



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-  
FISIOLOGÍA VEGETAL

**RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE ROMERITO  
(*Suaeda mexicana*) Y VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*)  
A DIFERENTES NIVELES DE SALINIDAD EN LA  
SOLUCIÓN DE RIEGO**

**BRENDA KARINA GUEVARA OLIVAR**

**T E S I S**  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE

**DOCTORA EN CIENCIAS**

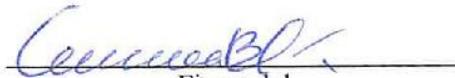
MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO  
2019

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe BRENDA KARINA GUEVARA OLIVAR, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor DRA. LIBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE ROMERITO (Suaeda mexicana) Y VERDOLAGA (Portulaca oleracea) A DIFERENTES NIVELES DE SALINIDAD EN LA SOLUCIÓN DE RIEGO

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 15 de julio de 2019



Firma del  
Alumno (a)



DRA. LIBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ  
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: "Respuestas fisiológicas de romerito (*Suaeda mexicana*) y verdolaga (*Portulaca oleracea*) a diferentes niveles de salinidad en la solución de riego" realizada por la alumna Brenda Karina Guevara Olivar, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS EN  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FISIOLOGÍA VEGETAL**

**CONSEJO PARTICULAR**

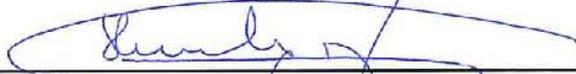
CONSEJERO:



---

**DRA. LIBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ**

ASESOR:



---

**DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO**

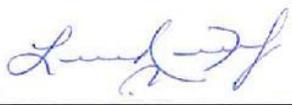
ASESOR:



---

**DR. JOSÉ ALBERTO ESCALANTE ESTRADA**

ASESOR:



---

**DRA. LUCERO DEL MAR RUIZ POSADAS**

ASESOR:



---

**DRA. YOLANDA LETICIA FERNÁNDEZ PAVÍA**

## **Respuestas fisiológicas de romerito (*Suaeda mexicana*) y verdolaga (*Portulaca oleracea*) a diferentes niveles de salinidad en la solución de riego**

Brenda Karina Guevara Olivar, D. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2019

### **RESUMEN**

Romerito (*Suaeda mexicana*) y verdolaga (*Portulaca oleracea*), son especies vegetales cosmopolitas que, aunque se les cultiva en el centro del país, suelen encontrarse de manera ruderal en ambientes salinos. Ambas, tienen la capacidad de tolerar altas concentraciones salinas, de tal manera que aprovechan los períodos de lluvia cuando la concentración salina disminuye para germinar y posteriormente al aumentar, tienden a desarrollar respuestas específicas al estrés como aumento de osmoprotectantes y hormonas, biomineralización de compuestos iónicos entre otras, lo que les permite establecerse y desarrollarse, ello las hace idóneas para colonizar sitios con alta salinidad. Ante los retos del cambio climático, *S. mexicana* y *P. oleracea* representan una buena opción productiva como alternativa de reconversión para facilitar la reactivación de tierras ociosas y como estrategia para la recuperación de suelos salinos. De esta manera, se tomaron semillas de romerito y verdolaga las cuales fueron incubadas durante 3 h en 15 soluciones salinas, resultado de la combinación de tres fuentes (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub>) y cinco concentraciones (0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M) de salinidad. Cada solución tuvo tres repeticiones (caja Petri con 20 y 50 semillas respectivamente). Después de 6 días de incubación, se determinó la masa ganada por la imbibición, porcentaje de germinación y longitud radicular y de vástago de las plántulas. Con los resultados obtenidos se realizaron análisis de varianzas y pruebas de comparación de medias (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). El tipo de fuente salina no influye de manera significativa la cantidad de agua absorbida por la semilla. La concentración salina es un factor que sí modifica la absorción de agua, en este caso la baja concentración evaluada (0.25 M) favorece la penetración de agua en la testa de las semillas de verdolaga. Con respecto a la germinación, ésta resultó más sensible a los tratamientos con CaCl<sub>2</sub> y NaCl, y la respuesta germinativa es inversamente proporcional al aumento de la concentración, lo mismo ocurrió en longitud radical y de vástago. Posteriormente se analizó la respuesta de *P. oleracea* a la salinidad a partir de

la evaluación del efecto, al estrés salino inducido por NaCl (0.00, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M de NaCl) en plantas maduras de 40 días posterior a la germinación. Los resultados mostraron que el aumento de la concentración estimula el aumento significativo de prolina en las hojas de la planta para contrarrestar la salinidad, por su parte variables morfológicas como cobertura, área foliar y biomasa seca disminuyeron en sus valores con respecto al testigo al evaluarse cada concentración salina. De manera nutrimental se observó que concentraciones de 0.50 M y superiores de NaCl disminuyó la concentración de N y K en hojas hasta en un 51%, la menor concentración de P se observó en concentraciones de 0.75 y 1.00 de NaCl; concentraciones de NaCl de 0.75 M, disminuyen la concentración de Ca en todos los tejidos al igual que Mg el cual mostró una reducción en tejido de hasta el 51%. En cuanto a las variables fisiológicas, aunque los valores mostraron una reducción de la transpiración y de la conductancia estomática, esta no fue significativa en ninguno de los tratamientos, aun cuando los valores de radiación fotosintéticamente activa se elevaron. Los datos anteriores hacen inferir que la planta puede compensar la respuesta negativa de algunas variables con la modificación positiva de otras, a fin de equilibrarlas y lograr la adecuación en el ambiente.

**Palabras clave:** Salinidad, estrés, respuesta, halófito, tolerancia.

## **Physiological responses of romerito (*Suaeda mexicana*) and purslane (*Portulaca oleracea*) at different levels of salinity in the irrigation solution.**

Brenda Karina Guevara Olivar, Ph. D.  
Colegio de Postgraduados, 2019

### **ABSTRACT**

Romerito (*Suaeda mexicana*) and purslane (*Portulaca oleracea*), are cosmopolitan plant species that, although they are cultivated in the center of the country, tend to be ruderal in saline environments. Both have the capacity to tolerate high salt concentrations, so that they take advantage of rainy periods when the salt concentration decreases to germinate and later on to increase, tend to develop specific responses to stress such as increased osmoprotectants and hormones, biomineralization of ionic compounds among others, which allows them to establish and develop, this makes them ideal for colonizing sites with high salinity. Faced with the challenges of climate change, *S. mexicana* and *P. oleracea* represent a good productive option as an alternative to reconversion to facilitate the reactivation of idle lands and as a strategy for the recovery of saline soils. In this way, romerite and purslane seeds were taken, which were incubated for 3 h in 15 saline solutions, resulting from the combination of three sources (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and CaCl<sub>2</sub>) and five concentrations (0., 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 M) of salinity. Each solution had three repetitions (Petri dish with 20 and 50 seeds respectively). After 6 days of incubation, the mass gained by imbibition, germination percentage and root and shoot length of the seedlings was determined. With the results obtained, variances analysis and means comparison tests were performed (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). The type of saline source does not significantly influence the amount of water absorbed by the seed. The salt concentration is a factor that does modify the absorption of water, in this case the low concentration evaluated (0.25 M) favors the penetration of water in the seed coat of the purslane seeds. With regard to germination, this was more sensitive to treatments with CaCl<sub>2</sub> and NaCl, and the germination response is inversely proportional to the increase in concentration, the same happened in stem and root length. Subsequently, the response of *P. oleracea* to salinity was analyzed from the evaluation of the effect, to the saline stress induced by NaCl (0.00, 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 M NaCl) in mature plants 40 days after germination.

The results showed that the increase of the concentration stimulates the significant increase of proline in the leaves of the plant to counteract the salinity, on the other hand morphological variables like coverage, leaf area and dry biomass decreased in their values with respect to the control when evaluating each saline concentration. Nutrimentially, it was observed that concentrations of 0.50 M and higher of NaCl decreased the concentration of N and K in leaves by up to 51%, the lowest concentration of P was observed in concentrations of 0.75 and 1.00 of NaCl; NaCl concentrations of 0.75 M, decrease the concentration of Ca in all tissues as well as Mg which showed a tissue reduction of up to 51%. Regarding the physiological variables, although the values showed a reduction in transpiration and stomatal conductance, this was not significant in any of the treatments, even when the photosynthetically active radiation values were elevated. The previous data make infer that the plant can compensate the negative response of some variables with the positive modification of others, in order to balance them and achieve the adaptation in the environment.

**Keywords:** Salinity, stress, response, halophyte, tolerance.

## DEDICATORIA

A Silvia y Roberto por ponerme en el lugar correcto en el momento adecuado, de quienes me enorgullezco llamar padres y que desde el cielo cuidan mis pasos.

A mis amadas hermanas, por compartir mi existencia y llenarme de ánimos en los momentos más aciagos.

A Dolores, por acompañarme siempre y mostrarme el camino.

A aquellas y aquellos que desinteresadamente me brindaron su apoyo y escucha.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Libia Iris Trejo Téllez, por su infinita paciencia, cariño y acompañamiento durante la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Carlos Fernando Gómez Merino, por su apoyo y asesoría durante toda mi estancia.

A la Dra. Lucero del Mar Ruiz Posadas, por su franca amistad y apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. José Alberto Escalante Estrada, por el apoyo otorgado y los atinados comentarios durante la realización de esta investigación.

A la Dra. Yolanda Leticia Fernández Pavía, por sus valiosas colaboraciones las cuales enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Jorge Manuel Valdez Carrazco, por su gran sensibilidad y apoyo la cual fue vital para el desarrollo de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación y al Colegio de Postgraduados.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SODIO.....	2
ORIGEN DEL SODIO EN EL SUELO.....	4
Ciclos continentales.....	4
Ciclos antropogénicos.....	4
CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL SODIO.....	5
CONCENTRACIONES ESTÁNDARES DE SODIO EN EL SUELO Y EL AGUA... 5	
SALINIDAD.....	6
Definición, problemática mundial y nacional.....	6
SODIO EN PLANTAS SUPERIORES.....	9
Efectos benéficos del sodio en plantas superiores.....	9
Efectos del sodio sobre la germinación y desarrollo de los cultivos.....	10
Absorción y transporte de Na <sup>+</sup> en plantas superiores.....	11
Transportadores NHX.....	15
Transportadores SOS1.....	16
Transportadores HKT.....	16
Efectos de la absorción de Na <sup>+</sup> en plantas superiores.....	17
Sustitución de K <sup>+</sup> por Na <sup>+</sup> como regulador de la ósmosis vacuolar.....	17
Transferencia de Na <sup>+</sup> de raíz a vástago y homeóstasis en hojas.....	18
Arquitectura radical.....	18
LITERATURA CITADA.....	19
CAPÍTULO I. IMBIBICIÓN DE SEMILLAS DE <i>Suaeda mexicana</i> Y <i>Portulaca oleracea</i> EN SOLUCIONES SALINAS Y SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN	23
RESUMEN.....	23
1.1.INTRODUCCIÓN.....	25
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	28

1.2.1 Semillas.....	28
1.2.2 Diseño experimental .....	28
1.2.3 Aplicación de tratamientos.....	29
1.2.4 Variables evaluadas .....	29
1.2.5 Análisis estadístico .....	29
<b>1.3 RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
1.3.1 Absorción de agua .....	30
1.3.2 Porcentaje de germinación.....	31
1.3.3 Longitud de vástago y de radícula.....	39
<b>1.4 DISCUSIÓN.....</b>	<b>42</b>
<b>1.5 CONCLUSIONES.....</b>	<b>45</b>
<b>1.6. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO II. VARIACIONES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN <i>Portulaca oleracea</i> EN ETAPA VEGETATIVA EN RESPUESTA AL ESTRÉS por NaCl.....</b>	<b>49</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>49</b>
<b>2.1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>50</b>
<b>2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
2.2.1. Material vegetal .....	53
2.2.2 Diseño de tratamientos y diseño experimental .....	53
2.2.3 Variables evaluadas .....	54
2.2.3.1 Parámetros morfológicos.....	54
2.2.3.2 Variables bioquímicas y nutrimentales.....	55
2.2.3.3 Variables fisiológicas .....	56
2.2.4. Análisis estadístico .....	56
<b>2.3. RESULTADOS.....</b>	<b>57</b>
2.3.1. Salinidad en parámetros morfológicos de <i>P. oleracea</i> .....	57
2.3.2. Salinidad en parámetros bioquímicos.....	59
2.3.3. Salinidad en parámetros nutrimentales .....	62
2.3.4. Salinidad en parámetros fisiológicos .....	65
<b>2.4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>

<b>2.5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>72</b>
<b>2.6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO III. EFECTO DEL ESTRÉS SALINO EN LAS CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE <i>Portulaca oleracea</i> .....</b>	<b>79</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>79</b>
<b>3.1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>80</b>
<b>3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>82</b>
3.2.1. Material vegetal .....	82
3.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental .....	82
3.2.3. Anatomía foliar .....	83
3.2.4. Microscopia electrónica de barrido y microanálisis elemental de Rayos- X.....	83
<b>3.3. RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
3.3.1 Análisis anatómico de raíz y hoja de <i>P. oleracea</i> .....	85
3.3.2 Microscopía electrónica de barrido y microanálisis elemental de Rayos-X.....	87
3.3.3 Composición elemental de cristales.....	88
<b>3.4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>98</b>
3.4.1. Cambios en la anatomía foliar.....	98
3.4.2. Cuantificación de Na <sup>+</sup> en secciones transversales de hoja de <i>P. oleracea</i> mediante microanálisis elemental por Rayos- X (EDS).....	99
3.4.3. Composición elemental de cristales compartimentalizados en tejidos foliares analizados mediante microanálisis por rayos-X EDS ..	101
<b>3.5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>103</b>
<b>3.6. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>104</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>108</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
<b>Cuadro 1.</b> Propiedades físicas y químicas del sodio. ....	3
<b>Cuadro 2.</b> Concentraciones de sodio basadas en conductividad eléctrica medidas en $\text{dS m}^{-1}$ (Richards, 1973).....	6
<b>Cuadro 3.</b> Distribución de suelos salinos y suelos sódicos por continente de acuerdo con superficie afectada (FAO, 2016). ....	7
<b>Cuadro 1.1.</b> Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en absorción de agua en semillas de <i>S. mexicana</i> y <i>P. oleracea</i> , después de un periodo de 3 h de imbibición. ....	30
<b>Cuadro 1.2.</b> Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en el porcentaje de germinación de semillas de <i>S. mexicana</i> y <i>P. oleracea</i> .....	32
<b>Cuadro 1.3.</b> Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en las longitudes de vástago y radículas en plántulas de <i>S. mexicana</i> y <i>P. oleracea</i> , provenientes de semillas incubadas en diferentes fuentes y concentraciones salinas. ....	39
<b>Cuadro 2.1.</b> Parámetros morfológicos de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. ....	58
<b>Cuadro 2.2.</b> Concentración de clorofilas a, b y total en hojas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva.....	61
<b>Cuadro 2.3.</b> Parámetros fisiológicos en plantas de verdolaga en fase vegetativa tratadas con NaCl en la solución nutritiva.....	66
<b>Cuadro 2.4.</b> Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre parámetros fisiológicos y morfológicos.....	66
<b>Cuadro 3.1.</b> Composición elemental de estructuras cristalinas localizadas en parénquima lagunar de hojas de <i>P. oleracea</i> mediante microanálisis por rayos X. ....	889

**Cuadro 3.2.** Composición elemental tisular en hoja de *P. oleracea* mediante microanálisis por rayos X.....93

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Superficie con problemas de salinidad y sodicidad en el suelo los distritos de riego de México (SEMARNAT-SGARAPA, 2010)..... 8
- Figura 2.** Superficie alterada químicamente por región productiva en México (SEMARNAT-SGARAPA, 2010)..... 8
- Figura 3.** Descripción de la absorción y transporte de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> a larga distancia entre raíces y brotes (Nieves-Cordones *et al.*, 2016). ..... 13
- Figura 4.** Representación esquemática de funciones, localizaciones subcelulares y reguladores de NHX, SOS1 y HKT1 tipo de Na<sup>+</sup> en transportadores de *Arabidopsis* (Yamaguchi *et al.*, 2013). ..... 15
- Figura 1.1.** Absorción de agua en semillas de verdolaga (*S. mexicana*) después de 3 h de periodo de imbibición en diferentes concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). ..... 31
- Figura 1.2.** Porcentaje de germinación de semillas de romerito incubadas por 3 h con diferentes fuentes salinas (a) y distintas concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura y muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). ..... 33
- Figura 1.3.** Porcentaje de germinación de semillas de romerito incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). ..... 37
- Figura 1.4.** Porcentaje de germinación de semillas de verdolaga incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). ..... 38
- Figura 1.5.** Longitud de vástago de plantas de romerito (a) y verdolaga (b) provenientes de semillas incubadas por 3 h con diferentes fuentes y

concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ )..... 40

**Figura 1.6.** Longitud de radícula de plantas de romerito (a) y verdolaga (b) provenientes de semillas incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ )..... 41

**Figura 2.1.** Cobertura (a) y área foliar (b) de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )..... 57

**Figura 2.2.** Biomasa fresca (a) y seca (b) por órganos de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura y órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). ..... 59

**Figura 2.3.** Aspecto de plantas de verdolaga tratadas durante 14 días con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. .... 59

**Figura 2.4.** Concentración de prolina en tallos y hojas de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )..... 60

**Figura 2.5.** Concentración de azúcares solubles totales en tallos y hojas de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura y órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....61

**Figura 2.6.** Concentración de nitrógeno en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....62

- Figura 2.7.** Concentración de fósforo en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....63
- Figura 2.8.** Concentración de potasio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....63
- Figura 2.9.** Concentración de calcio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....64
- Figura 2.10.** Concentración de magnesio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....64
- Figura 2.11.** Concentración de sodio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....65
- Figura 3.1.** Corte transversal de hoja de *P. oleracea* sin tratamiento con NaCl (a) y con tratamiento con 1.00 M NaCl (b). Parénquima lagunar (PI); haces vasculares (hv); drusas (d). (Barra de escala: 200  $\mu$ m, 40X)..... 85
- Figura 3.2.** Área ocupada por parénquima lagunar en tejido foliar de verdolaga (*P. oleracea*) tratada con un gradiente salino. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).....86

<b>Figura 3.3.</b> Densidad de drusas en tejido foliar de verdolaga ( <i>P. oleracea</i> ) tratada con un gradiente salino. Medias $\pm$ DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$ ).....	86
<b>Figura 3.4.</b> Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) de cortes transversales de plantas de verdolaga ( <i>P. oleracea</i> ) tratadas con 1 M NaCl. (a) Porciones del haz vascular con presencia de drusas (200X). (b) Haz vascular y drusa (600X). (c y d) Magnificación de drusa (5000X). (e) Microanálisis de rayos-X de la drusa.....	87
<b>Figura 3.5.</b> Imágenes de SEM de varios cristales en hojas de <i>P. oleracea</i> asociados a parénquima lagunar. (a, b y c) Drusas. (d y e) Concreciones. (f, g y h) Bloques pseudo-prismáticos.....	88
<b>Figura 3.6.</b> Composición elemental de drusas de oxalato de calcio localizada en parénquima lagunar de hoja de <i>P. oleracea</i> . Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).....	89
<b>Figura 3.7.</b> Composición elemental de drusa de oxalato de calcio (a) y sodio (b) localizada en parénquima lagunar de hoja de <i>P. oleracea</i> . Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).....	90
<b>Figura 3.8.</b> Espectros de EDS de cristales y diferentes áreas del parénquima lagunar en secciones transversales de hoja de <i>P. oleracea</i> .....	91
<b>Figura 3.9.</b> Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en parénquima lagunar (a) y en la región del mesófilo (b) en cortes transversales de hoja de <i>P. oleracea</i> . Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).....	96
<b>Figura 3.10.</b> Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en haces vasculares (a) y en membrana interna del parénquima lagunar (b) en cortes transversales de hoja de <i>P. oleracea</i> . Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).....	96

**Figura 3.11.** Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en cara adaxial de la hoja (a) y área aledaña al estoma (b) en cortes transversales de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X.....97

## INTRODUCCIÓN

El cambio climático está acelerando el proceso de aridificación en grandes extensiones de México específicamente en las regiones Noreste, Centro-Norte, Sureste, Lerma-Balsas y el Noroeste; ésta última alcanza un área de afectación cercana a las 200,000 ha las cuales están deterioradas por alteración sódica y salina-sódica, pero en particular alteración salina. La salinidad es un fenómeno químico que altera las propiedades químicas y físicas del suelo y aumenta la concentración de iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  (bases intercambiables). Un suelo salino es aquel que contiene sales solubles en concentración tal que alteran desfavorablemente su productividad, el pH es menor de 8.5, la conductividad eléctrica (CE) es mayor de 4 y el porcentaje de sodio intercambiable (PSI) es menor del 15%. Estas características generan a la mayoría de los cultivos serios problemas de estrés hídrico y nutrimental lo que repercute en la disminución de su calidad y en bajos rendimientos agrícolas. Cabe destacar que existen algunas plantas las cuales son capaces de tolerar las propiedades de los suelos salinos y salino-sódicos, permitiéndoles establecerse, desarrollarse y reproducirse; a este grupo de plantas se les ha denominado halófitas ya que durante cualquier fase de su ciclo de vida puede someterse a una concentración salina por encima de la que toleraría una planta glicófitas, por lo que tienen la capacidad de establecerse en sitios con alta concentración iónica ya sea sódica o sulfática e incluso en suelos cuya composición salina es mixta. En este sentido las plantas halófitas tienen la capacidad de fluctuar su metabolismo fotosintético a fin de hacer eficiente la fijación de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) lo cual va acompañado de múltiples mecanismos adaptativos de tipo anatómico, bioquímico, fisiológico y morfológico que le ayudan a contrarrestar los efectos iniciales y secundarios del desbalance nutrimental, sequía y quimiotoxicidad.

Entre las especies vegetales adaptadas a ambientes salinos se encuentra el romerito (*Suaeda mexicana*), la cual es una especie polimórfica cuya variación es debido los factores ambientales, pero también a su genética (Ferren y Schenk, 2004). Se distribuye en suelos salinos inundados y húmedos del centro de México, asociado generalmente con *Distichlis spicata* y se desarrolla como cultivo. (Noguez, Carballo y Flores, 2013).

Asimismo, entre estas especies halófitas se encuentra también la verdolaga (*Portulaca oleracea*), la cual ha sido utilizada como modelo biológico a fin de estudiar las fluctuación fotosintética de un modelo C<sub>4</sub> a uno CAM o viceversa cuando la planta está expuesta a condiciones de estrés hídrico y salino, de esta manera *P. oleracea* es una planta C<sub>4</sub> que hasta cierto punto utiliza al sodio como parte de su metabolismo bioquímico, pudiendo variar su metabolismo al tipo CAM, también tiene una alta capacidad de sintetizar sustancias antioxidantes lo cual le permite disminuir la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) lo cual de otro modo aceleraría la senescencia de las hojas perdiendo así la capacidad fotosintética.

Por lo anterior, *P. oleracea*, representa una opción adecuada de cultivo bajo condiciones ambientales de alta concentración salina y baja precipitación, adicionalmente presenta propiedades nutraceuticas, al ser fuente de ácidos grasos del tipo omega-3 y propiedades antioxidantes. Sin embargo, poco se conoce sobre la interrelación entre variables anatómicas, morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que utiliza para resistir al exceso de sales y falta de agua.

En el contexto anterior, esta tesis investigó en un primer ensayo los efectos de la imbibición de semillas de romerito y verdolaga en parámetros de germinación y crecimiento inicial. Posteriormente se evaluó la interrelación de la respuesta anatómica, bioquímica y fisiológica de verdolaga, expuesta a diferentes concentraciones de NaCl durante las fases fenológicas de plántula, planta madura y floración, a partir del análisis de variables anatómicas, bioquímicas, fisiológicas y de crecimiento.

## **CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SODIO**

El sodio (Na) es un elemento metálico que se encuentra ubicado dentro de la familia 1A de la tabla periódica dado que su número de oxidación es 1<sup>+</sup>. Su valor de densidad es de 0.97 g mL<sup>-1</sup>, por lo que clasifica como un metal ligero. Su estructura cristalina es cúbica con centro en el interior y es de tipo básico fuerte, su punto de fusión es de 180.5 °C y de ebullición de 892 °C. Se encuentra en la naturaleza combinado en forma de cloruro de sodio, bicarbonato sódico, carbonato de sodio, hidróxido de sodio y como sulfato de sodio (Hoffman y Shannon, 2007).

El Na pertenece al grupo de los metales alcalinos. Este grupo de elementos se caracterizan por tener un solo electrón en su nivel energético más externo y tienen tendencia a perderlo formando así un ion monopositivo. Esta tendencia de los metales alcalinos es debida a su baja energía de ionización y a su poca afinidad electrónica. El estado del Na en la naturaleza es sólido (no magnético).

Las propiedades físicas y químicas de este elemento son presentadas en el **Cuadro 1**, donde destaca su punto de fusión de 370.87 °K o de 98.72 °C, el punto de ebullición de 1156 °K o de 883.85 °C (Hay, 1981).

**Cuadro 1.** Propiedades físicas y químicas del sodio.

<b>Símbolo químico</b>	Na
<b>Número atómico</b>	11
<b>Grupo</b>	1
<b>Periodo</b>	3
<b>Aspecto</b>	blanco plateado
<b>Bloque</b>	s
<b>Densidad</b>	968 kg m <sup>-3</sup>
<b>Masa atómica</b>	22.98976928(2) u
<b>Radio medio</b>	180 pm
<b>Radio atómico</b>	190 pm
<b>Radio covalente</b>	154 pm
<b>Radio de van der Waals</b>	227 pm
<b>Configuración electrónica</b>	[Ne]3s <sup>1</sup>
<b>Electrones por capa</b>	2,8,1
<b>Estados de oxidación</b>	1 (base fuerte)
<b>Estructura cristalina</b>	cúbica centrada en el cuerpo
<b>Estado</b>	sólido
<b>Punto de fusión</b>	370.87 °K
<b>Punto de ebullición</b>	1156 °K
<b>Calor de fusión</b>	2.598 kJ mol <sup>-1</sup>
<b>Presión de vapor</b>	1,43 × 10 <sup>-5</sup> Pa a 1234 °K
<b>Electronegatividad</b>	0.93
<b>Calor específico</b>	1230 J/(kg·K)
<b>Conductividad eléctrica</b>	21 × 10 <sup>6</sup> S m <sup>-1</sup>
<b>Conductividad térmica</b>	141 W/(K·m)

Fuente: Tomado <http://elementos.org.es/sodio>

## **ORIGEN DEL SODIO EN EL SUELO**

El sodio tiende a acumularse en la corteza terrestre gracias a la intervención de factores litológicos, geomorfológicos, climáticos, hidrológicos y antrópicos (Porta, 2003). De esta manera, el movimiento, redistribución y acumulación de tales componentes en una cuenca de drenaje permiten explicar la formación de suelos salinos (Kovda *et al.*, 1967). Como parte de los ciclos litológicos y geomorfológicos la actividad volcánica es un elemento determinante en la pedogénesis alcalina y sódica (Szabolcs, 1989).

Las lavas volcánicas, los basaltos, y cenizas volcánicas con acción de las aguas naturales y del ácido carbónico se transforman produciendo grandes cantidades de óxido de silicio y aluminatos, bicarbonatos y carbonatos libres. Así mismo, la presencia de minerales feldespáticos conduce a la formación de soluciones de silicatos, bicarbonatos, carbonatos de los metales alcalinos, y alcalino-térreos) (Minashina y Gavrilova, 2006).

### **Ciclos continentales**

Otra fuente salina continental está dado por los depósitos de rocas sedimentarias de origen marino asociadas a procesos evaporíticos salobres.

Las rocas resultantes pueden contener cierta cantidad de sales solubles precipitadas las cuales al aflorar cerca de la superficie actúan como centros de redistribución de la salinidad al experimentar procesos de erosión (Porta *et al.*, 2003).

### **Ciclos antropogénicos**

Entre las acciones que favorecen la sodificación del suelo están las actividades agrícolas mal realizadas las que incluyen uso de fertilizantes inadecuados, riego con aguas residuales o de mala calidad, regar con aguas de elevado contenido salino, elevar el nivel de la capa freática y regar con aguas de baja concentración de calcio.

## CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL SODIO

Las emisiones volcánicas son las fuentes originarias de minerales primarios alcalinos como feldespatos y anfíboles; estos minerales al intemperizarse, dan origen a minerales secundarios como halloisita, hornablenda feldespática y plagioclasa, los cuales son susceptibles a procesos de intemperismo físico, químico y biológico. Tanto los suelos volcánicos como los suelos originados de sedimentos marinos, están sujetos a un gradiente hídrico de intemperización regulado por la precipitación que es responsable de las reacciones de hidrólisis de las partículas del suelo, además de la actividad biológica caracterizada por los estratos básicos de los ecosistemas como el fitoplancton, musgos y líquenes; estos últimos, producen fuertes concentraciones de ácidos orgánicos los cuales son capaces de intemperizar químicamente el material parental primigenio, dando lugar a la formación de compuestos secundarios como resultado de la lixiviación selectiva de ciertos iones ([Zambell et al., 2012](#)), de esta forma son quelatados elementos como el calcio y el magnesio y son lixiviados elementos como el sodio, el potasio y el cloruro.

## CONCENTRACIONES ESTÁNDARES DE SODIO EN EL SUELO Y EL AGUA

La concentración media de Na en el agua potable es de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , mientras que en el agua dulce es del orden de  $9 \text{ mg L}^{-1}$  y en el agua de mar de  $11 \text{ mg L}^{-1}$ . Debido a su heterogeneidad, el suelo puede contener concentraciones variables de Na sin que se afecte su productividad. En el **Cuadro 2** se presentan las concentraciones de sodio basadas en conductividad eléctrica medidas en  $\text{dS m}^{-1}$ , de acuerdo con el Laboratorio de Salinidad y Sodicidad de la Universidad de California en Riverside USA ([Richards, 1973](#)).

**Cuadro 2.** Concentraciones de sodio basadas en conductividad eléctrica medidas en  $\text{dS m}^{-1}$  (Richards, 1973).

CE ( $\text{dS m}^{-1}$ ) a 25 °C	Efectos
< 1.0	Efectos despreciables de la salinidad
1.1 - 2.0	Muy ligeramente salino
2.1 - 4.0	Moderadamente salino
4.1 - 8.0	Suelo salino
8.1 - 16.0	Fuertemente salino
> 16.0	Muy fuertemente salino

Respecto a la concentración de sodio en la solución del suelo, el incremento de ésta así como de la concentración de  $\text{K}^+$ , lleva a un aumento de la disolución del ácido silícico y promueve la formación de silicatos de sodio. Cuando existe la mezcla de iones con valencias distintas, existe un intercambio asimétrico entre el desplazamiento del ión con menor valencia y retención de aquel con valencia mayor. Como ocurre con el  $\text{Na}^+$  su concentración disminuye rápidamente cuando inicia la dilución de compuestos de calcio ya que son divalentes, por lo que la actividad del coeficiente de disociación está influenciada por las valencias involucradas, el tamaño y la concentración del ión (Szabolcs, 1989).

## SALINIDAD

### Definición, problemática mundial y nacional

La salinidad es un fenómeno químico que altera las propiedades químicas y físicas del suelo tornándolo salino. Un suelo salino es aquel que contiene sales solubles en concentración tal que alteran desfavorablemente su productividad (Richards, 1973). A nivel mundial se ha referenciado ampliamente que sobre todo las zonas áridas y semiáridas son las más susceptibles a experimentar problemas de salinidad cuando existen bajos índices de precipitación (Li *et al.*, 2015; Wichelns y Qadir, 2014; Singh *et al.*, 2013).

Los suelos salinos, salino-sódicos y sódicos se encuentran en las zonas áridas y semiáridas de todo el planeta, su génesis es geológica y se debe a ciclos de acumulación: a) continentales, b) limítrofes, c) deltaicos y d) artesianos, y en segunda instancia de tipo antropogénico (Ortega, 1987). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (Cuadro 3), estima que la superficie total de los suelos salinos es de 397 millones de hectáreas y la de suelos sódicos 434 millones de hectáreas. De las 230 millones de hectáreas de tierras de regadío, 45 millones de hectáreas (19.5%) están afectadas por sal; y de las casi 1,500 millones de hectáreas de agricultura de temporal, 32 millones (2.1%) son suelos afectados por sales.

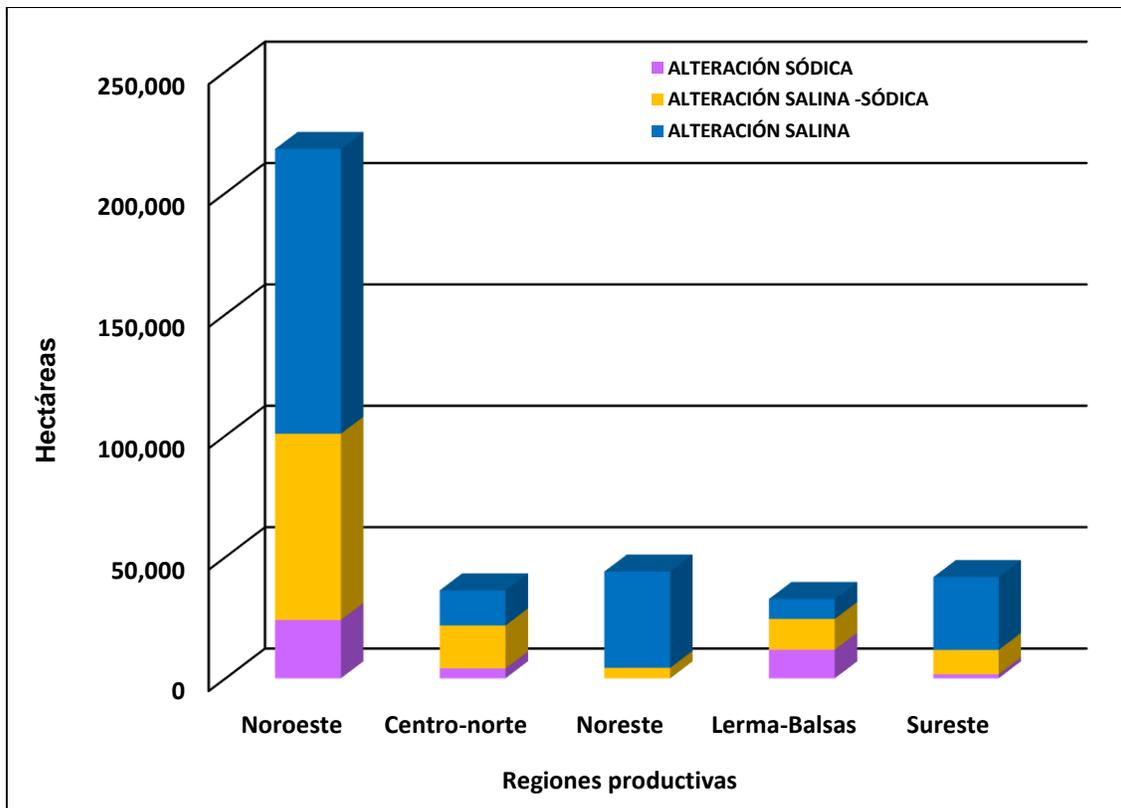
**Cuadro 3.** Distribución de suelos salinos y suelos sódicos por continente de acuerdo con superficie afectada (FAO, 2016).

Regiones	Superficie arable total (ha)	Suelos salinos (ha)	%	Suelos sódicos (ha)	%
África	1899.1	38.7	2.0	33.5	1.8
Asia y Australia y el Pacífico	3107.2	195.1	6.3	248.6	8.0
Europa	2010.8	6.7	0.3	72.7	3.6
Latinoamérica	2038.6	60.5	3.0	50.9	2.5
América del Este	1801.9	91.5	5.1	14.1	0.8
Norteamérica	1923.7	4.6	0.2	14.5	0.8
Total	12781.3	397.1	3.1	434.5	3.4

En México se ha estimado que 372, 675 ha, 13% de la superficie regada en los distritos de riego, siendo la más afectada la región noroeste con 218,091 ha (7.6% de la superficie total del territorio) como se observa en las Figuras 1 y 2 (SEMARNAT-SAGARPA, 2010).



**Figura 1.** Superficie con problemas de salinidad y sodicidad en el suelo los distritos de riego de México (SEMARNAT-SAGARPA, 2010).



**Figura 2.** Superficie alterada químicamente por región productiva en México (SEMARNAT-SAGARPA, 2010).

## SODIO EN PLANTAS SUPERIORES

### Efectos benéficos del sodio en plantas superiores

El agua juega un papel crucial en la maquinaria celular, tanto por los procesos de transporte en los que interviene como en las rutas que sigue dentro de la célula: el apoplasto, el simplasto y la ruta transcelular; es por ello que las plantas para sobrevivir y completar su ciclo de vida, realizan un ajuste osmótico constante de sus células, a fin de compensar el potencial hídrico interno con respecto al agua disponible en el suelo y la evapotranspiración a fin evitar la deshidratación; para ello, existe un conjunto de procesos metabólicos, metabolitos e iones como el potasio y el sodio encargados de estas tareas los cuales intervienen activamente.

Cuando se habla del papel que desempeña el sodio dentro del metabolismo celular en lugar de considerarlo tóxico de facto, debería referirse a su uso por las plantas de acuerdo con un gradiente de concentración y hacer referencia a los mecanismos que lo regulan dentro de las células. Numerosos estudios lo reportan como un ión benéfico en bajas concentraciones sobre todo en la calidad de hojas, raíces y frutos, además se le atribuyen efectos benéficos como preventivo en la manifestación de clorosis y necrosis y su mantenimiento en etapas de crecimiento subsecuentes, otorga mayor brillo a las hojas, por lo que se le considera un promotor de la producción de cera cuticular ([Brownell y Crossland, 1972](#)) y mejora el sabor y la textura de los cultivos plantados en suelos con bajas concentraciones de sodio ([Zhang y Blumwald, 2001](#)).

Aunque el sodio es un elemento no esencial para la mayoría de las plantas puede estimular el crecimiento y reemplazar al  $K^+$  en algunas de sus funciones como el ajuste osmótico de las vacuolas, regulación del turgor celular y el transporte de aniones actuando como catión acompañante ([Gattward et al., 2012](#)).

A nivel molecular se infiere que el sodio juega un papel importante en la ruta  $C_4$  facilitando la conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato (PEP) que se produce en las células del mesófilo, así mismo, se encontró que en especies del género *Atriplex* y *Kochia* hay una

relación directa entre la deficiencia de sodio y la alteración del fotosistema II en las células del mesófilo (Johnston *et al.*, 1989; Grof *et al.*, 1989); también funciona como fijador de CO<sub>2</sub> en plantas con ruta fotosintética C<sub>4</sub> y CAM, aunque hay plantas C<sub>3</sub> “intolerantes” al sodio que se desarrollan de manera eficiente en presencia de este ión. Brownell y Crossland (1972) encontraron que diversas especies pertenecientes a las familias Poaceae, Cyperaceae, Amaranthaceae, Portulacaceae y sobretodo Chenopodiace del género *Atriplex*, mostraron deficiencias nutrimentales como clorosis, necrosis y ausencia de floración cuando la nutrición controlada inhibía la adición de sodio, en cambio cuando la formula incluía sodio, las plantas mostraron un desarrollo normal, por lo que la adición de NaCl y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ayuda a plantas del tipo C<sub>4</sub> a desarrollarse eficientemente. Se ha observado que en betabel la compensación de la concentración de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> para complementar solo K<sup>+</sup> en la solución nutritiva, aumenta el peso seco y la concentración de azúcares en la raíz (Wakeel *et al.*, 2010).

### **Efectos del sodio sobre la germinación y desarrollo de los cultivos**

Muchos estudios con cultivos y plantas ornamentales C<sub>3</sub> como el carrizo *Arundo donax* el efecto del sodio, disminuye la eficiencia fotosintética (Sánchez *et al.*, 2016), en el pimiento dulce *Capsicum annuum*, reduce la disponibilidad de CO<sub>2</sub> atmosférico y reduce el peso fresco así como el tiempo de vida medio en anaquel (Rubio *et al.*, 2009) (Pinero *et al.*, 2016), en plantas de arroz una concentración de hasta 100 mM de NaCl ocasiona disminución de la elongación radical, tamaño del vástago y por ende, disminución de la materia fresca y seca, además de ocasionar bajas concentraciones de potasio en hojas (García *et al.*, 2012); en ciertas plantas ornamentales ligeramente tolerantes como *Aloe vera*, *Kalanchoe blossfeldiana* y *Gazania splendens*, el efecto del sodio ocasionó disminución de la biomasa, disminución de la succulencia foliar y el aumento de la concentración de Prolina en raíces y hojas (García *et al.*, 2016).

El tema de la germinación bajo condiciones de salinidad, es un punto muy abordado en numerosas publicaciones; cuando se hizo la clasificación de las plantas por sus hábitos de desarrollo como glicófitas y halófitas, se infería que plantas halófitas toleraban mejor

el efecto salino durante la fase de germinación en comparación con su contraparte glicófito, hoy se sabe que la salinidad es un factor estresante que afecta a tanto glicófitos como halófitos durante la fase de germinación (Song *et al.*, 2005), por lo que aquellas plantas tolerantes o facultativas deben desarrollar estrategias fisiológicas hábiles para sobrevivir y desarrollarse en ambientes salinos ya sea permanente o estacional.

Un ejemplo de esto lo estudiaron Sánchez y Ruíz (2012) en donde probaron diferentes concentraciones de NaCl y tiempo periodos en la germinación de romerito (*Suaeda mexicana*), observando que altas concentraciones salinas inhiben por completo su germinación, cabe destacar que el romerito produce dos tipos de semillas, de color negro y cafés, éstas últimas son más exitosas para germinar en contraste con las negras las cuales presentan mayor sensibilidad. Si bien la inhibición germinativa de la mayoría de las plantas es ocasionada por un efecto osmótico, el efecto sobre las demás especies puede ser muy variado, puede prolongar la dormancia de la semilla, debilitar la permanencia de la plántula o finalmente inhibir por completo la germinación.

### **Absorción y transporte de Na<sup>+</sup> en plantas superiores**

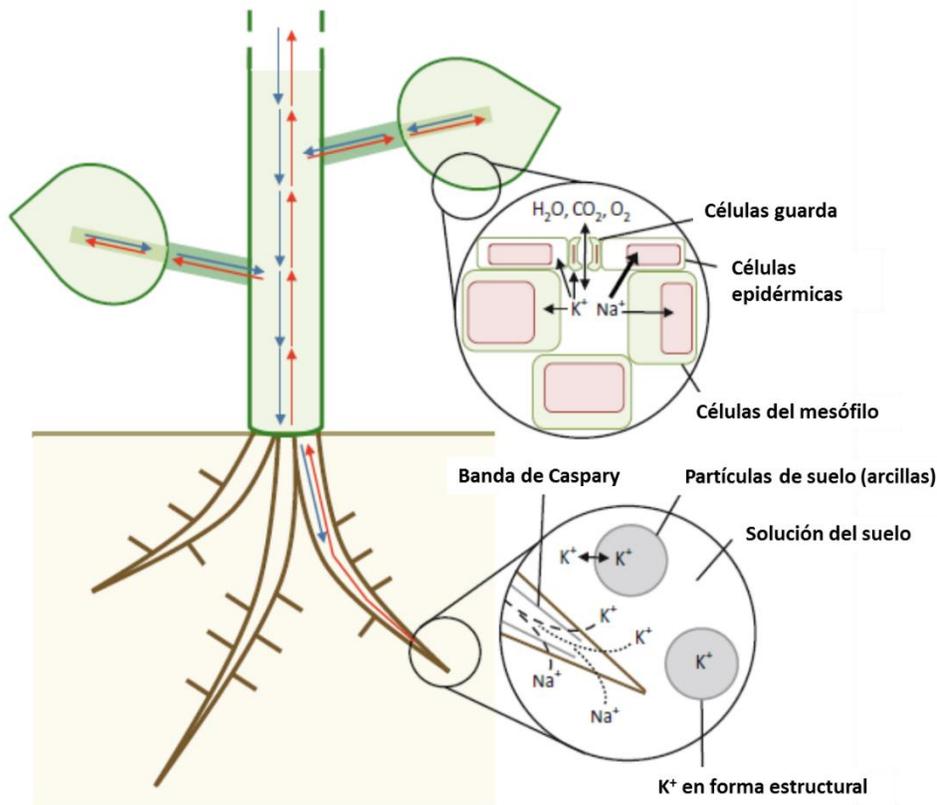
Tanto plantas como animales deben mantener un equilibrio dinámico a fin de alcanzar la homeóstasis de sus propiedades y medio celular. En las plantas dicho equilibrio se logra gracias a la capacidad osmoreguladora que desempeñan las células, sin embargo, la respuesta adaptativa a los efectos del ambiente nunca es la misma. Todo inicia cuando los iones son transportados en fase acuosa desde la rizósfera hasta la raíz de la planta, de esta manera los iones pueden acceder al interior de la misma mediante intercepción radical, difusión o flujo de masas, y posteriormente son transportados hacia el interior de las células, translocados y compartimentalizados.

Normalmente en especies que se distribuyen en suelos cuya concentración sódica es  $\geq 100$  mM, la concentración salina les resulta sensible, éstas pueden ser menos eficientes para translocar Na<sup>+</sup> y por tanto tienden a desarrollar un mayor número de receptores para

facilitar la absorción de  $K^+$  y no de  $Na^+$  este tipo de plantas consideradas glicófitas han sido también denominadas natrofobas; por el contrario, aquellas capaces de absorber una alta concentración de  $Na^+$  se han denominado natrofilas (Smith *et al.*, 1980).

Se ha estudiado que dichas especies tienen una mayor capacidad para translocar altas concentraciones de  $Na^+$  desde la raíz hasta el vástago y compartimentalizarlo en las vacuolas de sus células, tal habilidad de almacenaje les confiere succulencia. La succulencia es una característica morfológica en la que las hojas son gruesas o carnosas debido a que contienen tejidos de almacenaje de agua (Grigore, 2014), esto se debe en parte a la abundancia de células de savia pobres en clorofila y a la reducción de tamaño del espacio intercelular. Como a las plantas les resulta más tóxico mantener los iones en solución dispersos por el citoplasma de sus células, mantienen un flujo constante de estos iones entre las hojas donde pueden almacenarlo o excluirlo de éstas para mandarlo al xilema en donde es enviado a la raíz para ser excluido (Munns y Tester, 2008).

Cuando la planta absorbe  $Na^+$  y  $K^+$  desde la solución del suelo, lo hace de manera selectiva a través de la membrana plasmática y éstos transportados por un sistema de células periféricas de la raíz (epidermis, corteza, y endodermis) para entrar en el simplasto de la raíz, entonces la difusión dentro del simplasto permite que los iones traspasen la endodermis y lleguen a la estela de la raíz y a la vasculatura del xilema localizada en el centro de la raíz, donde el flujo de la savia bruta transporta los iones hacia los brotes (**Figura 3**).

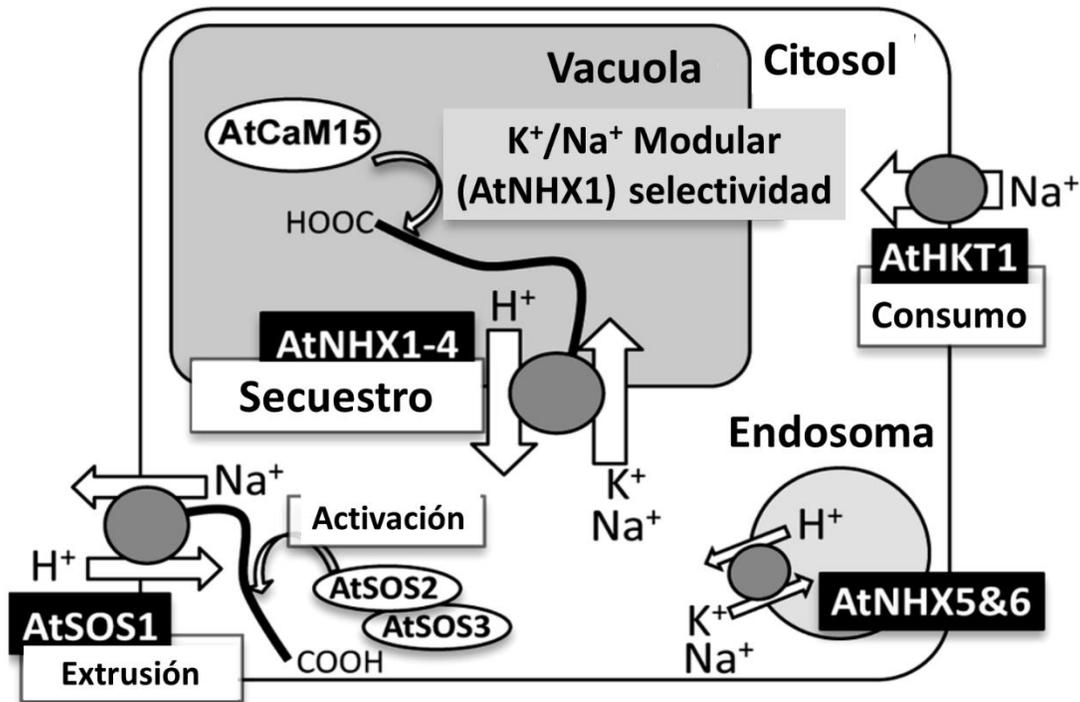


**Figura 3.** Descripción de la absorción y transporte de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a larga distancia entre raíces y brotes (Nieves-Cordones *et al.*, 2016).

Como la región de la raíz en crecimiento no posee una endodermis que funcione como barrera, en estas zonas los iones pueden difundir libremente dentro del apoplasto y llegar directamente a la estela de la raíz y a los vasos del xilema sin ninguna dificultad por los sistemas de transporte de membrana. Una vez en el xilema, los iones son transportados (mediante flujo masivo) hacia y a través de los brotes por el flujo de la savia del xilema. Llegando a las hojas y descargando de los tejidos vasculares de la hoja,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  alcanzan el apoplasto de la hoja donde son recogidos por células mesófilas, epidérmicas y de guarda. Los iones  $\text{Na}^+$  son preferentemente acumulados en vacuolas de las células foliares y selectivamente compartimentalizados en células epidérmicas. El transporte rápido de  $\text{K}^+$  dentro y fuera de las células guarda controla la turgencia de estas células y por tanto el diámetro del poro estomático y las tasas de intercambio de gases entre los tejidos foliares internos y la atmósfera. En las hojas maduras que realizan fotosíntesis (fuente), los iones  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  también se pueden cargar en la savia del floema para ser

transportada hacia los órganos demanda (raíces, hojas jóvenes, frutas, etc.) (Nieves-Cordones *et al.*, 2016). De esta manera, las condiciones detoxificantes de la planta entre las células corticales y las células de la estela, están asociadas a mecanismos de control y flujo de cargas de acuerdo con la concentración y tipo de iones migrantes; en este sentido, a nivel de membrana se dan diferentes mecanismos de transporte, tanto activos como pasivos denominados uniporte que es un tipo de transporte en el que un ión se mueve a favor de un gradiente a través de una proteína vehículo al interior de la célula. Simporte se refiere al movimiento de dos iones de carga distinta que se complementan a favor de un gradiente hacia el interior de una célula y un antiporte que es el movimiento contrario que tiene un ion desde el interior de una célula y otro desde el exterior al mismo tiempo, esto genera en la membrana un diferencial de potencial (Tester y Davenport, 2003).

Existen tres tipos de transportadores celulares que merecen atención especial, los NHX, SOS1 y HKT; éstos son importantes porque son encargados del flujo y transporte del Na<sup>+</sup> en las células. Algunos estudios han demostrado que poseen una alta capacidad para retener Na<sup>+</sup> en las vacuolas, extruir Na<sup>+</sup> fuera de las membranas de células (**Figura 4**) y circulación de éste para mitigar el daño ocasionado por el estrés salino (Yamaguchi *et al.*, 2013), Algunos de estos transportadores muestran la capacidad de mejorar la tolerancia a la salinidad al estar codificados a ciertos genes cuando están sobre expresados (Agarwal *et al.*, 2013).



**Figura 4.** Representación esquemática de funciones, localizaciones subcelulares y reguladores de NHX, SOS1 y HKT1 tipo de Na<sup>+</sup> en transportadores de *Arabidopsis* (Yamaguchi *et al.*, 2013).

### Transportadores NHX

Los transportadores NHX representan una estrategia que emplean las plantas para compartimentalizar el Na<sup>+</sup> libre en las vacuolas mediante el intercambio Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> intracelular (Yamaguchi *et al.*, 2013); éstos utilizan un sistema de transporte antiporte ya sea Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> o K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> a través de la membrana y un gradiente de protones como fuerza impulsora, y es considerado como el responsable del secuestro de Na<sup>+</sup> de forma intracelular cuando hay estrés salino. Muchas plantas contienen múltiples isoformas de transportadores intracelulares que se clasifican dentro de la familia IC-NHE/NHX las cuales pueden ser vacuolares (Clase 1) o endosomales (Clase 2), las cuales varían de una planta a otra en su secuencia o localización (Bassil *et al.*, 2012).

Cabe señalar que la sobre expresión de genes que codifican para los transportadores NHXs puede conferir en las plantas una mayor tolerancia a Na<sup>+</sup> (Agarwal *et al.*, 2013).

Sin embargo, en casos como el de *Arabidopsis* donde se sobre expresó el gen *ATNHX1* (Leidi *et al.*, 2010) y en tomate donde se sobre expresó el gen *LeNHX2*, la planta realizó una mayor acumulación de  $K^+$  pero no de  $Na^+$ . Por otro lado, Shi *et al.* (2008) observaron que la inclusión del gen *AtNHX5* en *Torenia fournieri*, favorece la acumulación de  $Na^+$  en la planta.

### **Transportadores SOS1**

Los transportadores SOS1 (salt overly sensitive) son de los mejor caracterizados. Los genes SOS1 se han caracterizados en muchas plantas (Yamaguchi *et al.*, 2013). En *Arabidopsis*, estos transportadores se han caracterizado como AtSOS1. La activación de los AtSOS1, ocurre durante la fosforilación directa del autodomino inhibitorio por la serina/treonina quinasa AtSOS2, la cual necesita de una proteína dependiente de calcio para activarse, ya sea AtSOS3 o SCA8/CNL10 (Quintero *et al.*, 2011). Al parecer el papel que desempeñan los genes *SOS1* en plantas silvestres es fundamental ya que tiende a acumularse altas concentraciones de  $Na^+$  en sus tejidos; sin embargo, existe también un mecanismo muy eficiente de eflujo a través de la membrana plasmática en las raíces (Oliás *et al.*, 2009). Cabe destacar que la extrusión de  $Na^+$  no es el único papel que desempeñan los SOS1, al parecer, juegan un papel importante en la homeostasis del pH vacuolar y del citosol y en la alteración del flujo de  $H^+$  en la membrana (Shabala *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 2010).

### **Transportadores HKT**

Estos genes de alta afinidad a potasio están relacionados con la asimilación de  $Na^+$  en la interfase suelo-planta. El primer miembro aislado de los TaHKT2;1 tiene una función como simporte  $Na^+/K^+$  de alta afinidad, pero se comporta como un uniporte de  $Na^+$  bajo condiciones de estrés salino (Hauser y Horie, 2010). En arroz, dos de los nueve miembros de los HKT, OsHKT2;1 y OsHKT2;2, funcionan como mediadores en la absorción de  $Na^+$  del suelo por lo que presenta una alta afinidad a  $Na^+$  pero baja afinidad hacia  $K^+$  (Yao *et al.*, 2010). Otro grupo de transportadores aislados del trigo son los LCT1 que aunque no son específicos, tienen la capacidad de conducir a varios cationes incluidos  $Na^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Li^+$  y  $Cs^+$  (Uraguchi *et al.*, 2011).

## **Efectos de la absorción de Na<sup>+</sup> en plantas superiores**

Existen dos iones alcalinos cuya abundancia en la naturaleza es similar, el Na<sup>+</sup> y el K<sup>+</sup>; sin embargo, la concentración de este último en el citoplasma celular (0.1 M) lo constituye como uno de los iones principales en todos los organismos vivos (Nieves-Cordones *et al.*, 2016). Una de las razones por la que el K<sup>+</sup> es un ion de mayor importancia fisiológica en comparación con el Na<sup>+</sup>, se debe posiblemente a que los seres vivos se originaron en el océano, las funciones metabólicas y fisiológicas evolucionaron en torno a la capacidad de hidratación de la superficie de cada ion, donde la energía de hidratación del K<sup>+</sup> es mayor, por lo que las interacciones con el agua son más fuertes en comparación con el Na<sup>+</sup> (Carrillo-Trip *et al.*, 2003; Mancinelli *et al.*, 2007), de esta forma, el K<sup>+</sup> es el encargado de llevar a cabo diversas funciones dentro de la célula y de alguna manera el Na<sup>+</sup> puede en algunos casos sustituirlo o reemplazarlo provisionalmente.

## **Sustitución de K<sup>+</sup> por Na<sup>+</sup> como regulador de la ósmosis vacuolar**

Normalmente el K<sup>+</sup> desempeña funciones en la célula en la cual es irremplazable, sin embargo, al tratarse de la osmoregulación vacuolar el K<sup>+</sup> si puede ser sustituido por el Na<sup>+</sup> (Marschner, 2012). Se ha observado que bajo condiciones de carencia de K<sup>+</sup> en el suelo, el Na<sup>+</sup> puede sustituirlo como regulador osmótico. Aunque la sustitución iónica de K<sup>+</sup> por Na<sup>+</sup> como regulador osmótico en vacuola es clara en algunos estudios, se ha observado que la eficiencia en el secuestro del Na<sup>+</sup> en el tonoplasto está regulada por los intercambiadores Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> de la familia NHX (Apse *et al.*, 2003) y canales e intercambiadores de la familia CAX encargados del transporte de Na<sup>+</sup> (Zhao *et al.*, 2011). Sin embargo bajo condiciones de salinidad la mayoría de las plantas pueden expresar hiperosmolaridad como consecuencia del déficit de agua y del desequilibrio iónico que afecta las funciones metabólicas y fisiológicas. El déficit hídrico es rápidamente transmitido por las raíces a otras partes de la planta causando reducción de la turgencia intracelular y disminución de la expansión celular (Hasegawa, 2013).

Además, la presencia de sodio puede afectar la eficiencia de los transportadores de las células ocasionando despolarización de la membrana plasmática alterando la homeostasis y afectando la protección estomática (Kronzucker *et al.*, 2013).

### **Transferencia de Na<sup>+</sup> de raíz a vástago y homeóstasis en hojas**

El movimiento de Na<sup>+</sup> de la raíz hacia el vástago ocurre por una tensión en los vasos del xilema mediante un flujo de carga a causa de un gradiente ocasionado por la presión de vapor. El flujo transpiracional es determinado por la conductancia estomática y la concentración de Na<sup>+</sup> que en la planta es mitigada gracias a la autoregulación del cierre y apertura estomática, lo que limita el transporte de Na<sup>+</sup> de las raíces al resto de la planta (Weng *et al.*, 2012). En la mayoría de las halófitas al reducir la transpiración, se reduce la acumulación de Na<sup>+</sup> en hojas, aunque la reducción de la transpiración, puede traer consecuencias adversas para la planta ya que se reduce la captura y fijación de CO<sub>2</sub>, disminuye la asimilación nutrimental y aumenta el enfriamiento evaporativo de la hoja (Kim *et al.*, 2010). Sin embargo, pequeñas reducciones en la conductancia estomática en plantas C<sub>3</sub> no disminuye la asimilación de CO<sub>2</sub>, bajo estas circunstancias la conductancia estomática que se da a través de las acuaporinas puede reducir la tasa de transferencia de Na<sup>+</sup> (Aroca, 2012).

### **Arquitectura radical**

En estudios realizados en *Arabidopsis* se ha determinado que SOS, fosfolípidos, radicales libres de oxígeno (ROS), ácido abscísico (ABA), citocininas, Ca<sup>2+</sup>, hiperosmolaridad y cinasas/fosfatasa, están involucrados en numerosos procesos que tienen que ver con aclimatación/adaptación a la salinidad (Pardo y Rubio, 2011; Qin *et al.*, 2011; Reddy *et al.*, 2011; Suzuki *et al.*, 2012). Se conoce que la activación de los genes SOS regula la homeostasis de Na<sup>+</sup>, exportando los iones fuera de las células, activan la cinasa de los antiportadores SOS1 y SOS2 lo que incrementa el eflujo de Na<sup>+</sup> del citoplasma al apoplasto (Quintero *et al.*, 2011; Pardo y Rubio, 2011).

Evidencia señalan que la proteína SOS3 controla la emergencia de raíces laterales mediante el incremento en la producción de auxinas y el transporte de auxinas en respuesta a estrés salino (Galván-Ampudia y Testerink, 2011).

## LITERATURA CITADA

- Agarwal PK, Shukla PS, Gupta K, Jha B. 2013. Bioengineering for salinity tolerance in plants: state of art. *Molecular Biotechnology* 54(1): 102-123. Doi: 10.1007/s12033-012- 9538-3
- Apse MP, Sottosanto JB, Blumwald E. 2003. Vacuolar cation/H<sup>+</sup> exchange, ion homeostasis, and leaf development are altered in a T-DNA insertional mutant of *AtNHX1*, the *Arabidopsis* vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. *Plant Journal* 36(2): 229-239. Doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01871.x
- Aroca R, Procel R, Ruiz-Lozano JM. 2012. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* 63(1): 43-57. Doi: 10.1093/jxb/err266
- Bassil E, Coku A, Blumwald E. 2012. Cellular ion homeostasis: emerging roles of intracellular NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany* 63(16): 5727-5740. Doi: 10.1093/jxb/ ers250
- Brownell PF, Crossland CJ. 1972. The Requirement for sodium as a micronutrient by species having the C<sub>4</sub> dicarboxylic photosynthetic pathway. *Plant Physiology* 49(5): 794-797. Doi: 10.1104/pp.49.5.794
- Carrillo-Tripp M, Saint-Martín H, Ortega-Blake I. 2003. A comparative study of the hydration of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> with refined polarizable model potentials. *Journal of Chemical Physics* 118(15): 7062-7073. Doi: 10.1063/1.1559673
- Ferren WR, Schenk HJ. 2004. *Suaeda*. En: Flora of North America Editorial Committee Ed. Flora of North America. North of Mexico. Vol. 4, pp. 390-398, Oxford University Press, Nueva York
- FAO. 2016. Portal de suelos de la FAO. Extent of salt-affected soils. <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/manejo-de-suelos-problematicos/suelos-afectados-por-salinidad/more-information-on-salt-affected-soils/es/> Fecha de consulta (9-04-2019).
- Galvan-Ampudia CS, Testerink C. 2011. Salt stress signals shape the plant root. *Current Opinion in Plant Biology* 14(3): 296-302. Doi: 10.1016/j.pbi.2011.03.019
- García CP, Llanderal A, Pestana M, Correia PJ, Lao MT. 2016. Tolerance mechanisms of three potted ornamental plants grown under moderate salinity. *Scientia Horticulturae* 201: 84-91. Doi: 10.1016/j.scienta.2016.01.031
- García MS, Trejo- Téllez LI, Gómez-Merino FC, Caldana C, Espinosa VD, Herrera CBE. 2012. Growth, photosynthetic activity, and potassium and sodium concentration in rice plants under salt stress. *Acta Scientiarum Agronomy* 34(3): 317-324. Doi: 10.4025/actasciagron.v34i3.13687
- Gattward JN, Almeida AAF, Souza JO Jr, Gomes FP, Kronzucker HJ. 2012. Sodium-potassium synergism in *Theobroma cacao*: Stimulation of photosynthesis, water-use efficiency and mineral nutrition. *Physiologia Plantarum* 146(3): 350–362. Doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01621
- Grigore NM, Ivanescu L, Toma C. 2014. Halophytes: An Integrative Anatomical Study. Springer. Suiza. pp. 32-37.
- Grof CPL, Johnston M, Brownell PF. 1989. Effect of sodium nutrition on the ultrastructure of chloroplasts of C<sub>4</sub> plants. *Plant Physiology* 89(2): 539–543. Doi: 10.1104/pp.89.2.539

- Hauser F, Horie T. 2010. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio in leaves during salinity stress. *Plant, Cell and Environment* 33(4): 552-565. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02056.x
- Hay RKM. 1981. *Chemistry for Agriculture and Ecology. A foundation course.* Blackwell Scientific Publications. Oxford. 243 p.
- Hoffman JG., Shannon MC. 2007. Salinity. *In: Microirrigation for Crop Production.* Lamm FR, Ayars JE, Nakayama FS. (Eds). Elsevier. Oxford. pp. 131-157.
- Johnston M, Grof CPL, Brownell PF. 1989. Chlorophyll a/b ratios and photosystem activity of mesophyll and bundle sheath fractions from sodium-deficient C<sub>4</sub> plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 16(6): 449-457. Doi: 10.1071/PP9890449
- Kim TH, Bohmer M, Hu H, Nishimura N, Schroeder JI., 2010. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> signaling. *Annual Review of Plant Biology* 61: 561-591. Doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112226
- Kovda, VA, Berg CV, Hagan RM. 1967. International source-book on irrigation and drainage of arid lands, in relation to salinity and alkalinity. FAO-UNESCO. 663 p.
- Kronzucker HJ, Devrim C, Schulze LM, Wong JR, Britto DT. 2013. Sodium as nutrient and toxicant. *Plant and Soil* 369(1-2): 1-23. Doi: 10.1007/s11104-013-1801-2
- Leidi EO, Barragán V, Rubio L, El-Hamdaoui A, Ruiz MT, Cubero B, Fernández JA, Bressan RA, Hasegawa PM, Quintero FJ, Pardo JM. 2010. The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato. *Plant Journal* 61: 495-506. Doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04073.x
- Li XB, Kang YH, Wan SQ, Chen XL, Chu LL, Xu JC. 2015. First and second-year assessments of the rapid reconstruction and re-vegetation method for reclaiming two saline-sodic, coastal soils with drip-irrigation. *Ecological Engineering* 84: 496-505. Doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.09.004
- Mancinelli R, Botti A, Bruni F, Ricci MA, Soper AK. 2007. Perturbation of water structure due to monovalent ions in solution. *Physical Chemistry Chemical Physics* 9(23): 2959-2967. Doi: 10.1039/B701855J
- Marschner P. 2012. *Mineral Nutrition of Higher Plants.* Academic Press. 3 ed. USA. pp. 249-257.
- Minashina NG y GavriloVA GK. 2006. Halochemical processes upon washing of calcareous gypsiferous solonchaks. *Eurasian Soil Science* 41(1): 29-38.
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681. Doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Nieves-Cordones M, Al SFR, Sentenac H. 2016. Roles and transport of sodium and potassium in plants. *Metal Ions in Life Sciences* 16: 291-324. Doi: 10.1007/978-3-319-21756-7\_9
- Noguez HR, Carballo CA, Flores OH. 2013. *Suaeda edulis* (Chenopodiaceae), una nueva especie de lagos salinos del centro de México. *Botanical sciences*. 91(1):19-25.
- Oh D-H, Lee SY, Bressan RA, Yun D-J, Bohnert HJ. 2010. Intracellular consequences of SOS1 deficiency during salts stress. *Journal of Experimental Botany* 61(4): 1205-1213. Doi:10.1093/jxb/erp391

- Oliás R, Eljakaoui Z, Li J, De Morales PA, Marín-Manzano MC, Pardo JM, Belder A. 2009. The plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na<sup>+</sup> between plant organs. *Plant, Cell and Environment* 32(7): 904-916. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01971.x
- Pardo JM, Rubio F. 2011. Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transporters in plant signaling. *In: Geisler M, Venema K. (Eds.), Transporters and Pumps in Plant Signaling. Signaling and Communication in Plants 7.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp. 65-98.
- Pinero MC, Pérez JM, López MJ y Del Amor F. 2016. Changes in the salinity tolerance of sweet pepper plants as affected by nitrogen form and high CO<sub>2</sub> concentration. *Journal of Plant Physiology* 200: 18-27. Doi: 10.1016/j.jplph.2016.05.020
- Porta J, López-Acevedo M, Roquero C. 2003. Salinización y sodificación: Suelos de regadío en Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Mundi prensa. pp. 727-775.
- Qin F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2011. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. *Plant and Cell Physiology* 52(9): 1569-1582. Doi: 10.1093/pcp/pcr106
- Quintero FJ, Martínez-Atienza J, Villalta I, Jiang X, Kim WY, Ali Z, Fujii H, Mendoza I, Yun DJ, Zhu JK, Pardo JM. 2011. Activation of the plasma membrane Na/H antiporter salt-overly-sensitive 1 (SOS1) by phosphorylation of an auto-inhibitory C-terminal domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(6): 2611-2616. Doi: 10.1073/pnas.1018921108
- Reddy ASN, Ali GS, Celesnik H, Day IS. 2011. Coping with stresses: Roles of calcium- and calcium/calmodulin-regulated gene expression. *Plant Cell* 23: 2010-2032. Doi: 10.1105/tpc.111.084988
- Richards LA. 1973. Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. Manual 60. Ed. Limusa. México, D. F.
- Rubio JS, García SF, Rubio F, Martínez V. 2009. Yield, blossom-end rot incidence, and fruit quality in pepper plants under moderate salinity are affected by K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> fertilization. *Scientia Horticulture* 119(2): 79-87. Doi:10.1016/j.scienta.2008.07.009
- Sánchez-Tizapantzi G, Ruíz-Font A. 2012. Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae). *Tecnología en Marcha* 25(3): 58-69. Doi: 10.18845/tm.v25i3.458
- Sánchez E, Gil S, Azcón B J y Nogues S. 2016. The response of *Arundo donax* L. (C<sub>3</sub>) and *Panicum virgatum* (C<sub>4</sub>) to different stresses. *Biomass and Bioenergy* 85: 335-345. Doi: 10.1016/j.biombioe.2015.12.021
- SEMARNAT-SAGARPA. 2010. Salinidad del suelo. <https://www.cofupro.org.mx/cofupro/images/contenidoweb/indice/publicacionesnayarit/FOLLETOS%20Y%20MANUALES/FOLLETOS%20IMTA%202009/folleto%206%20salinidaddelsuelo.pdf> Fecha de consulta (9-04-2019)
- Shabala L, Cui TA, Newman IA, Shabala S. 2005. Salinity-induced ion flux patterns from the excised roots of *Arabidopsis* sos mutants. *Planta* 222(6): 1041-1050. Doi: 10.1007/s00425-005-0074-2
- Shi, LY, Li HQ, Pan XP, Wu GL, Li MR. 2008. Improvement of *Torenia fournieri* salinity tolerance by expression of *Arabidopsis* AtNHX5. *Functional Plant Biology* 35(3): 185-192. Doi: 10.1071/FP07269

- Singh K, Singh B, Singh RR. 2013. Effect of land rehabilitation on physicochemical and microbial properties of a sodic soil. *Catena* 109: 49-57. Doi: 10.1016/j.catena.2013.05.006
- Smith GS, Middleton KR, Edmonds AS. 1980. Sodium nutrition of pasture plants. I. Translocation of sodium and potassium in relation to transpiration rates. *New Phytologist* 84: 603-612.
- Song J, Feng G, Changyan T, Fusuo Z. 2005. Strategies for Adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a Saline Environment during Seed- Germination Stage. *Annals of Botany* 96(3): 399-405. Doi: 10.1093/aob/mci196
- Szabolcs I. 1989. Salt Affected Soils. Ed. CRC Press Inc., Boca Raton. pp. 136-142.
- Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, Miller G. 2012. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, Cell & Environment* 35(2): 259-270. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x
- Tester M, Davenport R. 2003. Na<sup>+</sup> Tolerance and Na<sup>+</sup> transport in Higher Plants. *Annals of Botany* 91. 503-527. Doi:10.1093/aob/mcg058.
- Uraguchi S, Kamiya T, Sakamoto T, Kasai K, Sato Y, Nagamura Y, Yoshida A, Kozuka J, Ishikawa S, Fujiwara T. 2011. Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(52): 20959-20964. Doi: 10.1073/pnas.1116531109
- Wakeel A, Steffens D, Schubert S. 2010. Potassium substitution by sodium in sugar beet (*Beta vulgaris*) nutrition on K-fixing soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173(1): 127-134. Doi: 10.1002/jpln.200900270
- Weng H, Yoo CY, Gosney MJ, Hasegawa PM, Mickelbart MV, 2012. Poplar GTL1 is a Ca<sup>2+</sup> /Calmodulin-binding transcription factor that functions in plant water use efficiency and drought tolerance. *PLoS ONE* 7, e32925. Doi: 10.1371/journal.pone.0032925
- Wichelns D, Qadir M. 2014. Achieving sustainable irrigation requires effective management of salts, soil salinity, and shallow groundwater. *Agricultural Water Management* 157: 31-38. Doi: 10.1016/j.agwat.2014.08.016
- Yamaguchi T, Hamamoto S, Uozumi N. 2013. Sodium transport system in plant cells. *Frontiers in Plant Science* 4: Doi: 10.3389/fpls.2013.00410
- Yao X, Horie T, Xue S, Leung HY, Katsuhara M, Brodsky DE, Wu Y, Schroeder JI. 2010. Differential sodium and potassium transport selectivities of the rice OsHKT2;1 and OsHKT2;2 transporters in plant cells. *Plant Physiology* 152: 341-355. Doi: 10.1104/pp.109.145722
- Zambell CB, Adams JM, Gorring ML, Schwartzman DW. 2012. Effect of lichen colonization on chemical weathering of hornblende granite as estimated by aqueous elemental flux. *Chemical Geology* 291(6): 166-174. Doi: 10.1016/j.chemgeo.2011.10.009
- Zhang HX, Blumwald E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnology* 19(8): 765-768. Doi: 10.1038/90824
- Zhao X, Wang YJ, Wang YL, Wang XL, Zhang X. 2011. Extracellular Ca<sup>2+</sup> alleviates NaCl-induced stomatal opening through a pathway involving H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-blocked Na<sup>+</sup> influx in *Vicia* guard cells. *Journal of Plant Physiology* 168(9): 903-910. Doi: 10.1016/j.jplph.2010.11.024

## **CAPÍTULO I. IMBIBICIÓN DE SEMILLAS DE *Suaeda mexicana* Y *Portulaca oleracea* EN SOLUCIONES SALINAS Y SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN**

### **RESUMEN**

El cambio climático es un fenómeno que amenaza con disminuir el abasto de alimentos a nivel mundial. Cada año se pierde suelo fértil y aumenta la superficie de las zonas semiáridas y áridas. En lo que respecta a México a partir de la última glaciación en el periodo cuaternario, ha experimentado procesos edafogénicos radicales e irreversibles que han aridificado y salinizado su superficie, por lo que la flora del sitio ha desarrollado estrategias de supervivencia y permanencia permitiéndole tolerar el estrés ambiental; en este sentido las halófitas son el grupo más exitoso en cuanto al estrés, hídrico, salino y nutrimental; de esta manera se ha contemplado el estudio de las especies *Suaeda mexicana* (romerito) y *Portulaca oleracea* (verdolaga) usándolas como modelos biológicos para entender los procesos de resistencia al estrés abiótico y proponer estrategias de manejo en zonas amenazadas por el cambio climático. En virtud de lo anterior, en el presente estudio se compararon las respuestas germinativas de romerito y verdolaga en diferentes soluciones salinas y concentraciones. Semillas de romerito y verdolaga fueron incubadas durante 3 h en 15 soluciones salinas, resultado de la combinación de tres fuentes (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub>) y cinco concentraciones (0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M) de salinidad. Cada solución tuvo tres repeticiones (caja Petri con 20 y 50 semillas respectivamente). Después del periodo de imbibición, se retiró el exceso de soluciones salinas, las cajas Petri se incubaron a 28 °C y se mantuvo la humedad en éstas adicionando 10 mL de agua destilada. Después de 6 días de incubación, se determinó la masa ganada por la imbibición, porcentaje de germinación y longitud radicular y de vástago de las plántulas. Con los resultados obtenidos se realizaron análisis de varianzas y pruebas de comparación de medias (Duncan,  $P \leq 0.05$ ). El tipo de fuente salina no influye de manera significativa la cantidad de agua absorbida por la semilla. La concentración salina es un factor que sí modifica la absorción de agua, en este caso la baja concentración evaluada (0.25 M) favorece la penetración de agua en la testa de las semillas de verdolaga. Con respecto a la germinación, ésta resultó más sensible a los

tratamientos con  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{NaCl}$ , y la respuesta germinativa es inversamente proporcional al aumento de la concentración, lo mismo ocurrió en longitud radical y de vástago.

**Palabras clave:** Salinidad,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ , halófitas, crecimiento

## 1.1. INTRODUCCIÓN

Las glicófitas y halófitas responden de manera similar a la salinidad durante la germinación (Song *et al.*, 2005). En algunas especies el estrés salino constituye un efecto inhibitorio de la germinación en comparación con otras etapas fenológicas, por lo que el desarrollo de estrategias que permitan tolerar la salinidad durante la germinación y en las etapas tempranas de crecimiento, es indispensable para la sobrevivencia de la planta (Rogers *et al.*, 1995). La planta al enfrentarse a fluctuaciones del potencial osmótico, concentración salina y tipos de iones, tiene un alto costo energético, lo que se traduce en la disminución de la germinación de sus semillas, prolongación de la dormancia y en la disminución del tamaño de las plántulas (Volkmar, Hu y Steppuhn, 1998).

Se han documentado ampliamente los efectos de la salinidad en algunos cultivos y plantas silvestres, concluyendo que el grado de afectación puede variar de una especie a otra, de acuerdo con el tipo de salinidad y de sus concentraciones. En cacahuate, por ejemplo, Mensah *et al.* (2006) observaron que el aumento de la concentración salina provocó la disminución de la emergencia de plántulas además de la elongación radical y la longitud de la planta, también disminuyó el peso seco. Efectos similares reportan Waheed *et al.* (2006) en la germinación de semillas de chícharo gandul (*Cajanus cajan* L.); asimismo en col, betabel, amaranto y pak-choi se observó reducción de la germinación, longitud radicular y del vástago (Jamil *et al.*, 2006). En plantas halófitas como *Crithmum maritimum*, altos contenidos de sales retardan la germinación de sus semillas; asimismo, la imbibición previa de éstas en ácido ascórbico mejora su capacidad germinativa durante la exposición salina (Meot y Magné, 2008). En un estudio realizado en poblaciones de *Suaeda salsa* L. se identificó que las semillas pertenecientes a un banco de germoplasma de una zona intermareal con concentraciones de 0.6 hasta 35.1 ppt de NaCl favoreció la germinación de las semillas, en cambio cuando las semillas fueron trasladadas a un ambiente salino constante como el de una caja Petri, las semillas colectadas de la misma zona fueron afectadas por todas las concentraciones salinas ocasionando disminución del porcentaje de germinación; lo anterior hace suponer que

aún las especies halófitas facultativas como *S. salsa* son afectadas por la salinidad cuando ésta es constante (Song *et al.*, 2008).

En su ambiente natural, algunas semillas aprovechan los periodos de baja salinidad y alta disponibilidad de agua baja en sales para embeberse y resistir los efectos de la salinidad, como es el caso de un estudio del efecto de la salinidad en la germinación de semillas de fenogreco (*Trigonella foenum-graecum* L.), donde Maher *et al.* (2013) observaron que las semillas que fueron embebidas en agua destilada previo a los tratamientos salinos y después de ser colocadas en éstos, tienden a aumentar su porcentaje de germinación final, velocidad de germinación y longitud radical, en comparación con aquellas semillas que no fueron embebidas. En cuanto a fuentes salinas, Kaymakanova (2009) observó que en tres variedades de frijol expuestas a NaCl y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, esta última provocó la disminución del porcentaje de germinación e inhibió fuertemente la emergencia de plántulas, en comparación con el NaCl. Los carbonatos son sales que también afectan la germinación de las semillas, en *Portulaca oleracea*, Patil y Karadge (2014), evaluaron el efecto del KHCO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub> y (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la germinación y longitud radical y de tallo, concluyendo que las concentraciones 50,100 y 200 mM de las tres sales provoca la disminución del porcentaje de germinación así como de la longitud de la raíz y el peso seco; mientras que, dosis bajas (25 mM) aumentan ligeramente la longitud del tallo y el peso fresco.

Aunque existe un gradiente de resistencia y adaptación a la salinidad (Grigore *et al.*, 2014), algunas plantas adoptan formas de semillas diferentes, reaccionan de forma distinta a la dormancia o pueden contener concentraciones diferentes de ácido abscísico (ABA); esta combinación de factores las hace mejor adaptadas a los cambios ambientales y potencializa su establecimiento (Wang *et al.*, 2012). Al respecto, en un estudio sobre estrategias adaptativas en *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* y *H. persicum* en fase de germinación, Song *et al.* (2005), encontraron que las tres especies producen semillas sin endospermo con un embrión muy desarrollado y cubierto de una testa suave que facilita su germinación y rápido establecimiento en ambientes salinos.

En México el romerito (*Suaeda mexicana*) es una planta que se encuentra distribuida generalmente en ambientes salinos, aunque también puede colonizar sitios no salinos (Läuchli y Epstein, 1990), tiene valor económico y nutracéutico ya que figura dentro de la dieta de los mexicanos (Noguez *et al.*, 2013).

Por otro lado, la verdolaga (*Portulaca oleracea*) es una planta halófila con metabolismo del tipo C<sub>4</sub> NAD-ME (enzima málica NAD dependiente) con potencial económico y de amplio consumo a nivel mundial (Teixeira y Carvalho, 2008; Erkan, 2012; Murly *et al.*, 2015); sin embargo, en estudios realizados sobre el efecto del NaCl en su germinación y desarrollo temprano se ha observado que la germinación de sus semillas no se ve alterada a bajas concentraciones (< 150 mM de NaCl), pero en concentraciones mayores se manifiesta un cambio en la concentración de varios compuestos orgánicos como clorofila y proteínas (Rahdari *et al.*, 2012), flavonoides (Alam *et al.*, 2015), urea y pinitol (D' Andrea *et al.*, 2014), los cuales le otorgan a la planta una mayor capacidad de respuesta frente al estrés.

En el contexto anterior, el objetivo de esta investigación fue comparar la respuesta germinativa de semillas y el crecimiento inicial de dos plantas halófitas de importancia en México, romerito y verdolaga, a diferentes sales y concentraciones.

## 1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 1.2.1 Semillas

Se utilizaron semillas de romerito (*Suaeda mexicana*) y verdolaga (*Portulaca oleracea*) de colectas provenientes de la zona agrícola de Tláhuac, Ciudad de México. Esta zona es semiárida con suelos de tipo Antrosol Salico Terrico (WRB, 2008). El análisis de pH del extracto de saturación del suelo (valores entre 7.69 y 8.44) denota su carácter alcalino debido a la presencia de iones  $\text{CO}_3^{2-}$  además del valor de la conductividad eléctrica de  $34.19 \text{ dS m}^{-1}$  (Guevara *et al.*, 2015). El clima es templado húmedo C(w<sub>2</sub>)(w)b(y'), considerado como el más seco de los templados subhúmedos con lluvias en verano.

Las heladas comienzan normalmente en octubre y terminan en marzo. Las lluvias tienen lugar principalmente durante el verano y otoño; sin embargo, debido al relieve de la zona, se encuentran también dos subtipos de clima Cwb (de llanura y región baja de los declives), y Cwc (templado con invierno frío) que corresponde a las zonas más altas de los declives situados al Sur de la Delegación (INEGI, 2006).

### 1.2.2 Diseño experimental

Se realizaron dos experimentos independientes para las especies en estudio: romerito (*S. mexicana*) y verdolaga (*P. oleracea*). En cada ensayo se evaluaron los efectos principales de dos factores de estudio: fuente de salinidad (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub>) y concentración salina (0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 M), así como la interacción de éstos, en un experimento factorial 3 x 5 con una distribución completamente al azar. Lo anterior dio como resultado 15 tratamientos en cada experimento. La unidad experimental para el experimento con romerito fue una caja Petri con 20 semillas; mientras que, para verdolaga fue una caja Petri con 50 semillas. Cada tratamiento tuvo tres réplicas.

Las fuentes de salinidad empleadas fueron de la marca Meyer® y las soluciones fueron preparadas usando agua destilada.

### 1.2.3 Aplicación de tratamientos

Previo a la aplicación de tratamientos se pesaron grupos de 20 semillas de ambas especies para obtener el peso individual de éstas. Posteriormente las semillas de cada unidad experimental se incubaron durante 3 h en 3 mL de la solución correspondiente según el tratamiento, agitando durante 1 min cada hora.

Transcurrido el tiempo de incubación, las semillas fueron extraídas de los frascos, se secaron y se pesaron nuevamente para después transferirse a cajas Petri con papel filtro de poro medio donde se colocaron y se adicionaron 10 mL de agua destilada. Las cajas Petri se colocaron dentro de una estufa de incubación (Thermo Scientific, PR205075G, Estados Unidos de América), a 28 °C.

### 1.2.4 Variables evaluadas

**Absorción de agua.** Se determinó con el peso de las semillas de cada unidad experimental antes y después de la imbibición de acuerdo con [Kaymakanova \(2009\)](#), usando la fórmula:

$$\% = [(W_2 - W_1) / W_1] \times 100$$

Donde,  $W_1$  es el peso de las semillas de cada unidad experimental antes de la imbibición y  $W_2$  el peso de las semillas después de la imbibición.

**Porcentaje de germinación.** El periodo de germinación fue de 144 h (6 días) tiempo durante el cual se mantuvieron las semillas a temperatura e hidratación constante, y se consideraron semillas germinadas cuando la radícula alcanzó una longitud de 2 mm ([Jamil et al., 2006](#)). La evaluación se realizó cada 24 h.

**Longitud de radícula y de vástago.** En *S. mexicana* las mediciones de longitud se hicieron diez días después del inicio de la germinación y en *P. oleracea* después de ocho días del inicio de la germinación. La diferencia de días se debió a que las semillas de *S. mexicana* tardaron más en germinar.

### 1.2.5 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Duncan,  $\alpha=0.05$ ), usando el software SAS® ([SAS, 2002](#)).

## 1.3 RESULTADOS

### 1.3.1 Absorción de agua

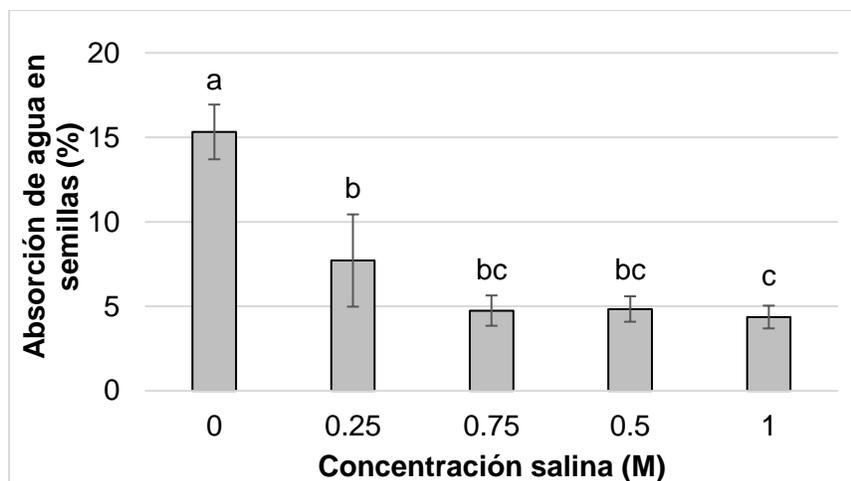
En el **Cuadro 1.1** se presentan los resultados de significancia de los factores de estudio y su interacción en la absorción de agua de las semillas de *S. mexicana* y *P. oleracea* después de un periodo de imbibición de 3 h.

**Cuadro 1.1.** Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en absorción de agua en semillas de *S. mexicana* y *P. oleracea*, después de un periodo de 3 h de imbibición.

<b>Especie</b>	<b>Fuente salina (FS)</b>	<b>Concentración salina (CS)</b>	<b>FS x CS</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<i>S. mexicana</i>	0.1463 ns	0.3749 ns	0.7710 ns	77.60
<i>P. oleracea</i>	0.2828 ns	<0.0001 *	0.7583 ns	43.02

\*Significativo (Duncan,  $P \leq 0.05$ ); ns: no significativo.

Solo la concentración salina influyó de manera significativa la absorción de agua durante la imbibición en semillas de verdolaga (**Cuadro 1.1**); observándose reducción significativa en ésta en todas las concentraciones salinas evaluadas respecto al testigo. Destaca que con la concentración 1 M la absorción porcentual de agua fue de poco menos del 5% (**Figura 1.1**).



**Figura 1.1.** Absorción de agua en semillas de verdolaga (*S. mexicana*) después de 3 h de periodo de imbibición en diferentes concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

En verdolaga, las fuentes salinas no ocasionaron efecto en el agua absorbido por las semillas durante la imbibición, registrando valores de 8.2, 7.7 y 6.4% para  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  y  $\text{CaCl}_2$ , respectivamente.

En el caso de la absorción de agua en semillas de romerito, los resultados obtenidos presentan un alto coeficiente de variación (77.6%), lo cual explica qué a pesar de las diferencias existentes entre fuentes y concentraciones evaluadas no exista diferencia estadística. El porcentaje de absorción de agua en estas semillas fue de 26.5 con  $\text{NaCl}$ , de 18.5 con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y de 15.3 con  $\text{CaCl}_2$ . Asimismo, los porcentajes de absorción de agua registrados con las concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1 M fueron de 10.9, 22.7, 20.8, 25.4 y 20.7, respectivamente; estos datos evidencian la relación positiva entre la concentración salina y la absorción de agua en romerito.

### 1.3.2 Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación fue evaluado durante 144 h en intervalos de 24 h. En romerito no se observaron efectos significativos de la interacción de los factores de

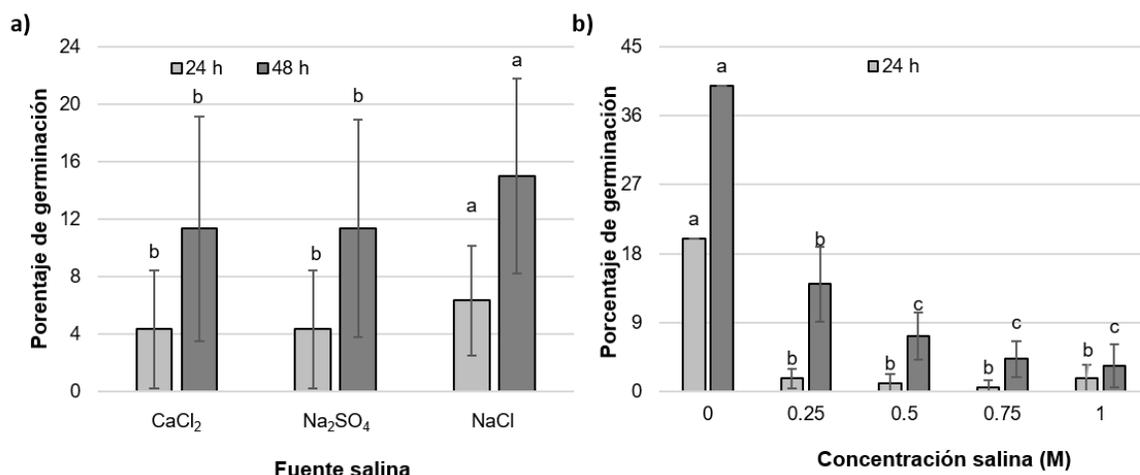
estudio en las dos primeras evaluaciones donde, solo los efectos principales fueron significativos. A partir del muestreo realizado 72 h después del inicio de la fase de germinación, tanto las interacciones como los efectos principales son significativos. Por el contrario, en verdolaga en todos los muestreos, tanto los efectos principales como de interacción fueron significativos en el porcentaje de germinación (**Cuadro 1.2**).

**Cuadro 1.2.** Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en el porcentaje de germinación de semillas de *S. mexicana* y *P. oleracea*.

Especie	Tiempo de germinación (h)	Fuente salina (FS)	Concentración salina (CS)	FS x CS
<i>S. mexicana</i>				
	24	0.0195 *	<0.0001 *	0.4144 ns
	48	<0.0001 *	<0.0001 *	0.0649 ns
	72	<0.0001 *	<0.0001 *	0.0134 *
	96	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	120	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	144	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
<i>P. oleracea</i>				
	24	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	48	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	72	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	96	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	120	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
	144	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *

\*Significativo (Duncan,  $P \leq 0.05$ ); ns: no significativo.

Los efectos principales fueron significativos que fueron significativos en romerito (24 y 48 h) son mostrados en la **Figura 1.2**. La fuente salina NaCl ocasionó significativamente mayor germinación que el resto de las fuentes empleada (**Figura 1.2a**); mientras que, dosis salinas crecientes reducen significativamente la germinación, respecto al testigo (**Figura 1.2b**).

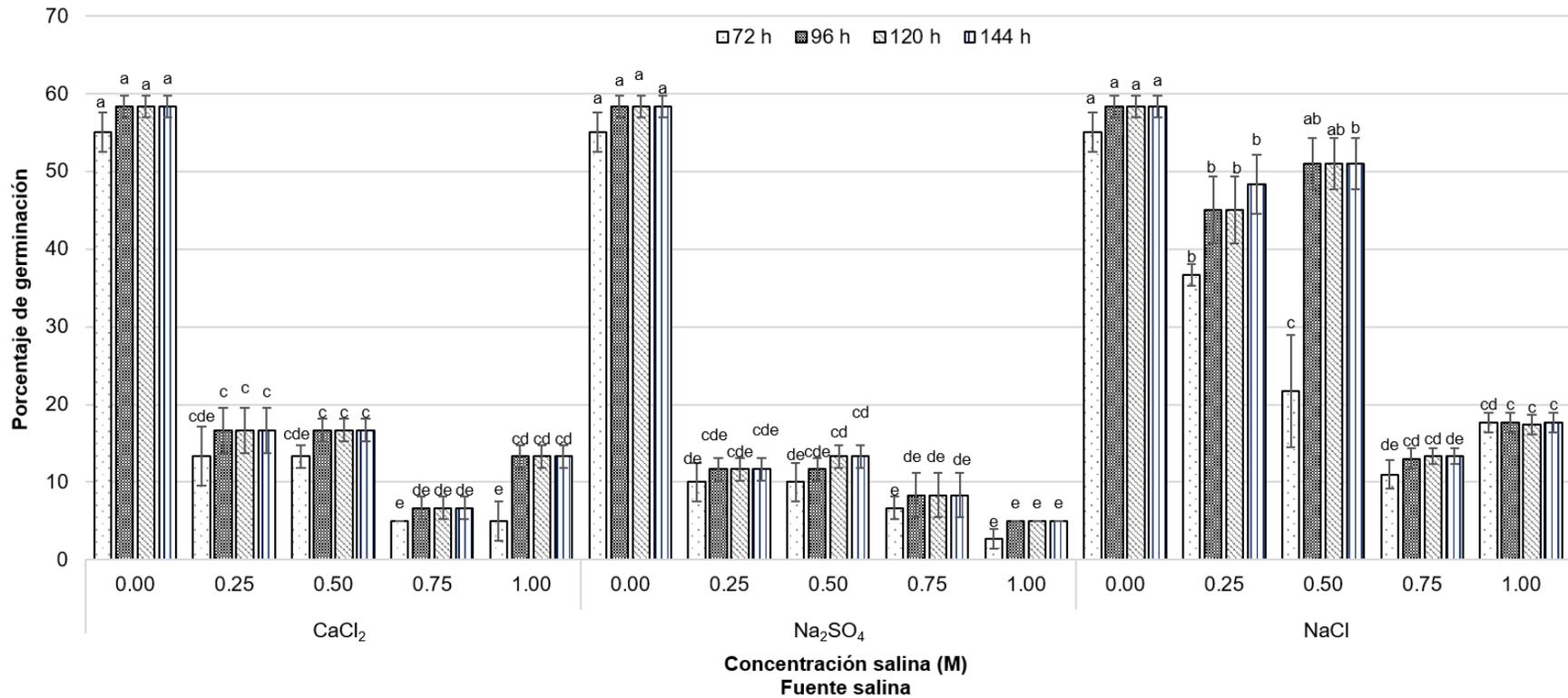


**Figura 1.2.** Porcentaje de germinación de semillas de romerito incubadas por 3 h con diferentes fuentes salinas (a) y distintas concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura y muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

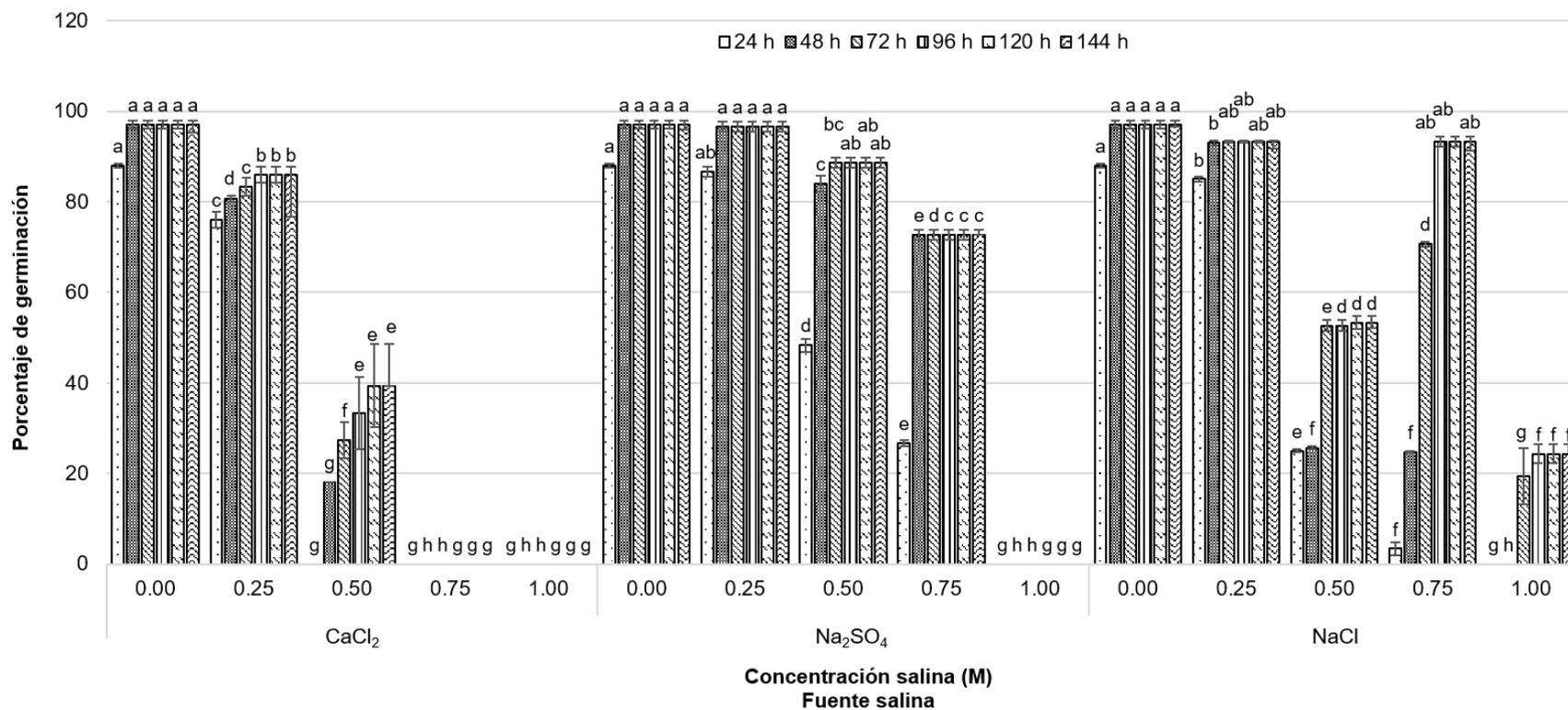
Las interacciones de los factores de estudio en la mayoría de los muestreos en romerito y en todos los realizados en verdolaga son significativas a pesar de tratarse de especies halófitas; sin embargo, se registraron tendencias distintas entre las especies (**Figuras 1.3 y 1.4**).

Un mayor número de los tratamientos evaluados afectó negativamente a romerito en comparación a verdolaga (**Figuras 1.3 y 1.4**). En romerito, las tres fuentes salinas redujeron significativamente la germinación a partir de dosis de 0.25 M, siendo las fuentes CaCl<sub>2</sub> y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> las de mayor impacto negativo (**Figura 1.3**).

En verdolaga, de manera general, dosis 0.25 M CaCl<sub>2</sub> reducen significativamente la germinación; mientras que, en las fuentes Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y NaCl esto se observa con dosis a partir de 0.5 M (**Figura 1.4**).



**Figura 1.3.** Porcentaje de germinación de semillas de romerito incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).



**Figura 1.4.** Porcentaje de germinación de semillas de verdolaga incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas (b). Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada muestreo, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

### 1.3.3 Longitud de vástago y de radícula

En el **Cuadro 1.3** se presentan los valores de significancia de los factores de estudio y su interacción las longitudes de vástago y radícula en plántulas de romerito y verdolaga. Destaca que, en ambas especies, la concentración salina tuvo efectos significativos; mientras que los efectos simples de la fuente salina solo fueron significativos en verdolaga. Asimismo, el efecto de interacción de factores de estudio es significativa en ambas especies.

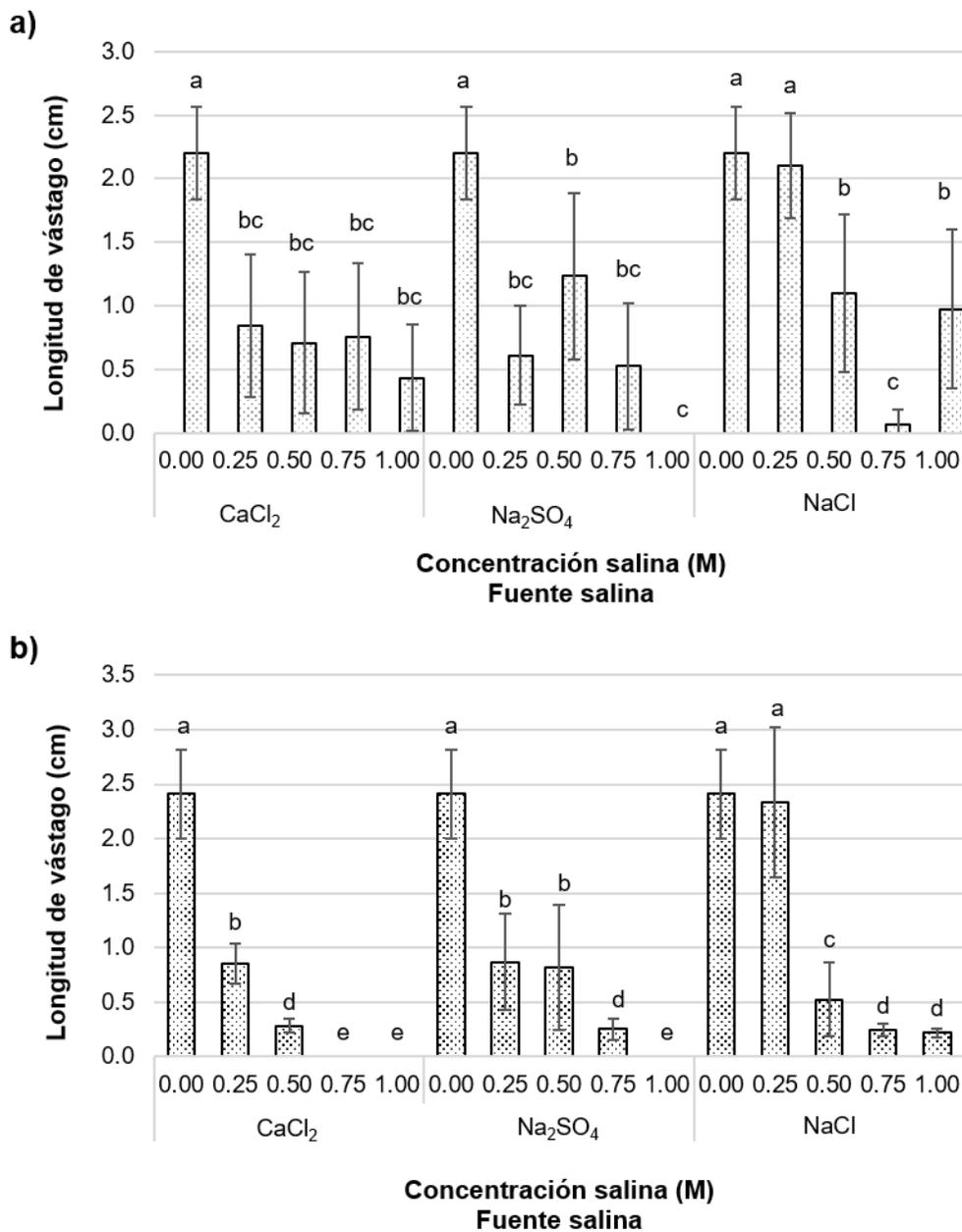
**Cuadro 1.3.** Efectos principales de la fuente y concentración salina y de su interacción en las longitudes de vástago y radículas en plántulas de *S. mexicana* y *P. oleracea*, provenientes de semillas incubadas en diferentes fuentes y concentraciones salinas.

Especie	Fuente salina (FS)	Concentración salina (CS)	FS x CS
<i>S. mexicana</i>			
Longitud de vástago	0.0728 ns	<0.0001 *	0.0037 *
Longitud de radícula	0.0770 ns	<0.0001 *	0.0010 *
<i>P. oleracea</i>			
Longitud de vástago	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *
Longitud de radícula	<0.0001 *	<0.0001 *	<0.0001 *

\*Significativo (Duncan,  $P \leq 0.05$ ); ns: no significativo.

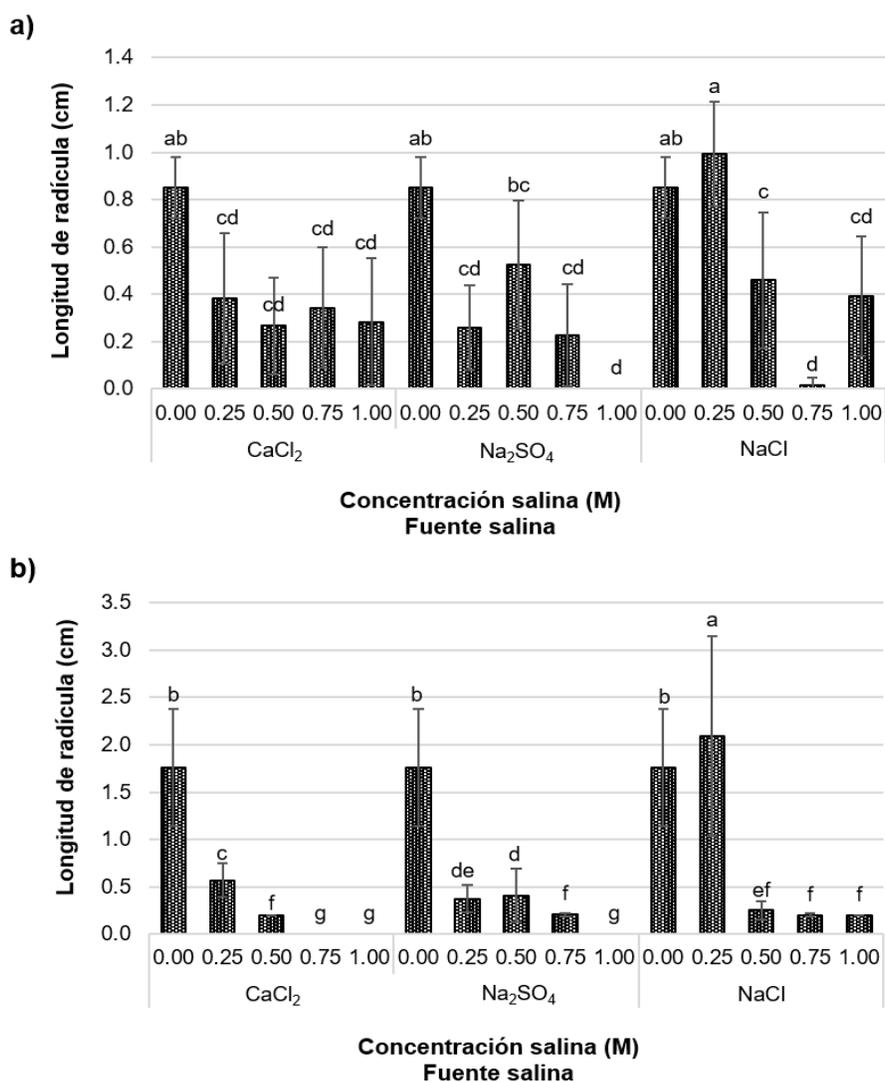
La longitud de vástago fue afectada en diferente magnitud entre especies por los tratamientos evaluados; siendo la verdolaga la más sensible como se observa en la **Figura 1.5**.

En romerito, el crecimiento del vástago fue estadísticamente menor al testigo, con las fuentes salinas  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a partir de una concentración 0.25 M; mientras que en la fuente  $\text{NaCl}$  esto ocurre a partir de la concentración 0.5 M (**Figura 1.5a**). En verdolaga, se registró la misma tendencia que en romerito en la longitud de vástago (**Figura 1.5b**).



**Figura 1.5.** Longitud de vástago de plantas de romerito (a) y verdolaga (b) provenientes de semillas incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

En la **Figura 1.6** se presentan los resultados obtenidos en la longitud de radícula en función de la interacción de los factores de estudio en ambas especies.



**Figura 1.6.** Longitud de radícula de plantas de romerito (a) y verdolaga (b) provenientes de semillas incubadas por 3 h con diferentes fuentes y concentraciones salinas. Medias  $\pm$  DE con letra distinta en cada figura, indican diferencias estadísticas significativas (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Se observó de manera general que el NaCl causa menor inhibición del crecimiento de radícula; en particular, en verdolaga se observa que el tratamiento 0.25 M NaCl lo estimula; en comparación con el resto de los tratamientos (**Figura 1.6b**). De la misma manera, el CaCl<sub>2</sub> reduce en mayor magnitud el crecimiento de la radícula a partir de 0.25 M, en comparación con el testigo, lo anterior en ambas especies (**Figuras 1.6a y 1.6b**).

## 1.4 DISCUSIÓN

Especies halófitas poseen diferentes estrategias de adaptación a la salinidad. La respuesta germinativa puede ser tan diversa como los micro hábitats en que se desarrollan, en este sentido, el aumento de la concentración iónica en el suelo está estrechamente ligada con el incremento de la temperatura y la disminución del porcentaje de humedad ([Gul et al., 2013](#)), por lo que la mayoría de las especies germinan cuando se da el abatimiento de tales concentraciones, ya sea por descenso de la temperatura o por la llegada de las lluvias diluyendo de la concentración salina.

Se ha observado que el tipo de sal influye en el volumen de agua permeada a través de la testa causando un efecto osmótico negativo (**Cuadro 1.1**). En romerito (*S. mexicana*) el orden de afectación osmótico de acuerdo con el tipo de fuente estuvo dado de la siguiente forma:  $\text{CaCl}_2 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{NaCl}$  y en verdolaga (*P. oleracea*) el efecto de la sal en la imbibición fue del orden  $\text{CaCl}_2 > \text{NaCl} > \text{Na}_2\text{SO}_4$ . Efectos similares han sido reportados por [Kaymakanova \(2009\)](#) en plantas de frijol. Así mismo, en el presente estudio, se observó que bajas concentraciones puede favorecer un efecto osmótico adverso. El tiempo de exposición también altera el porcentaje de agua absorbida, ([Yousolf, 2013](#)) encontró que en semillas de arroz el porcentaje de agua absorbida en soluciones de  $\text{CaCl}_2$  disminuye con el aumento de la concentración y del tiempo de imbibición.

Tanto *S. mexicana* como *P. oleracea* son especies que crecen en condiciones ambientales con alto estrés abiótico ([Noguez et al., 2013](#); [D'Andrea et al., 2014](#)), al estar expuestas a condiciones de salinidad y estrés hídrico, posiblemente una de sus estrategias adaptativas sea la producción de semillas dotadas de testas permeables lo cual le facilite la imbibición en condiciones de lluvia lo que se conjuga con la disminución de la concentración salina en el suelo. [Song et al. \(2005\)](#) y [Song et al. \(2008\)](#) encontraron que la morfología de las semillas de *Suaeda salsa* y *S. mexicana* es similar por lo que es posible que ambas especies desarrollen las mismas estrategias adaptativas a la salinidad

como respuesta a periodos breves de lluvia. Por su parte *P. oleracea*, al ser una especie C<sub>4</sub> que puede fluctuar su metabolismo al tipo CAM NAD –ME (Lara *et al.*, 2004), tiene la capacidad de tolerar mejor el estrés hídrico y la salinidad, por lo que la permeabilidad de su testa en condiciones de salinidad constituye estadísticamente un factor representativo de su adaptación al ambiente.

Las especies estudiadas respondieron de manera diferencial a las fuentes salinas evaluadas. *S. mexicana* mostró ser menos sensible a NaCl pero muy sensible a Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub> (**Figura 1.2**); por el contrario *P. oleracea* presentó mayor sensibilidad a las sales sódicas (NaCl y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y poca sensibilidad a CaCl<sub>2</sub> (**Figura 1.4**), aunque la interacción de la concentración y fuente (**Figura 1.3**) puede derivar en comportamientos germinativos diferentes (Naik y Karadge, 2017), lo cual concuerda con observaciones descritas por Sánchez y Ruiz (2012). Del mismo modo el porcentaje de germinación en semillas de *P. oleracea* presentó una relación inversamente proporcional al aumento de la concentración, como lo muestran los trabajos realizados por Chahuan y Johnson (2009) donde solo el 50% de las semillas de *P. oleracea* germinó a una concentración de 106 mM de NaCl; tuvo una reducción significativa de la germinación a una concentración de 200 mM (Rahdari *et al.*, 2012) y se dió una reducción significativa del porcentaje de germinación de hasta del 60% a una concentración de 0.25 dS m<sup>-1</sup> de NaCl (Amini y Abdi, 2014).

La fuente salina CaCl<sub>2</sub> produjo una respuesta nociva en la germinación de las semillas en concentraciones mayores de 0.50 M; efectos similares fueron observados por Tobe *et al.* (2004) en la germinación de *Haloxylon ammodendron* donde tanto el CaCl<sub>2</sub> como el MgCl<sub>2</sub> causan efectos equivalentes, mismos que son atribuidos a la disminución de la permeabilidad de los canales de varios iones lo que mantiene un bajo potencial hídrico en el interior de la semilla.

Uno de los efectos del estrés salino en plántulas, es la reducción de la longitud del vástago (**Figura 1.5**) la longitud radical (**Figura 1.6**). En este experimento se observó que *S. mexicana* es más sensible a las fuentes y concentraciones salinas evaluadas dada la inhibición del crecimiento de la radícula y del vástago, misma que es de mayor magnitud

a aquella registrada en *P. oleracea* (**Cuadro 1.3**). Dado que la salinidad afecta el crecimiento de las plántulas y retarda la movilización de sustancias de reserva, tiende a suspenderse la división celular dañando a los hipocotilos (Kaymakanova, 2009). Estudios realizados por Qu *et al.* (2014) sobre el efecto de diferentes concentraciones de NaCl en la elongación radicular en plántulas de *Halocnemum strobilaceum* mostraron que, altas concentraciones provocan el acortamiento de la radícula en las plántulas lo cual ocurrió de manera análoga *S. mexicana* y *P. oleracea*.

## 1.5 CONCLUSIONES

La tasa porcentual de imbibición, el porcentaje de germinación y la longitud radical y de vástago, son variables germinativas que responden al tipo de sal, concentración y a la interacción del tipo y concentración salina. Tanto *S. mexicana* como *P. oleracea*, tienen respuestas diferenciales al tipo y gradiente de salinidad. *S. mexicana* es tolerante a las sales sódicas ( $\text{NaCl}$  y  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pero es sensible al  $\text{CaCl}_2$ ; esto se observa también en *P. oleracea*, aunque los rangos de tolerancia varían de una concentración a otra y del tipo de sal con la cual interactúe. Si bien, ambas son especies que evolutivamente se han desarrollado en ambientes semiáridos, sus características anatómicas y morfológicas les han permitido desarrollar mecanismos de adaptación muy eficientes.

El presente estudio aporta información importante que puede ser considerada en la toma de decisiones como alternativa al manejo de áreas agrícolas afectadas por el cambio climático.

## 1.6. LITERATURA CITADA

- Alam MA, Shukor JA, Rafii YM, Hamid AA. 2015. Effect of salinity on biomass yield and physiological and stem-root anatomical characteristics of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions. *BioMed Research International* 2015: 1-15. Doi: 10.1155/2015/105695
- Amini R, Abdi H. 2014. Germination and early seedling growth of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) affected by salinity and osmotic stress. *International Journal of Biosciences* 5(12): 342-349.
- Chauhan BS, Johnson DE. 2009. Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: An important weed of rice and upland crops. *Annals of Applied Biology* 155(1): 61-69. Doi: 10.1111/j.1744-7348.2009.00320.x
- D' Andrea MR, Andreo CS, Lara MV. 2014. Deciphering the mechanisms involved in *Portulaca oleracea* (C<sub>4</sub>) response to drought: metabolic changes including crassulacean acid-like metabolism induction and reversal upon re-watering. *Physiologia Plantarum* 152(3): 414-430. Doi: 10.1111/ppl.12194
- Erkan N. 2012. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. *Food Chemistry* 133(3): 775-781. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.091
- Grigore NM, Ivanescu L, Toma C. 2014. Halophytes: An Integrative Anatomical Study. Springer. Suiza. pp. 32-37.
- Guevara OBK, Ortega EHM, Ríos GR, Solano E, Vanegas RJM. 2015. Morphology and geochemistry of Xochimilco soils. *Terra Latinoamericana* 33(4): 263-273.
- Gul B, Ansari R, Flowers TJ, Khan MA. 2013. Germination strategies of halophyte seed under salinity. *Environmental and Experimental Botany* 92: 4-18. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.11.006
- INEGI. 2006. Anuario Estadístico del Distrito Federal, Marco Geoestadístico, 1999. (b) INEGI-DGG. Superficie de la República Mexicana por Estados. pp. 32-43.
- Jamil M, Lee DB, Jung KY, Ashraf M, Lee SC, Rha ES. 2006. Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. *Journal of Central European Agriculture* 7(2): 273-282.
- Kaymakanova M. 2009. Effect of salinity on germination and seed physiology in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23: 326-329. Doi: 10.1080/13102818.2009.10818430
- Lara MV, Drinvovich MF, Andreo CS. 2004. Induction of a Crassulacean Acid-like Metabolism in the C<sub>4</sub> Succulent Plant, *Portulaca oleracea* L.: Study of Enzymes Involved in Carbon Fixation and Carbohydrate Metabolism. *Plant Cell Physiology* 45(5): 616-626.
- Läuchli A, Epstein E. 1990. Plant responses to saline and sodic conditions. *In* Tanji KK. (Ed.) *Agricultural salinity assessment and management*. USA. American Society of Civil Engineers. pp. 113-129.
- Maher S, Fraj H, Cherif H. 2013. Effect of NaCl Priming on Seed Germination of Tunisian Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Under Salinity Conditions. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 9(2): 86-96.
- Mensah JK, Akomeah PA, Ikhajiagbe B, Ekpekurede EO. 2006. Effects of salinity on germination, growth and yield of five groundnut genotypes. *African Journal of Biotechnology* 5(20): 1973-1979.

- Meot DL, Magné C. 2008. Effect of salinity and chemical factors on seed germination in the halophyte *Crithmum maritimum* L. *Plant and Soil* 313: 83-87. Doi: 10.1007/s11104-008-9681-6
- Mulry KR, Hanson BA, Dudle DA. 2015. Alternative strategies in response to saline stress in two varieties of *Portulaca oleracea* (Purslane). *PLOS ONE* 10(9):e0138723. Doi: 10.1371/journal.pone.0138723
- Naik VV, Karadge BA. 2017. Effect of NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> salinities and light conditions on seed germination of purslane (*Portulaca oleracea* Linn.). *Journal of Plant Stress Physiology* 3: 1-4. Doi: 10.19071/jpsp.2017.v3.3142
- Noguez-Hernández R, Carballo- Carballo A, Flores-Olvera H. 2013. *Suaeda edulis* (Chenopodiaceae), una nueva especie de lagos salinos del Centro de México. *Botanical Sciences* 91(1):19-25.
- Patil NS, Karadge BA. 2014. Effect of carbonates on seed germination and seedling growth in *Portulaca oleracea* L. *Journal of Advanced Scientific Research* 5(1): 5-7.
- Rahdari P, Tavakoli S, Hosseini SM. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8(1): 182-193.
- Redondo S, Rubio CAE, Castillo JM, Luque CJ, Álvarez AA, Luque T, Figueroa ME. 2004. Influences of salinity and light on germination of three *Sarcocornia* taxa with contrasted habitats. *Aquatic Botany* 78(3): 255-264. Doi: 10.1016/j.aquabot.2003.11.002
- Rogers ME, Halloran GM, Nicolas ME. 1995. The effect of NaCl on the germination and early seedling growth of white clover (*Trifolium repens* L.) populations selected for high and low salinity tolerance. *Seed Science Technology* 23: 277-287.
- Sánchez- Tizapantzi G, Ruíz-Font A. 2012. Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae). *Tecnología en Marcha* 25(3): 58-69. Doi: 10.18845/tm.v25i3.458
- SAS Institute Inc. 2002. SAS<sup>®</sup> system for Microsoft<sup>®</sup> Windows<sup>®</sup> v. 9.00. NC. USA.
- Song J, Feng G, Tian C, Zhang F. 2005. Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed-germination stage. *Annals of Botany* 96(3): 399-405. Doi: 10.1093/aob/mci196
- Song J, Fan H, Zhao Y, Jia Y, Du X, Wang B. 2008. Effect of salinity on germination, seedling emergence, seedling growth and ion accumulation of a euhalophyte *Suaeda salsa* in an intertidal zone and on saline inland. *Aquatic Botany* 88(4): 331–337. Doi: 10.1016/j.aquabot.2007.11.004
- Teixeira M, Carvalho IS. 2008. Effects of salt stress on purslane (*Portulaca oleracea*) Nutrition. *Annals of Applied Biology* 154: 77–86. Doi: 10.1111/J.1744-7348.2008.00272.X
- Tobe K, Li X, Omasa K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). *Seed Science Research* 14(4): 345–353. Doi: 10.1079/SSR2004188
- Villaseñor JL. 2016. Catálogo de las plantas vasculares de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87(3): 559-902. Doi: 10.1016/j.rmb.2016.06.017

- Volkmar KM, Hu Y, Steppuhn H. 1998. Physiological responses of plants to salinity: A review. *Canadian Journal of Plant Science* 78: 19-27.
- Waheed A, Ahmad HI, Qadir G, Murtaza G, Mahmood T, Ashraf M. 2006. Effect of salinity on germination, growth, yield, ionic balance and solute composition of Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). *Pakistan Journal of Botany* 38(3): 1103-1117.
- Wang H-L, Wang L, Tian C-Y, Huang Z-Y. 2012. Germination dimorphism in *Suaeda acuminata*: A new combination of dormancy types for heteromorphic seeds. *South African Journal of Botany* 78: 270-275. Doi: 10.1016/j.sajb.2011.05.012
- WRB. 2008. Base referencial mundial del recurso suelo. Un marco conceptual para la clasificación, correlación y comunicación internacional. FAO.103.1-128 pp.
- Yousof FI. 2013. Effect of rice seed priming with calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) on germination and seedlings vigor under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition* 4(4): 523-535.

## **CAPÍTULO II. VARIACIONES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN *Portulaca oleracea* EN ETAPA VEGETATIVA EN RESPUESTA AL ESTRÉS por NaCl**

### **RESUMEN**

Actualmente, la salinidad representa uno de los mayores retos ambientales a la cual se enfrentan las plantas en su establecimiento y productividad. La respuesta de éstas al estrés salino es de gran interés científico, tanto para dilucidar los mecanismos que respuesta que las hacen tolerantes como para mejorar las técnicas productivas para los cultivos. En este estudio se analizó la respuesta de *P. oleracea* a la salinidad a partir de la evaluación del efecto al estrés salino inducido por las concentraciones 0.00, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M de NaCl. Los resultados mostraron que el aumento de la concentración estimula el aumento significativo de prolina en las hojas de la planta para contrarrestar la salinidad, por su parte variables morfológicas como cobertura, área foliar y biomasa seca disminuyeron en sus valores con respecto al testigo al evaluarse cada concentración salina. De manera nutricional se observó que concentraciones de 0.50 M y superiores de NaCl disminuyó la concentración de N y K en hojas hasta en un 51%, la menor concentración de P se observó en concentraciones de 0.75 y 1.00 de NaCl; concentraciones de NaCl de 0.75 M, disminuyen la concentración de Ca en todos los tejidos al igual que Mg el cual mostró una reducción en tejido de hasta el 51%. En cuanto a las variables fisiológicas, aunque los valores mostraron una reducción de la transpiración y de la conductancia estomática, esta no fue significativa en ninguno de los tratamientos, aun cuando los valores de radiación fotosintéticamente activa se elevaron. Los datos anteriores hacen inferir que la planta puede compensar la respuesta negativa de algunas variables con la modificación positiva de otras, a fin de equilibrarlas y lograr la adecuación en el ambiente.

**Palabras clave:** Salinidad, tolerancia, estrés, respuesta, efecto.

## 2.1. INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los principales factores de estrés abiótico que afecta a la mayoría de las plantas ya que altera su crecimiento y desarrollo (Liang *et al.*, 2018). Bajo condiciones experimentales la salinidad reduce de manera significativa la germinación, fructificación, floración, elongación radical y crecimiento de vástago (Liang *et al.*, 2014). El primer efecto de estrés que experimenta una planta expuesta a salinidad es el desajuste osmótico (Horie *et al.*, 2011); el exceso de sodio en las células provoca toxicidad iónica desequilibrando la concentración de osmolitos, lo que ocasiona estrés oxidativo y una serie de alteraciones secundarias que afectan la eficiencia fisiológica, los procesos fotosintéticos y la reducción del crecimiento (Munns *et al.*, 2006).

En respuesta al estímulo salino, muchas plantas tienen la habilidad de revertir sus efectos nocivos a fin de garantizar su supervivencia, aun cuando limiten su crecimiento y desarrollo. Esta capacidad de revertir tales efectos negativos puede tener su origen en cambios en la organización genética y molecular en el interior de una población, lo que lleva a una adaptación local (Brady *et al.*, 2005; Busoms *et al.*, 2015). Adicionalmente, la respuesta adaptativa puede reforzarse de acuerdo con las condiciones ambientales y transferirse de manera generacional como un efecto ambiental parental o de plasticidad fenotípica (Germain y Gilbert, 2014). La plasticidad fenotípica es un mecanismo que es expresado de manera individual-modular a nivel morfológico, y que responde a los cambios y diferencias en las condiciones ambientales (De Kroon *et al.*, 2005).

El cambio climático ha provocado el incremento de la temperatura, escasos recursos hídricos para la agricultura y la salinización de las áreas de cultivo que se producen bajo riego, con ello el aumento de factores de estrés abiótico los cuales limitan el rendimiento de la mayoría de los cultivos. En la búsqueda de genotipos vegetales que resistan los embates del cambio climático, varios científicos han orientado sus investigaciones hacia el género *Portulaca* dada su habilidad para tolerar condiciones de estrés por calor, deshidratación y salinidad (Jin *et al.*, 2016). Por lo anterior, el género *Portulaca* puede considerarse como un buen modelo biológico para realizar estudios comparativos que

lleven a analizar los efectos del estrés abiótico y las respuestas a éste (Borsari *et al.*, 2018).

Cerca de 100 especies constituyen el género *Portulaca*, éstas se encuentran distribuidas predominantemente en regiones tropicales y subtropicales y sus diferentes accesiones presentan alta variabilidad morfológica (Ocampo y Columbus, 2016). En México se le considera comestible y medicinal dado que contiene un alto contenido de ácidos grasos y antioxidantes (Vibrans, 2009). Sus orígenes y usos en el centro de México datan del periodo preclásico (McClung de Tapia *et al.*, 2014) y en el Valle de México en las zonas de Teotihuacán, Iztapalapa y Xaltocan del periodo postclásico temprano (Brumfiel, 2009; McClung de Tapia *et al.*, 2014; Vázquez-Alonso *et al.*, 2014).

En específico, se han desarrollado numerosos trabajos con *P. oleracea* que van desde el análisis de compuestos con propiedades antioxidantes (Lim y Quah, 2007; Yang *et al.*, 2009), compartimentación de ácidos grasos del tipo omega-3 por órgano como fuente nutrimental (Zaman *et al.*, 2019), a estudios más especializados sobre el efecto del estrés abiótico en sus diferentes características y propiedades. Ejemplo de esto último son los hallazgos reportados en fase de plántula donde esta especie contrarresta los efectos del estrés salino incrementando la actividad de enzimas antioxidantes como ascorbato peroxidasa, catalasa y glutatión reductasa en las hojas y elevando de los niveles de prolina (Yazici *et al.*, 2007); del mismo modo, se incrementa la producción de compuestos bioactivos como compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides (Alam *et al.*, 2015); también se reduce significativamente su composición mineral, además de presentarse antagonismo iónico entre  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^{+}$  a la vez que aumentan los niveles de  $\text{Na}^{+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  (Teixeira y Carvalho, 2009; Alam *et al.*, 2016). Con respecto a la morfología, la elongación radical y la longitud del vástago, se reduce significativamente cuando la conductividad eléctrica de una solución nutritiva aumenta de 2.5 a 12.5 dS  $\text{m}^{-1}$  (Franco *et al.*, 2011). Rahdari *et al.* (2012) expusieron plántulas de verdolaga a concentraciones de 50, 100, 150 y 200 mM NaCl, encontrando que el aumento en el gradiente salino ocasiona el incremento significativo de clorofilas a y b en 150 y 200 mM NaCl, además de un efecto marcado en el aumento de prolina y azúcares, así como un efecto inversamente

proporcional de lípidos y proteínas. También en plántulas de verdolaga, altos niveles de estrés hídrico inducido por PEG y de salinidad provocan el abatimiento de las concentraciones de  $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  y  $Fe^{2+}$ , dado que la escasa disponibilidad de agua en el medio disminuye la movilidad de los cationes (Rahdari y Hosseini, 2012).

Asimismo, Amini y Abdi (2014) encontraron que un aumento de -1.5 MPa en el potencial osmótico de la solución de crecimiento, provoca la reducción de la tasa de germinación, además de la longitud de las plántulas y el peso seco. Dado que *P. oleracea* presenta alta variabilidad genética, las respuestas al estrés también varían de un cultivar a otro. En un estudio sobre el efecto del NaCl y la deficiencia de  $Ca^{2+}$ , Kong et al. (2014) probaron dos cultivares y observaron que uno de ellos fue más susceptible al daño, en comparación con el otro que exhibió síntomas de deficiencia más atenuados. Esto indica que el genoma de *P. oleracea* le permite adaptarse a gran cantidad de variables ambientales (Sdouga et al., 2019), y es por lo que, actualmente se están realizando estudios multivariados que nos permitan dilucidar mecanismos de acción en la interacción de variables a nivel fisiológico y metabólico. En este sentido son reportados los resultados de Jin et al. (2016) sobre cambios fisiológicos y metabólicos combinando factor por calor y salinidad, donde la respuesta de la planta está orientada al aumento de osmoprotectores, antioxidantes y metabolitos secundarios.

Con base en lo anterior este estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta de desarrollo de *Portulaca oleracea* durante la fase vegetativa expuesta a diferentes concentraciones de NaCl, mediante el análisis de variables bioquímicas, morfológicas y fisiológicas.

## 2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1. Material vegetal

Se obtuvo semilla de verdolaga (*Portulaca oleracea*) en un mercado local de la región productiva de la zona chinampera de Xochimilco, Ciudad de México.

En invernadero con temperaturas medias de 28 °C y un fotoperiodo de 12 h, se colocó una semilla por celda en charolas de germinación teniendo como sustrato una mezcla de turba (Premier®) y perlita (Agrolita®) en proporción 1:1 (v:v) y se regaron con solución de Hoagland al 50% [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.0 mM,  $\text{KNO}_3$  2.0 mM,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.5 mM,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.25 mM, Fe-EDTA 40  $\mu\text{M}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  25  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.0  $\mu\text{M}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0  $\mu\text{M}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.5  $\mu\text{M}$ , KCl 50  $\mu\text{M}$ ,  $(\text{NH}_4)_5\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.075  $\mu\text{M}$  y  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.15  $\mu\text{M}$ ].

Cuarenta y dos días después de la germinación, las plantas maduras fueron trasplantadas a macetas de 1 kg de capacidad conteniendo perlita como sustrato y se separaron en lotes para el inicio de la aplicación de tratamientos. El pH de las soluciones de Hoagland al 50% fue ajustado a 6.

### 2.2.2 Diseño de tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos evaluados fueron dosis las siguientes dosis de NaCl: 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M. Dichas concentraciones de NaCl fueron adicionadas a la solución nutritiva de Hoagland al 50 %.

Las soluciones nutritivas con NaCl fueron utilizadas para el riego de las macetas, mismas que se mantuvieron a capacidad de campo durante 14 días.

Se estableció un experimento completamente al azar con ocho repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una maceta con 1 kg de perlita conteniendo una planta madura de verdolaga.

## 2.2.3 Variables evaluadas

### 2.2.3.1 Parámetros morfológicos

En este estudio se evaluaron las trece variables de crecimiento que a continuación se describen, de acuerdo con lo realizado con [Rahdari et al. \(2012\)](#) y [Alam et al. \(2016\)](#).

**Cobertura (CO):** Proporción del terreno ocupado por la proyección perpendicular de las partes aéreas del individuo de la especie considerada. Se midió mediante estimación visual.

**Diámetro de tallo principal (DTP):** Se determinó a partir de su base utilizando un vernier digital.

**Longitud total de la planta (DTP):** Altura de planta a partir de su base cerca del sustrato hasta la base de la última hoja emergida, ésta se midió utilizando una regla graduada.

**Tallos secundarios (TS):** Son aquellas que se originan a partir del subnudo o primeros nudos aéreos. De éstas se contaron el total presente.

**Área foliar (AF):** es la capacidad de la cubierta vegetal para interceptar la radiación fotosintéticamente activa. Esta se estimó con un medidor de área portátil (Licor, LI-3100C, USA).

**Biomasa fresca de raíz (BFR), tallo (BFT) y hoja (BFH):** Ésta se midió utilizando una balanza analítica (CyrLab, VE-204B, México).

**Biomasa seca de raíz (BSR), tallo (BST) y raíz (BSR):** Se determinó después de someter las muestras a un proceso de secado a 70°C durante 76 h; para lo anterior, las muestras se metieron las plantas en bolsas de papel en una estufa de secado de convección natural con capacidad de 32 L (Bunsen, USA).

**Longitud radical (LR):** Se midió desde el entrenudo a nivel del sustrato hasta la parte distal de la raíz más alejada, utilizando una regla graduada.

**Diámetro radical (DR):** Fue medido en el entrenudo a nivel del sustrato con un vernier digital.

### 2.2.3.2 Variables bioquímicas y nutrimentales

**Concentración de prolina.** La concentración de prolina se determinó en hojas y tallos usando el método descrito por [Bates et al. \(1973\)](#) mediante principio colorimétrico basado en el complejo prolina-ninidrina. Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro (Jenway, UV/Vis 6850, Reino Unido) a una longitud de onda de 520 nm. Los valores de absorbancia obtenidos se compararon contra una curva de prolina estándar expresada en  $\mu\text{mol}$  de prolina por gramo de peso fresco.

**Concentración de azúcares totales.** El análisis de monosacáridos (glucosa, fructosa y sacarosa) se realizó en hojas y tallos a partir de la maceración de tejido fresco y extracción con base en el método modificado por [Sidari et al. \(2008\)](#). Se incubó 1 g de materia fresca con 5 mL de etanol al 80% por 24 h. El extracto obtenido se diluyó diez veces en una solución de etanol al 80%, ácido sulfúrico y antrona y puesta en calentamiento a 92 °C por 8 min. Los valores de absorbancia se leyeron a una longitud de onda de 530 nm. El contenido de azúcares totales se determinó como  $\text{mg g}^{-1}$  de materia fresca.

**Concentración foliar de clorofilas a, b y total.** La determinación de clorofilas en hojas se hizo mediante una triple extracción etanólica de acuerdo con lo descrito por [Geiger et al. \(1998\)](#). Se pesaron 20 mg de material vegetal, se colocaron en tubos de reacción para las extracciones etanólicas. Las extracciones etanólicas se realizaron incubando las muestras en baño María durante 20 min a 80 °C; agregando 500  $\mu\text{L}$  de etanol 80 %, 300  $\mu\text{L}$  de etanol al 80 % y 500  $\mu\text{L}$  de etanol al 50%, respectivamente. La separación de fases se realizó por centrifugación (14,000 rpm, 5 min, 4°C). De los tres sobrenadantes (resultados de la triple extracción etanólica) se tomaron 325  $\mu\text{L}$  y se colocaron en nuevos tubos Eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente se adicionaron 850  $\mu\text{L}$  de etanol al 98%. Las muestras se leyeron a 645 y 665 nm. Los cálculos se realizaron utilizando las fórmulas siguientes:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/mg peso fresco}) = (5.46 \times \text{Abs}_{665}) - (2.16 \times \text{Abs}_{645})$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/mg peso fresco}) = (9.67 \times \text{Abs}_{645}) - (3.04 \times \text{Abs}_{665})$$

**Concentración de nutrimentos y Na.** Se digitaron 0.5 g de material vegetal seco y molido con una mezcla de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:HClO<sub>4</sub> (2:1, v:v) a 350 °C. Del extracto resultante se tomó una alícuota de 10 mL para la determinación de N con el método Semimicro-Kjeldahl descrito por [Bremner \(1965\)](#). Las concentraciones de P, K, Ca, Mg, y Na se determinaron mediante lectura directa de los digestados en un equipo de espectrometría de emisión e inducción por plasma (ICP-VARIAN 725-ES).

### **2.2.3.3 Variables fisiológicas**

Después de 14 días del inicio de tratamientos con estrés salino se evaluó en la segunda hoja del tallo principal, contada en sentido apical hacia basal, la radiación fotosintéticamente activa (RFA), transpiración (E) y conductancia estomática (Gs). Las lecturas se tomaron de una hoja en tres plantas elegidas aleatoriamente y por tratamiento con un porómetro de difusión de estado estable (LI-COR, LI-1600, Lincoln, Nebraska, USA).

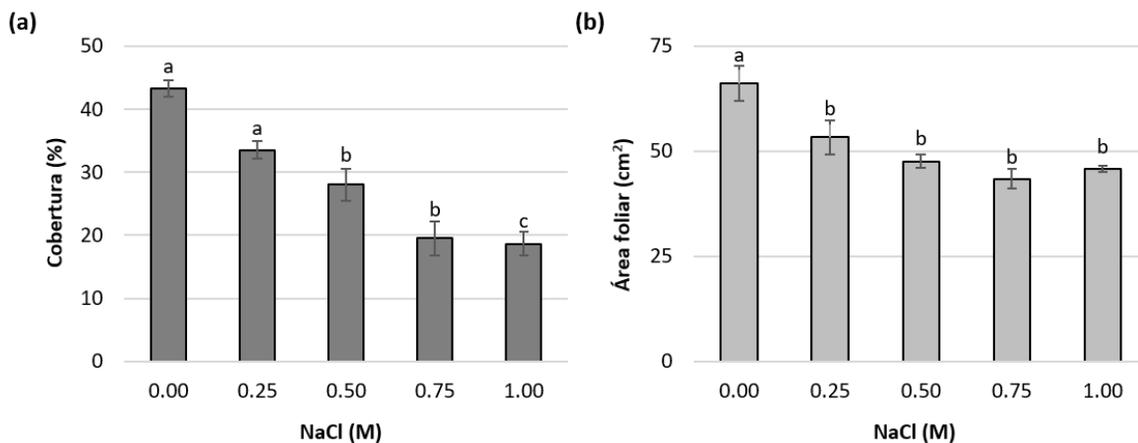
### **2.2.4. Análisis estadístico**

Con los resultados obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), usando el software SAS ([SAS, 2011](#)), y análisis de correlación de Pearson de dos colas.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Salinidad en parámetros morfológicos de *P. oleracea*

En la **Figura 2.1** se presentan los resultados obtenidos en las variables cobertura y área foliar, mismas que muestran una relación inversa con la concentración de NaCl en la solución nutritiva. En particular las dosis 0.5, 0.75 y 1 M NaCl redujeron la cobertura en 35.4, 41.8 y 33.3% respecto al testigo. En lo que respecta al área foliar, todas las dosis evaluadas de NaCl ocasionaron su reducción significativa de 28.2% en promedio, en comparación con el testigo.



**Figura 2.1.** Cobertura (a) y área foliar (b) de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los resultados obtenidos en el resto de los parámetros morfológicos evaluados se presentan en el **Cuadro 2.1**. La longitud total de la planta y el diámetro de raíz no fueron afectados por los tratamientos. Por otra parte, dosis de 0.50, 0.75 y 1.00 M NaCl, redujeron el diámetro del tallo principal en 21, 21.3 y 14.73%, respecto al testigo. Contrario a la respuesta observada en el diámetro del tallo principal, en las variables número de tallos secundarios y longitud radical, muestran una relación inversa con la concentración de NaCl adicionada en la solución nutritiva (**Figura 2.3**). Las concentraciones 0.75 y 1 M NaCl incrementan el número de tallos secundarios en 23.1 y

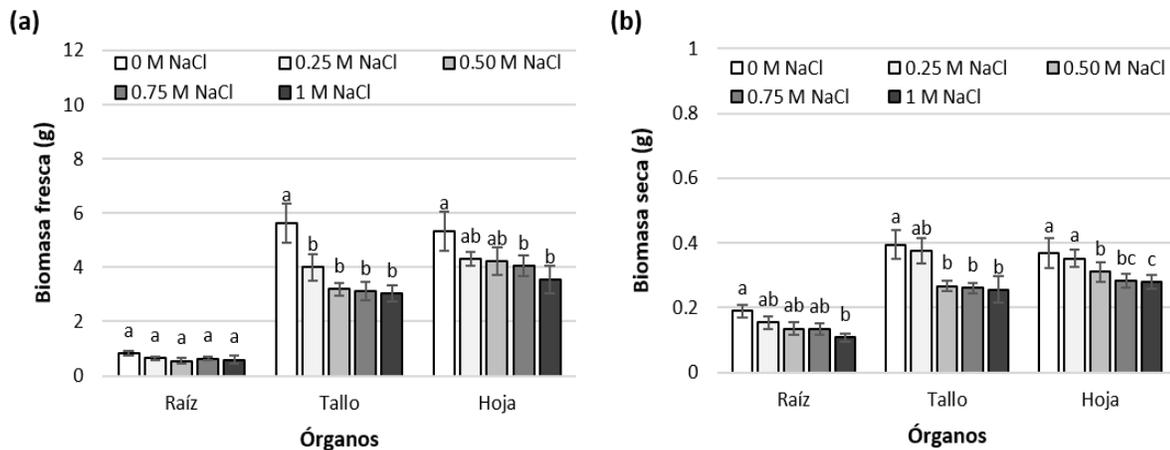
35.4%, respectivamente, en comparación con el testigo; mientras que los incrementos en la longitud de radical en dichos tratamientos respecto al testigo son de 15.9 y 29%.

**Cuadro 2.1.** Parámetros morfológicos de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva.

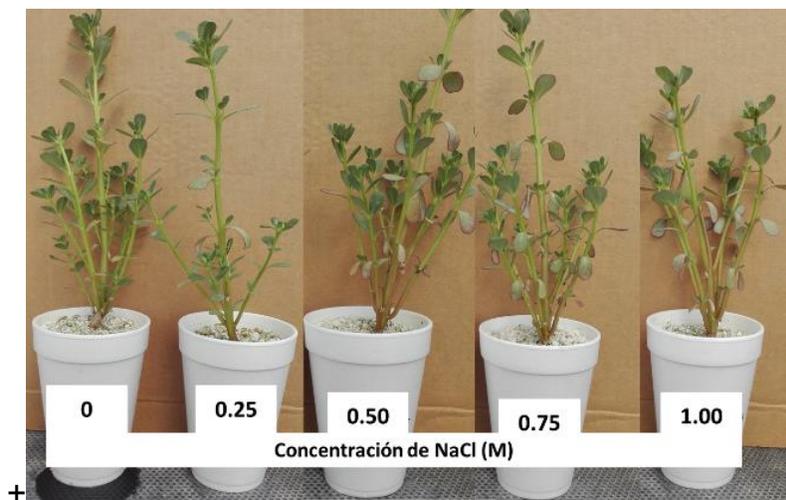
NaCl (M)	Diámetro del tallo principal (mm)	Longitud total de la planta (cm)	Número de tallos secundarios	Longitud radical (cm)	Diámetro de raíz (mm)
0.00	4.78 ± 0.61 a	18.45 ± 1.33 a	10.83 ± 1.32 c	4.21 ± 0.55 b	2.74 ± 0.38 a
0.25	4.16 ± 0.51ab	18.71 ± 1.60 a	13.16 ± 1.47 ab	4.53 ± 0.41 ab	2.83 ± 0.37 a
0.50	3.77 ± 0.18 b	17.06 ± 0.98 a	12.33 ± 1.36 bc	4.50 ± 0.45 ab	2.56 ± 0.41 a
0.75	3.76 ± 0.14 b	17.75 ± 0.73 a	13.33 ± 1.33 ab	4.88 ± 0.84 ab	2.43 ± 0.44 a
1.00	3.82 ± 0.19 b	18.80 ± 0.55 a	14.66 ± 0.816 a	5.43 ± 0.59 a	2.21 ± 0.23 a

Medias ± DE en cada columna con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En lo que respecta a los pesos de biomasa fresca (**Figura 2.2a**), se observa que la raíz fue el único órgano que no fue afectado por el gradiente salino; mientras que, el tallo fue el más afectado dado que todas las concentraciones de NaCl evaluadas redujeron el peso de la biomasa fresca de éste. Por otra parte, los pesos de biomasa seca (**Figura 2.2b**) indicaron que tallo y hojas fueron los órganos con mayor afectación por NaCl, dado las reducciones significativas en éstos a partir de la dosis 0.5 M NaCl.



**Figura 2.2.** Biomasa fresca (a) y seca (b) por órganos de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura y órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

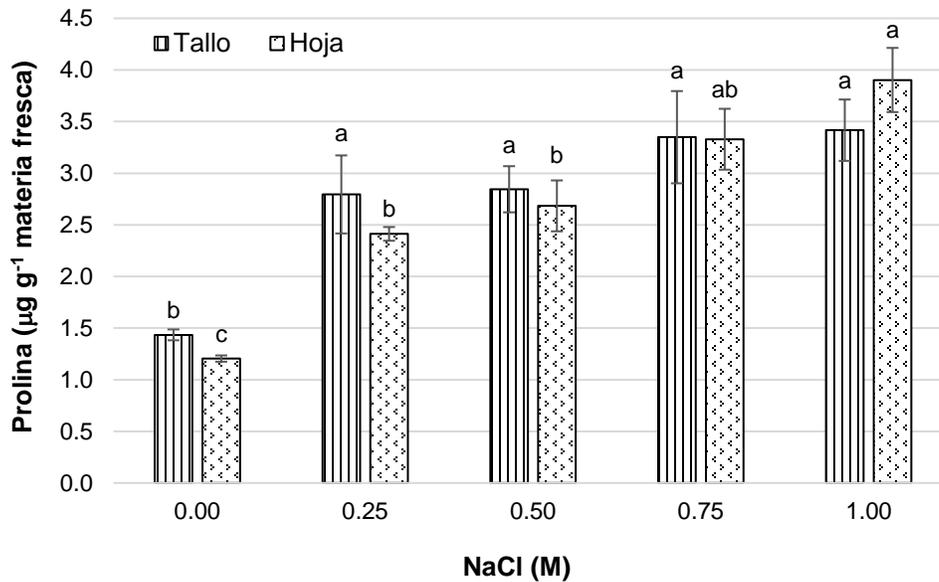


**Figura 2.3.** Aspecto de plantas de verdolaga tratadas durante 14 días con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva.

### 2.3.2. Salinidad en parámetros bioquímicos

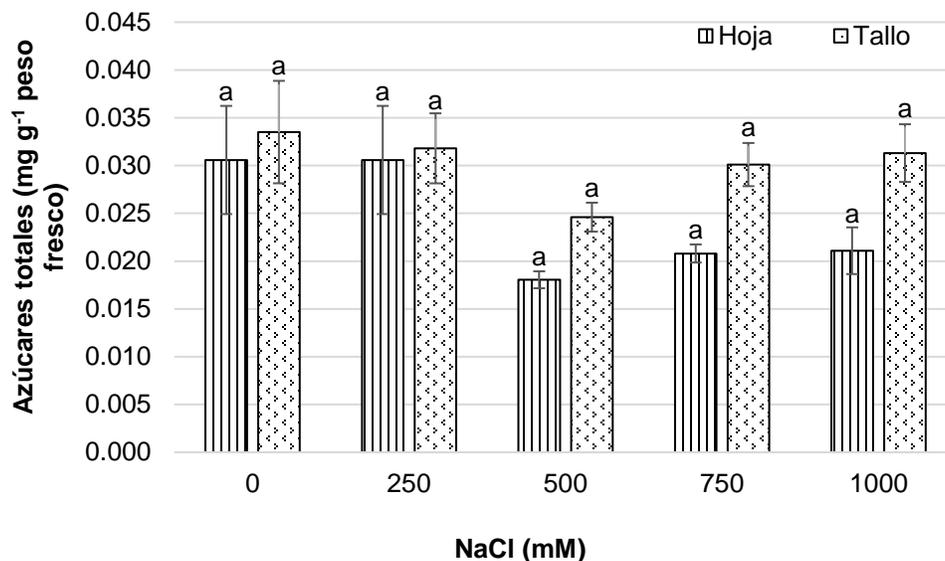
Los resultados mostraron que el aumento en la concentración de NaCl incrementa la concentración de prolina tanto en hojas como en tallos (**Figura 2.4**). En tallos, el tratamiento con 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M NaCl, incrementa la concentración de prolina en 94.8, 98.3, 133.4 y 138.1%, respecto al testigo; asimismo los incrementos en hoja

fueron del orden de 100.2, 122.7, 176.3 y 223.9% en estos tratamientos, también en comparación con el testigo.



**Figura 2.4.** Concentración de prolina en tallos y hojas de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

La concentración de azúcares determinada en hoja y tallo no fue afectada por las concentraciones de NaCl adicionadas en la solución nutritiva como se observa en la **Figura 2.5.**



**Figura 2.5.** Concentración de azúcares solubles totales en tallos y hojas de plantas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura y órgano con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Las concentraciones de clorofilas a, b y total, no fueron afectadas por el gradiente salino evaluado como se observa en el **Cuadro 2.2**.

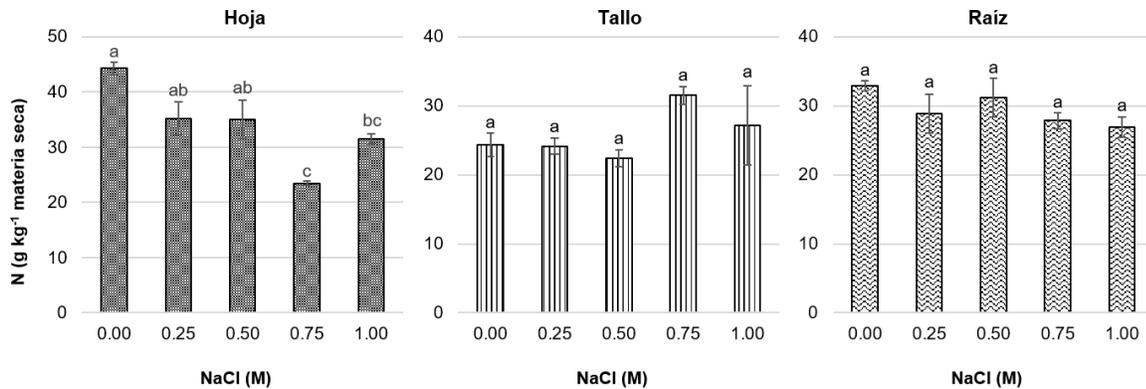
**Cuadro 2.2.** Concentración de clorofilas a, b y total en hojas de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva.

NaCl (M)	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
	mg g <sup>-1</sup> de peso fresco		
0.00	0.92 $\pm$ 0.07a	0.63 $\pm$ 0.76a	1.58 $\pm$ 0.77a
0.25	0.94 $\pm$ 0.17a	0.19 $\pm$ 0.004a	1.13 $\pm$ 0.17a
0.50	0.94 $\pm$ 0.16a	0.20 $\pm$ 0.02a	1.15 $\pm$ 0.11a
0.75	0.84 $\pm$ 0.22a	0.18 $\pm$ 0.002a	1.03 $\pm$ 0.22a
1.00	0.98 $\pm$ 0.16a	0.31 $\pm$ 0.011a	1.29 $\pm$ 0.15a

Medias  $\pm$  DE en cada columna con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

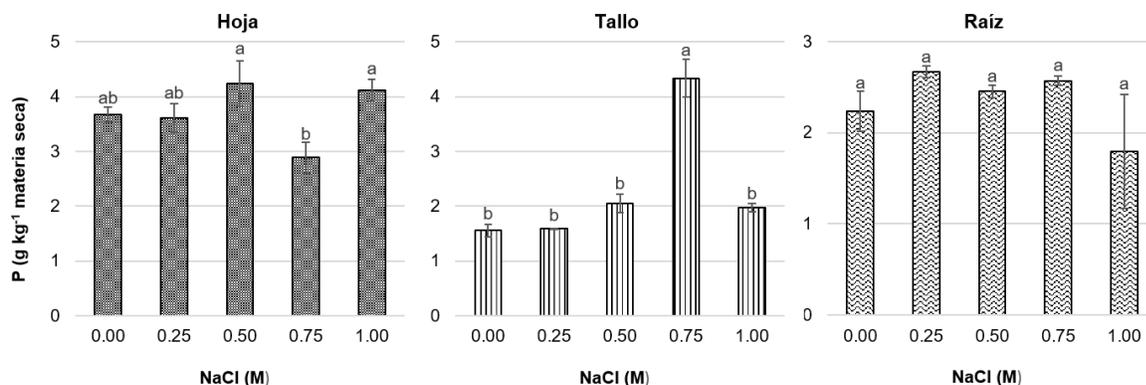
### 2.3.3. Salinidad en parámetros nutrimentales

El gradiente salino evaluado no afectó las concentraciones de N en tallo y raíz como se observa en la **Figura 2.6**. Por el contrario, dosis de 0.75 y 1 M redujeron la concentración foliar de N en 47 y 28.8%, respectivamente, en comparación con el testigo.



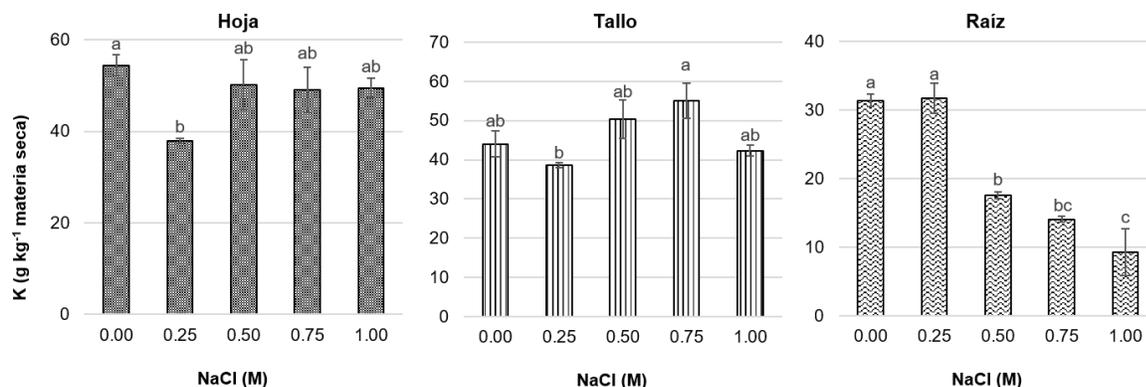
**Figura 2.6.** Concentración de nitrógeno en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

De la misma manera que en N, la concentración de P en raíces no fue afectada por los tratamientos evaluados. Por otra parte, se observó en hojas la concentración de este elemento fue estadísticamente entre los tratamientos 0.5 y 1 M, respecto al tratamiento 0.75 M. En tallo, la concentración de P registrada en el tratamiento 0.75 M fue superior al resto (**Figura 2.7**).



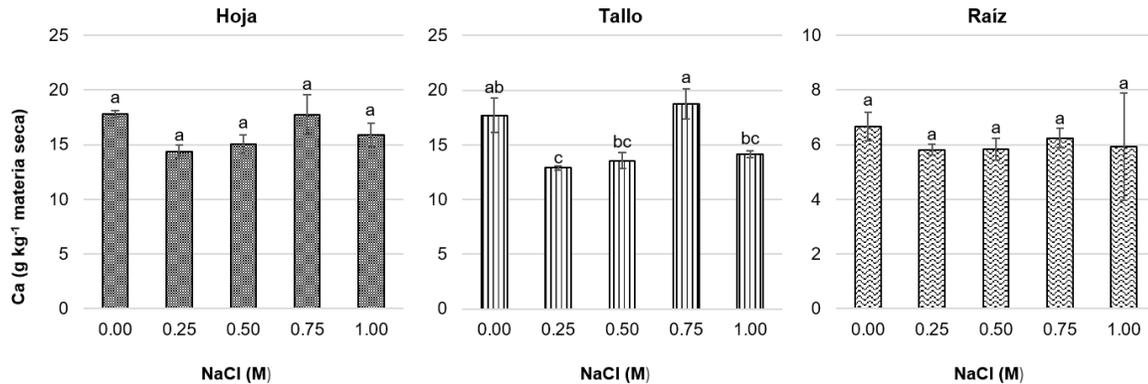
**Figura 2.7.** Concentración de fósforo en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El órgano en el cual se vio más afectada la concentración de K fueron las raíces, dado que los tratamientos 0.50, 0.75 y 1.00 M NaCl redujeron la concentración de este elemento en 44, 55.2 y 70.4%, respectivamente, en comparación con el testigo. Por otra parte, en hojas solo existió reducción en la concentración de K en el tratamiento 0.25 M, respecto al testigo. Asimismo, en tallo, solo el tratamiento 0.75 M NaCl superó en la concentración de K al tratamiento 0.25 M NaCl (**Figura 2.8**).



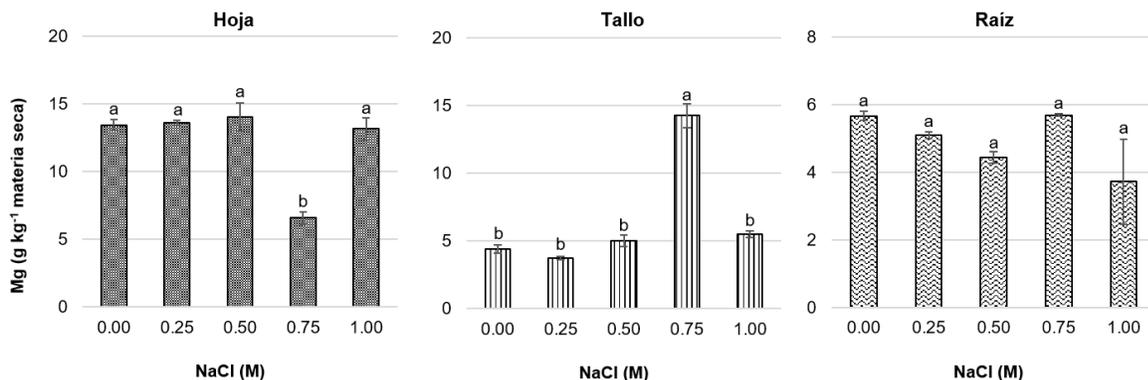
**Figura 2.8.** Concentración de potasio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En la **Figura 2.9** se presentan los resultados obtenidos de concentración de Ca en los distintos órganos de verdolaga. Se observa que los tratamientos evaluados no influenciaron las concentraciones de Ca en hoja y en raíz; por el contrario, se observa un decremento en ésta, respecto al testigo solo con el tratamiento consistente en 0.25 M NaCl.



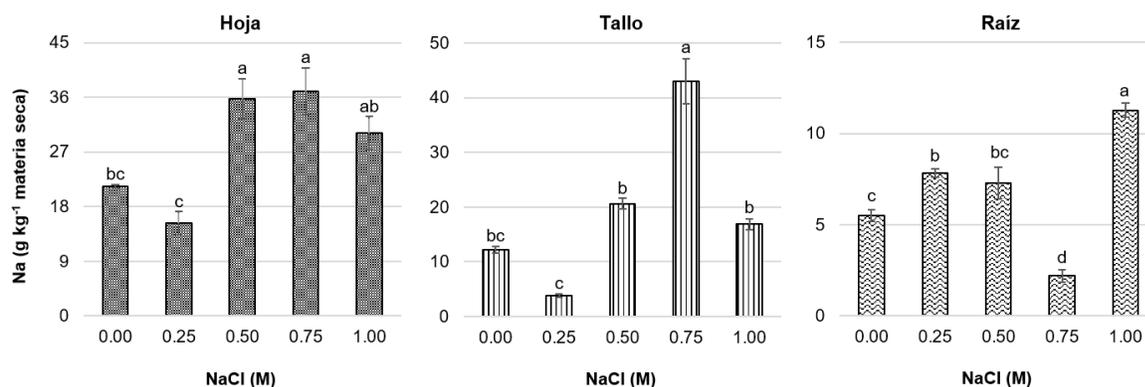
**Figura 2.9.** Concentración de calcio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En lo que respuesta a la concentración de Mg, se observan solo diferencias en hoja y tallo; En hoja, el tratamiento 0.75 M NaCl reduce la concentración de Mg en 51%; mientras que, en tallo, este mismo tratamiento la incrementa en 22.3%; en ambos casos respecto al testigo (**Figura 2.10**).



**Figura 2.10.** Concentración de magnesio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

La concentración de sodio en hoja fue estadísticamente superior al testigo, en los tratamientos 0.50 y 0.75 M NaCl, con incrementos del orden de 67.5 y 73.1%, respectivamente. En tallo, la concentración de Na registrada en el tratamiento 0.75 M NaCl, fue estadísticamente superior a la del resto de los tratamientos. En raíces, se observó de manera general, una relación directa entre la concentración de Na en tejido y en la solución nutritiva (**Figura 2.11**).



**Figura 2.11.** Concentración de sodio en tejidos vegetales de verdolaga en etapa vegetativa tratadas con diferentes concentraciones de NaCl en la solución nutritiva. Medias  $\pm$  DE en cada subfigura con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

#### 2.3.4. Salinidad en parámetros fisiológicos

Los datos mostraron que el aumento de los tratamientos salinos, no alteran significativamente los valores de la transpiración de la planta durante la fase fenológica madura, del mismo modo, la radiación fotosintéticamente activa tampoco se vio significativamente alterada por el aumento en el gradiente salino. Por otra parte, la conductancia estomática, mostró diferencias significativas entre el tratamiento de 0.25 y 1.0 M de NaCl con respecto al testigo (**Cuadro 2.3**).

**Cuadro 2.3.** Parámetros fisiológicos en plantas de verdolaga en fase vegetativa tratadas con NaCl en la solución nutritiva.

NaCl (M)	Transpiración (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Conductancia estomática (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Radiación fotosintéticamente activa (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
0.00	1.86 ± 0.97 a	40.1 ± 20.90 a	177.66 ± 28.36 a
0.25	2.05 ± 3.18 a	45.03 ± 2.51 b	204.33 ± 46.31 a
0.50	2.33 ± 0.57 a	45.10 ± 10.69 a	184.66 ± 21.38 a
0.75	2.20 ± 0.11 a	54.56 ± 1.25 a	217.66 ± 30.66 a
1.00	1.60 ± 0.70 a	36.13 ± 16.4 ab	233.66 ± 92.3 a

Medias ± DE en cada columna con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

De las variables medidas durante el experimento, se analizaron los datos recolectados realizando un análisis de correlación con relación a variables morfológicas como fueron, biomasa foliar, longitud de planta y diámetro de tallo principal (**Cuadro 2.4**). El análisis de correlación de Pearson mostró una significancia nula entre las variables analizadas, dado que sus valores ( $r$ ) fueron superiores a 0.05 y 0.001, por lo cual, biomasa foliar, longitud de la planta y diámetro del tallo principal son están condicionados por los procesos fisiológicos de conductancia estomática y transpiración.

**Cuadro 2.4.** Coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) entre parámetros fisiológicos y morfológicos.

Parámetro	Biomasa foliar	Longitud de planta	Diámetro de tallo principal
Radiación fotosintéticamente activa	0.0613	0.1127	-0.0964
Conductancia estomática	-0.3699	-0.1249	-0.3842
Transpiración	-0.0112	-0.0112	0.1539

$r$  se calculó a partir de la ecuación lineal. Significancia \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  respectivamente.

## 2.4. DISCUSIÓN

El aumento de la concentración salina (0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M de NaCl, provocó la reducción de la cobertura y área foliar de verdolaga de manera significativa sobre todo a partir de 0.50 M (**Figuras 2.1.a y 2.b**). resultados similares fueron reportados por [Alam et al. \(2014; 2016\)](#), quienes encontraron que diferentes concentraciones de NaCl, indujeron efectos diferentes sobre el número de hojas en 44 accesiones de *P. oleracea*; en algunas el número de hojas aumentó con respecto al testigo, en otras accesiones el número de hojas disminuyó respecto al testigo y en otras, el número de hojas fue estadísticamente similar al testigo. En el presente estudio no se analizó el efecto de la concentración salina en el número de hojas, pero sí sobre el área foliar y en la cobertura de la planta, lo que dejó ver que una concentración de 0.25 M de NaCl, representa un estrés significativo para la reducción de ambas variables; particularmente en el área foliar, se observó un ligero aumento significativo de su superficie en la concentración de 1.00 M con respecto al testigo.

Resultados mostrados por [Franco et al. \(2011\)](#) para el crecimiento de esta especie en condiciones salinas a las concentraciones de 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 y 15 dS m<sup>-1</sup>, mostraron que los valores de longitud total, biomasa fresca y biomasa seca, disminuyeron cuando las concentraciones salinas aumentaron, en el caso de área foliar ésta aumentó con la concentración máxima (15 dS m<sup>-1</sup>) lo cual también se observó en el presente estudio, ello hace inferir que en respuesta al efecto estresor, la planta podría compensar los efectos dañinos, generando mayor superficie foliar.

Con respecto a las variables morfológicas se observó que los valores del diámetro del tallo principal y número de tallos secundarios disminuyeron significativamente conforme aumentó la concentración a partir de 0.25 M y hasta 0.75 M de NaCl y aumentaron de manera significativa cuando la concentración se elevó a 1.0 M de NaCl, el mismo fenómeno se observó en la longitud total de la planta, aunque no de manera significativa. En cuanto a la longitud radical, ésta aumentó linealmente y de manera significativa con

el gradiente salino, mientras que diámetro de la raíz disminuyó, aunque su reducción no fue estadísticamente significativa (**Cuadro 2.1**) contrario a lo señalado por [Pessôa de la Cerda et al. \(2015\)](#) quienes reportaron una reducción significativa de la longitud radical en plantas de verdolaga expuestas a una concentración salina de 0.76, 1.27 y 2.54 mg L<sup>-1</sup>. Asimismo, también resultó afectada por la salinidad la biomasa seca, en particular la de tallo y hojas (**Figura 2.2b**), resultados similares fueron mostrados por [Alam et al \(2014\)](#) quienes analizaron el efecto de la salinidad en *P. oleracea* en diferentes accesiones expuestas a tratamientos de 0.00, 10.0, 20.0, 30.0 y 40 dS m<sup>-1</sup> de NaCl.

Diferentes estudios han mostrado que diversas especies incrementan la síntesis de prolina cuando son sometidas a estrés osmótico, ya sea causado por sequía como por salinidad; por ejemplo, esto fue observado en un estudio realizado en cuatro especies de *Passiflora* ([Hurtado et al., 2017](#)), en la halófito *Salvadora persica* ([Parida et al., 2016](#)), y en *P. oleracea* ([Yazici et al., 2007](#); [Kafi y Rahimi, 2011](#); [Rahadari et al., 2012](#)). Esta respuesta también se observó en este estudio, donde la salinidad incrementó de manera significativa la concentración foliar de prolina (**Figura 2.4a**). Aunque normalmente el incremento del nivel de prolina está asociado a la estabilidad bioquímica celular como un efector del estrés salino al funcionar como un metabolito osmoprotectante ([Hasewaga y Bressan, 2000](#)), algunos autores que consideran que altos niveles de prolina más que servir como un osmolito regulador, podrían desempeñar un papel como indicador de estrés hídrico y salino por lo que sus altos niveles en la planta podrían incluso llegar a causar fitotoxicidad ([Mansur y Ali, 2017](#)). Por otro lado, bajos niveles de prolina podrían ayudar a la estabilización de proteínas de membrana, recolectando ROS y así disminuyendo el daño celular ([Gill y Tuteja, 2010](#); [Slama et al., 2015](#)).

En este estudio no existieron diferencias entre tratamientos en las concentraciones de azúcares en tallos y hojas (**Figura 2.5b**). Estos resultados son contrarios a lo reportado por [Rahadari et al. \(2012\)](#) quienes encontraron que el aumento en la concentración de sodio en *P. oleracea* expuesta 50, 100, 150 y 200 Mmol de NaCl, favorece el aumento significativo de azúcares totales en hojas.

En cuanto al contenido de clorofila (**Cuadro 2.3**), [Kafi y Rahimi \(2011\)](#) y [Rahadari et al. \(2012\)](#) reportaron un incremento proporcional con la dosis salina en *P. oleracea*. Por el contrario, en este estudio dicho incremento no fue significativo (**Cuadro 2.3**), lo que podría ser similar a los resultados obtenidos por [Jin et al. \(2016\)](#) en *P. oleracea*, donde registraron que la salinidad ocasionó una disminución ligera y no significativa de los niveles de clorofila, mientras que en la misma especie, pero sometida a estrés por deshidratación y rehidratación combinado con salinidad, [Jin et al. \(2015\)](#), reportaron que el daño salino inhibe la síntesis de clorofila.

En este estudio se pudo observar que las concentraciones de N en hoja disminuyeron con el aumento de la concentración salina (**Figura 2.6**), datos similares reportan [Parida et al. \(2016\)](#) en *Salvadora persica* cuando fue tratada con las concentraciones de 0, 250, 500 y 750 mM NaCl. [Uddin et al. \(2012\)](#) indican que el N es un elemento que se ve reducido con el aumento de la concentración salina; por otro lado, [Hu y Schmidhalter \(2005\)](#) han encontrado que la salinidad reduce la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en las hojas por su antagonismo con el  $\text{Cl}^-$ , pero que el contenido de N total no es afectado

En cuanto a la concentración de P en hoja, se observa tendencia a aumentar con el incremento en la dosis de NaCl; sin embargo, no existió significancia estadística (**Figura 2.7**). Se ha observado que la salinidad ocasiona que la asimilación de P disminuya en el tejido de la planta como parte de la toxicidad iónica ([Munns, 2002](#); [Parihar, 2014](#)).

El NaCl provocó una disminución no significativa de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en todos los tratamientos con respecto al testigo tanto en raíz, como en tallo (**Figuras 2.9 y 2.10**). La absorción iónica puede ocasionar deficiencia o toxicidad afectando el crecimiento y desarrollo de la planta; de tal forma que, cuando la asimilación iónica es afectada por el estrés salino, el primer órgano en ser afectado por los mecanismos sinérgicos o antagónicos es la raíz ([Grattan y Grieve, 1999](#); [Uddin et al., 2012](#)).

En el presente estudio se observó una relación directa entre la concentración de NaCl en la solución nutritiva y la de Na en tejidos vegetales (**Figura 2.11**). Por el contrario, en este estudio se observó que la concentración de K se redujo significativamente en todos los tratamientos respecto al testigo en todos los órganos (**Figura 2.8**). Resultados similares reportaron [Sdouga et al. \(2019\)](#) quienes deducen que existe un efecto competitivo entre Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> por los transportadores de K<sup>+</sup> en las raíces de verdolaga cuando se exponen a concentraciones máximas de 150 mM. Dadas las concentraciones de Na<sup>+</sup> encontradas en la planta apunta a que el ion Na<sup>+</sup> representa un elemento indispensable para el crecimiento y mantenimiento de la planta por lo que su acumulación se observa en hojas y tallo y no en la raíz para evitar su efecto tóxico. Al parecer esta dependencia al Na<sup>+</sup> es aplicable a algunas plantas C4 donde su presencia sirve de estimulador de crecimiento, ello no significa que sea antagónico de K<sup>+</sup> sino que, en ausencia de este elemento, el sodio puede suplir las mismas funciones, aunque también se ha reportado que en presencia de Na<sup>+</sup>, los niveles de K<sup>+</sup> se reducen significativamente ([Subbarao et al., 2003](#)), como se observó en esta investigación.

En cuanto a las variables fisiológicas, los valores de transpiración (**Cuadro 2.3**), aumentaron con la concentración salina salvo con el tratamiento de 1.00 M aun cuando dicho incremento significativo; esta misma tendencia se observó en los valores de conductancia estomática (**Cuadro 2.3**). Datos similares encontraron [Méndez et al. \(2016\)](#) al evaluar el efecto de la suspensión de riego en dos variedades de caña de azúcar (especie con metabolismo C4), en una de las cuales, la transpiración y la conductancia estomática disminuyeron dado que fue más sensible a la suspensión del riego; en otra variedad aumentaron dado que su tiempo de maduración fue más largo. Bajo este contexto se puede inferir que concentraciones menores de 1.00 M no afectan significativamente el crecimiento y desarrollo de verdolaga, de hecho, podría tratarse de un efecto asociado al metabolismo del Na en la planta, dado que *P. oleracea* posee un metabolismo C4 que puede ser cambiado al tipo CAM ([Lara et al., 2004](#)), con lo que se da la disminución del metabolismo fotosintético, esta fluctuación entre metabolismo C4-CAM, es posible que dote a *P. oleracea* de una mayor capacidad adaptativa ([Holtum et al., 2017](#)).

Aunque no hubo diferencias significativas en la producción de clorofila (**Cuadro 2.2**) los valores de RFA aumentaron de manera lineal con el aumento en los tratamientos con respecto al testigo (**Cuadro 2.3**). De esta manera las correlaciones entre variables fisiológicas y morfológicas (**Cuadro 2.4**), mostraron que la conductividad estomática no se encuentra relacionada con la cobertura y diámetro de tallo principal por lo que la planta requiere de mayor superficie de transporte y almacenamiento de agua para recuperarse del estrés hídrico (Karkanis y Petropoulos, 2017), además de controlar la transpiración y la asimilación de CO<sub>2</sub>, regulando la productividad de la planta (Esperón y Barradas, 2016).

## 2.5. CONCLUSIONES

El presente trabajo busca apoyar la expectativa de que *P. oleracea* puede desarrollar respuestas evolutivas a escenarios productivos indeterminados, sabemos que la plasticidad fenotípica que posee, además de un metabolismo fotosintético que puede fluctuar de C4 a CAM, le permite tolerar condiciones de daño salino y deshidratación extrema. A pesar de los extensos trabajos que se han realizado en este género, aún hay incógnitas que valdría la pena conocer; al respecto, este estudio mostró que la respuesta fisiológica de *P. oleracea* al ser expuesta a estrés salino, no fue significativa, en contraste con las alteraciones metabólicas y nutrimentales observadas, lo que repercute directamente en la variabilidad de las variables morfológicas.

## 2.6. LITERATURA CITADA

- Alam MA, Juraimi AS, Rafii MY, Hamid AA, Aslani F. 2014. Screening of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions for High Salt Tolerance. The Scientific World Journal. 2014. Doi: 10.1155/2014/627916
- Alam MA, Juraimi AS, Rafii MY, Hamid AA, Aslani F, Alam MZ. 2015. Effects of salinity and salinity-induced augmented bioactive compounds in purslane (*Portulaca oleracea* L.) for possible economical use. Food Chemistry 169: 439-447. Doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.019
- Alam MA, Juraimi AS, Rafii MY, Hamid AA, Aslani F, Hakim MA. 2016. Salinity-induced changes in the morphology and major mineral nutrient composition of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions. Biological Research 49:24. 1-19. Doi: 10.1186/s40659-016-0084-5
- Amini R., Abdi H. 2014. Germination and early seedling growth of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) affected by salinity and osmotic stress. International Journal of Biosciences 5 (12): 342-349. Doi: 10.12692/ijb/5.12.342-349
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.
- Borsai O, Al Hassan M, Boscaiu M, Sestras RE, Vicente O. 2018. The genus *Portulaca* as a suitable model to study the mechanisms of plant tolerance to drought and salinity. The EuroBiotech Journal.2(2):104-113. Doi: 10.2478/ebtj-2018-0014
- Brady K. U., Kruckeberg A. R., Bradshaw H. D. 2005. Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 36: 243-266.
- Bremner, J. M. 1965. Total nitrogen. *In*: Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. Black, C. A. (ed.). Am. Soc Agron. Madison, WI, USA. pp. 1149-1178.
- Brumfiel EM. 2009. El estudio de la clase común: El asentamiento de Xaltocan durante el Posclásico en la cuenca de México. Cuicuilco 16(47): 59-86.
- Busoms S, Teres J, Huang XY, Bomblies K, Danku J, Douglas A, Weigel D, Poschenrieder C, Salt DE. 2015. Salinity Is an agent of divergent selection driving

- local adaptation of *Arabidopsis* to coastal habitats. *Plant Physiology* 168: 915-929.  
Doi: 10.1104/pp.15.00427
- De Kroon H, Huber H, Stuefer JF, Van Groenendael JM. 2005. A modular concept of phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166(1): 73-82. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01310.x
- Esperón RM, Barradas VL. 2016. Respuestas estomáticas de especies arbóreas del bosque nublado del centro de Veracruz, México. *Botanical Sciences*. 94(2):311-321. DOI:10.17129/botsci.490.
- Franco JA, Cros V, Vicente MJ, Martínez-Sánchez JJ. 2011. Effects of salinity on the germination, growth, and nitrate contents of purslane (*Portulaca oleracea* L.) cultivated under different climatic conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 86(1) 1-6. Doi: 10.1080/14620316.2011.11512716
- Geiger M, Walch-Liu P, Engels C, Harnecker J, Schulze ED, Ludewig F, Sonnewald U, Scheible WR, Stitt M. 1998. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell and Environment* 21: 253-268.
- Germain RM, Gilbert B. 2014. Hidden responses to environmental variation: maternal effects reveal species niche dimensions. *Ecology Letters* 17: 662-669. Doi: 10.1111/ele.12267 PMID: 24602193
- Gill SS, Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48. 909-930. doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Grattan S, Grieve C.1999. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78: 127-157.
- Hasegawa PM, Bressan RA. 2000. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:463-99.
- Heeg C, Kruse C, Jost R, Gutensohn M, Ruppert T, Wirtz M, Hell, R. 2008. Analysis of the *Arabidopsis* O-acetylserine(thiol)lyase gene family demonstrates compartment-

- specific differences in the regulation of cysteine synthesis. *Plant Cell* 20(1): 168-185. Doi: 10.1105/tpc.107.056747
- Holtum JAM, Hancock LP, Edwards EJ, Winter K. 2017. Optional use of CAM photosynthesis in two C4 species, *Portulaca cyclophylla* and *Portulaca digyna*. *Journal of Plant Physiology* 214. 91-96. Doi: 10.1016/j.jplph.2017.01.010
- Horie T, Kaneko T, Sugimoto G, Sasano S, Panda SK, Shibasaka M, Katsuhara M. 2011. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant and Cell Physiology* 52(4): 663-675. Doi: 10.1093/pcp/pcr027
- Hu YC, Schmidhalter U. 2005. Drought and Salinity: A Comparison of Their Effects on Mineral Nutrition of Plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 541-549. Doi: 10.1002/jpln.200420516
- Hurtado SA, Pereira SDF, Ceballos AN, Ocampo J, Horst BC. 2017. Proline and ions accumulation in four *Passiflora* species under water-saline stress. *Comunicata Scientiae* 8(4): 570-580. Doi: 10.14295/CS.v8i4.2323.
- Jin R, Shi H, Han C, Zhong B, Wang Q, Chan Z. 2015. Physiological changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) after progressive drought stress and rehydration. *Scientia Horticulturae* 194. 215-221. Doi: 10.1016/j.scienta.2015.08.023
- Jin R, Wang Y, Liu R, Gou J, Chan Z. 2016. Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in response to drought, heat, and combined stresses. *Frontiers in Plant Science* 6: 1123. Doi: 10.3389/fpls.2015.01123
- Kafi M, Rahimi Z. 2011. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Soil Science and Plant Nutrition* 57. 341-347 Doi: 10.1080/00380768.2011.567398
- Karkanis A, Petropoulos SA. 2017. Physiological and Growth Responses of Several Genotypes of Common Purslane (*Portulaca oleracea* L.) under Mediterranean Semi-arid Conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 45(2):569-575. Doi: 10.15835/nbha45210903
- Kaymak HC. 2013. Effect of nitrogen forms on growth, yield and nitrate accumulation of cultivated purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19(3): 444-449.

- Kong Y, Rozema E, Zheng Y. 2014. The effects of NaCl on calcium-deficiency disorder vary with symptom development stage and cultivar in hydroponic *Portulaca oleracea* L. *Canadian Journal Plant Science* 94(7): 1195-1201. Doi: 10.4141/CJPS2013-390
- Lara VM, Drincovich M, Andreo CS. 2004. Induction of a Crassulacean Acid-like Metabolism in the C4 Succulent Plant, *Portulaca oleracea* L.: Study of Enzymes Involved in Carbon Fixation and Carbohydrate Metabolism. *Plant Cell Physiol.* 45(5): 618-626.
- Liang W, Ma X, Wan P, Liu L. 2018. Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 495(1): 286-291. Doi: 10.1016/j.bbrc.2017.11.043
- Liang W, Cui W, Ma X, Wang G, Huang Z. 2014. Function of wheat Ta-UnP gene in enhancing salt tolerance in transgenic Arabidopsis and rice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 450(1): 794-801. Doi: 10.1016/j.bbrc.2014.06.055
- Lim YY, Quah EPL. 2007. Antioxidant Properties of Different Cultivars of *Portulaca oleracea*. *Food Chemistry*, 103, 734-740. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.025
- Mansour MM, Ali EF. 2017. Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry*. 140 52-68. Doi: 10.1016/j.phytochem.2017.04.016
- McClung de TE, Martínez YD, Ibarra ME, Adriano MCC. 2014. Los orígenes prehispánicos de una tradición alimentaria en la Cuenca de México. *Anales de Antropología* 48 (1): 97-121. Doi: 10.1016/S0185-1225(14)70491-6
- Méndez AJM, Salgado GS, Lagunes ELC, Mendoza HJRH, Castelán EM, Córdova SS, Hidalgo MCI. 2016. Relationship Between Physiological Parameters In Sugar Cane (*Saccharum* spp.) Under Irrigation Suspension Prior To The Harvest. *Agroproductividad* 9(3): pp: 15-20.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25. 239–250.
- Munns R, James RA, Läuchli A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57(5): 1025-1043.

- Ocampo G, Columbus J.T. 2016. Molecular phylogenetics, historical biogeography, and chromosome number evolution of *Portulaca* (Portulacaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63:(1): 97-112. Doi: 10.1016/j.ympev.2011.12.017
- Parida AK, Veerabathini SK, Kumari A, Agarwal PK. 2016. Physiological, Anatomical and Metabolic Implications of Salt Tolerance in the Halophyte *Salvadora persica* under Hydroponic Culture Condition. *Front. Plant Sci.* 7:351. Doi: 10.3389/fpls.2016.00351
- Parihar P, Singh S, Singh R, Singh VP, Prasad SM. 2014. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22:3739. 1-54. Doi: 10.1007/s11356-014-3739-1
- Pessôa LL, Celina LL, Costa FMG, Zonta E. 2015. Salinity Reduction and Biomass Accumulation in Hydroponic Growth of Purslane (*Portulaca oleracea*). *International Journal of Phytoremediation*, 17: 235-241. Doi: 10.1080/15226514.2014.883494
- Rahdari P, Hosseini SM. 2012. Effect of different levels of drought stress (PEG 6000 concentrations) on seed germination and inorganic elements content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8(2): 51-61.
- Rahdari P, Tavakoli S, Hosseini SM. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8(1): 182-193.
- SAS Institute Inc 2002. SAS® system for Microsoft® Windows® v. 9.00. NC. USA.
- Sdouga D, Amor FB, Ghribi S, Kabtni S, Tebini M, Branca F, Trifi- Farah N, Marghali S. 2019. An insight from tolerance to salinity stress in halophyte *Portulaca oleracea* L.: Physio-morphological, biochemical and molecular responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172: 45-52. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.12.082
- Sidari M, Santonoceto C, Anastasi U, Preiti G, Muscolo A. 2008. Variations in four genotypes of lentil under NaCl-salinity stress. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 3(1): 410-416. Doi: 10.3844/ajabssp.2008.410.416

- Slama I, Abdelly C, Bouchereau A, Flowers T, Savoure A. 2015. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany* 115: 433-447. doi:10.1093/aob/mcu239
- Subbarao GV, Ito O, Berry WL, Wheeler RM. 2003. Sodium -A Functional Plant Nutrient. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(5):391-416. Doi: 10.1080/07352680390243495
- Teixeira M, Carvalho IS. 2009. Effects of salt stress on purslane (*Portulaca oleracea*) nutrition. *Annals of Applied Biology* 154: 77-86. Doi: 10.1111/j.1744-7348.2008.00272.x
- Uddin K, Shukor JA, Anwar F, Hossain A, Alam A. 2012. Effect of salinity on proximate mineral composition of purslane (*Portulca oleracea* L.). *Australian Journal of Crop Science* 6(12):1732-1736.
- Vázquez-Alonso MT, Bye R, López-Mata L., Pulido-Salas MTP, McClung de TE, Koch SD. 2014. Etnobotánica de la cultura teotihuacana. *Botanical Sciences* 92(4): 563-574.
- Vibrans H. Malezas de México. *Portulaca oleracea*. Consultado: 25 de marzo de 2019. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/portulacaceae/portulacaoleracea/fichas/ficha.htm>
- Yazici I, Türkan I, Sekmen AH, Demiral T. 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany* 61(1): 49-57. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.02.010
- Zaman S, Hu S, Alam MA, Du H, Che S. 2019. The accumulation of fatty acids in different organs of purslane under salt stress. *Scientia Horticulturae* 250: 236-242. Doi: 10.1016/j.scienta.2019.02.051

### **CAPÍTULO III. EFECTO DEL ESTRÉS SALINO EN LAS CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE *Portulaca oleracea***

#### **RESUMEN**

La verdolaga (*Portulaca oleracea*) es una planta que ha demostrado ser tolerante al estrés salino. Su metabolismo fotosintético C4 NAD-ME le permite aprovechar parte del sodio en la solución del suelo como un recurso nutricional. En este contexto, se investigaron los mecanismos de tolerancia de esta planta y los efectos de diferentes concentraciones de NaCl en el desarrollo, acumulación y distribución en tejidos y formas de biomineralización. Se encontró que una concentración de 1.0 M NaCl, provocó la disminución del área de parénquima lagunar en hojas, y presentó la formación de concreciones, drusas y cristales pseudo-prismáticos ubicados en regiones del parénquima lagunar, haces vasculares y regiones cercanas a las células guarda de los estomas. El análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) y microanálisis por rayos – X mediante espectroscopía por energía dispersiva (EDS), mostró que la composición química de los cristales formados incluye organización cristalina de Ca, Na, SiO<sub>4</sub>, AlO<sub>8</sub> y FeO<sub>2</sub>. De esta manera se puede inferir que *P. oleracea* es una especie que posee una diversificada gama de recursos para tolerar el ambiente estresante de acuerdo con la fluctuación de las concentraciones salinas.

**Palabras clave:** biomineralización, drusas, NaCl, tejidos

### 3.1. INTRODUCCIÓN

En estadios iniciales, el estrés osmótico como efecto de la salinidad, causa interrupción membranal, desequilibrio nutrimental, perjudica la capacidad de desintoxicar las especies reactivas de oxígeno, altera la producción enzimática y disminuye la apertura estomática y fotosíntesis (Gupta y Huang, 2014). Para las plantas que persisten en suelos salinos es importante mantener un equilibrio osmótico constante para lo cual, mantienen una concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en hojas y raíz, similar a la concentración iónica en la solución del suelo, lo que lleva a la planta a desarrollar tolerancia tisular la cual se caracteriza por secuestrar  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en las vacuolas y mantener las concentraciones bajas en el citoplasma (Munns *et al.*, 2016). Para proteger el crecimiento activo y el metabolismo de las células, las plantas regulan el movimiento de iones en los tejidos controlando el flujo de sal durante la entrada de iones en la corriente del xilema. Aunque el transporte de iones a través de las células epidérmicas y corticales contribuye a una reducción de  $\text{NaCl}$  que entra al xilema en la endodermis, el movimiento radial de los solutos debe ser a través de un camino simplástico, de esta forma la banda de Caspary constituye una barrera física para el transporte apoplástico (Hasegawa *et al.*, 2000).

Estudios recientes sugieren que la recirculación de  $\text{Na}^+$  de los brotes a la raíz resulta una vía eficiente para proteger las células de las hojas de su toxicidad, porque el secuestro vacuolar de  $\text{Na}^+$  en hojas es pobre, de tal manera que la recirculación de  $\text{Na}^+$  del vástago a raíz en la savia del floema es el principal mecanismo involucrado en la prevención de llegada de  $\text{Na}^+$  a las células corticales (Wu, 2018). El secuestro vacuolar es un mecanismo de tolerancia de la planta a la sal, el cual está mediado por los antiportadores  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (Mansour, Salama y Al- Mutawa, 2003). Tiene como función prevenir el aumento de las concentraciones de  $\text{Na}^+$  citosólico manteniendo la relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  y controlando el potencial osmótico vacuolar (Wu, 2018).

Dado que la mayor parte del volumen celular está ocupado por la vacuola y la mayoría del metabolismo se desarrolla en el citoplasma, una forma en que la planta mitiga la toxicidad del  $\text{Na}^+$  en el citosol es almacenándolo en la vacuola mediante los antiportadores  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (Rahnama *et al.*, 2011).

Se ha encontrado que dentro de los efectos que tiene el estrés salino en las características anatómicas de las plantas se encuentra el adelgazamiento de las paredes celulares del metaxilema radical (Bijanzadeh y Emam, 2015), el adelgazamiento de la epidermis en hoja, la reducción del tamaño y el número de estomas en plantas de cebada (Çavuşoğlu y Günes, 2015); asimismo, se ha reportado que ocasiona el endurecimiento de la cutícula radical, el adelgazamiento del cortex en raíz, y el alargamiento del parénquima de empalizada en foliolos de *Leucaena leucocephala* y *Prosopis chilensis* (El-Lamey, 2015). En algunas accesiones de *Portulaca oleracea*, el estrés salino produce agrandamiento ligero de las células corticales (Alam *et al.*, 2015); en calabaza, el estrés salino reduce el ancho, longitud, número y diámetro de los haces vasculares (Mageed *et al.*, 2016); en soya la salinidad causa la reducción del tamaño de estomas y el adelgazamiento de la epidermis en hojas de plantas (Juwarno, 2017). Por el contrario, el aumento de la concentración salina en el cultivo de calabacita causa el engrosamiento del parénquima laminar, de empalizada y esponjoso e incrementa el espesor y porcentaje de espacios intercelulares (Rouphael *et al.*, 2017); asimismo en *Diplachne fusca*, el estrés salino aumenta el grosor de tejidos epidérmicos y endodérmicos, además de engrosar el córtex radical e incrementar el tamaño de las células corticales (Rahat *et al.*, 2019).

En este contexto, y dado que los efectos de la salinidad en las características anatómicas de verdolaga (*Portulaca oleracea*) no han sido claramente evidenciados, el objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta anatómica de esta especie al exponerse un gradiente de estrés salino inducido por NaCl.

## **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.2.1. Material vegetal**

Se obtuvo semilla de verdolaga (*Portulaca oleracea*) en un mercado local de la región productiva de la zona chinampera de Xochimilco, Ciudad de México.

En invernadero con temperaturas medias de 28 °C y un fotoperiodo de 12 h, se germinaron las semillas en charolas de germinación teniendo como sustrato una mezcla de turba (Premier®) y perlita (Agrolita®) en proporción 1:1 (v:v) y se regaron con solución de Hoagland al 50% [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.0 mM,  $\text{KNO}_3$  2.0 mM,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.5 mM,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.25 mM, Fe-EDTA 40 µM,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  25 µM,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.0 µM,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0 µM,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.5 µM, KCl 50 µM,  $(\text{NH}_4)_5\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.075 µM y  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.15 µM].

Cuarenta y dos días después de la germinación, las plantas maduras fueron trasplantadas a macetas de 1 kg de capacidad conteniendo perlita como sustrato y se separaron en lotes para el inicio de la aplicación de tratamientos. El pH de las soluciones de Hoagland fue ajustado a 6.

### **3.2.2. Diseño de tratamientos y diseño experimental**

Los tratamientos evaluados fueron las siguientes dosis de NaCl: 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M, mismas que fueron adicionadas a la solución nutritiva de Hoagland al 50 %. Las soluciones nutritivas con NaCl fueron utilizadas para el riego de las macetas, mismas que se mantuvieron a capacidad de campo durante 14 días.

Se estableció un experimento completamente al azar con ocho repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una maceta de 1 kg, conteniendo una planta madura de verdolaga y como sustrato perlita.

### **3.2.3. Anatomía foliar**

Se cosecharon cuatro plantas por tratamiento de manera aleatoria. Se tomaron hojas bien desarrolladas, la tercera después de la parte apical de la rama y se colocaron en Formaldehído-acético-alcohol (FAA), posteriormente se obtuvieron preparaciones fijadas en secciones de la parte media de la hoja, raíz y cortes paradermales usando un micrótopo manual y fijado en portaobjetos con tinción de safranina. La observación de los cortes se realizó en un microscopio (Carl Zeiss III RS Binocular de fluorescencia con contraste de fase, Alemania); mientras que, la toma de imágenes se hizo con una cámara para microscopio (Paxcam, PX-CM, USA). Las imágenes obtenidas se analizaron utilizando el programa de manipulación de imágenes de GNU, GIMP 2.8.18 (1995-2016). Las variables medidas fueron porcentaje de área ocupada por el parénquima lagunar (capa de células subdérmicas pobres en clorofila, caracterizada por amplios espacios intercelulares que se ubica por debajo del parénquima en empalizada) y la densidad de drusas (arreglos cristalinos de oxalato de calcio, el oxalato de calcio se forma en el interior de las vacuolas conformando un solo cristal) por mm<sup>3</sup>.

### **3.2.4. Microscopia electrónica de barrido y microanálisis elemental de Rayos- X**

Con la finalidad de tener muestras contrastantes, se tomaron cuatro plantas tratadas con 1.00 M NaCl y cuatro del tratamiento testigo (sin salinidad). Se cortaron secciones de 1 mm<sup>2</sup> y se fijaron en glutaraldehído, posteriormente las muestras se deshidrataron mediante un tren de etOH y a su término se sometieron a deshidratación a punto crítico para después metalizarse con recubrimiento de oro dentro de una ionizadora (Jeol, LTD JFC-1100b Fine Coat Ion Sputter, Francia). El microanálisis elemental se realizó con un microscopio electrónico de barrido marca Jeol JSM-8390, USA. Mediante espectroscopia de rayos X de energía dispersiva, que se realizó mediante microanálisis de elementos de número atómico (Z) mayor a 11 (Na), con una estación de análisis de rayos X de energía dispersiva (INCA Energy 250 Dispersive x-ray remium) con detector por deriva de silicio (SDD) libre de nitrógeno ([Zouhaier et al., 2015](#)).

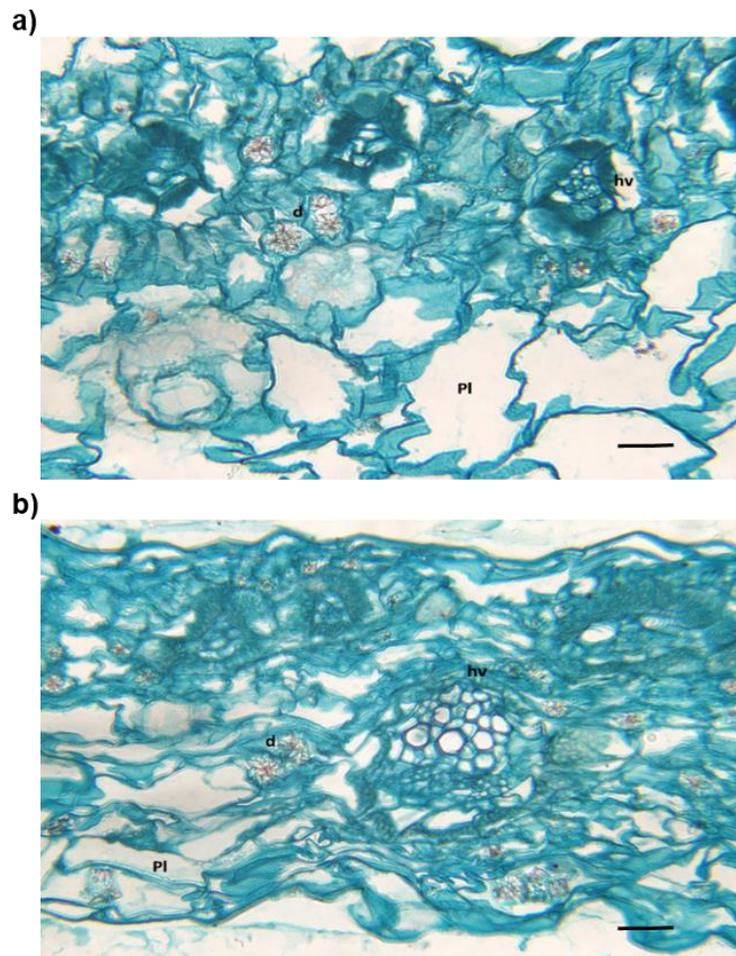
### **3.2.5. Análisis estadístico**

Con los resultados obtenidos en las variables área ocupada por parénquima lagunar y densidad de drusas se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), usando el software SAS ([SAS, 2011](#)).

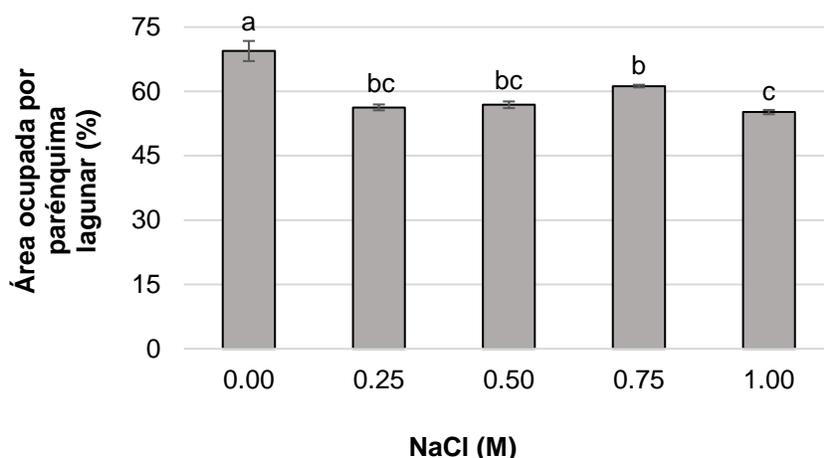
### 3.3. RESULTADOS

#### 3.3.1 Análisis anatómico de raíz y hoja de *P. oleracea*

El aumento en la concentración salina no afectó de manera significativa el volumen radical (datos no mostrados) con respecto al testigo; sin embargo, se observó un cambio significativo en su anatomía foliar (**Figura 3.1a**) donde el área de parénquima lagunar se redujo conforme al aumento de la concentración salina (**Figuras 3.1b y 3.2**). La reducción del área del parénquima lagunar se redujo en 18.9, 18.1, 11.7 y 20.5%, en los tratamientos 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M NaCl, respectivamente en comparación con el testigo.

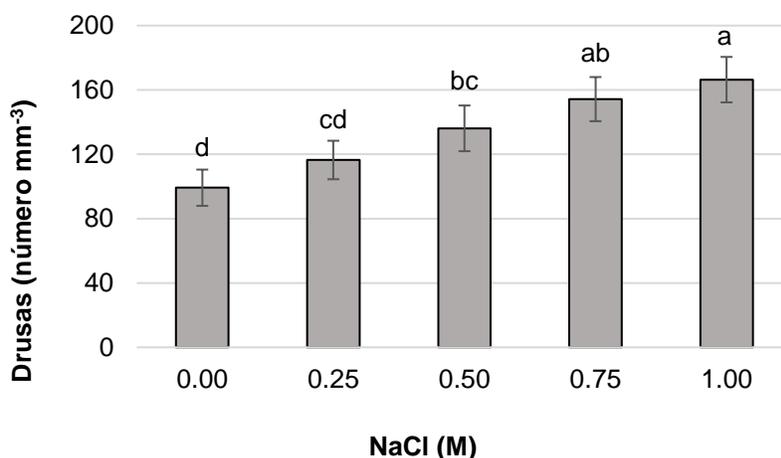


**Figura 3.1.** Corte transversal de hoja de *P. oleracea* sin tratamiento con NaCl (a) y con tratamiento con 1.00 M NaCl (b). Parénquima lagunar (PI); haces vasculares (hv); drusas (d). (Barra de escala: 200  $\mu$ m, 40X).



**Figura 3.2.** Área ocupada por parénquima lagunar en tejido foliar de verdolaga (*P. oleracea*) tratada con un gradiente salino. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

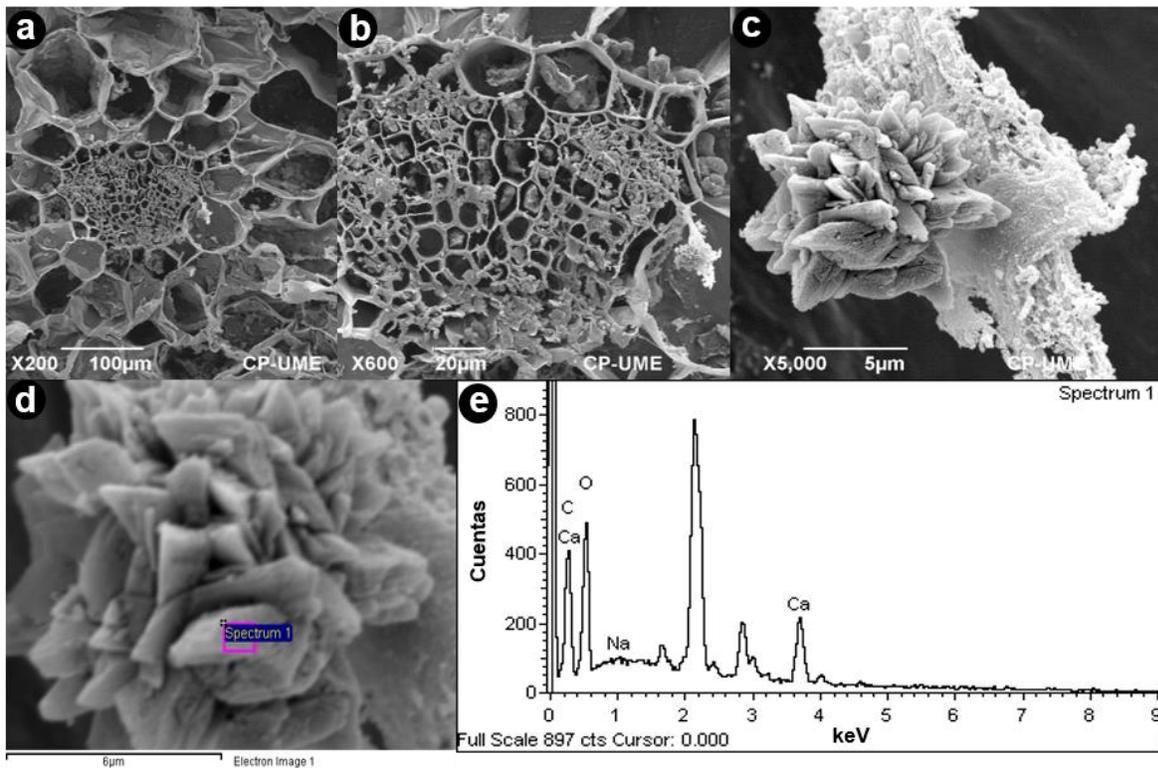
Por otra parte, la densidad de drusas se relaciona de manera positiva con la concentración de NaCl en la solución nutritiva. El tratamiento con 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 M NaCl incrementó en 17, 37, 55 y 68% el número de drusas con respecto al testigo (**Figura 3.3**).



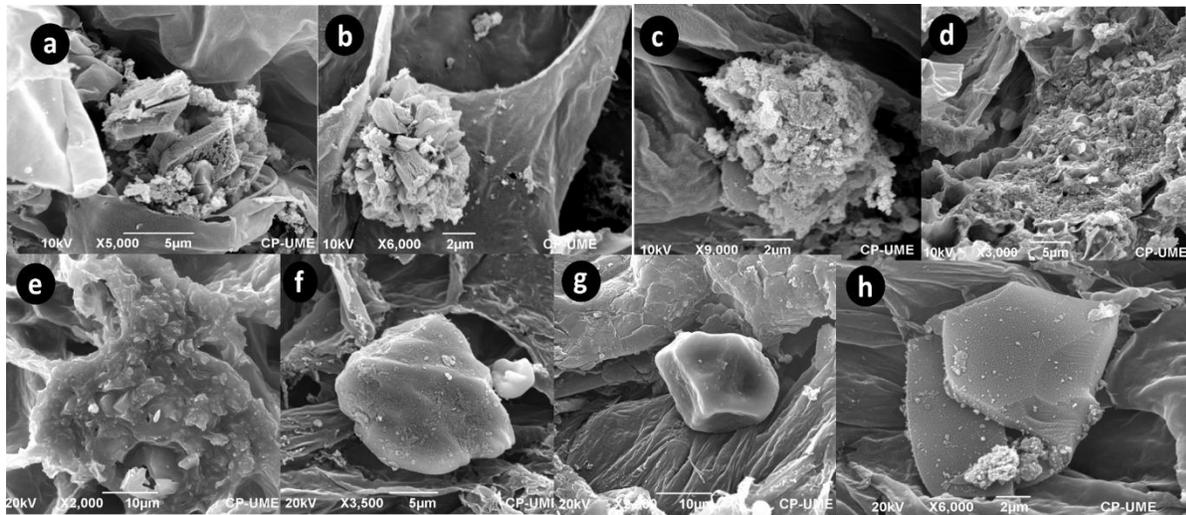
**Figura 3.3.** Densidad de drusas en tejido foliar de verdolaga (*P. oleracea*) tratada con un gradiente salino. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### 3.3.2 Microscopía electrónica de barrido y microanálisis elemental de Rayos-X

El análisis de las secciones transversales de hoja de *P. oleracea* mediante espectroscopia electrónica de barrido (SEM), mostró la presencia de cristales de oxalato de calcio (drusas) y otros cristales con composición variada distribuidos en secciones cercanas a los haces vasculares y parénquima lagunar (**Figuras 3.4 y 3.5**).



**Figura 3.4.** Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) de cortes transversales de plantas de verdolaga (*P. oleracea*) tratadas con 1 M NaCl. (a) Porciones del haz vascular con presencia de drusas (200X). (b) Haz vascular y drusa (600X). (c y d) Magnificación de drusa (5000X). (e) Microanálisis de rayos-X de la drusa.



**Figura 3.5.** Imágenes de SEM de varios cristales en hojas de *P. oleracea* asociados a parénquima lagunar. (a, b y c) Drusas. (d y e) Concreciones. (f, g y h) Bloques pseudo-prismáticos.

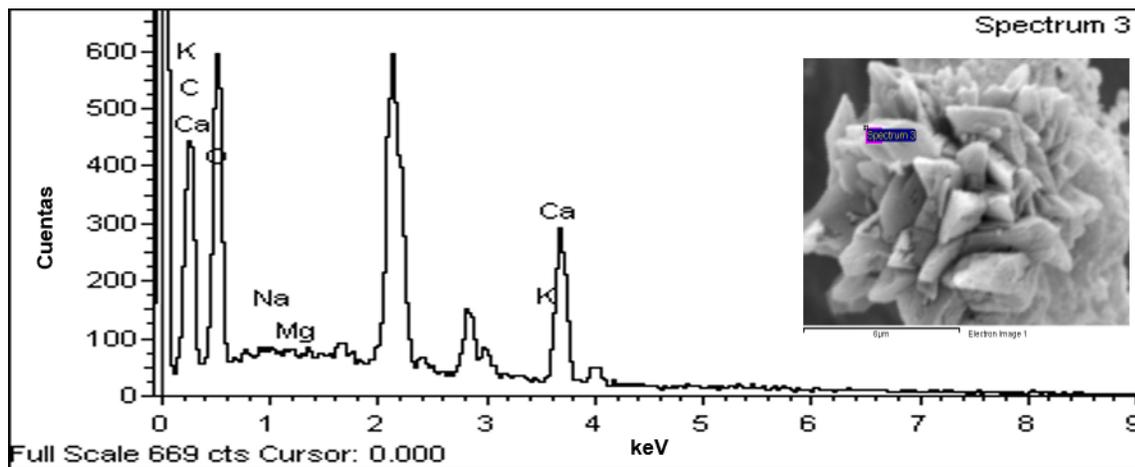
### 3.3.3 Composición elemental de cristales

Los resultados del microanálisis por rayos-X realizados en zonas del parénquima lagunar y estructura vascular de las hojas de *P. oleracea* mostraron que, la composición química de dichos cristales es variable (**Cuadro 3.1**).

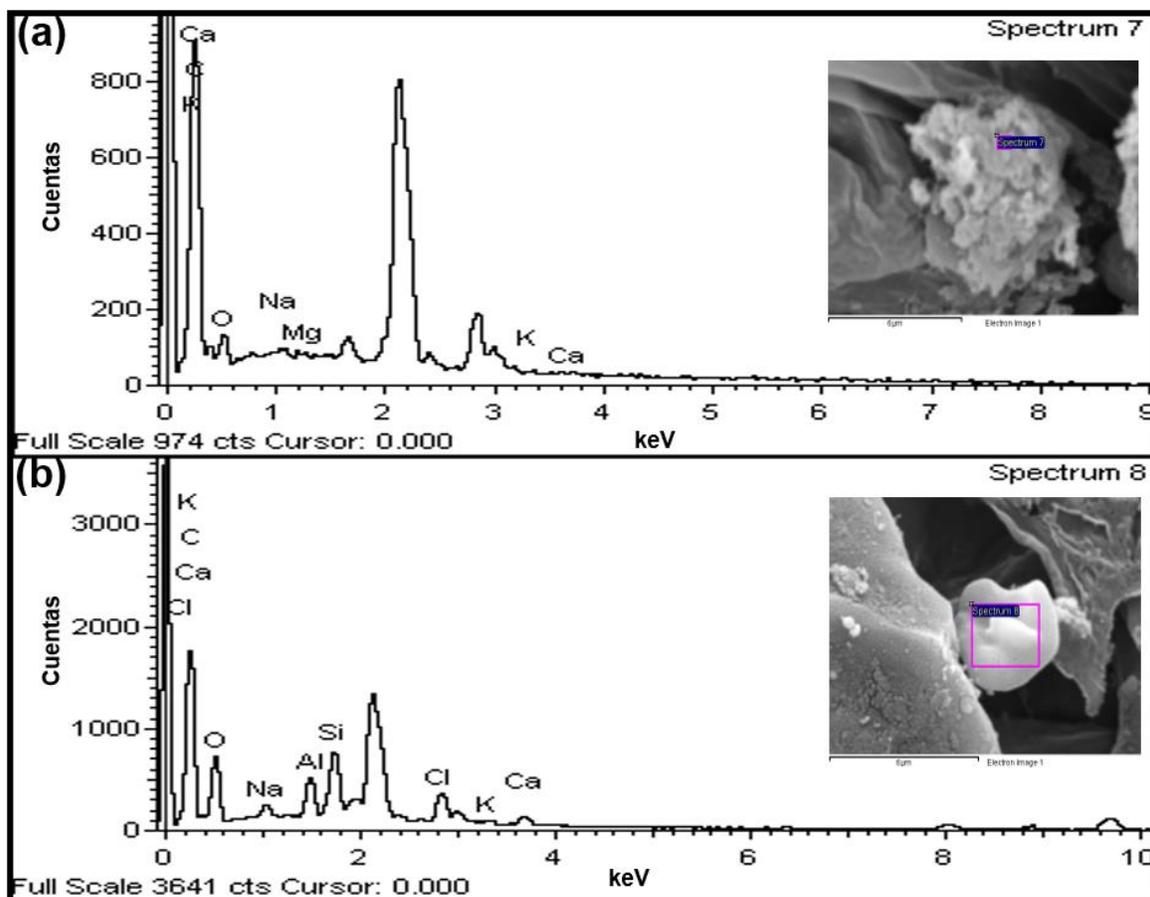
**Cuadro 3.1.** Composición elemental de estructuras cristalinas localizadas en parénquima lagunar de hojas de *P. oleracea* mediante microanálisis por rayos X.

Muestra	Elemento (peso %)								
	C	O	Na	Mg	Ca	Al	Si	Cl	K
Espectrum 2	57.57	29.30	2.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.16
Espectrum 3	52.72	30.99	3.28	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	3.46
Espectrum 8	51.58	37.46	1.39	0.00	1.23	2.84	4.46	0.65	0.39
Espectrum 9	0.00	45.22	3.82	0.00	6.07	13.88	0.00	0.00	0.00
Espectrum 10	24.12	50.48	0.85	0.00	24.14	0.40	0.00	0.00	0.00
Espectrum 11	16.77	58.41	0.54	0.00	24.29	0.00	0.00	0.00	0.00
Espectrum 12	11.26	51.85	0.68	0.00	36.22	0.00	0.00	0.00	0.00
Espectrum 13	26.52	50.47	0.96	0.00	22.05	0.00	0.00	0.00	0.00

Asimismo, las drusas analizadas mostraron una composición variable de oxalato de calcio (**Figura 3.6**) y sodio (**Figura 3.7**).

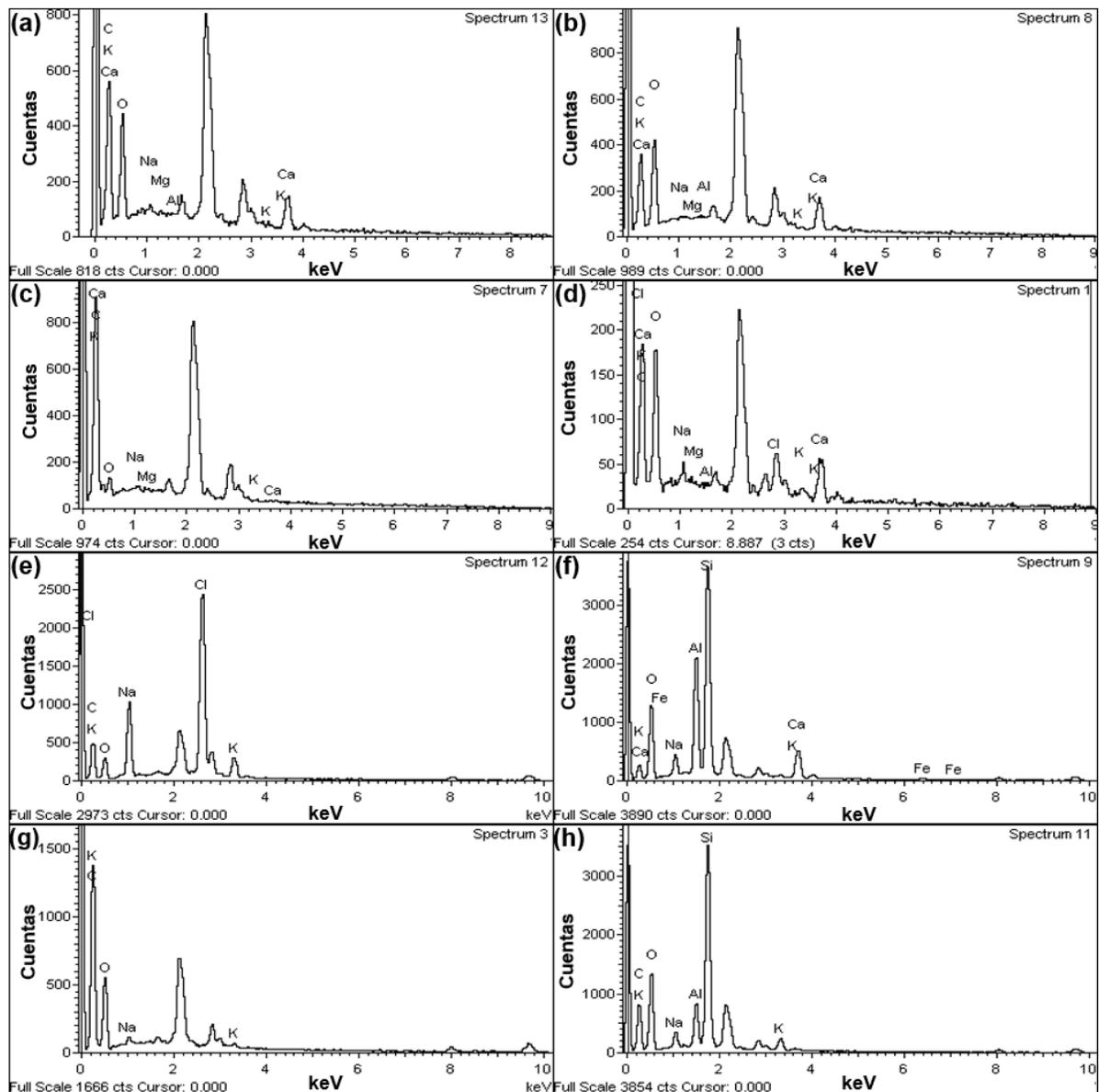


**Figura 3.6.** Composición elemental de drusas de oxalato de calcio localizada en parénquima lagunar de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).



**Figura 3.7.** Composición elemental de drusa de oxalato de calcio (a) y sodio (b) localizada en parénquima lagunar de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDS).

Los análisis realizados mediante EDS de rayos-X en paredes tejidos de hoja, mostraron que la mayor concentración de Na y Cl se encuentra en el parénquima lagunar y los haces vasculares, además de acumularse en pequeños cristales adsorbidos en la superficie de las membranas (**Figura 3.8**).

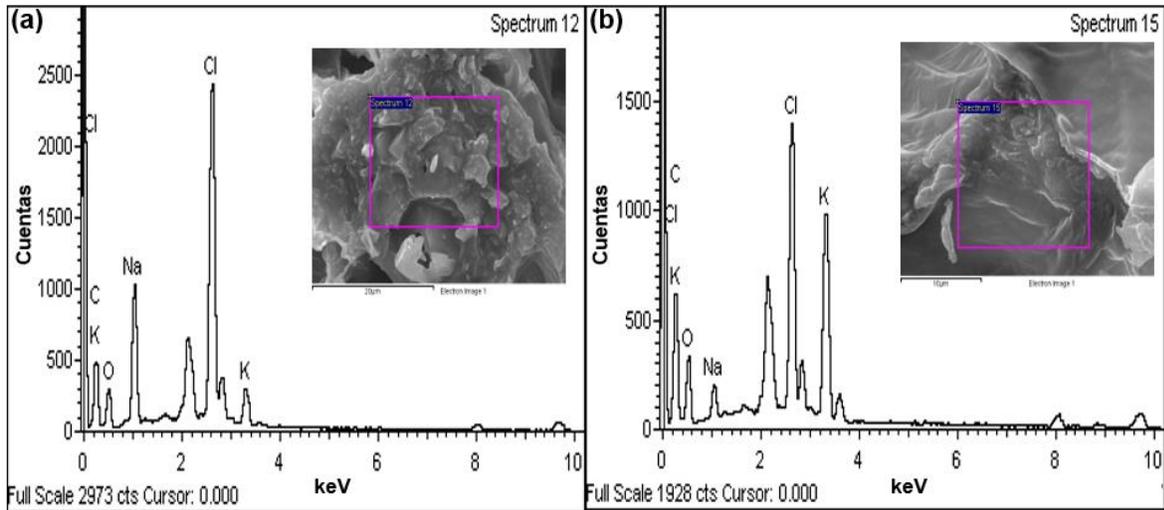


**Figura 3.8.** Espectros de EDS de cristales y diferentes áreas del parénquima lagunar en secciones transversales de hoja de *P. oleracea*. En a, b y c, los picos más altos corresponden a C, O y Ca como parte de la composición de oxalatos (correspondientes con los cristales de las Figuras 3.5a, 3.5b y 3.5c). En d y e los picos más altos corresponden a Na y Cl, los cuales forman cristales adheridos a algunas membranas (correspondientes con las Figuras 3.5d y 3.5e). En f, g y h se observan composiciones morfocristalinas más heterogéneas mostrando altos niveles de Si y K (correspondientes con los cristales de las Figuras 3.5f, 3.5g y 3.5h).

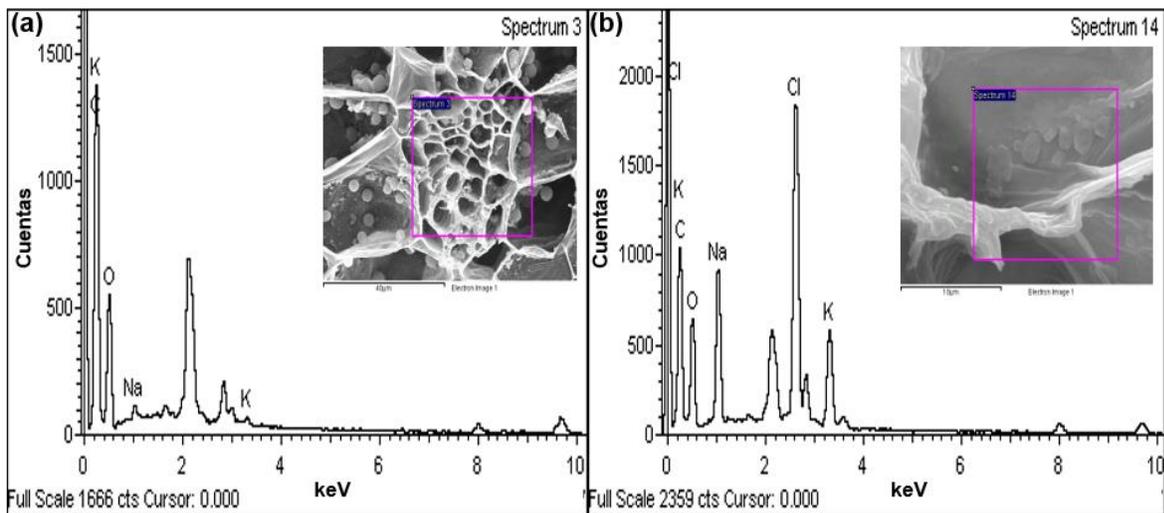
El análisis cristalográfico realizado sobre tejidos mediante EDS de rayos-X en cortes transversales de la hoja, mostró un mayor porcentaje en la proporción de Na y Cl además de Si y K en regiones del mesófilo (**Figuras 3.9a y 3.9b**), cercano a haces vasculares y membranas internas del parénquima lagunar (**Figuras 3.10a y 3.10b**) y sobre la cara adaxial cercana a los estomas (**Figuras 3.11a y 3.11b**), además de una composición elemental en la que el Ca se encuentra disminuido en su porcentaje (**Cuadro 3.2**).

**Cuadro 3.2.** Composición elemental tisular en hoja de *P. oleracea* mediante microanálisis por rayos X.

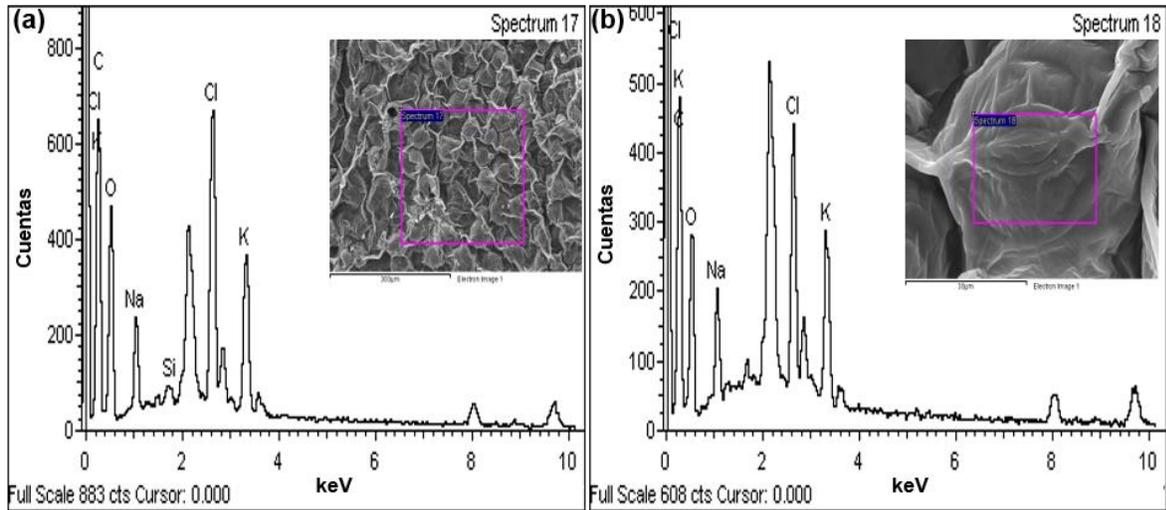
Muestra	Elemento (peso %)								Localización
	C	O	Na	Mg	Ca	Al	K	Cl	
Espectrum 2	13.27	55.18	0.00	0.00	31.56	0.00	0.00	6.97	Parénquima lagunar
Espectrum 3	73.73	24.93	1.34	0.00	0.00	0.00	0.00	9.05	Haz vascular
Espectrum 12	42.27	19.76	10.56	0.00	0.00	0.00	3.29	24.11	Mesófilo
Espectrum 14	43.24	30.76	7.76	0.00	0.00	0.00	4.86	13.39	Parénquima lagunar
Espectrum 15	42.13	27.09	2.20	0.00	0.00	0.00	13.38	15.20	Membrana interna
Espectrum 17	43.44	38.20	3.48	0.00	0.00	0.00	5.57	9.04	Cara adaxial
Espectrum 18	44.62	36.07	4.36	0.00	0.00	0.00	6.15	8.80	Cara adaxial



**Figura 3.9.** Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en parénquima lagunar (a) y en la región del mesófilo (b) en cortes transversales de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).



**Figura 3.10.** Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en haces vasculares (a) y en membrana interna del parénquima lagunar (b) en cortes transversales de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X (EDS).



**Figura 3.11.** Composición elemental de cristales de NaCl y micrografía por SEM, localizados en cara adaxial de la hoja (a) y área aladaña al estoma (b) en cortes transversales de hoja de *P. oleracea*. Imagen de SEM y análisis elemental mediante microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos- X.

### 3.4. DISCUSIÓN

#### 3.4.1. Cambios en la anatomía foliar

Uno de los efectos del estrés salino en la anatomía de las plantas, es la reducción de la división celular tanto en raíz como del vástago, lo que afecta también la expansión celular (Prado *et al.*, 2017). En este estudio se observó que el aumento de la dosis de NaCl en la solución nutritiva tiene un efecto lineal significativo en la reducción del área que ocupa el parénquima lagunar con respecto al testigo (**Figura 3.2a**), resultados similares han sido observados en los trabajos de Bijanzadeh y Emam (2015), quienes analizaron el adelgazamiento de las paredes del metaxilema y (Çavuşoğlu y Günes, 2015) en la epidermis en hojas de cebada. Además de la reducción del área del parénquima lagunar, altas concentraciones salinas, alteraron la arquitectura tisular del parénquima lagunar, comprimiendo sus paredes (**Figuras 3.2 y 3.3**), de manera coincidente Reginato *et al.* (2016) mencionan que la alta concentración salina, ocasiona la compresión del laminado celular del mesófilo, acortamiento de las células del clorénquima y reducción del diámetro del xilema. Así mismo se puede observar que en ambas micrografías (**Figura 3.7a y 3.7b**), hay presencia de cristales como parte de la estrategia que emplea la planta para biomineralizar compuestos e inmovilizarlos.

Un aspecto importante de la tolerancia al ambiente salino que desarrollan las plantas frente al estrés es la tolerancia tisular, de esta forma, aquellas plantas denominadas halófitas pueden mantenerse persistentes y completar su ciclo de vida en ambientes altamente estresantes, para lo cual hacen que sus órganos desarrollen la capacidad de mantener su metabolismo eficientemente mientras sus células y tejidos mantienen altas concentraciones de Na y Cl (Munns *et al.*, 2016). Sin embargo, la tolerancia tisular está acompañada de un mecanismo de segregación iónica en el cual altas concentraciones de iones que pueden resultar dañinos para el aparato metabólico son translocados a regiones de la raíz, tallo, hojas o frutos en donde se compartimentalizan (Polle y Chen, 2015). De esta manera la compartimentación de iones depende directamente del tipo de biomerización (proceso de formación de cristales) que la planta desarrolle.

La formación de estos biominerales, puede ser biológicamente inducida o controlada (De la Fuente *et al.*, 2018). En la mineralización biológicamente inducida, el organismo modifica su ambiente proximal y crea condiciones fisicoquímicas que favorecen la precipitación del mineral, sin embargo, el organismo tiene poco o nulo control sobre la localización, orientación, morfología y composición de los cristales. Por otro lado, cuando se refiere a mineralización biológicamente controlado, el organismo puede controlar la localización, nucleación, crecimiento, forma y tamaño de los cristales los cuales se regulan mediante proteolípidos y proteoglicanos (He *et al.*, 2014).

### **3.4.2. Cuantificación de Na<sup>+</sup> en secciones transversales de hoja de *P. oleracea* mediante microanálisis elemental por Rayos- X (EDS)**

Los análisis realizados en las muestras mediante SEM, revelaron que la mayor concentración de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, se ubica en los tejidos del parénquima lagunar en forma de concreciones (**Figura 3.5d y 3.5e**), así como en secciones cercanas a los haces vasculares (**Figura 3.10a**) y membranas internas del parénquima (**Figura 3.10b**), sobre la cara adaxial de la hoja (**Figura 3.11a**) y área de los estomas (**Figura 3.11b**). Esto hace suponer que una de las estrategias que emplea la planta para tolerar el estrés salino, involucra la absorción de iones mediante la raíz a través de canales iónicos no selectivos (NSCC) mediante la vía simplástica, parte del Na<sup>+</sup> intruído traspasa las células de la epidermis radical hacia el cortex a través de antiportadores SOS1 y queda alojado en el citoplasma a través de intercambiadores de la familia NHX ubicados en el tonoplasto, cuando se quiere disminuir el exceso de Na<sup>+</sup> bombas de protones H<sup>+</sup>-ATPasa y H<sup>+</sup>-APPasa generan el gradiente electroquímico potencial necesario para extruir el Na<sup>+</sup> excesivo y mediante antiportadores SOS1 es conducido al xilema, en el xilema el aumento de la transpiración conducen el exceso de Na<sup>+</sup> a las hojas o puede transferirlo al floema a través de canales HKT1 para conectarlo con el floema radical para su extrusión. Ya en hoja el Na<sup>+</sup> penetra el citoplasma de la célula con auxilio de los SOS1 y de ahí se va a la vacuola a través de los intercambiadores NHXs (Almeida, Oliveira y Saibo, 2017).

De esta manera, las concentraciones de  $\text{Na}^+$  fluctúan y se regulan gracias a la intervención de antiportadores, intercambiadores y canales para llevar el  $\text{Na}^+$  a xilema y de ahí traslocarlo y compartimentalizarlo en el parénquima lagunar donde no afecte la fotosíntesis como lo señala [Hasegawa et al. \(2000\)](#). Resultados similares han sido reportados por [Quintero et al. \(2008\)](#) donde bajo condiciones de sodio acumulado en Girasol, altas concentraciones de este elemento fueron translocadas al tejido aéreo; también se dio la acumulación de  $\text{Na}^+$  en apoplasto de la raíz en la misma especie ([Ebrahimi y Bhatla, 2012](#)). En *Nitraria tangutorum* se ha observado acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el espacio intercelular, pared celular y células corticales de la raíz ([Liu et al., 2014](#)); en hojas de *Tamarix ramosissima* se observó la compartimentalización de  $\text{Na}^+$  y sus efectos en el tonoplasto y membrana plasmática además de biomineralización en tejidos foliares ([Shuyskaya et al., 2017](#)); y en calabaza que la retención de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  se dió tejido del mesófilo como un mecanismo de tolerancia tisular ([Niu et al., 2018](#)).

Estudios descritos por [Lv et al. \(2012\)](#) en *Salicornia europea*, señalan que el órgano de mayor compartimentación fueron las hojas y la concentración de  $\text{Na}^+$  incrementó con la concentración del tratamiento, lo cual se observó de la misma manera en el presente experimento. En ambos casos se observó que la raíz no presentó ninguna estrategia de exclusión iónica, lo que podría suponer que la succulencia de las hojas es el principal recurso con el cual cuenta la planta para tolerar las condiciones de estrés. [Ogburn y Edwards \(2010\)](#) sugieren que en plantas halófitas a diferencia de otras angiospermas donde la succulencia tiene una función almacenadora en halófilas la succulencia tiene una propiedad diluyente por el agrandamiento vacuolar que se ha desarrollado como respuesta al estrés salino ([Males, 2017](#)). Dado que la succulencia se desarrolla en respuesta a la concentración salina del medio, se esperaría que, en el estudio de [Guevara et al. \(2019\)](#) hubiera una respuesta lineal positiva entre el incremento de la concentración salina y la biomasa fresca, lo cual no ocurre, sino de manera inversamente proporcional, lo que hace inferir que en el caso de *P. oleracea*, la succulencia más que tener un efecto diluyente de la concentración iónica, su principal función es de almacenamiento, así como estar asociada a mecanismos de tolerancia tisular como ocurre con las raíces en plantas de trigo ([Wu et al., 2015](#)).

### 3.4.3. Composición elemental de cristales compartimentalizados en tejidos foliares analizados mediante microanálisis por rayos-X EDS

Aunque parte de los iones absorbidos durante el experimento se acumularon mediante biomineralización y formaron diversas estructuras cristalinas en regiones celulares del parénquima lagunar, haces vasculares y superficie de la hoja, se infiere que uno de los mecanismos por los cuales *P. oleracea* inmoviliza los iones dañinos es mediante mineralización biológicamente inducida (**Figuras 3.5a-h**), de manera similar a los resultados obtenidos en el trabajo de [He et al. \(2012a\)](#).

El análisis de EDS, reveló que el elemento más abundante en forma precipitada fue el Ca lo cual podría limitar su asimilación por parte de la planta ([Prasad y Shivay, 2017](#)), por tanto, las drusas están formadas exclusivamente de oxalato de calcio (CaOX), lo que hace pensar que la planta sólo requiere de bajas cantidades de este ion para mantener su metabolismo ([He et al., 2012b](#)) incluso la regulación homeostática de Ca en la planta está ligada con la intervención de la Ca<sup>2+</sup>-ATPasa que desempeña un rol importante en la homeostasis activa de Ca<sup>2+</sup> en citoplasma ([Bonza y De Michelis, 2011](#)).

Bajo condiciones normales el Ca<sup>2+</sup> se encuentra distribuido en el citoplasma, sin embargo, en condiciones de estrés salino el Ca<sup>2+</sup> libre podría ser translocado a vacuolas y membranas intercelulares como estrategia de reserva, dado que el exceso de Na<sup>+</sup> altera la función de la Ca<sup>2+</sup>-ATPasa iniciando el proceso oxidativo ([Yuan, et al., 2015](#)). Dado que otros elementos que se encontraron como constituyentes de drusas fueron Si (posiblemente en forma de SiO<sub>4</sub>), Al (como AlO<sub>8</sub>) y K<sup>+</sup> (formando sulfato de potasio) (**Cuadro 3.1**), tienden a formar compuestos de reserva dado que su concentración solo depende de las dosis liberadas por la solución nutritiva.

Aquellas estructuras cristalinas amorfas denominadas como concreciones y bloques pseudo-prismáticos podrían incluir cristales de NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y oxalatos de sodio (NaOX); como lo reportan [De la Fuente et al. \(2018\)](#) al observar biomineralización de Ca en parénquima, NaCl en células de epidermis y cristales de Na, Cl y K en células colapsadas

de xilema en hojas de *Sarcocornia pruinoso*. Además, en este estudio se registraron altos porcentajes  $\text{Cl}^-$  en comparación con el  $\text{Na}^+$  (**Cuadro 3.2**), lo que puede indicar que la toxicidad del  $\text{NaCl}$  podría ser atribuible al efecto del  $\text{Cl}^-$  y no al  $\text{Na}^+$  que funge principalmente como elemento esencial dentro del metabolismo  $\text{C}_4$  de la planta (Maathuis, 2014; Lv *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012). *P. oleracea* es una planta de metabolismo  $\text{C}_4$ -CAM la cual es ventajosa en climas donde el  $\text{CO}_2$  tiende a ser limitante, lo que puede ocurrir en niveles altos de temperatura y en hábitats con déficits hídricos (Voznesenskaya *et al.*, 2010), cuando se expone a periodos largos de deshidratación, ocurre la disminución del metabolismo fotosintético como consecuencia de la disminución de la fijación neta de  $\text{CO}_2$  y de la actividad de la ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa/ oxigenasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa, ortofosfato de piruvato dicinasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (Lara *et al.*, 2004). Dado que los escasos de  $\text{CO}_2$  es latente en ambientes con estrés salino, la presencia de drusas y cristales con composición de oxalato sugiere que podrían servir de reservorio bioquímico así la planta puede formar cristales durante la noche y solubilizarlos durante el día, de esta manera la descomposición de estos cristales mediante la actividad del oxalato oxidasa en  $\text{CO}_2$  libre lo hace un recurso indispensable para la fotosíntesis (Tooulakou *et al.*, 2016).

La suma de los resultados obtenidos en esta investigación apunta a que el éxito evolutivo que presenta *P. oleracea*, está modulado por una combinación de efectos parentales y fenotípicos dentro de la generación como se han observado en estudios realizados por Moriuchi *et al.* (2016). Modificaciones postraduccionales de histonas y metilación del ADN están sujetas a cambios dinámicos en respuesta a estímulos endógenos y/o externos y pueden tener un impacto en la plasticidad fenotípica (Fortes y Gallusci, 2017). La plasticidad fenotípica es frecuente como parte de la adaptación a la heterogeneidad ambiental, aunque las respuestas pueden ser pasivas en lugar de adaptativas lo que sugiere que la evolución de la plasticidad adaptativa no se cumple o que tal evolución está impedida por las restricciones ambientales (van Kleunen y Fischer, 2004).

### 3.5. CONCLUSIONES

El conjunto de resultados que se observaron en este estudio hace inferir que *P. oleracea* es una planta con gran capacidad adaptativa tanto a ambientes con déficit hídrico, salino o ambos. La estrategia metabólica de la cual hace uso para eficientizar la fotosíntesis, así como la biomineralización y compartimentación de compuestos en vacuolas, haces vasculares y espacios intercelulares del parénquima lagunar, favorecen la utilización de osmoprotectantes para formar oxalatos los cuales sirven de reservorios de CO<sub>2</sub>. Si bien, altas concentraciones de NaCl afectan el área del parénquima lagunar compactando el espacio intercelular y disminuyendo el tamaño de las células, la planta tiende a compensar dicha afectación con un conjunto de estrategias metabólicas, bioquímicas y fisiológicas.

### 3.6. LITERATURA CITADA

- Alam A, Juraimi AJ, Rafii MY, Hamid AA. 2015. Effect of salinity on biomass yield and physiological and stem-root anatomical characteristics of purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions. *BioMed Research International*, 2015, Article ID 105695, 1-15. Doi: 10.1155/2015/105695
- Almeida DM, Oliveira MM, Saibo NJM. 2017. Regulation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genetics and Molecular Biolog.*, 40 (1suppl): 326-345.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0106>
- Bijanzadeh E, Emam Y. 2015. Effects of salt stress on root anatomy and hydraulic conductivity of barley cultivars. *Iran Agricultural Research*, 34(1): 71-79.
- Bonza MC, De Michelis MI. 2011. The plant Ca<sup>2+</sup>-ATPase repertoire: biochemical features and physiological functions. *Plant Biology*, 13(3): 421-430.
- Çavuşoğlu K, Güneş EH. 2015. Effects of humic acid pretreatment on some physiological and anatomical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.) Exposed To Salt Stress. *Bangladesh Journal of Botany*, 44(4): 591-598. Doi: 10.3329/bjb.v44i4.38595
- De la Fuente V, Rufo L, Sánchez GI, Ramírez E, Rodríguez N, Amils R. 2018. Plant tissues and embryos biominerals in *Sarcocornia pruinosa*, a halophyte from the Río Tinto salt marshes. *Minerals*. 8(11): 505. 1-14. Doi: 10.3390/min8110505
- Ebrahimi R, Bhatla SC. 2012. Ion distribution measured by electron probe X-ray microanalysis in apoplastic and symplastic pathways in root cells in sunflower plants grown in saline medium. *Journal of Biosciences*, 37(4): 713–721. Doi: 10.1007/s12038-012-9246-y
- El-Lamey TM. 2015. Morphological and anatomical responses of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. and *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz to RasSudr Conditions. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 5(7): 43-51.
- Fortes AM, Gallusci P. 2017. Plant stress responses and phenotypic plasticity in the epigenomics era: perspectives on the grapevine scenario, a model for perennial crop plants. *Frontiers in Plant Science*, 8: 82. Doi: 10.3389/fpls.2017.00082
- Gupta B, Huang B. 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 1-18. Doi: 10.1155/2014/701596
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.
- He H, Bleby TM, Veneklaas EJ, Lambers H, Kuo J. 2012a. Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia robeorum* (Leguminosae: Mimosoideae). *Annals of Botany*, 109(5): 887-896. Doi: 10.1093/aob/mcs004
- He H, Bleby TM, Veneklaas EJ, Lambers H, Kuo J. 2012b. Precipitation of Calcium, Magnesium, Strontium and Barium in tissues of four *Acacia* Species (Leguminosae: Mimosoideae). *PLoS ONE*, 7(7): e41563. Doi: 10.1371/journal.pone.0041563

- He H, Veneklaas EJ, Kuo J, Lambers H. 2013. Physiological and ecological significance of biomineralization in plants. *Trends in Plant Science*, 19 (3): 166-174. Doi: 10.1016/j.tplants.2013.11.002
- Juwarno, Samiyarsih S. 2017. Anatomical and molecular responses of soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) due to salinity stresses. *Molekul*, 12(1): 45-52. Doi: 10.20884/1.jm.2017.12.1.255
- Lara VM, Drincovich M, Andreo CS. 2004. Induction of a Crassulacean Acid-like Metabolism in the C4 Succulent Plant, *Portulaca oleracea* L.: Study of Enzymes Involved in Carbon Fixation and Carbohydrate Metabolism. *Plant Cell Physiology* 45(5): 618-626.
- Liu W, Yuan X, Zhang Y, Xuan Y, Yan Y. 2014. Effects of salt stress and exogenous Ca<sup>2+</sup> on Na<sup>+</sup> compartmentalization, ion pump activities of tonoplast and plasma membrane in *Nitraria tangutorum* Bobr. Leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(8): 2183-2193. Doi: 10.1007/s11738-014-1595-8
- Lv S, Nie L, Pengxiang Fan P, Wang X, Jiang D, Chen X, Li Y. 2011. Sodium plays a more important role than potassium and chloride in growth of *Salicornia europaea*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(2): 503-513. Doi: 10.1007/s11738-011-0847-0
- Lv S, Jiang P, Chen X, Fan P, Wang X, Li Y. 2012. Multiple compartmentalization of sodium conferred salt tolerance in *Salicornia europaea*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51: 47-52. Doi: 10.1016/j.plaphy.2011.10.015
- Maathuis FJM. 2014. Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany*, 65(3): 849-858. Doi: 10.1093/jxb/ert326
- Mageed TAA, Semida WM, Mohamed GF, Radyc MM. 2016. Combined effect of foliar-applied salicylic acid and deficit irrigation on physiological–anatomical responses, and yield of squash plants under saline soil. *South African Journal of Botany*, 106: 8-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2016.05.005>
- Males J. 2017. Secrets of succulence. *Journal of Experimental Botany*, 68 (9): 2121-2134. Doi: 10.1093/jxb/erx096
- Mansour MMF, Salama KHA, Al-Mutawa MM, Transport proteins and salt tolerance in plants, *Plant Sci.* 164. 891–900.
- Moriuchi KS, Friesen ML, Cordeiro MA, Badri M, Vu TW, Main BJ, Aouani ME, Nuzhdin SV, Strauss SY, Von Wettberg EJB. 2016. Salinity adaptation and the contribution of parental environmental effects in *Medicago truncatula*. *PLoS ONE*, 11(3): e0150350. Doi: 10.1371/journal.pone.0150350
- Munns R, James RA, Gilliam M, Flowers TJ, Colmer TD. 2016. Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops. *Functional Plant Biology*. 43: 1103-1113. <http://dx.doi.org/10.1071/FP16187>
- Niu M, Xie J, Chen C, Cao H, Sun J, Kong Q, Shabala S, Shabala L, Huang Y, Bie Z. 2018. An early ABA-induced stomatal closure, Na<sup>+</sup> sequestration in leaf vein and K<sup>+</sup> retention in mesophyll confer salt tissue tolerance in Cucurbita species. *Journal of Experimental Botany*, 69(20): 4945-4960. Doi: 10.1093/jxb/ery251
- Ogburn RM, Edwards EJ. 2012. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. *Plant Cell and Environment*, 35(9): 1533-1542. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02503.x
- Polle A, Chen S. 2015. On the salty side of life: molecular, physiological and anatomical adaptation and acclimation of trees to extreme habitats. *Plant, Cell and Environment*, 38(9): 1794-1816. Doi: 10.1111/pce.12440

- Prado FE, Hilal MB, Alborno PL, Gallardo MG, Ruiz VE. 2017. Anatomical and physiological responses of four quinoa cultivars to salinity at seedling stage. *Indian Journal of Science and Technology*, 10(8): 1-13. Doi: 10.17485/ijst/2017/v10i8/93709
- Prasad R, Shivay YS. 2017. Oxalic acid/oxalates in plants: from self-defence to phytoremediation. *Current Science*, 112(8): 1665-1667. Doi: 10.18520/cs/v112/i08/1665-1667
- Quintero JM, Fournier JM, Benlloch M, Rodríguez NA. 2008. Na<sup>+</sup> accumulation in root symplast of sunflower plants exposed to moderate salinity is transpiration-dependent. *Journal of Plant Physiology* 165(12): 1248-1254. Doi: 10.1016/j.jplph.2007.08.011
- Rahat QU, Hameed M, Aqeel MS. 2019. Contribution of root structural and functional features towards salinity tolerance in *Diplachne fusca* (L.) P. Beauv. Ex Roem. & Schult. Subsp. Fusca. *Pakistan Journal of Botany*, 51(3): 773-779. Doi: 10.30848/PJB2019-3(2).
- Rahnama A, Poustini K, Afshari TR, Ahmadi A, Alizadeh H. 2011. Growth properties and ion distribution in different tissues of bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) differing in salt tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(1): 21-30.
- Reginato M, Travaglia C, Reinoso H, Garello F, Luna V. 2016. Salt mixtures induce anatomical modifications in the halophyte *Prosopis strombulifera* (Fabaceae: Mimosoideae). *Flora*, 218: 75-85. Doi: 10.1016/j.flora.2015.11.008
- Rouphael Y, De Micco V, Arena C, Raimondi G, Colla G, De Pascale S. 2017. Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. *Journal of Applied Phycology*, 29(1): 459-470. Doi: 10.1007/s10811-016-0937-x
- SAS Institute Inc 2002. SAS<sup>®</sup> system for Microsoft<sup>®</sup> Windows<sup>®</sup> v. 9.00. NC. USA.
- Shuyskaya EV, Rakhankulova ZF, Lebedeva MP, Kolesnikov AV, Safarova A, Borisochkina TI, Toderich KN. 2017. Different mechanisms of ion homeostasis are dominant in the recretahalophyte *Tamarix ramosissima* under different soil salinity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: 81. 1-13. Doi: 10.1007/s11738-017-2379-8
- Tooulakou G, Giannopoulos A, Nikolopoulos D, Bresta P, Dotsika E, Orkoula MG, Kontoyannis CG, Fasseas C, Liakopoulos G, Klapa MI, Karabourniotis G. 2016. Alarm photosynthesis: Calcium oxalate crystals as an Internal CO<sub>2</sub> source in plants. *Plant Physiology*, 171: 2577-2585. Doi: 10.1104/pp.16.00111
- Van Kleunen M, Fischer M. 2004. Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 166(1): 49-60. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01296.x
- Voznesenskaya EV, Koteyeva NK, Edwards GE, Gilberto Ocampo G. 2010. Revealing diversity in structural and biochemical forms of C<sub>4</sub> photosynthesis and a C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> intermediate in genus *Portulaca* L. (Portulacaceae). *Journal of Experimental Botany*, (61):13. 3647-3662. Doi: 10.1093/jxb/erq178
- Wang D, Wang H, Han B, Wang B, Guo A, Zheng D, Liu Ch, Chang L, Peng M, Wang X. 2012. Sodium instead of potassium and chloride is an important macronutrient to improve leaf succulence and shoot development for halophyte *Sesuvium*

- portulacastrum*. Plant Physiology and Biochemistry, 51: 53-62. Doi: 10.1016/j.plaphy.2011.10.009
- Wu H, Shabala L, Liu X, Azzarello E, Zhou M, Pandolfi C, Hua ZC, Bose J, Mancuso S, Shabala S. 2015. Linking salinity stress tolerance with tissue-specific Na<sup>+</sup> sequestration in wheat roots. Frontiers in Plant Science 6, 71. Doi: 10.3389/fpls.2015.00071
- Wu H. 2018. Plant salt tolerance and Na<sup>+</sup> sensing and transport. The Crop Journal, 6(3): 215-225. Doi: 10.1016/j.cj.2018.01.003
- Yuan L, Zhu S, Shu S, Sun J, Guo S. 2015. Regulation of 2,4-epibrassinolide on mineral nutrient uptake and ion distribution in Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stressed cucumber plants. Journal of Plant Physiology, 188: 29-36.
- Zouhaier B, Abdallaha A, Najlaa T, Wahbia D, Widedc C, Aouatefd AB, Chedlya A, Abderazzaka S. 2015. Scanning and transmission electron microscopy and X-ray analysis of leaf salt glands of *Limoniastrum guyonianum* Boiss. under NaCl salinity. Micron, 78. 1-9. Doi: 10.1016/j.micron.2015.06.001

## CONCLUSIONES GENERALES

*Suaeda mexicana* y *Portulaca oleracea* son plantas que mostraron ser tolerantes al estrés salino en muchos aspectos. Aunque la primera tiene un metabolismo C3 y la segunda C4, ambas, poseen cierta ventaja para adaptarse al estrés iónico e hídrico. Los experimentos en los que se empleó cloruro de calcio, sulfato de sodio y cloruro de sodio para evaluar la germinación de sus semillas y efecto en sus plántulas, mostraron que las sales de calcio y los sulfatos, afectan en mayor medida la germinación y el desarrollo de estas especies, atribuido posiblemente a que en suelos agrícolas es poco habitual encontrar altas concentraciones de estos iones y en su defecto, estas plantas podrían haber coevolucionado adaptándose a suelos sódicos. Las respuestas morfológicas y bioquímicas de verdolaga son contundentes al evidenciar que su exposición a concentraciones superiores a 0.50 M de NaCl altera de manera significativa su desarrollo y metabolismo. Si bien el estrés salino condiciona la adquisición de los elementos esenciales como ocurre en la mayoría de las plantas, *P. oleracea* experimenta el mismo déficit en concentraciones superiores a 0.50 M, por lo que concentraciones salinas inferiores no alteran significativamente su homeostasis nutricional. Las observaciones realizadas en las variables de conductancia estomática, transpiración y radiación fotosintéticamente activa, demostraron que la planta cuenta con numerosos recursos para mantener el equilibrio dinámico en su desempeño metabólico, por ello, no existió correlación entre las variables fisiológicas y morfológicas, esto presupone una gran eficiencia fotosintética en condiciones de aparente estrés salino e hídrico. Finalmente, se pudo observar que, aunado a los mecanismos de tolerancia bioquímica, fisiológica y morfológica, a nivel anatómico *P. oleracea*, emplea mecanismos de tolerancia tisular y biomineralización para inmovilizar el sodio potencialmente dañino al incluirlo en drusas y otras estructuras cristalinas para translocarlo a regiones alejadas de tejidos fotosintéticamente activos. Elementos como los mostrados en esta investigación confirman que tanto verdolaga como romerito, son buenas opciones de cultivo para ser producidas en regiones con características ambientales adversas y como cultivos con potencial alimenticio bajo condiciones de estrés ambiental inminente.