

Tesis doctoral

Respuestas fisiológicas de plántulas de *Prosopis alba* G. sometidas a estrés salino

Physiological responses of Prosopis alba G. seedlings under saline stress

Universidad Nacional de Santiago del Estero

Facultad de Ciencias Forestales

Directora: Dra. Graciela Bolzón¹ Codirectora: Dra. Diolina Moura Silva²

Meloni, D. A.³

RESUMEN

Entre los estreses abióticos, la salinidad constituye una de las principales limitantes en la producción vegetal, tanto en biomasa como en área foliar. Aproximadamente la quinta parte de las 2.800 millones de hectáreas cultivables del planeta están afectadas por la salinidad, situación que tiende a agravarse.

Las especies del género *Prosopis* resultan muy interesantes para la restauración de áreas degradadas afectadas por procesos de salinización, ya que son altamente tolerantes al estrés salino, y presentan maderas con excelentes propiedades físicas y mecánicas.

El algarrobo blanco (*Prosopis alba* G.) es una especie arbórea de importancia forestal del Chaco Occidental, empleada en mueblería y carpintería, que presenta frutos aptos para el consumo humano y como forraje. Habita las zonas bajas más húmedas en las sabanas con suelos arenosos, formando cinturones alrededor de las depresiones salinas.

Si bien el algarrobo blanco es considerado tolerante al estrés salino, no se conocen los umbrales para su germinación, ni los mecanismos fisiológicos involucrados en su adaptación a dichas condiciones. Tal información resulta relevante a la hora de realizar un programa de mejoramiento genético.

En esta tesis se pusieron a prueba las siguientes hipótesis:

- En *P. alba* el umbral para la germinación de semillas es de 600 mM de NaCl, y para el crecimiento de plántulas 500 mM de NaCl.
- *P. alba* realiza ajuste osmótico, mediante la síntesis de solutos osmocompatibles.
- Altas concentraciones salinas (500 mM de NaCl) disminuyen los niveles de Ca^{+2} , K^{+} , NO_3^{-} y la actividad de la enzima nitrato reductasa en plántulas de *Prosopis alba*.
- El estrés salino produce alteraciones en la etapa fotoquímica de la fotosíntesis, que pueden detectarse mediante cambios en las variables de fluorescencia transiente de la clorofila *a*.
- El estrés salino incrementa la concentración de carotenoides en hojas.
- El NaCl inhibe la asimilación del CO_2 .

¹ Ing. Forestal (Universidad Nacional de Santiago del Estero). Dra. en Ingeniería Forestal (Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, Brasil.

² Bióloga (Universidade Federal do Espírito Santo). Dra. en Fisiología Vegetal (Universidade Federal de Viçosa). Brasil.

³ Tesista. Ing. Forestal. Tesis presentada como requisito para obtener el grado de Doctor en Ciencias Forestales. Año 2014. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero. Av. Belgrano 1912 (s). 4200 Santiago del Estero. Argentina. E-mail: dmeloni@unse.edu.ar.

El objetivo general fue evaluar las respuestas fisiológicas de plántulas de *Prosopis alba* sometidas a estrés salino.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar los umbrales de concentración de NaCl para la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *P. alba*.
- Evaluar el comportamiento de las relaciones hídricas en plántulas de *P. alba* sometidas a estrés salino con NaCl.
- Evaluar la respuesta de la composición mineral e indicadores del metabolismo del nitrógeno, en plántulas de *Prosopis alba* sometidas a estrés salino con NaCl.
- Determinar el efecto del estrés salino sobre las etapas fotoquímica y bioquímica del proceso fotosintético, en plántulas de *P. alba*.

Se hicieron ensayos de germinación, en cámara de crecimiento a 25⁰C y 12 horas de fotoperíodo, determinándose porcentaje de semillas germinadas y tiempo medio de germinación.

Se realizaron ensayos en cultivos hidropónicos, determinándose crecimiento, potenciales hídrico, osmótico y de presión, ajuste osmótico, contribución de solutos orgánicos e inorgánicos al ajuste osmótico, relaciones de iones y actividad nitrato reductasa.

Se efectuaron ensayos en invernáculo, en los que se efectuaron mediciones de emisión de fluorescencia, e intercambio gaseoso.

Los resultados de germinación se analizaron con test no paramétrico de Kruskal Wallis; las otras variables se analizaron con ANOVA y Test de Tukey.

P. alba fue más tolerante a la salinidad en la etapa de germinación que en el crecimiento de plántulas, siendo los umbrales de 600 y 500 mM de NaCl, respectivamente.

Bajo condiciones de estrés salino severo, *P. alba* fue capaz de disminuir su potencial osmótico, y así su potencial hídrico, manteniendo constante la turgencia. De esta manera el crecimiento no fue afectado como consecuencia de un déficit hídrico producido por el bajo potencial osmótico de la solución externa.

Los resultados de este trabajo demuestran que *P. alba* tiene un eficiente mecanismo adaptativo, que le permite tolerar elevados niveles de salinidad a través del mantenimiento de un buen estado hídrico de sus hojas y un efectivo ajuste osmótico (AO).

La concentración de prolina se mantuvo constante en las hojas, y su participación en el AO fue mínima. En contraste, pese a que la concentración de azúcares solubles también se mantuvo constante, en todos los tratamientos, fue el soluto que más contribuyó a la generación de osmolaridad.

De los solutos orgánicos estudiados en este trabajo, la GB resultó el único que se incrementó como respuesta a la salinidad, aumentando su contribución en la osmolaridad. Si se almacenó en el citoplasma, que normalmente ocupa el 10% del volumen celular, su concentración de 100 mmol kg⁻¹ de agua, observada en la máxima concentración salina, se incrementaría 10 veces, alcanzando valores de 1000 mM.

A medida que aumentó la concentración salina en la solución nutritiva, se incrementó la contribución de los solutos inorgánicos a la osmolaridad, principalmente Na⁺ y Cl⁻, y disminuyó el aporte de los solutos orgánicos.

P. alba limitó la acumulación de Na⁺ en la parte aérea, almacenándolo principalmente en las raíces, que presentaron concentraciones de Na⁺ muy superiores a las hojas. La exclusión del Cl⁻ fue más notoria en las hojas que en las raíces, alcanzando concentraciones menores que las de Na⁺.

Pese a que el NaCl disminuyó las concentraciones de K^+ en raíces y hojas a partir del cuarto día de tratamiento, éstas se mantuvieron elevadas a cabo de los 7 días de ensayo. Una respuesta similar se observó en las concentraciones de Ca^{+2} y Mg^{+2} .

La nitrato reductasa (NR- EC 1.6.6.1.) es la primera enzima en la ruta de reducción del nitrato, para su posterior asimilación. La actividad NR se incrementó durante los primeros días de estrés, por desfosforilación de la proteína. En períodos mayores de exposición al estrés la NR fue inhibida debido a la disminución en las concentraciones de nitrato.

Las etapas fotoquímica y bioquímica de la fotosíntesis fueron inhibidas por el estrés salino. Los pasos de la cascada de energía limitados por 100 mM de NaCl fueron la absorción de luz (RC/ABS), y la transferencia de electrones desde la Q_A^- hacia el intersistema (ΨE_0). Como consecuencia, se produjo una disminución en los índices de desempeño PI_{abs} y PI_{total} .

En 500 mM el impacto sobre RC/ABS y ΨE_0 fue más drástico, y además se inhibió la eficiencia cuántica máxima de la fotoquímica primaria (ϕP_0), y la transferencia de electrones desde el intersistema hasta los aceptores finales del FSI (δR_0). Como consecuencia de los bajos valores de δR_0 , PI_{total} fue menor que PI_{abs} .

El estrés salino aumentó la concentración de carotenoides, en especial luteína y zeaxantina, que experimentaron incrementos cercanos al 250% en las plantas crecidas en presencia de 500 mM de NaCl, con respecto al testigo. Estos carotenoides están involucrados en la protección del aparato fotosintético en la membrana tilacoidal, y formarían parte de una estrategia para tolerar altas concentraciones salinas.

El estrés salino produjo una disminución significativa en la fotosíntesis neta y la conductancia estomática; pese a ello la concentración interna de CO_2 se mantuvo constante. Estos resultados, y la disminución en la eficiencia de la carboxilación, demuestran que en condiciones de estrés salino la fotosíntesis no estuvo limitada por la concentración interna de CO_2 . El comportamiento de la etapa fotoquímica sugiere que la inhibición de la fotosíntesis fue consecuencia de la menor producción de NADPH y ATP.

El conocimiento de los procesos fisiológicos es la base del mejoramiento genético de una especie. La propuesta de variables sensibles al estrés, que permitan la selección de genotipos tolerantes a estas condiciones, constituye un desafío para la Fisiología Vegetal. De las variables estudiadas, el índice de desempeño total (PI_{total}), obtenido a partir del test JIP de la curva de emisión de fluorescencia de la clorofila a , es fácil de determinar con equipos portátiles, que pueden ser llevados al campo. Esta técnica además insume poco tiempo, no es destructiva y suministra información relacionada con todo el proceso fotosintético, y algunas variables asociadas al metabolismo del nitrógeno. Debido a que estos dos procesos metabólicos determinaron el umbral de crecimiento de la especie, resulta de interés profundizar los estudios de fluorescencia en condiciones de laboratorio y de campo. De esta manera se analizaría la factibilidad de utilizarlo para la selección de individuos tolerantes a la salinidad, en programas de mejoramiento genético.

