

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final para optar al Grado de Ingeniero Agrónomo

Modalidad: Proyecto

**Papel del ácido abscísico en las respuestas a salinidad en una
leguminosa halófito con tolerancia diferencial a NaCl y
Na₂SO₄**

Alumno: Pablo Jesús Pinamonti

DNI: 34.966.183

Director: Dra Analía Llanes

Co-Director: Dra Virginia Luna

Río Cuarto, Córdoba, Argentina

Octubre de 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: **Papel del ácido abscísico en las respuestas a salinidad en una leguminosa halófito con tolerancia diferencial a NaCl y Na₂SO₄**

Autor: Pablo Jesús Pinamonti

DNI: 34.966.183

Director: Dra. Analía Llanes

Co-Director: Dra. Virginia Luna

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la
Comisión Evaluadora:

Lic. Mercedes Ibáñez _____

Dra. Rosana Malpassi _____

Dra. Analía Llanes _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

Dedicada especialmente y con mucho cariño a mis padres, Graciela y Oscar, por el sacrificio y esfuerzo continuo para que pueda forjar mi futuro sobre cimientos fuertes.

A mis abuelos, Lucía y Ángel, Inés y Héctor, por darme apoyo incondicional y ser lucero que guía en la dirección correcta.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a la Universidad Nacional De Río Cuarto por haberme dado la posibilidad de ser parte de la institución en estos años y de poder graduarme dando por finalizado un ciclo y comienzo de otro lleno de ilusiones.

Al laboratorio de Fisiología Vegetal de la UNRC por recibirme con los brazos abiertos ayudándome en cada paso en la realización de este trabajo final de grado.

A la Doc. Analía Llanes, directora de este trabajo, por la calidez y simpatía que la caracteriza y su gran predisposición sin importar lugar y hora.

A la Doc. Virginia Luna por brindarme un lugar en su equipo de trabajo para poder llevar a cabo la realización de este trabajo.

A mi familia, principalmente a mis padres Graciela Bonessi y Oscar Pinamonti por el esfuerzo y apoyo en los buenos momentos pero también en las situaciones difíciles. Por siempre estar presente se los agradezco de corazón.

A mis amigos, por siempre sacarme una sonrisa, por los momentos compartidos y los que vendrán. Por brindarme una mano cada vez que la necesite, siempre estarán presentes.

A un amigo que se convirtió en un hermano, Agustín Sardoy. Recorrimos este camino por la universidad y colaboraste en este trabajo. Eternos momentos vividos que quedaran en la memoria de los recuerdos imborrables.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo	1
La salinidad es un fenómeno mundial	3
Efecto de la salinidad sobre los cultivos	4
Estrés salino: plantas halófitas y glicófitas	5
La salinidad y el ABA (Ácido Abscísico)	6
Biosíntesis del ABA	6
Inhibidores de la síntesis de ABA	9
Funciones generales del ABA	11
ABA y el estado hídrico de las plantas	12
<i>Prosopis strombulifera</i> , un modelo para estudiar la tolerancia a salinidad	13
Hipótesis	15
Objetivo general	16
Objetivos específicos	16

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de plantas en medio hidropónico	17
Determinación de variables de crecimiento	19
Determinación de la biomasa radical y parte aérea	19
Cuantificación de la transpiración	19
Determinación de carbohidratos solubles totales	20
Análisis estadístico	20

III. RESULTADOS

Longitud de raíces	22
Altura total	25
Número de hojas	30
Biomasa radical	36
Biomasa parte aérea	37
Contenido de agua en raíces	39
Contenido de agua en parte aérea	40
Transpiración	42
Carbohidratos en raíces	45
Carbohidratos en hoja	48

IV. DISCUSIÓN	51
---------------	----

V. BIBLIOGRAFÍA	57
-----------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

Figura 1: Principales causas de salinización de los suelos	2
Figura 2: Disminución porcentual del rendimiento de cultivos en suelos salinos	4
Figura 3: Respuesta de crecimiento de varias especies vegetales ante la salinidad	6
Figura 4: Caminos de la biosíntesis de ABA	8
Figura 5: Biosíntesis de ABA	10
Figura 6: Planta de <i>Prosopis strombulifera</i>	15

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 7: Cultivo de <i>P. strombulifera</i> en medio hidropónico	18
Figura 8: Plantas de <i>P. strombulifera</i> en sistema de medición de transpiración	20
Figura 9: Curva patrón de cuantificación de carbohidratos solubles	21

III. RESULTADOS

Figura 10: Longitud de raíz, potenciales osmóticos -0,03 y -1 MPa	22
Figura 11: Longitud de raíz, potencial osmótico -1,71 MPa	23
Figura 12: Longitud de raíz, potencial osmótico -2,06 MPa	24
Figura 13: Longitud de raíz, potencial osmótico -2,6 MPa	25
Figura 14: Altura total, potencial osmótico -0,03 MPa	26
Figura 15: Altura total, potencial osmótico -1 MPa	27
Figura 16: Altura total, potencial osmótico -1,71 MPa	28
Figura 17: Altura total, potencial osmótico -2,06 MPa	29
Figura 18: Altura total, potencial osmótico -2,6 MPa	30
Figura 19: Número de hojas, potencial osmótico -0,03 MPa	31
Figura 20: Número de hojas, potencial osmótico -1 MPa	32
Figura 21: Número de hojas, potencial osmótico -1,71 MPa	33
Figura 22: Número de hojas, potencial osmótico -2,06 MPa	34
Figura 23: Número de hojas, potencial osmótico -2,6 MPa	35
Figura 24: Transpiración, potencial osmótico -1 MPa	42
Figura 25: Transpiración, potencial osmótico -1,88 MPa	43
Figura 26: Transpiración, potencial osmótico -2,6 MPa	44
Figura 27: Contenido de carbohidratos en raíces, potencial osmótico -1 MPa	45
Figura 28: Contenido de carbohidratos en raíces, potencial osmótico -1,88 MPa	46
Figura 29: Contenido de carbohidratos en raíces, potencial osmótico -2,6 MPa	47
Figura 30: Contenido de carbohidratos en hoja, potencial osmótico -1 MPa	48

Figura 31: Contenido de carbohidratos en hoja, potencial osmótico -1,88 MPa	49
Figura 32: Contenido de carbohidratos en hoja, potencial osmótico -2,6 MPa	50

ÍNDICE DE CUADROS

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Cuadro 1: Cronograma de pulsos salinos	18
--	----

III. RESULTADOS

Cuadro 2: Biomasa radical	37
Cuadro 3: Biomasa parte aérea	38
Cuadro 4: Contenido de agua en raíces	40
Cuadro 5: Contenido de agua en parte aérea	41

RESUMEN

La salinidad es un fenómeno que tiene múltiples causas y que afecta a millones de ha en el mundo. Argentina, no está exento del mismo, la cual tiene aproximadamente 34 millones de ha sometidas a exceso de sales. El principal impacto de la salinidad se da en la disminución de la producción y rendimiento de los cultivos. En el presente trabajo se eligió la especie *Prosopis strombulifera* ya que la misma es halófito, encontrándola en las salinas de Córdoba y San Luis, para evaluar el papel de la hormona ABA en la tolerancia a la salinidad. La metodología que se utilizó es la de cultivo en un medio de crecimiento hidropónico, comprendiendo medios controles (sin el agregado de sal), con el agregado de NaCl y Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica de las sales antes mencionadas. A las plantas se le aplicaron la hormona ABA, como así también los inhibidores de su biosíntesis Fluridona y Tungstato de sodio a la vez que quedaron plantas controles sin aplicar. Se registraron diferentes variables, altura total de la planta, número de hojas, longitud radical, biomasa radical y de parte aérea, contenido de agua en raíces y parte aérea, tasa transpiratoria y contenido de carbohidratos solubles totales en raíces y hojas. En el trabajo se observó que la salinidad afectó las variables de crecimiento, variando con la sal utilizada como así también a medida que los potenciales osmóticos se hacían menores. Las plantas aplicadas con ABA registraron una menor transpiración, debido a que la hormona promueve el cierre estomático, a su vez que presentaron mayor contenido de carbohidratos solubles totales en raíces, biomasa radical y longitud de raíz debido a que ABA incrementaría la relación raíz/parte aérea. De esta manera, este trabajo pone de manifiesto que ABA es una de las señales primarias que desencadenan diferentes eventos bioquímicos y fisiológicos luego de la percepción de una situación de estrés, así los diferentes tipos de sales (efecto iónico), las distintas concentraciones (efecto osmótico) de las mismas y el agregado de ABA o de sus inhibidores interactúan generando respuestas que modifican diferencialmente el crecimiento y el desarrollo vegetal de la halófito *P. strombulifera*.

Palabras claves: *Prosopis strombulifera*, salinidad, ABA y tolerancia.

SUMMARY

Abscisic acid role in the salinity responses in the halophytic legume with differential tolerance to NaCl and Na₂SO₄

Salinity is a phenomenon with multiple causes and affects millions of hectares in the world. Argentina is not exempt from it, which has approximately 34 million of hectares with saline soils. The main impact of salinity is the decrease on the production and crop yield. *Prosopis strombulifera* species is found on saline soils of Cordoba and San Luis province. In this work, *P. strombulifera* plants were used to evaluate the role of ABA hormone in the salt tolerance responses. The methodology was the culture in a hydroponic growth medium, with medium controls (no salt added), with the addition of NaCl and Na₂SO₄ and iso-osmotic mixture of monosaline salts. The plants were applied with ABA hormone, as well as with the biosynthesis ABA inhibitors, such as sodium tungstate and fluridone. Different variables, such as total plant height, leaf number, root length, root and shoot biomass, water content, transpiration rate and total soluble carbohydrate content in roots and leaves, were recorded. The results showed that salinity affects the growth variables varying with salt used as well as osmotic potentials. Plants applied with ABA reported the less transpiration because the hormone promoted the stomatal closure in turn that had a higher content of total soluble carbohydrates in roots, biomass and root length and increased the root /shoot rate. Thus, this work shows that ABA is one of the primary signals that trigger different biochemical and physiological events after the perception of a stressful condition and different types of salts (ionic effect), different concentrations (effect osmotic), and the addition of ABA or their inhibitors interact generating responses modifying the development and plant growth of *P. strombulifera*.

Keywords: *Prosopis strombulifera*, salinity, ABA and tolerance responses.

INTRODUCCIÓN

La salinidad en los suelos

La salinidad es la concentración de sales minerales disueltas presentes en el suelo (solución del suelo) y en el agua. A su vez, es el resultado de procesos naturales y/o antrópicos presentes en todos los suelos que conducen en menor o mayor grado a una acumulación de sales, que pueden afectar la fertilidad del suelo (Flores *et al.*, 1996). La salinidad ocasiona la pérdida de las propiedades físicas y químicas de los suelos, como así también pérdidas económicas ocasionando una disminución en el rendimiento de los cultivos (Cisneros *et al.*, 1997; Lavado, 2008).

Las sales en el suelo pueden encontrarse de varias formas: precipitadas bajo la forma de cristales, disueltas en la solución, o bien retenidas, adsorbidas en el complejo de intercambio. El contenido en sales en cualquiera de estas tres situaciones cambia continuamente al ir cambiando la humedad edáfica, pasando las sales de una posición a otra. Así, en el período seco la cristalización aumenta, las sales en solución disminuyen (aunque la solución se concentra) y aumentan las adsorbidas, mientras que en el período húmedo el comportamiento es inverso (Manchanda y Garg, 2008).

La sal más frecuente en los suelos salinos es el cloruro sódico, junto con los sulfatos sódico y magnésico. El sulfato sódico se tiende a concentrar en la superficie debido a que su solubilidad es afectada fuertemente por la temperatura, durante el periodo cálido. El sulfato sódico asciende a la superficie formando parte de las eflorescencias (rasgo muy típico de los suelos salinos).

La causa de la salinidad se podría decir que se debe a dos procesos: uno es el aporte de sales y el segundo es la imposibilidad de la eliminación de las mismas (Fig. 1).

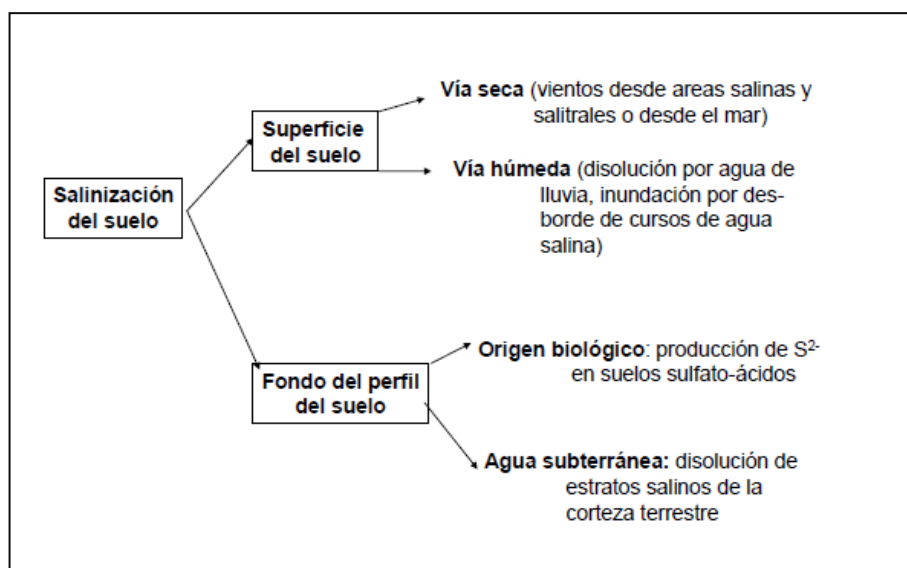


Figura 1: Principales causas de salinización de los suelos (Adaptado de Taboada, 2009).

En cuanto al aporte de sales se pueden citar numerosas causas naturales. El aporte directamente del material original, efectivamente algunas rocas, fundamentalmente las sedimentarias, contienen sales como minerales constituyentes. Otra causa natural ocurre cuando el material original no contiene estas sales, pero se producen en el suelo por alteración de los minerales originales de la roca madre. Otra causa son las sales disueltas en las aguas de escorrentía, que se acumulan en las depresiones y al evaporarse la solución se forman acumulaciones salinas. También, frecuentemente los suelos toman las sales a partir de mantos freáticos suficientemente superficiales (normalmente a menos de 3 m). Los mantos freáticos siempre contienen sales disueltas en mayor o menor proporción y en las regiones áridas estas sales ascienden a través del suelo por capilaridad. En general, la existencia de mantos freáticos superficiales ocurre en las depresiones y tierras bajas, y de aquí la relación entre la salinidad y la topografía.

La contaminación de sales de origen eólico es otra causa de aporte de sales. El viento en las regiones áridas arrastra gran cantidad de partículas en suspensión, principalmente carbonatos, sulfatos y cloruros que pueden contribuir en gran medida a la formación de suelos con sales.

Una última causa natural, de menor importancia, es la descomposición de los residuos de las plantas. Este proceso podría liberar sales retenidas en sus tejidos y/o a través de algunos tipos de mineralización. Estas sales pasan a formar parte del suelo, incrementando la salinidad del mismo.

El aporte de sales al suelo también puede producirse como resultado de un manejo inadecuado por parte del hombre, es decir por causas antrópicas. La agricultura, desde su comienzo, ha provocado situaciones de salinización, cuando las técnicas aplicadas no han

sido las correctas. El empleo del riego ha provocado desde tiempos remotos procesos de salinización de diferente gravedad al emplear aguas conteniendo sales sin el debido control (acumulándose directamente en los suelos o contaminando los niveles freáticos), o bien cuando se ha producido un descenso del nivel freático regional y la intrusión de capas de agua salinas situadas en zonas más profundas, como consecuencia de la sobreexplotación. También se ocasionan problemas graves de salinización en superficies de cotas bajas, cuando se realizan transformaciones de riego de áreas situadas en zonas altas y no se ha previsto su influencia en aquellas otras.

El empleo de elevadas cantidades de fertilizantes, especialmente los más solubles, más allá de las necesidades de los cultivos, es otra de las causas que provocan situaciones de altas concentraciones de sales, en los acuíferos y, como consecuencia, los suelos que reciben estas aguas.

Finalmente, la actividad industrial en ocasiones puede acarrear situaciones serias de acumulación de determinadas sales en los suelos situados bajo su zona de influencia, por medio de la contaminación atmosférica o mediante las aguas que discurren por su cuenca hidrográfica.

Por otro lado, el segundo proceso mencionado es el impedimento de la eliminación de las sales, causado por la falta de drenaje del suelo y el clima en menor medida (Taboada, 2009).

La salinidad es un fenómeno mundial

La salinidad no es un proceso aislado sino que está afectando y haciéndose cada vez más fuerte en distintas partes del planeta. La salinización afecta a unas 20-30 millones de ha del total de 260 millones de ha regadas en el mundo (FAO, 2002).

La tasa de crecimiento de la salinización se encuentra en el orden de 0,25– 0,50 millones de ha/año. La salinización se produce mayormente en regiones áridas y semiáridas (FAO, 2002).

En la República Argentina existen aproximadamente 34 millones ha sometidas a excesos de agua y sales (incluyendo solo los ambientes húmedos y las áreas bajo riego), creándose condiciones ecológicas extremas que reducen drásticamente su productividad. Esto se debe a un alto dinamismo espacial y temporal causado por factores climáticos, edáficos y de manejo. Se considera que Argentina ocupa el tercer lugar luego de Rusia y Australia, en suelos afectados por salinidad (Lavado, 2008). Esta condición afecta particularmente a las áreas áridas y semiáridas, pero no de manera exclusiva ya que existen suelos afectados por salinidad también en ambientes húmedos.

Efecto de la salinidad sobre los cultivos

Los efectos del estrés salino en las plantas ocasionan problemas de germinación, inhibición del crecimiento vegetal y disminución en la producción de granos. En conclusión nos afecta el rendimiento, ya sea de granos, forraje o alguna otra parte cosechable ocasionando pérdidas en la producción y en la sustentabilidad económica de ese cultivo. La Fig. 2 muestra el detrimento del rendimiento, visto como rendimiento relativo, a medida que aumenta la salinidad del suelo usando como indicador de la misma la conductividad eléctrica del suelo, en tres cultivos, soja, cebada y agropiro. Se puede apreciar un punto de inflexión en la gráfica en una conductividad eléctrica de 4 decisiemens por m. También se puede ver que cada cultivo responde de manera diferenciada pero los tres se ven afectados (Taboada, 2009).

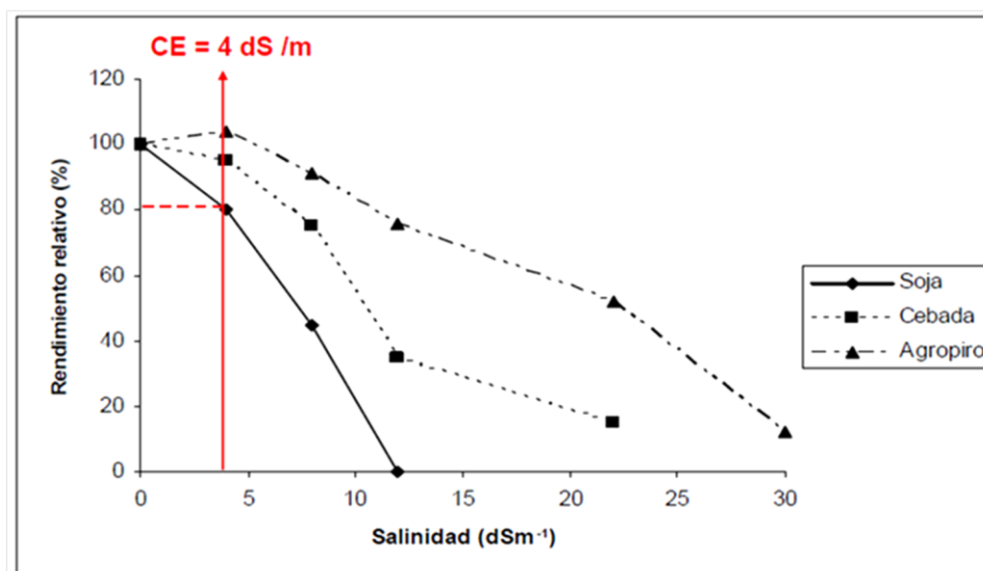


Figura 2: Disminución porcentual de los rendimientos de soja y cebada (granos) y agropiro (forraje) en suelos salinos (Taboada, 2009).

La salinidad impone a las plantas restricciones hídricas por el descenso del potencial hídrico del suelo (efecto osmótico) y también efectos derivados del exceso de iones en sí, ya sea por la acumulación de iones potencialmente dañinos para el crecimiento y desarrollo o por los desbalances nutricionales causados por las concentraciones elevadas de algunos iones (principalmente sodios, cloruros y sulfatos). Los dos componentes del estrés salino, efecto osmótico y toxicidad iónica tienen efectos deletéreos a nivel celular. Según Munns *et al.* (1995), en las plantas cultivadas hay una primera fase de reducción del crecimiento causada por el potencial osmótico de la solución del suelo que rodea a las raíces, que disminuye la disponibilidad de agua por las mismas y en consecuencia afectaría a todas las especies de

manera similar. Una segunda fase, comienza cuando las hojas han acumulado sal en cantidades que resultan tóxicas, provocando daño metabólico y reduciendo así el aporte de asimilados a las zonas de crecimiento.

Estrés salino: plantas halófitas y glicófitas

La tolerancia al estrés salino puede definirse como la habilidad inherente que poseen las plantas de resistir los efectos de las elevadas concentraciones de sales en las raíces o en las hojas sin un efecto significativo (Shannon y Grieve, 1999). Desprendiéndose de este concepto, las plantas pueden clasificarse como halófitas y glicófitas (Fig. 3). Las plantas halófitas pueden completar su ciclo de vida bajo las condiciones salinas más variadas, no solo tolerando altos niveles de salinidad, sino presentando niveles óptimos de crecimiento bajo estas condiciones (Khan *et al.*, 2000), mientras que las plantas glicófitas son aquellas que no toleran altas concentraciones de sales, por lo que su crecimiento se ve seriamente afectado y su condición de óptimo crecimiento está en la condición de no salinidad o de un bajo nivel salino.

Los mecanismos bioquímicos y moleculares para enfrentar el estrés salino incluyen la producción de solutos compatibles, para aumentar la presión osmótica del citoplasma (los cuales pueden acumularse en altos niveles sin perjudicar la bioquímica celular), la exclusión o secreción de Na^+ de las células o de los tejidos para mantener las concentraciones iónicas internas bajas, o la compartimentalización celular de iones. Las plantas tolerantes tienen la capacidad de acumular iones Na^+ y Cl^- en las vacuolas para mantener en el citoplasma concentraciones sustancialmente muy bajas de iones que evitan así la inhibición de procesos metabólicos (Blumwald *et al.*, 2000; Parks *et al.*, 2005). También se producen cambios en los patrones fotosintéticos (Bayuelo-Jimenez *et al.*, 2003) y un efecto inhibitorio sobre el crecimiento a varios niveles, involucrando gran cantidad de procesos celulares tales como la división y expansión celular. Estos procesos celulares son regulados por hormonas vegetales manteniendo la homeostasis cuando es alterada por salinidad.

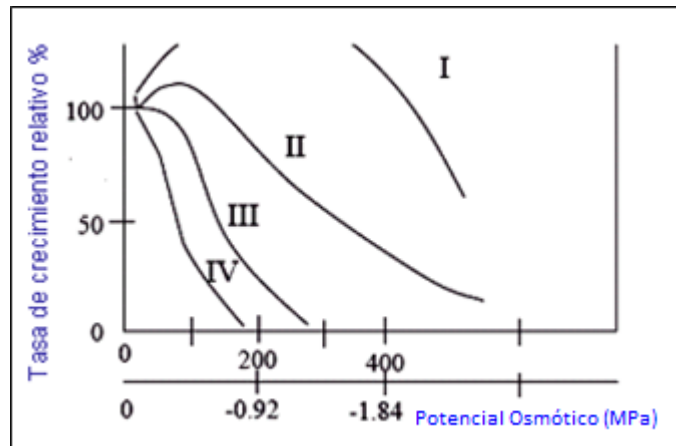


Figura 3: Respuesta de crecimiento de varias especies vegetales ante la salinidad creciente del sustrato y el potencial osmótico relacionado. I. Especies Halófitas. II. Halófilas. III. Tolerantes a las sales. IV. Sensibles a las sales (Adaptado de Ronen, 2007).

La salinidad y el ABA (Ácido Abscísico)

Como es sabido, el estrés abiótico ocasionado por sequía y salinidad causa pérdida de agua o reduce la entrada de la misma a la planta, determinando un aumento en los niveles de la hormona denominada ácido abscísico (ABA) (Zhu, 2002). Numerosos estudios han demostrado que la acumulación de ABA es un factor clave que regula respuestas esenciales para la adaptación al estrés. Estas respuestas incluyen: cambios en la conductancia estomática (Schroeder *et al.*, 2001), crecimiento (Sharp y LeNoble, 2002), acumulación de osmolitos (Alves y Setter, 2004) y expresión de genes específicos (Bray, 2002). Por este motivo, ABA es definido como la principal hormona del estrés debido a su rápida acumulación bajo estas condiciones y a su mediación en mecanismos fisiológicos y bioquímicos que ayudan a la supervivencia de las plantas frente a este tipo de situaciones (Zhang *et al.*, 2006). Es decir, se ha propuesto que esta hormona es necesaria para la adaptación a varios tipos de estrés abiótico, además de otros procesos claves en el ciclo de vida de las plantas, tales como el desarrollo de la semilla y germinación. La regulación de estos procesos es, en gran parte, mediada por cambios en su síntesis de novo y metabolismo (hidroxilación y conjugación) (Schwartz *et al.*, 2003).

Biosíntesis de ABA

Desde el punto de vista químico, el ácido abscísico pertenece al grupo de los isoprenoides o también llamados terpenoides que derivan de un precursor común de 5 carbonos (C₅), el isopentenildifosfato (IDP). Se conoce que todos los isoprenoides son sintetizados a partir del ácido mevalónico (MVA), sin embargo, actualmente se ha propuesto

una vía alternativa para sintetizar IDP que se encuentra en algunas eubacterias y en las plantas superiores (Rodríguez-Concepción y Boronat, 2002). Los isoprenoidesplastídicos, incluyendo los carotenoides, se originan del IDP sintetizado a partir de una vía independiente del MVA denominada la vía del 2-C-metil-eritritol-4-fosfato (MEP) (Eisenreich *et al.*, 2004). Recientemente se ha comprobado que, a pesar de que el ABA contiene 15 átomos de carbono, en las plantas superiores éste no deriva directamente del precursor sesquiterpeno (C_{15}), farnesildifosfato (FDP) sino que es formado por el clivaje de los carotenoides (C_{40}) sintetizados a partir de la vía del MEP. Actualmente, los experimentos realizados mediante el uso de O^{18} radiactivo y los diferentes análisis genéticos, moleculares y bioquímicos confirman que la síntesis de ABA se realiza a partir de los carotenoides y el primer paso de la misma sería la producción de zeaxantina a partir de la ciclización e hidroxilación del β -caroteno (Fig. 4). El paso siguiente consiste en la síntesis de los cis-isómeros de violaxantina y neoxantina que serán clivados para formar el precursor (C_{15}) de ABA, xantina. La conversión de zeaxantina a violaxantina es catalizada por la enzima denominada zeaxantinaepoxidasa (ZEP) mediante el intermediario anteraxantina. Aún no están claros los caminos de la síntesis de neoxantina a partir de violaxantina. En un paso siguiente, la enzima 9-cis-epoxicarotenoide-dioxigenasa (NCED) participa en el clivaje de los 9-cis-isómeros de violaxantina y neoxantina a un producto de C_{15} , xantoxina, y un metabolito de C_{25} (Schwartz *et al.*, 2003). La forma biológicamente activa del ABA es producida a partir de cis-xantoxina por dos vías enzimáticas mediante el aldehído abscísico. El último paso de la biosíntesis del ABA es la oxidación del aldehído abscísico al ácido carboxílico mediante la acción de una aldehído oxidasa (Fig. 4).

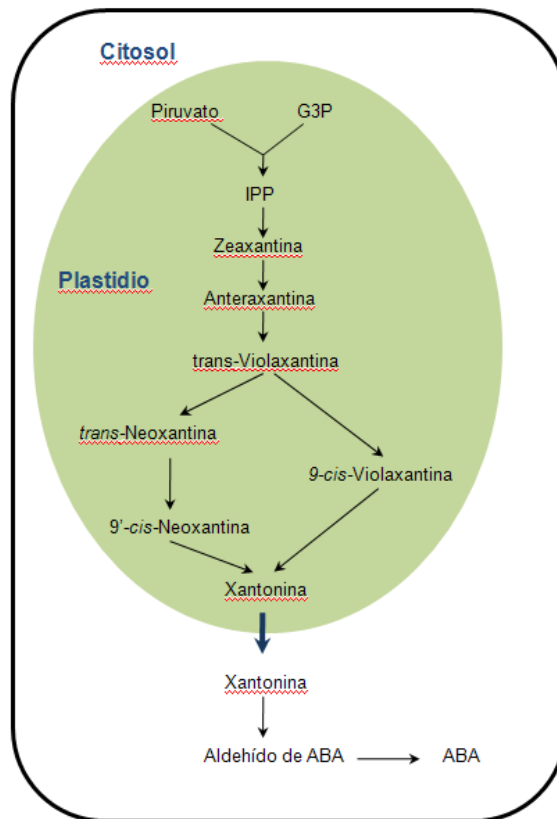


Figura 4: Caminos de la biosíntesis de ABA (Adaptado de Kasahara *et al.*, 2004).

Sauter y Hartung (2002) observaron que al asperjar ABA a 10-15 cm de longitud de los entrenudos de poroto o en los mesocótilos de maíz, esta hormona, se redistribuyó al tejido del tallo y fue liberada al xilema. Esta redistribución fue muy rápida (10-20 min), lo cual refleja el elevado coeficiente de permeabilidad de las membranas plasmáticas de las células del parénquima para este compuesto y en consecuencia, el ABA xilemático no permaneció constante durante su transporte. En condiciones de no estrés, cuando la savia xilemática es ácida (con una gran proporción de especies de ABAH no disociadas), grandes cantidades de ABA podrían perderse durante el transporte a través del xilema. También, se demostró que el ABA fue liberado al xilema cuando se encontró en altas concentraciones en las células del parénquima y cuando el pH de la savia fue alcalino. Sin embargo, la concentración de ABA xilemático no cambió y continuó siendo la misma aún a través de largas distancias en todas las condiciones evaluadas (Sauter y Hartung, 2002). La biosíntesis de ABA incrementa significativamente en hojas sólo cuando la turgencia se aproxima a cero. Sin embargo, el cierre estomático se observa cuando el potencial de la hoja aún no es afectado por las condiciones de sequía del suelo. En tales condiciones de estrés leve, es indispensable la liberación de ABA al xilema. Esta hormona no necesariamente debe ser

acumulada en hojas, por lo tanto, después de actuar sobre los estomas, el ABA puede ser rápidamente metabolizado sin ser depositado. Esta situación fue observada en plantas de poroto con deficiencias de fósforo y potasio (Peuke *et al.*, 2002). La redistribución del ABA dentro de la hoja puede disminuir su concentración en el xilema, especialmente cuando la savia de xilema es ácida, también puede redistribuirse en el citoplasma de las células del mesófilo de acuerdo con el concepto de trampa de aniones. Dicha redistribución no se produce cuando el apoplasto se alcaliniza bajo condiciones de estrés (Davies *et al.*, 2002). Así, en esta situación, la redistribución es reducida pero la intensidad de la señal del ABA sigue siendo elevada.

Inhibidores de la síntesis de ABA

Existen diversos inhibidores de la síntesis de ABA, los cuales generalmente afectan o inhiben el accionar de alguna enzima presente y necesaria en la vía de síntesis de ABA. Dos de estos son la fluridona ($C_{19}H_{14}F_3NO$) y el tungstato de sodio (Na_2WO_4).

La fluridona afecta la síntesis de carotenoides con los cuales se sintetiza el ABA, inhibiendo el accionar de la enzima fitoenodesaturasa que cataliza la etapas de desaturación de fitoeno a fitoflueno en la vía de síntesis de la hormona, como se señala en la Fig. 5. Por otro lado, el tungstato de sodio afecta el paso previo a la formación final de ABA en su biosíntesis, inhibiendo la enzima aldehído oxidasa, como se observa en la Fig. 5, la cual cataliza el paso de ABA-aldehído a ABA.

Ambos inhibidores han sido utilizados en numerosos estudios para dilucidar el rol del ABA en numerosas especies, tanto frente a diferentes condiciones bióticas como abióticas. Por ejemplo, Rodríguez (2013) utilizó ambos inhibidores para conocer la relación entre ABA y la formación de micorrizas, mientras que Furlan *et al.* (2013) empleó el tungstato de sodio para dilucidar el rol de ABA en plantas de maní sometidas a estrés por sequía.

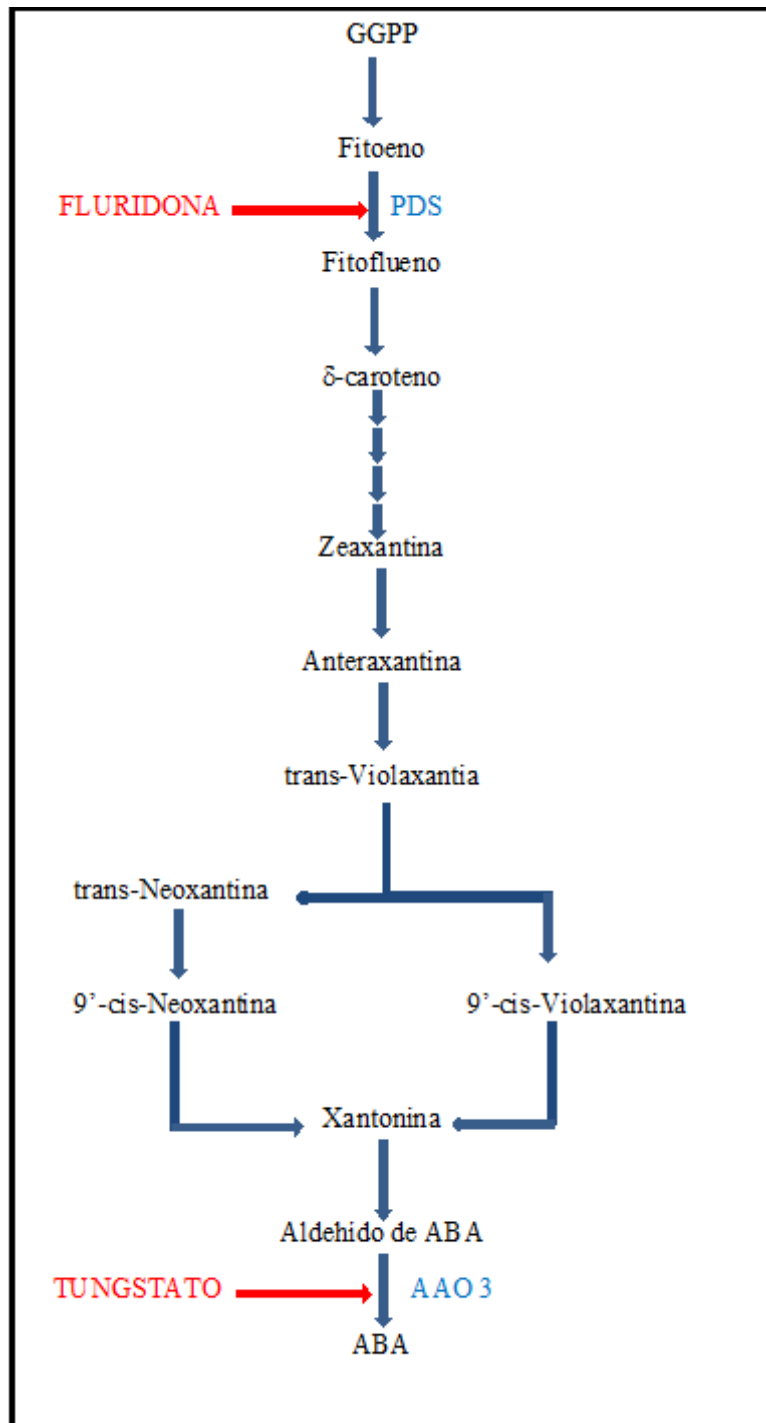


Figura 5: Biosíntesis de ABA, desde la síntesis de carotenoides hasta la formación de ABA. En azul las enzimas, fitoenodesaturasa (PDS) y aldehído oxidasa (AAO3) inhibidas por fluridona y tungstato de sodio respectivamente (Adaptado de Kasahara *et al.*, 2004).

Funciones generales del ácido abscísico

Se conoce desde hace tiempo que el ABA actúa como una señal a larga distancia (raíz-hoja) del potencial agua del suelo. De esta manera, el ABA producido en raíces crecidas en suelos secos o salinos, es decir con bajos potenciales agua, se transporta por xilema y regula la apertura estomática y el crecimiento de las hojas en el vástago (Zhang *et al.*, 2006). Hartung *et al.* (2002) demostraron que los cambios en el pH celular juegan un papel central en la redistribución del ABA en los tejidos de la hoja y controlan el movimiento de los estomas cuando no hay cambios significativos en la concentración del ABA en el xilema. Sin embargo, varios estudios demostraron que la conductancia estomática está relacionada directamente con la concentración del ABA en el xilema, mientras otros sugieren que la conductancia puede también responder al flujo del ABA, es decir, la cantidad de ABA que entra y se acumula en las hojas. Esto implica que el ABA también puede regular el movimiento estomático bajo condiciones “normales” debido a los cambios que se producen en la transpiración bajo condiciones de no-estrés. Por otro lado, un catabolismo rápido del ABA en las hojas es esencial para prevenir la acumulación del mismo y mantener la regulación de los estomas (Pei *et al.*, 2000).

En relación a la acción del ABA en el cierre estomático se sabe que el aumento de esta hormona causa un incremento en los niveles de calcio citosólico y la subsecuente activación de canales aniónicos localizados en la membrana plasmática (Kohler y Blatt, 2002) lo cual conduce a la despolarización de la membrana plasmática, salida de potasio, pérdida de turgencia la cual hace disminuir el volumen de las células guarda para finalmente lograr el cierre estomático (Schroeder *et al.*, 2001). Esta hormona induce la producción y acumulación de varios compuestos. Uno de ellos es el H₂O₂ el cual sirve como una molécula señal para promover el cierre del estoma (Zhang *et al.*, 2001). Otro compuesto mencionado en trabajos más recientes es el óxido nítrico el cual se acumula en las células guarda, también necesario para el cierre estomático (Desikan *et al.*, 2004). Al parecer, el mecanismo de acción del ABA en el cierre estomático es complejo e implica un entrecruzamiento de varios caminos de señalización.

Por otro lado, el ABA posee múltiples efectos en la regulación del crecimiento y desarrollo vegetal, principalmente bajo situaciones de estrés. El crecimiento del vástago puede ser inhibido cuando el ABA xilemático aumenta como resultado de la sequedad del suelo, mientras que su acumulación en las raíces mantiene el crecimiento de las mismas (Spollen *et al.*, 2000), ya que el ABA estaría implicado en la inhibición de la producción de etileno, el cual es un inhibidor del crecimiento bajo estrés. Sharp y LeNoble (2002) sugieren que la producción de ABA bajo estrés tendría la función de mantener un crecimiento limitado del vástago así como asegurar el crecimiento de la raíz bajo un déficit de agua. De

esta manera, varios autores sostienen que el ABA posee un papel dual en la regulación fisiológica (Cheng *et al.*, 2002; Finkelstein *et al.*, 2002), siendo un inhibidor cuando se acumula en grandes cantidades bajo un estrés, ayudando a la supervivencia de las plantas a través de la inhibición de procesos como la apertura estomática y la expansión de la hoja. Por otro lado, cumple un papel promotor cuando se encuentra en bajas concentraciones por ejemplo en condiciones “normales” o no estresantes, debido a que sería esencial para el crecimiento vegetativo en algunos órganos, por ejemplo, el crecimiento primario de la raíz (Sharp *et al.*, 2000; Spollen *et al.*, 2000) y el desarrollo post-germinación de la planta (Cheng *et al.*, 2002). Cheng *et al.* (2002), demostraron que la reductasa-dehidrogenasa llamada SDR1 de *Arabidopsis* es inducida por ABA y está implicada en la detección y señalización de carbohidratos esenciales en muchos procesos metabólicos tales como germinación, crecimiento y floración (Rolland *et al.*, 2002).

A nivel molecular, muchos genes que responden a estrés abiótico han sido identificados durante los años recientes y algunos de estos grupos de genes son regulados por ABA (Bray, 2002). En este aspecto, en las últimas décadas se realizaron gran cantidad de estudios para identificar los genes que responden a ABA (Finkelstein *et al.*, 2002; Zhu, 2002). Es importante mencionar que la expresión de genes específicos que responden a altas concentraciones de sal o sequía no siempre dependen de ABA. Por tal motivo, para la expresión de genes específicos en respuesta a estrés hídrico y salino, se ha postulado la existencia de dos tipos de cadenas de transducción de señales, una dependiente de ABA y otra independiente de esta hormona. Dentro de los ABA-dependientes se encuentran transcritos y productos proteicos relacionados con protección celular como algunas dehidrininas, los tres grupos de proteínas LEA, enzimas de síntesis de osmorreguladores como prolina, glicín-betaína y carbohidratos como sorbitol, manitol, entre otros, también proteasas y enzimas antioxidantes (Bray, 2002).

Ácido abscísico y el estado hídrico de las plantas

La regulación del flujo de agua a través de la planta es un importante concepto para considerar en la tolerancia a salinidad en halófitas. Estas plantas exhiben reducida conductancia estomática, comparada con las glicófitas, y menor tasa transpiratoria a medida que incrementa su exposición a la salinidad. La disminución en la apertura estomática en las halófitas previene una excesiva pérdida de agua y principalmente, reduce el movimiento de iones hacia el vástago durante la exposición a condiciones de salinidad (Lovelock y Ball, 2002). Por ejemplo, *Theellungiella halophila* presenta menor tasa transpiratoria durante el día y no detectable pérdida de agua por la noche comparada con *Arabidopsis*, lo cual coincide con numerosos informes que sostienen que las halófitas presentan menor conductancia

estomática bajo salinidad (Inan *et al.*, 2004.a). De esta manera, se sugiere que las halófitas se benefician por una mayor eficiencia en el uso del agua como consecuencia de la menor transpiración, especialmente durante largos períodos de exposición a la salinidad.

Por otro lado, como es sabido, ABA es un regulador clave del estado hídrico de las plantas y de la regulación del movimiento de apertura de los estomas. La apertura es un proceso dinámico y reversible por el cual la pérdida de agua y CO₂ pueden rápidamente ser ajustados en respuesta a señales ambientales e intrínsecas como los niveles de ABA. Bajo situaciones de estrés como sequía y salinidad, las plantas acumulan ABA en las hojas y se inhibe la apertura o promueve el cierre de los estomas, resultando en una reducción de la pérdida de agua por la planta. Por varias décadas se han estudiado los efectos de niveles alterados de ABA sobre la tasa de transpiración, comenzando con el descubrimiento del mutante *flacca* de tomate, deficiente en la síntesis de ABA (Tal, 1966). Recientes investigaciones en este tema han utilizado las herramientas de la genética molecular disponibles en el sistema modelo *Arabidopsis*. La producción de xantoxina a partir de los epoxy-carotenoides es un paso clave en la síntesis del ABA (Nambara y Marion-Poll, 2005).

Como se mencionó anteriormente, el nivel de ABA en las plantas refleja un balance entre su síntesis y catabolismo a formas inactivas por conjugación y oxidación. La oxidación de ABA a 8-hidroxil-ABA, el cual se isomeriza espontáneamente a ácido faseico, es catalizada por cuatro monooxigenasas del citocromo P450 en *Arabidopsis*: CYP707A1 a 4. Una de estas enzimas, la CYP707A3 es fuertemente inducida por ABA durante la deshidratación y rehidratación (Umezawa *et al.*, 2006). En un estudio reciente, caracterizaron mutantes de inserción T-ADN y líneas de sobreexpresión constitutiva de CYP707A3 (Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Los mutantes T-ADN exhiben mayor contenido de ABA bajo todas las condiciones, expresión de genes más rápida inducidos por ABA como RD29A y RAB18, una significativa reducción de la transpiración y aumento de la supervivencia después del tratamiento de sequía. Por el contrario, líneas que sobre-expresan CYP707A3 exhiben menor contenido de ABA pero elevados niveles de los metabolitos de ABA, ácido faseico y dihidrofaseico, y estas líneas exhibieron mayor transpiración. Curiosamente, alteraciones en los niveles de transgénicos de dos proteínas RING, RING-H2 y XERICO, el factor de transcripción R2R3 tipo MYB, HOS10, afectaron fuertemente los niveles de transcripción de NCED3 con efectos correlacionados con los niveles de ABA, la tolerancia a la sequía y la pérdida de agua (Zhu *et al.*, 2005; Ko *et al.*, 2006).

***Prosopis strombulifera*, un modelo para estudiar la tolerancia a salinidad**

En la República Argentina existen zonas donde el estrés salino e hídrico es frecuente y de prolongados periodos. Existen diversas especies vegetales de la familia de las

leguminosas que se adaptan a estas condiciones, logrando crecer y desarrollarse. El género *Prosopis* se encuentra dentro de esta familia, en la subfamilia Mimosoidea.

El género *Prosopis* comprende 44 especies (Burkart, 1976), de gran importancia en la composición arbórea y arbustiva de zonas áridas y semiáridas, abarcando su distribución el Sureste de Asia (3 especies nativas), África tropical (1 especie nativa) y América (40 especies), llegando en este último continente desde el S.O. de EE.UU. hasta la Patagonia Argentina y Chile. De un total de 31 especies Sudamericanas, 11 son endémicas de Argentina (Burkart, 1976; Hunziker *et al.*, 1986). Dentro del género existen variados tipos biológicos, es decir, subarbustos, arbustos y árboles que en su gran mayoría se comportan como oportunistas respecto al uso del agua, manteniendo pulsos de crecimiento en momentos de disponibilidad hídrica y entrando en receso vegetativo durante las etapas de sequía (Passera, 2000). Las especies de este género también exhiben un alto grado de tolerancia a la salinidad, ubicándose entre las especies del ambiente terrestre más resistentes a concentraciones salinas extremas (Arce y Balboa, 1988). Por esto se pueden encontrar múltiples adaptaciones morfológicas en ellas que les confieren características especiales para poder vivir en estos ambientes, como el ajuste osmótico, engrosamiento de cutículas y existencia de células epidérmicas de gran volumen para evitar la pérdida de agua.

La especie subarbustiva *Prosopis strombulifera* (Lam) Benth se distribuye desde el desierto de Arizona (USA) hasta la Patagonia Argentina, zonas donde debe tolerar prolongados periodos de sequía, siendo muy abundante en las áreas salinas de Córdoba y San Luis (Cantero *et al.*, 1996). Es un subarbusto de base leñosa y altura variable (50 cm a 1,5 m), tallos flexuosos con estípulas leñosas espinosas, divergentes y rectas, hojas uni-yungas, pinas con foliolos alternos algo distanciados, con 3 o más foliolos de cada lado de la pina (Fig. 6.A). Las flores amarillas conforman un capítulo globoso (Fig. 6.B), con fruto amarillo formando un espiral simple, denso y cerrado (Fig. 6.C). Las semillas son ovadas, verde grisáceas y de 4,5 a 5,4 mm de largo (Fig. 6.D). Esta especie es xerofita y halófito, se propaga vegetativamente por largos rizomas leñosos. De la Vega (1996) informó que esta especie era capaz de sobrevivir en cultivos hidropónicos con 1 M de NaCl, observándose tanto a nivel raíz como de hoja cambios metabólicos (enzimáticos) que acompañan la adaptación de esta especie a concentraciones de sal cada vez más altas.

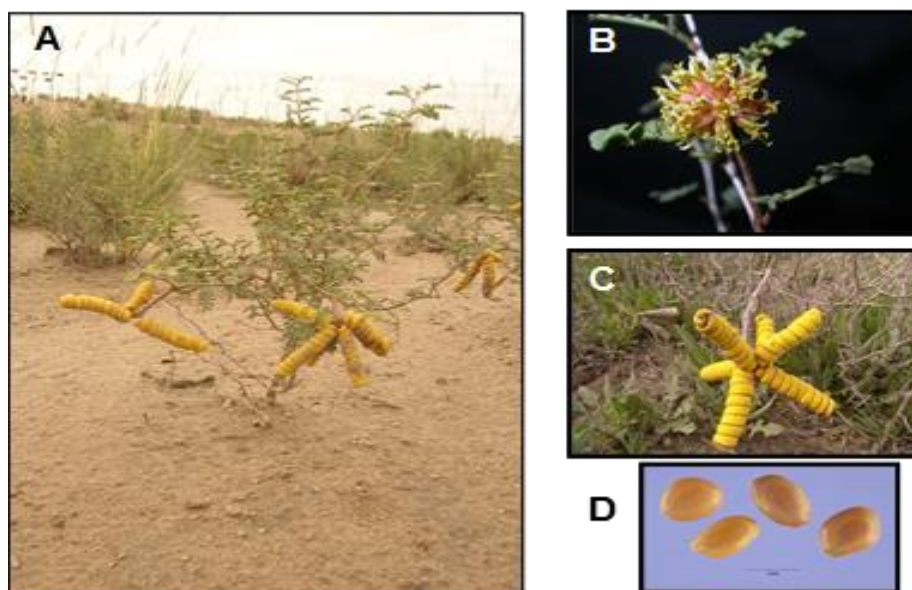


Figura 6: Planta de *Prosopis strombulifera*, A: Aspecto general; B: Detalle de su inflorescencia, C: Detalle del fruto y D: Detalle de sus semillas.

Debido a las características propias de la especie, principalmente la alta tolerancia a salinidad, expuesta en la distribución de la especie y de las áreas donde coloniza como son las salinas de Córdoba y San Luis donde los periodos de sequía frecuentes y alto contenido de sales son las características reinantes. A partir de lo antes mencionado, el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Río Cuarto decidió iniciar la investigación usando esta especie como modelo de planta tolerante a salinidad con variados propósitos, entre ellos, el ampliar el conocimiento de los mecanismos de tolerancia a salinidad y el posible descubrimiento de nuevos mecanismos para ser aplicados a especies leguminosas de interés agronómico.

HIPÓTESIS

Los cambios en los niveles endógenos de ABA modulan la respuesta de tolerancia a salinidad en *P. strombulifera*, dicha respuesta varía según el agente salinizante empleado.

La aplicación exógena de ABA y de inhibidores de su síntesis permite dilucidar y comprender mejor las correlaciones y entrecruzamientos de señales entre esta hormona y las respuestas de tolerancia a salinidad en esta halófito.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación exógena de ABA y de dos inhibidores de su biosíntesis (lo cual modifica la concentración endógena de esta hormona) en la respuesta de plantas de *P. strombulifera* tratadas con concentraciones crecientes de NaCl, Na₂SO₄ y su mezcla iso-osmótica.

Objetivos específicos

- 1) Evaluar variables de crecimiento en plantas de *P. strombulifera* sometidas a concentraciones crecientes de NaCl, Na₂SO₄ y su mezcla iso-osmótica en respuesta a diferentes dosis de ABA exógeno como así también de los inhibidores de su biosíntesis: Fluridona (1-metil-3-fenil-5-(3-trifluorometilfenil)-4-(1H)-piridinona) y Tungstato de sodio.
- 2) Determinar biomasa radical y de parte aérea en plantas de *P. strombulifera* sometidas a concentraciones crecientes de las sales y en respuesta a diferentes dosis de ABA exógeno, como así también de los inhibidores de su biosíntesis.
- 3) Determinar el contenido de agua en raíces y parte aérea en plantas de *P. strombulifera* sometidas a concentraciones crecientes de las sales y en respuesta a diferentes dosis de ABA exógeno, como así también de los inhibidores de su biosíntesis.
- 4) Determinar la tasa transpiratoria en plantas de *P. strombulifera* sometidas a concentraciones crecientes de las sales y en respuesta a diferentes dosis de ABA exógeno, como así también de los inhibidores de su biosíntesis.
- 5) Determinar la concentración de carbohidratos solubles totales en plantas de *P. strombulifera* sometidas a concentraciones crecientes de las sales y en respuesta a diferentes dosis de ABA exógeno, como así también de los inhibidores de su biosíntesis.
- 6) Identificar correlaciones entre la biomasa, el contenido de agua, la tasa transpiratoria, los niveles de carbohidratos, y las aplicaciones exógenas con las respuestas de crecimiento frente a NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla de sales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de plantas en medio hidropónico

Frutos de *Prosopis strombulifera* fueron recolectados de las salinas de San Luis (33° 43' S y 66° 37' O, a 400-500 m.s.n.m.) con una temperatura media anual de 15-20 °C. El área pertenece al bosque de algarrobos situado en una depresión salina, en la región fitogeográfica del Monte, con un régimen anual de lluvias de 300 a 400 mm. El suelo posee una textura franco-arenosa, con abundante material calcáreo y moderada salinidad con conductividad eléctrica en superficie de 8000 mho/cm² (Cabrera, 1976). Los frutos fueron recogidos al azar a partir de 100 plantas dentro de la misma población. Las semillas fueron seleccionadas visualmente para el tamaño uniforme y el aspecto sano y se escarificaron con ácido sulfúrico concentrado durante 10 min, se lavaron durante 12 hs en agua corriente y se colocaron a germinar en estufa a 37 °C durante 24 hs. Cuando las radículas tuvieron aproximadamente 1,5 mm de longitud se colocaron en bandejas plásticas, colocando 50 plantas en cada una en un volumen de 1 l de solución hidropónica. Para la hidroponía se preparó solución de Hoagland al 10%, cuando las plántulas alcanzaron los 21 días de edad, se comenzó con los tratamientos que consistieron en el agregado de 38 mM de Na₂SO₄ y 50 mM de NaCl para los tratamientos monosalinos y la mezcla iso-osmótica de ambas sales (Cuadro 1) para el tratamiento bisalino cada 48 hs, dejando como controles plántulas que permanecieron en Hoagland 25% durante todo el experimento. Las bandejas (Fig. 7) se mantuvieron en una cámara de crecimiento Fitotrón Conviron Modelo E15 con 16 hs de luz a 250 μmol. m⁻² seg⁻¹ y 8 hs de oscuridad, a 28 y 20 °C respectivamente y 70% de humedad relativa. Los pulsos de sal fueron aditivos hasta obtener un potencial final de -2,6 MPa, el cual corresponde a una concentración de 700 mM de NaCl y 530 mM de Na₂SO₄. Después de 24 hs de alcanzarse los potenciales de -1, -1,71, -2,06 y -2,6 MPa, se tomaron muestras de hojas y raíces para la determinación de carbohidratos solubles totales, congelándolas en nitrógeno líquido y conservándolas en freezer a -80 °C hasta su uso. Para algunos análisis en los cuales se requiere material seco, las muestras fueron liofilizadas durante 48 hs.

Cuadro 1: Cronograma de pulsos salinos cada 48 hs a partir de plántulas de 21 días de edad.

PULSOS	mM de Na ₂ SO ₄	mM NaCl	mM (Na ₂ SO ₄ +NaCl)	Pot. Osmótico (MPa)
Primer pulso	37,90	50	18,95/25	-0,30
Segundo pulso	75,80	100	37,90/50	-0,47
Tercer pulso	113,70	150	56,80/75	-0,65
Cuarto pulso	151,70	200	75,85/100	-0,82
Quinto pulso (recolección)	189,70	250	94,80/125	-1,00
Sexto pulso	227,50	300	113,75/150	-1,18
Séptimo pulso	265,40	350	132,70/175	-1,35
Octavo pulso	303,30	400	151,70/200	-1,53
Noveno Pulso(recolección)	341,20	450	170,60/225	-1,71
Décimo pulso	379,20	500	189,60/250	-1,88
Dec. primer p.(recolección)	417,10	550	208,50/275	-2,06
Décimo segundo pulso	455,00	600	227,50/300	-2,24
Décimo tercer pulso	492,90	650	246,40/325	-2,42
Dec. cuarto p. (recolección)	530,80	700	265,40/350	-2,60

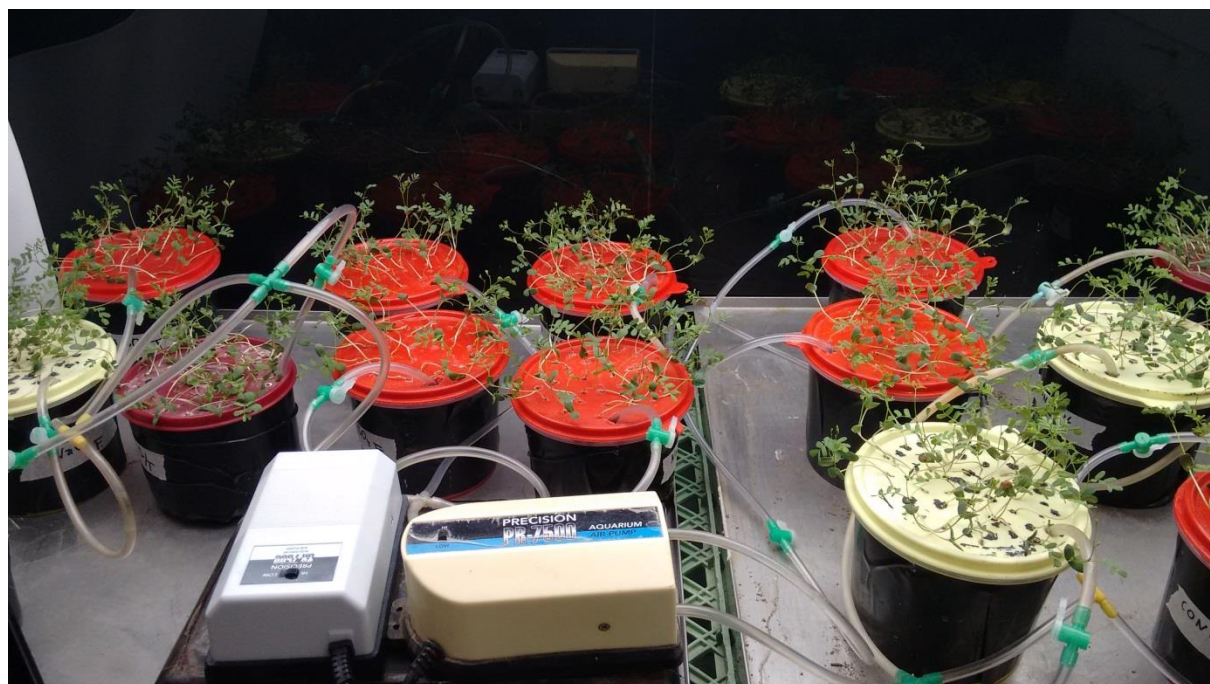


Figura 7: Cultivo de *P. strombulifera* en medio hidropónico.

Determinación de variables de crecimiento

Se evaluaron las variables de crecimiento cada 7 d en 20 plántulas controles y tratadas con ABA, fluridona, tungstato de sodio, las variables fueron altura total, número de hojas y longitud total de raíces.

Determinación de la biomasa radical y de parte aérea

Se recolectó la parte aérea y las raíces de 5 plantas pertenecientes a los diferentes tratamientos y se determinó el peso fresco (PF), luego se colocó el material vegetal en placas de Petri para determinar el peso seco (PS) que se obtuvo sometiendo las muestras a estufa a 70 °C durante 72 hs. Con estos datos se calculó el contenido de agua (CA) por PS de la siguiente manera: $CA \text{ (ml/g PS)} = (PF-PS)/PS$.

Cuantificación de la transpiración

La transpiración se determinó por método indirecto, registrando los cambios de volumen de la solución hidropónica correspondientes a los potenciales osmóticos estudiados, donde estaban sumergidas las raíces. Para ello, tres plantas por cada tratamiento fueron colocadas en un cilindro graduado transparente totalmente hermético, con un volumen de solución conocido, sellado con un tapón perforado de goma o silicona por donde emergía la parte aérea quedando en contacto con la atmósfera. Después de 24 hs bajo las mismas condiciones de fotoperiodo que el cultivo hidropónico, se midió el volumen de solución consumido para calcular el volumen de agua transpirado. Se calcularon los ml de agua transpirados por peso de cada planta, los datos se expresaron como ml.mg^{-1} de PF. En la Figura 8 se puede observar un grupo de plantas bajo el procedimiento antes mencionado.



Figura 8: Plantas de *P. strombulifera* en sistema de medición de transpiración.

Determinación de carbohidratos solubles totales

Para cuantificar la determinación de carbohidratos solubles totales se utilizaron 50 mg de PS de raíces y hojas de plántulas. Para la extracción, la muestra se homogeneizó en mortero con nitrógeno líquido y se le adicionó 0,5 ml de etanol al 80%, se colocó en un baño de agua a 98 °C durante 10 min y se centrifugó 7500 rpm por 10 min. Este procedimiento se repitió 2 veces y se recolectaron los sobrenadantes. Cada muestra se colocó en un tubo de Khan y se le agregó 2 ml del reactivo de color (Antrona al 0,2 % en ácido sulfúrico). Se mezcló levemente y se colocó en un baño de agua a 98 °C durante 10 min, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 625 nm, comparando la lectura con la curva patrón. Para la realización de la curva patrón se utilizó una solución madre de glucosa de 0,2 g/ml y se tomaron alícuotas de 20 a 100 µl, los datos se expresan como µg/µl de glucosa (Fig. 9).

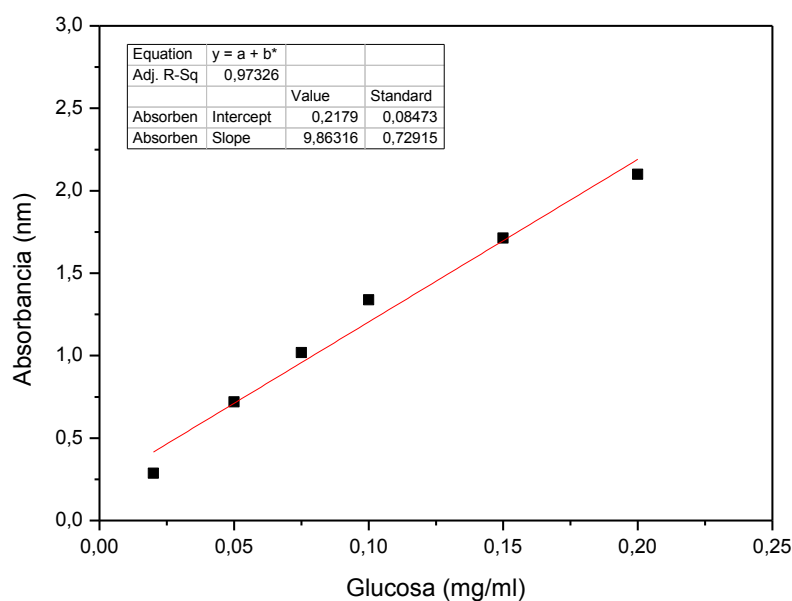


Figura 9: Curva patrón de la cuantificación de carbohidratos solubles totales utilizando glucosa.

Análisis estadístico

Este trabajo fue realizado en un diseño experimental completamente al azar (DCA) en arreglo factorial 4x4. Los factores fueron: 1) salinidad con 4 Niveles: Control (sin sal), NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla de sales, y 2) aplicaciones con 4 Niveles: Sin tratar, ABA,

Tungstato y Fluridona. Se realizó un ANOVA de dos factores para cada variable. Como prueba a posteriori se utilizó DGC, las diferencias significativas fueron consideradas por el valor $p < 0,05$. Si las variables analizadas no cumplieron con los supuestos de Normalidad y Análisis de la Varianza, requisitos para realizar un ANOVA, se procedió a realizar una Prueba no paramétrica (Prueba de Kruskal Wallis). Las siguientes variables en las cuales se realizó el ANOVA fueron: altura total (cm), longitud de raíces (cm), biomasa radical y parte aérea (mg MS/planta), contenido de agua radical y parte aérea (ml/g MS) y transpiración (ml/g PF). Como prueba a posteriori se utilizó la prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) con $\alpha=0,05$. Para las variables: cantidad de hojas (número) y carbohidratos en hojas y en raíces (mg/g PF), que no cumplieron los supuestos para realizar el ANOVA, se utilizó la prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis).

RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados correspondientes al análisis de las variables de crecimiento: longitud de raíces, altura total y número de hojas. Luego de estos se presentan los resultados de biomasa radical y de parte aérea, contenido de agua radical y parte aérea, transpiración y carbohidratos totales.

Longitud de Raíces

Al comienzo de los pulsos salinos, al potencial osmótico de $-0,03$ MPa (21 días), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de las radículas entre los distintos tratamientos, esto se debió a que todos los tratamientos se encontraron en una situación de partida similar sin diferencias entre los mismos. Siete días después, 29 días de comenzado el cultivo hidropónico (potencial osmótico -1 MPa) no se registraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, plantas salinizadas y apicadas con ABA y los inhibidores de su síntesis (Fig. 10).

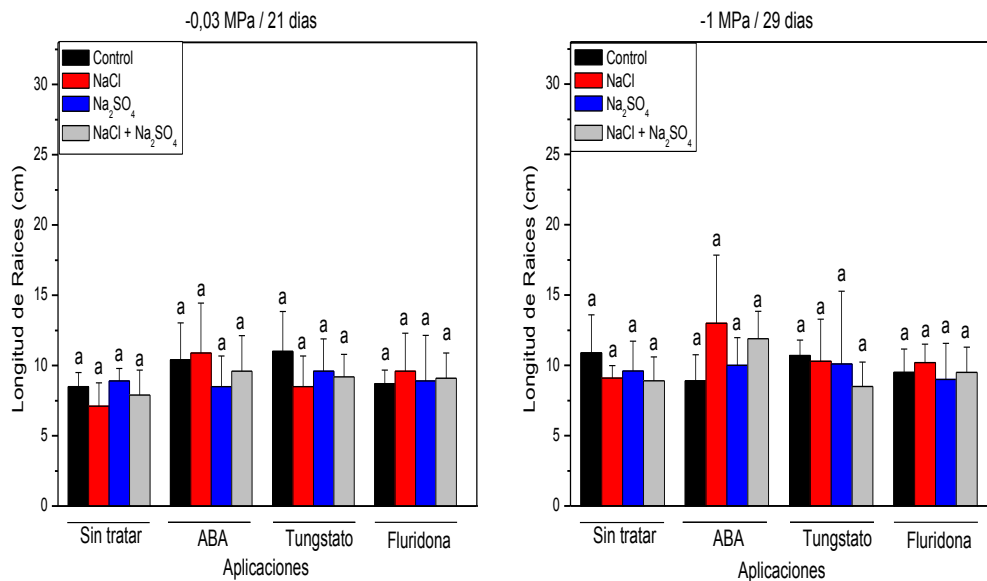


Figura 10: Longitud de radículas a potencial osmótico de $-0,03$ MPa (21 días) y a -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Alcanzado el potencial osmótico de -1,71 MPa (37 días), las radículas de las plantas sin exposición salina aplicadas con ABA y tungstato presentaron un incremento estadísticamente significativo con respecto a las demás plantas del experimento. El resto de las plantas con las diferentes exposiciones salinas y aplicaciones no mostraron diferencias (Fig. 11).

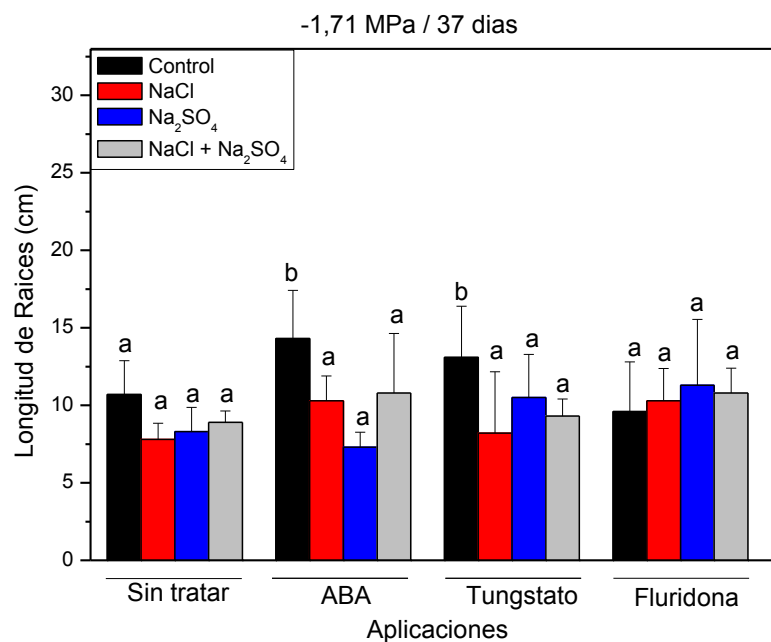


Figura 11: Longitud de radículas a potencial osmótico de -1,71 MPa (37 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Llegado el día 41 (potencial osmótico -2,06 MPa) se observaron un incremento en la longitud radical estadísticamente significativo en plantas sin exposición salina y aplicadas con ABA con respecto a las aplicadas con los inhibidores de síntesis de ABA y sin aplicar. Lo mismo se presentó en las plantas salinizadas con NaCl y la mezcla iso-osmótica. En el caso de las expuestas a Na₂SO₄ las plantas aplicadas con Fluridona mostraron un incremento estadísticamente significativo en la longitud radical con respecto al resto de las plantas salinizadas con esta sal, aplicadas o no aplicadas (Fig. 12)

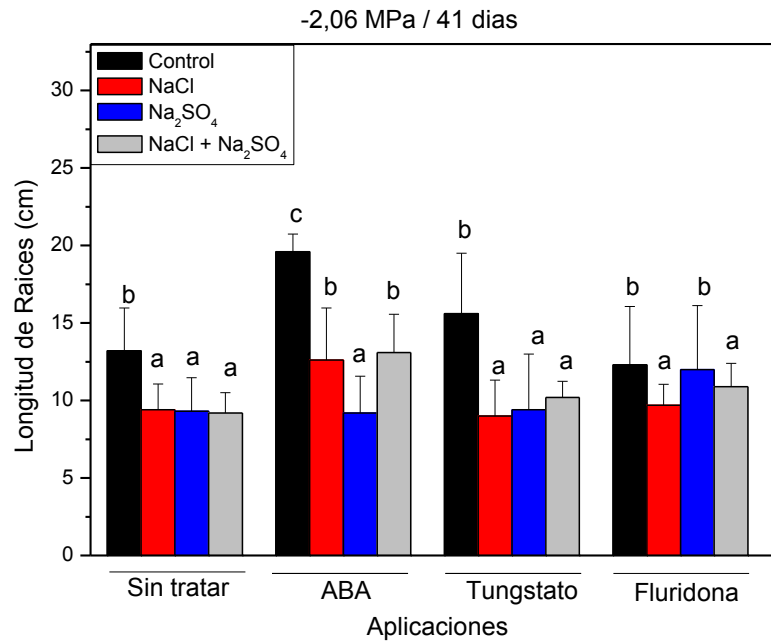


Figura 12: Longitud de radículas a potencial osmótico de -2,06 MPa (41 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Al final del cultivo hidropónico, a los 46 días, en el potencial osmótico de -2,6 MPa, se observó una tendencia a un menor crecimiento radical de las plantas salinizadas (NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla de ambas sales) con respecto a las plantas sin exposición salina independientemente de las aplicaciones. Sin embargo, cuando se les aplicó ABA se observó un aumento estadísticamente significativo en esta variable en las plantas salinizadas con NaCl con respecto a las mismas pero sin aplicar. Las aplicaciones de Tungstato y Fluridona no tuvieron un efecto significativo en la longitud de las raíces en comparación a las plantas a las cuales no se les aplicaron estos compuestos (Fig. 13).

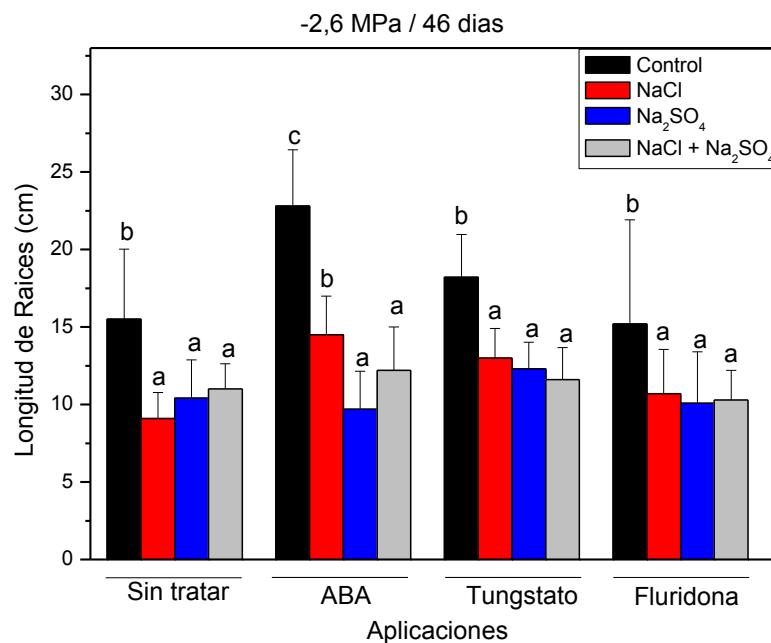


Figura 13: Longitud de radículas a potencial osmótico de -2,6 MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Altura Total

En el inicio de los pulsos salinos, 21 días (potencial osmótico -0,03 MPa), las plantas salinizadas con NaCl y aplicadas con ABA mostraron un incremento estadísticamente significativo en la altura total comparándolas con las plantas sin aplicar bajo la exposición de la misma sal. Esto no se registró en las planta sin exposición salina, tampoco en las salinizadas con Na₂SO₄ y la mezcla. En el caso de la mezcla iso-osmótica la aplicación de ABA genero una disminución en la altura total con respecto a las expuestas a la mezcla sin aplicar.

En las plantas aplicadas con fluridona se observó una disminución estadísticamente significativa en las plantas sin exposición salina con respecto al resto de las plantas salinizadas y aplicadas con fluridona. Para el caso de tungstato las expuestas a NaCl fueron las de menor altura total (Fig. 14).

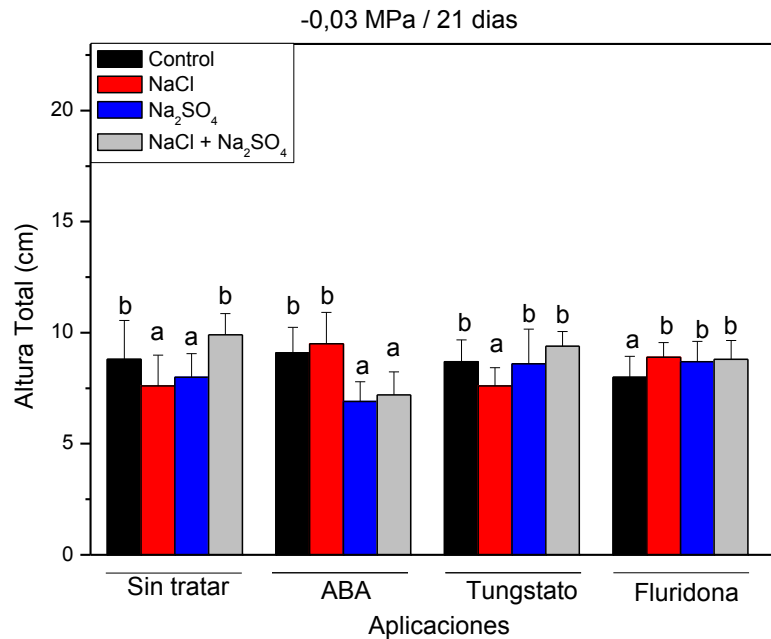


Figura 14: Altura total (cm) a potencial osmótico de -0,03 MPa (21 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

A los 29 días de cultivo, al potencial osmótico de -1 MPa, se registró un menor crecimiento estadísticamente significativo en las plantas sin exposición a sal y sin aplicar, con respecto a las que se les aplicó ABA, tungstato y fluridona (todas sin exposición salina).

De las plantas aplicadas con ABA registraron un mayor crecimiento estadísticamente significativo las plantas no salinizadas y las salinizadas con Na₂SO₄ mientras que las expuestas a NaCl y la mezcla registraron un menor crecimiento.

En las plantas salinizadas con NaCl se observó una mayor altura total en las aplicadas con tungstato y fluridona (diferencia estadísticamente significativa) mientras que en las plantas salinizadas con Na₂SO₄ registraron una mayor altura total cuando se les aplicó ABA en comparación al resto de las aplicaciones y de plantas sin aplicar (Fig. 15).

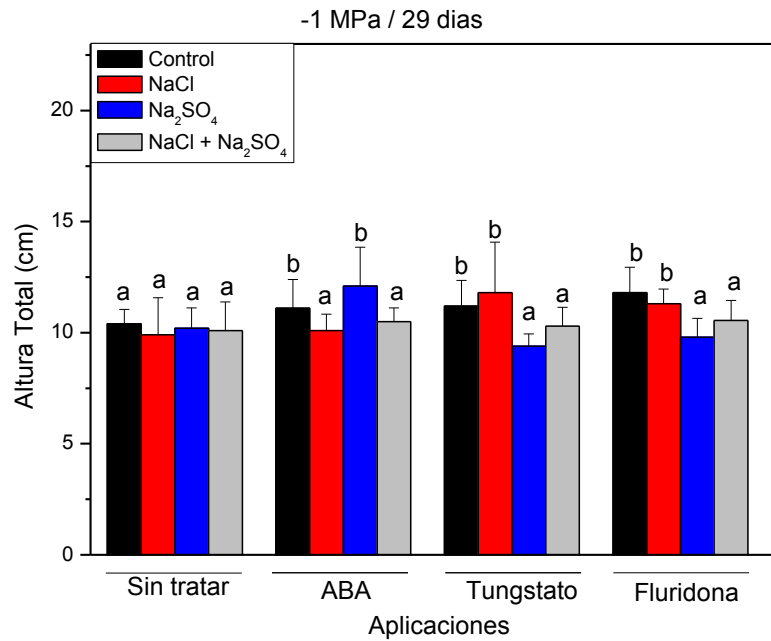


Figura 15: Altura total (cm) a potencial osmótico de -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

A los 37 días de cultivo (potencial osmótico -1,71 MPa) se registró una disminución en la altura total de plantas salinizadas con Na₂SO₄ y aplicadas con tungstato en comparación al resto de los tratamientos, dicha diferencia fue estadísticamente significativa. El resto de los tratamientos no mostraron diferencias en esta variable de crecimiento (Fig. 16).

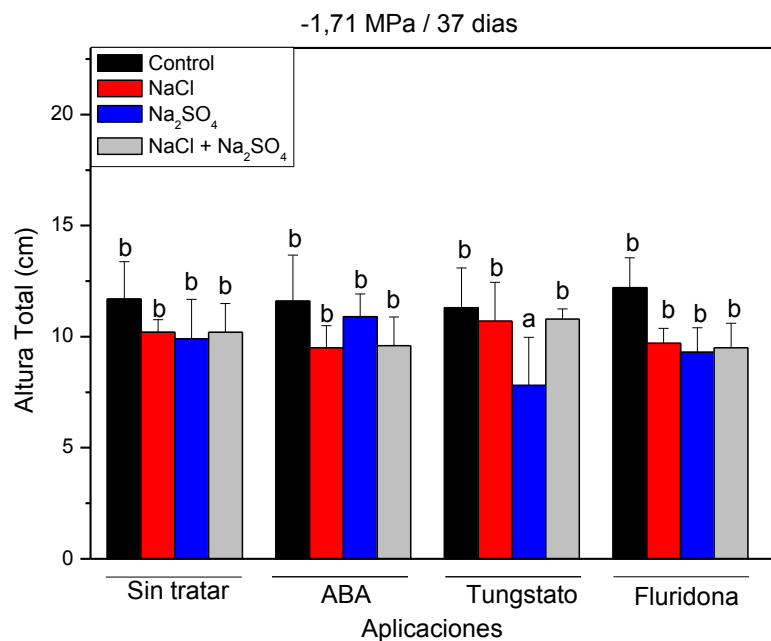


Figura 16: Altura total (cm) a potencial osmótico de -1,71 MPa (37 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

En el potencial de -2,06 MPa, a los 41 días de cultivo, no se registró interacción estadística entre la salinidad y las aplicaciones exógenas a las que fueron expuestas las plantas del experimento. Lo que se observó fue un mayor crecimiento estadísticamente significativo en las plantas que no fueron expuestas a salinidad en comparación a las que sí lo fueron (salinizadas), independientemente de la aplicaciones o no realizadas (Fig. 17).

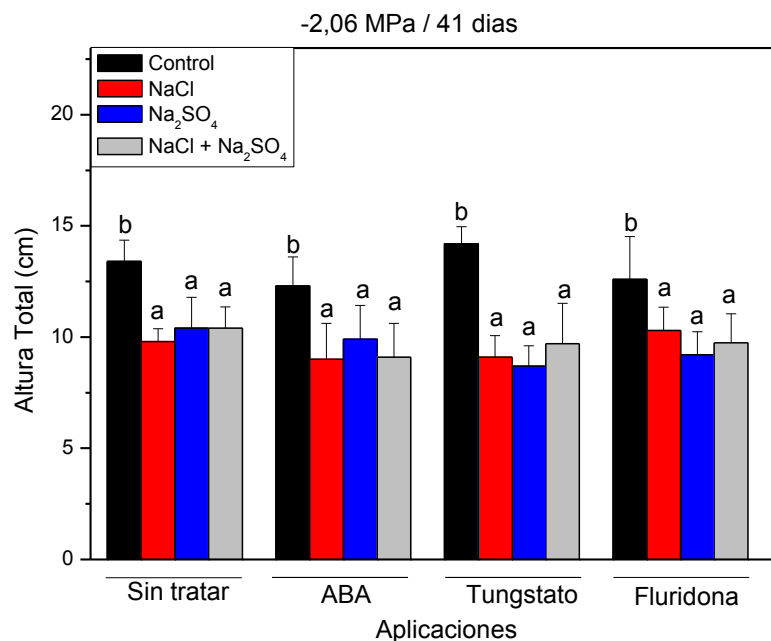


Figura 17: Altura total (cm) a potencial osmótico de -2,06 MPa (41 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Finalizado el cultivo (46 días), al potencial -2,6 MPa se observó que las plantas sin exposición salina con aplicación de ABA y tungstato presentaron una menor altura total, estadísticamente significativa, en comparación a las mismas plantas (sin exposición salina) cuando se les aplicó fluridona o cuando no sufrieron aplicaciones. Entre estas últimas no registraron diferencia alguna.

En las plantas salinizadas con Na₂SO₄ se registró un menor crecimiento en altura total cuando se les aplicó tungstato y fluridona, en comparación a las aplicadas con ABA y sin aplicación alguna.

En las plantas salinizadas con NaCl no se observaron cambios en la altura total con las diferentes aplicaciones, en cambio, en las plantas salinizadas con la mezcla de sales se registró una disminución de esta variable con las aplicaciones de ABA en comparación a las no aplicadas o las que fueron aplicadas con fluridona y tungstato (Fig. 18).

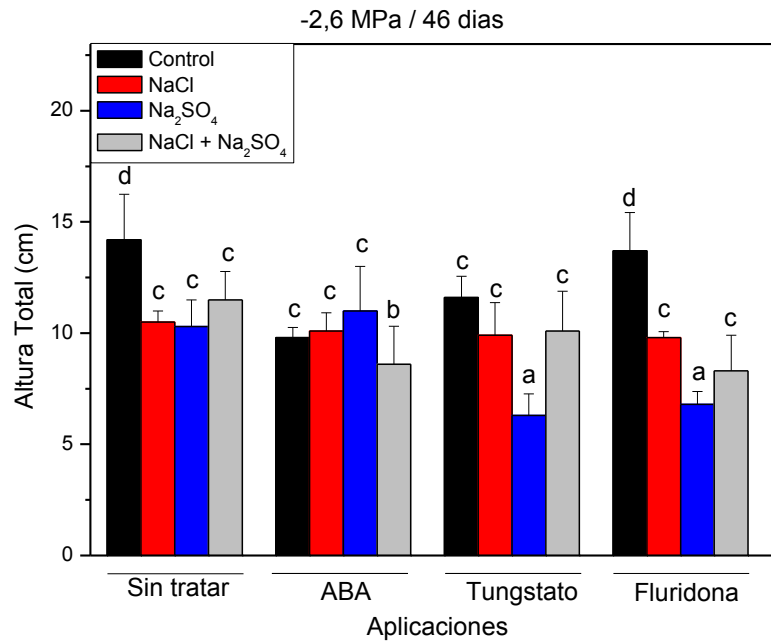


Figura 18: Altura total (cm) a potencial osmótico de -2,6 MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Número de hojas

Al inicio de los pulsos salinos, al potencial -0,03 MPa (21 días) no se registraron diferencias en esta variable de crecimiento, número de hojas, entre los distintos tratamientos. Es decir con las distintas exposiciones salinas (control, NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica) y aplicaciones (de ABA, tungstato, fluridona y sin aplicar (Fig. 19).

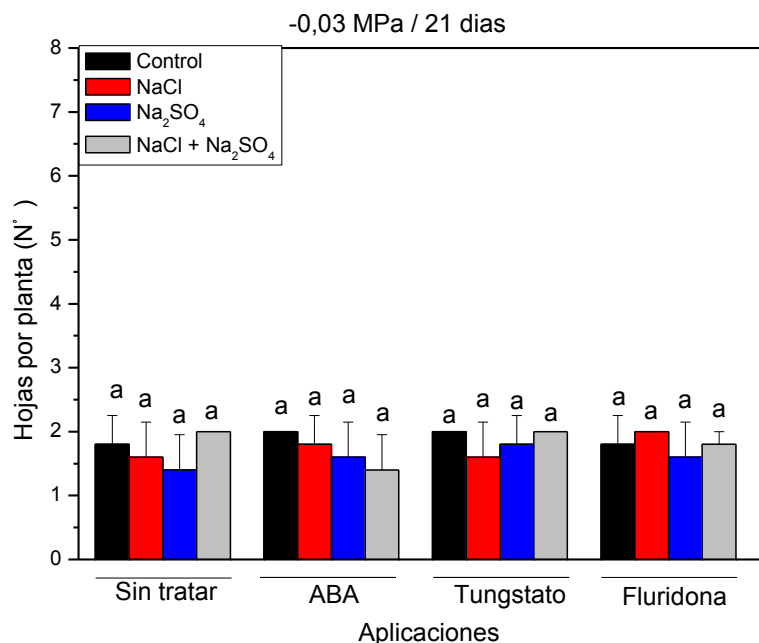


Figura 19: Hojas por planta a potencial osmótico de -0,03 MPa (21 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

A los 29 días (potencial osmótico -1 MPa) las plantas sin salinizar aplicadas con fluridona presentaron una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el número de hojas por planta en comparación a las aplicadas con tungstato y las que permanecieron sin aplicar.

Por otro lado las plantas salinizadas con Na₂SO₄ y mezcla iso-osmótica presentaron un mayor número de hojas cuando se les aplicó fluridona respecto a las aplicadas con ABA. Las salinizadas con NaCl, no mostraron variaciones significativas en esta variable de crecimiento con las diferentes aplicaciones como así tampoco las plantas que no fueron aplicadas (Fig. 20).

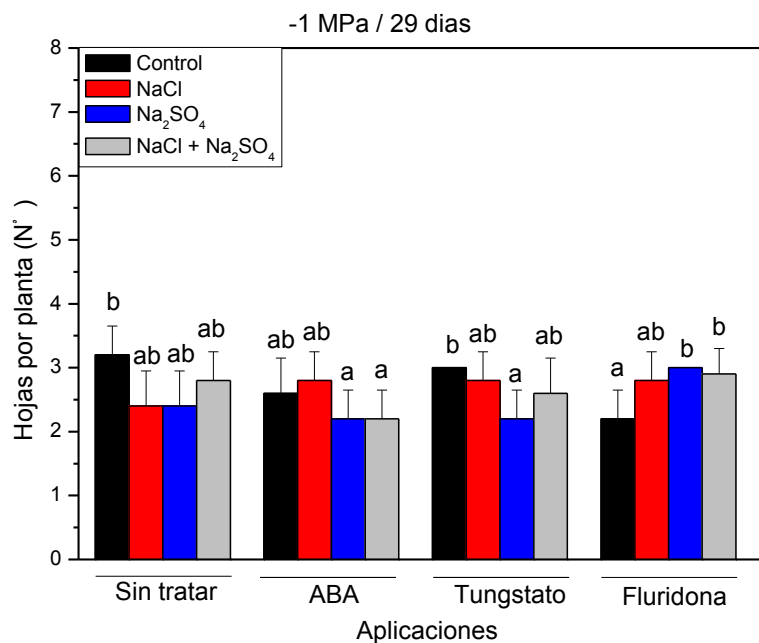


Figura 20: Hojas por planta a potencial osmótico de -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

En el potencial osmótico -1,71 MPa (37 días de cultivo) se observó un incremento estadísticamente significativo en el número de hojas en las plantas controles o sin exposición salina a las cuales se les aplicó ABA y aquellas que permanecieron sin aplicar, en comparación a las plantas salinizadas con NaCl y Na₂SO₄, con aplicaciones de ABA y sin aplicaciones. Las plantas sin exposición salina y las salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica no mostraron diferencias estadísticamente significativa en esta variable de crecimiento cuando se le aplicó ABA, tungstato o fluridona (Fig. 21).

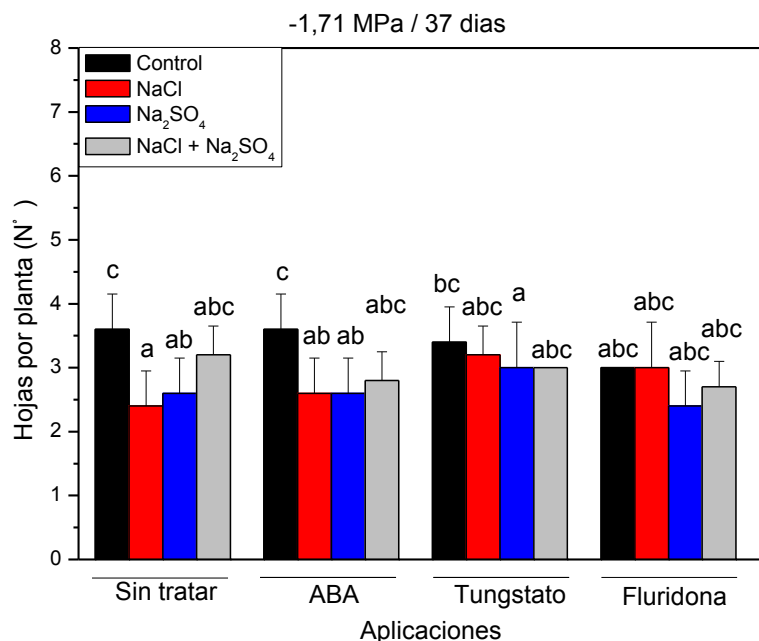


Figura 21: Hojas por planta a potencial osmótico de -1,71 MPa (37 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

A los 41 días, al potencial osmótico -2,06 MPa las plantas que no fueron expuestas a salinidad y que si fueron aplicadas con ABA presentaron un incremento estadísticamente significativo con respecto a las aplicadas con ABA pero salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla de las mismas. Lo mismo ocurrió en las que no fueron expuestas a salinidad y tampoco aplicadas en comparación con las que no fueron aplicadas pero si fueron salinizadas con NaCl y Na₂SO₄.

Además las plantas sin exposición a sales mantuvieron sin modificar el número de hojas con las distintas aplicaciones de ABA y sus inhibidores. Las plantas sometidas a la mezcla de sales sin aplicación exógena, registraron un incremento estadísticamente significativo mientras que con la misma exposición salina y con la aplicación de ABA provoco una disminución en la variable de crecimiento (Fig. 22).

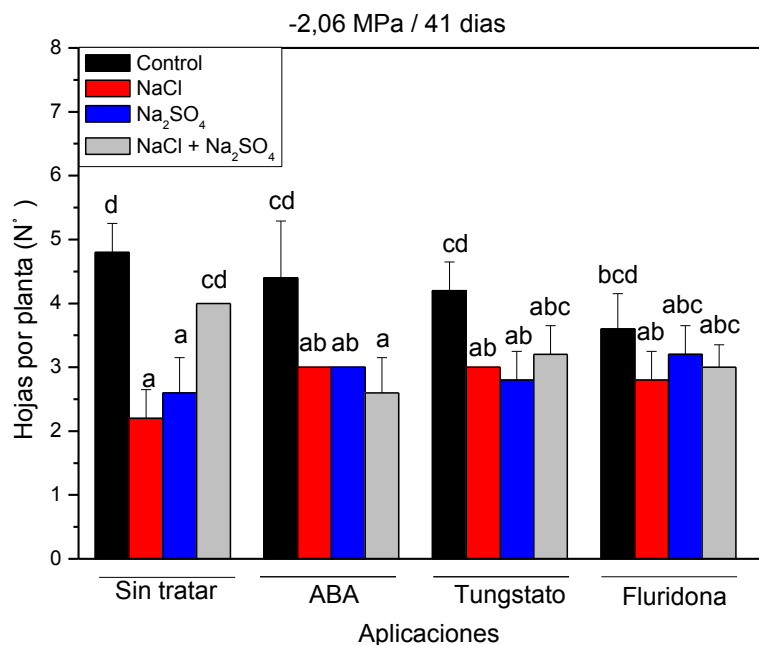


Figura 22: Hojas por planta a potencial osmótico de -2,06 MPa (41 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Finalizado el cultivo, al potencial osmótico -2,6 MPa (46 días), se observó una tendencia de las plantas sin exposición salina con aplicaciones de ABA, tungstato y sin aplicación exógena al incremento del número de hojas por sobre las plantas sin exposición salina pero que fueron aplicadas con fluridona, diferenciándose estadísticamente las aplicadas con fluridona de las no aplicadas.

También es importante destacar que las plantas sin exposición salina presentaron un mayor número de hojas estadísticamente significativo que las plantas salinizadas con NaCl y Na₂SO₄ en las aplicaciones de ABA, tungstato y también en las plantas con dicha salinización que no fueron aplicadas.

Por último se registró un incremento estadísticamente significativo en las plantas expuestas a la mezcla de sales por sobre las expuestas a NaCl y Na₂SO₄ en las que fueron aplicadas con tungstato y sin aplicar (Fig. 23).

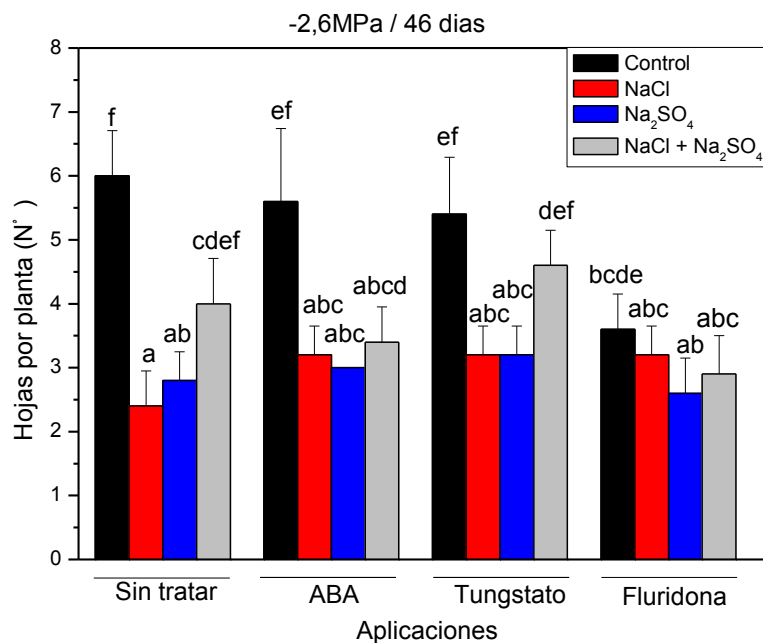


Figura 23: Hojas por planta a potencial osmótico de -2,6 MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

BIOMASA

A continuación se muestran los resultados correspondientes a la biomasa de las plantas, la cual se registró como mg de materia seca radical y parte aérea por planta.

Biomasa radical

A los 29 y 40 días de edad del cultivo, no se detectaron diferencias significativas entre las plantas salinizadas y controles con las diferentes aplicaciones. Sin embargo, a 46 días, se registró un incremento estadísticamente significativo en la biomasa radical en las plantas controles (sin exposición salina) aplicadas con tungstato y fluridona, en comparación al valor obtenido en las plantas aplicadas con ABA el cual fue similar a las plantas sin aplicación. En las plantas salinizadas con NaCl la biomasa radical incrementó cuando las plantas fueron aplicadas con ABA, tungstato y fluridona. Esta respuesta también se observó en las plantas creciendo con Na_2SO_4 en forma de tendencia ya que el análisis estadístico no mostró diferencias significativas, siendo las plantas aplicadas con ABA las que presentaron mayor biomasa radical. Las plantas con la mezcla iso-osmótica de las sales monosalinas (Bisalina) mostraron una mayor biomasa radical cuando fueron aplicadas con tungstato, seguido por el valor obtenido en las plantas aplicadas con ABA y fluridona, diferenciándose estadísticamente de las plantas no aplicadas las que registraron el menor valor (Cuadro 2).

Cuadro 2: Biomasa radical de plantas de *P. strombulifera*. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

BIOMASA RADICAL			
Tratamiento	mg MS/planta potencial -1MPa	mg MS/planta potencial -1,9MPa	mg MS/planta potencial -2,6MPa
Control Sin Tratar	1,87 ^a	4,05 ^a	4,25 ^a
Control ABA	2,85 ^a	5,85 ^a	6,60 ^a
Control Tungstato	3,77 ^a	6,35 ^a	15,15 ^b
Control Fluridona	3,42 ^a	7,40 ^a	10,00 ^b
NaCl Sin Tratar	2,72 ^a	7,00 ^a	4,55 ^a
NaCl ABA	2,15 ^a	9,70 ^a	9,95 ^b
NaCl Tungstato	1,72 ^a	8,25 ^a	8,40 ^b
NaCl Fluridona	2,62 ^a	5,30 ^a	8,35 ^b
Na ₂ SO ₄ Sin Tratar	1,80 ^a	8,00 ^a	7,90 ^b
Na ₂ SO ₄ ABA	2,67 ^a	6,40 ^a	9,30 ^b
Na ₂ SO ₄ Tungstato	2,22 ^a	6,35 ^a	8,45 ^b
Na ₂ SO ₄ Fluridona	2,22 ^a	6,35 ^a	7,40 ^b
Bisalina Sin Tratar	2,00 ^a	6,60 ^a	5,85 ^a
Bisalina ABA	2,20 ^a	6,30 ^a	7,70 ^b
Bisalina Tungstato	2,47 ^a	6,20 ^a	10,50 ^b
Bisalina Fluridona	3,70 ^a	9,55 ^a	7,65 ^b

Biomasa parte aérea

Similar a lo observado en los resultados de la biomasa radical, no se observan grandes cambios en esta variable a los 29 y 40 días del cultivo. A los 46 días, las plantas controles o sin exposición salina, aplicadas con tungstato y fluridona registraron un incremento estadísticamente significativo en comparación a las plantas sin exposición salina que fueron aplicadas con ABA y las que no recibieron aplicación alguna, estas últimas fueron las que presentaron el menor valor de biomasa. En cuanto a las plantas salinizadas con NaCl, al potencial osmótico de -2.6 MPa, se observó un incremento en esta variable en las aplicadas ABA y tungstato en comparación a las que no recibieron aplicaciones y las aplicadas con fluridona. Lo mismo se presentó para las plantas salinizadas con Na₂SO₄. En las plantas salinizadas con la mezcla iso-osmótica o bisalina, se registró un incremento estadísticamente significativo en la biomasa en las plantas aplicadas con tungstato (con el mayor valor obtenido de las plantas salinizadas con la mezcla) y fluridona con respecto al valor registrado por las plantas aplicadas con ABA y las que no recibieron aplicaciones (Cuadro 3).

Cuadro 3: Biomasa parte aérea de plantas de *P. strombulifera*. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

BIOMASA PARTE AÉREA			
Tratamiento	mg MS/planta potencial -1MPa	mg MS/planta potencial -1,9MPa	mg MS/planta potencial - 2,6MPa
Control Sin Tratar	17,87 ^a	23,60 ^a	27,90 ^a
Control ABA	20,57 ^a	33,80 ^a	30,95 ^a
Control Tungstato	22,42 ^a	29,30 ^a	53,00 ^b
Control Fluridona	20,25 ^a	36,75 ^a	49,75 ^b
NaCl Sin Tratar	21,92 ^a	36,10 ^a	31,55 ^a
NaCl ABA	22,27 ^a	39,60 ^a	36,55 ^b
NaCl Tungstato	16,65 ^a	30,50 ^a	35,25 ^b
NaCl Fluridona	19,67 ^a	22,80 ^a	27,80 ^a
Na ₂ SO ₄ Sin Tratar	18,72 ^a	31,35 ^a	30,40 ^a
Na ₂ SO ₄ ABA	18,85 ^a	37,00 ^a	32,65 ^b
Na ₂ SO ₄ Tungstato	20,40 ^a	36,05 ^a	32,20 ^b
Na ₂ SO ₄ Fluridona	18,12 ^a	36,45 ^a	27,55 ^a
Bisalina Sin Tratar	20,00 ^a	29,25 ^a	27,20 ^a
Bisalina ABA	15,75 ^a	29,85 ^a	29,10 ^a
Bisalina Tungstato	20,55 ^a	33,00 ^a	42,00 ^b
Bisalina Fluridona	22,57 ^a	39,25 ^a	33,00 ^b

CONTENIDO DE AGUA

Contenido de agua en raíces

A medida que se desarrolló el cultivo, al disminuir el potencial osmótico en las soluciones salinas, se observó un menor contenido de agua en las raíces en plantas salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla (bisalina) como así también en las raíces de plantas controles. No se observaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de agua en raíces entre los diferentes tratamientos alcanzado el potencial osmótico -1 MPa. En el potencial osmótico -1,9 MPa se registró un mayor contenido hídrico estadísticamente significativo en plantas sin salinizar y sin aplicación en comparación con las plantas que sufrieron aplicaciones. En contraposición en las plantas salinizadas (NaCl, Na₂SO₄ y Bisalina) no registraron diferencias estadísticas significativas.

Alcanzado el menor potencial (-2,6 MPa) se observó un incremento en el contenido hídrico radical en plantas sin exposición salina y sin aplicar por sobre las que fueron aplicadas con ABA, tungstato y fluridona. Mientras que en las plantas salinizadas con NaCl y que no fueron aplicadas registraron un menor contenido hídrico con respecto a las aplicadas con ABA, tungstato y fluridona. En las plantas salinizadas con Na₂SO₄ no se observaron diferencias con las distintas aplicaciones. Si se observaron diferencias en las salinizadas con la mezcla de sales en las cuales las aplicadas con tungstato presentaron un menor contenido hídrico en comparación a las plantas con la misma salinización que fueron aplicadas con ABA y fluridona, como así también con las que permanecieron sin ser aplicadas (Cuadro 4).

Cuadro 4: Contenido de agua en raíces de plantas de *P. strombulifera*. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

CONTENIDO DE AGUA EN RAÍCES			
Tratamiento	ml/g MS potencial -1 MPa	ml/g MS potencial -1,9 MPa	ml/g MS potencial -2,6 MPa
Control Sin Tratar	11,73 ^a	9,92 ^c	8,58 ^c
Control ABA	9,64 ^a	6,19 ^b	5,49 ^b
Control Tungstato	8,88 ^a	4,54 ^a	5,61 ^b
Control Fluridona	9,67 ^a	6,58 ^b	4,83 ^b
NaCl Sin Tratar	10,28 ^a	4,40 ^a	3,83 ^a
NaCl ABA	12,25 ^a	4,58 ^a	4,21 ^b
NaClTungstato	11,58 ^a	4,45 ^a	4,40 ^b
NaClFluridona	10,09 ^a	4,66 ^a	4,69 ^b
Na ₂ SO ₄ Sin Tratar	14,70 ^a	4,66 ^a	3,64 ^a
Na ₂ SO ₄ ABA	10,80 ^a	4,36 ^a	3,68 ^a
Na ₂ SO ₄ Tungstato	10,67 ^a	4,48 ^a	3,23 ^a
Na ₂ SO ₄ Fluridona	12,06 ^a	3,27 ^a	3,25 ^a
Bisalina Sin Tratar	14,75 ^a	4,90 ^a	4,28 ^b
Bisalina ABA	13,35 ^a	4,67 ^a	4,04 ^b
BisalinaTungstato	8,89 ^a	4,58 ^a	3,80 ^a
BisalinaFluridona	9,20 ^a	3,94 ^a	4,33 ^b

Contenido de agua en parte aérea

El contenido de agua en la parte aérea de las plantas salinizadas y con aplicaciones fue menor a medida que pasaron los días y al disminuir el potencial osmótico, con la excepción de las plantas controles (sin exposición salina) y sin aplicación las cuales mostraron un valor constante a lo largo de todo el cultivo.

A los potenciales osmóticos -1,9 y -2,6 MPa se registró un incremento significativo en el contenido de agua en las plantas sin exposición salina y sin aplicar por sobre las aplicadas con ABA, tungstato y fluridona. Los tratamientos salinos, NaCl, Na₂SO₄ y bisalina no presentaron diferencias significativas entre las distintas aplicaciones, siendo el contenido de agua menor en comparación a las plantas controles o sin exposición salina (Cuadro 5).

Cuadro 5: Contenido de agua en parte aérea de plantas de *P. strombulifera*. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

CONTENIDO DE AGUA EN PARTE AÉREA			
Tratamiento	ml/g MS potencial -1 MPa	ml/g MS potencial -1,9 MPa	ml/g MS potencial -2,6 MPa
Control Sin Tratar	4,72 ^a	4,21 ^c	4,03 ^c
Control ABA	4,20 ^a	3,28 ^b	3,59 ^b
Control Tungstato	4,18 ^a	3,15 ^b	3,39 ^b
Control Fluridona	4,04 ^a	3,66 ^b	3,25 ^b
NaCl Sin Tratar	4,09 ^a	2,37 ^a	1,35 ^a
NaCl ABA	4,42 ^a	1,99 ^a	1,68 ^a
NaClTungstato	5,12 ^a	2,41 ^a	1,90 ^a
NaClFluridona	3,82 ^a	2,17 ^a	2,33 ^a
Na₂SO₄ Sin Tratar	4,67 ^a	1,83 ^a	1,31 ^a
Na₂SO₄ ABA	4,56 ^a	1,89 ^a	1,47 ^a
Na₂SO₄Tungstato	4,14 ^a	1,67 ^a	1,25 ^a
Na₂SO₄Fluridona	4,14 ^a	1,50 ^a	1,53 ^a
Bisalina Sin Tratar	4,68 ^a	2,06 ^a	1,74 ^a
Bisalina ABA	4,35 ^a	2,19 ^a	1,55 ^a
BisalinaTungstato	3,74 ^a	1,89 ^a	1,27 ^a
BisalinaFluridona	4,12 ^a	2,11 ^a	1,67 ^a

TRANSPIRACIÓN

A los 29 días (potencial osmótico -1 MPa en los tratamientos salinos), se registró la transpiración en plantas sin exposición salina y salinizadas con sales (NaCl, Na₂SO₄, y bisalina) aplicadas con ABA, sus inhibidores de síntesis (fluridona y tungstato), y no aplicadas (sin tratar). Se destaca una disminución estadísticamente significativa en la transpiración en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas cuando a las mismas se les aplicó ABA. Sólo las plantas controles o sin salinizar aplicadas con los inhibidores de síntesis de ABA, tungstato y fluridona, mostraron un aumento estadísticamente significativo en la transpiración al ser comparadas con aquellas controles que no recibieron aplicaciones (Fig. 24).

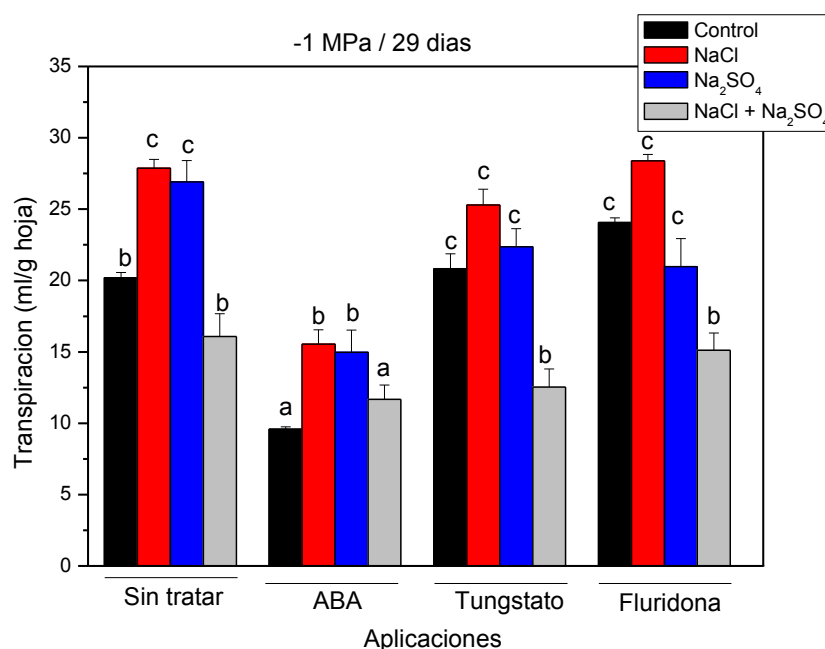


Figura 24: Transpiración (mililitros por gramo de hoja de peso fresco) a potencial osmótico de -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Al potencial -1,88 MPa, 39 días de cultivo, las plantas salinizadas con NaCl y Na₂SO₄ a las cuales no se les aplicó (sin tratar) registraron un incremento significativo en la transpiración en comparación a las plantas controles sin aplicar (sin tratar). Al igual que lo observado a los 29 días, las aplicaciones de ABA disminuyeron significativamente la

transpiración independientemente de las sales, mientras que la aplicación de los inhibidores de ABA no tuvieron efectos en esta variable. En las plantas sin exposición salina se observó una disminución en la transpiración en las plantas que fueron aplicadas con ABA al igual que las aplicadas con fluridona en comparación a las que no fueron aplicadas o que si fueron pero con tungstato (Fig. 25).

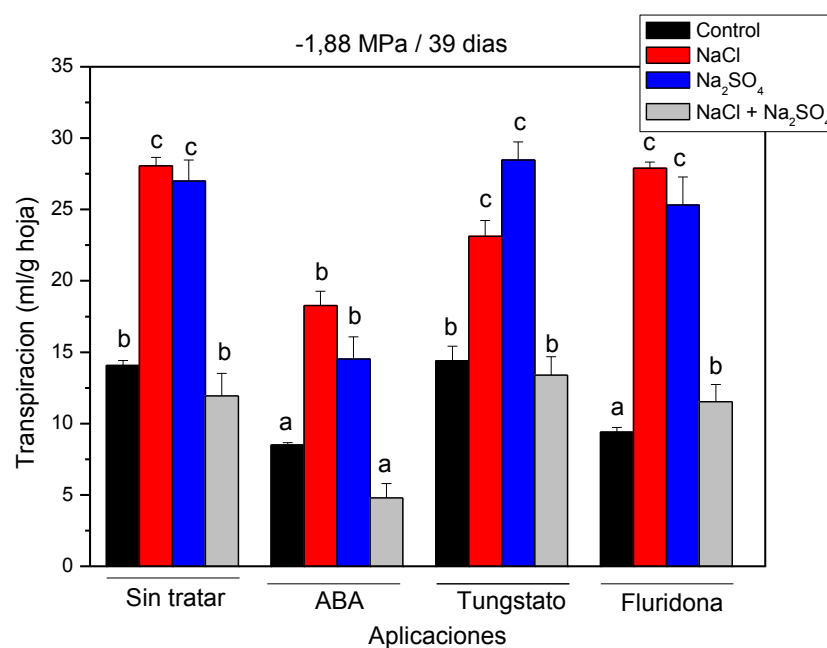


Figura 25: Transpiración (mililitros por gramo de hoja de peso fresco) a potencial osmótico de -1,88 MPa (39 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

A los 46 días, al potencial osmótico -2,6 MPa, se registró nuevamente, que la aplicación de ABA reduce significativamente la transpiración en todas las plantas (aplicación de ABA vs plantas sin aplicar) ya sea en plantas salinizadas o no. Por otro lado, las plantas salinizadas (NaCl, Na₂SO₄ y mezcla iso-osmótica) que fueron aplicadas con tungstato y fluridona registraron un incremento en la transpiración comparándolas con las plantas aplicadas con ABA. Es importante mencionar una clara tendencia a que las plantas salinizadas con Na₂SO₄ registraron los mayores valores en transpiración, cualquiera sea la aplicación realizada, en comparación al resto de las plantas (Fig. 26).

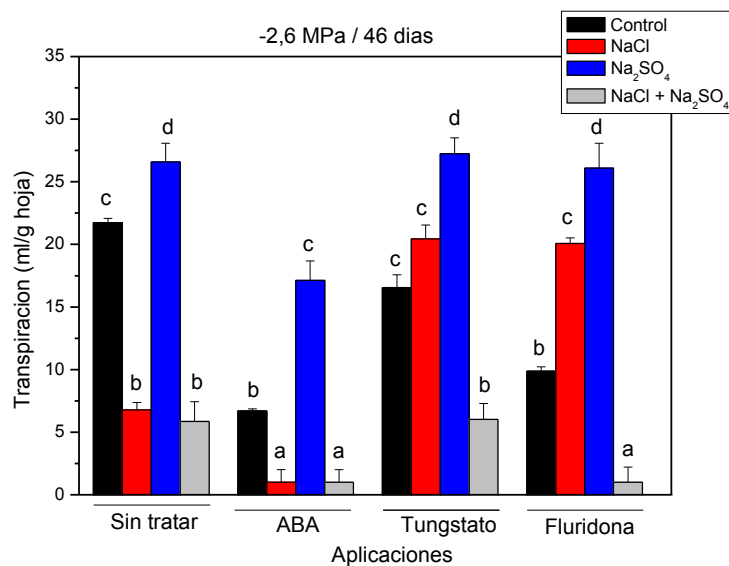


Figura 26: Transpiración (mililitros por gramo de hoja de peso fresco) a potencial osmótico de -2,6 MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y la prueba a posteriori DGC, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

CARBOHIDRATOS

A continuación se detallan los resultados correspondientes a la determinación y análisis de carbohidratos solubles totales en las raíces y en hojas de plantas de *P. strombulifera*.

Carbohidratos en raíces

A los 29 días (potencial osmótico -1 MPa) se observó un incremento estadísticamente significativo en el contenido de carbohidratos en raíces cuando a plantas sin exposición salina se les aplicó ABA y tungstato en comparación a las que permanecieron sin aplicación.

También plantas que fueron aplicadas con tungstato presentaron una disminución en los carbohidratos cuando fueron salinizadas con la mezcla de las sales con respecto a las que no se las expusieron a salinidad y a las que se las salinizaron con NaCl o Na₂SO₄. En el caso de las plantas aplicadas con fluridona se registró un incremento estadísticamente significativo en las plantas salinizadas con Na₂SO₄ en comparación a las salinizadas con la mezcla isosmótica (Fig. 27)

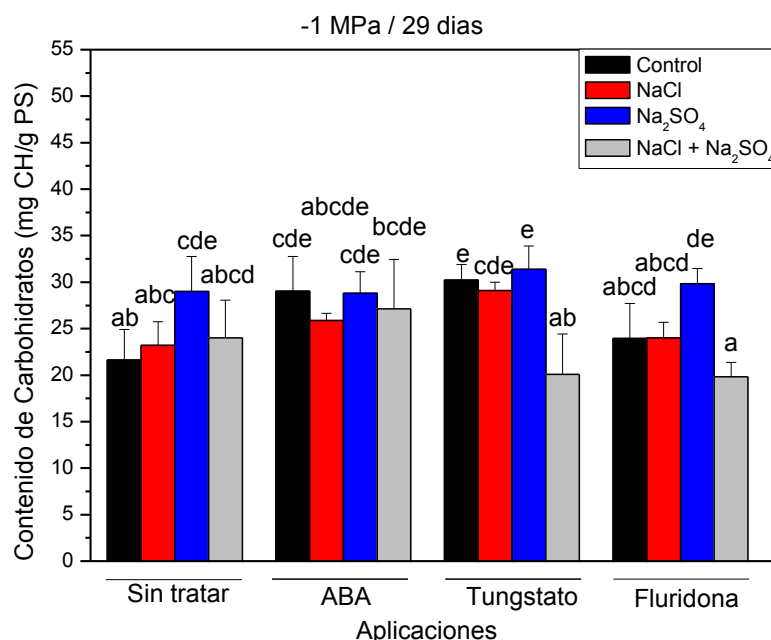


Figura 27: Contenido de carbohidratos en raíz (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl,

Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos (p>0,05).

Al potencial -1,88 MPa (39 días) no se registraron diferencias estadísticas significativas en las plantas que no fueron salinizadas con las distintas aplicaciones, ABA y sus inhibidores de síntesis. Las que fueron salinizadas con Na₂SO₄ y aplicadas con ABA presentaron un incremento estadísticamente significativo de los carbohidratos en raíz con respecto a las que no fueron aplicadas y las que si fueron aplicadas pero con fluridona, siempre hablando del mismo compuesto salino (Na₂SO₄).

En cuanto a las plantas salinizadas con NaCl las aplicadas con ABA registraron un incremento comparándolas con las que no sufrieron aplicación alguna. Y por último, las plantas expuestas a la mezcla de sales también presentaron un incremento de los carbohidratos en raíz cuando se les aplico ABA en comparación a las aplicadas con los inhibidores de biosíntesis, tungstato y fluridona (Fig. 28).

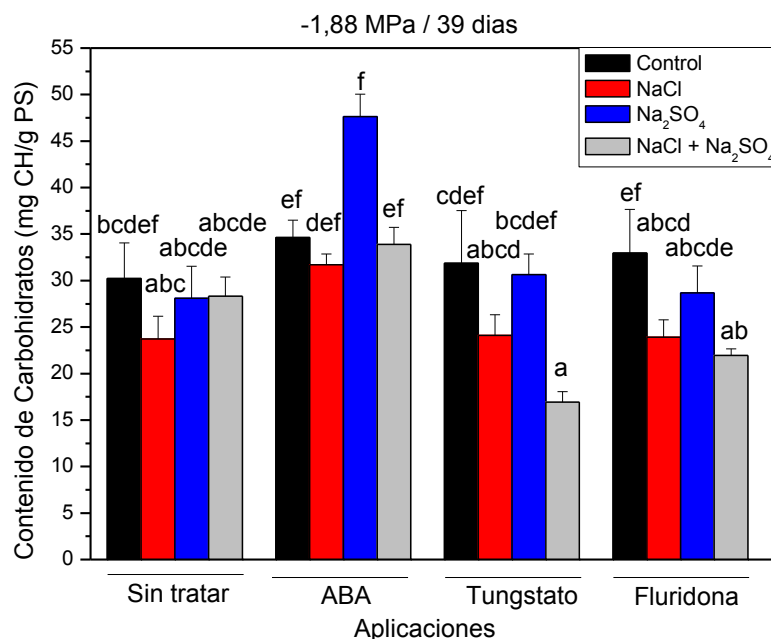


Figura 28: Contenido de carbohidratos en raíz (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de -1,88 MPa (39 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó

la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

A los 46 días, al potencial osmótico $-2,6$ MPa, y finalización del cultivo se observó que las plantas sin exposición salina no registraron diferencias estadísticas significativas en el contenido de carbohidratos en raíz con las diferentes aplicaciones, no fue el caso de las diferentes sales y mezcla. Las plantas salinizadas con NaCl y la mezcla de sales que fueron aplicadas con ABA registraron un incremento estadísticamente significativo comparándolas con las plantas salinizadas con los compuestos antes mencionados pero aplicadas con tungstato y fluridona.

En las plantas salinizadas con Na_2SO_4 aplicadas con ABA registraron un incremento estadísticamente significativo en el contenido de carbohidratos en comparación con las no aplicadas y también con las aplicadas con fluridona.

Cabe destacar que se observó una tendencia clara aunque no se evidenció en todos los casos estadísticamente, al aumento del contenido de carbohidratos en raíz con la aplicación de ABA independientemente de la exposición o no salina que fuere (Fig. 29).

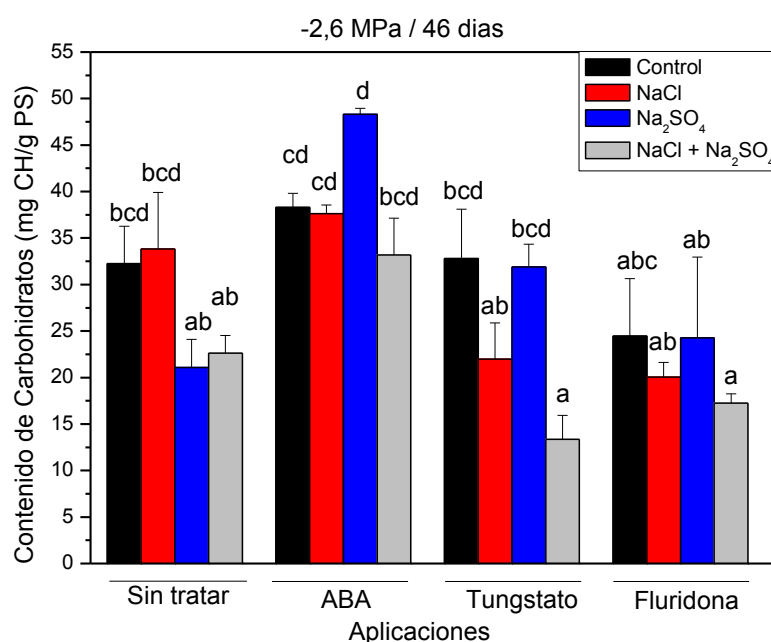


Figura 29: Contenido de carbohidratos en raíz (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de $-2,6$ MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na_2SO_4 y la mezcla iso-osmótica ($\text{NaCl}+\text{Na}_2\text{SO}_4$) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

Carbohidratos en hoja

A diferencia de lo observado en raíces, al potencial -1 MPa, a los 29 días, el tratamiento con ABA produce una disminución en el contenido de carbohidratos en hojas en las plantas con y sin exposición salina. Las plantas que no fueron expuestas a sales (control) y que fueron aplicadas con ABA presentaron una disminución estadísticamente significativa en el contenido de carbohidratos en hoja en comparación con las mismas plantas que fueron aplicadas con fluridona. Algo similar ocurrió con las plantas salinizadas con Na_2SO_4 las cuales registraron una disminución en el contenido de carbohidratos cuando fueron aplicadas con ABA con respecto a las sin aplicar (sin tratar) y a las aplicadas con tungstato.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las plantas salinizadas con NaCl y la mezcla de sales con las distintas aplicaciones realizadas (Fig. 30).

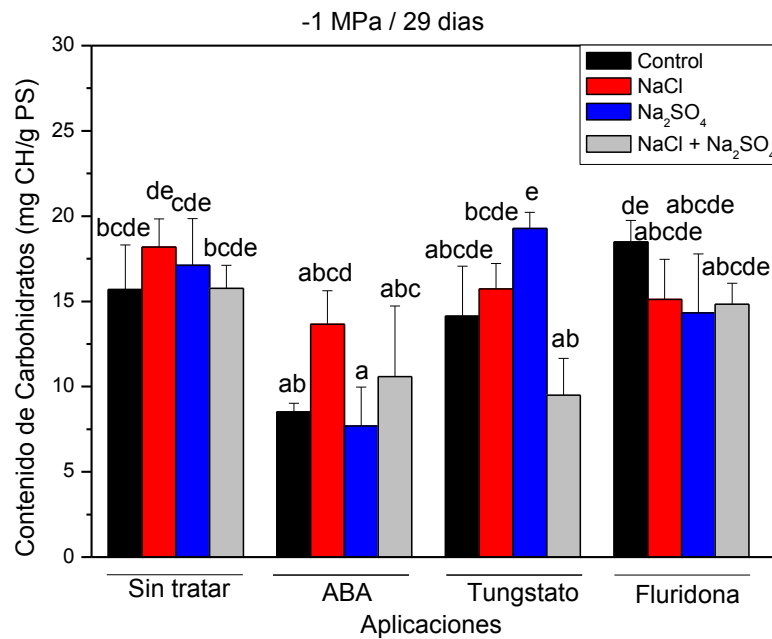


Figura 30: Contenido de carbohidratos en hoja (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de -1 MPa (29 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na_2SO_4 y la mezcla iso-osmótica ($\text{NaCl}+\text{Na}_2\text{SO}_4$) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

Alcanzado el potencial osmótico -1,88 MPa (39 días) se registró en plantas sin exposición salina nuevamente una disminución estadísticamente significativa en el contenido de carbohidratos en las plantas aplicadas con ABA en comparación con las aplicadas con fluridona. También en las plantas salinizadas con NaCl y aplicadas con ABA se observó esta disminución del contenido de carbohidratos mientras que las sin aplicar registraron valores mayores de contenido de carbohidratos en hoja.

Mientras que las plantas salinizadas con Na₂SO₄ y aplicadas con ABA incrementaron su contenido de carbohidratos en comparación a las mismas plantas pero que no fueron aplicadas. Algo similar ocurrió en las plantas salinizadas con la mezcla de sales donde las plantas aplicadas con ABA incrementaron su contenido de carbohidratos con respecto a las que fueron aplicadas con tungstato (Fig. 31).

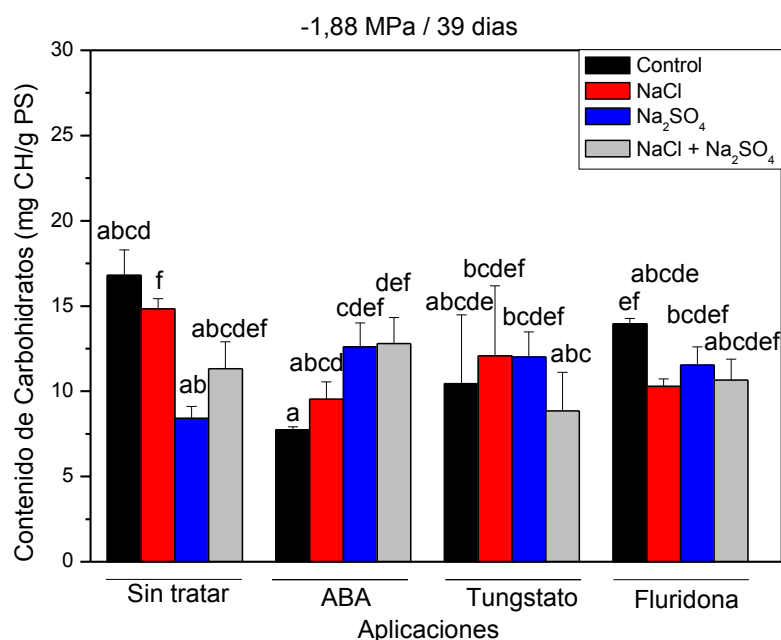


Figura 31: Contenido de carbohidratos en hoja (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de -1,88 MPa (39 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl, Na₂SO₄ y la mezcla iso-osmótica (NaCl+Na₂SO₄) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media ± el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Al finalizar el cultivo, a los 46 días (potencial osmótico -2,6 MPa) las plantas sin exposición salina (control) registraron una disminución estadísticamente significativa en las

plantas aplicadas con ABA con respecto a las mismas pero que no sufrieron aplicación alguna y las que si fueron aplicadas con fluridona. Lo mismo que para las plantas sin exposición salina se presentó en las salinizadas con Na_2SO_4 .

En cuanto a las plantas salinizadas con NaCl y a la mezcla de sales se observó una clara tendencia a disminuir el contenido de carbohidratos en hoja cuando a las plantas se les aplico la hormona ABA, la cual no se vio reflejada en el análisis estadístico realizado (Fig. 32).

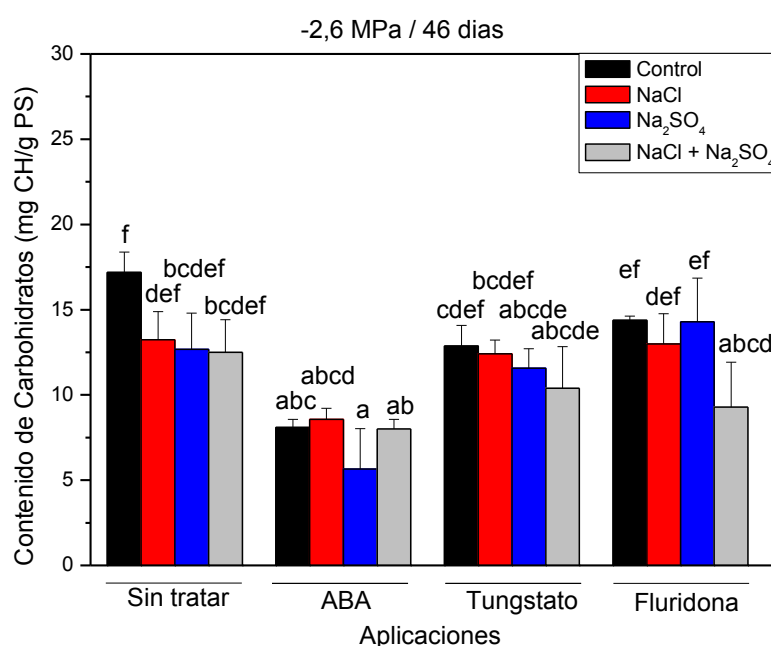


Figura 32: Contenido de carbohidratos en hoja (mg de carbohidratos por g de peso seco) a potencial osmótico de -2,6 MPa (46 días) en plantas controles (sin exposición salina) y salinizadas con NaCl , Na_2SO_4 y la mezcla iso-osmótica ($\text{NaCl}+\text{Na}_2\text{SO}_4$) con aplicaciones de ácido abscísico (ABA), de los inhibidores de su síntesis (Fluridona y Tungstato de sodio) y sin aplicaciones exógena alguna (sin tratar). Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba Kruskal Wallis, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

DISCUSIÓN

Como se expresó anteriormente, en la introducción de este trabajo, la salinidad afecta de manera diferencial el crecimiento de las distintas especies vegetales, tanto glicófitas como halófitas. A su vez, el efecto depende también del tipo de sal, la concentración de la misma, es decir, el potencial osmótico que esta genera, como también el estado fisiológico y fenológico de la planta, entre otros factores. Los efectos dañinos que causa el estrés salino en las plantas han sido muy estudiados e incluyen la deshidratación celular, la alteración del balance osmótico, inhibición de actividades enzimáticas y procesos celulares esenciales, como el procesamiento del ARN o síntesis de proteínas, entre otros procesos afectados (Nawaz *et al.*, 2010). Asimismo, se ha demostrado que el estrés iónico y osmótico causado por la salinidad afecta la productividad de las plantas por reducción del área fotosintética, debido a la inhibición de la división y expansión celular durante el crecimiento de la hoja, y afecta los programas de desarrollo: emergencia de hojas, producción de primordios laterales y formación de órganos reproductivos. Las plantas activan diferentes mecanismos para contrarrestar las consecuencias de la exposición a elevada salinidad del suelo, mecanismos basados en la homeostasis iónica y el mantenimiento del balance osmótico celular, las síntesis de metabolitos protectores y proteínas, o la activación de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Flowers y Colmer, 2008). De esta manera, resulta necesario el estudio de los mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de plantas capaces de tolerar altas concentraciones de sales, como son las plantas halófitas, las cuales son tomadas como modelos para ampliar el conocimiento en la tolerancia y ser aplicado a plantas de interés agronómico.

En este trabajo, los resultados obtenidos en la especie halófito *P. strombulifera* mostraron que la salinidad afectó las variables de crecimiento evaluadas, ya que no sólo se observaron diferencias entre controles y plantas tratadas con sal sino también en los diferentes potenciales alcanzados en concordancia con lo registrado previamente en el laboratorio de fisiología vegetal donde se llevó a cabo el trabajo final (Llanes *et al.*, 2014; Reginato *et al.*, 2014). El crecimiento de la parte aérea en *P. strombulifera* fue óptimo en concentraciones moderadamente altas de sal (-1,9 MPa), principalmente cuando las plantas crecieron en presencia de NaCl, lo que constituye una respuesta interesante que difiere de los resultados obtenidos en otras especies de *Prosopis*. Catalán *et al.* (1994) observaron en plántulas de *P. flexuosa* una reducción del crecimiento del 25% con 200 mM y del 50% con 400 mM de NaCl. Viégas *et al.* (2004) mostraron inhibición del crecimiento de plántulas de *P. juliflora* por tratamientos con 100 mM NaCl. Asimismo, Meloni *et al.* (2004) demostraron una reducción significativa de la longitud de tallos y raíces de la especie *P. alba*. Por lo tanto, *P. strombulifera* se encuentra dentro de los límites máximos de tolerancia informados

para plantas halófitas, superando de manera notable a sus congéneres arbóreas y equiparando el nivel de tolerancia a NaCl de *Chenopodium rubrum*.

Por otro lado, diferentes estudios comparativos realizados con Na₂SO₄ y NaCl han demostrado que esta última tuvo efectos más severos sobre distintas variables de crecimiento en diversas especies (Abdelgadir *et al.*, 2005; Turan y Aydin, 2005). Sin embargo, los resultados de este trabajo en relación a las plantas tratadas con Na₂SO₄ demuestran que esta sal inhibió el crecimiento en mayor medida en relación a las tratadas con NaCl, registrándose diferencias significativas en el menor potencial osmótico evaluado (-2,6 MPa). Estos resultados confirman observaciones previas, donde quedó demostrada la fuerte reducción de las variables de crecimiento cuando el anión SO₄²⁻ se encontraba presente en el medio. Las variables de crecimiento en diferentes especies tales como la longitud de raíces, altura total de la planta y número de hojas son afectadas negativamente por la presencia de sales en el suelo, ya sea por el efecto osmótico (estrés hídrico) y/o por la toxicidad de los iones. En el presente trabajo se registró una disminución mayor de las variables de crecimiento por la sal Na₂SO₄ en comparación a NaCl. En este sentido, la diferencia en las variables de crecimiento entre las sales coincide con resultados obtenidos por Datta *et al.* (1995) quienes informaron que en cuatro cultivares de trigo crecidos en cultivos hidropónicos con tratamientos iso-osmóticos de NaCl y Na₂SO₄, este último tuvo un efecto más detrimental que NaCl en las 4 variedades probadas. Estos investigadores destacaron como interesante la mayor acumulación del anión Cl⁻ en comparación a SO₄²⁻, pero, en contraste, el último resultó mucho más tóxico, adjudicando este hecho a la mayor movilidad de los iones Cl⁻ y en consecuencia, a una mayor tasa de acumulación y compartimentalización más efectiva del mismo. Esto implicaría que la mayor presencia del anión SO₄²⁻ en el citoplasma provocaría toxicidad metabólica a nivel celular. Por lo tanto, las variables de crecimiento en *P. strombulifera* que fueron más afectados cuando la sal utilizada fue Na₂SO₄ podría reflejar la existencia de fenómenos de toxicidad por SO₄²⁻. Este efecto fue revertido levemente en la mezcla iso-osmótica y fuertemente cuando la sal empleada fue NaCl.

Por otro lado, las hormonas vegetales controlan una gran cantidad de respuestas afectando el crecimiento y desarrollo de las plantas a distintas condiciones ambientales. Estos compuestos pueden interactuar en caminos complementarios o antagónicos para otorgar protección frente a un estrés biótico o abiótico (Balderas-Hernandez *et al.*, 2013). Debido a que los meristemas vegetales son tejidos de crecimiento activo donde predomina la división celular, las señales ambientales pueden modular las respuestas al crecimiento desde cambios en el nivel de fitohormonas y así controlar el particionamiento entre diferentes tejidos (fuente y destino). De esta manera, la plasticidad integrada en el desarrollo de las plantas involucra la comunicación a larga distancia entre diferentes órganos y diferentes cambios en los niveles hormonales del vástago y raíz, teniendo las fitohormonas un papel

esencial (Sachs, 2005; Albacete *et al.*, 2008). La fitohormona ácido abscísico (ABA) desempeña un papel importante en la adaptación de las plantas a distintos tipos de estrés ambiental estando particularmente involucrada en la respuesta frente a estrés abiótico, especialmente hídrico y salino. Sin embargo, la bibliografía sobre el papel del ABA en halófitas es casi inexistente. Los resultados de este trabajo mostraron que la longitud y la biomasa radical de plantas de *P. strombulifera*, tanto controles como tratadas, se incrementó cuando a las plantas se les aplicó ABA, lo cual podría deberse a que esta hormona incrementa la relación raíz/parte aérea (Alves y Setter, 2004; Peleg y Blumwald, 2011). En concordancia, cuando se utilizaron los inhibidores de la síntesis de ABA, fluridona y tungstato de sodio, no se observaron cambios en la biomasa radical y la relación raíz/parte aérea disminuyó. Una respuesta similar fue observada en plantas de arroz, a las cuales se les aplicó ABA y fluridona. Las plantas con ABA mostraron mayor tolerancia a la salinidad, mientras que con fluridona la tasa de crecimiento de las plantas fue afectada drásticamente por la salinidad con una mayor concentración de sodio en las hojas y, en consecuencia, las plantas mostraron mayor sensibilidad a la salinidad (Saeedipour, 2011).

Por otro lado, las plantas halófitas se caracterizan por su capacidad para ajustar el potencial agua de sus tejidos a un nivel más negativo que el potencial agua del suelo en el cual están creciendo, de esta manera el crecimiento y la supervivencia de estas plantas depende de la acumulación de iones y solutos compatibles para el mantenimiento de la turgencia y ajuste osmótico (Munns y Tester, 2008). La capacidad de mantener su estado hídrico a medida que disminuye el potencial hídrico del suelo se refleja en el contenido hídrico de la planta. En este trabajo, se observó que las plantas de *P. strombulifera* tratadas con sales mostraron igual contenido de agua radical y en parte aérea que las plantas controles. La habilidad para mantener un contenido hídrico similar a los controles pone de manifiesto que parte de la tolerancia a salinidad en esta especie se debe a que es capaz de realizar ajuste osmótico y de esta manera es menos vulnerable al estrés. El contenido hídrico de la planta está relacionado a la conductancia estomática. Es ampliamente conocida la acción del ABA en el cierre estomático, se sabe que el aumento de esta hormona causa un incremento en los niveles de calcio citosólico, el cual actúa como segundo mensajero activando canales aniónicos localizados en la membrana plasmática, lo cual conduce a la despolarización de la membrana plasmática, salida de potasio, pérdida de turgencia y volumen de las células guarda para finalmente lograr el cierre estomático (Siegel *et al.*, 2009). Al analizar los resultados sobre transpiración en las plantas de *P. strombulifera* mostraron que esta variable disminuyó con la salinidad. Tanto en glicófitas como en halófitas, la transpiración disminuye con el incremento de la exposición a salinidad (Inan *et al.*, 2004.b). La transpiración es un aspecto crítico en el transporte de iones necesario para la tolerancia a salinidad permitiendo la entrada de iones al xilema desde las células corticales

de la raíz y la subsecuente salida del xilema hacia las células del vástago. De esta manera, el vuelco de las sales al vástago puede ser dramáticamente influenciado por la función estomática. Por otro lado, las plantas tratadas a las cuales se les aplicó ABA disminuyeron su transpiración, esto se debería a que la hormona estudiada produce el cierre estomático. Esta disminución en la apertura estomática frente a condiciones de salinidad previene la excesiva pérdida del agua y principalmente reduce el movimiento de iones hacia la parte aérea durante la exposición a salinidad. A medida que aumentó la concentración de sal en el medio y se aplicó ABA a las plántulas tratadas con NaCl, éstas presentaron menor transpiración en comparación a los otros tratamientos, lo cual permitiría una mayor eficiencia en el uso del agua. Esta mayor eficiencia en el uso del agua, también se pone de manifiesto con los valores de contenido hídrico observados en estas plantas. Por lo tanto, las plantas tratadas con NaCl y con la mezcla de sales mostraron una respuesta adaptativa mayor, la cual se acentuó con el agregado de ABA que permite reducir la tasa de transpiración y lograr una mayor eficiencia en el uso del agua. En concordancia con la acción del agregado de ABA, los inhibidores de síntesis de la hormona, tungstato y fluridona aplicados a las plantas mantuvieron la transpiración a niveles semejantes a los de plantas controles o superándolas. Sin embargo, es destacable que en contraposición a lo mencionado anteriormente, las plántulas de *P. strombulifera* tratadas con Na₂SO₄ y con el agregado de ABA registraron la mayor tasa transpiratoria en la más alta concentración de sal (ψ : -2,6 MPa), llegando a superar a aquellas que no se les aplicó ABA, lo cual podría indicar que, en presencia de esta sal, el agregado de ABA no inhibe la apertura ni promueve el cierre de los estomas, resultando en un aumento de la pérdida de agua por la planta, que conducen a que las plántulas tratadas con sulfato posean menor tolerancia. Estos datos corroboran datos previos obtenidos en el laboratorio en donde se demostró mediante el análisis de los niveles endógenos de ABA en las plantas tratadas con Na₂SO₄ que el efecto tóxico del anión sulfato podría estar relacionado a una falla en la señalización del ABA y no en la concentración endógena de ABA confirmando resultados previos (Llanes *et al.*, 2014).

Como otros constituyentes celulares, el nivel de azúcares es afectado por estrés (Prado *et al.*, 2000). Kerepesi y Galiba (2000) reportaron que el contenido de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa se incrementó por la exposición a NaCl en plantas de trigo. Sin embargo, Alamgir y Ali (1999) informaron que el contenido de azúcares solubles se incrementó en algunos genotipos de arroz, pero disminuyó en otros. En nuestros experimentos, la concentración de carbohidratos solubles totales aumentó de manera concomitante al incremento en la concentración de sales, siendo más notorio en raíces que en hojas, lo que sugiere un efecto en el particionamiento del carbono vástago/raíz. Estos resultados se correlacionan con el mantenimiento y/o la inducción de la elongación de la raíz a bajos potenciales osmóticos, como respuesta adaptativa a la sequía y salinidad (Balibrea *et*

al., 2000), así como también al incremento notable en fibras y tejidos lignificados observado en trabajos previos (Reinoso *et al.*, 2004; 2005). Además, las variaciones en el contenido de carbohidratos totales muestran que el particionamiento de fotoasimilados es un proceso regulado hormonalmente (Moreno *et al.*, 2011; Murcia *et al.*, 2015), aunque el mecanismo involucrado en halófitas es desconocido. En este sentido, Murcia *et al.* (2015) demostraron como ABA modifica la distribución del carbono en plantas de *Vitis vinifera* cv. Malbec. En estas plantas, las aplicaciones exógenas de ABA mejoraron la distribución del carbono en los frutos de la vid mediante la modificación de la carga del floema, la anatomía de los vasos conductores, principalmente del área del floema, la expresión de transportadores de azúcares específicos en hojas y bayas, demostrando la conexión entre las hormonas y el rol de los azúcares. No obstante, este tipo de estudios son escasos en situaciones de salinidad y casi nulos en halófitas. En este trabajo, las aplicaciones de ABA en las plantas de *P. strombulifera* incrementaron el transporte de carbohidratos hacia la raíz en todas las plantas tratadas, mientras que las aplicaciones de fluridona o tungstato de sodio incrementaron el contenido de carbohidratos en hojas. Así, este efecto del ABA y sus inhibidores podría relacionarse a la acción del ABA sobre varios mecanismos protectores dependiente del mismo en los cuales uno de ellos es la regulación de la relación raíz/parte aérea (Alves y Setter, 2004; Peleg y Blumwald, 2011). Lo que estaría generando que la planta particione más carbohidratos hacia raíz para incrementar el crecimiento de ésta, en el intento de mantener el crecimiento y supervivencia de la planta en condiciones de salinidad. Otros mecanismos protectores dependiente del ABA, con el mismo propósito, citados por los autores anteriores son reducción del área foliar, protección del aparato fotosintético, regulación de la síntesis de etileno y el ajuste osmótico, mediante la regulación de canales iónicos (principalmente en raíz) como de la síntesis de solutos compatibles, teniendo un rol muy importante los carbohidratos. Así los resultados en el contenido de carbohidratos solubles totales en raíces y hojas de *P. strombulifera*, aumento y disminución respectivamente, confirma el efecto del ABA sobre los carbohidratos. En la variable biomasa radical presentó el mismo efecto, es decir que plantas aplicadas con ABA incrementaron la biomasa radical, efecto que se podría explicar por lo dicho anteriormente en el cual la aplicación de ABA modifica la relación de partición de raíz/parte aérea (Peleg y Blumwald, 2011). Notablemente, al comparar los carbohidratos entre los tratamientos salinos, en el potencial más bajo -2,6 MPa, más allá de la tendencia que se observa al aplicar ABA, las plantas tratadas con Na₂SO₄ mostraron disminución en el contenido de carbohidratos en las plantas a las que se les aplicó ABA al ser comparadas con las tratadas con NaCl y la mezcla de sales tanto en parte aérea como en las raíces e inclusive al compararlas con las plantas a las que se les aplicó tungstato y fluridona. Esta respuesta sugiere que la presencia de sulfato en el medio provoca un desbalance en el metabolismo y en la partición del carbono y un

desvío de estos recursos energéticos hacia la síntesis de otros metabolitos secundarios más complejos como la síntesis de ligninas en raíces. Este desbalance del metabolismo del carbono no puede ser modificado por el ABA exógeno sugiriendo nuevamente una falla en la señalización del ABA en estas plantas.

Por lo tanto, teniendo en cuenta las respuestas evaluadas en este trabajo, variables de crecimiento, contenido hídrico, transpiración y el contenido de carbohidratos y cómo estos varían en los tratamientos salinos y en las aplicaciones exógenas, y considerando que ABA es una de las señales primarias que desencadenan diferentes eventos bioquímicos y moleculares luego de la percepción de una situación de estrés, este trabajo demuestra que los diferentes tipos de sales (efecto iónico), las distintas concentraciones (efecto osmótico) de las mismas y el agregado de ABA o de sus inhibidores interactúan generando respuestas que modifican diferencialmente el crecimiento y el desarrollo vegetal de la halófito *P. strombulifera*. Además, más allá de la acción del ABA, existen evidencias para afirmar que los carbohidratos por sí mismos poseen un rol fundamental en la tolerancia a la salinidad en varias especies de halófitas (Gil *et al.*, 2013). Así, un aumento de la tolerancia a la salinidad se ha observado en paralelo al aumento intracelular de los niveles de carbohidratos solubles (Alla *et al.*, 2012; Ibqal *et al.*, 2015). La participación de los carbohidratos en la tolerancia podría implicar el mantenimiento del potencial osmótico, la estabilización de membranas y la disminución del estrés oxidativo. Así, las respuestas diferenciales observadas en el contenido de carbohidratos entre plantas tratadas con NaCl y Na₂SO₄ junto a las aplicaciones de ABA como así también con las aplicaciones de los inhibidores de su síntesis podría reflejar la mayor tolerancia frente a la sal NaCl y la mejor tolerancia Na₂SO₄. En este sentido, este trabajo junto al análisis del metaboloma de *P. strombulifera*, realizado previamente en el laboratorio donde se desarrolló este trabajo, permiten confirmar que los carbohidratos constituyen una red interconectada finamente regulada para mantener el equilibrio metabólico según la demanda frente a los diferentes tratamientos salinos (Llanes *et al.*, 2015). Así, este trabajo contribuye al conocimiento sobre el rol fundamental del ABA y los carbohidratos, sus correlaciones y los entrecruzamientos de señales entre esta hormona y la regulación de numerosas respuestas frente a salinidad, la cual se demostró mediante la aplicación exógena de ABA y de los inhibidores de su síntesis.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDELGADIR, E.M., M. OKA y H. FUJIYAMA. 2005. Characteristics of nitrate uptake by plants under salinity. *J. Plant Nutr.* 28(1): 33-46.
- ALAMGIR A.N.M. y M.Y. ALI. 1999. Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.). *Bangladesh J. Botany* 28: 145-149.
- ALBACETE, A., M.E. GHANEM, C. MARTÍNEZ-ANDÚJAR, M. ACOSTA, J. SÁNCHEZ-BRAVO, V. MARTÍNEZ, y F. PÉREZ-ALFOCEA. 2008. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *J. Exp. Bot.* 59(15): 4119-4131.
- ALLA, A.Q., J.J. CAMARERO, M. MAESTRO-MARTÍNEZ y G. MONTSERRAT-MARTÍ. 2012. Acorn production is linked to secondary growth but not to declining carbohydrate concentrations in current-year shoots of two oak species. *Trees* 26 (3): 841-850.
- ALVES, A.A. y T.L. SETTER. 2004. Response of cassava leaf area expansion to water deficit: cell proliferation, cell expansion and delayed development. *Ann. Bot.* 94(4): 605-613.
- ALVES, A.A., y T.L. SETTER. 2004. Abscisic acid accumulation and osmotic adjustment in cassava under water deficit. *Environ. Exp. Bot.* 51(3): 259-271.
- ARCE, P. y O. BALBOA. 1988. Some aspects of the biology of *Prosopis* growing in Chile. In: M. Habit (Ed.). Current state of Knowledge on *Prosopis juliflora*. *F.A.O.* 313-322.
- BALDERAS-HERNÁNDEZ, V.E., M. ALVARADO-RODRÍGUEZ y S. FRAIRE-VELÁZQUEZ. 2013. Conserved versatile master regulators in signalling pathways in response to stress in plants. *AoB Plants* 5, plt033.
- BALIBREA, M.E., J. DELL'AMICO, M.C. BOLARÍN y F. PÉREZ-ALFOCEA. 2000. Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. *Physiol. Plant.* 110(4): 503-511.
- BAYUELO-JIMÉNEZ, J.S., D.G. DEBOUCK y J.P. LYNCH. 2003. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of *Phaseolus* species grown under saline conditions. *Field Crops Res.* 80(3): 207-222.

- BLUMWALD, E., G.S. AHARON y M.P. APSE. 2000. Sodium transport in plant cells. *Biochim. Biophysica Acta* 1465(1): 140-151.
- BRAY, E.A. 2002. Abscisic acid regulation of gene expression during water-deficit stress in the era of the Arabidopsis genome. *Plant cell Environ.*,25(2): 153-161.
- BURKART, A.. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae).[Part 1.]. *J. Arnold Arbor.* 57(3): 219-249.
- CABRERA, A. 1976. Regiones Fitogeográficas de la Argentina. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Ganadería. Fast. 1. Ed. ACME. Buenos Aires.
- CANTERO, J., A. CANTERO y J. CISNEROS. 1996. La vegetación de los paisajes hidrohalomórficos del centro de argentina. Universidad Nacional de Rio Cuarto, Argentina.
- CATALÁN, L., M. BALZARINI, E. TALEISNIK, R. SERENO y U. KARLIN. 1994. Effects of salinity on germination and seedling growth of *Prosopis flexuosa* (DC).*For. Ecol. Manage.* 63(2-3): 347-357.
- CHENG, W.H., A. ENDO, L. ZHOU, J. PENNEY, H.C. CHEN, A. ARROYO y T. KOSHIBA. 2002. A unique short-chain dehydrogenase/reductase in Arabidopsis glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. *Plant Cell* 14(11): 2723-2743.
- CISNEROS, J., J.J. CANTERO y A. CANTERO GUTIERREZ. 1997. Relaciones en la fluctuación del nivel freático, su salinidad y el balance hídrico, en los suelos salinos-sódicos del centro de la Argentina. *Revista UNRC* 124:499-505.
- DATTA, K.S., A. KUMAR, S.K. VARMA y R. ANGRISH. 1995. Differentiation of chloride and sulphate salinity on the basis of ionic distribution in genetically diverse cultivars of wheat. *J. Plant. Nutr.*18(10): 2199-2212.
- DAVIES, W.J., S. WILKINSON y B. LOVEYS. 2002. Stomatal control by chemical signalling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. *New Phytol.* 153(3): 449-460.
- DE LA VEGA, A. 1996. *Variabilidad genética y estructuración poblacional en especies del género Prosopis (Leguminosae). Recurso biótico para reforestar zonas áridas* (Doctoral dissertation, Doctoral thesis, ETSIA, Universidad Pública de Navarra, España.
- DESIKAN, R., M.K. CHEUNG, J. BRIGHT, D. HENSON, J.T. HANCOCK y S.J. NEILL. 2004. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J. Exp. Bot.* 55(395): 205-212.

- EISENREICH, W., A. BACHER, D. ARIGONI y F. ROHDICH. 2004. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. *Cell. Mol. Life Sci.* 61(12): 1401-1426.
- FAO. 2002. Agricultural drainage water management in arid and semiarid areas. *FAO Irrigation and Drainage paper N° 61*. Roma. 188 pp.
- FINKELSTEIN, R.R., S.S. GAMPALA y C.D. ROCK. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 14(suppl 1): S15-S45.
- FLORES, A., V. GALVEZ, O. HERNANDEZ, G. LÓPEZ, A. OBREGON, R. ORELLANA, L. OTERO y M. VALDEZ. 1996. Salinidad un nuevo concepto. Edit Colima, México; 137 pp.
- FLOWERS, T.J. y T. COLMER. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.* 179: 945-963.
- FURLAN, A., A. LLANES, V. LUNA y S. CASTRO. 2013. Abscisic acid mediates hydrogen peroxide production in peanut induced by water stress. Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina.
- GIL, R., M. BOSCAIU, C. LULL, I. BAUTISTA, A. LIDÓN y O. VICENTE. 2013. Are soluble carbohydrates ecologically relevant for salt tolerance in halophytes?. *Funct. Plant Biol.* 40(9): 805-818.
- HARTUNG, W., L. LEPORT, R.G. RATCLIFFE, A. SAUTER, R. DUDA, y N.C. TURNER. 2002. Abscisic acid concentration, root pH and anatomy do not explain growth differences of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lupin (*Lupinus angustifolius* L.) on acid and alkaline soils. *Plant Soil* 240(1): 191-199.
- HUNZIKER, J.H., B.O. SAIDMAN, C.A. NARANJO, R.A. PALACIOS, L. POGGIO y A.D. BURGHARDT. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. *For. Ecol. Manage.* 16(1-4): 301-315.
- IBQAL, N., S. UMAR y N.A. KHAN. 2015. Nitrogen availability regulates proline and ethylene production and alleviates salinity stress in mustard (*Brassica juncea*). *J. Plant Physiol.* 178: 84-91.
- INAN, G., B. RUGGIERO, H. KOIWA, Y. MANABE, T.M. QUIST, F. SACCARDO y A. MAGGIO. 2004. a. Uncoupling the effects of abscisic acid on plant growth and water

relations. Analysis of *sto1/nced3*, an abscisic acid-deficient but salt stress-tolerant mutant in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 136(2): 3134-3147.

INAN, G., Q. ZHANG, P. LI, Z. WANG, Z. CAO, H. ZHANG y H. SHI. 2004. b. Salt cress. A halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its applicability to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles. *Plant Physiol.* 135(3): 1718-1737.

KASAHARA, H., K. TAKEI, N. UEDA, S. HISHIYAMA, T. YAMAYA, Y. KAMIYA y H. SAKAKIBARA. 2004. Distinct isoprenoid origins of cis-and trans-zeatin biosyntheses in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chemis.* 279(14): 14049-14090.

KEREPESI, I. y G. GALIBA. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Sci.* 40(2): 482-487.

KHAN, M.A., I.A. UNGAR y A.M. SHOWALTER. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *J. Arid Environ.* 45(1): 73-84.

KO, J.H., S.H. YANG y K.H. HAN. 2006. Upregulation of an *Arabidopsis* RING-H2 gene, XERICO, confers drought tolerance through increased abscisic acid biosynthesis. *Plant J.* 47(3): 343-355.

KÖHLER, B. y M.R. BLATT. 2002. Protein phosphorylation activates the guard cell Ca²⁺ channel and is a prerequisite for gating by abscisic acid. *Plant J.* 32(2): 185-194.

KÖHLER, B., A. HILLS y M.R. BLATT. 2003. Control of guard cell ion channels by hydrogen peroxide and abscisic acid indicates their action through alternate signaling pathways. *Plant Physiol.* 131(2): 385-388.

LAVADO, R. 2008. Visión sintética de la distribución y magnitud de los suelos afectados por salinidad en la Argentina. La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria. *EDUCC (Editorial Universidad Católica de Córdoba), Córdoba.*

LLANES, A., G. DEVINAR y V. LUNA. 2015. Role of abscisic acid in legumes under abiotic stress. *Legumes under Environmental Stress: Yield, Improvement and Adaptations.* 145-160.

LLANES, A., O. MASCIARELLI, R. ORDOÑEZ, M.I. ISLA y V. LUNA. 2014. Differential growth responses to sodium salts involve different abscisic acid metabolism and transport in *Prosopis strombulifera*. *Biol. Plant.* 58(1): 80-88.

- LOVELOCK, C.E. y M.C. BALL. 2002. Influence of salinity on photosynthesis of halophytes. In *Salinity: environment-plants-molecules* (pp. 315-339). Springer Netherlands.
- MANCHANDA, G. y N. GARG. 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol. Plant.*, 30(5): 595-618.
- MELONI, D.A., M.R. GULOTTA, C.A. MARTÍNEZ y M.A. OLIVA. 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *J. Plant Physiol.* 16(1): 39-46.
- MORENO, C., T.E. DAWSON, E. NICOLÁS y J.I. QUEREJETA. 2011. Isotopes reveal contrasting water use strategies among coexisting plant species in a Mediterranean ecosystem. *New Phytol.* 196(2): 489-496.
- MUNNS, R. y M. TESTER. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- MUNNS, R., D.P. SCHACHTMAN y A.G. CONDON. 1995. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Func. Plant Biol.* 22(4): 561-569.
- MURCIA, G., M. PONTIN, H. REINOSO, R. BARALDI, G. BERTAZZA, GÓMEZ-TALQUENCA y P.N. PICCOLI. 2015. ABA and GA3 increase carbon allocation in different organs of grapevine plants by inducing accumulation of non-structural carbohydrates in leaves, enhancement of phloem area and expression of sugar transporters. *Physiol.Plant.* 156(3): 323-337.
- NAMBARA, E. y A. MARION-POLL. 2005. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 165-185.
- NAWAZ, K., K. HUSSAIN, A. MAJEED, F. KHAN, S. AFGHAN y K. ALI. 2010. Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects. *Afr. J. Biotechnol.* 9(34): 250-310.
- PARKS, E.J., K.L. DONNELLY, C.I. SMITH, S.J. SCHWARZENBERG, J. JESSURUN y M.D. BOLDT. 2005. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Invest.* 115(5): 1343-1351.
- PASSERA, C.. 2000. Fisiología de *Prosopis* spp. *Multequina: Latin American Journal of Natural Resources* 6: 353-410.

- PEI, Z.M., Y. MURATA, G. BENNING, S. THOMINE, B. KLÜSENER, G.J. ALLEN y J.I. SCHROEDER. 2000. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* 406(6797): 731-734.
- PELEG, Z. y E. BLUMWALD. 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14(3): 290-295.
- PEUKE, A.D., W.D. JESCHKE y W. HARTUNG. 2002. Flows of elements, ions and abscisic acid in *Ricinus communis* and site of nitrate reduction under potassium limitation. *J. Exp. Bot.* 53(367): 241-250.
- PRADO, F.E., C. BOERO, M. GALLARDO y J.A. GONZALEZ. 2000. Effect of NaCl on germination, growth, and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. seeds. *Bot. Bull. Aca. Sinica* 41.
- REGINATO, M., L. SOSA, A. LLANES, E. HAMPP, N. VETORAZZI, H. REINOSO y V. LUNA. 2014. Ionic interactions within the major salts in the soil determine differential physiological responses in the halophytic legume *Prosopis strombulifera*. *Plant Biol.* 16: 97-106.
- REINOSO, H., L. SOSA, L. RAMÍREZ y V. LUNA. 2004. Salt-induced changes in the vegetative anatomy of *Prosopis strombulifera* (Leguminosae). *Can. J. Bot.* 82: 618-628.
- REINOSO, H., L. SOSA, M. REGINATO y V. LUNA. 2005. Histological Alterations Induced by Sodium Sulphate in the Vegetative Anatomy of *Prosopis strombulifera* (Lam.) Benth. *World J. of Agricul. Sci.* 1: 109-119.
- RODRIGUEZ, J.A.M.. 2013. *Estudio del papel de ácido abscísico como señal reguladora del proceso de micorrización*. Tesis doctoral. Facultad de ciencia. Universidad de Granada, España.
- RODRIGUEZ-CONCEPCIÓN, M. y A. BORONAT. 2002. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiol.* 130(3): 1079-1089.
- ROLLAND, F., B. MOORE y J. SHEEN. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell* 14(suppl 1): S185-S205.
- RONEN, E.. 2007. Nitrato de Potasio. Una Solución Posible para los Problemas de Salinidad. *Informe frutihortícola* 270: 12-22.

- SACHS, T. 2005. Auxin's role as an example of the mechanisms of shoot/root relations. *Plant Soil* 268(1): 13-19.
- SAEEDIPOUR, S.. 2011. Salinity tolerance of rice lines related to endogenous abscisic acid (ABA) level synthesis under stress. *Afr. J. Plant Sci.* 5(11): 628-633.
- SAUTER, A., y W. HARTUNG. 2002. The contribution of internode and mesocotyl tissues to root-to-shoot signalling of abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 53(367): 297-302.
- SCHROEDER, J., Y. MURATA, Z.M. PEI y I.C. MORI. 2001. Abscisic acid activation of plasma membrane Ca²⁺ channels in guard cells requires cytosolic NAD (P) H and is differentially disrupted upstream and downstream of reactive oxygen species production in *abi1-1* and *abi2-1* protein phosphatase 2C mutants. *Plant Cell* 13(11): 2513-2523.
- SCHWARTZ, S.H., X. QIN y J.A. ZEEVAART. 2003. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes, and enzymes. *Plant Physiol.* 131(4): 1591-1601.
- SHANNON, M.C y C.M. GRIEVE. 1999. Ion accumulation and distribution in shoot components of salt-stressed Eucalyptus clones. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124(5): 559-563.
- SHARP, R.E. y M.E. LENOBLE. 2002. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *J. Exp. Bot.* 53(366): 33-37.
- SHARP, R.E., M.E. LENOBLE, M.A. ELSE, E.T. THORNE y F. GHERARDI. 2000. Endogenous ABA maintains shoot growth in tomato independently of effects on plant water balance: evidence for an interaction with ethylene. *J. Exp. Bot.* 51(350): 1575-1584.
- SHINOZAKI, K. y K. YAMAGUCHI-SHINOZAKI. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* 58(2): 221-227.
- SIEGEL, R.S., S. XUE, Y. MURATA, Y. YANG, N. NISHIMURA, A. WANG y J.I. SCHROEDER. 2009. Calcium elevation-dependent and attenuated resting calcium-dependent abscisic acid induction of stomatal closure and abscisic acid-induced enhancement of calcium sensitivities of S-type anion and inward-rectifying K⁺ channels in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J.* 59(2): 207-220.
- SPOLEN, W.G., M.E. LENOBLE, T.D. SAMUELS, N. BERNSTEIN y R.E. SHARP. 2000. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production. *Plant Physiol.* 122(3): 967-976.

- TABOADA, M. 2009. Funcionamiento de los suelos salinos y sódicos. In *Actas XVI Congreso de Aapresid. Rosario* (Vol. 12).
- TAL, M. 1966. Abnormal stomatal behavior in wilted mutants of tomato. *Plant Physiol.* 41(8): 1387-1391.
- TURAN, M. y A. AYDIN. 2005. Effects of different salt sources on growth, inorganic ions and proline accumulation in corn (*Zea mays* L.). *Eur. J. Hort. Sci.* 149-155.
- UMEZAWA, T., M. FUJITA, Y. FUJITA, K. YAMAGUCHI-SHINOZAKI, y K. SHINOZAKI. 2006. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. *Curr. Opin. Biotech.* 17(2): 113-122.
- VIÉGAS, R.A., M.J.M. FAUSTO, J.E. QUEIROZ, I.M.A. ROCHA, J.A.G. SILVEIRA y P.R.A. VIÉGAS. 2004. Growth and total-N content of *Prosopis juliflora* (SW) DC are stimulated by low NaCl levels. *Braz. J. Plant Physiol.* 16(1): 65-68.
- ZHANG, X., L. ZHANG, F. DONG, J. GAO, D.W. GALBRAITH y C.P. SONG. 2001. Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Physiol.* 126(4): 1438-1448.
- ZHANG, A., M. JIANG, J. ZHANG, M. TAN y X. HU. 2006. Mitogen-activated protein kinase is involved in abscisic acid-induced antioxidant defense and acts downstream of reactive oxygen species production in leaves of maize plants. *Plant Physiol.* 141(2): 475-487.
- ZHU, J.K., C.P. SONG, M. AGARWAL, M. OHTA, Y. GUO, U. HALFTER y P. WANG. 2005. Role of an Arabidopsis AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell* 17(8): 2384-2396.
- ZHU, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 247-295.