

EFECTO DEL ESTRÉS POR NaCl EN EL CONTENIDO DE CLORUROS, EL POTENCIAL OSMÓTICO REAL Y EL CRECIMIENTO DE DOS CULTIVARES DE TOMATE CUBANOS

J. M. Dell'Amico[✉] y Margarita Parra

ABSTRACT. The effect of NaCl (100 mM) stress on the content of Cl⁻, actual osmotic potential and growth of two tomato cultivars, cultivated under hydroponic conditions and growth chamber with controlled atmosphere was studied. Evaluations were carried out after 8, 15 and 22 days of saline treatment. Results showed that, in general, INCA9[1] plants presented higher concentrations of Cl⁻ in root extract and lower in leaf extract and root exudate compared to Amalia cv. The osmotic potential variations due to salinity were not as defined and stable as in the case of ion Cl⁻ content. The analysis of TRC (relative growth rate) indicated the presence of a certain adaptability to saline stress in INCA 9[1] plants, while mean resistance index indicates that plants of this cultivar are more sensitive to salinity in the first days of NaCl stress and Amalia presents a bigger sensibility to the hyperionic component of this stress.

Key words: tomatoes, *Lycopersicon esculentum*, osmotic stress, salinity, hydroponics

RESUMEN. Se estudió el efecto del estrés por NaCl (100 mM) en el contenido de Cl⁻, potencial osmótico real y crecimiento de dos cultivares de tomate, cultivados en condiciones de hidroponía y en cámara de crecimiento con ambiente controlado. Las evaluaciones se realizaron a los 8, 15 y 22 días de tratamiento salino. Los resultados mostraron que, en general, las plantas del cultivar INCA 9 [1] presentaron concentraciones mayores de Cl⁻ en el extracto de la raíz y menores en el extracto de las hojas y exudado de la raíz con respecto al cultivar Amalia. Las variaciones en el potencial osmótico debido a la salinidad no fueron tan definidas y estables como en el caso del contenido de ion Cl⁻. El análisis de las TRC (tasa relativa de crecimiento) indicaron la presencia de una cierta adaptabilidad al estrés salino en las plantas del cultivar INCA 9 [1], mientras que el índice de resistencia medio indicó que las plantas de este cultivar resultan más sensibles a la salinidad en los primeros días de estrés por NaCl y el cultivar Amalia presentó una mayor sensibilidad al componente hiperiónico de este estrés.

Palabras clave: tomate, *Lycopersicon esculentum*, estrés osmótico, salinidad, cultivo hidropónico

INTRODUCCIÓN

La salinidad es un estrés abiótico complejo que simultáneamente presenta componentes osmóticos e iónicos (1). Por ello, una concentración elevada de sales en el medio radical afecta negativamente el desarrollo de la planta, debido fundamentalmente a los efectos hiperosmóticos e hiperiónicos del estrés (2).

La pérdida de la homeostasis, tanto hídrica como iónica, ocurre tanto a escala celular como al nivel de planta y provoca graves daños moleculares que detienen el crecimiento de la planta (3). Por una parte, la disminución del potencial hídrico del medio restringe la absorción de agua por las raíces y, por otra, la absorción de iones salinos específicos que se acumulan en los tejidos

de la planta en concentraciones que llegan a ser tóxicas, pueden al mismo tiempo inducir desequilibrios nutricionales por modificación de la absorción y distribución de nutrientes esenciales.

El estudio de la tolerancia a la salinidad es en extremo complicado y el intento de solucionar o al menos mitigar los efectos perjudiciales de las sales, incluye el estudio de cómo estas afectan los procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares del metabolismo de las plantas, así como de los diferentes mecanismos que las plantas ponen en marcha para defenderse del estrés (4).

En la adaptación a la salinidad, uno de los efectos fisiológicos más significativos es el aumento considerable de la capacidad de regular los contenidos de Na⁺ y Cl⁻ por parte de los tejidos fotosintéticos de la planta (5).

En Cuba, no abundan los trabajos relacionados con esta temática y, menos aún, con cultivares obtenidos en el país. Es por ello, que el presente trabajo tuvo por objetivo estudiar el efecto de la salinidad por NaCl en las variaciones del contenido de cloruros, el potencial osmótico real y crecimiento de dos cultivares de tomate.

Dr.C. J. M. Dell'Amico, Investigador Auxiliar del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700; Dra. Margarita Parra, Investigadora del Departamento de Ornamental y Horticultura, Estación de Investigaciones Hortícolas de Santa Lucía de Tirajana, Gran Canarias, España.

✉ amico@inca.edu.cu

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en una cámara de crecimiento con condiciones controladas, en dos cultivares obtenidos en Cuba de la especie *Lycopersicon esculentum* Mill, (INCA 9 [1] y Amalia). Las semillas fueron sembradas para su germinación en bandejas plásticas de 60x40x12 cm con vermiculita, donde permanecieron hasta los 15 días de germinadas.

Desde la siembra hasta la germinación, el riego fue con agua desionizada y con frecuencia diaria. Posterior a la germinación, las plántulas se regaron diariamente con una solución nutritiva de Hoagland modificada (4).

A los 15 días de la germinación, las plántulas fueron trasplantadas a condiciones de hidroponía en bandejas plásticas de 38x28x14 cm, con tapas de poliestireno expandido blanco y seis perforaciones para colocar las plantas; se utilizó la misma solución nutritiva para estas condiciones, la que se repuso diariamente.

Se utilizaron ocho bandejas por variedad (48 plantas) y a cada bandeja se le colocó un difusor de aire, para mantener una aireación permanente suministrada por un compresor PUSKA N-150- 50, con un caudal de aire de 115 L.m⁻¹, presión máxima de 10 kg.cm⁻² y 50 L de capacidad.

Las condiciones ambientales durante el experimento fueron de 16 horas de fotoperíodo, caracterizado por una radiación fotosintéticamente activa entre 81-245 mol.m⁻².s⁻¹. La temperatura y humedad relativa fueron de 28-20°C y 60-70 % durante las horas luz-oscuridad, respectivamente.

A los 10 días del trasplante a las condiciones de hidroponía, al 50 % de las bandejas de cada cultivar se le añadió NaCl a la solución nutritiva, hasta alcanzar una concentración de 100 mM de NaCl y así se mantuvieron las plantas por 22 días y, de esta forma, quedaron establecidos los cuatro tratamientos.

A los 8, 15 y 22 días de tratamiento salino (ddts), se evaluaron el contenido de ion cloruro y el potencial osmótico real de las hojas, raíces y el exudado de las raíces, así como el crecimiento en biomasa seca de las raíces y parte aérea.

Para las determinaciones del contenido de cloruro y del potencial osmótico real del extracto de las hojas y raíces, se congeló el material vegetal en nitrógeno líquido; después de descongelado se extrajo el extracto vegetal exprimiendo el material mediante su colocación en el interior de una jeringa hipodérmica, hasta obtener 1.5 mL de este extracto por cada muestra. Para la determinación del ion cloruro, se tomó 1 mL de extracto y se determinó por valoración potenciométrica con AgNO₃ 0.01 N, en un analizador automático Mettler DL 40 Gp expresado en meq L⁻¹, mientras que para el potencial osmótico real se tomó una alícuota de 10 µL, se midió en un Osmómetro Wescor 5520 y se expresó en MPa.

El exudado de las raíces se obtuvo, colocando el sistema radical en el interior de una cámara de presión

(Soil Moisture Equipment Co. Santa Bárbara, CA, USA), que contenía un recipiente de vidrio con la solución nutritiva correspondiente a cada tratamiento (0 y 100 mM de NaCl); la presión en el interior de la cámara se incrementó hasta alcanzar el valor de 1 MPA por espacio de cinco minutos y en ese intervalo se recogió el exudado de las raíces, colocando un tubo de goma en el corte del tallo que quedó fuera de la cámara y el líquido extraído se colectó en microtubos Ependorf de 1.5 mL. Para la determinación del potencial osmótico real del exudado, se tomó una alícuota de 10 µL de cada muestra y se siguió el mismo procedimiento que con el extracto de las hojas y raíces.

La biomasa seca de las raíces y la parte aérea de las plantas, se obtuvo por secado en estufa a 75 °C por espacio de 72 horas.

La tasa relativa de crecimiento (TRC) de la raíz y parte aérea se calcularon mediante la fórmula $TRC = (\ln p_f - \ln p_i) / (t_f - t_i)$, donde p_i y p_f son los pesos secos inicial y final, respectivamente del período considerado. En este caso, la TRC en ambos órganos se calculó en los intervalos de tiempo entre 8-15 y 15-22 días de tratamiento salino expresado en mg.mg⁻¹.día⁻¹. El índice de resistencia (IR) se estimó en cada cultivar individualmente para raíz y parte aérea, como la relación del valor medio de la TRC de plantas estresadas y no estresadas expresado en por ciento (6).

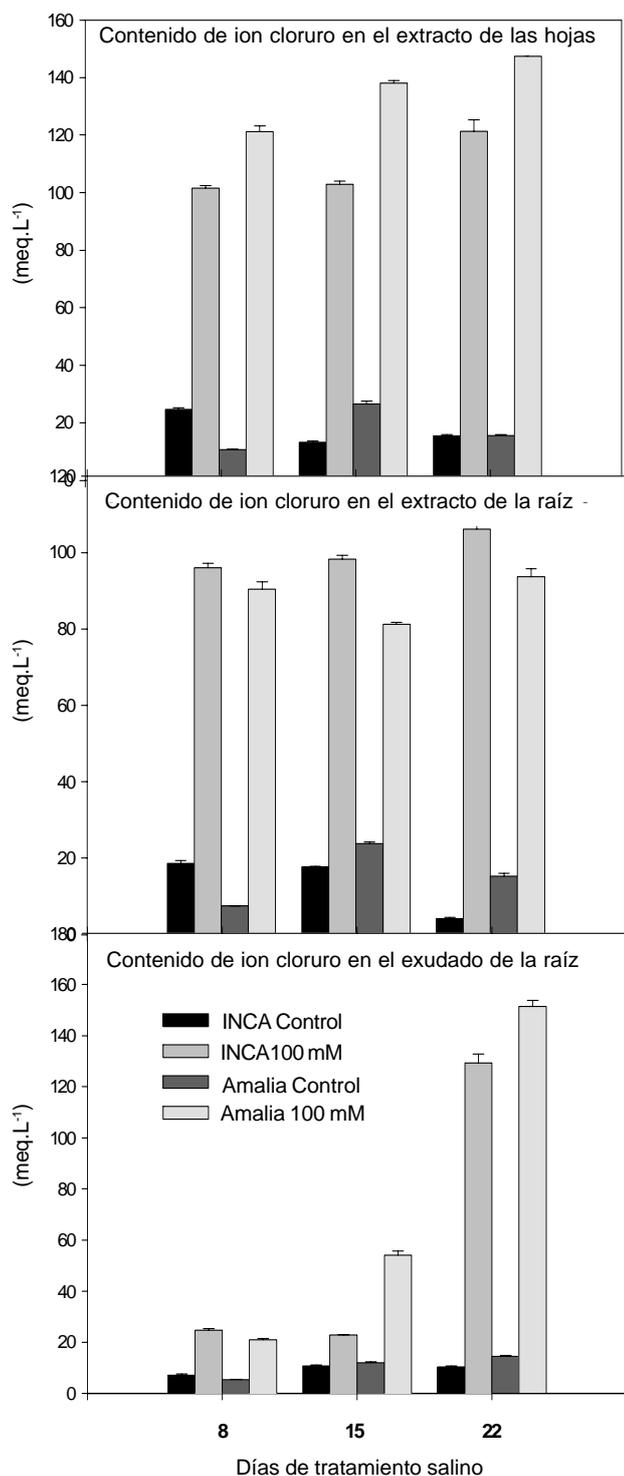
$$\text{Índice de resistencia} = \frac{\sum \text{TRC plantas estresadas}}{\sum \text{TRC plantas no estresadas}} \times 100$$

El experimento se desarrolló siguiendo un diseño completamente aleatorizado; en las evaluaciones del contenido de ion cloruro y potencial osmótico real, se tomaron tres muestras y se realizaron a cada una de ellas dos repeticiones de laboratorio. Para el crecimiento en biomasa seca, se evaluaron seis plantas por tratamiento en cada determinación. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el cálculo de las medias maestras y su intervalo de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La exposición de las raíces a un ambiente salino provocó un incremento rápido y pronunciado en las concentraciones de Cl⁻ en las hojas y raíces de ambos cultivares (Figura 1), mientras que en el exudado de raíz, el incremento de estas concentraciones presentó una tendencia gradual, alcanzándose concentraciones entre 120 y 150 meq.L⁻¹ en el tercer muestreo (22 días de tratamiento salino).

Por otra parte, se pudo apreciar que en general en el extracto de las hojas y el exudado de raíz siempre las concentraciones más elevadas correspondieron al cultivar Amalia. Sin embargo, en el caso de la raíz, en los muestreos dos y tres (15 y 22 días de tratamiento), las concentraciones mayores de Cl⁻ correspondieron al cultivar INCA 9 [1].



Sobre las barras de los tratamientos se representan los intervalos de confianza de las medias

Figura 1. Variaciones en el contenido de Cl⁻ en el extracto de las hojas, de la raíz y en el exudado de raíz de plantas de tomate cultivadas en condiciones de salinidad

Evidentemente, el incremento marcado de la concentración de Cl⁻ en el extracto de las hojas, la raíz y el exudado de raíz en ambos cultivares en respuesta al estrés salino (100 mM de NaCl), se debió probablemente a la absorción directa de la solución externa. Esto también propició una mayor concentración de Cl⁻ en las hojas que en las raíces de los dos cultivares, lo que fue más notable en el cultivar Amalia. Tendencias similares se han obtenido en otros cultivos como maíz (7) y guisantes (8).

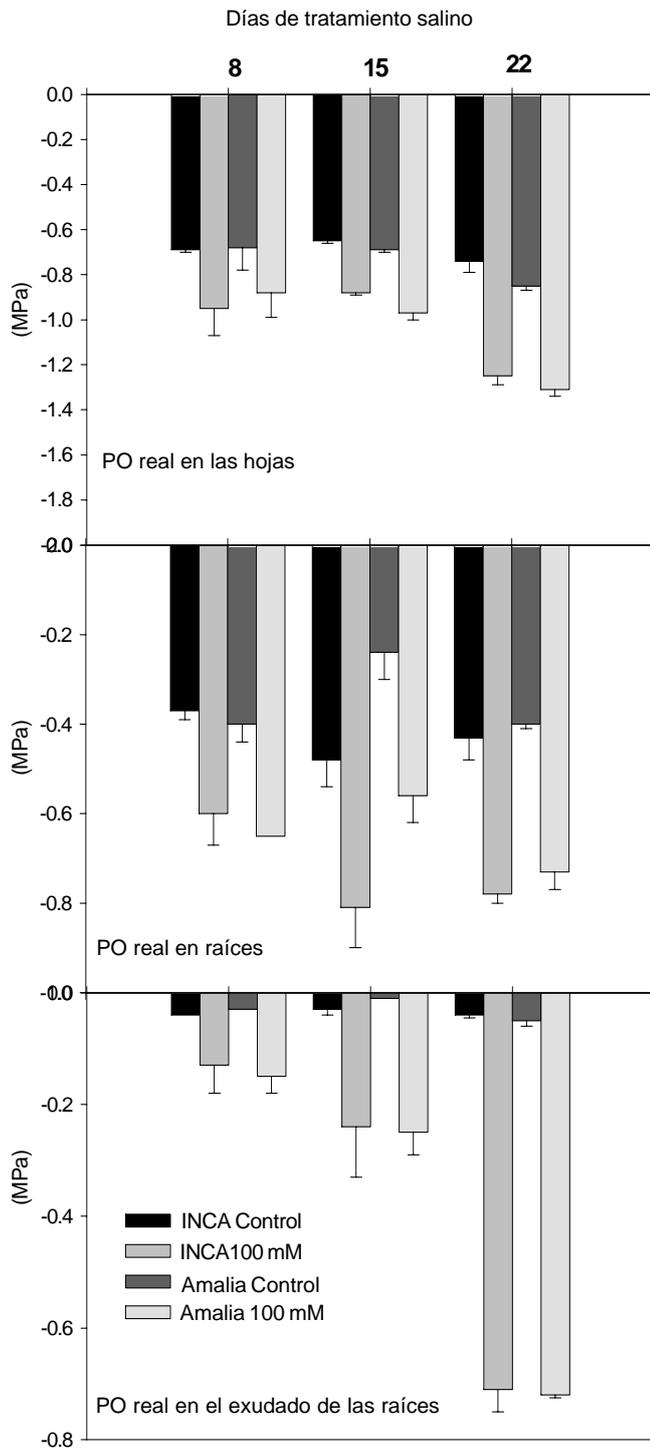
El hecho de que las plantas del cultivar INCA 9 [1] presentaran concentraciones mayores de Cl⁻ en el extracto de la raíz y menores en el de las hojas y exudado de raíz con respecto a Amalia, puede deberse a que este cultivar al parecer presenta un mecanismo de exclusión de Cl⁻ en la raíz, tal y como ha sido señalado anteriormente (9), atenuando de esta forma el efecto nocivo de este ion en la parte aérea de las plantas.

El exceso de NaCl en la solución nutritiva propició una disminución del potencial osmótico real en las hojas, raíces y exudado de las raíces en las plantas expuestas a esa condición adversa, con respecto a las cultivadas sin NaCl en el medio radical (Figura 2). En las hojas, en el primer muestreo (ocho días de tratamiento), las plantas estresadas del cultivar INCA 9 [1] presentaron valores significativamente menores de esta variable que las de su correspondiente control, mientras que en el cultivar Amalia no se presentaron (atendiendo a los valores de los intervalos de confianza que se representan sobre las barras de las medias de los tratamientos). En este sentido, se ha encontrado un comportamiento similar en estos cultivares cuando las plantas fueron estresadas con NaCl durante un período corto de tiempo (10, 11). Sin embargo, en los restantes muestreos (15 y 22 días de tratamiento), el potencial osmótico real de las plantas estresadas en ambos cultivares fue significativamente menor que en las cultivadas en ausencia de NaCl en la solución y, de forma general, los valores más bajos correspondieron a las plantas del cultivar Amalia.

Al analizar el comportamiento de esta variable en la raíz, se encontró que siempre las plantas estresadas de los dos cultivares presentaron valores más negativos que sus respectivos controles. Es de destacar que en este órgano, los valores más bajos del potencial osmótico en los dos últimos muestreos (a diferencia de lo observado en las hojas) correspondieron a las plantas estresadas del cultivar INCA 9 [1].

El incremento del potencial osmótico en el exudado de la raíz fue gradual y no se apreciaron diferencias entre las plantas de ambos cultivares, cuando se cultivaron en condiciones de salinidad.

En general, las variaciones en el potencial osmótico debido a la salinidad, fueron similares a las producidas en el contenido de Cl⁻. Sin embargo, al comparar el comportamiento de ambos cultivares, este no fue tan definido y estable como el observado en el caso del contenido de ion Cl⁻.



Sobre las barras de los tratamientos se representan los intervalos de confianza de las medias

Figura 2. Variaciones en el potencial osmótico real en hojas, raíz y exudado de raíz de plantas de tomate cultivadas en condiciones de salinidad

La mayoría de las especies cultivadas, salvo contadas excepciones (ej. remolacha azucarera) son glicofitas (12) y se caracterizan por presentar un mecanismo más o menos desarrollado de exclusión de los iones tóxicos de sus hojas. De hecho, la principal diferencia encontrada

entre variedades sensibles y tolerantes al estrés salino es la capacidad para controlar la acumulación de los iones tóxicos en las hojas, manteniendo una baja concentración en la corriente transpiratoria (12). Sin embargo, existen pruebas suficientes que demuestran que la principal diferencia entre las plantas tolerantes y sensibles a la sal, radica en mantener bajos niveles citosólicos de Na^+ y Cl^- , ya que toda la maquinaria bioquímica citoplasmática es sensible a altas concentraciones iónicas, con independencia del carácter glicofítico o halofítico de la especie vegetal (13).

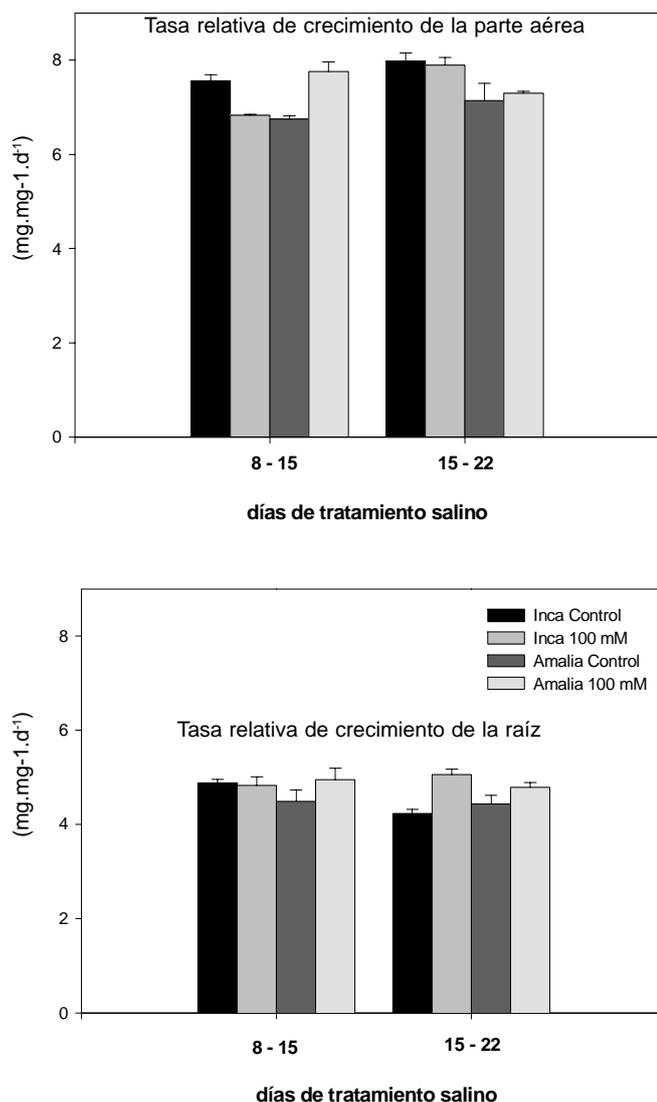
Atendiendo a los criterios anteriores y la respuesta al estrés salino en las dos variables antes analizadas, se puede concluir que las variaciones en el contenido de Cl^- pueden constituir una herramienta mucho más útil y confiable para los estudios de adaptación al medio salino, que las variaciones en el potencial osmótico real, al menos en el cultivo del tomate.

Las TRC de la parte aérea y raíz se presentan en la Figura 3, donde se encontró que la salinidad no produjo ningún efecto en la TRC de la raíz en el período comprendido entre los 8-15 días de tratamiento salino y las plantas afectadas por salinidad mantuvieron un ritmo de crecimiento de sus raíces similar al de sus respectivos controles. Sin embargo, en el período entre 15 y 22 días de tratamiento, los valores mayores de TRC de raíz correspondieron a las plantas del cultivar INCA 9 [1], mientras que en el cultivar Amalia no se presentaron diferencias entre las plantas de ambos tratamientos.

En cuanto a la TRC de la parte aérea en el período 8-15 días de tratamiento, aún cuando prácticamente no se apreciaron diferencias entre las plantas estresadas y sus respectivos controles, sí se pudo apreciar una ligera disminución en la magnitud de esta variable en el cultivar INCA 9 [1] producto de tratamiento salino. Mientras que en el período 15-22 días de tratamiento, los menores valores de la TRC de la parte aérea correspondieron a las plantas estresadas del cultivar Amalia.

Este comportamiento indica, al parecer, la presencia de una cierta adaptabilidad al estrés por NaCl en las plantas del cultivar INCA 9 [1] con respecto a las del cultivar Amalia. Un mecanismo primario por el que las plantas ajustan la limitación de recursos, es incrementando la eficacia de adquisición de los recursos limitantes, invirtiendo más biomasa en los órganos responsables de su asimilación (14, 15), tal y como ocurrió en la TRC de la raíz en las plantas del cultivar INCA 9 [1] cultivadas en condiciones salinas.

A pesar de su importancia para el conocimiento del funcionamiento integral de la planta, la regulación de los flujos de energía entre sitios "fuentes" y "sumideros" apenas se conoce (16). En condiciones óptimas de crecimiento, la mayor parte de los fotoasimilados se destina a la parte aérea, mientras que en condiciones de estrés osmótico, se incrementa la distribución de recursos energéticos hacia la raíz (17).



Sobre las barras de los tratamientos se representan los intervalos de confianza de las medias

Figura 3. Efecto del estrés salino en las TRC de la parte aérea y las raíces de plantas de dos cultivares de tomate

Las diferentes respuestas del crecimiento de las plantas de tomate a la salinidad pueden ser explicadas por cambios en el reparto del carbono y en el metabolismo de la sacarosa (15). Además, se plantea que en condiciones de salinidad existe una redistribución en la acumulación de materia seca a favor de las raíces, dando lugar al incremento clásico de la relación raíz/parte aérea y en mayor grado en los cultivares que probablemente reflejan el mantenimiento o incluso la inducción de la elongación de la raíz a bajos potenciales hídricos (14).

Al analizar el índice de resistencia medio (Tabla I), se encontró que en el primer intervalo de tiempo (8-15 días de tratamiento), la mayor resistencia correspondió a la raíz y parte aérea del cultivar Amalia y, en ambos cultivares, los valores mayores correspondieron a la raíz. Sin embargo, en el segundo intervalo (15-22 días de tratamiento) ocurrió todo lo contrario y la mayor resistencia en ambos órganos correspondió al cultivar INCA 9 [1].

Tabla I. Índice de resistencia medio de raíz y parte aérea de los dos cultivares en los intervalos de tiempo 8-15 y 15-22 días de tratamiento salino (ddts)

	Índice de resistencia (%)	
	8-15 ddts	15-22 ddts
INCA 9[1]		
Raíz	98.87	119.52
Parte aérea	90.3	139.22
Amalia		
Raíz	110.4	107.93
Parte aérea	105.91	93.98

Es de destacar que en el segundo intervalo, la mayor resistencia en INCA 9 [1] correspondió a la parte aérea, mientras que en Amalia continuó siendo en la raíz. Este comportamiento indica que las plantas del cultivar INCA 9 [1] resultan más sensibles a la salinidad en los primeros días de estrés salino que las del cultivar Amalia, lo que puede deberse a una mayor sensibilidad al efecto hiperosmótico de este estrés, que por lo general tiene una mayor influencia al inicio del tratamiento salino, aunque esto no ha sido debidamente demostrado (6). Posteriormente, las plantas de INCA 9 [1] al recuperarse superaron ampliamente a las del cultivar Amalia, y esto puede estar asociado a una mayor sensibilidad al componente hiperiónico del estrés en las plantas del cultivar Amalia, ya que como se ha señalado anteriormente, las plantas del cultivar INCA 9 [1] hacen una mayor exclusión del Cl⁻ en las raíces.

REFERENCIAS

- Sam, O.; Ramírez, C.; Coronado, M. J.; Testillano, P. S. y Risueño, M. del C. Changes in tomato leaves induced by NaCl stress: leaf organization and cell ultrastructure. *Biología Plantarum*, 2003/4, vol. 47, no. 3, p. 361-366.
- Yeo, A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology. *J. Exp. Bot.*, 1998, vol. 49, p. 915-929.
- Zhu, J. K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Science*, 2001, vol. 6. p. 66-71.
- Parra, M. Respuestas adaptativas inducidas por halocondicionamiento en especies hortícolas cultivadas en medio salino. [Tesis de grado]; Universidad de Murcia, 2002, 236 p.
- González, L. M.; González, M. C. y Ramírez, R. Aspectos generales sobre la tolerancia a la salinidad en plantas cultivadas. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 2, p. 27-37.
- Almansouri, M., Kinet, J. M. y Lutts, S. Compared effects of sudden and progressive impositions of salt stress in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) *J. Plant Physiol.*, 1999, vol. 154, p. 743-752.
- González, H.; Roberts, J. K. M., Jordan, W. R. y Drew, M. C. Growth, water relations, and accumulation of organic solutes in root of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 113, p. 881-893.

8. Lasa, B., Ibarretxe, I., Frechilla, S., Lamsfus, C. y Aparicio-Tejo, P. M. Relaciones hídricas y contenido de osmolitos en plantas de guisantes sometidas a estrés salino. En: Simposium hispano-portugués de relaciones hídricas en las plantas. Libro de comunicaciones. (5:2000:Madrid), 2000. p. 216-219.
9. Dell'Amico, J. M.; Pérez-Alfocea, F.; Balibrea, M. E. y Bolarín, M. del C. Inorganic solute content in tomato plants cultivated under salinity conditions. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, p. 11-15.
10. Morales, D.; Rodríguez, P.; Sánchez-Blanco, M. de J. y Torrecillas, A. Respuesta a la salinidad de tres variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 3, p. 71-76.
11. Morales, D.; Rodríguez, P.; Dell'Amico, J. M.; Sánchez-Blanco, M. de J. y Torrecillas, A. Efecto de la salinidad en la conductividad hidráulica de las raíces y las relaciones hídricas en hojas de dos especies de tomate. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no. 1, p. 41-45.
12. Essa, T. A. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glicine max.* L. Merrill) cultivars. *J. Agronomy & Crop Science*, 2002, vol. 188, p. 86-93.
13. Flowers, T. J.; Troke, P. F. y Yeo, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, 1997, vol. 28, p. 89-121.
14. Balibrea, M. E. Distribución y uso de fotoasimilados en relación con la producción y calidad del cultivo de tomate en condiciones de salinidad. Universidad de Murcia. Departamento de Biología Vegetal. [Tesis de grado]; 1999, 257 p.
15. Balibrea, M. E.; Dell'Amico, J.; Bolarín, M. del C. y Pérez-Alfocea, F. Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. *Physiologia Plantarum*, 2000, vol. 110, p. 503-511.
16. Hare, P. D.; Cress, W. A. y Vanstaden, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.*, 1998, vol. 21, p. 535-553.
17. Blum, A. y Sullivan, C. Y. The effect of plant size on wheat response to agents of drought stress. I. Root drying. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1997, vol. 24, p. 35-41.

Recibido: 17 de diciembre de 2003

Aceptado: 25 de marzo de 2005

CURSOS DE POSGRADO

Precio: 350 CUC

Fisiología del estrés

Coordinador: Dr. C. Walfredo Torres de la Noval

Fecha: a solicitud

Duración: 80 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr. C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (64) 86-3773
Fax: (53) (64) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu