

## **Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio**

### **Growth and proline accumulation in two sugarcane genotypes under sodium chloride salinization**

M. García<sup>1</sup> y E. Medina<sup>2</sup>

#### **Resumen**

Se evaluaron en condiciones de cobertizo, dos genotipos de caña de azúcar con respuesta diferencial ante las sales: PR692176 (tolerante) y V78-1 (sensible), a fin de obtener información sobre las causas de ese comportamiento diferencial. Las plantas crecieron en un sustrato artificial (arena) irrigado con solución nutritiva y cuando tuvieron dos meses de edad se iniciaron los riegos con solución nutritiva a la que se añadió cloruro de sodio (100 mM). Se determinaron algunos componentes del crecimiento y la acumulación de prolina en raíces y en hojas de diferentes edades. La salinización con NaCl tuvo efecto negativo sobre el crecimiento de ambos genotipos, pero en el genotipo resistente el área foliar, peso seco de raíces y la relación peso seco del sistema radical/peso seco del sistema aéreo, se redujeron menos. La acumulación de prolina aumentó en las plantas salinizadas, especialmente en raíces y en las vainas foliares, siendo ese incremento mayor para el genotipo sensible, excepto en la lámina foliar de la hoja más recientemente expandida (hoja TVD).

**Palabras clave:** caña de azúcar, salinidad, crecimiento, prolina.

#### **Abstract**

Two sugarcane genotypes differing in salinity response were evaluated: PR692176 (salt tolerant) and V78-1 (salt sensitive), in order to get information about the causes of that differential behavior. The plants grew in an artificial substrate (sand) irrigated with nutrient solution and after two months they were subjected to salinization with sodium chloride (100 mM). Some growth parameters

---

Recibido el 17-12-2001 • Aceptado el 5-09-2002

1. Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay, Edo. Aragua.

2. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Ecología. Apdo. 21827. Caracas. E-mail: gamarinave@yahoo.com

and proline accumulation in roots and leaves of different ages were studied. Sodium chloride salinization affected the growth in both genotypes, however, the leaf area, root dry weight and root dry weight/shoot dry weight ratio were less reduced in the resistant genotype. Proline accumulation was increased in response to salinization, mainly in roots and sheaths. Proline accumulation in the plants under salinization was greater in the sensitive genotype than in the resistant genotype, except in the blade of the leaf forming the top visible dew lap (TVD leaf).

**Key words:** sugarcane, salinity, growth, proline.

## Introducción

En Venezuela, una proporción importante de los suelos utilizados para el cultivo de la caña de azúcar están afectados por problemas de salinidad (20). La presencia de “peladeros” en zonas dedicadas a la explotación comercial de este rubro se ha atribuido en muchos casos a un alto contenido de sales en los suelos y/o en las aguas de riego (18), lo cual ha llevado a considerar la salinidad como uno de los problemas importantes en este cultivo.

La caña de azúcar es un cultivo moderadamente sensible a las sales (15) y se ha sugerido que a valores de conductividad eléctrica (CE) en la pasta saturada sobre los 2-3 dS m<sup>-1</sup>, no se afecta el crecimiento y rendimiento de este cultivo, pero que a valores de 7 dS m<sup>-1</sup>, ocurre un 50% de reducción en el crecimiento (4). Sin embargo, diferencias en el grado de tolerancia a las sales entre genotipos han sido señaladas tanto en evaluaciones de campo (28, 9), como en ensayos de invernadero (3, 31, 16), siendo escasa la información disponible en cuanto a las causas de ese comportamiento diferencial en comparación con lo que se conoce para otros cultivos.

Comúnmente, la tolerancia a las sales en los cultivos es medida

mediante la ecuación de respuesta del rendimiento de Mass y Hoffman (15). No obstante, algunas características del crecimiento, cuya determinación puede realizarse en etapas tempranas del desarrollo, se han usado como indicadores de la variabilidad genética de los cultivos para tolerancia a las sales (25). En el caso de la caña de azúcar se conoce poco al respecto y por ello algunos autores han destacado la importancia de ese tipo de información para este cultivo (29).

Un aspecto de gran relevancia en la respuesta de los cultivos a las sales es el ajuste osmótico, es decir, el incremento neto en la cantidad de solutos osmoticamente activos en los tejidos. Ese ajuste osmótico se alcanza mediante la acumulación de iones inorgánicos, o a través de la síntesis de solutos orgánicos, entre los cuales la prolina es uno de los osmolitos más ampliamente distribuidos en plantas superiores. Los iones inorgánicos son determinantes en el ajuste osmótico y se acumulan preferencialmente en vacuolas, mientras que solutos orgánicos como la prolina, glicinbetaina, sacarosa, manitol y otros se conocen como “solutos compatibles” pues se acumulan

principalmente en el citoplasma, sin causar inhibición de la actividad enzimática y además impiden la deshidratación del citosol por la reducción en el potencial hídrico derivada de la acumulación de sales en vacuolas (23).

Por lo general la acumulación de prolina se incrementa cuando las plantas están afectadas por condiciones de sequía o salinidad y se ha considerado que ese incremento confiere resistencia contra estos dos tipos de estrés (13). En el caso específico de la caña de azúcar existen algunas

evidencias de la acumulación de este aminoácido en plantas bajo estrés hídrico (21, 27), siendo escasa la información disponible en plantas sometidas a estrés por sales.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar algunas características morfológicas del crecimiento y del patrón de acumulación de prolina en diferentes órganos de plantas de dos genotipos de caña de azúcar, a fin de determinar su posible vinculación con la respuesta diferencial ante el estrés salino por cloruro de sodio en esos genotipos.

## Materiales y métodos

El experimento se condujo en uno de los cobertizos de la Facultad de Agronomía de la UCV, en Maracay - Edo. Aragua. Se utilizaron 2 genotipos de caña de azúcar que se diferencian en su respuesta a sales: PR692176 y V78-1. De acuerdo a una evaluación en condiciones de cultivo en suelo salino con predominio de cloruro de sodio en el Bajo Yaracuy, el primer genotipo fue considerado como tolerante a sales, mientras que el segundo se señaló como sensible (9).

Esquejes de una yema fueron sembrados en germinadores conteniendo arena lavada de río y se irrigaron con agua de chorro (CE: 0,18 dS m<sup>-1</sup>) los primeros 5 días. Posteriormente, los riegos se hicieron con una solución nutritiva cuya composición se muestra en el cuadro 1, la cual se preparó siguiendo la fórmula recomendada por Cabrera (5) diluyéndose a ¼ de su concentración normal durante los primeros 10 días y

a ½ los siguientes 15 días. Transcurrido el primer mes luego de la siembra, se seleccionaron plántulas homogéneas y se sembraron en bolsas de polietileno de 10 kg de capacidad (1 planta/bolsa), llenas con arena lavada de río. A partir de este momento los riegos se efectuaron con solución nutritiva completa (CE: 1, 87 dS m<sup>-1</sup>).

Un mes después del transplante se inició el período de salinización en 6 plantas de cada genotipo, mientras que un grupo igual fue dejado como control. Para preparar la solución de riego salina, se añadió a la solución nutritiva cloruro de sodio hasta alcanzar una concentración de 100 mM de NaCl (CE: 11, 8 dS m<sup>-1</sup>). Las plantas se dispusieron de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado unifactorial y el período de salinización se prolongó por espacio de 60 días.

Finalizado el período de salinización se seleccionaron aleatoriamente 3 plantas de cada

**Cuadro 1. Composición de la solución base usada para riego.**

	Nutriente	Concentración (mM)
Macro	Nitrógeno	13,9
	Fósforo	2,1
	Potasio	4,1
	Magnesio	0,5
	Azufre	9,4
	Calcio	3,8
Micro	Boro	$9,3 \times 10^{-3}$
	Hierro	$7,2 \times 10^{-3}$
	Manganeso	$3,6 \times 10^{-3}$
	Zinc	$6,1 \times 10^{-3}$
	Molibdeno	$1,0 \times 10^{-4}$
	Cobre	$1,6 \times 10^{-3}$

Fuente: cálculos propios a partir de Cabrera (5)

genotipo por tratamiento y en cada una se efectuaron las siguientes medidas: altura de planta (desde el ras del suelo hasta el cuello de la hoja más recientemente expandida, también llamada hoja TVD), número de brotes, número de hojas secas, número de hojas verdes y área foliar de éstas. Para estimar el área foliar se midió el ancho máximo y el largo de cada hoja y el área foliar se calculó a través de una ecuación de regresión obtenida previamente, siguiendo la metodología descrita por Méndez (17) para caña de azúcar. Estas ecuaciones fueron,  $\text{Area}_{PR692176} = 12,6 + 0,62 \text{ largo} \times \text{ancho}$  ( $r^2 = 0,98$ ) y  $\text{Area}_{V78} = 15,99 + 0,66 \text{ largo} \times \text{ancho}$  ( $r^2 = 0,97$ ). Posteriormente se separó la parte radical de la parte aérea de cada planta y cada porción se secó por separado en estufa a 70 °C por 3 días, para obtener los valores de peso seco.

Otras 3 plantas de cada genotipo por tratamiento fueron usadas para determinar el contenido de prolina libre en raíces y hojas. En el primer caso se usaron raíces turgescientes, mientras que en el segundo caso se tomó la hoja más recientemente expandida (hoja TVD) y la ubicada por encima de ésta (aún en expansión), seleccionándose para la determinación el tercio medio de la lámina (sin incluir el nervio medio) y la vaina foliar. La extracción de la prolina presente en los tejidos mencionados se hizo en ácido sulfosalicílico al 3% (p/v) y su estimación se realizó siguiendo la metodología propuesta por Bates *et al.* (1). Toda la información obtenida se analizó estadísticamente utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis.

## Resultados y discusión

Crecimiento. La salinización con cloruro de sodio afectó negativamente los 2 genotipos estudiados. Este efecto se evidenció fundamentalmente mediante una reducción en el crecimiento, acompañado por clorosis y un quemado de las hojas que progresó desde las hojas más basales hacia las apicales, siendo más notorio este efecto en el tallo primario. Este patrón de quemado en las hojas, se corresponde con el gradiente decreciente en el efecto tóxico por Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> entre hojas maduras y jóvenes que ha sido observado previamente en este cultivo (12).

En los dos genotipos, la salinización afectó poco el número de brotes/planta y para esta variable no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 2). Sin embargo, en ambas condiciones (control y salinización) PR692176 mostró una tendencia a desarrollar un número

ligeramente mayor de brotes, en relación a V78-1. Este comportamiento también fue observado por Zérega *et al.* (32) para la primera variedad, creciendo en umbráculo y en suelo salino. La capacidad de mantener un elevado número de brotes en condiciones de salinidad, ha sido considerada como una cualidad de importancia en la tolerancia a las sales en este cultivo, ya que un macollamiento abundante posibilita una mejor dilución de las sales (29).

En cuanto a la altura (cuadro 2), en PR692176 se observaron los mayores valores tanto en las plantas control como en las salinizadas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos para esta variable, en ambas condiciones. Sin embargo, en este genotipo las plantas salinizadas tuvieron una reducción de 53% en su

**Cuadro 2. Valores promedio para algunas variables de crecimiento en plantas de 2 genotipos de caña de azúcar, sometidos a salinización con cloruro de sodio durante 60 días.**

Variedad/ Tratamiento	No. brotes	Altura (cm)	No. hojas verdes	No. hojas secas	Area foliar cm <sup>2</sup>
PR692176 (Tolerante)					
Control	14	89	86	7	11830
Salinizadas	13	42	61	28	4389
V78-1 (Sensible)					
Control	13	67 *	77	11	13617
Salinizadas	12	35 *	57	30	3982

\* Diferencia significativa entre genotipos a= 0,05

altura, respecto a las del tratamiento control, mientras que en V78-1 esa reducción fue del 47%. Un comportamiento similar fue observado por Syed y El-Swaify (24) en otros dos genotipos de caña de azúcar; estos autores consideran que es posible que la mayor producción de brotes en los genotipos más tolerantes a las sales, esté asociada a un menor incremento en la altura de las plantas.

Respecto al número de hojas verdes y al área foliar de éstas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos probados (cuadro 2). El número de hojas verdes fue reducido en un 32% en PR692176 y en un 26% en V78-1, respecto a las plantas control. Por el contrario, la reducción en el área foliar fue de 63% en el primer genotipo y 71% en el segundo, lo que sugiere que en presencia de NaCl, la tasa de expansión foliar fue inhibida en menor

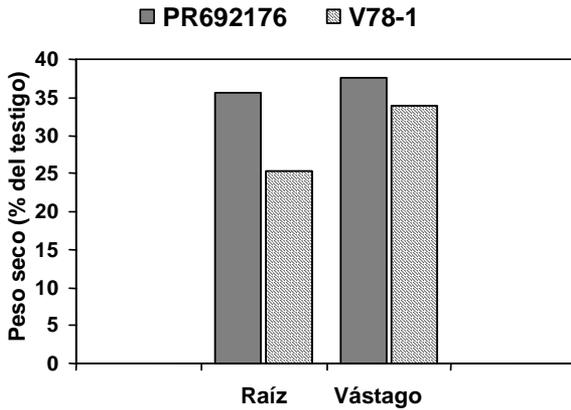
grado en PR692176. Esta cualidad ha sido señalada como muy importante en la tolerancia a las sales en este cultivo (29), ya que refleja una mejor capacidad para mantener en funcionamiento los tejidos fotosintéticamente activos, bajo esta condición.

En el cuadro 3 se muestra el efecto relativo de la salinización sobre la acumulación de biomasa en raíces y en el vástago y sobre la relación peso seco del sistema radical/peso seco del sistema aéreo (SR/SA). En los dos genotipos, la acumulación de biomasa en ambas porciones de la planta se redujo sensiblemente a causa de la salinización; en PR692176 la reducción en esta variable respecto a las plantas control fue similar en las raíces y en el vástago, pero en V78-1 el efecto fue más marcado en las raíces (figura 1). El análisis estadístico para peso seco de raíces, mostró diferencias significativas entre los 2 genotipos, tanto para las plantas control como en las

**Cuadro 3. Valores promedio de peso seco de raíces, peso seco del vástago y relación peso seco del sistema radical/peso seco del sistema aéreo (SRISA) en plantas de dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio durante 60 días.**

Variedad/ Tratamiento	Peso seco raíz (g)	Peso seco vástago (g)	Relación SR/SA
PR692176 (Tolerante)			
Control	65	335	0,20
Salinizadas	24	126	0,19
V78-1 (Sensible)			
Control	45 *	356 *	0,13 *
Salinizadas	11 *	121	0,10 *

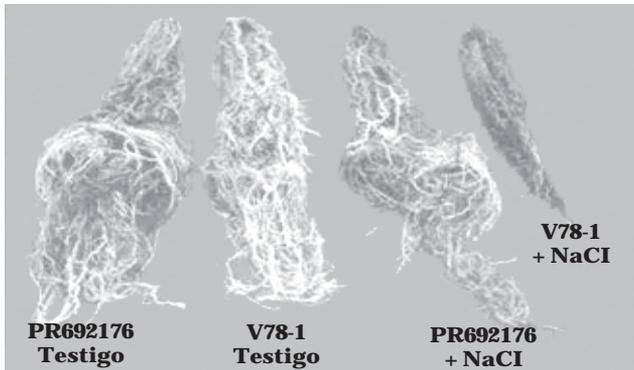
\* Diferencia significativa entre genotipos  $\alpha = 0,05$



**Figura 1. Efecto relativo de la salinización con cloruro de sodio durante 60 días, sobre la acumulación de biomasa en raíces y en el vástago de 2 genotipos de caña de azúcar.**

tratadas, con los mayores valores de peso seco de raíces para PR692176 en ambos casos. Esto indica que además de haber un componente genético que favorece a este genotipo, su habilidad para acumular biomasa en las raíces es mayor aún en condiciones de estrés salino, en

comparación a V78-1 (figura 2), lo que podría representar una ventaja para la primera variedad en cuanto a su capacidad para explorar y explotar el sustrato de crecimiento. Cabe indicar que la capacidad para desarrollar un sistema radical denso y ramificado en condiciones



**Figura 2. Vista comparativa del efecto de la salinización con cloruro de sodio durante 60 días, sobre el desarrollo del sistema radical en plantas de 2 genotipos de caña de azúcar.**

de salinidad, se ha considerado como de importancia en la tolerancia a las sales en caña de azúcar (29).

En lo que respecta a la biomasa aérea, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos sólo para las plantas control, siendo V78-1 el genotipo que acumula más biomasa aérea. En condiciones de salinidad, la reducción en la biomasa aérea fue ligeramente mayor en V78-1 (figura 1); no obstante, esa diferencia entre los genotipos no resultó estadísticamente significativa.

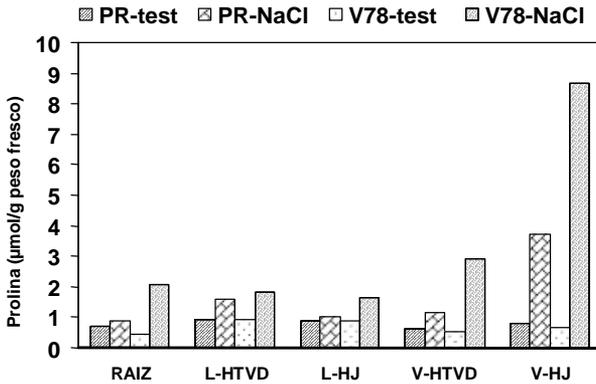
En cuanto a la relación peso seco del sistema radical/peso seco del sistema aéreo (SR/SA) se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos, tanto para las plantas control como en las salinizadas, correspondiendo en ambos casos el mayor valor de esta relación a PR692176 (cuadro 3). Este comportamiento refleja una mayor inversión de asimilados hacia el desarrollo de raíces en este genotipo, en comparación con el genotipo sensible. La relación SR/SA puede variar con el ambiente, siendo además una característica hereditaria; se considera que una mayor relación SR/SA es típica de especies y/o genotipos relativamente tolerantes al estrés hídrico (11). Cabe indicar que el genotipo PR692176 es también considerado como tolerante a déficit hídrico (30).

**Acumulación de prolina.** Tal como se muestra en la figura 3, la salinización provocó un incremento en la acumulación de prolina en los 2 genotipos, que varió con el órgano considerado, la edad foliar y la posición dentro de cada hoja (láminas o vainas foliares). En las plantas control no se

encontraron diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de prolina entre los genotipos, en ninguno de los órganos considerados. Por el contrario, en las plantas salinizadas se obtuvieron diferencias significativas entre los genotipos en las vainas foliares y las raíces, correspondiendo en ambos casos los mayores valores al genotipo sensible.

En el caso de las láminas foliares, el aumento en la acumulación de prolina en respuesta al tratamiento con cloruro de sodio no resultó estadísticamente significativo ni a nivel de las hojas maduras, ni en el caso de hojas en expansión. En la hoja TVD ese incremento fue ligeramente mayor en PR692176, mientras que en hojas en expansión ocurrió lo contrario. En ambos genotipos se observó un gradiente decreciente en la concentración de este aminoácido entre la lámina de hojas maduras y en expansión, que fue menos acentuado en V78-1. Colmer *et al.* (6) encontraron un patrón similar, en láminas foliares de 2 genotipos de trigo, uno sensible y el otro tolerante a sales. Por otra parte, Madan *et al.* (14) y Soliman y Doss (22) trabajando con genotipos de Brassica juncea L. y tomate respectivamente, sometidos a estrés salino, encontraron un gradiente creciente en la acumulación de prolina entre hojas maduras y en expansión.

En las vainas foliares, el incremento en la acumulación de prolina en condiciones de salinidad fue mayor en el genotipo sensible, especialmente en las hojas en expansión. Contrariamente a lo observado en la lámina, en este caso se evidenció un



**Figura 3. Efecto de la salinización con cloruro de sodio sobre la acumulación de prolina en diferentes órganos de plantas de dos genotipos de caña de azúcar sometidas a salinización con NaCl durante 60 días. Lámina hoja expandida (L-HTVD); lámina hoja en expansión (LHJ); vaina hoja expandida (V-HTVD); vaina hoja en expansión (V-HJ). \*: diferencia significativa entre genotipos  $\alpha = 0,05$**

gradiente creciente en la acumulación de este aminoácido entre la vaina foliar de hojas maduras y la de hojas en expansión. Esta elevada acumulación de prolina podría ser causada por un efecto de deshidratación debido a la excesiva acumulación de  $\text{Na}^+$  y/o  $\text{Cl}^-$  en el apoplasto celular (7), o bien, debido a un efecto directo de toxicidad a causa de la retención preferencial de esos iones a nivel de las vainas foliares. Este último mecanismo ya ha sido observado en plantas de sorgo sometidas a estrés salino (2).

En el caso particular de plantas de caña de azúcar sometidas a estrés por sales, la escasa información disponible sólo se refiere a la lámina foliar de la hoja TVD, en cuyo caso nuestros resultados coinciden con lo reportado por Viqueira *et al.* (27), quienes encontraron un incremento en la concentración de este aminoácido en la lámina de hojas TVD de variedades

creciendo en suelos salinos del Valle de Guantánamo (Cuba), siendo ese incremento mayor en la época de precipitaciones escasas y en las variedades más tolerantes a sequía.

Una mayor acumulación de prolina frecuentemente se ha vinculado con una mayor tolerancia al estrés por sales y/o por sequía (13). En tabaco se han producido plantas transgénicas que sobreproducen prolina, mejorando así su tolerancia a las sales (10). Sin embargo, también se han obtenido evidencias de una mayor acumulación de este aminoácido en genotipos sensibles a sales, en relación a los tolerantes (22, 19, 8, 6), lo que sugiere que la respuesta en cuanto a la acumulación de prolina es compleja y en algunos casos, más que una causa de tolerancia a sales, podría ser un sensor del grado de estrés al que está sometido la planta.

## Conclusiones y recomendaciones

Los resultados obtenidos en esta investigación, no revelan diferencias marcadas en la respuesta a la salinización con cloruro de sodio, en los dos genotipos investigados. Sin embargo, este comportamiento no puede ser generalizado para otros tipos de salinización, y/o otras etapas del ciclo ontogenético de las plantas, aspectos estos que deberán ser abordados en trabajos futuros.

De las variables de crecimiento estudiadas, las que confieren ventajas al genotipo PR692176 sobre V78-1 son: altura de planta, acumulación de biomasa en las raíces y relación peso seco del sistema. Todas esas características están asociadas también con la tolerancia a estrés por sequía.

Aún cuando PR692176 acumula más biomasa en las raíces que V78-1, sería recomendable realizar un estudio más minucioso a nivel de esta porción de la planta ya que la capacidad de la planta para explorar y explotar el sustrato de crecimiento, está

fuertemente influenciada por otras características morfológicas y/o anatómicas de las raíces, tales como: longitud, diámetro, superficie radical, grado de desarrollo del sistema vascular, etc.

En cuanto a la acumulación de prolina, los resultados obtenidos en esta investigación destacan la importancia del estudio de la acumulación de este aminoácido en diferentes órganos, especialmente en raíces y en vainas foliares, órganos en los que las diferencias entre los genotipos usados resultaron estadísticamente significativas. La evaluación del papel de la prolina en la adaptación de la caña de azúcar a condiciones de estrés salino, se aclararía mejor si se hacen estudios adicionales en los que se incluyan otras sales y se relacionen medidas osmóticas, con la acumulación no sólo de este aminoácido, sino también de iones inorgánicos y otros solutos compatibles.

## Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, por el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación. También al Ing. Luis Zérega, por su valiosa cooperación y

asesoramiento en torno a los genotipos a utilizar y al comportamiento de éstos en condiciones de campo. Asimismo, al Prof. Roberto Villafañe, por sus importantes sugerencias durante la conducción del ensayo y en la redacción del manuscrito definitivo de este trabajo.

**Literatura citada**

1. Bates, L., R. Waldren y D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water- stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
2. Bernstein, N., W. Silk y A. Lauchli. 1995. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: possible role of some mineral elements in growth inhibition. *Planta* 196: 699-705.
3. Bernstein, F., E. Francois y R. Clark. 1966. Salt tolerance of N. Co. varieties of sugarcane. I. Sprouting, growth and yield. *Agron. J.* 58: 489-493.
4. Blackburn, F. 1984. Sugarcane. *Tropical Agricultural Series*. Longman., New York. p: 47-52.
5. Cabrera, G. 1984. Hidroponía casera. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 6 p.
6. Colmer, T., E. Epstein y J. Dvorak. 1995. Differential solute regulation in leaf blades of varios ages in salt-sensitive wheat and a salt-tolerant wheat x *Lophophyrum elongatum* (Host) A. löve amphiploid. *Plant Physiol.* 108: 1715-1724.
7. Flowers, T., A. Hajigagheri y A. Yeo. 1991. Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline conditions: evidence for the Oertly hypothesis. *Plant Cell Environ.* 14: 319-325.
8. Guerrier, G. 1998. Proline accumulation in salt-treated tomato: different proline precursors in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennellii*. *J. Plant Nut.* 21: 505-513.
9. Hernández, J., L. Zérega y A. Ordosgoitti. 2000. Causa del necrosado del borde de las hojas y retraso en el crecimiento de la caña de azúcar (*Saccharum spp híbrido*) en el Bajo Yaracuy. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17: 226-238.
10. Kishor, K., Z. Hong, G. Miao, C. Hu y D. Verma. 1995. Overexpression of Pyrroline 5-Carboxylate Syntetase increases proline production and confer osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol.* 108: 1387-1394.
11. Kramer, P. 1983. Water relations of plants. Academic Press. NY, London. p: 161-164.
12. Kumar, S., K. Naidu y H. Sehtiya. 1994. Causes of growth reduction in elongating and expanding leaf tissues of sugarcane under saline conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 71-83.
13. Kuznetsov, V. y N., Schevyakova. 1999. Proline under stress: biological role, metabolism and regulation. *Russian J. Plant Physiol.* 46: 274-287.
14. Madan, S., H. Nainawatee, S. Jain, R. Jain, M., Malik y J. Chowdhury. 1994. Leaf position-dependent changes in proline, pyrroline-5-carboxylate reductase activity and water relations under salt-stress in genetically stable salt-tolerant somaclones of *Brassica juncea* L. *Plant and Soil* 163: 151-156.
15. Mass E. y G. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *J. Irrig. Arid Drain. Div ASCE* 103: 115-134.
16. Meinzer, F., Z. Plaut y N. Saliendra. 1994. Carbon isotope discrimination, gas exchange and growth of sugarcane cultivars under salinity. *Plant Physiol.* 104: 521-526.
17. Méndez, F. 1993. Determinación del área foliar en plantas de caña de azúcar variedad C323-68. *Caña de Azúcar* 11: 55-70.
18. Nass, H., D. Lozada, R. Ayala, M. Diez, A., Aponte y L. Zérega. 1993. Manual Ilustrado de la Caña de Azúcar. No. 1. Fundazúcar. Barquisimeto, Venezuela. 63 p.

19. Pérez-Alfocea, F., M. Estañ, A. Santa Cruz y M. Bolarin. 1993. Effects of salinity on nitrate, total nitrogen, soluble protein and free amino acid levels in tomato plants. *J. Hort. Sci.* 68: 1021-1027.
20. Pla, I. 1985. Origen, distribución y diagnóstico de suelos afectados por sales en condiciones tropicales. *Rev. Fac. Agronomía (Maracay)* 14: 125-150.
21. Rincones, C. 1997. Variación del contenido de prolina en ocho variedades de caña de azúcar a cuatro niveles de humedad en el suelo. *Caña de Azúcar* 15: 5-16.
22. Soliman, M. y M. Doss. 1992. Salinity and mineral nutrition effects on growth and accumulation of organic and inorganic ions in two cultivated tomato varieties. *J. Plant Nut.* 15: 2789-2799.
23. Stewart, G. y J. Lee. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta* 120: 279-289.
24. Syed, M. y S. El-Swaify. 1972. Effect of saline water irrigation on N. Co. 310 and H50-7209 cultivars of sugarcane. I. Growth parameters. *Trop. Agric (Trinidad)* 49: 337-346.
25. Tal, M. 1997. Wild germplasm for salt tolerance in plants. En: *Strategies for improving salt tolerance in higher plants*. P. Jaiwal; R. Singh y A. Gulati (eds). Science Publishers, Inc. USA. p:291-319.
26. Viqueira, L, I. Acosta y C. Rodríguez. 1984. Estudio de la resistencia a sequía en relación a la nitrato reductasa y al contenido de prolina en caña de azúcar. IV Conferencia sobre Educación Superior y II Congreso de Ciencias Biológicas. p: 240.
27. Viqueira, W., M. González y O. Barquié. 1988. Contenido de prolina en variedades de caña de azúcar cultivadas en suelos ligeramente salinizados del Valle de Guantánamo. *Revista INICA* 5: 37-45.
28. Villafañe, R. 1996. Tolerancia a la salinidad y al sodio de seis variedades de caña de azúcar en Venezuela. *Agron. Trop.* 46: 85-99.
29. Wahid, A., A., Rao y E. Rasul. 1997. Identification of salt tolerance traits in sugarcane lines. *Field Crop Res.* 54: 9-17.
30. Zérega, L. 1995. Comportamiento varietal de la caña de azúcar ante condiciones estresantes del suelo, las principales enfermedades y épocas de siembra y cosecha. *Fundazúcar. Boletín No. 13:* 9-11.
31. Zérega, L., T. Hernández y J. Valladares. 1991a. Caracterización de suelos y aguas afectadas por sales en zonas cañameleras de Azucarera Río Turbio. *Caña de Azúcar* 9: 5-52.
32. Zérega, L., T. Hernández y J. Valladares. 1991b. Evaluación de 14 variedades de caña de azúcar en dos suelos afectados por sales, bajo condiciones de umbráculo. *Caña de Azúcar* 9: 81-98.