin embargo, en las plantas que fueron tratadas con los formulados en base a ABA + MeJA los valores de este parámetro fueron, aun en condiciones de riego deficitario (Figura 2.6).

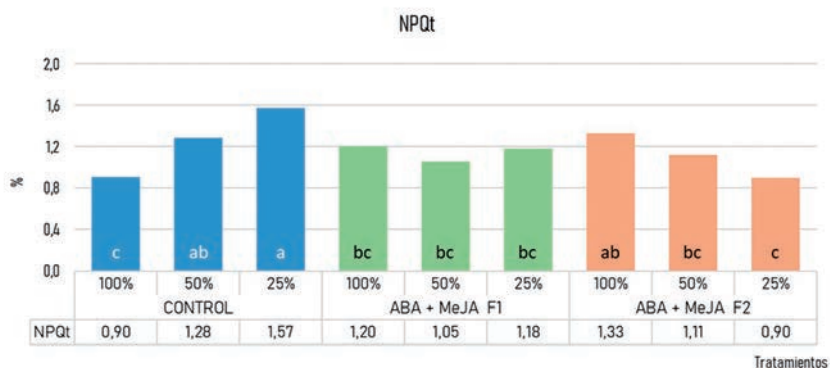


Figura 2.6. Apagamiento no fotoquímico en hojas de plantas de arándano sometidas a estrés y bajo la acción de diferentes formulados (F1 y F2) de ácido abscísico (ABA) y metil jasmonato (MeJA). Suplementación hídrica de 100, 50 y 25 % del consumo estimado gravimétricamente. Letras distintas en la base de las barras indican diferencias estadísticas significativas (LSD Fisher; $\alpha=0,05$).

2.7 Temperatura de hojas

La temperatura de las hojas puede ser utilizada como una variable indirecta para estimar el estado hídrico de la planta, pues cuando la planta se encuentra bajo estrés hídrico, su tasa de transpiración disminuye y esto puede afectar la temperatura de las hojas. En condiciones de buen suministro de agua, la tasa de transpiración de la planta es alta, lo que ayuda a enfriar la hoja. Aunque es una forma indirecta para estimar el estado hídrico de la planta, esta técnica puede complementarse con otras más especializadas. En este caso, el diferencial de la temperatura de hoja se registró en el mismo momento que la medición de fluorescencia de la clorofila.

Los resultados obtenidos mostraron que las plantas sometidas a estrés hídrico experimentaron un aumento en la temperatura de sus hojas (Figura 2.7). Este cambio se refleja en una diferencia negativa entre la temperatura del aire y la temperatura de las hojas. En consecuencia, cuando la temperatura de las hojas es mayor que la del aire, se obtiene un valor negativo. Por otra parte, en las plantas tratadas con formulados que contienen ABA y MeJA, este parámetro permanece relativamente constante, con valores similares a los encontrados en el control. Es decir, la acción combinada de estas hormonas es capaz de mantener la temperatura de la planta incluso bajo condiciones de estrés hídrico en diferentes niveles.

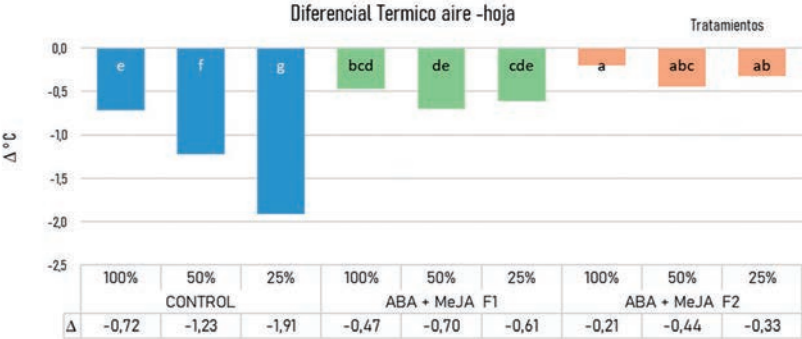


Figura 2.7. Diferencial de temperatura del aire con respecto a las hojas de plantas de arándano sometidas a estrés y bajo la acción de diferentes formulados (F1 y F2) de ácido abscísico (ABA) y metil jasmonato (MeJA). Suplementación hídrica de 100, 50 y 25 % del consumo estimado gravimétricamente. Letras distintas en la base de las barras indican diferencias estadísticas significativas (LSD Fisher; $\alpha=0,05$).

2.8 Conclusiones

En condiciones ambientales desfavorables, como la disminución de la disponibilidad de agua, las plantas pueden modificar su metabolismo para garantizar su supervivencia. No obstante, esta adaptación puede tener un impacto negativo en la cantidad y calidad de los frutos. Así, distintas investigaciones, incluido los resultados de este experimento, han mostrado que la aplicación exógena de inductores hormonales como el ácido abscísico y el metil jasmonato puede aumentar la tolerancia de las plantas al estrés hídrico, mejorando su estado hídrico y reduciendo la temperatura de las hojas, lo que resulta en un aumento del rendimiento fotosintético. Además, la aplicación de inductores hormonales puede ser una estrategia eficaz e interesante para mejorar la eficiencia de la planta en el uso del agua en plantaciones de arándano, maximizando el rendimiento de los cultivos en situaciones de déficit hídrico. Finalmente, el ahorro de agua asociado a esta técnica, puede tener implicaciones positivas para el medio ambiente y la sostenibilidad del sector agrícola.

2.9 Referencias

- Balbi, V., & Devoto, A. (2008).** Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. *New Phytologist*, 177(2), 301-318.
- Du, Y. L., Wang, Z. Y., Fan, J. W., Turner, N. C., He, J., Wang, T., & Li, F. M. (2013).** Exogenous abscisic acid reduces water loss and improves antioxidant defence, desiccation tolerance and transpiration efficiency in two spring wheat cultivars subjected to a soil water deficit. *Functional plant biology : FPB*, 40(5), 494-506. <https://doi.org/10.1071/FP12250>
- Fernández, R. D., Holalu, S. V., Cid, L. P., & Long, S. P. (2020).** MultispeQ-Photosynthesis: A Tool for Rapid, Noninvasive Measurement and Analysis of Photosynthetic Rates. *ACS Omega*, 5(32), 20429-20436. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01877>
- Gao, X. P., Wang, X. F., Lu, Y. F., Zhang, L. Y., Shen, Y. Y., Liang, Z., & Zhang, D. P. (2004).** Jasmonic acid is involved in the water-stress-induced betaine accumulation in pear leaves. *Plant, Cell & Environment*, 27(4), 497-507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01167.x>
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989).** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990(1), 87-92.
- Guo, J., Xu, W., Yu, X., Shen, H., Li, H., Cheng, D., Liu, A., Liu, J., Liu, C., Zhao, S., & Song, J. (2016).** Cuticular Wax Accumulation Is Associated with Drought Tolerance in Wheat Near-Isogenic Lines. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Gutierrez, C., Figueroa, C.R., Turner, A., Munne-Bosch, S., Muñoz, P., Schreiber, L., Zeisler, V., Marin, J.C., Balbontin, C. (2021).** Abscisic acid applied to sweet cherry at fruit set increases amounts of cell wall and cuticular wax components at the ripe stage. *Scientia Horticulturae*, Volume 283. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423821002041>)
- Li, J., Wang, X.Q., Watson, M.B., & Assmann, S.M. (2000).** Regulation of abscisic acid-induced stomatal closure and anion channels by guard cell AAPK kinase. *Science*, 287 5451, 300-3.

- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000).** Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659>
- Mingeau, M., Perrier, C., & Améglio, T. (2001).** Evidence of drought-sensitive periods from flowering to maturity on highbush blueberry. *Scientia Horticulturae*, 89(1), 23-40.
- Molinari, M. D. C., Fuganti-Pagliarini, R., Marin, S. R. R., Ferreira, L. C., Barbosa, D. A., Marcolino-Gomes, J., Oliveira, M. C. N., Mertz-Henning, L. M., Kanamori, N., Takasaki, H., Urano, K., Shinozaki, K., Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Nepomuceno, A. L. (2020).** Overexpression of AtNCED3 gene improved drought tolerance in soybean in greenhouse and field conditions. *Genetics and molecular biology*, 43(3), e20190292. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0292>
- Rustioni, L., Bianchi, D. (2021).** Drought increases chlorophyll content in stems of *Vitis* interspecific hybrids. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 33, 69-78 <https://doi.org/10.1007/s40626-021-00195-0>
- Setter, T.L., & Brun, W.A. (1980).** Stomatal closure and photosynthetic inhibition in soybean leaves induced by petiole girdling and pod removal. *Plant physiology*, 65 5, 884-7.
- Tambussi, E., and Graciano, C. (2010).** La fluorescencia modulada de la clorofila: método del pulso saturante. In: *Técnicas de Medición en Eco fisiología Vegetal*, Fernández. M.E. and Gyenge, J.E. (Eds), INTA. Argentina, 119-126.
- Wang, X., Li, Q., Xie, J., Mei, H., Cai, J., Zhou, Q., Dai, T., & Jiang, D. (2020).** Abscisic acid and jasmonic acid are involved in drought priming-induced tolerance to drought in wheat. *Crop Journal*.
- Wang, X., Li, Q., Xie, J., Mei, H., Cai, J., Zhou, Q., Dai, T., & Jiang, D. (2020).** Abscisic acid and jasmonic acid are involved in drought priming-induced tolerance to drought in wheat. *Crop Journal*.
- Wei, L., Wang, L., Yang, Y., Wang, P., Guo, T., & Kang, G. (2015).** Abscisic acid enhances tolerance of wheat seedlings to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathione biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 6.

- Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L., & Zhang, M. (2012).** Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 113-123.
- Wu, J., Kim, S. G., Kang, K. Y., Kim, J. G., Park, S. R., Gupta, R., Kim, Y. H., Wang, Y., & Kim, S. T. (2016).** Overexpression of a Pathogenesis-Related Protein 10 Enhances Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *The plant pathology journal*, 32(6), 552-562. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2016.0141>
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, CO. et al. (2017).** Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biol* 17, 24 <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0974-x>
- Zuecco, G., Amin, A., Frentress, J., Engel, M., Marchina, C., Anfodillo, T., ... & Penna, D. (2022).** A comparative study of plant water extraction methods for isotopic analyses: Scholander-type pressure chamber vs. cryogenic vacuum distillation. *Hydrology and Earth System Sciences*, 26(13), 3673-3689.