

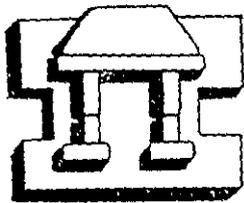


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

CRECIMIENTO Y BALANCE CATIONICO DE  
PLANTULAS DE *Amaranthus hypocondriacus* L.  
BAJO CONDICIONES DE ESTRES SALINO

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A :  
JOSE LUIS GAMA FLORES



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA.

1999.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Dedicatoria

Agradecimientos

Prólogo

Síntesis (parte experimental)	1
1. Introducción	2
2. Consideraciones generales del halofitismo	5
3. Objetivos	42
4. Algunas características de la especie elegida ( <i>Amaranthus hypocondriacus</i> L.)	43
5. Material y métodos	45
6. Resultados	48
7. Discusión y Análisis	63
8. Conclusiones	74
9. Referencias	75

## DEDICATORIA

A la memoria de quien siempre con su imagen normara mi vida, **mi madre**.

A mi amada hija Gisela lo mismo que para mi todavia más amado familiar, mi nieto Chiqui chiqui

Tambien para mis hermanos sanguíneos Ana, Ruth, Juana, Sara, Elizabeth y Alfredo. Para mis hermanos de **hechos**, mi primo Mario Alva y mi cuñado del alma, Fernando Cuellar Montaña (QPD).

## AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi sincero reconocimiento al M en C. Ernesto Aguirre Leon la dirección, su tiempo y sus valiosas opiniones para la realización del presente trabajo, además de su calidad humana.

Asimismo, manifiesto mi reconocimiento amplio a los revisores de este estudio: Dr en C Ignacio Peñalosa Castro, M en C Alberto Arriaga Frias, M en C Gabriel Camarena Gutierrez y al Biol. Gerardo Ortiz Montiel, quienes con sus comentarios y sugerencias lo enriquecieron ampliamente.

También, en este espacio agradezco infinitamente a La Dra Patricia Dávila, jefe de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) por las facilidades otorgadas para el uso de equipo especializado de la unidad a su digno cargo. No menos importante fue el apoyo que me brindo el Dr en C Guillermo Horta Puga en la cuantificación iónica y al M en C, Angel Duran Díaz por su invaluable apoyo en los aspectos estadísticos. Para todos ellos, muchas gracias.

Igualmente, en forma especial, expreso mi profundo respecto y satisfacción de contar con la amistad con la que me honran, gente tan valiosa como mi compañero el M en C. Mario Fernandez Araiza, la Profa Irma Delfin Alcala, el Dr en C Ignacio Peñalosa Castro, el Ing. Harm Gerdes, Martha Carmona y el Dr en C. S.S.S. Sarma quienes siempre me han exhortado y apoyado grandemente. A éste último y a su compañera, la Dra en C. Nandini Sarma les estoy muy reconocido por su apoyo, colaboración y orientación constante para este trabajo. A todos ellos, les expreso que su apoyo moral fue definitivo para sobreponerme en mis momentos mentalmente más diarreicos.

En este espacio también deseo reconocer a mis compañeros de trabajo Nicolas Rodriguez, Luis Hector Hernandez y Romulo Amador, amigos sin duda. Especial agradecimiento para "Lino", el último de los anteriores cuyos conocimientos y habilidades computacionales resolvieron mis últimos problemas gráficos y de impresión de este trabajo

Mención especial merecen todos los alumnos que siempre confiaron y confían en mi. Mi afecto y compromiso de hacer todo lo que este en mis manos para mejorarnos recíprocamente, buscando permanentemente calidad en esta senda de la enseñanza y el aprendizaje. ! Pertenece al mismo barco que es la Biología ¡.

## PRÓLOGO.

En este trabajo, de entrada, se comentan los efectos generales de algunos de los factores ambientales que alteran el desarrollo y en última instancia, la sobrevivencia de un organismo vegetal manteniendolo en condición de estrés. Además, se mencionan variables e índices útiles, de uso común, para cuantificarlos. Una de esas variables es la salinidad del medio, misma que ha aumentado y se ha extendido a nuevas áreas debido al desmedido empleo de agroquímicos en el campo. Por esta razón, se dedicó un espacio, para realizar una revisión crítica del comportamiento de una planta en medio salino (halofitismo) que incluye: grupos de plantas de acuerdo a su relación con la salinidad, características y restricciones del medio salino, tácticas de regulación y crecimiento (respuestas morfológicas, anatómicas y metabólicas) en condiciones salinas, mediante un amplio análisis de literatura relevante al tema. A continuación, se detallan los objetivos y se justifica la razón de la elección del sujeto experimental. También, se menciona una breve información de las características e importancia histórico-cultural y económica de *Amaranthus hypocondriacus*, especie seleccionada para evaluar el efecto de sales que comúnmente alteran la vida de muchos vegetales, NaCl y KCl. El resto del trabajo describe las estrategias y técnicas de trabajo empleadas y se bosquejan y comentan los resultados obtenidos, y se finaliza relacionando la información experimental y la del marco teórico.

## Síntesis de la parte experimental

En el presente estudio, se evaluó el efecto del estrés que producen las sales de NaCl y KCl en tres distintos niveles (50, 100 y 200 mM) sobre algunas variables morfométricas, fisiológicas y de relaciones catiónicas en el amaranto (*Amaranthus hypocondriacus* L.) a nivel de semillas y de plántula, durante un lapso de 40 días. Cuando se expuso a las semillas en las soluciones salinas, se observó una disminución de captación de agua solo en aquellas con el nivel de 200 mM de NaCl antes de las 48 hrs. No obstante lo anterior, se detectaron tasas de germinación diferencial entre los tratamientos y los tipos de sal. En general, las semillas en el control germinaron casi el 100% en menos de 48 hrs. Cuando se les sometió a los distintos tratamientos salinos, hubo una reducción en el porcentaje de germinación. El menor porcentaje de germinación, alrededor del 10%, se observó a los 200 mM de ambos tipos de sales. La relación raíz-tallo también fue afectada significativamente cuando las plántulas se crecieron en las soluciones nutritivas salinizadas durante 40 días. Esta relación fue inversa en el control pero fue cambiando con el incremento salino del medio. Como consecuencia de este hecho, las variables que fueron negativamente afectadas de manera significativa fueron: la longitud promedio del tallo y de la raíz, el número de hojas por plántula, el área foliar y la cantidad de biomasa por individuo, siendo más notable el debido al cloruro de sodio desde las concentraciones de 100 y 200 mM y con períodos de exposición > de 20 días. El daño por KCl fue siempre menor, salvo a concentraciones de 200 mM y lapsos mayores de > 30 días. El contenido iónico en las plantas es dependiente de la concentración de K<sup>+</sup> y de Na<sup>+</sup> en la solución de cultivo. En medios salinizados con NaCl se encontraron disminuciones en los niveles tisulares de K, Ca y Mg, mientras que cuando el estrés salino dependió del KCl, el decremento fue de Na, Ca, y Mg. Estos dos últimos cationes se encontraron siempre disminuidos en cantidad con respecto a las plantas desarrolladas en ausencia de salinidad, y mostraron un patrón variable a lo largo de los distintos tratamientos y de la edad de la planta. Relaciones de K/Na < 1.0, Na/Ca > 9 y Na/Mg > 11 se registraron en los individuos que mostraron los cambios morfológicos y fisiológicos más notables, incluida la sobrevivencia, en solución con NaCl en tanto que en medios con KCl, el mayor daño al vegetal se percibió en los valores de K/Ca > 13 y K/Mg > 17. En conclusión, en este estudio se demostró que niveles salinos tan pequeños como son los de 50 mM de NaCl o de KCl pueden tener una influencia negativa en las respuestas morfométrica y de composición iónica de *Amaranthus hypocondriacus*. La salinidad edáfica de NaCl o de KCl en niveles > a 100 mM puede afectar drásticamente la producción de amaranto en el campo.

## 1. INTRODUCCION

### FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO VEGETAL

Las plantas superiores tiene un ciclo de vida en cual los estados de desarrollo inicial y juvenil, puramente vegetativos, son seguidos de etapas reproductivas y eventualmente de senectud y muerte. El ciclo también ilustra el principio de translocación del recurso. Durante mucho tiempo se creyó que las etapas reproductivas competían con las vegetativas agotando el recurso necesario para el mantenimiento y el crecimiento de la planta. En la actualidad, es un principio establecido la idea de que la reproducción, el crecimiento y la defensa contra la herbivoría interactúan en el interior del organismo y compiten por recursos escasos o limitados (Bazzaz *et al.*, 1987). En la utilización de un recurso, existen variados intercambios entre las distintas funciones de una planta, para entenderlo, el análisis de costo y beneficio ayuda a explicar los modelos de translocación a niveles tanto fisiológicos como evolutivos. Por ejemplo, la reproducción tiene un costo demográfico que puede ser medido en poblaciones donde algunos individuos se reproducen y otros no (Bazzaz *et al.*, Op cit.). El análisis costo-beneficio asegura valorar el costo de adquirir un recurso en términos de expedir otro, y definir el beneficio en términos de efecto sobre el crecimiento del vegetal (Chapin *et al.*, 1987)

El crecimiento de una planta (definido como el incremento, en el tiempo, de ciertos parámetros característicos como el tamaño o el peso) depende de numerosos procesos como el consumo de agua, sales, desarrollo de órganos, etc., todos interrelacionados entre sí que responden de formas variadas a factores ambientales, los cuales ejercen efectos complejos e indirectos. Así, grandes fluctuaciones estacionales en luz, humedad, temperatura y nutrientes provocan, frecuentemente, estrés a niveles que son no apropiados funcionalmente para los requerimientos del organismo (Chapin, 1991 a) y la planta enfrenta nuevas combinaciones de tensiones del medio. Más aún, el mismo autor señala que la mayoría de los medios naturales son sistemas con recursos mínimos respecto a uno o más parámetros ambientales como la disponibilidad de agua o nutrientes. Bajo esas condiciones, las plantas suelen presentar crecimiento lento y baja capacidad para adquirir recursos, entre otras características. Es obvio que el óptimo ecológico y el fisiológico raramente coinciden. Las condiciones extremas colocan al vegetal en una amplia gama de formas de estrés fisiológico o bioquímico. Ella debe tolerarlos y la presión de selección debe de ser alta.

El estrés se define como todo factor que limita el desarrollo de un organismo o parte de él y su reproducción por debajo del potencial del genotipo (Osmond *et al.*, 1987). La mayoría de las plantas sufre alguna forma de estrés durante los distintos estadios de sus ciclos de vida, siendo por su intensidad agudo o crónico (Chapin, 1991a), y puede ser provocado por agentes bióticos (competencia, parasitismo, herbivoría, etc) o abióticos (elementos climáticos o edafológicos) (Bazzaz *et al.*, op cit) En ambientes con mucha restricción, las plantas suelen mostrar dos tipos de comportamiento adaptativo: tolerancia o eludición (Osmond *et al.*, Op cit., 1987) La tolerancia faculta al organismo a mantener una alta actividad metabólica en condiciones de estrés ligero, y a disminuirla de cara a exposición severa. Por su parte, el mecanismo de eludición le permite a las plantas reducir su actividad autotrófica y devenir en latente cuando existe estrés severo. Chapin (1991 a) también distingue que existen dos grandes grupos de tipos de estrés: los que impiden

alcanzar el máximo desarrollo y los que provocan daño fisiológico directo a la planta por perturbación del metabolismo. Este último puede producir destrucción o remoción de estructuras del vegetal. Cualquier estrés que reduzca el crecimiento y/o la demanda nutritiva de la planta, también reduce su consumo nutrimental (Chapin, 1991b). La mayoría de las plantas requieren un balance similar de recursos (energía, agua y nutrientes minerales) para mantener un crecimiento óptimo (Chapin *et al.*, lot cit. 1987).

Un postulado fundamental de la teoría del estrés es que los hábitats de los organismos tolerantes a la restricción comparten contracciones, deficiencias crónicas en los nutrientes minerales principales (Chapin, 1980, Grime, 1982). Cabe señalar, sin embargo, que puede haber estrés por baja fertilidad del medio o por acumulación excesiva de nutrientes minerales, o bien por ambos aspectos

Existen cuando menos tres mecanismos fisiológicos que explican el bajo desarrollo de plantas adaptadas a medios con escasez de recursos o no disponibles (Chapin, 1991a):

- a) Con frecuencia son constantes en la proporción raíz: vástago y translocan insuficiente biomasa foliar en condiciones de cantidades altas de nutrimentos para adquirir fotosintátos suficientes para un desarrollo rápido
- b) Por diversificación de los recursos para funciones de sobrevivencia, almacenaje o defensa por sobre de las de crecimiento.
- c) Por producir menos hormonas de crecimiento ó ser menos sensibles a ellas.

Diferentes especies y aún los distintos genotipo pueden diferir en susceptibilidad a formas particulares de restricción. El análisis de dichas restricciones puede ser muy complejo debido a que durante el curso de un año, varias tensiones o fuerzas limitantes pueden operar intermitentemente en el mismo medio.

Para adecuarse a dichas restricciones, las plantas suelen ajustarse osmótica y fisiológicamente. Lo primero suelen alcanzarlo incrementando su potencial para absorber ciertos nutrientes o cambiando la cantidad y balance de enzimas fotosintéticas; en tanto que lo segundo, cambiando sus balance hormonales (Chapin, 1991a).

La mayoría de los factores causales de estrés no son completamente expresados en sistemas aislados ya que ocurren como una respuesta integrada en toda la planta. Esta, puede arbitrariamente ser dividida principalmente en raíz, tallo y hojas. Muchos sistemas de regulación se localizan en éstas (Mitreva, 1989). Las hojas son los mejores sensores de restricción ambiental. Las principales son: el control del desarrollo morfo-anatómico del vástago, el control de la translocación carbónica, y la regulación de los flujos de transpiración e indirectamente de los aportes iónicos (Dickinson y Isebrand, 1991).

Las hojas regulan la expansión del vástago, mediante la modulación de su sistema vascular primario y secundario. Este sistema (xilema y floema) conecta entre sí, todos los órganos de la planta, y transporta agua, nutrientes orgánicos e inorgánicos, hormonas y otros productos esenciales para el vegetal. Por estas razones, las hojas han sido

tradicionalmente muy utilizadas para evaluar factores limitantes para el vegetal (Dickinson y Isebrand op cit. 1991).

La función reguladora de las hojas en la integración morfo-funcional es evidente. Hojas y raíces están muy conectadas. Existen datos de que el desarrollo de ambos depende de sus funciones complementarias: el carbón es necesario para el crecimiento de las raíces, y éstas regulan las funciones de las hojas mediante señales (Zhang y Davies, 1989), aunque dicho control por estructuras no es muy evidente (Dickinson y Isebrand, 1991) ni común en la mayoría de las especies. La mejor evidencia de influencia de la hoja en el desarrollo vascular de las raíces se observa en betabel, en el cual, cada anillo cambial de las raíces está asociado con un verticilo foliar, si bien esto no es muy común en otras especies.

Dickinson y Isebrand (1991) sintetiza que el crecimiento de las raíces principales (no absorbentes) está muy acoplado al desarrollo de las hojas. En contraste, el crecimiento y recambio de las raicillas (absorbentes) parece muy independiente del desarrollo del vástago y parece estar más en relación con el medio radical (Eissenstat y Caldwell (1988) en Dickinson y Isebrand, 1991).

El vástago como unidad no responde al estrés en la mayoría de los casos. En la actualidad, no hay duda de que la relación vástago-raíz está fuertemente controlada por múltiples sistemas de retroalimentación y que la comprensión de las funciones complementarias de ambos es un prerrequisito para entender el desarrollo de la planta como un todo.

Para evaluar el costo de una restricción, algunos índices han usado la cantidad de biomasa que se acumula en órganos específicos, o dentro de órganos. La mayoría se ha centrado en órganos reproductivos (flores, frutos, semillas) o vegetativos (hojas, tallos, raíz) al final de un cierto ciclo (Bazzaz et al., 1987), o en módulos de la planta (vástago, vástago-raíz) (Shalhevet *et al.*, 1995; Walters y Freeman, 1983. Estos últimos en Wilson, 1988). También, se ha abordado la distribución de recursos (nutrientes y energía) contenidos en dichos sistemas u órganos. Estas evaluaciones a intervalos consecutivos permiten distinguir comportamientos particulares que reflejan la adecuación morfofuncional a condiciones ambientales específicas (Medina, 1977).

La mayoría de las investigaciones sobre respuestas fisiológicas de las plantas a restricciones ambientales se ha centrado en evaluar la respuesta del vegetal a estreses específicos. Por ejemplo, el ajuste osmótico en respuesta a estrés hídrico o salino (Morgan, 1984). Así, un acercamiento muy usual es medir la masa representada por el crecimiento vegetativo, y evaluar esta inversión de la planta bajo condiciones salinas. Los hábitats salinos forman un grupo de medios extremos caracterizados por la presencia de altos niveles de sal, que imponen múltiples restricciones a las plantas que los ocupan.

La hipótesis planteada en este estudio es que una tensión salina ejerce efectos negativos en caracteres morfológicos y funcionales en *Amaranthus hypocondriacus*, a nivel de semilla y de desarrollo temprano de la especie.

## 2. CONSIDERACIONES GENERALES DEL HALOFITISMO

En esta revisión se cubren los siguientes aspectos organizados como sigue:

- 1) Halofitismo
  - a) plantas y su relación con la salinidad
  - b) características y grupos
    - i) halofila
    - ii) glicofila
- 2) Condiciones salinas
  - a) características y restricciones en el medio salino
    - i) componentes
    - ii) consecuencias
      - (1) estrés hídrico o primario
        - (a) nutrición limitada
        - (b) interacciones iónicas
          - (i) sinergia
          - (ii) antagonía
      - (2) estrés metabólico o secundario
      - (3) limitaciones del desarrollo
    - iii) respuestas
  - b) rasgos para el consumo y regulación salina
    - i) transportación
      - (1) apoplástica
      - (2) simplástica
    - ii) consumo catiónico alcalino dual
      - (1) sistema i
      - (2) sistema ii
    - iii) tácticas reguladoras
      - (1) estructurales o físicas
        - (a) suberización
        - (b) glándulas
        - (c) succulencia
      - (2) inducibles
        - (a) ajuste osmótico u osmorregulación
        - (b) compartimentalización
          - (i) intracelular
            1. vacúola
            2. cloroplasto
            3. apoplasto o espacio hídrico
          - (ii) extracelular
            1. translocación
            2. distribución discontinua
            3. eliminación orgánica por saturación
    - iv) por selectividad membranal
      - (1) mecanismos relacionados con la selectividad
        - (a) selectividad por composición

- (b) selectividad por configuración
- (2) pérdida de la selectividad
  - (a) por shock osmótico
  - (b) por exceso salino
  - (c) por afectación de la homeostásis del calcio
  - (d) por otras fuentes
    - (i) cambios en la fluidez
    - (ii) alteración de bombas ATPasas
    - (iii) competencia iónica
- c) mecanismos que potencian el flujo iónico al vástago
- 3) Crecimiento en condiciones salinas
  - a) factores que regulan el desarrollo
    - i) turgencia
    - ii) fotosíntesis
      - (1) en período corto de exposición salina
      - (2) en período largo de exposición salina
    - iii) consumo iónico excesivo
  - b) primeras respuestas a restricción salina
  - c) modelo de desarrollo

## HALOFITISMO

### *Plantas y su relación con la salinidad.*

En las plantas, se han reconocido varios mecanismos de acuerdo con la regulación de la salinidad, de la succulencia inducida por iones de Na, y por la cantidad de éste ion en los tejidos (Joshi et al., 1975). De forma general, y sobre la base de consumo, retención y exclusión iónica salina, se pueden distinguir dos grupos: a). halófilas, que son organismos con estrategias inclinatoras, y b), y no halófilas, que son plantas exclinatoras o elusivas (Yeo et al., 1991). El criterio es el requerimiento de una determinada sal para el crecimiento normal, su habilidad para enfrentar y tolerar cantidades internas altas de sales, las diferencia (Rains, 1979; Flowers et al., 1977; Wainwright, 1980; Flowers, 1985)

a) Las primeras, que toleran concentraciones relativamente altas, se les denomina "halófita". De hecho, no solo soportan sino que crecen mejor en condiciones salinas. Estas especies son en su mayoría exclinatoras foliares y podrían acumular altos niveles de Na en raíces y tallos (Flowers et al., 1977). Su problema principal no es la economía del agua, sino la economía salina. Es decir, de qué modo el funcionamiento de la planta se desenvuelve en condiciones de altas concentraciones de electrolitos. Entre ellos, normalmente predomina el NaCl pero podría contener una amplia gama de otras sales como Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, CaSO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, KCl y NaCO<sub>3</sub>. Las plantas prosperan con su mejor desarrollo a varios niveles salinos del medio, dependiendo de su tolerancia, aunque su crecimiento también se retarda a altas concentraciones (Okusanya y Ungar, 1984). Su desarrollo óptimo se ha analizado en soluciones que caen dentro de un rango entre 20-500 mM. Además, su sobrevivencia suele acompañarse de altos contenidos iónicos. (Flowers et al., 1977). Las halófita, suelen absorber las sales y las almacenan en tallo y hojas. En ellas, la secuestación de las sales del citoplasma es el problema. Muchas de estas especies son succulentas, (*Salicornia*, *Suaeda*), probablemente por la acumulación de las sales en las grandes vacuolas del mesófilo y otros rasgos asociados como la transpiración reducida y la tolerancia a la sequía (Osmond, 1980; Gorhan et al., 1985). Otras especies presentan glándulas excretoras en la superficie de la hoja que eliminan grandes cantidades de las sales que de otra manera se acumulan en valores altos (Rains, 1979, Kramer, 1984; Flowers, 1985).

b) Las que soportan solo cantidades bajas se denominan "glicófita". Ellas responden a la salinidad en gran medida, mediante exclusión iónica. Estas especies poseen mecanismos que aseguran que las sales lleguen a las partes de la raíz y las aéreas (vástago) solo en cantidades pequeñas, lo cual puede deberse a procesos de absorción selectiva muy eficientes, (Flowers, 1985, Gorhan et al., 1985) como en muchos pastos (Kramer, 1984). Las plantas realizan un transporte restringido de sal, y mantienen un balance hídrico favorable mediante la síntesis de solutos orgánicos (Lauchli y Epstein, 1990 en Rogers y Noble, 1992). Del efecto salino sobre ellas, se sabe que, por lo general, alcanzan su máximo desarrollo en condiciones no salinas y que aquél se reduce en la medida que las cantidades de éstas se incrementan.

Siempre se distingue claramente entre ambos grupos, pero en realidad existe un espectro continuo de tolerancia que oscila desde los organismos más sensibles, afectables aún por un décimo de salinidad marina (50 mM de NaCl), hasta aquellos capaces de

completar sus ciclos vitales en salinidad marina (Gorhan *et al.*, 1985). los extremos son tóxicos por definición; uno por su carencia (ninguna planta puede sobrevivir en ausencia de sales) y el otro por la salinidad excesiva (por el desajuste hídrico y metabólico que ocasiona). Intermedias entre ambos extremos, se considera que son condiciones propias para las mesofita. Las mesofita podría pensarse que son halofita facultativa para Wainwright (1980), quien distingue dos categorías: el primero constituido de especies con amplia distribución que incluso podrían colonizar medios no salinos pero que han desarrollado razas o ecotipos tolerantes a salinidad. Muchas de estas especies son oportunistas. El segundo, conformado por especies con variados grados de sensibilidad hacia las sales. Este grupo intermedio presenta entonces especímenes que podrían comportarse como facultativas temporales hacia un extremo u otro.

Cabe mencionar que para cada organismo existen óptimos de crecimiento en condiciones de medios con sales particulares y que al parecer no existen diferencias particulares entre ambos grupos de plantas (Krebs, 1974 en Medina 1977) sino una variación gradual de la respuesta productiva, hecho que señala que la adaptación salina podría ser un proceso continuo. Esto explicaría porque algunas plantas se comportan como "halofila facultativas" y otras como "obligadas".

## II. CONDICIONES SALINAS

A) Características y restricciones en el medio. La característica principal de los ambientes salinos es un estado iónico desproporcionado. En particular, la predominancia de nutrientes no esenciales fisiológicamente por sobre los que si lo son (Rains, 1979), por lo que es común detectar en ellos, cantidades de Na y Mg mayores que de K y Ca (Shah *et al.*, 1986 en Bohra y Doerffling, 1993), con relaciones extremas de Na/Ca, Na/K, Ca/Mg, y Cl/NO<sub>3</sub>, (Allen *et al.*, 1995; Grattan y Grieve, 1992; Greenway y Munns, 1980; Hadadd y Coudret, 1991; Jeschke y Nassary, 1981), que ocasionan baja actividad de iones nutrimentales. Por otra parte, Rengel, (1992) señala que la relación Ca/Na en el medio radical parece un mejor indicador del estrés salino que la concentración (actividad) del Na por si sola. Estos estados imponen ciertas restricciones con variadas consecuencias. Todas las plantas las enfrentan, explotando diversas estrategias tanto a nivel celular como de todo el individuo que les permiten sobreponerse a dichas tensiones.

### 1. Componentes.

Las tensiones tienen dos componentes. Uno es el estrés salino, que ocasiona sequía fisiológica y toxicidad; debido principalmente a Na, Cl o Ca (Fitter y Hay, 1985, Lerner, 1985). Otro es el desequilibrio iónico o deficiencia nutrimental (Yeo, 1983). En el primero, las sales ejercen su efecto *per se* sobre la habilidad de la planta para adquirir recursos en presencia de grandes cantidades de sales solubles. En el segundo, provocan desbalances iónicos y osmóticos, afectando la habilidad para utilizar recursos (Fitter y Hay, *op cit.*). Estos últimos autores, los consideran como estrés primario y secundario, respectivamente.

### 2. Consecuencias.

i) **Estrés Primario o directo.** Alto contenido iónico y bajo potencial hídrico son los más significativos problemas de las plantas en ambiente salino (Cavaliere y Huang, 1979; Gorhan *et al.*, 1985). esto favorece la toxicidad indirecta por carencia nutrimental (Fitter y Hay, *op*

*cit.*). Un bajo potencial hídrico del suelo significa un déficit de agua y limitaría su consumo (esencial para el crecimiento vegetal). Esto implica que en la rizósfera existe una presión hídrica suficientemente negativa para reducir la disponibilidad de agua para la transpiración y la expansión del crecimiento vegetal (Neumann, 1995). Grattan y Grieve (1992), complementan además que la toxicidad podría reducir el crecimiento por la alteración nutricional, y que la salinidad desajusta la adquisición de nutrientes minerales en dos formas:

I) Por la fuerza iónica del sustrato, no importando su composición, ya que afecta el consumo y la translocación. Existe evidencia de esto en plantas en las cuales la salinidad indujo a consumo de  $PO_4$

II) Por la reducción de disponibilidad de nutrimentos por la competencia entre los iones principales (K, Ca, Na, e, i) en el medio. Este es el mecanismo más común por el cual la salinidad desequilibra las relaciones minerales. estas interacciones con frecuencia provocan deficiencias de Ca y/o K inducidas por Na y las de Mg inducidas por Ca (Grattan y Grieve, 1992).

La perturbación nutrimental entonces puede ser producto de; un aporte insuficiente o limitado, y aquella debida a interacciones iónicas. La deficiencia por aporte inadecuado, no es dañina *per se* (Yeo, 1983). Este mismo autor distingue dos variantes; una es por cantidad y la otra es debida a que la proporción de ciertos iones es inadecuada en relación a otros y/o a sitios metabólicos específicos. Esta posibilidad se puede presentar por la selectividad inapropiada de los transportadores y/o a la dominancia de iones no específicos e independientes de transportador de membrana (Yeo, *op cit*). Una adecuada cantidad y proporción de K en las células de raíces es necesario para un crecimiento continuo. El K se requiere no solo para la turgencia celular, o para dirigir la expansión celular, sino también como un cofactor para muchas enzimas (Kramer, 1984).

*INTERACCIONES IONICAS.* El otro factor adicional, muy importante que afecta la cantidad de los nutrimentos es la interacción (sinérgica y antagónica) entre ellos mismos y que altera sus respectivas absorciones, la cual muy raramente se ha trazado (Shannon, 1984). En la acción sinérgica, la presencia de ciertos iones es estimulada por otros. El efecto del Ca en la absorción de K y Cl es un ejemplo (Sutcliffe y Baker, 1979). La absorción de estos cationes es estimulada por la presencia de Ca hasta una cierta cantidad, para disminuir más tarde con aumentos posteriores de éste último. Estos mismos autores comentan que aniones metabólicamente importantes como fosfato y nitrato, a menudo estimulan la captación de otros iones, presumiblemente a través de efectos en el metabolismo Chapin (1980), al respecto comenta que un aumento de  $N_2$  en la concentración en la planta, causa un incremento en la capacidad de absorción de fosfatos de hasta 10 veces, y a la inversa, Tendencia semejante entre el amonio y el fósforo fue observada por Shaviv y Hagin (1993). Caso contrario sucede con la antagónica. En ella, la absorción de un elemento es posible por el desplazamiento de otro. Es decir, la absorción de uno disminuye al aumentar la cantidad del otro (para mayores detalles véase Competencia Iónica).

Bajo éstas condiciones de nutrición limitada Se perciben tres patrones de movilización elemental (Ericsson, 1995).

- a) Aportes limitados de N, P, ó S, estimularon el desarrollo de la raíz.
- b) Aportes deficientes de K, Mg o Mn, inhibieron el crecimiento de la raíz
- c) Limitación en Ca, Fe, y Zn, casi no influyeron en la proporción vástago/raíz.

Añade el mismo autor, que la carencia de un nutrimento mineral esencial afecta la distribución de la biomasa, interfiriendo, en mayor o menor cantidad, los procesos asociados con la fijación de carbono (K, Mg, Mn), o la formación de nuevos tejido (N, P, S, Ca), o ambos (Fe, B, Zn, Cu, Mo)

**ii) Estrés Secundario o indirecto.** Sus efectos, provocan desbalances iónicos y osmóticos que dan como consecuencia la toxicidad directa, afectando la habilidad para utilizar recursos, inhibiendo la actividad enzimática y la división celular, y provocando la pérdida de sustrato respirable (anoxia) o deficiencias nutrimentales (Fitter y Hay, *op cit.*: Galloway y Davison 1993). Esto induce a perturbaciones metabólicas que ocasionan daños severos, y podrían colapsar el funcionamiento general

### **iii) Limitación del desarrollo**

Para que exista crecimiento, debe haber determinadas cantidades y proporciones constantes y de equilibrio, " concentración y balance iónico, fijos. ". El contenido de iones en una planta es dependiente de factores ambientales como el aporte nutritivo. La tasa de absorción de un nutrimento depende frecuentemente de la cantidad en la solución externa, así que el estado nutritivo de una planta disminuye en la medida que lo hace un nutrimento dado en la superficie de la raíz. (Chapin, 1980). Cualquier limitación al respecto modifica la proporción, ya que si predomina una mayor cantidad de un elemento, aumenta su concentración en el vegetal, por lo general, y la de otros elementos disminuye (Rains y Epstein 1967 a y b; Wainright, 1980; Howeler, 1983). dicha proporción sería específica, e incluso entre estructuras u órganos del vegetal por su selectividad diferencial (Jeschke y Nassery 1981). Bajo este enfoque, cada organismo vegetal precisa en el medio radicular, de una solución que contenga elementos esenciales en una combinación y concentración particular y que esto sea constante, de forma tal que entonces la planta sea capaz de crecer apropiadamente. Otros aspectos que influyen en esto es la edad del tejido, de la especie y la hora del día (Howeler, 1983).

### **B) Rasgos para el consumo y regulación salina. Respuesta.**

Es claro que existe una amplia gama de rasgos fisiológicos, anatómicos y bioquímicos involucrados en el control del balance y distribución de agua y solutos a nivel de todas las células o de tejidos. Ellos influyen en los potenciales hídricos y en la concentración de solutos a los cuales están expuestas todas las células del vegetal, y que son necesarios para el equilibrio metabólico celular y del organismo (Homeostasis). Las opciones disponibles observadas como respuesta a estas condiciones pueden ser a) tácticas para eludir la toxicidad iónica y b) la estrategia osmótica (mediante la cual se puede disminuir el potencial hídrico ya sea porque la especie lo regule o conforme), (Yeo, 1983). Estas estrategias son de importancia fundamental y le permiten a la célula o al individuo, balancear las concentraciones iónicas, además de conferirle una tolerancia metabólica. El grado con que se logran estos fines con los mismos medios difiere ampliamente entre especies (Fitter y Hay *op cit.*, Gorhan *et al.*, 1985), así como entre células (Lerner, 1985). Obviamente, entre más efectivas sean estas funciones, una especie puede tener mayor probabilidad de éxito en ambientes salinos.

## 1) Transportación.

El concepto contemporáneo del proceso de consumo de elementos nutritivos consiste de una secuencia de pasos muy estrechamente ligados (Mitreva, 1989; Rengel, 1993) que incluyen **a)** movimiento de los iones del medio hacia la superficie de la raíz. **b)** Transporte de los iones a través de la superficie y membranas de las células epidérmicas de la raíz. **C)** Transporte radial, centrípeto de los iones hacia los vasos del dilema de la raíz y a su interior. **D)** Transporte acropétalo en el xilema de los iones y su distribución a lo largo de todas las partes aéreas del vástago (Esquema 1)

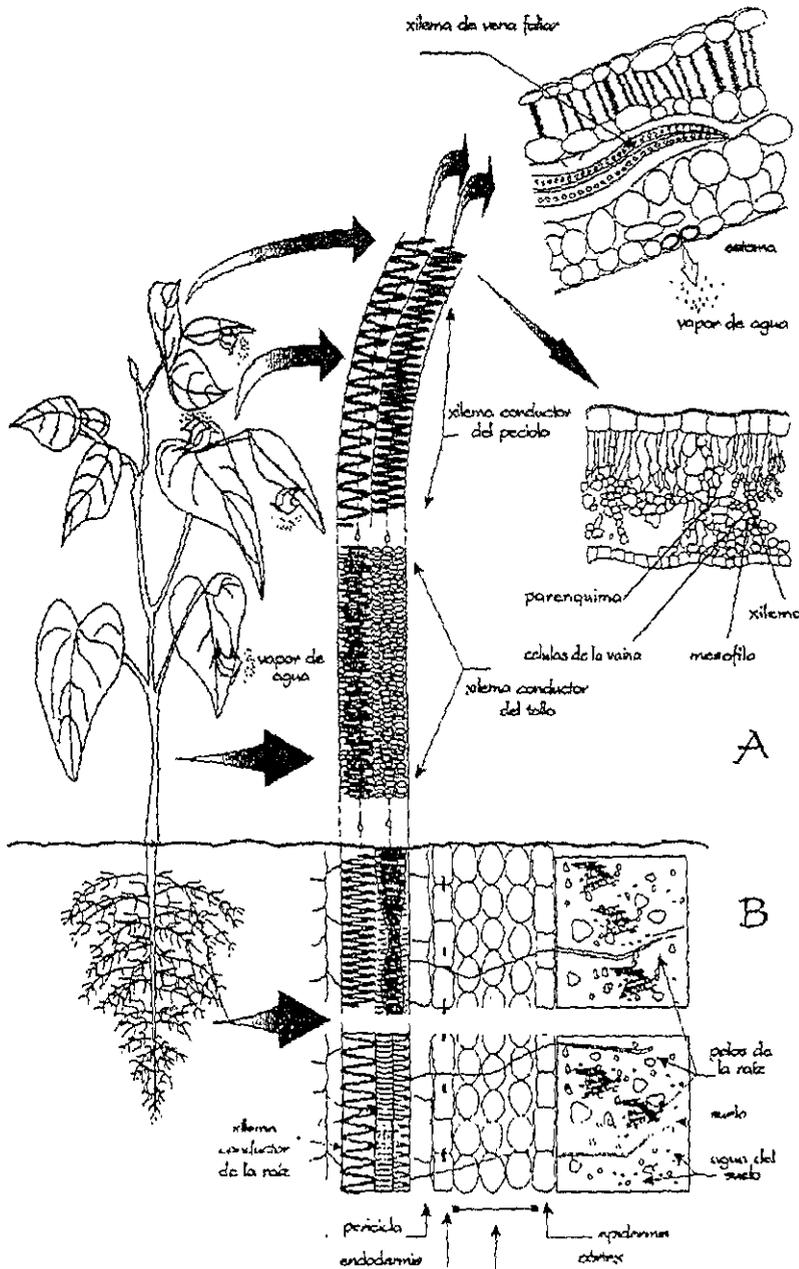


Diagrama que muestra los módulos que constituyen a una planta: El módulo del vástago A que se desarrolla en el medio atmosférico y el módulo de la raíz B, que crece en el medio edáfico. Además, se ilustra el camino y la anatomía de la planta que sigue tanto el agua como elementos nutritivos disueltos en ella, desde el exterior:

Después de contactar la superficie de la raíz, los iones penetran al tejido vegetal. Su incorporación depende de muchas condiciones internas y externas que son normalmente sintetizadas como permeabilidad, la cual se define como la tasa de entrada en una unidad dada en un tiempo conocido, bajo condiciones de diferencia de actividad unitaria. Los procesos que controlan la absorción pueden seguir dos caminos. pasivo o no metabólico (vía apoplasto), y activo o metabólico (a través del simplasto).

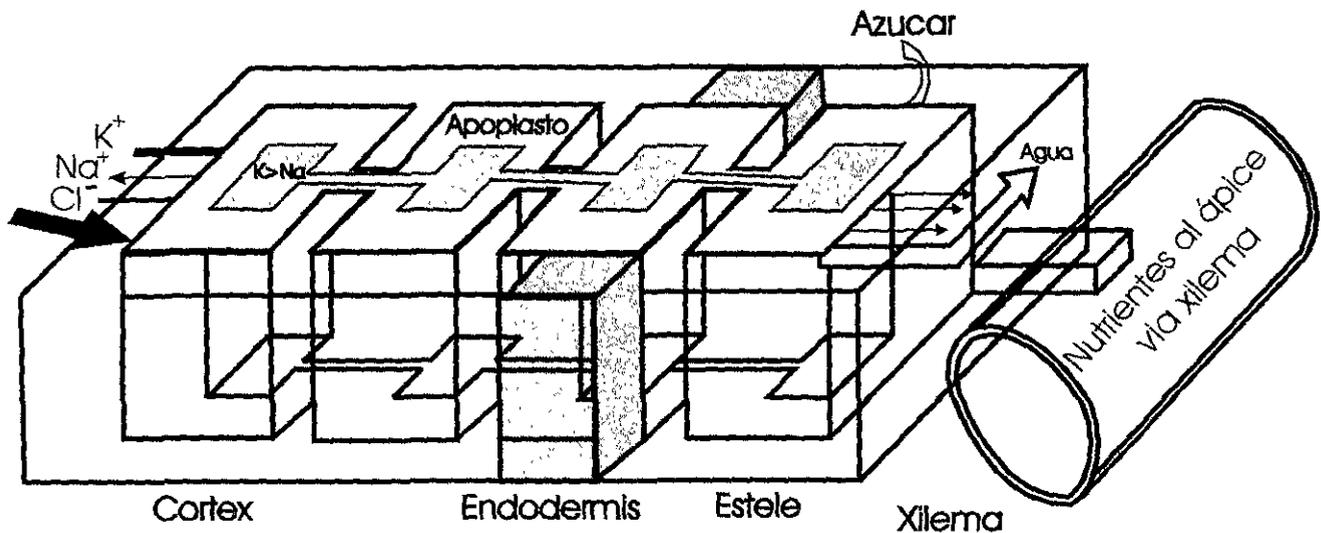
a) Vía apoplasto. El primero es el espacio externo de la membrana plasmática de cada célula y consiste de paredes celulares interconectadas y de espacios intercelulares (Osmond et al., 1980). los iones son transportados al interior celular como resultado de diferencias de potencial electroquímico, y el proceso es pasivo o de consumo no metabólico (Waisel, 1972). Los iones inorgánicos pueden difundir con facilidad, vía poros hidrofílicos de las paredes celulares de la epidermis, de las paredes y los espacios intercelulares del tejido cortical, hasta la endodermis (Medina, 1977), además de las membranas. Este movimiento es complejo ya que su cinética no es por difusión simple sino de una difusión a través de una superficie cargada. Lo anterior, se debe a que existen vías en las paredes celulares para el movimiento de los iones disueltos en solución (espacio libre hídrico) y rutas para intercambio iónico en los polímeros orgánicos cargados (espacio libre de Donnan) (Medina, 1977). La absorción comienza con la entrada de los iones al espacio libre hídrico de una raíz. Las paredes celulares son los componentes principales del mismo. Están cargadas negativamente y adsorben cationes. Los iones son adsorbidos y descargados a lo largo de la pared en su parte interior (espacio de Donnan). La naturaleza de las superficies de adsorción en tejido vegetal no está muy claro, pero los pectatos son considerados como la vía principal (Sutcliffe y Baker, 1979). Tampoco está definido si los iones son adsorbidos en las paredes previo a su acumulación, o si la adsorción no es un prerrequisito para el consumo iónico al espacio osmótico del simplasto. Winter (1961, en Waisel 1972), mostró que el 96 % de la capacidad del tejido de *Vallisneria* para adsorber cationes se concentraba en las paredes celulares. Los sitios restantes de adsorción estaban probablemente en la membrana plasmática. Condiciones semejantes prevalecen también en las raíces. En algunas especies, la mayoría del consumo iónico es por espacio libre. Las tasas de consumo iónico por esta ruta están estrechamente correlacionadas con las concentraciones iónicas externas (Waisel, 1972).

El movimiento iónico en el apoplasto es limitado por bandas de Caspary, que son procesos hidrofóbicos de cutina y suberina (suberización) de las paredes celulares de la endodermis, último cordón celular del tejido cortical de la raíz. Las bandas forzan a los solutos a que se muevan del cortex al estele (xilema-floema) a través del plasmalemma y al interior del simplasto. Este hecho, aísla el apoplasto del cortex de aquel del estele y del vástago (Osmond et al., 1980) Gorhan *et al.*, (1985) y Waisel (1972), señalan que la permeabilidad radial de las raíces disminuye en la medida que la suberización de la endodermis aumenta y la frecuencia de células de paso decrece. Ocasionalmente, en algunas especies (*Puccinellia peisonis*) se forma una segunda endodermis (Stelzer y Lauchli, 78 En Gorhan *et al.*, 1985). También Existen investigaciones anatómicas de tejidos de raíz que muestran anchura disminuida del córtex por la salinidad (Greenway y Munns, 1980.), lo que podría significar disminución de gradiente de concentración iónica. Mismo aspecto que puede pensarse por el desarrollo de las bandas de Caspary, dentro de los 3 mm iniciales del ápice de *Suaeda maritima*, crecidas en salinidad y que es retrasado hasta los 15 mm en ausencia de NaCl. Las

bandas promedian 0.93 micrones en el primer caso, en tanto que alcanzan 0.46 micrones en el segundo. Al respecto, Bal y Dutt (1986), observaron que el arroz halófilo silvestre (*Oryza coarctata* Roxb.) presenta una médula muy esclerotizada. Algunos de los rasgos anteriores se observaron también en células epidérmicas y corticales en relación a la salinidad. (Flowers, 1985).

b) Simplasto. Es el citoplasma interconectado de células adyacentes en tejido delimitado por membrana plasmática en el lado externo y por el tonoplasto, en el interno. Los componentes son los plasmodesma (conexiones citoplasmáticas a través de pequeños poros en la pared entre células adyacentes) (Osmond et al., 1980). Este sistema de membranas, forma una barrera contra la libre difusión iónica del apoplasto. Las membranas son selectivas y sus propiedades determinan la cantidad y calidad de los iones desplazados. Su incorporación es por transporte activo y requiere energía metabólica (ATP), y un aporte de oxígeno y metabolitos (Medina, 1977; Waisel, 1972). por lo general, En los plasmodesma, los iones migran en contra de gradientes de concentración y electroquímicos al interior del espacio osmótico del citoplasma y se mueven a lo largo del tejido cortical de la raíz por el plasmalemma en el interior del citoplasma (esquema 1). El flujo es asimilado o es más tarde compartimentalizado. Bajo ciertas condiciones, el plasmalemma puede ser limitante, permitir el paso o la acumulación solo de pequeñas cantidades de iones. Es esperable entonces, que cuanto menor sea la concentración exterior de un ion dado, mayor será la importancia de las estrategias activas que las pasivas para la absorción iónica.

El esquema 2 sintetiza las rutas y tipos de transporte dentro del apoplasto y simplasto y distintos tejidos de la raíz.



Modelo conceptual de transporte a través de la raíz. El transporte activo al simplasto conduce a una mayor selectividad de K sobre Na en la solución. Otros procesos mantienen diferencias en la selectividad y posible concentración entre las vacuolas y el citoplasma. La endodermis es una barrera al movimiento en el simplasto (L.). Dentro del estele la liberación de los solutos al sistema de vasos ocurre donde los iones son transportados al vástago por transpiración, la cual guía el flujo de agua a través de la raíz. Los azúcares son suministrados a la raíz vía floema y de ahí al simplasto. (Fuente, Pitman, 1984).

## 2.) CONSUMO CATIONICO ALCALINO DUAL

La osmorregulación se puede lograr mediante el mecanismo de transporte iónico al interior celular a condición de que dicha estrategia sea capaz de absorber grandes cantidades de iones y transportar aquellos necesarios para reacciones fisiológicas (Rains, 1979). Ya ha sido descrito un mecanismo de transporte, altamente selectivo (Epstein, 1966; Lutge y Laties, 1966; Rains y Epstein, a y b1967), que afecta la absorción de cationes alcalinos de raíces y otros tejidos vegetales, y que se propone como parte integral de las respuestas de la planta a la salinidad. Es un modelo denominado *mecanismo dual de transporte catiónico univalente*. consiste de dos vías: la primera (sistema I) es que la absorción de iones esenciales como el K, es selectiva, y puede operar en presencia de cantidades altas de iones químicamente similares como el Na, a cuyas concentraciones influye (Jeschke, 1984) Así, el K puede aportarse en cantidades fisiológicas necesarias (regulación del contenido celular interno), y el proceso puede realizarse en sistemas nutricionalmente muy desequilibrados (Rains, 1979). Cuando se aumentan de manera sustancial los niveles salinos, se induce el funcionamiento de la segunda vía de absorción (sistema II). La misma, muestra poca selectividad iónica pero es capaz de transportar Na así como K y acumular a altas velocidades sin importar que iones estén presentes en el medio. Esta concentración iónica celular interna, mejora también el influjo osmótico de agua, reduciendo la posibilidad de sequía fisiológica (Rains, *op cit.*), pero ambos iones pueden inhibir su consumo de manera recíproca (Jeschke, 1984). El flujo catiónico al interior de células de raíz, es por definición por medios pasivos, en favor de gradientes de potenciales electroquímicos. Ambos sistemas son paralelos y no son atribuibles únicamente a plasmalemma o tonoplasto (Anderson, 1972). En las plantas en particular no se ha demostrado ni el sistema II, ni los canales iónicos de Na en la membrana, por lo que se piensa que el flujo de Na al interior ocurre ya sea mediante canales catiónicos no selectivos o de canales selectivos de K (Tyerman y Schachman, 1992; Allen *et al.*, 1995). El mecanismo de entrada más posible es el antiporte Na/H, el cual acopla el eflujo del Na al gradiente de pH de la membrana plasmática (Dupont, 1992 en Allen *et al.*, *op cit.*; Pantoja *et al.*, 1989). Ambos sistemas aparecen característicamente en el transporte de Na y la selectividad catiónica no es afectable por la presencia o ausencia de Ca (Anderson 1972) Osmond y Laties, (1968. en Anderson 1972), creen que el sistema I se localiza en el plasmalemma parenquimático, en tanto que el II se ubica en el tonoplasto. El modelo dual de consumo iónico se ha estudiado en tejido joven y envejecido, y se distingue que en el primero no hay sistema de transporte para el Na mismo que se desarrolla con el envejecimiento (Anderson, *op cit.*).

### MECANISMOS QUE POTENCIAN EL FLUJO IONICO AL VASTAGO.

Los mecanismos que potencian a los elementos nutritivos para penetrar a las células de la raíz y su transporte subsecuente en el vástago, todavía tiene puntos oscuros. Sin embargo, Mitreva (1989) detecto dos mecanismos metabólicos de captación de nutrientes del medio a tasas y proporciones específicas durante fases individuales de desarrollo del girasol (glicofita).

El primero fue localizado en las hojas representa posiblemente una bomba protónica dependiente de auxina. El otro, funciona mediante la excreción de aniones ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ), y se ubica en las raíces. Trabaja reduciendo  $\text{NO}_3^-$  en las células de las raíces hasta la formación de las yemas pero más tarde lo hace por el transporte negativo de formas carboxiladas de las hojas (Mitreva, 1989).

La excreción de  $\text{H}^+$  o de  $\text{OH}^-$  es un proceso que las plantas realizan para mantener su electroneutralidad cuando las cargas de cationes y aniones absorbidas no están balanceadas (Loss *et al.*, 1993).

## 2). Tácticas regulatorias

Las tácticas son variadas e incluyen rasgos estructurales (físicos) no inducibles, y aspectos metabólico-fisiológicos inducibles

### *Estructurales o físicos*

Los estructurales, no inducibles, son características morfo-anatómicas de elusión o exclusión de sal que operan principalmente a nivel: de raíz, o de hoja pueden ser barreras físicas como procesos de suberización: en la endodermis de todas las raíces absorbentes, en células epidérmicas, corticales de haces vasculares (Cheeseman, 1988; Gorhan *et al.*, 1985); estructuras de eliminación como glándulas secretoras especializadas, pelos salinos que funcionan por períodos breves estallan y eliminan sales regulando así su concentración (Bal y Dutt, 1986), y la succulencia (Jennings, 1968; Rains, 1979; Flowers, 1985),

#### *A Nivel de Raíz*

En la punta de la raíz, particularmente la zona pilífera, es el área de mayor absorción de agua y nutrientes. Ahí, los mecanismos físicos dependen en gran medida de la integridad de su pared celular cuya selectividad descansa en sus propiedades reológicas (Flowers *et al.*, 1991) y no fisiológicas (Yeo, 1983) los sitios precisos de transporte selectivo están determinados por barreras permeables extracelulares

#### *A Nivel de Hoja*

En una planta, existe un balance del transporte neto. Si el transporte iónico neto a las partes aéreas (vástago) excede la capacidad de crecimiento para mantener equilibrada la concentración total, se acentúa la actividad de otros mecanismos importantes, igualmente complejos que actúan a nivel de hoja (Gorhan *et al.*, 1985; Mitreva, 1989). A este nivel, los atajos del movimiento del agua y solutos varían, posiblemente, más ampliamente de especie a especie. Las estrategias para enfrentar excesos iónicos mediante elementos físicos, principalmente, incluyen: glándulas secretoras, suberización de las paredes de células de la vaina (Gorhan *et al.*, 1985), y la succulencia. Todas estas adaptaciones son particulares y complementarias a las metabólicas

Glándulas. Una solución alternativa a la acumulación de sales en la hoja, es la exportación al exterior de la cutícula vía glándulas salinas especializadas, existentes en varios grupos de monocotiledoneas como gramíneas (*Spartina*, *Distichlis*) y dicotiledoneas: mangles (*Avicenia*, *Laguncularia*, *Conocarpus*), y otras, (*Limonium*, *Plumbaginaceae*). Ello es un rasgo de halofita. Relativamente pocas especies poseen mecanismos efectivos para excretar sales por las hojas (Rains, 1979; Gorhan *et al.*, 1985). Bal y Dutt (1986) describen en el arroz silvestre, *Oriza coarctata* Roxb, la concentración salina en pelos epidérmicos mismos que al saturarse, estallan y eliminan los excesos de sales.

## SUCULENCIA

Esta, es un término morfológico que alude al grosor y la carnosidad de órganos vegetales. Anatómicamente, el tejido succulento se distingue por sus células grandes, normalmente isodiamétricas. Las células poseen vacúolas grandes y centrales y en ellas, el citoplasma ocupa solo una parte muy reducida del volumen celular total (Luttge *et al.*, 1984). Funcionalmente, la succulencia permite el almacenaje tanto de agua como de solutos osmóticamente activos como sales inorgánicas, metabolitos orgánicos o ambos. En las halofita, la succulencia como respuesta a incrementos salinos, se interpreta como estrategias para diluir los excesos salinos que ingresan a la planta, así como para prevenir su acumulación (Jennings, 1968; Wainwright, 1980; Rains, 1979)

Todo lo mencionado permite controlar el flujo que entra, la cantidad iónica así como la específica (calidad), cuando dichas estructuras y funciones no están alteradas (Leopold y Willing, 1984; Poljakof-Mayber, 1975). En el caso de alteración de dichas estrategias, se produce toxicidad interna lo que desequilibra el metabolismo celular y el cese del crecimiento. La toxicidad es la señal que desencadena los procesos inducibles (fitter y Hay 1985), y son caracteres de tolerancia salina.

### *Inducibles*

Los mecanismos inducibles para mantener en equilibrio la concentración total, son la osmorregulación, y la compartimentalización (táctica osmótica) en organelas celulares (vacúolas, principalmente y apoplasto), y órganos (hojas seniles). También se tiene la distribución discontinua, y la translocación; estos últimos son mecanismo de desvío o de permeación operando vía el apoplasto (Gorhan *et al.*, 1985, Cheeseman, 1988) Ambos procesos pueden requerir la formación de potenciales de soluto, vía canales iónicos. Estas son respuestas rápidas y necesarias ante aumentos salinos externos durante el crecimiento celular. Ya alcanzadas deben perdurar para la vida celular (Yeo, 1983) A pesar que el soluto sea compatible, la compartimentalización resulta necesaria.

La osmorregulación y la compartimentalización permiten alcanzar una cierta tolerancia metabólica la cual significa mantener actividad adecuada (no necesariamente específica) en presencia de cantidades altas de iones en el citoplasma (Morgan, 1984; Wainwright, 1980), y que se alcanza por adaptaciones morfo-funcionales. La tolerancia metabólica es un rasgo no totalmente aceptado, ya que la mayoría de los estudios realizados *in vitro* con enzimas y organelas extraídas de especies halofila y glicófila demuestran que ambas son igualmente sensibles a la salinidad del medio (Greenway y Osmond, 1972, Horovits y Waisel, 1970; Flowers, 1977; Flowers y Dalmond, 1992) Sin embargo, Hurkman (1992),

señala a la tolerancia como un rasgo multigénico que capacita a las plantas para desarrollar y mantener una producción económica en medios muy salinos, fisiológicamente nocivos, y constantes, principalmente de NaCl. En cambio, La compartimentalización vacuolar, esta muy demostrada (Blumwald, 1987; Flowers et al., 1977; Flowers, 1985; Gorhan *et al.*, 1985; Jeschke, 1984; Pantoja *et al.*, 1989).

## **AJUSTE OSMOTICO u OSMORREGULACION**

El término Ajuste osmótico u osmorregulación se aplica a la regulación del sistema osmótico celular como respuesta a una disminución del potencial hídrico del medio por un incremento en la concentración de soluto a nivel de la raíz. El proceso ocurre como respuesta a estrés hídrico, incluso en algunas especies halófitas (Yeo y Flowers, 1980; Munns y Wier, 1981; Shannon, 1984; Morgan, 1984; Wainwright, 1980). Son cambios de cantidad de solutos que se observan después de recuperarse de un déficit hídrico. Hanson y Hitz (1982), lo consideran como una respuesta adaptativa fundamental en plantas superiores. Establecer su relación con el crecimiento, de forma clara es muy difícil ya que en los organismos superiores, células individuales, tejidos u órganos están integrados en una estructuración compleja en la cual, sus relaciones hídricas pueden influir o ser influenciadas por células de otra parte de la planta mediante aspectos físicos o procesos metabólicos (Morgan, 1984). En la práctica, a potenciales hídricos muy bajos, se interfiere la habilidad del organismo para extraer agua del medio y mantener su turgencia. Sin embargo, a potenciales hídricos mayores o cantidades salinas moderadas o bajas, la célula vegetal puede osmorregular mediante la acumulación interna de osmólitos hasta niveles mayores que el medio externo, y mantener un gradiente de potencial para el ingreso de agua (Shannon, 1984). La regulación osmótica implica que pueda ser sostenido en un estado de balance (estacionario), o estar continuamente siendo ajustado hasta un nuevo equilibrio mediante la acumulación adicional de osmóticos inorgánicos (sales) del medio externo (Queen, 1980), u otro tipo de osmólitos. Se observa por lo común, un control de la expansión del crecimiento seguido de una recuperación, lo cual se evidencia comúnmente, después del período salino o su adecuación al mismo (Yeo, 1983; Munns, 1993, Shannon, 1984). Puede ser un ajuste pasivo y que lo permite la reología (propiedades) de la pared, o bien un ajuste osmótico rápido con pérdida de la pared (lo que provoca incapacidad selectiva, goteo y filtración irrestricta (Fitter y Hay, 1985; Leopold y Willing, 1984).

Es claro que solo un número limitado de solutos, cuya acumulación es regulada, es de importancia capital para ajustar la presión intracelular y mantener una turgencia requerida o control de volumen para crecimiento mientras permite un ambiente celular iónico compatible con reacciones metabólicas (Wainwright, 1980, Yeo, 1983). Esta respuesta es diferente para distintas células (Lerner, 1985).

Los posibles mecanismos sensores que inician cambios del potencial hídrico de las células, son regulaciones osmóticas de turgencia o volumen que controlan los flujos de agua entre la célula y su ambiente (Jefferies, 1981). Es distinto de otras formas de mantener la turgencia, experimentales y teóricas (disminución tanto del volumen como del contenido celular, cambios en el modulus elástico de la pared celular e incremento de conductividad hidráulica del camino hídrico) que no requieren solutos adicionales significativos. Normalmente se puede alcanzar balance osmótico por iones inorgánicos o constituyentes

orgánicos (Hellebust, 1985). En el primer caso, iones inorgánicos como el K, Na y el Cl se pueden acumular pasivamente para osmorregular y regular la turgencia y mantener crecimiento aún bajo estas condiciones, aunque sea moderado (Shannon, 1985). La cantidad iónica no debe ser alta ya que puede ser inhibitoria y entonces deberá ser compartimentalizada, en la vacúola (Morgan, 1984; Wainwright, 1980; Flowers, 1985; Flowers y Yeo, 1977; Gorhan *et al.*, 1985) Conforme aumenta la concentración salina en la célula, se inducen mecanismos regulatorios.

Alternativas inducibles pueden ser:

- Bombas iónicas que regulan la salinidad y la podrían bombear al exterior celular (Lerner, 1985).
- Incrementar la cantidad de enzimas que permitan eficiencia disminuida.
- inducir la aparición de isoenzimas con tolerancia diferente (Flowers, 1976, en Yeo, 1983)
- Modificación de efectos con altas cantidades de substratos. (Yeo, 1983)

En el segundo caso, mantener y mitigar el equilibrio osmótico -potencial hídrico- en condiciones de hiperosmotividad = más de 0.9 MPa (Gorhan *et al.*, 1985) =, a través del tonoplasto que es la membrana vacuolar, y en toda la célula, más que solo en el citoplasma, requiere la acumulación en éste, de solutos orgánicos no tóxicos -solutos compatibles con menores efectos deletéreos en el citoplasma que los iones minerales (Borowitzka y Brown, 1974 en Gorhan *et al.*, 1985) . La composición química varía entre los distintos grupos taxonómicos, pero la mayoría son derivados de polialcoholes, carbohidratos solubles y sustancias nitrogenadas (Cavaliere y Huang, 1979 ; Storey y Wyn Jones 1979; Wainwright, 1980; Larher *et al.*, 1982; Jefferies y Rudmik, 1984; Veen y Kleinendorst, 1986; Sanada *et al.*, 1992). Ejemplos de dichas moléculas son amino ácidos como la prolina, betaina, la glicinbetaina, sorbitol, y algunos azúcares. Esto es muy común en hongos, microalgas y gran cantidad de plantas terrestres superiores (particularmente monocotiledoneas), en respuesta a déficits hídricos (Flowers, 1977; Jefferies y Rudmik, 1984), de ahí que Larher *et al.*, (*op cit.*), las consideren indicadores de estrés Estas moléculas compatibles no están muy cargadas pero son polares, altamente solubles y tienen un mayor radio de hidratación que los iones inorgánicos (Bartels y Nelson, 1994). Son formadores fuertes de estructuras hídricas que afectan la conformación de las enzimas, estabilizando su forma activa y protegiéndolas así, de perturbaciones conformacionales causadas por iones minerales. Este mecanismo es hipotético, pero se creó que los osmolitos alteran el estado hídrico celular lo cual modificaría las interacciones agua-proteína (Paleg, 1981 en Lerner, 1985; Schober, 1977. en Wainwright, 1980). En cualquier instancia, esto contribuye a mantener el crecimiento celular aún en presencia de altas cantidades iónicas.

Entre las glicófitas, la regulación del potencial osmótico se asegura por la acumulación de iones exógenos K, Na, y Cl (Haddad y Coudret, 1991), pero el control de la turgencia parece depender de la acumulación de carboxilatos (Cram, 1980), en contraposición con las halófitas en las cuales la turgencia se logra con la acumulación de iones del medio (Haddad y Coudret, 1991).

En algunos casos, los cambios en la cantidad de solutos orgánicos osmorreguladores no son suficientes para alcanzar una adaptación osmótica a salinidades crecientes; sugiriendo que los iones inorgánicos podrían tener una parte importante en la osmorregulación, en

microalgas. De éstas, las que poseen grandes vacuolas, los iones inorgánicos juegan papel importante en el ajuste osmótico" (Hellebust, 1985). Algunos microorganismos presentan tolerancia alta debido a que tienen la propiedad constitutiva de modificar proteínas con requerimientos para ambientes con altas fuerzas iónicas (Lanyi, 1974. en Yeo, 1983.).

## COMPARTAMENTALIZACIÓN

La hipótesis de la compartimentalización intracelular de solutos es la base en los modelos de los mecanismos que operan en las raíces y hojas (Gorhan *et al.*, 1985). Se distinguen cuando menos dos variantes: La primera, en la que el ajuste osmótico se logra mediante el ingreso de altas cantidades de Na y Cl a las partes aéreas (vástago), complementado con la generación compartimentalizada en el citosol de solutos compatibles. Esta combinación de estrategias permite altas tasas de desarrollo en términos de peso fresco (común en chenopodiáceas). La segunda, limita estrictamente la entrada de sales al vástago, pero sufren reducción del crecimiento en medios muy salinos. Una variación extra se observa en aquellas especies que poseen glándulas excretoras (Gorhan *et al.*, *op cit.*). Como se deduce, la compartimentalización del exceso iónico en el citoplasma es contrabalanceando con solutos orgánicos. Esta táctica permite separar las funciones osmóticas y metabólicas (Yeo, 83). La compartimentalización puede ser intracelular (en organelas y es la más citada), intercelular (entre tejidos), e interorgánica (hojas), además de continua y discontinua o desfasada en los reservorios señalados. La compartimentalización puede ser importante, en algunos niveles, para el computo para la sustitución de Na/K. El beneficio puede, entonces derivarse de la conservación del suministro limitado de K para funciones metabólicas, lo cual se permite mediante la sustitución de Na por papales menos específicos como ajuste osmótico vacuolar (Yeo, 1983).

### *Intracelular*

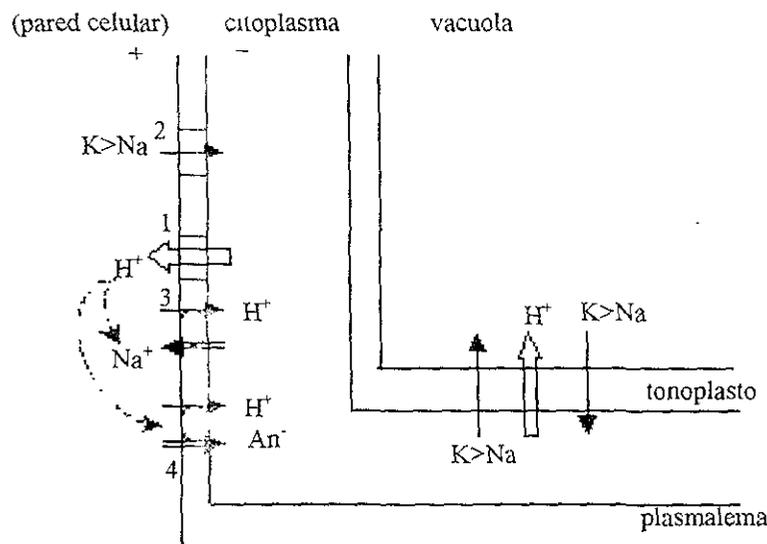
En la célula, existen varios compartimentos en los cuales se puede confinar, por un medio u otro; vacuola e incluso en cloroplastos (Harvey y Thorpe, 1986, Gorhan *et al.*, 1985, Flowers 1985; Yeo, 1983, Flowers y Dalmond, 1992). Sin embargo, hace más de 25 años, Oertli, (1968. en Flowers *et al.*, 1991) señaló también el espacio libre hídrico que existe entre la pared interna y la parte externa de la membrana (apoplasto).

*En la vacuola.* La mayoría de las explicaciones se han centrado en la compartimentalización entre vacuola y citoplasma. En principio, la regulación de la cantidad iónica vacuolar, en estado estacionario de salinidad externa (células o plantas que crecen expuestas a estas características durante periodos de semanas o más se consideran en estado fijo o estacionario); contrario con aquellas expuestas solo horas o días (flowers, 1985; Yeo, 1983). Puede lograrse balanceando la importación (vía xilema), la exportación (vía floema) o glándulas salinas, (cuando existen) y volumen de agua contenida (Flowers, 1985). Dicha idea asume que existe un desbalance hídrico-osmótico entre vacuola y citoplasma, hecho que Fitter y Hay (1985) llaman estrés secundario. El proceso de compartimentalización iónica mineral debe originar un gradiente iónico a través del plasmalemma como del tonoplasto. Ya se sabe que existen en estas membranas mecanismos para bombear los iones del citosol hacia los espacios libres exterior celular (apoplasto) y al interior vacuolar. Tal transporte activo sería esperable que fuese secundario, usando la diferencia de potencial electroquímico de  $H^+$ , la fuerza protonmotriz (FPM) como fuente de energía (Jeschke, 1983; Blumwald, 1987; Pantoja

*et al.*, 1989). Por razones osmóticas todos los iones (Na, K, Cl y NO<sub>3</sub>) deben estar a altas concentraciones vacuolares, y por ende, todos ellos, excepto posiblemente el K y en algunos casos, el Na para las glicofita, ser transportados activamente a la vacuola (Gorhan *et al.*, 1985). Allen *et al.*, (1995) mencionan que la canalización del Na a la vacuola sería en preferencia sobre el K, con lo que se mantendría una alta relación K/Na en el citosol de células del vástago. En última instancia, el control de la distribución es por las propiedades del transporte activo del plasmalemma y el tonoplasto, (Shannon, 1984), y además por cualquier mecanismo de atajo ó de goteo que opere por el apoplasto (Gorhan *et al.*, 1985)

En general, según Pantoja *et al.*, (1989), el potencial de membrana del tonoplasto es más o menos de +20 mV (vacuola positiva) y hay una diferencia de pH del orden de 2 unidades (vacuola más ácida). La diferencia de potencial electrogénico para los protones es generada por bombas protónicas electrogénicas en el tonoplasto dirigidas por la hidrólisis de ATP (Sze, 1985), y, tal vez, por la hidrólisis de pirofosfato. La situación para iones no protones, es menos clara. Los resultados obtenidos en varios laboratorios han mostrado que el tonoplasto posee, de manera abundante, dos enzimas (estructurales?): una ATPasa, y una pirofosfatasa insensibles al vanadio, (Leach *et al.*, 1990). Estas dos moléculas se encargan de transportar H<sup>+</sup> al interior vacuolar (Sze, 1985), generando así un gradiente de pH y un potencial de membrana a través del tonoplasto; juntos, estos dos factores constituyen la fuerza protonmotriz (FPM), cuyo potencial energético se utiliza para realizar diversos procesos de transporte a través de la membrana vacuolar. Dos de los sistemas enzimáticos que realizan estos procesos son los transportadores antiporte alcali-cation de Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> y que podrían incluir el de Ca<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, mismos que acoplan el flujo de los dos cationes metálicos, al flujo en dirección opuesta de los protones (Schumaker y Sze, 1985). Estos mismos autores sugieren que dichos sistemas pueden ser comunes en plantas. Las propiedades de estas enzimas son ampliamente similares entre glicofita y halofita (Leach *et al.*, op cit) Uno de tales transportes activos secundarios, el Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> ya ha sido bien caracterizado en varias especies de los siguientes géneros. En *Beta* (Marschner *et al.*, 1981), en *Atriplex* (Braun *et al.*, 1988), en *Plantago* (Staal *et al.*, 1991). Así, El Na<sup>+</sup> podría ser transportado al exterior del citosol por el sistema antiporte H<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> del plasmalemma y del tonoplasto (Lerner, 1985). Además de permitir simultáneamente la homeostásis del pH (Bartelson y Nelson, 1994). Cabe señalar, que en el caso de la ATPasa de Na, su estimulación se reprime ante exposiciones salinas de largo plazo ya que la sal induce a un cambio conformacional del translocador del ion del complejo de la ATPasa (Kuiper, 1984). En las bacterias, antiportes Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> proveen un mecanismo tanto para la regulación del pH como de la extrusión del Na<sup>+</sup> (Padan y Schuldiner, 1987 en Bartels y Nelson 1994). También ha sido propuesto un mecanismo de intercambio Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (Jeschke, 1983) aunque existen reservas (Lerner, *lot cit*). Tampoco existe todavía información definitiva acerca de un posible antiporte K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, y hasta el momento es un postulado solamente pensar en portadores de aniones como el Cl<sup>-</sup> y de NO<sub>3</sub> al interior vacuolar. Estos últimos, de considerable interés ya que serían fuertemente electrogénicos serían intercambios A<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> (Pantoja *et al.*, 1989) Estos sistemas de intercambio son en principio responsables de evacuar el citoplasma. El aumento de la actividad antiporte del tonoplasto ha sido observada por tratamiento o adecuación a sal (Garbarino y Dupont, 1988) Ya para 1984, Jeschke proponía el siguiente modelo, que se ajusta a las ideas descritas:

Sistema de intercambio protónico de  $K^+ / Na^+$  en el plasmalemma. Además, los flujos que conducen a la oclusión de Na y facilitan el intercambio de  $Na^+ / K^+$  en tonoplasto.



Pie de figura.

1= Bomba protónica; 2= Captación del K mediante el sistema 1 = transporte de difusión facilitada o uniporte, 3= Sistema de intercambio  $H^+ / Na^+$  = antiporte; 4= sistema de cotransporte  $H^+$ -anión o simporte. Tomado de Jeschke (1984)

De esta forma, por la abundancia de iones que entran al citosol son subsecuentemente secuestrados en las vacúolas, por el sistema antiporte  $H/Na$  ubicado en el plasmalemma y el tonoplasto, (Lerner 1985), este último según Munns y Termaat, (1986) abastecido por su propia diferencia de pH (disminución de pH).

Existe la teoría que bajo condiciones salinas se sintetiza, posiblemente, una proteína integral de tonoplasto, membrana vacuolar (idea ya propuesta para el alga roja, *Porphyridium*, Knoth y Wiencke, 1984. En Velasco, 1994), en donde se detectó un incremento en el número de partículas en la membrana durante la adaptación del alga a la salinidad. Se añade que dichas partículas son proteínas de transporte cuya función es regular la carga salina del citosol. Esto se basa en observaciones en las que  $NaCl$  en el medio de crecimiento indujo la actividad del intercambio  $Na/H$  en tonoplasto de células de raíz de cebada (Garbarino y Dupont, 1988). Parece que dicho intercambio solo se observa en especies halotolerantes (Munns y Termaat, *op cit*). Cabe añadir que recientemente, Ratajczak *et al.*, (1994), encontraron que la salinidad indujo el aumento de la ATPasa  $H^+$  de tonoplasto, la aparición tanto de dos polipéptidos que son parte de la haloenzima de dicha ATPasa, así como de una enzima de envejecimiento.

Jennings (1968), señala que en halofita suculentas, el exceso de Na cruza el plasmalemma celular sin necesidad de gasto energético. Más aún, todo el proceso de transportación del Na hacia la vacúola, se argumenta que produce ATP mismo que se utiliza para crecer, lo que explica el efecto estimulador del ion salino observado en ese grupo de plantas.

En hojas de *Atriplex gmelini*, la cantidad de betaina citoplásmica para alcanzar un gradiente de potencial hídrico de cero entre el citoplasma y la vacuola, es de aprox, 1 M (Matoh *et al.*, 1988). Parece que la tolerancia del metabolismo de halofita por bajas cantidades de K pueda incrementarse por la acumulación de Betaina, según estos autores.

En *Puccinellia peisonis*, el Na se acumula inicialmente y en gran medida, en las vacuolas de las células de la vaina (C<sub>4</sub>), inducida por la suberización de las paredes de células que circundan los manojos vasculares foliares. (Gorhan *et al.*, *op cit.*). El proceso de compartimentalizar se puede realizar en gran cantidad en vacuolas grandes (en Gorhan *et al.*, *op cit.*), y que pueden ser capaces de alargarse en respuesta a incrementos salinos (Sánchez y González 1992), o de sequía (Berlín, *et al.*, 1982, en Luttge *et al.*, 1984). La compartimentalización intercelular de iones de Ca y Na es un factor que puede influenciar bastante la respuesta primaria de las hojas a la salinidad (Rengel, 1992). En los modelos de compartimentalización se enfatiza que en el citoplasma se conserva su selectividad iónica y su concentración, en tanto que en la vacuola se pueden reunir una gran cantidad de solutos con variadas cantidades externas. Así, la selectividad citoplásmica contrasta con la promiscuidad vacuolar (Gorhan *et al.*, 1985).

Estrategia distinta a la compartimentalización en sorgo, *Hordeum vulgare*, es el eflujo iónico por el plasmalemma, (Jeschke, 1984; Cramer *et al.*, 1985).

*Cloroplastos.* La evidencia de los efectos de la salinidad sobre el contenido iónico en cloroplastos y la fotosíntesis es todavía polémica. No hay claridad de cuáles podrían ser los niveles internos, bioquímicamente inaceptables de algunos iones potencialmente tóxicos como Na (Harvey, 1983. En Harvey y Thorpe 1986, Flowers, 1985). Sin embargo, las investigaciones de Binzel *et al.* (1988. en Cheeseman 1988), mostraron concentraciones de Na<sup>+</sup>, aprox. de 100 mM en cloroplastos en células de tabaco adaptadas a salinidad. En Otros trabajos, en cloroplastos de hojas de espinaca (Gorhan *et al.*, 1985; Robinson *et al.*, 1983), y de frijol (Seemann y Chritchley, 1985), se han observado que los niveles de Na variaron muy poco respecto a fluctuaciones muy altas de concentración foliar total. Por otra parte, tampoco existe mucha diferencia en las cantidades de Na + Cl en algunas especies, en sus citoplasmas y cloroplastos vs las cantidades observadas en las vacuolas de plantas crecidas en presencia de salinidad externa de 150 mM de NaCl, aunque en este punto, el crecimiento del frijol se redujo el 70 % (Velazco, 1994).

*Espacio Hídrico o apoplasto.* hace más de 25 años, Oertli, (1968, en Flowers *et al.*, 1991) postulo éste espacio como potencialmente saturable de excesos iónicos. Señalaba que altas cantidades iónicas en las paredes celulares de las hojas afectarían las relaciones hídricas de células individuales, pero no el flujo transpiratorio del xilema a través de las paredes celulares. Añadió que la incapacidad de acumular iones en el protoplasto originaba la formación de un bajo potencial de soluto del apoplasto, un aumento de la presión osmótica y reducción de la turgencia lo cual provocaba una deshidratación celular

Es difícil evidenciar la hipótesis de Oertli por razones prácticas. Las paredes celulares ocupan solo aprox. el 3 % del volumen foliar (Flowers y Yeo, 1986 en Flowers *et al.*, 1991), Sin embargo, el uso reciente de análisis con rayos X de secciones delgadas, la confirmo (Yeo y Lee, 91.). Estos investigadores mostraron que las acumulaciones iónicas en el apoplasto eran

mayores que aquellas en las vacúolas. La concentración iónica aumento dramáticamente hasta valores de un orden de magnitud mayores que aquellos del medio externo. Aunque la cantidad de sal externa sea baja, se requiere que se acumulen muy pocos iones en las paredes para tener un efecto excesivo en las relaciones hídricas del vegetal, ya que el volumen del agua disponible en el espacio es pequeño (Tomos, 1988). La acumulación iónica ha sido postulada como explicación de la baja turgencia medida en las paredes celulares de hojas maduras de la halofita, *Suaeda maritima* (Flowers, 85).

Esto se postula que ocurre como síntoma temprano de exposición a bajas cantidades salinas por periodos cortos. "Esto guía a la conclusión de que, en éste caso, la acumulación de sal en el exterior, es el factor primario en el daño salino. Obviamente, se creó que las células emplean en su conjunto, las tácticas osmóticas y de compartimentalización, si bien con diferentes grados de eficiencia entre los tipos celulares y entre especies.

*Extracelular:* Existe también la opción de la retranslocación (de metabolitos útiles de hojas senescentes a aquellos en desarrollo), la distribución discontinua (Yeo, 1983, Pantoja *et al.*, 1989), y la canalización a hojas desprendibles (Joshi *et al.*, 1975). Yeo *et al.*, (1977), observaron que en las partes proximales de la raíz y de las inferiores del tallo de maíz, el Na era removido del flujo xilematico y sustituido por K. Marschner y Rosseberg, (1976. en kramer, 1984), detectaron que en *Phaseolus*, el Na es retransferido del vástago a las partes proximales de las raíces y de allí, excretado al medio externo.

La discontinuidad puede ocurrir a uno o más niveles: tejido, célula e intracelular. El primero (de hoja a hoja) es muy común en halofita (Yeo, 1983). Leigh y Storey (1991) encontraron que los iones de Ca son más abundantes en la epidermis de la hoja, mientras que los de Na están principalmente confinados al mesofilo, en hojas de sorgo. Lo que se observa es que existe una distribución espacial elemental a lo largo de la hoja mencionada por Waisel (1972), y confirmada por Berstein *et al.*, (1995) En órganos, es bien conocida la estrategia de algunas especies de mangles que canalizan los excesos salinos hacia hojas seniles hasta saturarlas y después desprenderse de ellas (Joshi *et al.*, 1975)

## SELECTIVIDAD DE LA MEMBRANA

La selectividad para elementos como el K y Na varia ampliamente entre especies, entre órganos, tejidos y células lo mismo que en el plasmalemma y el tonoplasto (Jeschke y Nassery, 1981; Jeschke, 1984). Cabe añadir, sin embargo, que existen resultados finales con valores altos de relaciones iónicas (K-Na, por ejemplo) en citoplasmas de tejidos de raíz como del vástago. La selectividad se percibe por.

- a) Competencia K/Na durante el consumo, en el plasmalemma
- b) Bombas (de K, para consumo, de Na para eflujo)
- c) Sistema de reversa en el tonoplasto que transfiere Na del citoplasma hacia la vacúola, mientras que K vacuolar es intercambiado por Na citoplásmico (Jeschke y Nassery, 1981)
- d) poros de muchas membranas (Tyerman y Schachtman, 1992)

La energía metabólica esta directamente involucrada en los procesos de consumo, pero es también esencial para la habilidad celular, mantener un metabolismo iónico

selectivo. Los sitios selectivos se postula, se ubican en la membrana (para mantener su selectividad ó para operar el mecanismo de transporte metabólico) o más allá de la membrana (controlar el mismo mecanismo de transporte ó para crear potenciales eléctricos celulares (Waisel, 1972; Pantoja *et al.*, 1989; Cheeseman, 1988).

La selección iónica durante su entrada a la raíz y al resto de la planta, se logra mediante tres membranas. (Jeschke, 1984) ; el plasmalemma de las células corticales de la raíz, el tonoplasto de células de raíz y el vástago, y el plasmalemma del parénquima xilemático (esquema 1.). De estos sitios, se distinguen 5 posibles mecanismos relacionadas con la selectividad de  $K/Na$  : **a)** selectividad durante el flujo al interior. **b)** Intercambio  $K^+/Na^+$  en el plasmalemma cortical de la raíz. **c)** Selectividad por canalización de  $Na$  a la vacúola e intercambio  $Na^+-K^+$  a lo largo del tonoplasto. **d)** Selectividad durante la liberación de  $K^+$  y  $Na^+$  a los vasos xilemáticos, y **e)** Reabsorción selectiva del  $Na^+$  de la savia xilemática. (Jeschke, 1984). La relación preferencial entre  $K^+/Na^+$  ya ha sido revisada por Rains, (1972), Flowers *et al.*, (1977), y Greenway y Munns (1980). En la medida que el medio presenta concentraciones mayores de  $Na$  y  $Mg$  que de  $K$  y  $Ca$ , altos valores iónicos pueden desajustar la selectividad de las membranas de la raíz, lo cual puede provocar una acumulación pasiva de  $Na$  no solo en la raíz sino también en el vástago (Kramer, 1977. en Bohra y Doerffling, 1993). La selectividad se ha mencionado en relación a la frecuencia y tamaño de los poros pasajeros, (Hall.Baker, 1977: en, Yeo. 1983 ) y a su estructura física (lípidos y ácidos grasos), y configuración de las membranas

#### *Canales iónicos por poros.*

En equilibrio, el flujo de cada ion al interior iguala el eflujo, el cual para todos los iones distintos al  $H^+$ , se esperaría fuese vía canales iónicos de la membrana (Pantoja, *et al.*, 1989). Este es un transporte iónico pasivo e independiente de movimientos ya sea de  $H^+$  o de  $K^+$ . Actualmente se reconoce que existen dichos canales iónicos en las membranas vegetales y transportan agua, además de ser esencialmente impermeables a iones. Esto se deduce ya que los flujos de iones  $Na$  al interior y exterior de las raíces, no responden a modificaciones de bombas de  $H^+$  del plasmalemma, a niveles de energización, o a transporte activo de DCCA y FCCP (Cheeseman 1982. en Cheeseman, 1988). Se asume correctamente que tal propiedad es básica para prevenir excesos del gradiente protónico necesario para la osmorregulación y su transporte ilimitado opera como buffer durante la equilibración con el apoplasto. Su inducción durante etapas tempranas de salinidad complementa la canalización y concentración de osmolitos a la vacúola y por ende a la osmorregulación (Bartels y Nelson, 1994). Adicionalmente, presentan variados grados de especificidad y son ubicuos. Los canales actúan, obviamente, como goteos, y afectan de forma evidente los resultados de los sistemas de transporte activo (Pantoja *et al.*, *op cit*), ya que en última instancia, los gradientes electroquímicos que gobiernan tales flujos pasivos, son establecidos por bombas (Bartels y Nelson, *op cit*).

Blatt y Thiel (1993) refieren que el control de los canales es hormonal, particularmente por el ácido abscísico (ABA), y que el mejor ejemplo se observa en la acción de esta sustancia en las células guarda de los estomas de las plantas superiores. Estos mismos autores, citando a Raschke (1987), indican que éste ha enfatizado la interacción de ABA con ATPasas -  $H^+$ . Agregan que esta hormona controla los flujos de iones cuando menos a través de cuatro tipos

de canales iónicos y el control de la ATPasa -  $H^+$  es solo un fragmento de un proceso general en el que son evidentes dos señales de cascada: una por la concentración interna de Ca, y la segunda mediante un intermediario de pH citoplásmico, y que ambas señales deben tener un antecedente común. Existe evidencia de que ABA actúa desde el exterior celular (Hartung, 1983. en Blatt y Thiel, 1993), posiblemente unido a una proteína integral de membrana, o mediante un centro de control membranal en el cual los canales iónicos sensibles al calcio serían claves (Pickard y Ding, 1993). Estos canales -mecanosensibles- sirven no solo para detectar tensiones mecánicas si no también, variados estímulos eléctricos, térmicos, y químicos (Pickard y Ding, 1993).

Observaciones recientes de ABA apuntan hacia la regulación de la ATPasa -  $H^+$  mediante indicios de cascada por una fosfolipasa tipo A, producción de lisofosfolípidos, y su efecto en la actividad de una proteína cinasa de membrana (Yre y Scherer, 1991. en Blatt y Thiel, 1993).

Los canales funcionan en tres formas fisiológicas (Tyerman y Schachtman, 1992); a) para acomodar osmóticamente flujos importantes en períodos cortos, b) para propagar señales a lo largo ó a través de la membrana, y c) para controlar los potenciales de membrana, tal vez para mantener gradientes electroquímicos constantes (Pantoja et al., 1989; Tyerman y Schachtman 1992). Una propiedad funcional de dichos canales es importante para la nutrición mineral vegetal, es la selectividad, de común, aniónica o catiónica. En la selectividad se han detectado variaciones en el grado de dicha capacidad entre especies. Algunos canales tienen altas selectividades por iones similares (cationes monovalentes; Schachtman *et al.*, 1989 en Tyerman y Schachtman, *op cit*); aniónica (Terry *et al.*, 1991; Tyerman y Findlay, 1989), o no tener selectividad iónica (Stoeckel y Takeda, 1989 en Tyerman y Schachtman, *op cit*).

Además, se sabe que se localizan externa e internamente a la membrana y que presentan cuando menos dos tipos de canales de voltaje activados por K: aquellos con rectificación externa (O.R), y los de rectificación interna (I.R), (Tyerman y Schachtman, *op cit*). Los canales O.R., presentes en la mayoría de las células vegetales, se caracterizan por activarse a un  $V_m$  despolarizado bajo cuyas circunstancias se produce un flujo catiónico al exterior (normalmente de K) celular (Fairly, *et al.*, 1991). En células corticales de raíz, existen de varios tipos, de acuerdo a su selectividad catiónica y se piensa puedan ser también atajos moleculares para la entrada de Na a la célula en condiciones salinas (Tyerman y Schachtman, *op cit*).

Los canales I.R., se han reportado para muchas células de plantas. Conducen cationes al interior celular y son activados por  $V_m$  negativos del potencial reverso del canal en presencia de bajas concentraciones de Ca (Schroeder y Hagiwara, 1989). Este sistema funciona, se hipotetiza, en el consumo de K cuando el potencial de membrana esta hiperpolarizado por el funcionamiento de una bomba de protones. Hurkman (1992), señala que ya se ha determinado las propiedades funcionales como selectividad, propiedades cinéticas, y sensibilidad a inhibidores de voltaje en cuando menos una clase de proteínas de canales iónicos. Blumwald (1987), postula que en halofita, una baja conductancia de los canales a potenciales positivos prevendría una pérdida significativa del Na acumulado en la vacuola por la operación de antiportes  $Na^+/H^+$

### *Selectividad por configuración*

Se piensa que la configuración debe estar relacionada con la resistencia salina de las plantas, ya que el micostatin (sustancia que reacciona con esteroides), induce eflujos de K de hojas de frijol, organismo sensible a la sal, pero no de betabel, saltolerante (Kuiper, 1984). Por cualquier alteración de la membrana, principalmente en su configuración, se producirán cambios en su permeabilidad y mucho goteo pasivo con lo que la entrada de iones al vegetal excederá las necesidades del ajuste osmótico y habrá toxicidad directa por interferencia metabólica y afectación del desarrollo. En cambio, si la membrana presenta permeabilidad suficiente y sin goteo, el ajuste osmótico dependerá de síntesis orgánica o de transportación iónica con influencia metabólica y muy ligado a tasas de crecimiento (Yeo, 1983).

### *Pérdida de la selectividad de la membrana.*

La función selectiva se puede alterar por shock osmótico del exceso salino, por interacciones iónicas, y por alteración de la homeostásis del Ca. Su modificación produce flujo no regulado y alto, existe indiferencia iónica en ambos aspectos, y se interfiere con el balance de solutos (Shannon, 1984).

### *Exceso salino*

Se ha establecido que la sal causa lesiones que provocan goteo en las membranas, y que existe una especificidad salina en el daño a la membrana (Leopold y Willing, 1984). Los datos señalan que sales de iones monovalentes y divalentes pueden causar tal avería. Por ejemplo, se observó que el mayor goteo lo produjo la exposición a  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , con daños menores por cloruros de Na, K y Li. Entre los iones divalentes, el  $\text{MgCl}_2$  indujo solo un ligero goteo en tanto que el  $\text{CaCl}_2$  prácticamente no causo nada. La comparación entre cloruros y sulfatos ( $\text{NaSO}_4$ , y  $\text{MgSO}_4$ ) indica que los primeros son más dañinos que los segundos. Como conclusión se esgrime que existe una pequeña pero significativa diferencia entre las tasas de goteo provocadas por iones monovalentes y muy acentuada entre estos y los divalentes, así como entre aniones también.

### COMPETENCIA IONICA.

La absorción de un ion particular puede verse afectada por la presencia de otro en el medio. Existe un cierto número de casos en los que se presenta competición entre iones similares tales como Na, K. Ya hay suficiente información que muestra que el Na interfiere con el flujo del K al interior de la raíz (Rains y Epstein 1967, Lynch y Lauchli, 1984; Jeschke, 1983; Berezi *et al.*, 1982), disminuye su concentración en la savia xilemática (Munns y Termaat, 1986), en las partes aéreas (Jeschke y Wolf, 1985), en el crecimiento de la lamina foliar (Yeo *et al.*, 1991), y tejidos con crecimiento muy activo (Rogers y Noble, 1992). El K es esencial para el crecimiento vegetal caso contrario con el Na. Sin embargo, se sabe de su influencia benéfica de este último para algunas especies halófilas y de fotosíntesis  $\text{C}_4$ , y puede reemplazar en cierta medida al K (Jennings, 1968, Tarik *et al.*, *op cit*, Reimann y Breckle, 1993). También se conoce que la concentración relativamente alta de fósforo disminuye el

contenido de calcio y magnesio (Howeler, 1983) La presencia de NaCl en la solución inhibe la absorción de K, Ca, Pi, NO<sub>3</sub> y el crecimiento (Klobus et al., 1988; Munns y Termaat 1986), el aluminio interfiere el consumo de NO<sub>3</sub> en maíz (Durieux *et al.*, 1993) y con el consumo de calcio en protoplastos de *Amaranthus* (Rengel y Elliot, 1992). El antagonismo entre sodio y calcio también ya ha sido documentado. Stassar *et al.*, (1981), reportan que el Na disminuyo la adsorción del Ca mediante competencia directa por los mismos sitios de unión en células aisladas de raíces, mientras que Devitt *et al.*, (1984) describen el efecto del antagonismo por dichos cationes sobre el crecimiento de sorgo. Otras investigaciones sobre esta competencia han sido las de Greenway y Munns, (1980) y Cramer *et al.*, (1985), Cramer *et al.*, 1986 y de Cramer *et al.*, 1987. Sutcliffe y Baker (1979) refieren el efecto del calcio sobre la absorción del sodio y el potasio; la absorción de estos iones se facilita en presencia de cantidades crecientes de calcio, hasta una cierta concentración, pero decrece si el nivel de calcio es excesivo. Se acepta, por lo general, que mucha de la competencia iónica que existe se realiza en los sitios de absorción y transportación de la planta (en Chapin, 1980) y que la interferencia esta influenciado por su relación de tiempo y concentración (Tarik y Ouda, 1972).

LaHaye y Epstein (1969. en Cramer et al., 1985), Jeschke y Nassery (1981) postularon que las interacciones de algunos iones como Ca<sup>++</sup>/Na<sup>+</sup> se realizan en el plasmalemma; sugiriendo, además, que el Na<sup>+</sup> debilitaba la membrana al desplazar en uno o más puentes divalentes al Ca<sup>++</sup> u otro ion divalente, hecho que aumentaba la permeabilidad de la membrana y las concentraciones intracelulares de Na<sup>+</sup>. El desplazamiento sería en sitios que requieren iones en estado hidratado, moléculas cargadas negativamente como fosfolípidos u otros grupos. Además, la repulsión es específica para Na y puede estar ocurriendo en principio en la superficie externa del plasmalemma o apoplasto la sustitución del Ca del plasmalemma, ocasiona una pérdida de la integridad de la membrana y un eflujo de K citosólico (Cramer *et al.*, 1985). La alta relación de Na/Ca de iones adsorbidos al lado apoplástico de la membrana plasmática podrían desajustar las interacciones iónicas entre los constituyentes de la pared celular como la pectina y extensina y cambiaría instantáneamente la estructura, función y fisiología de la membrana (Rengel, 1992), y afectaría la homeostásis celular del Ca. Particularmente, el desequilibrio de la homeostásis del Ca, se sugiere dispara una gama de efectos relacionados con la salinidad: en el jitomate (Pantoja et al., 1989; Cramer y Bowman, 1991) induce cambios electrostáticos negativos en la membrana plasmática, causando valores más negativos en los potenciales de la superficie (Suhayda *et al.*, 1990. En Cramer y Bowman 1991.) y cuya consecuencia es una menor atracción de cationes por la membrana plasmática. Mantener una buena relación de selectividad iónica entre elementos es fundamental para la tolerancia a la salinidad. La de Na / K ya ha sido mostrada en el algodón (Cramer *et al.*, 1986). En relación con el tema podemos referirnos también al efecto de las variaciones de pH sobre la absorción y concentración iónica en el tejido vegetal

### *Homeostásis del Ca*

Se sabe que el efecto nocivo de NaCl a la membrana puede ser mitigado por el Ca (Leopold y Willing, *op.cit.*) La acción mitigadora puede deberse, parcialmente, a mantener la función e integridad de la membrana plasmática en raíces y vástagos (Lauchli y Schubert, 1989). A pH bajos, la absorción de Ca tiene efectos benéficos sobre la tolerancia a la sal por parte de muchas plantas (Leco y Flowers, 1985). Mejora sustancialmente tanto el crecimiento

como el consumo iónico, sugiriendo que el Ca podría mitigar los efectos nocivos del H<sup>+</sup> (Zsuldos y Erdei, 1981). Sin embargo, este beneficio no se observa en todas (Yeo y Flowers, 1985).

Se ha demostrado que el Ca<sup>++</sup> es esencial para la selectividad de K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, (y por ende su proporción) de la membrana y de su integridad (Epstein, 1961. En Cramer et al., 1985). Concentraciones altas de Ca<sup>++</sup> en la solución de cultivo, mitigaron los efectos adversos de NaCl en plantas de frijol por inhibición de consumo de Na<sup>+</sup> (Greenway y Munns, 1980; Cramer et al., 1985), en algodón (Cramer et al., 1986), y la reducción de la fuga de la membrana (Leopold y Willing, 1984; Pritchard et al., 1991) La homeostásis celular del Ca se puede afectar por:

- a) Cambios en la fluidez de la membrana plasmática, en general
- b) Por afectación de los canales de translocación del Ca
- c) Por alteración de las bombas de ATPasas de Ca
- d) Por efecto directo de interacción de Na y Ca en los sitios intracelulares por un consumo muy acelerado de Na a través de la membrana plasmática (Lynch y Lauchli, 1988 y Lynch et al., 1988b). Estos mismos autores, le dan más apoyo a la posibilidad de los efectos directos del Na sobre el sistema de transporte del Ca tanto en la membrana plasmática como de las endomembranas.

## CRECIMIENTO EN CONDICIONES SALINAS

Las consecuencias de la salinidad del medio sobre el crecimiento, son bien conocidas. Lo que es menos conocido es la causa de cualquier efecto en el desarrollo, y todavía menos conocidos son los eventos iniciales de la eventual patología. Se sabe que a altas salinidades, el crecimiento es limitado posiblemente no por un simple factor sino por una serie de variables (Shannon, 1984, Flowers, 1985). Mucha de la investigación al respecto, se ha concentrado en aspectos de: relaciones hídricas, fotosíntesis, o la acumulación de un metabolito particular, suponiendo que uno o más de estos procesos limitaría el crecimiento en tales condiciones. Proposiciones sintetizadas son que el crecimiento vegetal es limitado por turgencia reducida, reducción de fotosíntesis, o el cambio de tasa de otro proceso metabólico importante (Munns, 1993).

De acuerdo con Ingestad y Agren (1995), todas las variables limitantes, mencionadas en tales investigaciones, pueden ser agrupadas como factores del flujo de masa (tasas de consumo, adición relativa de carbón o nutrientes minerales, en relación al tamaño y requerimientos del individuo), que influyen la tasa relativa de crecimiento; o bien por factores que interfieren el flujo de masa (genoma, recursos no elementales como el agua o la luz, además de la temperatura). Adicionalmente, Rastetter y Shaver (1992 en Ingestad y Agren, 1995), distinguen de los recursos elementales, los de reaporte limitado y los de concentración limitada. En los primeros, la disponibilidad de la fuente depende de la tasa a la cual se esta creando su disponibilidad, en tanto que los segundos, su accesibilidad se relaciona con la capacidad de la planta para contactarse con la fuente.

## Factores reguladores del crecimiento

### *Turgencia*

Conviene subrayar que el crecimiento celular longitudinal, la base de la extensión radical, se piensa que es gobernado por la presión de turgencia ( $P$ ), reología de la pared (la producción umbral, y la extensibilidad o elasticidad de la pared), y la conductividad hidráulica del camino del agua a la célula en crecimiento (Cosgrove, 1987; Pritchard *et al.*, 1991; Neumann *et al.*, 1994; Neumann, 1995). Por otra parte, Se sabe que, el estrés osmótico reduce la tasa de crecimiento de la raíz y altera los perfiles tanto de la tasa de crecimiento como la presión de turgencia a lo largo de la zona de crecimiento. (Berstein *et al.*, 1995). También, existe la creencia de que, en medios con bajos potenciales hídricos, la turgencia regula la conductancia estomatal y la expansión celular, y en consecuencia, el desarrollo de la planta (Robinson, *et al.*, 1983; Seemann y Critchley, 1985). Sánchez y González (1992), piensan que los cambios fisio-morfológicos inducidos por la sal a nivel de la vacuola, deben de considerarse en relación al crecimiento celular ya que esta organela celular es responsable de cualquier aumento de volumen celular. En su estudio, encontraron que hubo cambios en el tamaño, no solo de la célula sino también de la vacuola a concentraciones altas de NaCl, sí bien, el número de vacuolas no cambio.

Yeo *et al.*, (1991), señalan que el ajuste osmótico restauraría el gradiente de potencial hídrico entre las vacuolas de las células de la zona en crecimiento y el medio externo, así que la turgencia de nuevo excede el umbral de producción y se retoma el crecimiento. Para la regulación de apertura-cierre estomático. el flujo de K esta muy involucrado Sin embargo, en *Aster tripolium*, se observó que existe una supresión del la apertura estomatal en respuesta a aumentos de NaCl (Perera *et al.*, 1994). *A. tripolium* no posee glándulas salinas u otro mecanismo excretor, por lo que estos autores sugieren que cuando la capacidad de acumulación de las vacuolas se excede, la concentración de NaCl en el apoplasto alrededor de las células guarda comienza a crecer, lo cual provoca el cierre parcial del estoma, reduce la transpiración, e incrementa la eficiencia del uso del agua. Así, el flujo salino a las hojas disminuye pero el crecimiento, y la formación de los nuevos fotosintatos necesarios puede continuar.

Cabe añadir que en dichas observaciones, la reducción del crecimiento siempre fue mayor que la fotosíntesis. Hasta el momento, no existe evidencia concluyente de que el ajuste osmótico tenga algún efecto en estos procesos. Más bien, los cambios de frecuencia estomatal son una consecuencia del aumento de la succulencia. Ya hay evidencia de esto. (Kemp y Cunningham, 1981, en Flowers, 1985)

Más aún, la turgencia en hojas expandidas de plantas salinizadas no siempre es reducida. A veces, es más disminuida que aquellas de las control (Munns 1993), pero frecuentemente, la turgencia es semejante o superior a las últimas. Adicionalmente, el desarrollo foliar de plantas en salinización es reducido mucho antes de que las sales se acumulen hasta niveles tóxicos (Munns y Sharp, 1993). además, la turgencia de hojas de variedades halosensibles es generalmente mayor que sus parientes halotolerantes. Esto se debe, presumiblemente, a las poco eficientes tasas de exclusión de sales en las raíces de las

primeras ya que la concentración de sales en ellas siempre es mayor que la de las tolerantes (Munns, 1993).

Cabe resaltar que en ciertas investigaciones se detecta que se presentan cambios instantáneos y dramáticos en la expansión foliar como respuesta a variaciones repentinas en la turgencia sí bien parece existen, los que son producto de modificaciones repentinas en los potenciales hídricos del medio radicular a) y los debidos a alteraciones de humedad atmosférica en el vástago, b) (Munns, 1993).

a) El primer tipo, induce dos tipos de respuesta en la turgencia de la raíz y de la lamina foliar, dependiendo de sí se expone a las raíces del organismo a soluciones con NaCl u osmóticas no iónicas, ó cuando lo son a soluciones con altos potenciales hídricos. En la primera, el esquema de hojas en estrés salino bajo se caracteriza por un cese abrupto en la elongación del crecimiento, una etapa de cero crecimiento, una abrupta recuperación del crecimiento a una tasa estacionaria reducida, y una recuperación gradual de la velocidad de elongación original (Yeo *et al.*, 1991). La variación es grande y pasajera ya que se completa entre 15-20 min. (Cramer y Bowman, 1991; Thiel, *et al.*, 1988; Yeo *et al.*, 1991). Estos últimos, encontraron que el decremento en la velocidad de crecimiento, en hojas de cebada, fue proporcional a la concentración externa de NaCl en el rango de 40-120 mM y que la recuperación fue gradual más que abrupta. Esto sugiere, según ellos, que la elasticidad de la pared celular en la cebada, es muy importante al respecto.

Ocurre lo contrario en las plantas que tienen contacto con soluciones con altos potenciales hídricos. En ellas se da un aumento enorme y efímero en la tasa de expansión la cual retorna a una nueva velocidad estacionaria (Munns, 1993).

b) Los cambios debidos a alteraciones de humedad producen una modificación brusca en la expansión con un retorno a la velocidad original, en tanto que la turgencia permanece en su nueva tasa. Este comportamiento también se observa cuando se presuriza las raíces (Passioura y Fry, 1992). La modificación es en la turgencia de la hoja pero no de las raíces (Munns, 1993). parece ser que el efecto pasajero en el crecimiento foliar se debe a una modificación en la turgencia de la hoja, y la velocidad estacionaria de crecimiento es independiente de aquella. Dicha velocidad es alterada solo por tratamientos que modifican el estado hídrico del sustrato.

Estas observaciones indican que la turgencia no controla el crecimiento. Obviamente, la turgencia es esencial para el crecimiento; sin ella, no habría fuerza de expansión de la pared celular y no crecería. Pero, la tasa de expansión de la pared es controlada por las propiedades reológicas de la misma pared (Cosgrove, 1987), ya descrito como procesos de "reblandamiento de la pared" y "endurecimiento excesivo ó deformación por endurecimiento" (Green *et al.*, 1971 en Munns, 1993; Neuman *et al.*, 1994), y no directamente por la turgencia. De acuerdo con Neumann (1995), el endurecimiento ocurre en raíces, tallo y tejido foliar en expansión de una amplia variedad de plantas superiores en respuesta a déficits hídricos, además de, al parecer, contribuir a mantener una producción más duradera de la turgencia de células maduras más pequeñas. Concluye señalando que el endurecimiento puede actuar como mecanismo de adaptación que prolonga la sobrevivencia de plantas individuales limitando el aumento de área foliar, y en consecuencia, la pérdida de agua transpiracional en ambientes y momentos terminales de sequía o déficit hídrico

Es comúnmente aceptado, que el crecimiento de la raíz a bajos potenciales hídricos es ventajoso para la planta (O' Toole y Bland, 1988, en Pritchard et al., 1991). Varios reportes señalan que las propiedades de la pared celular de raíces podrían cambiar en respuesta a un estrés hídrico tanto en el frijol mungo como en la lenteja, e incluso han sugerido, (Hsiao y Jing, 1987) que los cambios en las propiedades reológicas de la pared pueden ser responsables del modelo longitudinal de la tasa de crecimiento, y que deben de variar a lo largo de la zona de crecimiento después de un estrés osmótico. La elasticidad de las células tiene consecuencias importantes para el ajuste osmótico pasivo en la hoja. Lynch et al., (1988b), reportan que la inhibición de la expansión foliar inducida por el estrés salino es regulada por una disminución de la reversibilidad en la extensibilidad de la pared celular. Esto como consecuencia, probablemente, de una alta relación Na/Ca por desajuste en el flujo del Ca de las raíces, aunque, también se han reportado reducciones en la expansión foliar sin disminución de la extensibilidad de la pared celular (Rengel, 1992).

Algunos estudios (Pritchard *et al.*, 1991) han detectado una pérdida de la pared celular de raíces después de un estrés osmótico rápido, caso que no sucede si el estrés es mantenido durante períodos largos. La pérdida de pared celular (ruptura de aporte de Ca a los sitios de unión) como consecuencia de la acidificación, es un prerrequisito para el aumento de la extensibilidad de la pared, y por lo tanto, de la elongación celular (Cleland, 1987). Sin embargo, para Pritchard *et al.*, (1991), no hubo evidencia de pérdida de la pared en la porción apical de la zona del crecimiento, solo hubo endurecimiento de la pared celular en la región proximal de las raíces, la cual se asoció con una disminución en la extensión de la célula madura. Esta parece una respuesta inhibitoria importante a salinización por largo plazo en raíces así como en hojas (Neumann *et al.*, 1994). Shannon (1984), señala que bajo circunstancias muy salinas, aumenta la cantidad de trabajo iónico y osmótico necesario para un mantenimiento celular normal, como consecuencia, existe una menor energía para las necesidades de crecimiento. Gale y Zeroni (1985), complementan que los recursos energéticos que puede gastar un vegetal son agua, minerales y fotosintatos asimilables

Richards (1992), teoriza que los factores que podrían aumentar la eficiencia en el uso del agua en medios salinos son la declinación de la conductancia estomática sin el correspondiente descenso en la capacidad de asimilación, la canalización de los excesos salinos a hojas viejas, un menor crecimiento de la raíz en los tratamientos salinizados que en el control además de un mayor crecimiento de la parte aérea (vástago). Por su parte, Cheeseman (1988), piensa que los efectos salinos dependen claramente de factores externos que incluyen tanto respuestas estomáticas como no estomáticas. Observaciones de Meyer y Boyer (1981) sugieren que las respuestas de crecimiento de las plantas con déficits hídricos son regulados internamente más que ser solo una consecuencia de cambios en el estado hídrico del medio

Para la segunda propuesta, los argumentos mostrados tienden hacia dos líneas; a) la salinidad afecta el proceso fotosintético por cambios de otros procesos interactuantes, o b). por daño a las estructuras u organelas que lo realizan, o muerte celular.

a) El primer aspecto se relaciona con cambios en los aportes (escasos o excesivos) que producirán desequilibrio en la fotosíntesis, globalmente, o en etapas particulares. A altas salinidades se ha sugerido que la inhibición del crecimiento es debido a una disminución en la

fotosíntesis. Esta creencia se fundamenta en observaciones de plantas salinizadas en las cuales se redujo la fotosíntesis. Al respecto, Schwarz y Gale (1981), detectaron reducción de la fotosíntesis por resistencia estomática y argumentaron que la fijación fotosintética reducida fue la causa mayor de la disminución de la tasa neta de asimilación del cardo, *Xanthium* sp (Compositae). Por otra parte, *Suaeda* sp (Chenopodiaceae), especie halofila, mostró cambios muy ligeros en su resistencia estomatal y de hecho aumento su fotosíntesis ante ciertos aumentos de salinidad (Abdulrahman y Williams, 1981. en Yeo, 1983) Las diferencias pueden deberse a las distintas habilidades para mantener las relaciones hídricas y que esto influya al cambiar el balance y adquisición del carbono y afecte, reduciendo el crecimiento. Cabe señalar sin embargo, que en tales estudios, el crecimiento se afectó antes que la fotosíntesis (Munns, 1993). Contrariamente a la reducción, Percy y Ustín, (1984) demostraron que a salinidades moderadas, un grupo de halofita del área de la bahía de San Francisco aumentaban su capacidad fotosintética, con poco o mínimo cambio de la fijación neta. Las respuestas de crecimiento general, no obstante, fueron muy diferentes, oscilando desde estimulación hasta reducción severa, reflejo del grado de translocación del carbón de partes de crecimiento aéreas a zonas de desarrollo de raíz.

Sí bien los efectos de la salinidad sobre la fotosíntesis son muy complejos, se creó que la reducción de la fotosíntesis en plantas en estrés salino resulta de una combinación de factores que incluyen resistencia estomatal y del mesofilo así como disminución del área foliar total, y reducción de la tasa de respiración (Robinson *et al.*, 1983). El transporte floemático es importante en relación a la salinidad en dos momentos de desarrollo de la hoja: para el suministro de solutos a tejido joven y en crecimiento (nutrición a meristemas), y para la retranslocación de metabolitos útiles de hojas senescentes a aquellos en desarrollo. Esto ha dado margen a hipotetizar que en condiciones salinas, el crecimiento y el balance energético general de la planta se podría afectar por factores que acentúan la cantidad de carbohidratos demandada como, aumento en la contribución de flujos desviados en la membrana por concentraciones salinas externas altas, transportadores funcionando a tasas de saturación; y ajuste osmótico vacuolar con solutos orgánicos que antagonizan con el crecimiento por suministro de carbohidratos (Yeo, 1983)

Todos estos aspectos (pueden estar operando simultáneamente) son exacerbados por una tasa de crecimiento restringido. Los dos primeros puntos se pueden presentar por la selectividad inapropiada de los transportadores y/o a la dominancia de iones no específicos e independientes de transportador. En tanto que, el ajuste osmótico bajo tales circunstancias sucedería sí las vacúolas se ajustaran con solutos orgánicos pero a una demanda menor en el caso de citosolutos compatibles (Yeo, 1983). Lo que más comúnmente se ha observado es que las concentraciones de azúcar (y reservas de polisacáridos) siempre se elevan, después de que las plantas son expuestas a salinidad, en tejidos en crecimiento y en maduros (Doddema *et al.*, 1986; Munns *et al.*, 1982. en Munns, 1993) o en callos adaptados a salinidad (Olmos y Hellin, 1996). A primera vista, parecería que tales organismos no están carentes de carbohidratos y que el aporte de carbón no es limitante para su desarrollo, si bien se sabe que el enriquecimiento con CO<sub>2</sub> puede mejorar las tasas de crecimiento (Schwarz y Gale, 1984). Al respecto, Galloway y Davison (1993), comentan que esto significa problemas con el uso más que con el suministro, y añaden que la misma respuesta se observa en condiciones de hipoxia. Ellos concluyen que estos efectos son similares para glicofita, aunque en éstas ocurren a altas salinidades.

Munns y Termaat, (1986), esgrimen que el crecimiento del vástago no fue inhibido por la ausencia de sustrato. Neumann *et al.*, (1994). al respecto creen que los carbohidratos no estaban metabólicamente disponibles para la síntesis de polímeros de la pared y su extensión. Todo lo anterior es consistente con un bloqueo en la utilización de azúcar en los tejidos en desarrollo y una subsiguiente reconcentración en el resto de la planta (Munns, 1993). La paradoja, de acuerdo con este autor podría explicarse si la inhibición del uso del azúcar fuera de alguna forma contrarrestada, impulsando las altas cantidades inhibitorias de azúcar a los tejidos en desarrollo (alta cantidad de CO<sub>2</sub> contrarrestaría la inhibición, por retroalimentación de mucha sacarosa, en la tasa de fotosíntesis, el aumento en la velocidad de aporte de sacarosa al tejido en crecimiento, y así, el aumento de la concentración allí) Es necesario puntualizar, que el desarrollo y su conexión con la fotosíntesis se han relacionado con periodos; cortos, o, periodos largos de exposición salina .

Las plantas expuestas a períodos breves no parecen sufrir mucha reducción de la fotosíntesis, a juzgar por la acumulación de los fotosintatos en la planta (Doddema *et al.* Op cit; Munns, 1993). Situación distinta se presenta después de períodos prolongados de exposición a la salinidad. Entonces, los niveles de reserva de carbohidratos pueden llegar a ser bajos, particularmente en vástagos de especies perennes (Howie y Lloyd, 89. en Munns, 1993). Esto produce una muy clara distinción entre efectos iniciales por baja salinización de lapsos salinos cortos que son reversibles, y aquellos por períodos largos que resultan de la acumulación de sal en hojas expandidas, los cuales son catastróficos (Yeo *et al.*, 1991). Se argumenta que los efectos iniciales se deben a un suministro menor de agua a la zona de crecimiento, en tanto que los de largo plazo son consecuencia de un consumo iónico excesivo (Yeo *et al.*, 1991). Al respecto, Hurkman (1992) añade que las respuestas dependen no solo de la concentración de sal y tiempo de exposición sino también de tipo de sal, presencia de otros iones, y condiciones ambientales como luz y temperatura. Además, las repuestas están también en función de la edad de desarrollo del individuo, del balance hormonal y ritmos diarios. Haddad y Coudret (1991); señalan que el grado de tolerancia varía entre los genotipos, y que el régimen hídrico de plantas tolerantes al NaCl no sería modificado como el de las plantas sensibles.

Por otra parte, los efectos a largo plazo de toxicidad salina por acumulación excesiva de sal en hojas en expansión (Flowers *et al.*, 1991; Yeo *et al.*, 1991), pueden no ser efectos tóxicos directos de iones de Na *per se*, sino más bien causados por la reducción de la disponibilidad de Ca en la superficie celular por Na (Lynch *et al.*, 1987)

Estudios recientes (Yeo *et al.*, 1991) muestran que el crecimiento disminuye antes que la fotosíntesis, lo que indica que la salinidad afecta la asimilación del carbón por planta vía una menor área foliar más que una reducción en la tasa de fotosíntesis por lo que se deduce que la salinidad afecta la asimilación del carbón de la planta. El área foliar de esas plantas es posiblemente muy baja por el daño salino (Yeo y Flowers, 1986; Flowers *et al.*, 1991). Por lo tanto, no es sorprendente que la alta concentración de CO<sub>2</sub> mejore el crecimiento de los organismos por grandes periodos de salinidad (Munns 1993).

b) No parece haber suficiente evidencia que sugiera una disminución en la fotosíntesis por sí misma como la causa de la inhibición del crecimiento a altas salinidades. Sin embargo,

Leopold y Willing (1984), mostraron que la salinidad daña las membranas y que esto debe afectar una función de membrana organizada como lo es fotosíntesis, con consecuencias evidentes en el desarrollo. Sugieren que el NaCl altera, particularmente, el componente fotofosforilador del proceso el cual se ubica en la membrana del tilacoide. De manera análoga, la alteración al sistema respiratorio por condiciones salinas puede ser debido a la modificación de las membranas mitocondriales.

Cabe añadir, sin embargo, que existe información reciente que muestra degradación de DNA y nuclear de células meristemáticas de raíz de cebada como respuesta a estrés salino (Katsuhara y kawasaki, 1996), lo cual originaría muerte celular e inhibición de crecimiento.

La tercer proposición subraya que el consumo excesivo de sales al interior celular afecta directamente la producción de metabolitos particulares, como polipéptidos y sustancias de crecimiento, lo que altera el desarrollo. Son solo hipótesis ya que no hay certeza de qué molécula(s) se trate (n), si es una enzima que controla síntesis, o si se localiza(n) en tejido en desarrollo o maduro, lo que implica considerar los distintos estadios de desarrollo, además, de establecer la correlación entre concentración salina y tasa de expansión foliar (Yeo, 1983).

### *Polipéptidos*

Estudios de Flowers y Dalmond, (1992); Hurkman, (1992); Sanada *et al.*, (1992); y Velazco, (1994), demuestran que la salinidad regula los niveles de algunos polipéptidos y RNAm en células de cultivo adaptadas y organismos expuestos a alta salinidad, en varias glicofita facultativas. Dichas biomoléculas aparecen y desaparecen con los tratamientos salinos. Particularmente, se distingue un polipéptido de aproximadamente, 26 kd muy asociado a células de tabaco y jitomate adecuadas a 171 mM de salinidad. Se le bautizó como Osmotina en razón de que se sintetiza y acumula en células que sufren ajuste osmótico gradual, pero no en aquellas expuestas a shock salino. Osmotina se sintetiza inducida no solo por la restricción salina, sino también por déficits hídricos y tratamientos con ABA (Hurkman, 1992). Velazco (*op cit*), en su estudio con el frijol mungo (*Vigna radiata*) señala que la presencia de 100 mM de NaCl en el medio de crecimiento indujo la aparición de tres proteínas foliares y una de raíz, además de un aumento general del amino ácido prolina. También en el frijol mungo y algunas especies halofila, Friedman *et al.*, (1989), detectaron cambios en la biosíntesis y contenido de poliaminas como respuesta a estrés salino

### *Sustancias de crecimiento*

Éxiste poca evidencia definitiva del papel de cualquier hormona en la regulación del crecimiento de la raíz o el vástago en medios con bajos potenciales (Munns y Sharp, 1993). La influencia de las auxinas en el crecimiento y el desarrollo abarca una amplia variación de procesos fisiológicos en plantas superiores que incluyen iniciación de la raíz (enraizamiento), expansión y división celular, dominancia apical, fototropismo y geotropismo (Blatt y Thiel, 1993).

En particular, se hipotetiza que ABA parece tener un papel dual y parcial en la respuesta de crecimiento de plántulas de maíz expuestas a bajos potenciales hídricos. sirve para inhibir el crecimiento y la conductancia estomática (lo cual no afectó la turgencia foliar. Cramer y Bowman, 1991), el desarrollo del vástago y mantener el crecimiento de la raíz (Munns y Sharp, 1993), para alterar la extensibilidad de la pared celular, sin necesariamente modificar la presión de turgencia (Bensen *et al.*, 1988), y de cambiar la selectividad membranal en favor del Na aumentando su cantidad e inhibiendo el consumo de K, y provocar crecimiento foliar reducido (Quarrie y Jones, 1977, en Bensen *et al.*, *op cit.*). También controla la conductividad hídrica de la raíz y de la planta, regulando la transpiración (Ludewig, 1988. en Velazco, 1994) ya que es un potente inhibidor de la apertura estomatal (Kefu *et al.*, 1991), aunque este efecto se dispara por déficits hídricos de hoja y raíz (Munns *et al.*, 1995). Por su parte, Perera *et al.*, (1994), encontraron que se acumulaba en epidermis foliar de *Aster tripolium*, expuesto a salinidad, y que ello ocasionaba un cierre parcial estomático, pero que el ácido indolacético (IAA), contrarrestaba dicho efecto. Los autores concluyen señalando que parece poco probable que el cierre estomático originado por la salinidad pudiera haber sido atribuido a la formación de ABA.

Adicionalmente, se ha observado que plantas individuales responden a tensiones ambientales, cambiando sus balances hormonales, produciendo frecuentemente más ABA y menos citocininas (Chapin, 1991a). El mismo autor sugiere que estos cambios son los disparadores que producen directamente crecimiento reducido en respuesta a dichas restricciones. Además, según Kefu *et al.*, (1991), existe el razonamiento de que ABA esta involucrado en la regulación de la apertura estomática en plantas expuestas a déficits hídricos. La exposición a la salinidad también reduce dicha apertura y provoca la acumulación de ABA. Por otra parte, se ha observado que la tasa de adaptación de células de tabaco se acelera con ABA, misma que induce la síntesis, aunque la acumulación es dependiente de la presencia de NaCl (Hurkman, 1992). Singh *et al.*, (1985, en Hurkman, 1992), encontró que la aplicación exógena de ABA estimuló más síntesis de osmotina en el tallo, que en la raíz u hojas. Los niveles de ácido abscísico en renuevos doblaron su concentración en períodos cortos cuando se incremento la salinidad. Weaver (1982), menciona que ABA, en estrés hídrico, regula la expresión y tipo de proteínas de la pared celular vegetal. Más aún, la auxina induce el aumento de Ca citoplásmico libre y de H<sup>+</sup> (Irving *et al.*, 1992, en Blatt y Thiel, 1993), o bien reduce las actividades de Ca citosólico en raíces de *Arabidopsis thaliana* en presencia de estrés osmótico (Cramer y Jones, 1996), lo que podría presuponer un efecto secundario en la regulación iónica de los canales de membrana. Al respecto cabe señalar que las hormonas tienen un papel muy evidente en ordenar, longitudinal y transversalmente los microtúbulos de las paredes celulares; auxinas y giberelinas promueven su arreglo transversal (Shibaoka, 1991. en Pickard y Ding 1993). Sin embargo, ABA tiene un funcionamiento más complejo. A concentraciones altas tiende a actuar de forma contraria a estas hormonas en el control de la expansión ya que estimula la dilatación y apertura de canales no sensibles al Ca en el plasmalemma de algunas células epidermales (Pickard y Ding, 1993). Pero a niveles bajos, se postula que promovería una apertura limitada de los canales activados por hormonas, elevando los valores de Ca citosólico lo suficiente para inducir un eflujo auxínico y de H<sup>+</sup>, y en virtud de esto, causar expansión celular (Pickard y Ding, 1993)

También, ABA promueve el recambio lipídico del inositol en células guarda (Parmat, 1991. en Blatt y Thiel, 1993), y cuando se libera al citoplasma como 3-fosfoinositol (IP3), induce un aumento inmediato de la concentración de Ca libre en el citosol e inactiva al rectificador interno de K (Blatt y Thiel, 1993).

Igualmente, se tienen evidencias que indican que el ABA interfiere y regula flujos de sales, en el frijol mungo (Velazco, 1994), y de iones en rodajas de betabel. Munns y Sharp (1993), acotan que la mayoría de tales observaciones provienen de experimentos de corta duración y cuyos resultados sugieren que ABA ejerce su efecto principal en la expansión más que en la producción celular. Sin embargo, en ensayos de larga duración en condiciones de bajos potenciales hídricos, esta claro que la expansión celular por si sola no puede explicar la reducción foliar en medios salinos (Munns y Termaat, 1986). Por otra parte, Bensen *et al.*, (1988) basados en sus resultados, indican que el contenido de ABA no es el único factor para mantener inhibidas las tasas de crecimiento que resultan de déficits hídricos. Añaden, que existen cambios a otros elementos, posiblemente otros reguladores de crecimiento. Estos, pueden potencialmente actuar afectando la presión de turgencia ó la extensibilidad de la pared celular promoviendo un crecimiento aumentado o disminuido. De hecho, las auxinas, las giberelinas, citocininas, etileno y ABA, todos han mostrado ser capaces de afectar la extensibilidad de la pared celular (Cleland, 1986, en Bensen *et al.*, 1988).

Acerca de otras hormonas, se tiene información de los cambios que sufren las citocininas en restricción hídrica y salina. Por ejemplo, Bano *et al.*, (1993), observaron disminución de Zeatina en la savia xilemática de arroz durante el estrés hídrico. Mientras tanto, Kuiper (1990), encontró alteración del crecimiento por estrés salino, mediante la reducción de biosíntesis de citocininas. Añade, que el estrés redujo la biosíntesis de citocininas, mientras que plantas tratadas con cinetina antes del estrés salino, menguaron la inhibición del crecimiento relacionado con la salinidad. La concentración de estas hormonas es importante ya que ellas son las encargadas de provocar la división celular, estimulan la síntesis de proteínas y retrasan el envejecimiento de las hojas (Weaver, 1982).

### *Concentración*

Es poco probable que un solo factor nutricional pueda ser la causa exclusiva de reducción del crecimiento, por restricción salina. La distribución espacial de la disminución, puede ser un bien integrado resultado de varios factores actuando uniforme o no uniformemente a lo largo del perfil de desarrollo (Berstein *et al.*, 1995), y de la afectación del meristemo apical (Katsuhara y kawasaki, 1996). Bajo condiciones salinas, el decremento proviene de una tasa menor de transpiración, acoplada con consumo iónico reducido por las raíces, o carga xilemática disminuida, resultando en un aporte pobre por la vía xilemática. Es factible, por lo tanto, que un aporte inadecuado de iones a la zona en expansión, pueda limitar la división celular y/o en expansión cuando se expone a las plantas a altos niveles de NaCl. La salinidad de hecho, se ha demostrado que perturba la concentración nutrimental de K (Jeschke y Wolf, 1985), y el Ca (Lazof y Lauchli, 1991), entre otros. Dichas observaciones muestran que las concentraciones de K disminuyen hasta casi la mitad de los valores del control crecidas en salinidad (Berstein *et al.*, 1995). Los autores confirman que la tasa de depositación del K, es notablemente disminuida en el área de elongación, lo que sugiere una inhibición por

disminución progresiva de K. Complementan que K, Ca, Mg, y Na muestran patrones de distribución espacial muy distintivos en la zona de crecimiento foliar que cambian por exposición al estrés salino. También observan que los mayores contenidos de Ca y Mg en la hoja son cerca del punto axilar y declinan drásticamente con la distancia, en tanto que el Na es retenido basalmente y excluido del tejido más maduro. Según ellos, su trabajo confirma la sugerencia de que los modelos de distribución espacial de nutrientes en esas zonas son alterados en condiciones salinas y esto es de importancia en la inhibición del crecimiento.

Munns *et al.*, 1988 (en Munns, 1993), en cebada crecida a dos niveles de salinidad en estudios de larga duración mostraron valores de Na y Cl muy similares en ambos ensayos en el tejido en crecimiento a velocidades de crecimiento muy distintas. Esto significa que no existe correlación entre la tasa de expansión foliar y la concentración de sal en el tejido en crecimiento, comportamiento también así observable en arroz (Yeo *et al.*, 1991). Yeo (1983), señala que el estado estacionario del contenido de Na y Cl de las hojas de varias especies, expresado por unidad de peso, parece ser relativamente constante sobre concentraciones externas de NaCl mayores. Rogers y Noble (1992), en variedades de trébol, *Trifolium repens*, observaron que las concentraciones de Cl fueron menores en tejido en desarrollo y maduro que en tejido viejo y peciolo de la hoja. También detectaron que si bien no hubo diferencias significativas en las tasas fotosintéticas entre las líneas, la producción del vástago y las velocidades relativas de expansión foliar fueron mayores en las poblaciones con menor contenido de Cl en el medio. Concluyen señalando que la exclusión de Na y Cl del tejido en crecimiento activo, es un mecanismo de resistencia salina muy común en especies halosensibles. También, es necesario añadir que la concentración salina afecta notablemente actividades de enzimas dependientes de distintos compuestos de nitrógeno (Lamaze *et al.*, 1987; Ohta *et al.*, 1988; Krishna y Gnanam, 1990; Leidi *et al.*, 1991), elemento de importancia capital en la nutrición del vegetal

En general, enzimas y procesos metabólicos como la síntesis proteica (en glicofita y halofita), tienen un rango relativamente estrecho de composición y concentración iónica para los cuales muestran, - in vitro-, actividad óptima (Flowers, *et al.*, 1977; Greenway y Munns, 1980; Horovits y Waisel, 1970). Las primeras, por definición, satisfacen estos requerimientos a bajas concentraciones iónicas (Yeo, 1983). Lynch *et al.*, (1988b), creen que la inhibición de la expansión foliar inducida por el estrés salino se encuentra que es regulada por una disminución en la extensibilidad irreversible de la pared celular de la hoja probablemente como consecuencia de una alta relación Na/Ca por el desajuste en el transporte del Ca de las raíces.

## PANORAMA

Como se observa, la reducción del desarrollo puede resultar no por un simple factor sino de la combinación de una serie de variables que incluyen incapacidad de transporte, desbalance en el consumo de nutrientes (K, Pi etc.), limitaciones en la translocación de K hacia los ápices en crecimiento, y excesiva acumulación iónica en las paredes de las hojas, lo cual reduce la turgencia y por ende el crecimiento (Flowers, 1985) Así, tan pronto como las raíces se encuentran con sales, son enviadas por todo el vástago, y se comienzan a concentrar en las hojas (es más probable que se alcancen cantidades tóxicas en hojas maduras). Las sales son canalizadas a vacúolas y esto es un rasgo importante de tolerancia salina. Saturada la

vacuola, y si la hoja continúa transpirando, entonces las sales se acumulan en el citoplasma o en la pared celular. Oertli (1968, en Flowers *et al.*, 1991), señala que es muy posible que el NaCl se pueda acumular hasta cantidades significativas en la pared. Su idea, más tarde desarrollada por otros, señala que las sales xilemáticas que arriban a la hoja, se mueven por el mesofilo vía el apoplasto, y que cuando se llenan las vacúolas celulares del mesofilo, el consumo a través del plasmalemma se satura, y que las sales que arriban posteriormente se juntan en las paredes de las células. Ya existe evidencia experimental reciente de la hipótesis Oertli, por estos autores,. Sin embargo, Canny (1990), complementa que el flujo transpiracional y de solutos no es continuo en el apoplasto del mesofilo y el simplasto (fluye restringido por las lamelas suberizadas en las paredes de las células que rodean los manojos vasculares lo cual previene el flujo de agua por el apoplasto y crean un tipo de endodermis). En tal caso, la sal puede todavía aumentar en las paredes más que en el citoplasma cuando se llenan las vacúolas, ya que el exceso salino puede ser revertido al exterior. Las consecuencias del tal acumulación serían catastróficas. Conforme la cantidad comienza a aumentar, la turgencia caerá y la célula se contraerá, la cantidad salina en el interior crece y alguna será revertida al exterior junto con la sal enviada por las raíces. La concentración salina en la pared escala rápidamente lo cual produce una deshidratación veloz (Munns, 1993). Si las sales no aumentan en las paredes cuando la vacuola se sature, entonces se deben concentrar en el citoplasma, lo cual es igualmente desastroso. Así, la célula muere por toxicidad de la sal o por deshidratación, dependiendo de si aquella se concentra en el citoplasma o en la pared celular. En cualquier caso, la muerte ocurrirá en pocos días después que la vacuola cesa de consumir las sales que arriban. Esta senescencia acelerada se presenta primero en la hoja más vieja o en la que este transpirando más sal. El incremento salino será tan rápido que es probable que afecte todas las enzimas simultáneamente. Existen unas enzimas más sensibles que otras, pero habría cuando mucho un día de diferencia entre la más sensible y la más tolerante a la toxicidad salina (Munns, 1993).

#### *Primeros síntomas por estrés salino*

Existen todavía muchas lagunas sobre si el sensor de exceso salino se localiza en raíces o en otra estructura vegetal. Se ha postulado que los efectos pasajeros sobre la turgencia son neutralizados por señales regulatorias que deben provenir de las raíces. Las primeras respuestas son señales hormonales o hidráulicas (Munns y termaat, 1986; Zhang and Davies, 1990; Davies and Zhang, 1991). Ellos sugieren que en la respuesta a corto plazo de todo el vegetal a la salinidad, el estado hídrico de la raíz regulaba el crecimiento del vástago mediante un sistema de mensajeros que posiblemente incluía sustancias de crecimiento. Candidatos posibles para esta señal hormonal serían ABA que suele acumularse en la savia de plantas creciendo en condiciones salinas (Munns y king, 1988; Kefu *et al.*, 1991, Bensen *et al.*, 1988; Bano *et al.*, 1993), la reducción de la biosíntesis de citocininas (Kuiper, 1990), aunque otros antitranspirantes no pueden ser excluidos (Munns y Sharp, 1993). Yeo *et al.*, (1991), por su parte, argumentan que el suministro hídrico a las raíces es el único factor que puede ser percibido, transmitido y trasladado a una cesación de crecimiento foliar que puede ser detectado, solo un minuto después

Ya se ha reconocido al Ca como transductor de señales hormonales y del ambiente a los elementos de respuesta del metabolismo celular. Por ejemplo, frialdad excesiva (Evans *et al.*, 1991), toxicidad por aluminio (Durieux *et al.*, 1993; Huang *et al.*, 1993), y salinidad (Cramer

*et al.*, 1985), entre otros. Cambios en la actividad citosólica del Ca disparan la cadena de eventos que apagan/encienden los procesos de fosforilación, y que afectan en última instancia, una gran cantidad de reacciones bioquímicas (Rengel, 1992). Estos, son elementos como los preceden a una disminución de la tasa de crecimiento y de adquisición de nutrimentos mediados hormonalmente, y que son rasgos comunes de plantas creciendo en ambientes subóptimos (Chapin, 1991a). Por estas razones, Rengel (1992) postula que la primer respuesta es el desajuste de la homeostásis celular del Ca en la raíz, lo cual afecta el metabolismo celular.

Más aún, como mensajero el calcio a su vez origina cambios mecánicos, eléctricos y químicos en canales iónicos, mismos que inician procesos de retroalimentación regulatorios (Pickard y Ding 1993). Debido a que todos los estímulos resultan en una salida común en los canales, se piensa que un cambio en las concentraciones de calcio como segundo mensajero, sirven como señal integradora (Pickard y Ding 1993). De acuerdo con Rengel (1992), la señal es percibida por las raíces y trasladada a un cambio casi inmediato, del ambiente celular de la hoja, al menos juntos sí no es que preceden a los cambios osmóticos. El mismo autor, parafraseando a Sanders (1990), añade que la promoción de la división de células de raíz por citocininas, es mediada-regulada con el Ca como segundo mensajero, resultado que apunta a los cambios de la homeostásis celular del Ca como más fundamentales y de orden primario, por sobre los cambios en la biosíntesis de citocininas. Esta perturbación de la homeostásis puede también cambiar la biosíntesis de ABA (Hetherinton y Quatrano, 1991, en Munns, 1993). Kefu *et al.*, (1991) encontraron que el aumento en los niveles de ABA en las células de hojas, no fueron disparados por el déficit hídrico de la hoja, sino por la respuesta de la raíz a la salinidad. Argumentan que las raíces pueden ser la fuente de cuando menos parte del ABA en las hojas de algunas especies en estrés salino. De acuerdo con (Cornish y Zeevart, 1985. en Kefu *et al.*, 1991), la hormona puede sintetizarse en las raíces y ser transportada por el xilema. Actualmente, ya se ha documentado que ABA es sintetizada tanto en hojas como en raíces y puede actuar como señal raíz-vástago en la regulación de transpiración estomatal (Bano *et al.*, 1993). Además, Munns y King (1988), agregan que ABA no es el único inhibidor estomatal del flujo transpiracional en plantas de trigo. Otras posibilidades adicionales son: a) formas químicas complejas de ABA (Bano *et al.*, 1993). b) compuestos no químicamente relacionados con ABA, pero que afecten su concentración o su metabolización en las hojas (Cornish y Zeevart, 1988. en Munns y Sharp, 1993). c) que el compuesto tenga efecto independiente. Al respecto, ya se han observado variaciones de citocininas que correlacionan con la conductancia estomática (Bano *et al.*, 1993) pero no es una relación muy concluyente. En cualquier instancia, sus niveles aumentados en las hojas originarían una multiplicidad de respuestas que conducirían a el aumento del potencial hídrico de las mismas (Munns y Termaat, 1986).

En oposición con la creencia de que las raíces son los sensores primarios de toxicidad salina, Cramer y Bowman (1991), mostraron que la elongación foliar del maíz en período corto, es independiente de la raíz. Alternativamente, se ha postulado que la nutrición del meristemo apical del vástago podría perturbarse en los momentos iniciales de estrés salino y que el meristemo apical sería la fuente de señales para las hojas en expansión (Lazof y Lauchli, 1991).

Flowers *et al.*, (1991); Yeo y Flowers (1986); Yeo *et al.*, (1991), creen que una inhibición de crecimiento del vástago, como respuesta a largo plazo (semanas o meses), sería gobernada por efectos osmóticos e iónicos. Los primeros como causa de una excesiva acumulación de sal en las hojas (altas acumulaciones de sal en el apoplasto de la hoja causarían un gran déficit hídrico en el simplasto si el consumo y la compartimentalización de la sal no fuera tan rápido como el aporte de sales de la raíz). Los segundos, por el excesivo consumo de sales a ciertos compartimentos del simplasto podrían ejercer efectos tóxicos *per se*. Ambos parecen ser importantes en la respuesta a largo plazo a la salinidad puesto que el volumen del apoplasto de células de la hoja es muy pequeño (Tomos, 1888), y se requiere solo una pequeña cantidad de iones para producir un aumento significativo de concentración en el apoplasto, y afectar severamente por lo tanto, las relaciones hídricas de células de la hoja. Esto contabiliza para la toxicidad por período largo, ó aún para bajas salinidades externas (Yeo *et al.*, 1991).

### *Modelo de desarrollo*

Estas observaciones permiten estructurar la siguiente propuesta de un modelo bifásico (Munns y Termaat, 1986; Munns, 1993):

El crecimiento es reducido primero por la disminución del potencial hídrico del suelo; esta fase de reducción de desarrollo es por un efecto de estrés hídrico y es regulado por señales inhibitorias de las raíces (la escala de tiempo para esto es de semanas por lo que las respuestas pasajeras carecen de importancia). La tasa de expansión foliar responde más rápidamente que la velocidad de concentración iónica en las células en expansión. Además, la reducción del desarrollo foliar puede inducirse de manera semejante por otras sales con la misma presión osmótica (Termaat y Munns, 1986) y osmóticos no iónicos (Cramer y Bowman, 1991; Yeo *et al.*, 1991), por lo cual, es muy poco probable que este efecto sea específico de sal. Por lo tanto, esta primera fase de disminución del crecimiento es por un efecto de sal externa a la planta más que en el interior de ella.

En una segunda fase, posterior, la acumulación de sal hasta niveles críticos en hojas maduras provoca daño en ellas. Las hojas mueren una vez que las sales que arriban con el flujo transpiratorio, ya no pueden ser canalizadas a las vacúolas. Cuando éstas se saturan, las sales se concentran rápidamente en la pared celular o en el citoplasma y las hojas mueren por deshidratación ó toxicidad salina, respectivamente (Munns *et al.*, 1995). La pérdida de algunas laminas no afecta el crecimiento de toda la planta, pero sí la velocidad de muerte foliar se acerca a la de producción de hojas nuevas, entonces, eventualmente se presenta una caída significativa en el suministro de asimilados a las hojas en crecimiento, o un cambio en el aporte o la síntesis de reguladores de crecimiento y el desarrollo es posteriormente reducido de forma dramática (Munns, 1993; Munns *et al.*, 1995).

Yeo *et al.*, (1991); Cramer y Bowman, (1991), también creen en un proceso de dos pasos en la respuesta del crecimiento en salinidad, y han propuesto una clara división entre efectos salinos por exposición por períodos cortos o períodos largos. Sin embargo, la duración de su "período corto" es de minutos hasta varios días, y los efectos en un caso fueron reversibles (Yeo *et al.*, 1991). Este período corto es descrito como pasajero. Los mismos autores asignan algún control hormonal al "período largo". Lo común entre ambos modelos es

que los efectos por la acumulación de sal en el crecimiento, no se manifiestan por si solos en el período corto.

Finalmente, existen todavía numerosos enigmas en el estudio del consumo de sales con Na y la respuesta del organismo. Ejemplos pueden ser las interacciones de Na, Ca, K, las propiedades de la superficie de la membrana, desarrollo celular de la raíz, y el crecimiento (Cheeseman 1988).

Por otra parte, en las dos últimas décadas, ha habido un aumento sustancial de estudios con especies del genero *Amaranthus* (Lehmann, 1991; Shufen, et al., 1991; Sumar, 1991; Yue, 1991). El interes se debe a las potencialidades que tiene de predominio y posible sustitución, en algunas regiones, de cultivos de cereales existentes e incluso se pronostica que serán cultivo de importancia mundial en el siglo 21 (Shufen, 1991). Su expansión como cultivo sobre todo hacia áreas temporaleras de sistemas áridos y semiáridos se favorece por su resistencia a la sequía y salinidad (Trejo Calzada et al., 1991) que son dos de los factores adversos de dichos sitios y al tipo de fotosíntesis, C<sub>4</sub> de varias de las especies del genero. Una especie muy popular en México, es *Amaranthus hypocondriacus*, la cual ha tenido una importancia muy notable en nuestra cultura desde tiempos precolombinos, y en mesoamerica, su cultivo estuvo muy extendido (Rojas, 1983). Esta especie en la actualidad es un producto en auge en varias partes de la república mexicana. Sin embargo, hasta el momento, no existen muchos trabajos que documenten sus respuestas en medios salinos. Por estas razones, por la importancia económica que reviste su cultivo, es que se le escogió para estudiar su desarrollo y comportamiento bajo condiciones salinas a distintos niveles y tipos, a nivel de laboratorio.

### 3. OBJETIVOS

#### *Objetivo general :*

Evaluar el efecto de distintos niveles salinos de NaCl y KCl sobre algunos parámetros morfológicos, fisiológicos y bromatológicos en *Amaranthus hypocondriacus* L., en desarrollo temprano bajo condiciones controladas.

#### *Objetivos particulares :*

- Valorar la respuesta a distintos tratamientos salinos mediante la relación raíz-tallo, número de hojas, y área foliar de *Amaranthus hypocondriacus* L.
- Registrar el efecto del estrés salino en procesos de imbibición, germinación, sobrevivencia y acumulación de biomasa.
- Determinar la influencia del estrés salino en la composición, contenido y proporción de cationes.

#### 4. ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LA ESPECIE ELEGIDA (*AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS* L.)

La familia Amaranthaceae se compone de unos 65 géneros y alrededor de 850 especies de zonas templadas y tropicales. Algunas son malezas, otras se usan como ornamentales o comestibles. Cerca de 60 especies son nativas de América y las restantes provienen de Europa, Africa (Rzedoswky y Rzedoswky, 1979).

*Amaranthus hypochondriacus* L. (sinon. *A. leucocarpus*), es una especie de dicha familia y cuyo género comprende un grupo de plantas herbáceas anuales de crecimiento rápido, de 1.5 a 2.0 m. más o menos erectas, con hojas simples, alternas, enteras y largamente pecioladas y ovadas que miden aproximadamente 15 cm de largo por 10 de ancho. Generalmente están matizadas con un pigmento rojizo llamado amarantina, y algunas formas cultivadas son fuertemente coloreadas. El tallo, esta ramificado desde la base y presenta estrías longitudinales. Es una hierba con inflorescencias unisexuales, monóica, en paniculas terminales o axilares muy ramificadas de aproximadamente 50 cm de largo. Las unidades básicas de la inflorescencia son los llamados "glomérulos"; cada uno consiste de varias flores pistiladas y alguna estaminada. Las flores son rojas o púrpuras de 4 a 5 mm. El fruto es una cápsula dehiscente, circuncísil, pequeña, algo globosa que se abre transversalmente y contiene una sola semilla, lenticular, blanca, lisa y brillante, algo aplanada y del tamaño de un grano de mostaza. Su peso varía entre 0.06 a 0.09 g/100 semillas (Feine, 1979. En Alejandre y Gómez, 1986).

El cultivo del amaranto en México se realiza desde tiempos prehispánicos. En particular, en el NO del país, los Yaquis, de Sonora y los Pericues, de Baja California Sur, manejan hoja y grano en su alimentación. En el Centro, los Aztecas lo convirtieron en uno de sus cultivos básicos junto con el maíz, frijol y chíá (Mapes, 1985; Rojas, 1983), mismos que recibían como tributo y por tanto, eran parte fundamental de su dieta. A principios del siglo XVII, el dulce hecho de amaranto reventado recibió el nombre español de "alegría". También se le conoció como "bledo".

*A. hypochondriacus*, conocida en tiempos prehistóricos como "huahtli"; como alegría, bledo y amaranto ya en tiempos más recientes, se cultiva en clima que varía de árido a húmedo semitropical. Sin embargo, el ambiente templado seco es lo más común (Alejandre y Gómez, op cit.) donde produce mayores cantidades de semilla que otros cereales convencionales. Es una planta tolerante a la sequía, a la alta temperatura y a una buena cantidad de plagas en estos hábitat (Barba *et al.* 1992b). Presenta una amplia facilidad de adaptación a medios ambientes alterados por el hombre, además de otras características tales como habilidad para hibridizar, gran plasticidad, elevado rendimiento anual en parte debida a su vía fotosintética C<sub>4</sub> (López, 1984).

En la cuenca del Valle de México se cultivan dos variedades de la especie: la morada y la blanca. Las espigas de la primera son rojas o púrpuras y el borde de la lamina es ligeramente rosado; en la blanca las inflorescencias son de color verde clara y sus hojas presentan color uniforme.

En el Estado de México, existen tres variedades, botánicamente no bien definidas, conocidas como cacahuacenti, "ojo de pájaro" y cuitlacoche, respectivamente. Las semillas de la primera son blancas y de buena calidad. De la segunda, sus semillas son café pardas mezcladas con blanca y de inferior calidad, en tanto que el cuitlacoche produce semillas de tamaño chico y negras lo cual afecta su estima.

El uso de los amarantos se relaciona con el color de sus semillas. Los de granos negros son apreciadas como ornamentales, para la obtención de colorantes y como hierbas que se comen a manera de verdura (quelites). Las plantas que producen granos blancos provienen de especies desarrolladas y domesticadas para pseudocereales, granos ricos en proteínas y carbohidratos que pueden aportar, por sí mismos, elementos esenciales para la dieta humana.

En nuestros días, entre los tarahumaras, tepehuanes y totonacas, así como entre los pobladores de áreas rurales sobre todo de Tlaxcala, Puebla, Morelos, D.F., Michoacán y Oaxaca, entre otros, las hojas son consumidas crudas a manera de ensalada, hervidas o fritas y se les conoce genéricamente como "quelites o quintoniles" (Reyna, 1995). También, los mismos totonacas consumen las hojas capeadas con huevo y agregadas a los frijoles. Para los serís de Sonora, la harina de las semillas tostadas mezclada con aceite de tortuga, son un plato muy apreciado y guisan así mismo los tallos y hojas con el mismo aceite.

La bromatología proximal de la semilla contiene valores altos de carbohidratos asimilables (50.6 %); de lípidos, principalmente ácidos grasos poliinsaturados, linoléico -43.9 %-, oleico -29.3 %- y palmítico -18.1 %-, el primero de los cuales es "esencial" y no puede ser sintetizado por el organismo humano (Casillas, 1985), y proteínas -14.9 %-. En el análisis de los amino ácidos se observa una proporción equilibrada de éstos, siendo los más abundantes el ácido glutámico, la prolina, lisina, triptófano, leucina y arginina, vitaminas A y C, y minerales Fe y Ca. En su comparación proximal, este autor, señala que la dieta seguida por los Aztecas, rebasaba las recomendadas por la FAO / OMS. Estas características proximales hacen de la semilla del amaranto un alimento con alto potencial para mejorar la dieta de la población en el futuro (Betschart *et al.*, 1981; Konishi *et al.*, 1985; Correa *et al.*, 1986; Gorstein *et al.*, 1991).

Las semillas tienen también propiedades emulsificantes y gelificantes que pueden ser aprovechadas, agregados, en la elaboración de productos como el yoghurt, en las sopas tipo cremas por la industria alimentaria (Reyna, 1995). Otros usos indicados son como forraje animal, medicinal y ritual (Alejandre y Gomez, 1986).

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### OBTENCION DEL MATERIAL VEGETAL:

La semilla de amaranto se obtuvo directamente de productores del área de Xochimilco, D.F., y aproximadamente de menos de 6 meses de haber sido cosechada. De ellas, suficientes semillas se desinfectaron en solución Alcohólica al 20 % agitándolas durante 5 min., e inmediatamente se les paso a otra de hipoclorito (comercial Cloralex) diluido al 25 % y agitación durante 1 min. Inmediatamente se enjuagaron varias veces con agua destilada. Posteriormente se les dejo germinar y desarrollar las plántulas durante 8 días. Después, se selecciono lotes de plantas que tuvieran tamaños semejantes y raíces mas o menos iguales, y sobre todo que lucieran sanas (ausencia de clorosis), mismos que fueron trasplantados a pequeñas macetas de 12 cm de diámetro y 10 de profundidad, con sustrato de vermiculita. La vermiculita, previo a su uso, se lavo con solución diluida (20 %) de cloro para eliminar posible contaminación fúngica o bacteriana u otro tipo de contaminantes. Las macetas a su vez se mantuvieron en charolas en lotes de 12 por cada una y flotando en solución nutritiva Hoagland de fuerza total (Manual de Fisiología ENEP Iztacala UNAM. 1992.) y colocadas en cámara de crecimiento.

Las condiciones de la cámara de crecimiento fueron de termoperiodo luz-obscuridad de 12-12 h, y  $28\pm 3^{\circ}\text{C}$ . La luz fue Growthlux con una intensidad de aproximadamente 2000. Lux en la superficie del cultivo. Al inicio éste período, se les aplico los tratamientos salinos de 0.0 (control), 50, 100 y 200 mM tanto de NaCl como de KCl respectivamente, los cuales se hicieron por dilución serial y se añadieron sobre la solución nutritiva. Se les dejo desarrollar durante 40 días, en cada uno de los tratamientos y se tomaron muestras de cuando menos 15 plántulas de cada uno de ellos en tiempos preestablecidos de cada 10 días. La solución de cultivo se reemplazo totalmente con nueva solución nutritiva y la salinidad seleccionada cada cuatro días, pero cada tercer día se le añadió la cantidad de agua destilada necesaria para compensar la perdida debida a evaporación y transpiración.

Previo al inicio de los tratamientos, para conocer la morfometria de la semilla, se determino su tamaño. Para ello, a una población de 300 semillas, se les estimo el largo y ancho de cada una de ellas con la ayuda de una cámara lúcida, conectada al microscopio óptico y bajo magnificación de 10x10. Después, el tamaño de la semilla se estimo con micrómetro estándar (Stage micrometer) para estandarizar las dimensiones de la semilla. Posteriormente, se evaluó el volumen de la semilla, mediante la siguiente fórmula

$$\text{Volumen} = \frac{4}{3} \times \frac{22}{7} \times \frac{(a^2b+ab^2)}{16}$$

donde a y b son dos radios del elipsoide.

según criterio de Hale (1965). Se hicieron grupos en relación a tamaños y se grafico su comportamiento.

## ASPECTOS MORFOLOGICOS

### CARACTERIZACION MORFOMETRICA

#### *De la plántula*

Cada 10 días, se retiraron 3 macetas de cada charola y se colectaron cuando menos 15 individuos, se enjuagaron dos veces con agua destilada y se secaron con papel secante. De cada uno de ellos se midió la longitud de su raíz con cinta métrica (distancia desde la base del vástago (cuello de la raíz) hasta el punto más distante del ápice radical en crecimiento y de su tallo (distancia desde el cuello de la raíz hasta la parte más alta del ápice de crecimiento foliar), según Devitt *et al.*, (1984), y así obtener la relación raíz-tallo. Se contó el número de hojas y se midió su área foliar (largo/ancho) y su peso en fresco. Acto seguido se deshidrataron en la estufa de secado a una temperatura entre 60-70 °C hasta peso constante, y se registro su peso en seco en mg.

## FISIOLOGICOS

### TASA DE IMBIBICION

Para observar este proceso, se emplearon 3 g de semilla las cuales se humedecieron y se les elimino el exceso de humedad con papel secante e inmediatamente fueron pesadas en la balanza analítica para establecer su peso inicial en húmedo hasta mg. Posteriormente, se les coloco en cajas petri con las mismas soluciones salinas de los tratamientos y el control. La tasa de imbibición se registro cada 12 hs., pesándolas para detectar posibles aumentos de captación de agua hasta 48 horas. Cada tratamiento fue por triplicado.

### TASA DE GERMINACION

La tasa de germinación (se consideraron germinadas aquellas semillas con emergencia de radícula) se evaluó utilizando lotes de 100 semillas mismas que se colocaron en cajas petri. Todas las semillas se esterilizaron previo a su uso de la manera ya descrita. A cada caja se le añadió suficiente solución de las concentración salinas del diseño experimental. El control fue con solución nutritiva. La tasa de germinación se registro cada 24 hs., y cada tratamiento fue por triplicado. Los experimentos terminaron después de la 48 horas cuando ya había germinado más del 95% en el control.

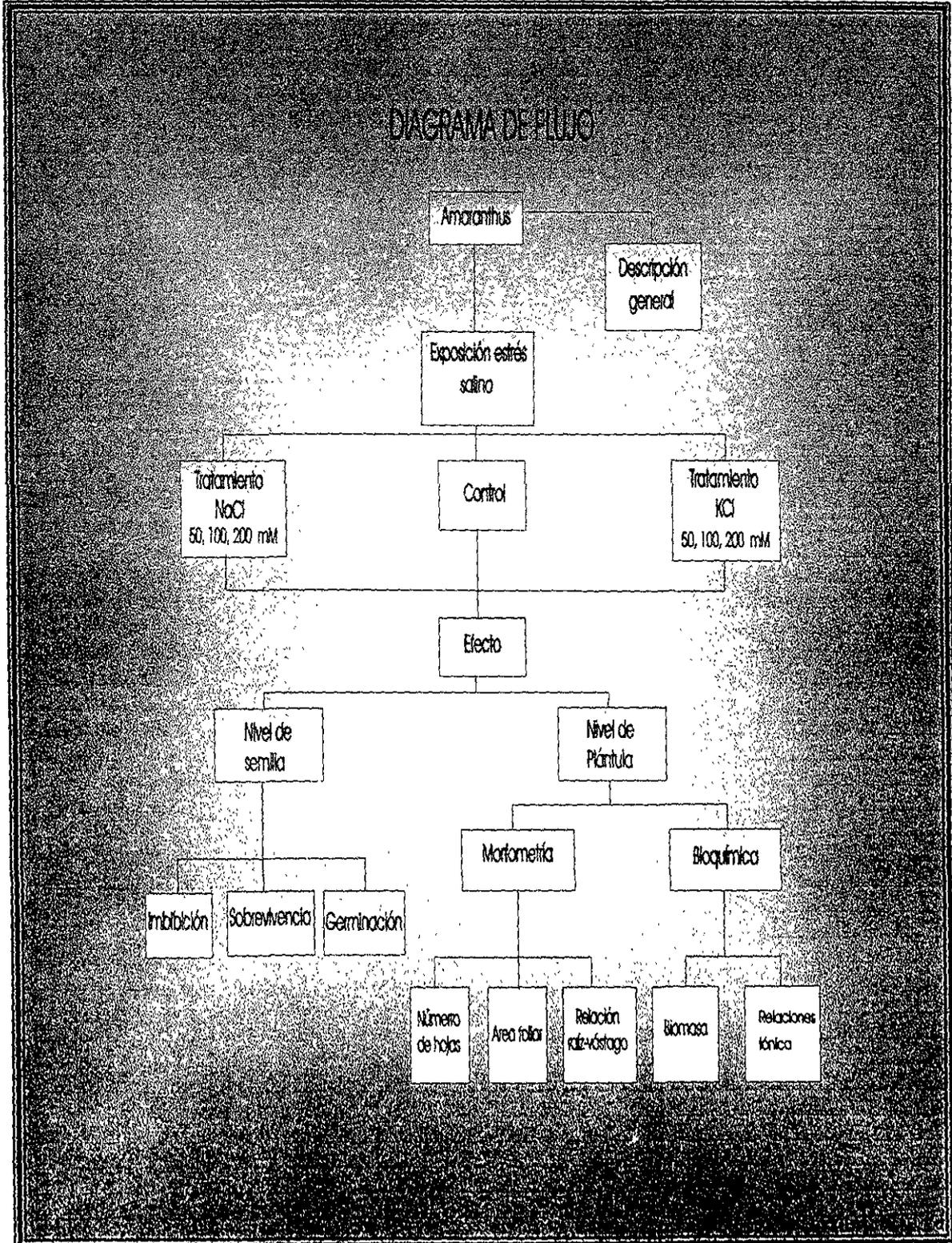
## RELACIONES IÓNICAS

### COMPOSICION IONICA DEL VEGETAL

El material deshidratado se fragmento hasta material fino y se almaceno en tubos viales en desecadores hasta poco antes de su análisis. De ahí se tomaron muestras de 100 mg de material seco las cuales se digirieron en una mezcla de agua deionizada y ácidos fuertes concentrados (HNO<sub>3</sub>, y HF) con relación 2:5:1 ml respectivamente con calentamiento en equipo CEM modelo MDS 2100. hasta que la solución pareció translúcida. De ahí, se diluyeron hasta un volumen de 25 ml. Aliquotas con dilución conveniente se sometieron al

análisis de iones. Los cationes Ca y Mg se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica en tanto que K y Na por emisión de flama (SpectrAA-800) Cada tratamiento fue por duplicado.

El diagrama siguiente ilustra el diseño experimental:



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Para evaluar la relación entre la concentración salina (50, 100. y 200 mM para ambos tipos de sales) y las respuestas morfológicas y el estadio de desarrollo vegetal (número de hojas/planta, área foliar/planta y relación raíz/tallo), se realizaron análisis de varianza y donde se encontró significancia entre los niveles, se empleó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 1985), para detectar entre que niveles ocurría. Para los parámetros fisiológicos (imbibición, germinación, sobrevivencia y acumulación de biomasa) así como para las relaciones iónicas, se graficaron los datos con sus medias y errores estandar y se interpretó visualmente.

## 6. RESULTADOS

### Morfometría de semillas

La distribución natural del tamaño de las semillas cae dentro de un rango de 0.3185 a 1.1906 mm<sup>3</sup>. El tamaño de la población seleccionada siguió una curva de distribución normal (gausiana), (fig. 1; Sokal y Rohlf, 1985). Sin embargo, es necesario señalar que la mayoría (>65%) de las semillas tiene un rango de dimensiones medias de  $0.812 \pm 0.170$  mm<sup>3</sup>, con una longitud mínima y máxima de 0.427-1.00 mm<sup>3</sup>, respectivamente y de  $0.615 \pm 0.064$  la promedio. Los valores mínimos máximos y promedios, respectivamente, del ancho de la semilla son 0.214, 0.352 y  $0.305 \pm 0.023$  mm<sup>3</sup>, y un peso promedio de 0.964 mg/semilla (Fig 2).

#### De la plántula

##### a) Número de hojas

En los organismos crecidos en los tratamientos control, el número de hojas por planta aumento a través del tiempo ( $F = 778.12$   $p < 0.001$ ). Inicialmente cada plántula (de 10 días de desarrollo) presentaba dos hojas, número que aumento a  $7 \pm 1$  cuando las plantas tenían 40 días de desarrollo. En las plantas con tratamiento salino, hubo en general una reducción significativa en la tasa de formación del número de hojas en comparación con el control, y esto es independiente del tipo de sal usado. De las dos sales ensayadas, la debida a NaCl afecto el número de hojas por plántula no solo entre los tratamientos sino a lo largo del tiempo, siendo más dramático su efecto a niveles altos ( $F= 23.06$ ,  $p<0.001$ ) y desde los 30 días de exposición salina ( $F= 4.01$ ,  $p<0.05$ ) (fig. 3), Respecto al KCl, esta sal tuvo un efecto acumulativo de reducir el número de hojas solo evidente y significativo a las más altas salinidades ( $F= 3.33$ ,  $p<0.05$ ) y por exposición a ellas por más de un mes ( $F= 2.77$ ,  $p< 0.05$ ) (fig. 4). Existe una diferencia clara y significativa entre el efecto que ejercen ambas sales, siempre es mayor el debido a NaCl (Tabla 1)

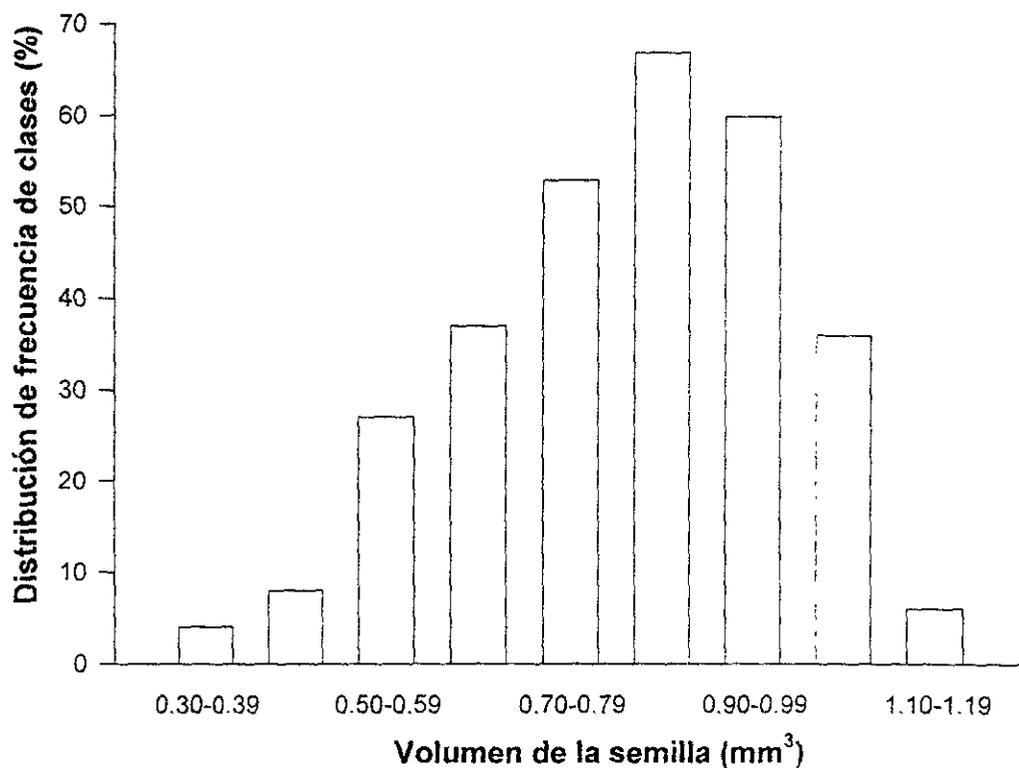


Fig. 1. Distribución de frecuencias (%) del volumen (mm<sup>3</sup>) de la semilla de *Amaranthus hypocondriacus*. Los datos se basan en una población de 300 semillas tomadas al azar.

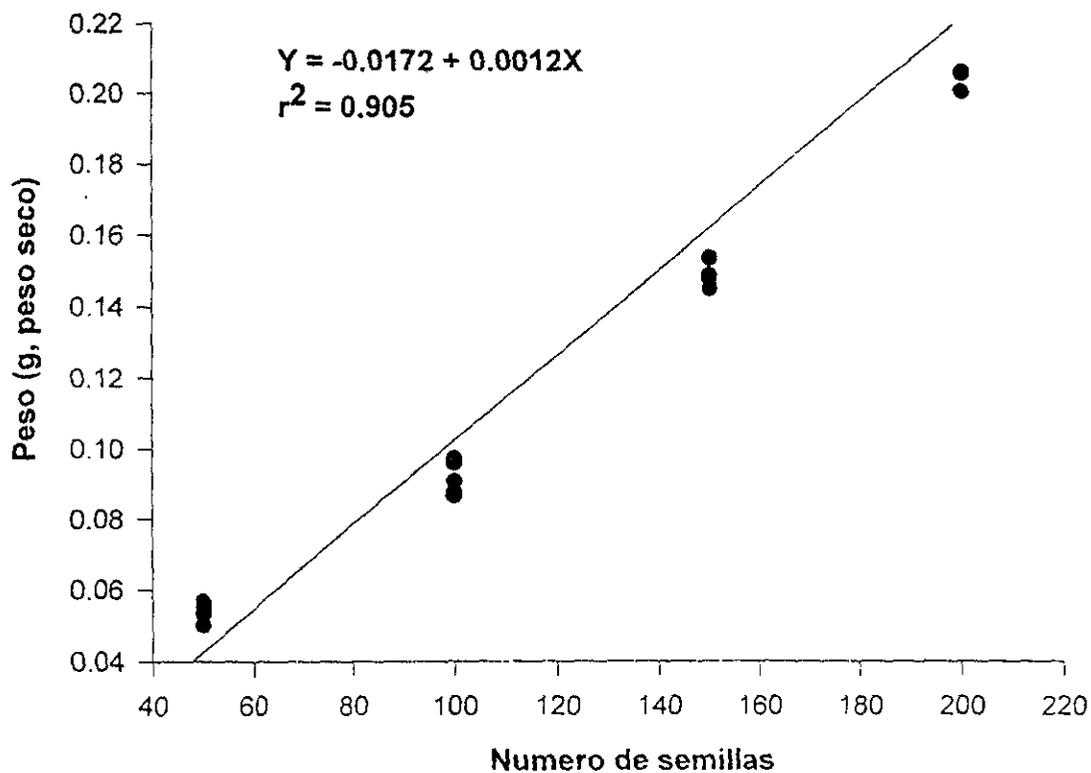


Fig. 2. Determinación del peso promedio por semilla obtenido a partir de pesadas de 50, 100, 150 y 200 unidades. cinco réplicas de cada grupo. Con estos datos se realizó una regresión con cuyos valores se linealizó la curva.

### *b) Area foliar*

El área foliar del amaranto incremento conforme aumento la edad de la planta. Sin embargo, la magnitud de la tasa dependió del tratamiento salino. Dicho incremento no es uniforme en los tratamientos. Puede decirse que a salinidades altas de NaCl prácticamente no hubo desarrollo desde en principio (Fig. 5) aunque también en los tratamientos con niveles salinos bajos y medios se percibe claramente el efecto nocivo (Tabla 1) y es significativo desde salinidades medias y un período de exposición a esta sal durante un mes ( $F = 54.18$   $p < 0.001$ ).

En cambio el KCl ejerce un efecto inhibitorio ligero y acumulativo sobre la velocidad de incremento de área foliar y llega a ser evidente y significativo ( $F = 122.06$   $p < 0.001$ ) solo a niveles altos, y lapsos mínimos de estrés salino de un mes (fig. 6).

### *Relación raíz:tallo*

Las observaciones sobre esta proporción indican que existe siempre un desarrollo mayor del tallo que de la raíz cuando los individuos son crecidos en ausencia del estrés salino y que dicha proporción también cambia con el tiempo. Sin embargo, este crecimiento alométrico cambia en los individuos expuestos a las tensiones salinas. Con NaCl, tiende a reducirse y devenir en un desarrollo más equitativo entre ambos órganos conforme aumenta el nivel salino y el tiempo en las plantas expuestas, si bien a distintas tasas aunque dicha acción no tiene significancia estadística. Esto en otras palabras significa que la plántula, de inicio, como respuesta al ambiente salino generó más raíz. Respecto al efecto por KCl, dicha proporción cambia casi de inmediato y de forma significativa por todos los tratamientos siendo mayor su efecto al nivel más salino ( $F = 9.94$   $p < 0.001$ ), según se observa en la fig. 7 y numéricamente en la tabla 1. Adicionalmente, el comportamiento de la relación es variable entre los niveles salinos, aunque en esencia, indujo mayor cantidad de tallo que de raíz, salvo a la molaridad de 200 mM y en lapsos de exposición mayores de 30 días. Hay que señalar que los valores extremos (mínimo y máximo respectivamente) observados tanto para el tallo como para la raíz fueron de 2.1 a 14.6 cm para el primero, y de 1.0 a 8.3 cm para la segunda.

Observado el desarrollo por órganos independientes, la raíz de las plantas en cloruro de sodio en todos los niveles salino sufrieron una leve estimulación para posteriormente disminuir de manera constante con el tiempo. Este patrón es un tanto distinto en las raíces crecidas en KCl. La raíz sufre una contracción, con respecto al control, pero más tarde alcanza con el tiempo, desarrollos mayores que la raíz de solución no salinizada, hasta una concentración tope, aquella de máxima concentración salina. En lo relativo al tallo, aquí se percibe un comportamiento de mayor crecimiento de este órgano en individuos de los tratamientos salinizados que de los crecidos en ausencia de estrés, pero solo durante un período de exposición de 10 días. Después de este lapso, solo se detecta menor tasa de crecimiento del órgano en las plantas expuestas al estrés salino que de las desarrolladas en solución nutritiva, y la inhibición, en general, depende de la concentración salina. El efecto siempre es mayor por la sal de sodio.

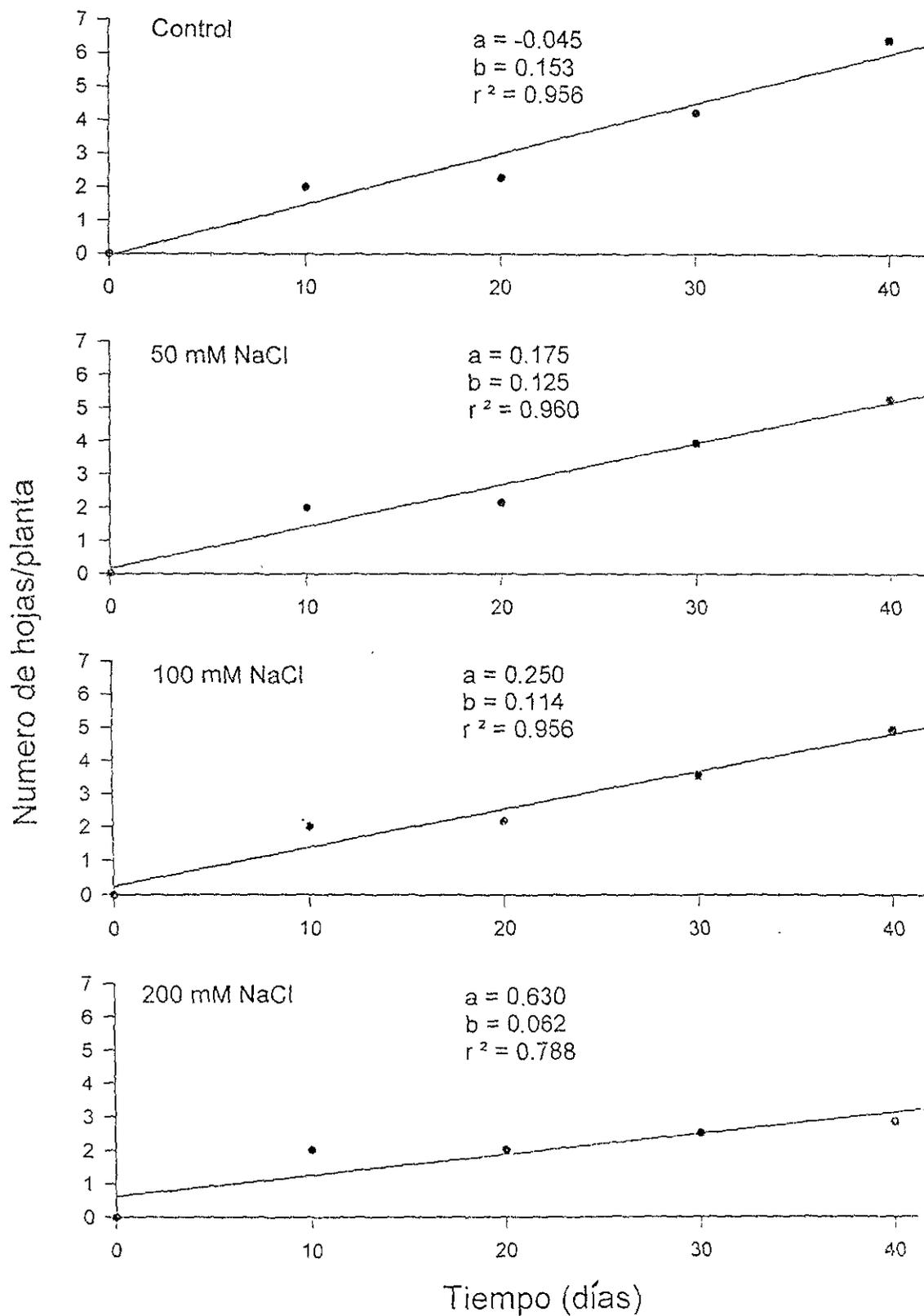


Fig. 3. Representación de la relación de número de hojas/planta a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de  $N = 30$ . Los errores estandar son mínimos por eso no son visibles. Los valores son de Anovas simples

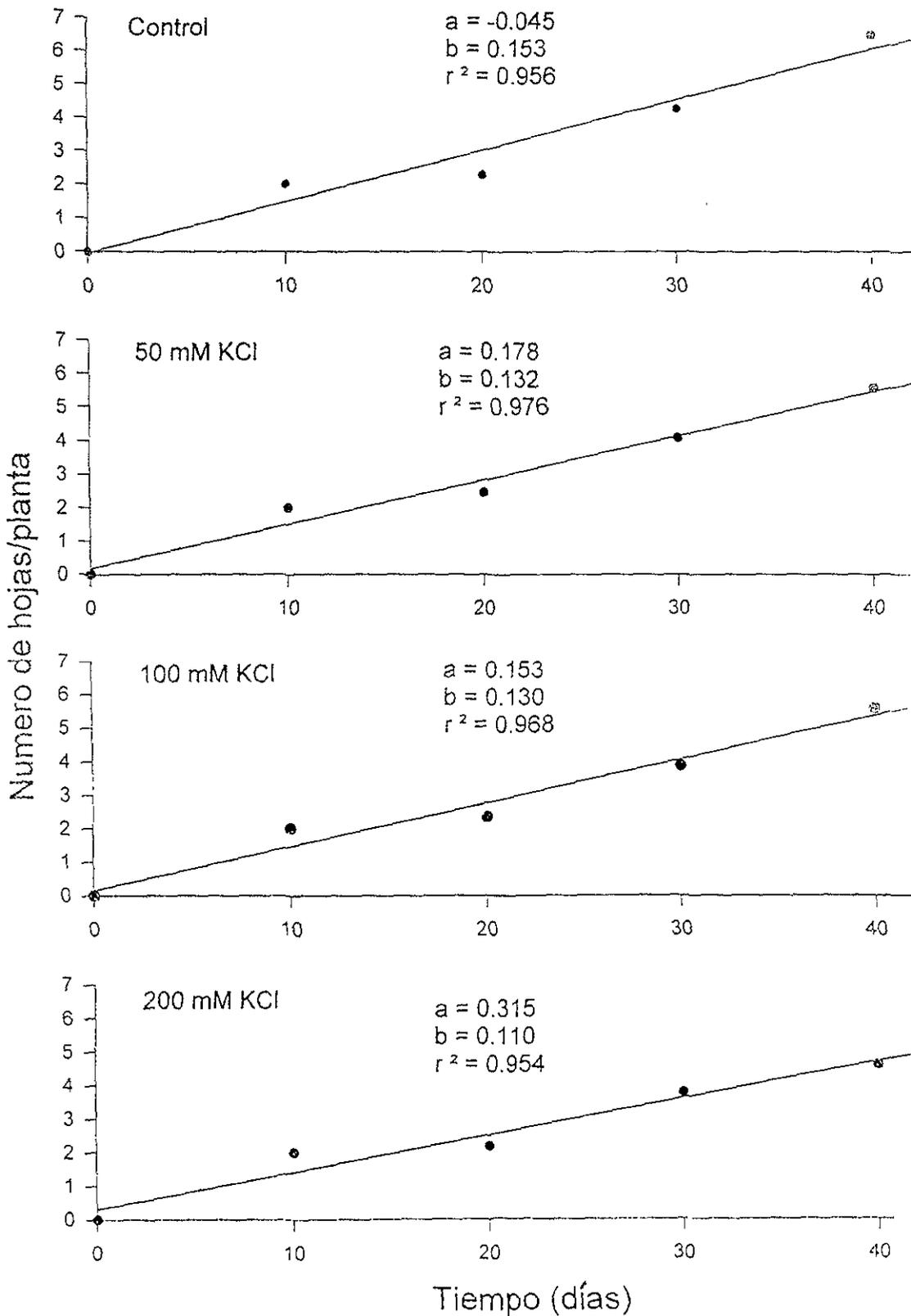


Fig. 4. Representación de la relación de número de hojas/planta a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de N = 30. Los errores estandar son mínimos por eso no son visibles. Los valores son de Anovas simples.

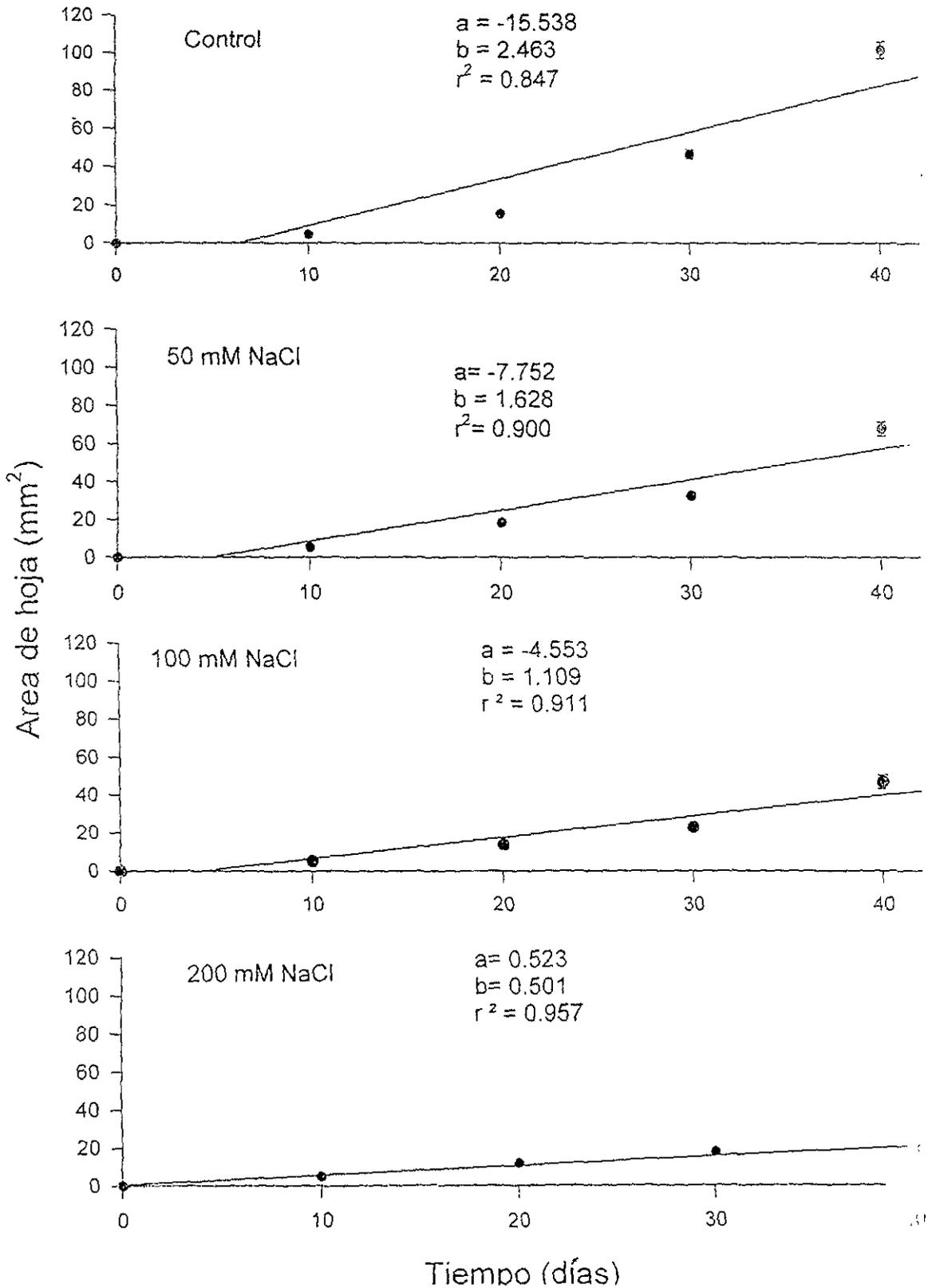


Fig. 5. Representación de la relación de área foliar/planta a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de N = 30. Los errores estandar son mínimos por eso no son visibles. Los valores son de Anovas simples.

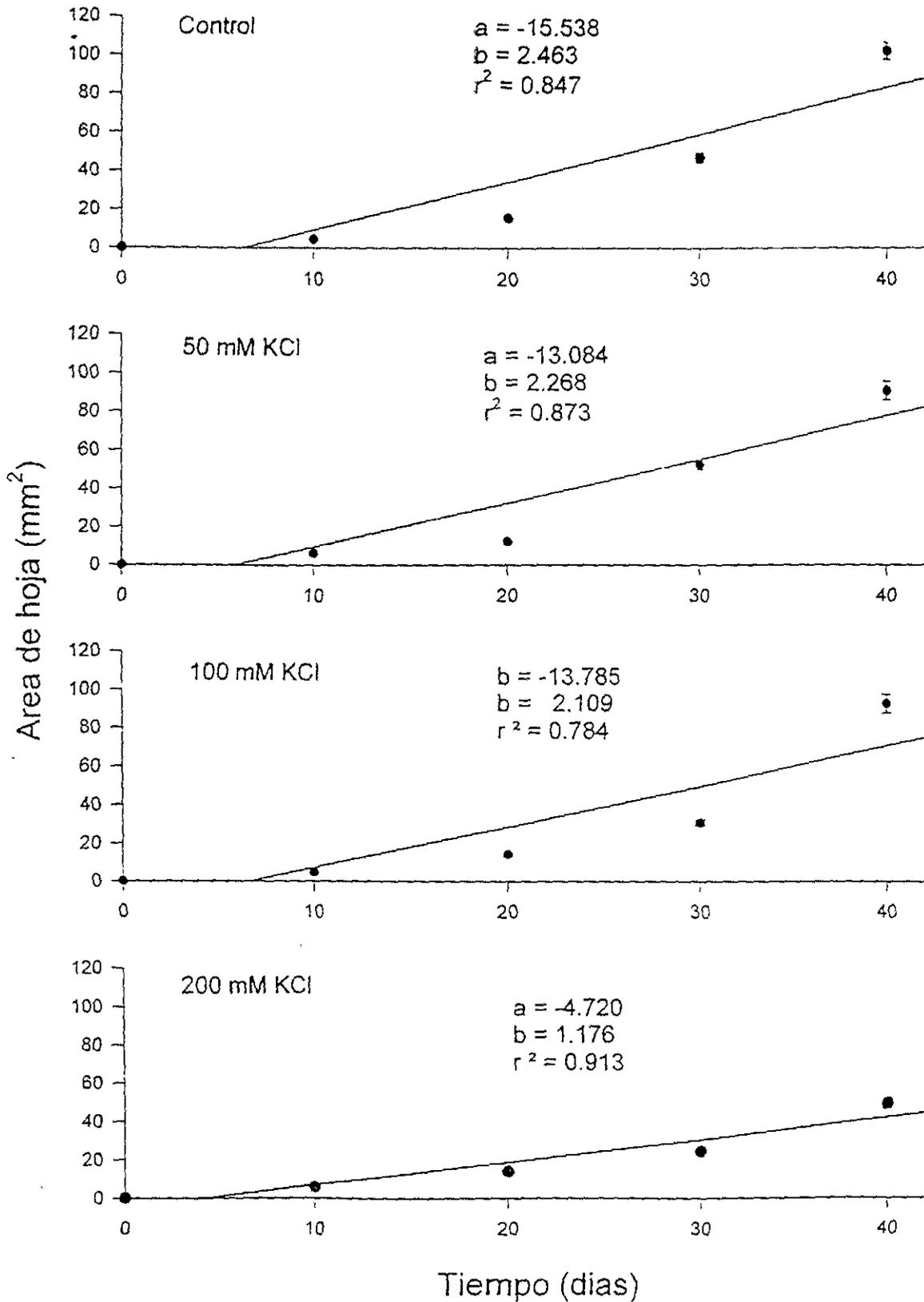


Fig. 6. Representación de la relación de área foliar/planta a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de N = 30. Los errores estandar son mínimos por eso no son visibles. Los valores son de Anovas simples.

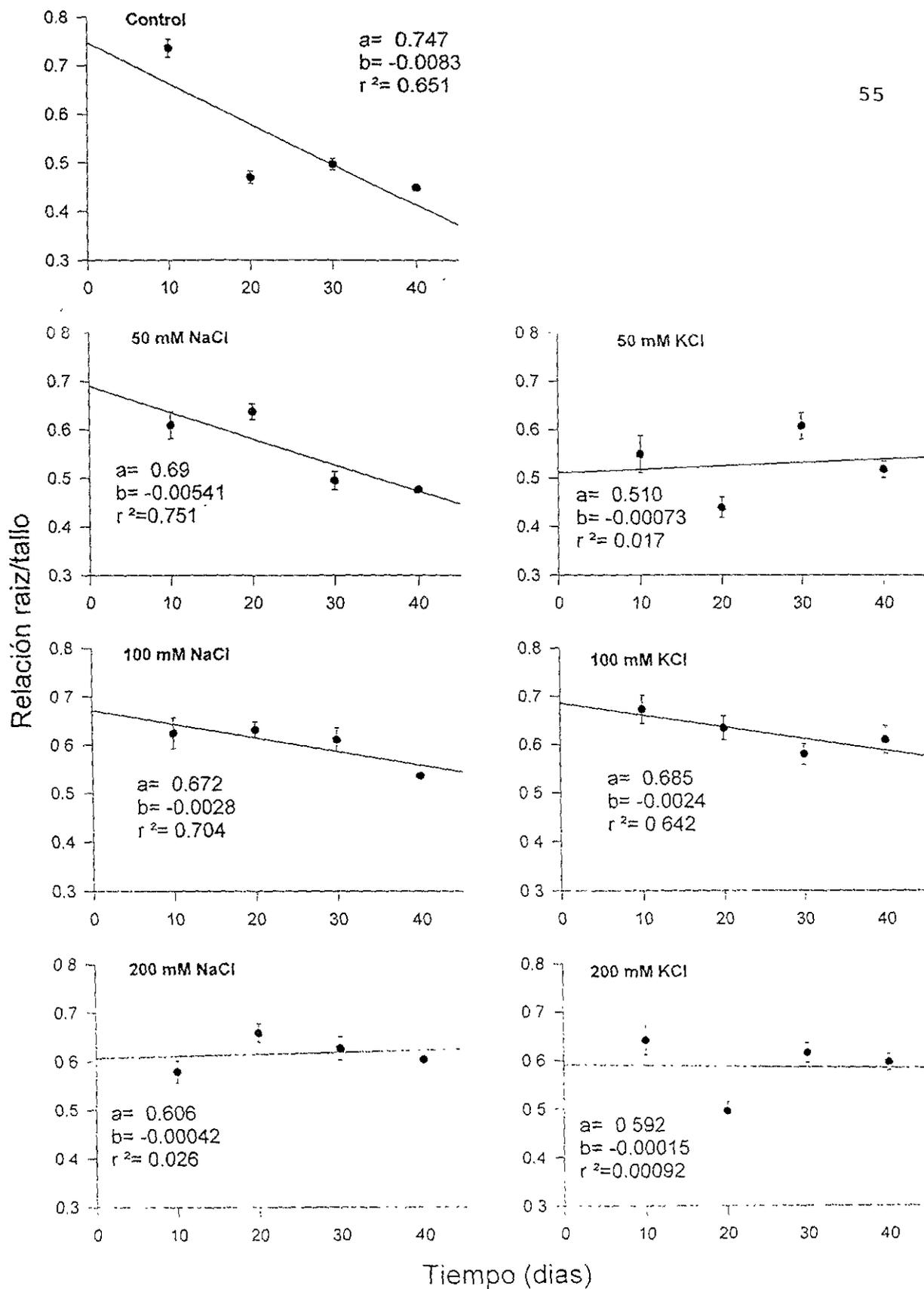


Fig. 7. Representación de la relación raíz/tallo a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de  $N = 30$ . Los errores estandar son mínimos por eso no son visibles. Los valores son de Anovas simples.

## NÚMERO DE HOJAS / INDIVIDUO

## TRATAMIENTOS SALINOS

Tiempo (días)	Control	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Control	50 mM KCl	100 mM KCl	200 mM KCl
10	2.0 ± 0.0	NS	NS	NS	2.0 ± 0.0	NS	NS	NS
20	2.27 ± 0.455 a	2.14 ± 0.272 a	2.16 ± 0.278 a	2.01 ± 0.055 b	2.27 ± 0.455 e	NS	NS	NS
30	4.278 ± 0.414 a	3.921 ± 0.632 b	3.563 ± 0.715 c	2.473 ± 0.513 d	4.278 ± 0.414 e	4.115 ± 0.352 e	3.873 ± 0.350 f	3.787 ± 0.454 f
40	6.515 ± 0.545 a	5.276 ± 0.711 b	4.90 ± 0.736 c	2.863 ± 0.596 d	6.515 ± 0.545 e	5.553 ± 0.715 f	5.590 ± 0.610 f	4.571 ± 0.507 g

AREA FOLIAR (mm<sup>2</sup> / INDIVIDUO)

Tiempo (días)	Control	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Control	50 mM KCl	100 mM KCl	200 mM KCl
10	8.933 ± 3.030	NS	NS	NS	8.933 ± 3.030 e	12.416 ± 5.773 f	9.366 ± 4.944 e	11.733 ± 4.606 f
20	35.526 ± 10.899 a	41.120 ± 12.77 b	30.706 ± 9.670 a	23.623 ± 8.663 c	35.526 ± 10.89 e	31.260 ± 11.84 e	34.902 ± 19.717 e	30.275 ± 12.091 e
30	201.422 ± 5.30 a	134.70 ± 48.98 b	84.444 ± 43.66 c	44.302 ± 14.038 d	201.422 ± 75.3 e	208.633 ± 65.49 e	118.845 ± 31.045 f	94.178 ± 31.874 f
40	664.86 ± 184.57 a	359.46 ± 125.5 b	239.11 ± 99.60 c	54.718 ± 20.900 d	664.86 ± 184.57 e	508.19 ± 198.37 f	509.777 ± 179.75 f	229.12 ± 91.32 g

## RELACIÓN RAÍZ / TALLO

Tiempo (días)	Control	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Control	50 mM KCl	100 mM KCl	200 mM KCl
10	0.746 ± 0.144 a	0.601 ± 0.185 b	0.621 ± 0.203 b	0.580 ± 0.159 c	0.746 ± 0.144 e	0.557 ± 0.037 f	0.681 ± 0.168 g	0.640 ± 0.164 g
20	0.475 ± 0.106 a	0.642 ± 0.146 b	0.629 ± 0.176 b	0.651 ± 0.123 b	0.475 ± 0.106 e	0.444 ± 0.194 e	0.642 ± 0.135 f	0.485 ± 0.101 e
30	0.503 ± 0.066 a	0.504 ± 0.086 a	0.610 ± 0.090 b	0.631 ± 0.109 b	0.503 ± 0.066 e	0.621 ± 0.145 f	0.585 ± 0.109 f	0.619 ± 0.110 f
40	0.452 ± 0.065 a	0.477 ± 0.101 a	0.571 ± 0.151 b	0.609 ± 0.131 b	0.452 ± 0.065 e	0.518 ± 0.084 f	0.597 ± 0.151 g	0.594 ± 0.089 g

Tabla 1. De acuerdo a la prueba de Tukey, las medias con la misma letra resultaron estadísticamente iguales. Para comparar los tratamientos de NaCl se utilizaron las letras a, b, c, y d. Para los correspondientes a KCl, las letras fueron e, f, g, y h. NS = No significativo

Cabe aquí mencionar la sintomatología que presentaron las plántulas en los tratamientos salinos. Los individuos presentaron algunos tintes púrpuras, desarrollos incompletos o malformaciones de la lamina foliar, necrosamiento y enrollamiento, principalmente de ápice, en distintos grados. Un síntoma adicional es el acame progresivo (doblamiento paulatino de la planta). Esta sintomatología es distinguible desde los 20 días y a todos los niveles salinos de NaCl, si bien la diferencia entre los tratamientos es el número de individuos que la presentan; es mayor con el incremento salino. Estas evidencias visuales son similares a las que produjo la exposición a KCl, solo que esta sal lo indujo en aquellas plántulas crecidas en salinidades  $\geq 100$  mM y períodos  $\geq$  de un mes.

## FISIOLÓGICOS

### *Imbibición*

Para valorar este proceso de captación de agua por las semillas de amaranto, se considero solo el tiempo que requieren para alcanzar el % de germinación más alto para el amaranto, es decir, 48 hs. En esencia, los tratamientos salinizados indujeron una mayor tasa de imbibición en relación al tratamiento control durante todo el tiempo experimental. No obstante, cabe señalar que la variación nunca fue mayor al 12 %. En los individuos expuestos a medio con NaCl, la captación fue inversamente proporcional al nivel salino. En cambio, en aquellos con medio salinizado con KCl, la captación aumento con la salinidad. La figura 8 ilustra los valores de las distintas tasas. Otra observación importante es que las plantas en estrés por cloruro de sodio alcanzan su máxima tasa de captación a las 36 hs para posteriormente disminuirla. Esto no sucede en los individuos en medios con cloruro de potasio mismos que siguen captando agua, cuando menos hasta las 48 hs.

### *Germinación*

La gráfica 9 muestra el comportamiento de germinación tanto del control como de los tratamientos. En ella se aprecia que en general, aproximadamente más de un tercio del total de las semillas germino dentro de las primeras 24 hs y al final de las 48 hs, 9 de cada 10 lo realizo. Como en los casos anteriores, la salinidad, independiente del tipo, tuvo una influencia negativa en el patrón de germinación. En particular el NaCl indujo a una reducción muy evidente en todos los tratamientos siendo prácticamente inhibitoria en los niveles de concentración de 200 mM. más salinos mientras que la exposición de las semillas a salinidad por KCl, afecto su tasa de germinación fuertemente solo a concentraciones altas (200 mM); efecto muy parecido al de la otra sal, en esta concentración (fig. 9).

### *Sobrevivencia de la plántula*

El porcentaje de sobrevivencia se determino a partir de la segunda decena de las cuatro que comprendió el estudio, ya que en la primera no se detecto mortalidad en ninguno de los tratamientos, salvo algunos individuos con inicios de marchitez en el nivel más alto de NaCl. A lo largo del periodo de ensayo, se observa que el estrés salino promovió la mortalidad. La misma, es dependiente de la concentración salina sin importar de que sal se trate aunque la

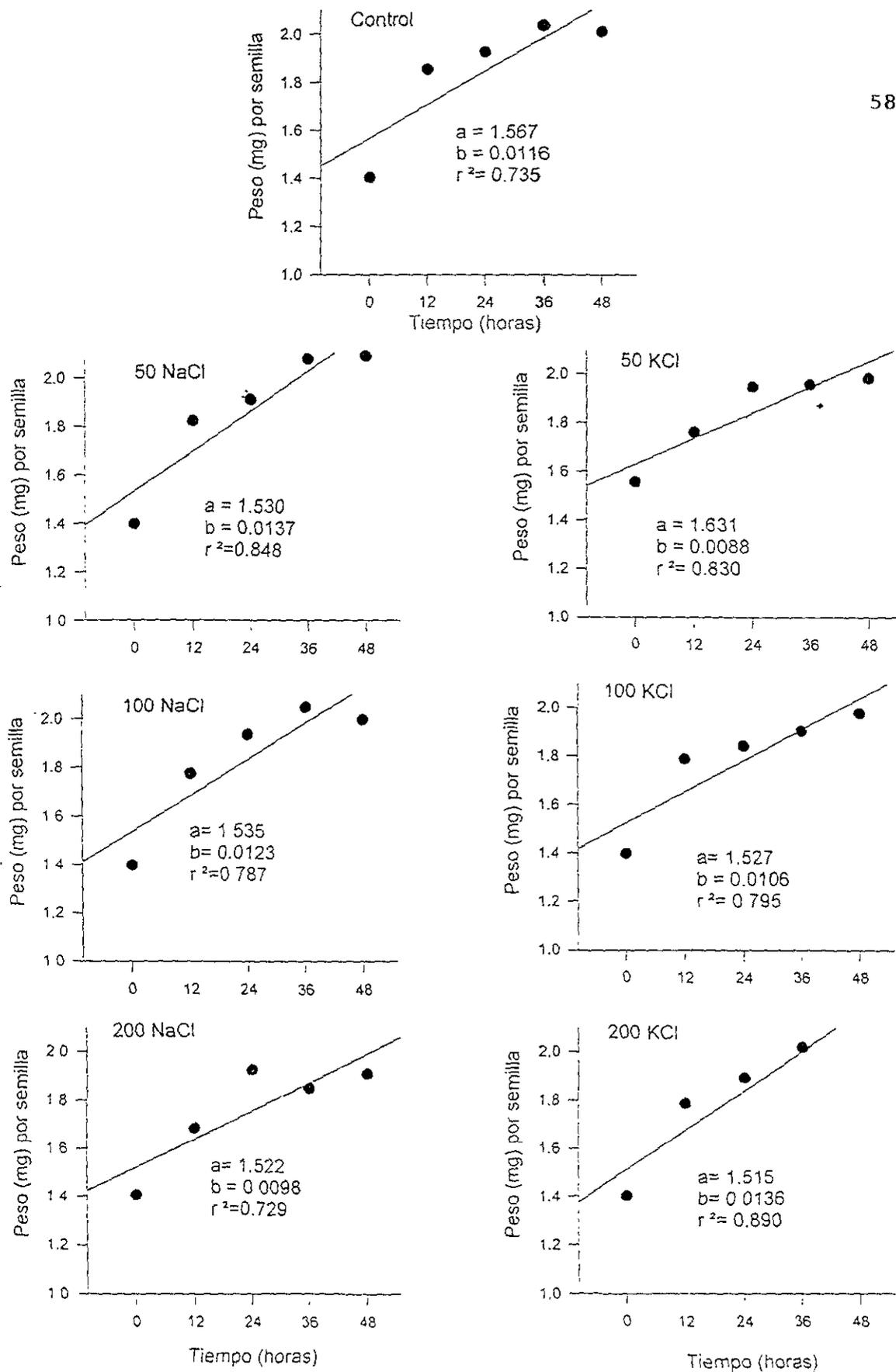


Fig. 8 Representación de la tasa de imbibición a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estándar de  $N = 3$

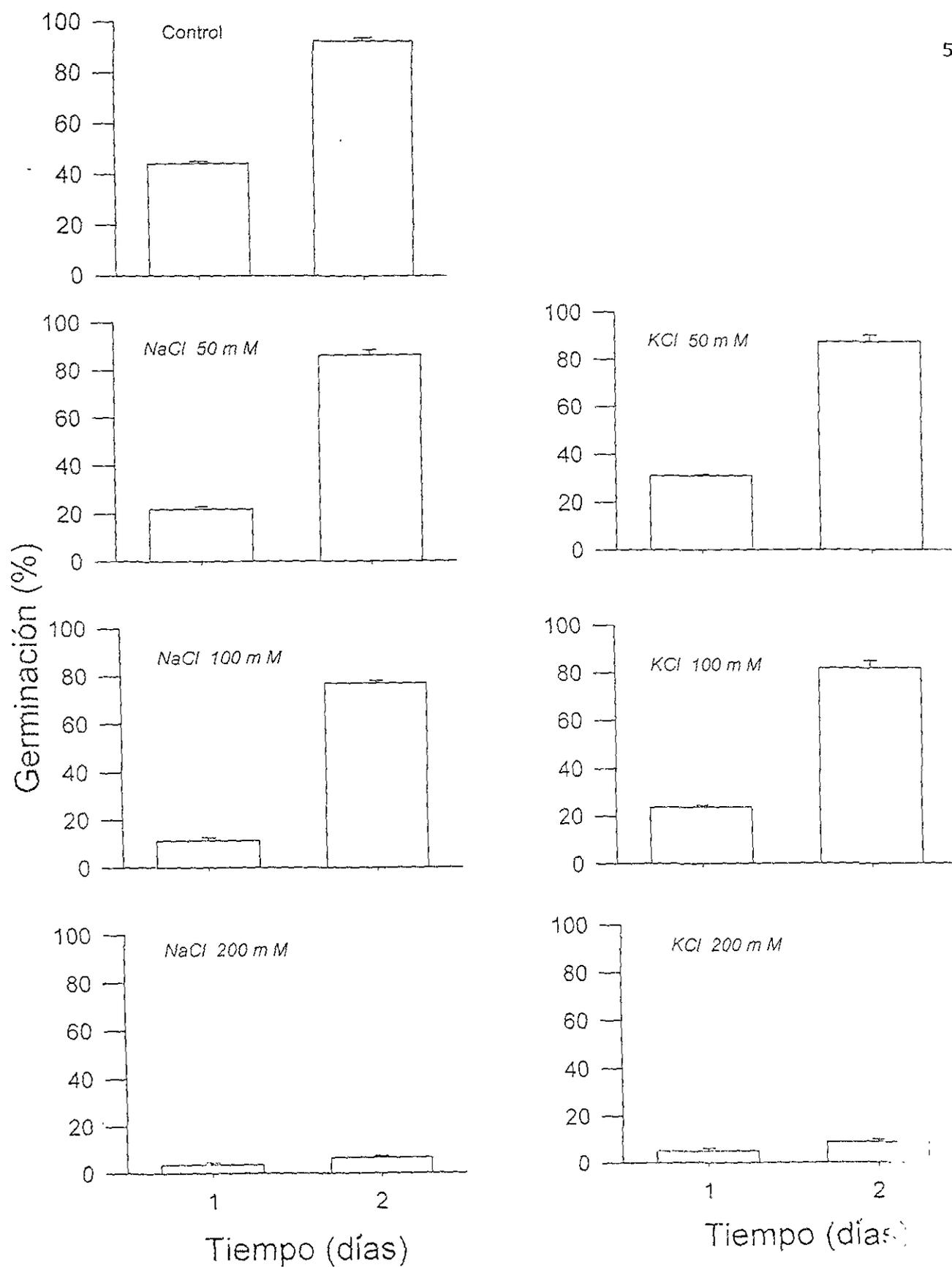


Fig. 9 Representación de la tasa de germinación a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estándar de  $N = 3$ .

tasa de sobrevivencia si depende del tipo. La mínima sobrevivencia (< del 20 %) se encontró en la concentración de 200 mM y un período de exposición de 40 días. Los datos muestran también que, con excepción del control, todos los tratamientos ejercen efectos acumulativos con el tiempo y que la mortalidad inducida por NaCl siempre es mayor que la debida a KCl entre niveles salinos como a lo largo del tiempo (Fig. 10).

#### *Biomasa (peso seco)*

Los valores de biomasa en el control variaron de 196.5 mg/por lote de plántulas en el décimo día, hasta  $\pm$  3298 mg cuando éste alcanza los 40 días de desarrollo, lo que significa aproximadamente 16 veces más el peso de biomasa vegetal. En los tratamientos salinos, existe una acción inhibitoria de biomasa acumulada tanto en base fresco (no se muestra) como en seco, si bien existen diferencias entre ambas sales. Ante exposición a NaCl, la tasa de acumulación de biomasa es afectada por todas las concentraciones usadas, siendo particularmente evidentes desde los niveles medio y de máxima salinización (Fig. 11). Además, su efecto es acumulativo y evidente después del mes de exposición del amaranto. En presencia de salinidades ligeras (50 mM) no hubo diferencia detectable entre tratamientos. Por otra parte, el efecto por la sal de sodio, siempre es aproximadamente el doble del observado para la sal de potasio, específicamente después de los 30 días de exposición.

### RELACIONES IÓNICAS

#### *Contenido catiónico*

Al respecto, se encontró que la salinidad, por ambos tipos de sales, afectó a la planta, cambiando los consumos nutrimentales en los distintos tratamientos salinos. Estos cambios se producen también a través de las etapas de desarrollo, y pueden ser desde muy ligeros hasta muy notables. La relación K/Na, cuando las plántulas se expusieron al medio salinizado con NaCl, siempre disminuyó con respecto al control entre las concentraciones salinas. Por ejemplo, esta variación osciló entre el 12-40 % a los 40 días de estrés salino aunque cabe señalar que dentro de este rango de porcentaje cayeron todas las precedentes (Fig. 12).

En cambio, en los individuos crecidos en solución nutritiva salinizada con cloruro de potasio, la relación disminuyó inicialmente (rango, 2-21 %) y al final del período salino aumento hasta más de un 50 %. En síntesis, se observa que en esta relación, existe una concentración en el tejido de la planta que es dependiente de la concentración del elemento en el medio de cultivo.

Los valores de proporción de K/Ca casi siempre aumentaron en la planta en todas las condiciones salinas. El aumento puede ser poco evidente (< 0.5 %) o muy notable (alrededor del 80 %), en los vegetales con sustrato salinizado por cloruro de sodio, sobre todo a niveles bajos y medios, en tanto que dicho rango aumenta más allá del 140 % para los sujetos al ambiente con cloruro de potasio y salinidades altas (Fig. 13). En términos reales, se detecta que la captación de potasio siempre fue mayor que la de calcio y que dicho consumo se acentúa cuando aquel elemento predomina en el medio.

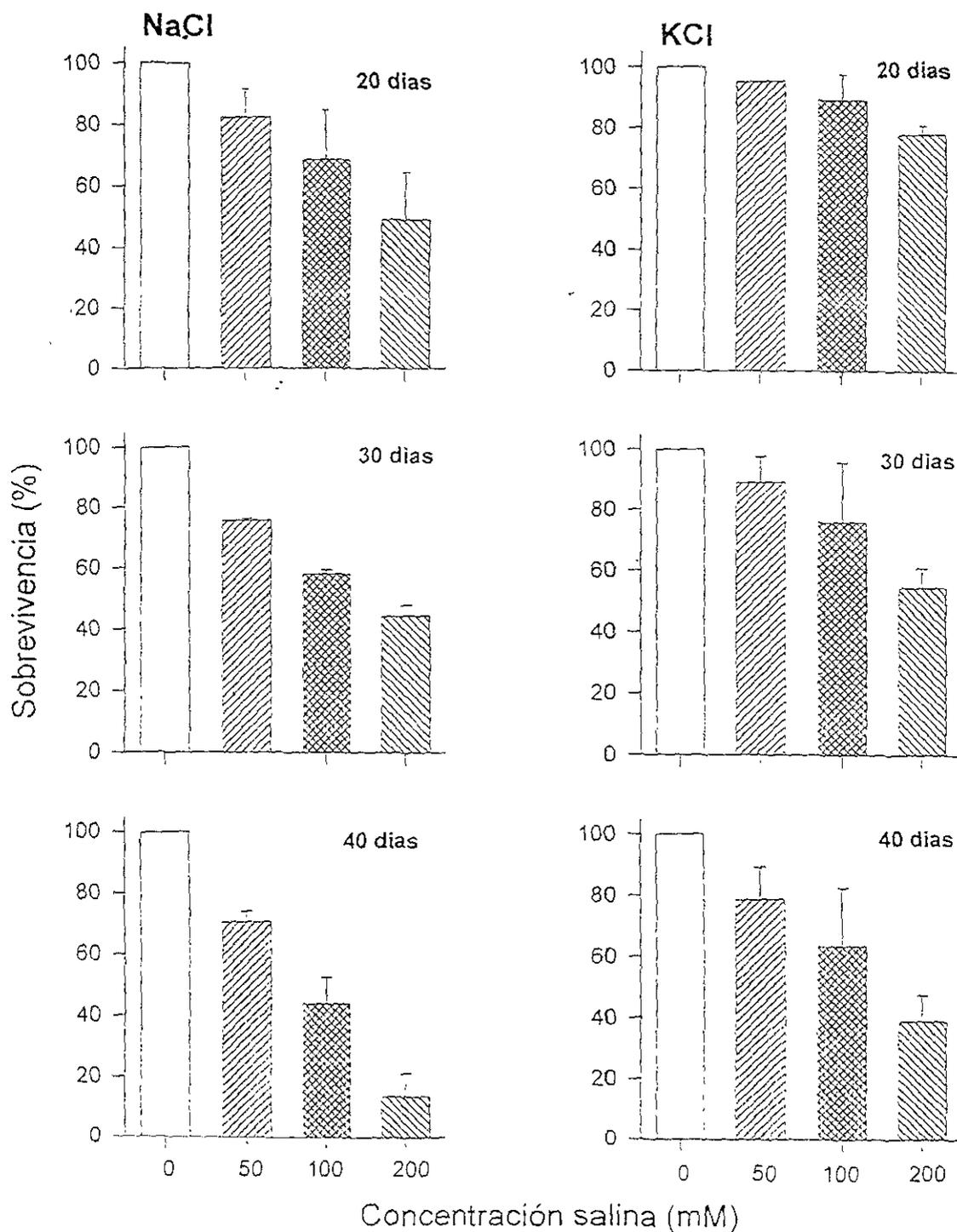


Fig. 10. Representación del porcentaje de sobrevivencia a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estándar de  $N = 2$

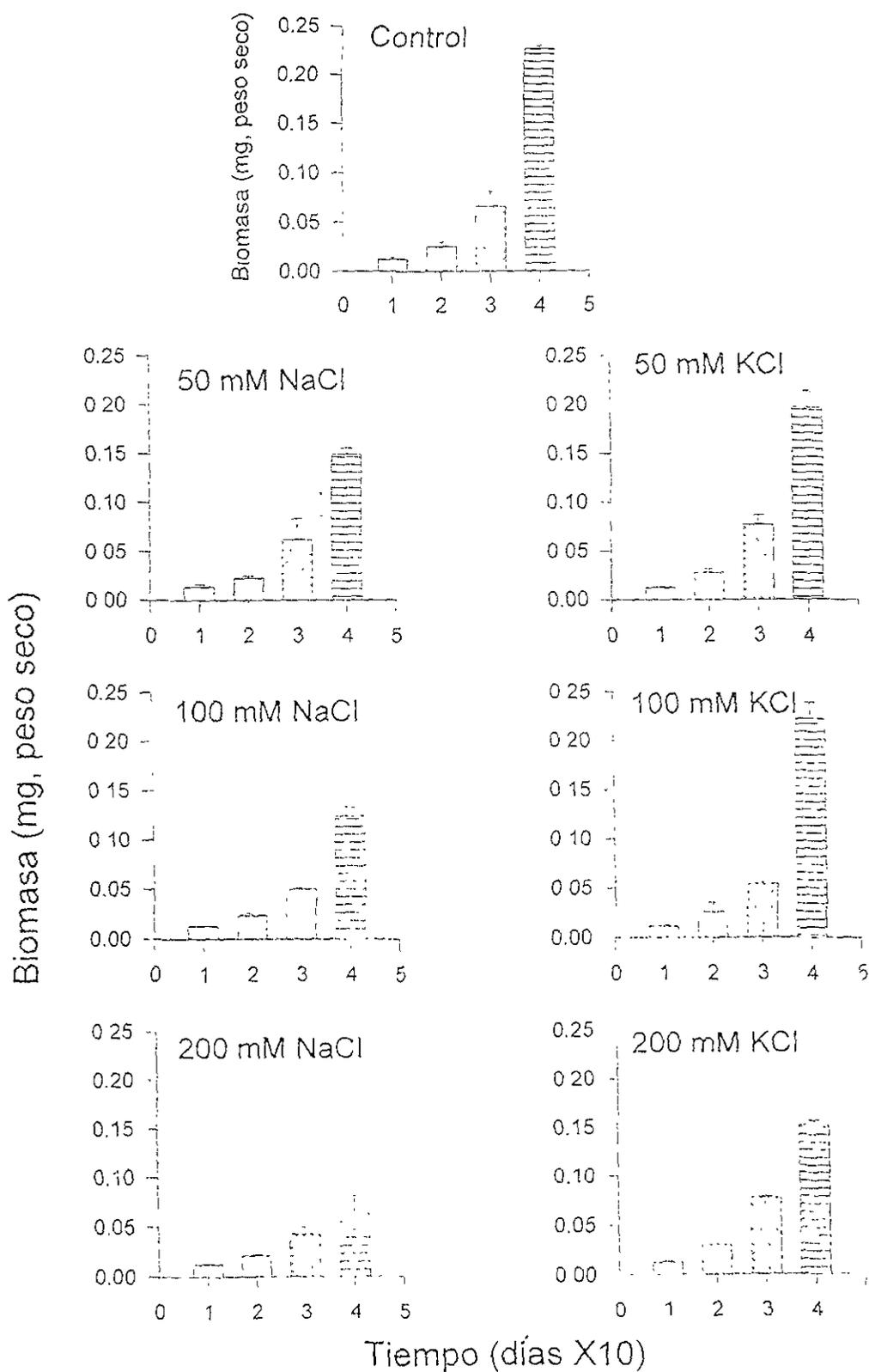


Fig. 11. Representación de la biomasa acumulada a lo largo del tiempo y en distintos tratamientos salinos. Los puntos son datos promedio, el error estandar de  $N = 2$

De la relación K/Mg, el comportamiento fue muy variable en las distintas etapas de desarrollo de las plantas, principalmente en medios con NaCl. En las plantas expuestas a solución con KCl, se detectó una tendencia al aumento en la tasa de concentración interna de K y disminución de Mg. Dicha tendencia es evidente entre tratamientos así como a lo largo del tiempo, aunque siempre es mayor a salinidades de 200 mM (Fig. 14).

Relativo al cociente Na/Ca en el tejido de los vegetales, se registró que este siempre fue mayor en todos los tratamientos salinos, en relación a los desarrollados en la solución nutritiva sin ningún tipo salino. La tendencia es semejante para ambas sales, y aumento en general, con las etapas de crecimiento consideradas y con la concentración de sal (Fig. 15). También se notó que la proporción, en las distintas condiciones tiende a ser menos asimétrica en referencia al control con el tiempo.

Las observaciones acerca de la relación Na/Mg, muestran que la misma aumenta en todas las plantas en medios salinizados, y esto ocurre en un lapso mensual. En este período, la variación mínima observada inicialmente en medios con NaCl fue alrededor del 13 % y la máxima mayor del 100 %, en tanto que la ejercida por KCl osciló entre el 60-70 %, respectivamente. Posteriormente, el cociente tendió a ser parecido con el tiempo y entre las diferentes sales (Fig. 16).

## 7. DISCUSIÓN

### *Respuestas morfológicas*

Las respuestas morfológicas de las plántulas en contacto con la salinidad son rápidas y cuantitativas. Estas respuestas son sencillas, baratas y fáciles de medir. La estimación de dichas respuestas permite realizar evaluaciones continuas en un período de tiempo a diferencia de las respuestas bioquímicas que son puntuales y demandan el sacrificio de las plantas. Las respuestas morfológicas de *A. Hypochondriacus* a la salinidad mostraron cambios notables en el número de hojas, área foliar y relación raíz/tallo (figs. 3-7), generalmente relacionados con la concentración y el tipo de sal. Al respecto, Waisel (1972), Greenway y Munns (1980) y Cheeseman (1988), entre otros, encontraron estas mismas respuestas vegetales a la salinidad. Las plantas pueden variar su morfología y su anatomía como respuesta a cambios ambientales (Seliskar, 1985; Sánchez y González, 1992). De estos cambios, el área foliar y la proporción raíz-parte aérea son de suma importancia. Una reducción en la cantidad de hoja tiene consecuencias muy perjudiciales para la planta ya que interfiere con su desarrollo (Waisel, 1972), afectando la asimilación del carbón (Yeo et al., 1991; Flowers et al., 1991). En estrés salino, la reducción foliar puede ser rápida y pasajera en cebada como consecuencia de una reducción de su turgencia (Thiel et al., 1988), que no es nuestro caso, pero en el plazo largo (días o semanas) dicha reducción no está relacionada con la salinidad que afecta la raíz (Cramer y Bowman, 1991). El crecimiento en esta circunstancia es consecuencia del déficit hídrico y caída del potencial osmótico provocado por la alta concentración salina del medio (Haddad y Coudret, 1992), y por daño salino a las zonas de crecimiento (Katsuhara y Kawasaki, 1996). Trejo Calzada et al., (1991) en células en cultivo de *A. hypochondriacus*, confirmaron que existe ajuste osmótico de esta especie como respuesta al medio salino. Registraron que el potencial osmótico en condiciones salinas de NaCl, disminuyó casi en forma paralela hasta la concentración de 400 mM y que el potencial de turgencia se mantuvo

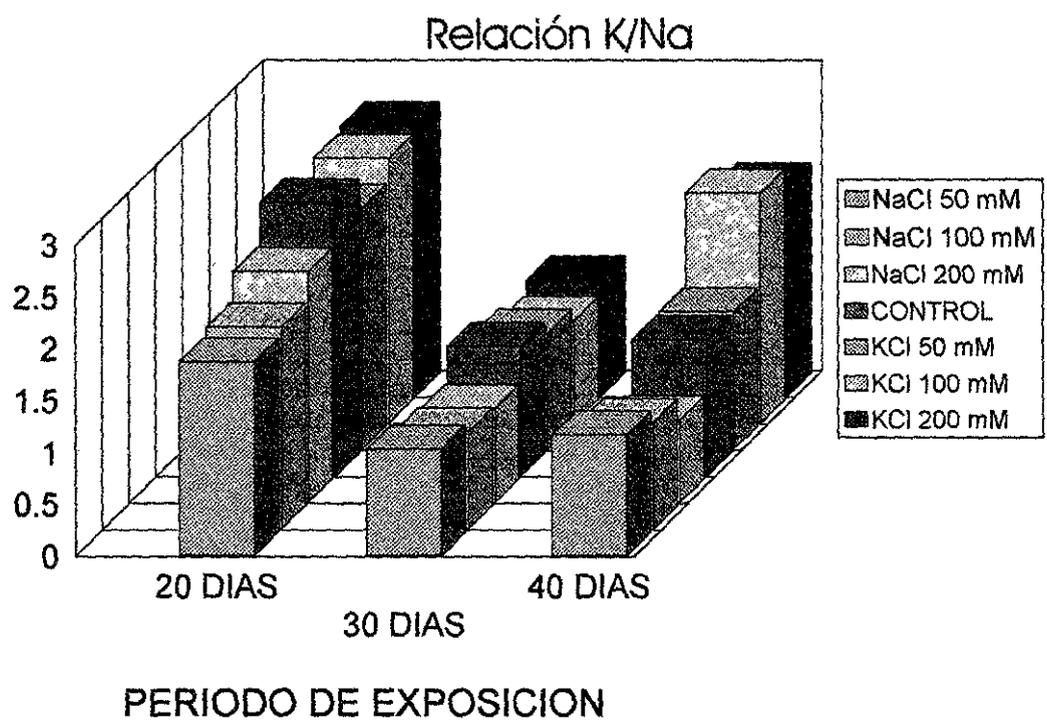
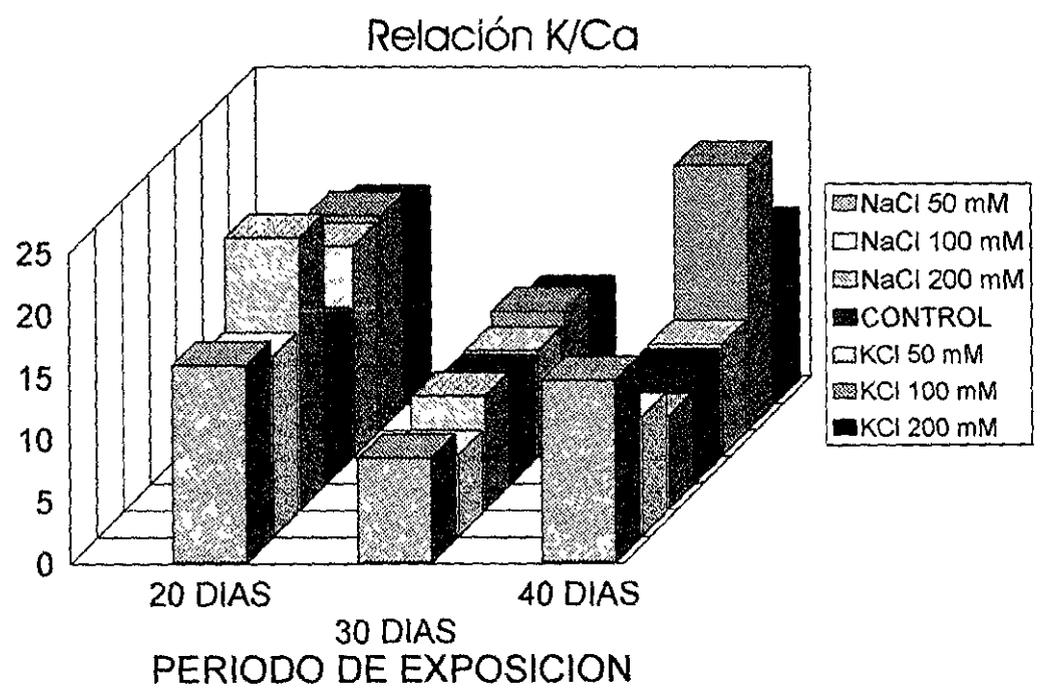


Fig. 12 Datos promedio de dos réplicas



g. 13 Datos promedio de dos réplicas

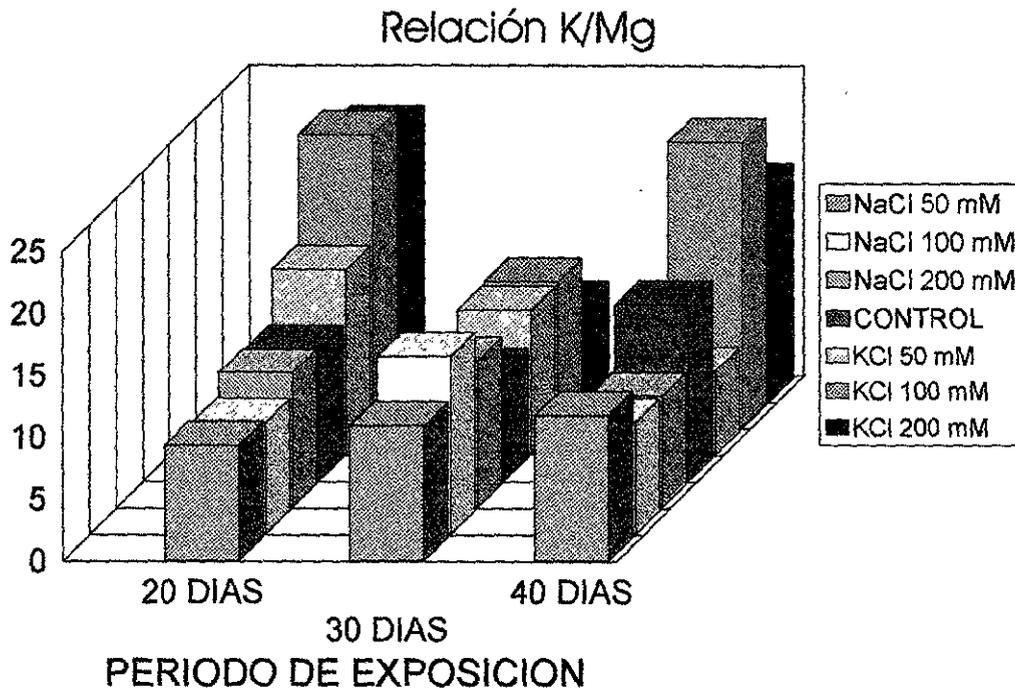


Fig. 14 Datos promedio de dos réplicas

# Salinidad y proporción iónica

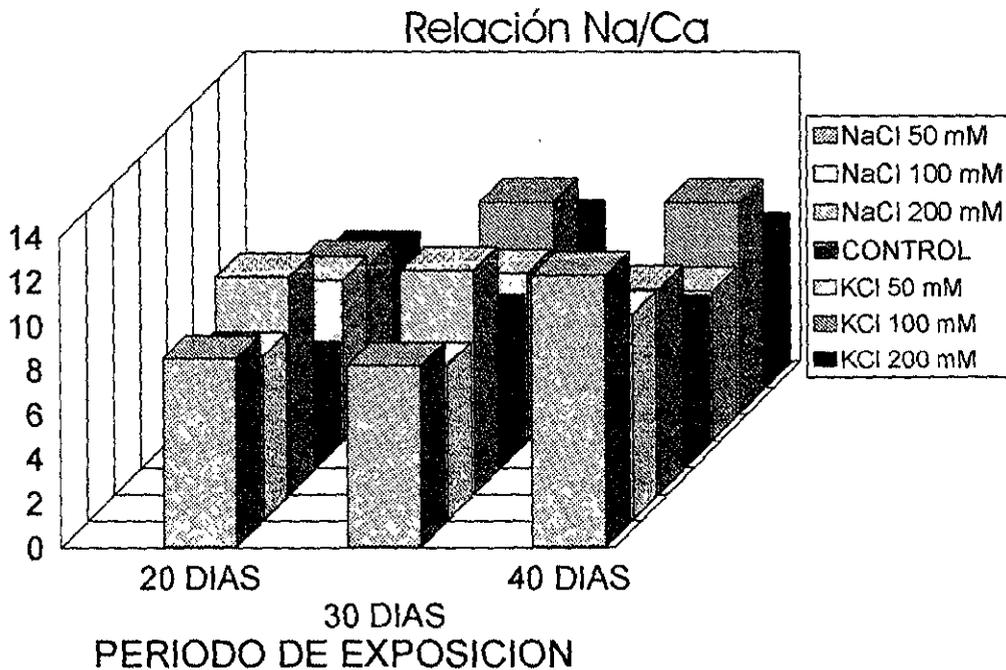


Fig. 15 Datos promedio de dos réplicas

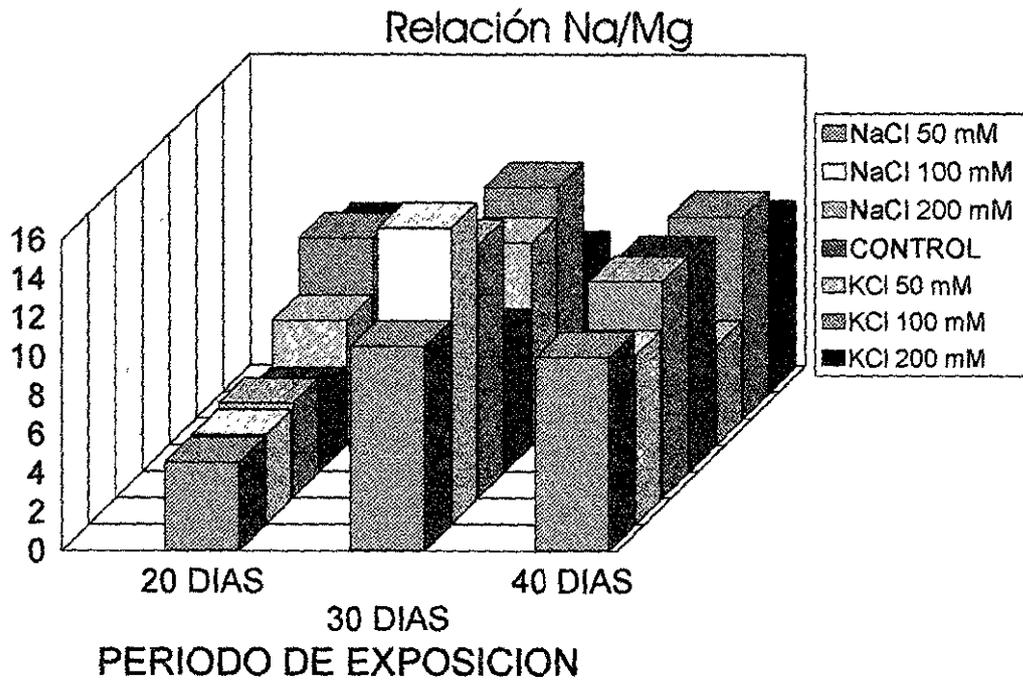


Fig. 16 Datos promedio de dos réplicas

## Concentraciones Iónicas en el Tiempo

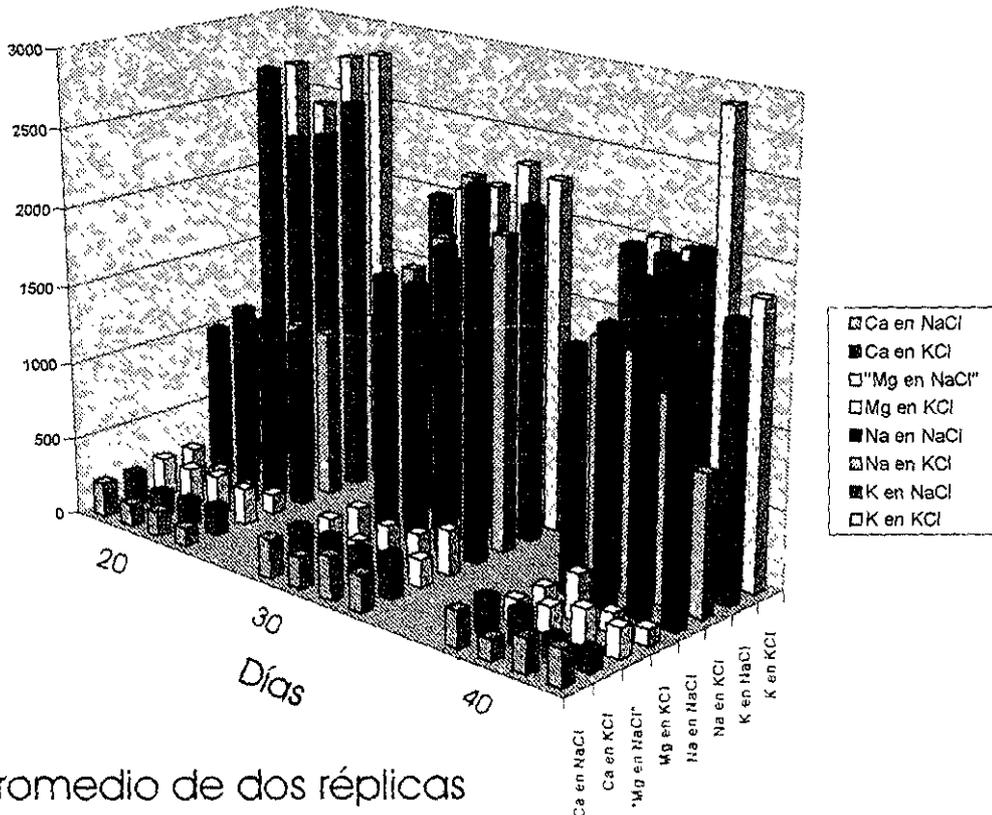


Fig. 17 Datos promedio de dos réplicas

positivo a presiones osmóticas cercanas a 2.0 MPa. También, dichos autores estimaron el potencial osmótico mediante la plasmólisis incipiente y encontraron un valor de  $-2.3$  MPa, ambos, este y el anterior, son valores mayores a una condición de sequía.

El KCl también debe inducir en el amaranto dicho ajuste por lo parecido de la respuesta de esta variable, y la diferencia en la cantidad del efecto podría ser a que ambas sales ocasionan en el medio potenciales osmóticos diferentes (Yokoishi y Tanimoto, 1994), lo que explica la diferencia en cantidad de área foliar en los distintos tratamientos.

Los efectos adversos del estrés salino en el vástago se observan también por la reducción en el número de hojas (fig. 7) y la reducción en el contenido de agua de las plantas (no se muestran resultados). Observaciones similares para otras especies son reportadas por Munns y Termaat (1986), Richards (1992), Rogers y Noble (1993), Shalhavet *et al.*, (1995) y López y Satti (1996), de cuyos resultados se deduce, que el efecto negativo de la alta salinidad sobre el crecimiento de la raíz es casi siempre menos severo que el efecto sobre las partes aéreas (tallos, hojas, frutos etc.) por lo que la relación raíz/tallo generalmente aumenta. Esto es un rasgo distinto al que produce la sequía en el amaranto. Al respecto, De la Cruz y Frias (1991), reportan constancia de la proporción como respuesta a sequía.

Wilson (1988) sintetiza la información y concluye que el crecimiento de la raíz depende de los residuos de asimilados disponibles después que el vástago ha tomado sus necesidades. También que es la relación C/N el factor que regula dicho mecanismo. Anteriormente otros (ejemplo, Brouwe, 1962) puntualizo que el crecimiento es controlado por carbohidratos y nitrógeno. De acuerdo a esto, ante una deficiencia de nitrógeno, la mayor parte de N consumido es usado por la raíz para su desarrollo, por ende disminuyendo la relación T/R. Ericsson (1995) explica que la disminución de dicha relación existe cuando minerales muy asociados con la fijación de carbono (K, Mg y Mn) se encuentran en cantidades bajas en el medio. Sucede lo contrario cuando minerales involucrados fuertemente con la síntesis de tejidos nuevos (N, P y S) limitan el desarrollo. Por otra parte, Yeo *et al.*, (1991) y Flowers *et al.*, (1991) creen que la inhibición del crecimiento del vástago como una respuesta a largo plazo de exposición salina (semanas o meses) estaría gobernada por una acumulación excesiva de sal (endurecimiento) en las hojas, pero deberían ser las hojas jóvenes que son las que están en crecimiento ya que se ha detectado esto como respuesta a salinización excesiva o crónica (exposición a largo plazo) en todas las áreas con células en expansión permanente (Neumann, 1995). Por esto mismo, la inhibición de la tasa de crecimiento es común a los ápices de crecimiento de la raíz como del tallo. La inhibición altera, posiblemente, los insumos metabólicos que regulan la síntesis de los polímeros de la pared y/o su extensibilidad, esto último ya demostrado en el maíz (Neumann *et al.*, 1994). En este contexto, en mis observaciones encontré que las raíces de las plantas en los tratamientos salinos tenían una apariencia más adelgazada y quebradiza que aquellas de las plantas en condiciones control. Así, retomando y aplicando a mis propios registros las ideas esbozadas en las últimas cuatro investigaciones aquí citadas, la raíz y el tallo inhiben su desarrollo por endurecimiento (mineralización excesiva de ambos órganos) y tienen serios problemas metabólicos a niveles salinos de 200 mM por ambos tipos de sales aunque suceden más rápidamente cuando es cloruro de sodio la sal (fig. 7). Esta explicación permite razonar que las plantas crecidas en los tratamientos más salinos tenían las mayores concentraciones de elementos en dichas estructuras

### *Respuestas fisiológicas*

De acuerdo con las observaciones al respecto, se percibe que existe tanto reducción de la germinación como retraso del proceso y que a salinidades altas lo hace de forma drástica y abrupta. También dicho patrón se presenta en ambos tipos de sales si bien es más evidente en una de ellas (fig. 9) Estas respuestas son algo ya reportado. Por ejemplo, la germinación es afectada por: a) una salinidad más allá del límite de tolerancia de una especie o b) retrasando la germinación de la semilla por niveles salinos que le causan estrés pero no evitan su germinación (Marcar, 1986; Howes y Ungar, 1997). En condiciones extremas también existe la posibilidad de inhibición total de germinación o muerte de las semillas.

En el primer punto se puede dañar el embrión por exceso de ciertos iones tóxicos y los altos valores de potencial osmótico del medio lo que origina déficit hídrico, en tanto que en el segundo, se interfiere con la imbibición (consumo de agua) del embrión pero no la impiden totalmente, al menos no en todas las semillas, solo se retarda su consumo. Por su parte, Poljakoff-Mayber *et al.*, (1994) esgrimen que el efecto de la salinidad sobre la imbibición es en gran medida osmótico, pero la germinación es inhibida aparentemente por la combinación de efectos osmóticos e iónicos. Shannon (1985) comenta que los efectos salinos pueden variar dependiendo el estado de desarrollo al momento del estrés. De hecho, la tolerancia salina durante la germinación no está relacionada consistentemente a la tolerancia durante la emergencia, o al tamaño o volumen. Esto último lo muestran nuestras observaciones ya que hubo germinaciones altas a pesar de la variación en las dimensiones de la semilla (fig. 1). De acuerdo con Howes y Ungar (1997), en todas pero sobre todo en las situaciones más extremas, el estrés salino tiende a desarrollarse con el tiempo y paralelo con el estrés hídrico y afecta más al adulto que a las plántulas. Sucede lo contrario por el estrés hídrico. Además, se sabe que sales de NaCl producen potenciales osmóticos más altos que aquellos producidos por KCl (Yokoishi y Tanimoto, 1994). A este respecto, Badger y Ungar (1991) creen que la germinación no es un estado del ciclo vital de *Hordeum jubatum* que limite su distribución a lo largo de un gradiente salino. De hecho, la germinación de varias especies se acelera con un precondicionamiento osmótico como el de imbibir las semillas en soluciones salinas. Incluso, se han observado que ciertos niveles de salinidad en el medio indujeron aumentos de betaina en la semilla de *Suaeda japonica* y esto pareció asegurar la germinación aún bajo estrés salino (Howes y Ungar, 1997) Todo lo anterior explicaría por que existe una tasa diferencial de imbibición y germinación de la semilla de amaranto entre los tratamientos salinos y entre los tipos de sales en estos resultados. También permite entender porque existió germinación (aunque mínima) en niveles muy salinos, ¿ acaso debido a algún sustancia como la betaina? )

Por otra parte, sí la exposición a los potenciales osmóticos altos es a largo plazo (días, semanas), entonces la falta de agua y concomitantemente de suministro apropiado de nutrimentos, conlleva a mortalidades altas. A este respecto, el porcentaje de mortalidad puede esperarse relacionado con los potenciales osmóticos (fuerza iónica) de los tratamientos. A lo largo del estudio, la sobrevivencia fue significativamente menor a altas concentraciones de NaCl y KCl que con respecto a salinidades mínimas e inexistentes (Fig 10). Estas observaciones son consistentes con otras investigaciones previas (Rogers y Noble, 1993).

Aquí cabe comentar que en las que sobreviven, van cargando y acumulando una serie de cambios morfológicos muy importantes, que son limitantes en el crecimiento global de la planta, reducción de número de hojas y por ende de área foliar y también con el tiempo, un mayor relación raíz/tallo (fig. 7), esto es mayor cantidad de raíz que de vástago. Tollenaar (1989 citado por Richner *et al.*, 1996) señalan que tan acusado desarrollo de la raíz no es ventajoso durante el crecimiento vegetativo ya que el aumento del área foliar tiene un impacto directo y positivo en la tasa de materia seca (biomasa) ya que consume asimilados que alternativamente podrían invertirse en área foliar fotosintéticamente activa (Russel, 1977. en Richner *et al.*, 1996). La acumulación de biomasa en ellas, es lenta o mínima dependiendo de la cantidad de sal y tiempo de exposición, que es mi caso, y el de Rogers y Noble (1993), y de Haddad y Coudret (1991). En síntesis se puede afirmar que la reducción de la biomasa, como respuesta a la salinidad, estuvo asociada con una reducción de todas las variables morfológicas, tendencia ya descrita en otros reportes (Sinha *et al.*, 1986)

#### *Relaciones catiónicas.*

En estos resultados, las relaciones iónicas y el crecimiento de amaranto en NaCl y KCl están muy influenciadas por la cantidad y proporción en el medio de crecimiento de algunos cationes. En general, las concentraciones de K aumentaron con los niveles crecientes aplicados de KCl mientras que se detectaron tendencias inversas en las concentraciones de Na, Ca y Mg. Cuando el medio fue NaCl, el sodio predominó y aumentó su concentración en el tejido conforme lo hizo el medio, con una disminución paralela de K, Ca, y Mg. Dos aspectos es necesario resaltar: el primero ejemplifica antagonismos muy evidentes entre varios iones, y el segundo denota concentraciones y proporciones particulares con efectos muy dañinos sobre la planta.

Los antagonismos más notables son entre K/Na, Na/Ca y K/Mg, en menor evidencia el de K/Ca mientras que para Na/Mg no hubo patrón constante de antagonismo solo decremento temporal y variable entre los tratamientos salinos así como entre las sales (figs. 13 y 15). De la competencia entre K/Na poco se puede añadir solo se ratifica que existe también para el amaranto. Existe ya todo un historial bien documentado al respecto (véase Competencia Iónica, en el marco histórico). Baste solo comentar en este momento que la causa primaria de daño salino en la célula, es un aumento en la permeabilidad de la membrana debido a la alta relación de dichos cationes (Greenway y Munns, 1980; Berezi *et al.*, 1982), valores que son comunes en las plantas de amaranto crecidos en salinidades > 100 mM.

Acerca de la relación sodio-calcio, Rengel (1992) menciona que las altas concentraciones de NaCl en los medios de crecimiento de los vegetales reducen la concentración promedio de Ca<sup>++</sup> en los órganos vegetales en la mayoría de las plantas. Cramer y Jones (1996) encuentran que el cloruro de sodio causó un rápido decremento de calcio en los tejidos de *Arabidopsis thaliana* (Cruciferae) y la respuesta fue proporcional a la concentración externa de esta sal. El efecto se debe, posiblemente, a una capacidad reducida de transporte de Ca<sup>++</sup> en células en estrés salino (Cramer y Jones, *op cit*) aunque Cramer *et al.*, (1985) confirmaron en el algodón, la hipótesis de que sodio desplazaba al calcio de la superficie de la membrana celular, con eflujos celulares, de cationes de K. La sustitución

afecta la integridad de la membrana, particularmente del plasmalemma y en consecuencia la capacidad de selectividad K/Na. Además, Lynch *et al.*, (1987), complementaron que el efecto del cloruro de sodio no dependía del presente en el apoplasto. Posteriores estudios en protoplastos de maíz (Lynch y Lauchli, 1988) confirmaron la teoría del desplazamiento del calcio intramembranal. Estos mismos autores sugieren, el  $\text{Ca}^{++}$  es desplazado mediante la activación del sistema fosfoinositol y por agotamiento de las reservas intracelulares de este elemento. Rengel (1993), añade a lo anterior, que el sodio además de reducir la fijación de calcio promovería su eflujo y agotamiento de las reservas cálcicas de las endomembranas. Colateralmente, se reduciría instantáneamente la cantidad de  $\text{Ca}^{++}$  transferido a las células foliares, la actividad del mismo descendería y aumentaría la del sodio en el apoplasto de las células de la hoja. Ya que el Na desplaza al Ca de la membrana plasmática, la proporción de Na/Ca ligada al lado apoplástico de la membrana y cambiaría instantáneamente la fisiología y función de la misma (Lauchli, 1990), afectando la homeostásis del calcio (Rengel, 1992).

El control de la permeabilidad de las membranas esta relacionada con los componentes lipídicos de la matriz (Kuiper, 1984) y el primer síntoma de estrés salino es la alteración funcional y estructural de dichas membranas. Surjus y Durand (1996) añaden, de sus experiencias con soya, que la pérdida de los ácidos grasos de fosfolípidos es correlativa con una saturación incrementada del total de los ácidos. Estos mismos investigadores, citando a Kasamo (1990), refieren que los ácidos grasos alteran las propiedades de las membranas, cambiando su fluidez, permeabilidad o actividad enzimática de ATPasas, enzimas que son cruciales en los procesos de captación y selección de iones nutrimentales, además de desbalance en el consumo de nutrientes (Flowers, 1985) Las más conocidas son las ATPasas dependientes de Na/K y la dependiente de Na. Esta última, en particular, es suprimida cuando se expone a las plantas a salinidad (Erdei *et al.*, 1980), indicando que la exposición de la planta a salinidad por NaCl a largo plazo, induce a cambios conformacionales del translocador de  $\text{Na}^+$  del complejo de la ATPasa. También, la actividad más general de la ATPasa estimulada por Ca/Mg, se deprime en especies de *Plantago* cuando se les creció en estreses salinos extremos (Kuiper, 1984).

La competencia entre K/Mg se ha reportado que inhibe el crecimiento de biomasa en trigo (Berezi *et al.*, 1982), el arroz (Borha y Doerffling, 1993), y el sorgo (Ologunde y Sorensen, 1982). Estos últimos sumarizan este antagonismo también en maíz, frijol y alfalfa. Además, el K en concentraciones altas promueve activamente los eflujos celulares de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y de Mg, iones que habían ingresado pasivamente (Reinbot y Blevins, 1991). En mis observaciones este comportamiento puede explicar porque el K, en niveles de 200 mM en las soluciones de crecimiento, tuvo efectos notorios en la disminución en el consumo sobre todo de, calcio y magnesio en el amaranto (figs. 13 y 15). Las cantidades de calcio y magnesio no mantuvieron una tendencia constante en los medios salinos (fig. 13 y 15) sino que fueron muy variables entre los tratamientos y a lo largo del tiempo. Al respecto, Reinbott y Blevins (1991) señalan que el consumo y translocación de Mg y Ca en las plantas, es sensible al antagonismo por otros cationes, y su concentración en el sorgo es dependiente del momento de desarrollo (Jacques *et al.*, 1975), lo que se ajusta bastante bien mis observaciones con las plántulas.

De la relación K/Ca, esta casi siempre es mayor en los individuos de los tratamientos salinos que cuando se observa en las plantas de la solución control además de variable incluso a lo largo del tiempo (fig. 13). Esto significa que en general siempre se consume más K que Ca sin distinción del tipo y medio salino. Nordstrom (1982) en su trabajo menciona que en la teoría de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de la raíz, el contenido de calcio de una planta disminuye y el de potasio aumenta en la medida que la CIC de la raíz declina (¿cuando ya perdió su capacidad incluso selectiva por el endurecimiento ?) con un aumento de la relación K/Ca como consecuencia. Mis datos y observaciones, aunque no los puedo considerar concluyentes, concuerdan de forma global con dicha teoría. Este mismo investigador encuentra relaciones K/Ca  $\leq 3.0$  para alguna leguminosas, y  $\geq 4.5$  para ciertas especies de gramíneas. De acuerdo con esto, *A hypocondriacus* cae dentro de este último grupo, a nivel de varios pastos considerados como especies halófilas.

Por otra parte, mis registros en el tejido de amaranto detectan concentraciones y proporciones catiónicas con efectos severos sobre la planta (Fig. 17). Todas las variaciones morfológicas y fisiológicas fueron máximas en las concentraciones más salinas, para ambas sales. En este punto, las plantas crecidas en medios salinizados con NaCl, mostraron cantidades altas de Na<sup>+</sup> y disminución de las de K<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup> y de Mg, en relación a las registradas en los individuos en condiciones control (figs 13-14), además de relaciones (K/Na < 1.0, Na/Ca > 9.0 y Na/Mg > 11), que varían en un 63 %, 40 % y  $\pm$  del 4 % respectivamente en consideración a las no estresadas. Estos hechos son patrones similares a los reportados para plántulas de maíz (Johanson y Cheeseman, 1983), la cebada (Pitman, 1984), el trigo y girasol (Richards, 1992), el maíz (Jakobsen, 1993) y el jitomate (López y Satti, 1996). Mis registros muestran la concentración de Na, al igual que Sinha et al., (1986), como el mejor indicador de estrés en el amaranto, pero contrastan con los mencionados por Kang et al., (1998) quienes arguyen que la sensibilidad salina de *Arabidopsis* no depende del contenido celular de Na, hipótesis que también comparten Cramer et al., (1994) por sus estudios en híbridos del maíz. De las cantidades y relaciones elementales encontradas en amaranto desarrollado en medios con KCl, el mayor daño al vegetal se percibió en los valores de K/Ca > 13 y K/Mg > de 17 que significan valores mayores de hasta 56.7 % y 21.4 % siempre con respecto al control. En síntesis se puede señalar en primer termino, que la salinidad de cloruro de sodio provoca consumos inapropiados de iones, unos por su toxicidad *per se* y otros cuya limitación tendrá efectos importantes en procesos fotosintéticos y de crecimiento (Ca<sup>+</sup> y Mg<sup>+</sup>). En segundo, que en el estrés provocado por KCl, el potasio no ejerce toxicidad por si solo, sino por sus efectos antagónicos con el calcio y el magnesio, elementos de necesidad fundamental para cualquier planta. Aquí cabe añadir que las relaciones iónicas en el amaranto no son constantes (estáticas) sino que cambian con la edad; algunas aumentan y otras disminuyen y otras más oscilan. En las que esta involucrado el potasio parecen disminuir (al menos durante el período considerado), mientras que las de sodio actúan de forma contraria (figs, 12-16). Este rasgo podría implicar que a etapas de mayor desarrollo, ¿la alegría es más tolerante a sales de sodio?. Esto es algo que debe establecerse en investigaciones futuras, además de evaluar el impacto que pueda tener sobre la producción de semilla y sus características bromatológicas.

Del efecto catiónico sobre estructuras, se ha reportado (Devitt *et al.*, 1984) que la concentración muy salinas en el medio externo disminuyo la elongación de raíz de sorgo (*Sorghum bicolor*) y provoco la caída de los niveles de  $\text{Ca}^{++}$  en el tejido, mientras que el trigo (*Triticum eastivum*) siguió una tendencia contraria. Jakobsen (1993) también encontró afectación de la funciones de la raíz de maíz, y eflujos activos de  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ . Aportes insuficientes de estos elementos macronutrientes y del potasio pueden conducir a un decremento o estancamiento general del crecimiento de la planta. Por ejemplo, se sabe que el potasio realiza funciones importantes en los procesos de ajuste osmótico y beneficia a la planta incrementando la fuerza de consumo hídrico. Ya se ha encontrado que un decremento de este elemento en la raíz, induce una disminución en la eficiencia fotosintética. No menos importantes son la funciones del calcio; involucrado en la elongación y división celular, componente de los pectatos de las paredes celulares, ayuda a mantener la estructura y permeabilidad (selectividad) de las membranas celulares (Bennet, 1993; Leopold y Willing, 1984 ). Esto explicaría las reducciones de área foliar y número de hojas respectivamente en este estudio y que son respuestas también ya observadas recientemente (López y Satti, 1996). Estos hechos resaltan la importancia de la nutrición del potasio y calcio por el amaranto en condiciones salinas sobre todo en lugares con escasa disponibilidad de los mismos como son los suelos salino-sódicos (con exceso de sodio) o los de origen ígneo con escasa disponibilidad o ausencia de potasio y calcio entre otros nutrientes de importancia para un desarrollo óptimo.

Evidencias adicionales de consumo inapropiado sobre todo de calcio son los síntomas presentados por las plántulas. Jacobsen (1993) asegura que los enrollamientos de las hojas de maíz son deficiencias seguras de calcio en la planta y que los tintes púrpuras indican suministro insuficiente de fósforo. Como se observa, estos mismos síntomas presentaron las plántulas de amaranto en algunos tratamientos salinos por ambas sales. El significado entonces es que, el amaranto sufrió también concomitantes disminuciones en el suministro de fósforo.

Los resultados aquí presentados resaltan la importancia del conocimiento de la nutrición del amaranto en medios salinos. También, se puede pensar que la salinidad tiene un efecto regulatorio sobre el crecimiento aumentando la mortalidad, decrementando el consumo hídrico y de nutrientes importantes para funciones metabólicas y de acumulación de iones tóxicos. Además, las observaciones anteriores permiten distinguir detalles de planta halofita (facultativa) en *A. hypochondriacus*, ya que tolera algunos niveles salinos y concentraciones y proporciones iónicas que para otras plantas serían perjudiciales.

Al final de todo, se puede sintetizar un panorama con los hechos de la siguiente manera: el amaranto, a nivel de semilla, expuesto al ambiente salino sufre problemas iniciales de restricción hídrica, posiblemente por la fuerza iónica de la solución de crecimiento salinizada, que sin embargo no impiden la germinación sino solo a concentraciones de 200 mM. Ya en desarrollo, el medio salino ocasiona cambios morfológicos, anatómicos (y lógicamente debe haber también funcionales el ajuste osmótico hasta valores mayores a situación de sequía) de la raíz. Lo anterior significaría un crecimiento general global pero más de la masa radicular que, en niveles mayores de 100 mM o de exposición a largo plazo, consumiría una mayor cantidad de energía que la asignada a la parte aérea (vástago) y paralelamente un daño por sustitución gradual de calcio de la estructura membranal de las células de la raíz (endurecimiento que le permite al vegetal tolerar el estrés salino durante un

tiempo más), hecho que provocaría selección y tasas inapropiadas de captación de cationes (consumo excesivo de  $\text{Na}^+$  y eflujos celulares activos de  $\text{K}^+$  y principalmente de  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ ). El suministro inadecuado a las zonas de crecimiento de elementos promotores de elongación y división celular así como de área fotosintéticamente activa, son hechos que inhiben a la larga el crecimiento global del amaranto como, reducción de cantidad de lamina foliar, del tallo, e incluso de la raíz, y por ende en la cantidad total de biomasa. Con el tiempo (dependiendo de la concentración y tipo de sal), elementos como el  $\text{Na}^+$  y en menor medida el  $\text{K}^+$  se concentran internamente en la planta a niveles tóxicos (las plantas se tornan más “pesadas”, Richards, 1992), necrosando ápices y laminas foliares y doblando al vegetal por ausencia de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  y P, impidiendo cualquier suministro hídrico o nutrimental y provocando la muerte del individuo. Esta fase final sería relativamente rápida, cuestión de días. Esta descripción es muy parecida para ambos tipos salinos ( $\text{NaCl}$  y  $\text{KCl}$ ), y la diferencia entre ambas sales parece ser solo de intensidad y de tiempo: es más intensa y rápida la debida al  $\text{NaCl}$ .

## 8. CONCLUSIONES

Las evidencias indican que el crecimiento de la alegría es regulado por factores tanto externos como internos que se van acumulando cuando es expuesta a gradientes salinos

Se observaron diferencias significativas en las características morfológicas y fisiológicas como respuesta al estrés salino de *Amaranthus hypocondriacus*. a nivel de semilla y de plántula.

Las concentraciones de 200 mM por ambas sales siempre ejercieron efectos detrimentales al amaranto aunque concentraciones de 100 mM, particularmente las debidas a y NaCl, con el tiempo mostraron efectos tan notables como las de 200 mM.

Niveles altos de K y Na en las soluciones de crecimiento indujeron consumos altos de ellos en el amaranto con disminuciones paralelas de Ca y Mg, y causaron proporciones catiónicas que causan daños en el corto plazo y en largo plazo.

Proporciones cationicas de  $K/Na < 1.0$ , de  $Na/Ca > 9.0$  y de  $N/Mg > 11$  causaron los mayores daños por el estrés salino.

Las relaciones iónicas en el amaranto cambian con la edad; algunas aumentan y otras disminuyen.

Su cultivo en áreas con suelos salino sódicos es posible a condición de exista potasio y calcio que permitan alcanzar proporciones como las que se alcanzan cuando existe en el medio  $< 100$  mM de NaCl y hasta 100 de KCl

## 10. REFERENCIAS

- Alejandre, G. y Gomez .F. 1986. Cultivo del amaranto en Mexico. UACH. Mex.
- Allen, G; Wyn Jones, R.G. and Leigh. R.A. 1995. Sodium transport measured in plasmma membranes vesicles isolated from wheat genotypes with differing K /Na discrimination traits. *Plant Cell and Environment* 18: 105-115
- Anderson, W.P. 1972. Ion transport in the cells of higher plant tissues. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23: 51-72
- Badger, K; Ungar, I. 1991. Life history and population dynamics of *Hordeum jubatum* along a soil salinity gradient. *Can. J. Bot.* 69: 384-393
- Bal, A.R; Dutt, S. 1986. Mechanism of salt tolerance in wild rice (*Oryza coarctata* Roxb). *Plant and Soil* 92: 399-404
- Bano, A; Dorffling, K; Bettin, D and Hahn, H. 1993. Abscisic acid and cytokinins as possible root-to-shoot signals in xylem sap of rice plants in drying soil. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 109-115
- Barba de la Rosa, A.P; Paredes O. And Gueguen, J 1992a. Characterization of amaranth globulins by ultracentrifugation and chromatographic techniques *J. Agric. Food Chem.* 40: 937-940
- Barba de la Rosa, A.P; Gueguen, J; Paredes, O and Viroben, G 1992b. Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins *J. Agric. Food Chem.* 40: 931-936
- Bartels, D and Nelson, D. 1994 Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant, Cell and Environment* 17: 659-667
- Bazzaz, F.A; Nona, R; Chiarello, N.R. Coley, P.D and Pitelka, L.F 1987 Allocating resources to reproduction and defense. *Bioscience* 37: 58-67
- Bennet, W. 1993. Plant nutrient utilization and diagnostic plant symptoms. In *Nutrient deficiencies & toxicities in crop plants*. Ed. W. Bennet. APS Press St. Paul, Minnesota. USA.
- Bensen, R; Boyer, J. And Mullet, J. 1988. Water deficit-induced changes in abscisic acid, growth, polysomes, and translatable RNA in soybean hypocotyls. *Plant Physiol.* 88: 289-294
- Berezi, A; Olah, Z; Fekete, A and Erdci, L. 1982. Potassium transport in wheat seedlings grown with different potassium supplies. I. Ion contents and potassium influx. *Physiol. Plant.* 53: 371-376
- Berstein, N; Silk, W.K and Lauchli, A. 1995. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: possible role of some mineral elements in growth inhibition. *Planta* 296: 699-705
- Betschart, A; Irvinget D; Shepherd, A and Saunders, R. 1981. *Amaranthus cruentus*: Milling Characteristics, distributions of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality. *J. Food Sci.* 46: 1181-1187
- Blatt, M and Thiel, G. 1993. Hormonal control on ion channel gating. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 543-567
- Blumwald, E. 1987. Tonoplast vesicles as a tool in the study of ion transport at the plant vacuole. *Physiol Plant.* 69: 731-734
- Bohra, J.S and Doerffling, K. 1993. Potassium nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) varieties under NaCl salinity. *Plant and Soil* 152. 299-303

- Braun, Y.; Hassidin, M.; Lerner, H. And Reinhold, L. 1988. Evidence for a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport in membrane vesicles isolated from roots of the halophyte *Atriplex nummularia*. *Plant Physiol.* 87: 104-108
- Casillas, G. F. 1985. Obtención de nuevos productos a partir de la semilla de alegría. *Memorias sobre el congreso de amaranto*. UACH. Texc. Méx. Pp 300-306
- Canny, M.J. 1990. What becomes on the transpiration stream ?. *New Phytologist.* 114; 341-368
- Cavaliere, A.J and, Huang A.H. 1979. Evaluation of proline accumulation in the adaptation of diverse species of marsh halophytes to the saline environment. *Amer. J. Bot.* 66 (3): 307-312
- Chapin, F.S. 1980. The Mineral nutrition of wild plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 233-260
- Chapin, F.S; Bloom, A; Field, C.B and Waring, R. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. *Physiological ecology provides tools for studying how interacting environmental resources control plant growth.* *Bioscience.* 37(1): 49-57
- Chapin, F.S. 1991a. Integrated responses of plants to stress. A centralized system of physiological responses. *Bioscience.* 41(1) 29-36
- Chapin, F.S. 1991b. Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. en: *Response of Plants to Multiple Stresses* H.A, Mooney; W.E, Winner; E.J, Pell and E, Chu (eds) Academic Press. N.Y. pp 67-88
- Cheeseman, J.M. 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.* 87: 547-550
- Cleland, R. E. 1987. The mechanism of wall loosening and wall extension. In *Physiology of Cell Expansion During Plant Growth*. eds. D. S. Cosgrove and D. P. Knievel. pp 18-27. American Society of Plant physiologists, Rockville, MD.
- Correa, A.D ; Jokl, L and Carlsson, R. 1986. Amino-acid composition of some amaranthus Sp. Grain protein and its fractions. *Arch. Latinoam. Nutr.* 36 (3): 466-476
- Cosgrove, D. 1987. Wall relaxation and the driving forces for cell expansive growth. *Plant Physiol.* 84: 561-564
- Cram, W. J. 1980. Chloride accumulation as a homeostatic system: negative feedback signals for concentration and turgor maintenance differ in glycophyte and halophyte. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 237-249
- Cramer, G.R; Lauchli, A and Polito, V.T. 1985. Displacement of  $\text{Ca}^{2+}$  by Na from the plasmalemma of root cells. A primary response to salt stress ?. *Plant Physiol.* 79: 207-211
- Cramer, G.R; Lauchli, A. and Epstein, E. 1986. Effects of NaCl and  $\text{CaCl}_2$  on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. *Plant Physiol.* 81: 792-797
- Cramer, G.R; Lynch, J; Lauchli, A and Epstein, E. 1987. Influx of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , and  $\text{Ca}_2^+$  into roots of salt-stressed cotton seedling. Effects of supplemental  $\text{Ca}_2$ . *Plant Physiol.* 83: 510-516
- Cramer, G.R and Bowman, D. 1991. Short-term leaf elongation kinetics of maize in response to salinity are independent of the root. 95: 965-967
- Cramer, G.R; Alberico, G and Schmidt, C. 1994. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 675-692
- Cramer, G.R and Jones, R.L. 1996. Osmotic stress and abscisic acid reduce cytosolic calcium activities in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environ.* 19: 1291-1298

- Davies, W.J and Zhang, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.* 42: 55-76
- De la Cruz, G.G y Frias, A.A 1991. Algunas respuestas de *Amaranthus hypocondriacus* bajo tres niveles de humedad. *Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto*. Oaxtepec, Morelos, Méx p 40
- Devitt, D; Stolzy, L. and Jarrel, W. 1984. Response of sorghum and wheat to different K/Na ratios at varying osmotic potentials. *Agron. Jour.* 76: 681-688
- Dickinson, R.E and Isebrands, J.G. 1991. Leaves as regulators of stress responses. en: *Response of plants to multiple stresses* H.A, Mooney; W.E, Winner; E.J, Pell and E, Chu (eds) Academic Press, N.Y. pp 4-34
- Doddema, H; Saad, R and Mahasneh, A. 1986. Effects of seasonal changes of soil salinity and soil nitrogen on the N-metabolism of the halophyte *Arthrocnemum fruticosum* (L) Moq. *Plant and Soil.* 92: 279-293
- Durieux, R P; Jackson, W.A.; Kamprath, E and Moll, R. 1993. Inhibition of nitrate by aluminium in maize. *Plant and Soil* 151: 97-104
- Epstein, E. 1966. Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. *Nature* 212: 1324-1327
- Erdei, L; Stuiver, B and Kuiper, P.J. 1980. The effect of salinity on lipid composition and on activity of Ca<sup>2+</sup> - stimulated and Mg<sup>2+</sup>-stimulated ATPase in salt-sensitive and salt-tolerant *Plantago* species. *Plant Physiol.* 49: 315-319
- Ericsson, T. 1995. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant and Soil* 168-169: 205-214
- Evans, D.E; Briars, S. And Williams, L. 1991. Active calcium transport by plant cell membranes. *Jour. Exp. Bot.* 42 (236): 285-303
- Fairly, K; Laver, D. and Walker, N. 1991. Whole cell and single-channel currents across the plasmalemma of corn shoot suspension cells. *J. Memb. Biol.* 121: 11-22
- Fitter, A.H and Hay, R.K. 1981. *Environmental physiology of plants* Academic Press, N.Y. pp. 225
- Flowers, T; Troke, P and Yeo, A. 1977. The Mechanism of salt tolerance in halophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 89-121
- Flowers, T.J. 1985. Physiology of halophytes. *Plant and Soil* 89 (1-3): 41-56
- Flowers, T.J, Hajibagheri, M.A. and Yeo, A. 1991. Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline conditions: evidence for the Oertli hypothesis. *Plant, Cell and Environment* 14: 319-325
- Flowers, T J and Dalmond, D. 1992. Protein synthesis in halophytes: The influence of potassium, sodium and magnesium in vitro. *Plant and Soil* 146 (1-2): 153-161
- Friedman, R; Altman, A *et al.* 1989. The effect of salt Stress on polyamine biosynthesis and content in mung bean-plants and in halophytes. *Physiol. Plant.* 76 (3): 295-302
- Gale, J and Zeroni, M. 1985. The cost to plants of different strategies of adaptation to stress and the alleviation of stress by increasing assimilation. *Plant and Soil* 89. 57-67
- Galloway, R and Davison, N.J 1993. The response of *Atriplex amnicola* to the interactive effects of salinity and hypoxia. *Jour. Exp. Bot.* 44 (260). 653-663

- Garbarino, J and Dupont, F.M. 1988. NaCl induces a Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in tonoplasto vesicles from barley roots. *Plant Physiol.* 86: 231-236
- Gorham, J., Wyn Jones, R and McDonnell, E. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant and Soil.* 89: 15-40
- Gorstein, S; Arnao, I and Arruda, P. 1991 Alcohol-soluble and total proteins from Amaranth seeds and their comparison with other cereals. *J. Agric. Food Chem* 39: 848 - 850
- Grattan, S.R., and Grieve, C.M. 1992. Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. *Agricult. Ecosystems and Environments* 38 (4): 275-300
- Greenway, H and Osmond, C. 1972. Salt responses of enzymes from species differing in salt tolerance. *Plant Physiol.* 49: 256-259
- Greenway, H and Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Ann. Rev. plant Physiol* 31 149-190
- Grime, J.P. 1982. Estrategias de adaptación de las plantas, y procesos que controlan las plantas. Limusa. Méx.
- Haddad, S et Coudret, A. 1991. Effets de l'adjonction de KCl ou de CaCl<sub>2</sub> sur la tolérance au NaCl chez deux cultivars de triticale ( Clercal et Beagle ). *Can. J. Bot.* 69: 2113-2121
- Hale, L.J. 1965. Biological data. 2<sup>a</sup> ed. Methuen & Co. London, U.K.
- Hanson, A.D and Hitz, W.D. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annu. Rev. Plant Physiol* 33: 163-203
- Harvey, D. and Thorpe, J. 1986. Some observations on the effects of salinity on ion distributions and cell ultrastructure in wheat leaf mesophyll cells. *Jour. Exper. Bot.* 37 (174): 1-7
- Hellebust, J.A 1985. Mechanism of response to salinity in halotolerance microalgae. *Plant and Soil.* 89: 69-81
- Horovits, C and Waisel, Y. 1970. Different ATPases systems in glycophytic and halophytic plant species. *Experientia* 2619: 941-942
- Howeler, R.H. 1983 Analisis del tejido vegetal en el diagnóstico de problemas nutricionales. Cent. Interam. de Agric. Trop. Cali, Colombia.
- Howes, K.C and Ungar, I.A. 1997. The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophytic species. *Amer. Jour. Bot.* 84 (1): 104-111
- Hsiao, T. and Jing, J. 1987. Leaf and root expansive growth in response to water deficits. In *Physiology of cell expansion during plant growth, Symposium in plant physiology.* Eds. D. J. Cosgrove and D. P. Knievel. Pennsylvania State University. Pp 180-192
- Huang, J.W; Grunes, D.L and Kochian, L. 1993. Aluminum effects on calcium uptake and translocation in wheat forages. *Agron. J.* 85: 867-873
- Hurkman, W.J. 1992. Effect of salt stress on plant gene expression: A review. *Plant and Soil* 146: 146-151
- Ingestad, T and Agren, G. 1995. Plant nutrition and growth: basic principles *Plant and Soil.* 168-169 15-20
- Jakobsen, S.T 1993. Nutritional disorders between potassium, magnesium, calcium, and phosphorus in soils. *Plant and Soil* 154: 21-28

- Jacques, G., Vanderlip, R. and Whitney, D. 1975. Growth and nutrient accumulation and distribution in grain sorghum. I. Dry matter production and Ca and Mg uptake and distribution. *Agron. Jour.* 67: 607-611
- Jefferies, R. 1981. Osmotic adjustment and the response of halophytic plants to salinity. *Bioscience* 31 (1): 42-46
- Jefferies, R.; T. Rudnik 1984. The responses of halophytes to salinity: An ecological perspective. In *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement.* eds. R.C. Staples and G.H. Toenniessen Wiley and Sons N.Y. 213-227
- Jennings, D.H. 1968. Halophytes, succulence and sodium in plants A unified theory. *New Phytol.* 67:899-911
- Jeschke, W.D and Nassery, H. 1981. K-Na selectivity in roots of *Triticum*, *Helianthus* and *Allium*. *Physiol. Plant.* 52: 217-224
- Jeschke, W.D; 1983. Cation fluxes in excised and intact roots in relation to specific and varietal differences. *Plant and Soil* 72: 197-212
- Jeschke, W.D. 1984. K<sup>+</sup>-Na<sup>+</sup> Exchange at cellular membranes, intracellular compartmentation of cation, and salt tolerance. In: *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement.* eds. Staples-Toenniessen. Wiley and Sons. N.Y. 37-65
- Jeschke, W.D and Wolf, O. 1985. Na dependent net K retranslocation in leaves of *Hordeum vulgare* cv, California Moriout and *Hordeum distachom* cv, Villa under salt stress. *J. plant physiol.* 121: 211-223
- Johanson, J and Cheeseman, J. 1983. Uptake and distribution of sodium and potassium by corn seedlings. Plant I. Role of the mesocotyl in sodium exclusion. *Physiol.* 73: 153-158
- Joshi, G.V; Jamale, B, and Bhosale, L. 1975. Ion regulation in mangroves. In *Proceedings of International Symposium on Biology and Management of Mangroves.* eds. G.E, Walsh; S. Snedaker and H. J. Teas. pp 595-607. Inst. of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, Florida.
- Kang, Z. J; Liu, J and Xiong, L. 1998. Genetics analysis of salt tolerance in Arabidopsis: Evidence for a critical role of potassium nutrition. *Plant Cell* 10:1181-1191
- Katsuhara, M and Kawasaki, T. 1996. Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots. *Plant Cell Physiol.* 37(2): 169-173
- Kefu, Z; Munns, R and King, R. 1991. Abscisic acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. *Aust. J. Plant Physiol.* 18: 17-24
- Klobus, G, Ward, M.R. and Huffaker, R.C. 1988. Characteristics of injury and recovery of net NO<sub>3</sub> transport of barley seedlings from treatments of NaCl. *Plant Physiol.* 87: 878-882
- Konishi, Y; Fumita, Y; Ikeda, K; Okuno, K and Kuwa, H. 1985. Isolation and Characterization of Globulins from *Amaranthus hypocondriacus*. *Agric Biol. Chem.* 49 (5) pp 1453 - 1459
- Kramer, D. 1984. Cytological aspects of salt tolerance in higher plants In: *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement.* Eds. R. Staples and G. Toenniessen. Wiley and Sons. N.Y. 3-15
- Krishna Rao, R and Gnanam, A. 1990. Inhibition of nitrate and nitrite reductase activities by salinity stress in *Sorghum vulgare*. *Phytochemistry* 29 (4). 1047-1049
- Kuiper, P.C. 1984. Functioning of plant cell membranes under saline conditions: membrane lipid composition and ATPases. In: *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement* eds Staples-Toenniessen. Wiley and Sons. N.Y. 77-95

- Lamaze, T.; Sentenac, H and Grignon, C. 1987. Orthophosphate relations of root: NO<sub>3</sub> effects on orthophosphate influx and secretion into the xilem. Jour. Exp. Bot. 38 (191): 923-934
- Larher, F; Jolivet, Y; Briens, M and Goas, M. 1982. Osmoregulation in higher-plant halophytes-organic nitrogen accumulation in glycine Betaine and proline during the growth of *Aster-Tripolium* and *Suaeda Macrocarpa* under saline conditions. Plant Sci. Letters 24 (2): 201-210
- Lauchli, A. And Schubert, S. 1989. The role of calcium in the regulation of membrane and cellular growth processes under salt stress. In. Environmental stress in plants. De. J. H. Cherry, pp 131-138 Springer-Verlag, Berlin
- Lazof, D and Cheeseman., J.M. 1986. Sodium transport and compartmentation in *Spergularia marina*. partial characterization of a functional symplast. Plant Physiol. 81: 742-747
- Lazof, D, and Lauchli, A. 1991. The nutritional status of the apical meristem of *Lactuca sativa* as affected by NaCl salinization: an electron-probe microanalytical study. Planta 184: 334-342
- Leach, R.P; Rogers, W.J; Wheeler, K.P; Flowers, T. J and Yeo, A.R. 1990. Molecular markers for ion compartmentation in cells of higher plants: I. Isolation of vacuoles of high purity. J. Experim. Bot. 41 (230): 1079-1088
- Lehmann, J.W. 1991. The industrialization and commercialization of amaranth: an alternate approach. Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto. Oaxtepec, Morelos, Méx p 130-133
- Leidi, E.O; Nogales, R.T and Lips, S.H. 1991. Effect of salinity on cotton plants grown under nitrate or ammonium nutrition at different calcium levels. Field Crops research. 26 (1): 35-44
- Leigh, R.A and Storey, R. 1991. Intercellular compartmentation of ions in barley leaves. In. Abstracts of the 4<sup>th</sup> International Symposium on Genetics Aspects of Plant Mineral Nutrition. Camberra. Australia, p. 42.
- Leopold, A.C and Willing, R.P. 1984. Evidence for toxicity effects of salt on membranes. In: Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement. eds. Staples-Toennissen. Wiley and Sons. N Y. 67-76
- Lerner, H.R. 1985. Adaptation to salinity at the plant cell level. Plant and Soil. 89: 3-14
- Lopez, R. G. 1984. El sistema agrícola de chinampas de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco D. F; y su trascendencia como centro de domesticación de la verdolaga (*Portulaca oleracea*) y semidomesticación del romerillo (*Suaeda difusa* Wats). Biol. ENEP Iztacala, UNAM.
- Lopez, M.V and Satti, S.M. 1996. Calcium and potassium-enhanced growth and yield of tomato under sodium chloride stress. Plant Science 114: 19-27
- Loss, S. P, Robson, A. D and Ritchie, S.P. 1993. H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> Excretion and nutrient uptake in upper and lower parts of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) root systems. Ann. Bot. 72: 315-320
- Luttge, U and Laties, G.G. 1966. Dual mechanism of ion absorption in relation to long distance transport in plants. Plant Physiol. 41: 1531-1539
- Luttge, U; Andrew, J and Smith, C.. 1984. Structural, biophysical and biochemical aspects of the role of leaves in plant adaptation to salinity and water stress. In. Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement Eds. R. Staples and G. Toennissen. Wiley and Sons. N Y. 125-150
- Lynch, J; Cramer, G and Lauchli, A 1987 Salinity reduces membrane-associated calcium in corn root protoplasts Plant Physiol. 83: 390-394
- Lynch, J and Lauchli, A 1984 Potassium transport in salt-stressed barley roots. Planta 161 295-301

- Lynch, J and Lauchli, A. 1988a. Salinity affects intracellular calcium in root protoplasts. *Plant Physiol.* 87: 351-356
- Lynch, J; Thiel, G and Lauchli, A. 1988b. Effects of salinity on the extensibility and Ca<sup>+</sup> availability in the expanding region of growing barley leaves. *Botanica Acta.* 101: 355-361
- Manual de Fisiología. 1992. *Biología Celular.* UNAM Campus Iztacala. Méx.
- Mapes, C. 1985. Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. *Memorias del congreso sobre amaranto.* UACH, Tex. Méx. Pp 65-76
- Marcar, N.E. 1986. Effect of calcium on the salinity tolerance of Wimmera Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud, cv. Wimmera) during germination. *Plant and Soil* 93,129-132
- Marschner, H; Kuiper, P.J and Kylin, A. 1981. Genotypic differences in the response of sugar beet plants to replacement of potassium by sodium. *Physiol. Plant.* 51: 239-244
- Matoh, T; Yasuoka, S; Ishikawa, T and Takahashi, E. 1988. Potassium requirements of pyruvate kinase extracted from leaves of halophytes. *Physiol. Plant.* 74: 675-678
- Medina, E. 1977. *Introducción a la ecofisiología vegetal.* FAO, Washington, D.C.
- Meyer, R.F and Boyer, J.S. 1981. Osmoregulation, solute distribution, and growth in soybean seedlings having low water potentials. *Planta* 151: 482-489
- Mitreva, N.I. 1989. Physiological interaction model of sunflower plant with its nutrient medium during ontogenesis II. Mechanisms of nutrient ion absorption and transport. *Plant and Soil* 115: 29-34
- Morgan, J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 299-319
- Munns, R. and Weir, R. 1981. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J Plant Physiol.* 8: 93-105
- Munns, R. and Termaat, A. 1986. Whole responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 143-160
- Munns, R and King, R. 1988. Abscisic acid is not the only stomatal inhibitor in the transpiration stream of wheat plants. *Plant physiol.* 88: 703-708
- Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environ* 16: 15-24
- Munns, R and Sharp, R. 1993. Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soils of low water potential. *Aust. J. Plant physiol.* 20: 425-437
- Munns, R; Schachtman, D. And Condon, A.G. 1995. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 561-569
- Neumann, P.M; Azaizch, H and Leon, D. 1994. Hardening of root cell walls: a growth inhibitory response to salinity stress. *Plant, Cell and Environ* 17: 303-309
- Neumann, P.M. 1995. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. *Crop Science* 35: 1258-1266
- Nordstrom, L.O. 1982. Variability between species in K/Ca ratios of successional plants. *Plant and Soil* 65: 137-139

- Ohta, D; Matoh, T and Takahashi, E. 1988. Sodium-stimulated NO<sub>3</sub> uptake in *Amaranthus tricolor* L. *Plants*. 87: 223-225
- Olmos, E and Hellin, E. 1996. Mechanisms of salt tolerance in a cell line of *Pisum sativum*: biochemical and physiological aspects. *Plant Science* 120: 37-45
- Ologunde, O and Sorensen, R. 1982. Influence of concentrations of K and Mg in nutrient solutions on *Sorghum*. *Agron. Jour.* 74: 41-46
- Okusanya, O.T and Ungar, I. 1984. the growth and mineral composition of three species of *Spergularia* as affected by salinity and nutrients at high salinities. *Amer. Jour. Bot.* 71 (3) 439-447
- Osmond, C.B; Bjorkman, O and Anderson, D.J. 1980. Physiological processes in plant ecology. Toward a synthesis with Atriplex. Springer verlag, Berlin
- Osmond, C.B; Austin, M P; Berry, J.A; Billings, W; Boyer, J; Dacey, J.W; Nobel, P, Smith, S. And Winner, W. 1987. Stress physiology and the distribution of plants. *Bioscience*, vol 37 (1) 38-47
- Pantoja, O; Dainty, J and Blumwald, E. 1989. Ion channels in vacuoles from halophytes and glycophytes *FEBS LETTERS* 225 (1): 92 - 96
- Passioura, J.B and Fry, S. C 1992. Turgor and cell expansion beyond the Lockhart equation. *Aust. J. of Plant Physiol.* 19: 565-576
- Percy, R.W and Austin, S.L. 1984. Effects of salinity on growth and photosynthesis of three California tidal marsh species. *Oecologie* 62: 66-73
- Perera, L.K; Mansfield, T.A and Malloch, A.J. 1994. Stomatal responses to sodium ions in *Aster tripolium*: a new hypothesis to explain salinity regulation in above-ground tissues. *Plant, Cell and Environment* 17: 335-340
- Pickard, B.G and Ding, J.P. 1993. The mechanosensory calcium-selective ion channel: Key component of a plasmalemmal control centre ?. *Aust. J Plant Physiol.* 20: 439-459
- Pitman, M.G 1984. Transport across the root and shoot/root interactions In: Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement. Eds. R. Staples and G. Toenniessen. Wiley and Sons. N.Y pp 93-123
- Poljakoff-Mayber, A. 1975. Morphological and anatomical changes in plants as response to salinity Stress. In: *Plants in saline environments*. A. poljakoff-Mayber and J. Gale eds. *Ecol. Series N 15 Chapter 6*. Springer-Verlag pp 97-117
- Poljakoff-Mayber, A; Somers, G.F; Werker, E and Gallagher, J.L. 1994. Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae): their structure, germination and salt tolerance. 2 Germination and salt tolerance. *Am. J. Bot.* 81 (1): 54-59
- Pritchard, J; Wyn Jones, R and Tomos, D. 1991. Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. *Jour.,Exp.,Bot* 42 (241) : 1043-1049
- Rains, D.W and Epstein, E. 1967. Sodium absorption by barley roots: Role of the dual mechanism of alkali cation transport *Plant Physiol.* 42: 314-318
- Rains, D W and Epstein, E. 1967 Sodium absorption by barley roots: Its mediation by mechanism 2 of alkali cation transport. *Plant Physiol* 42: 319-323
- Rains, D.W. 1979 Salt tolerance of plants: Strategies of biological systems. En. *The Biosaline concept. An approach to the utilization of underexploited resources* Ed Hallorande .S. Plenum N.Y. 47-67

- Ratajczak, R; Richter, J and Luttge, U. 1994. Adaptation of the tonoplast V-type H<sup>+</sup>-ATPase of *Mesembryanthemum crystallinum* to salt stress, C<sub>3</sub>-CAM Transition and plant age. *Plant, Cell and Environment*. 17: 1101-1112
- Reimann, C and Breckle, W. 1993. Sodium relations in Chenopodiaceae: a comparative approach. *Plant, Cell and Environ* 16: 323-328
- Reinbott, T.M, and Blevins, D G. 1991. Phosphate interaction with uptake and leaf concentration of magnesium, calcium, and potassium in winter wheat seedlings. *Agron. J.* 83: 1043-1046
- Rengel, Z; Elliot,D. 1992. mechanism of aluminum Inhibition of Net Ca<sup>2+</sup> Uptake by *Amaranthus* Protoplasts. *plant physiol.* 98: 632-638
- Rengel, Z. 1992. The role of calcium in salt toxicity. *Plant, Cell and Environment* 15: 625-632
- Rengel, Z. 1993. Mechanistic simulation models of nutrient uptake; A review. *Plant and soil.* 152: 161-173
- Reyna, T.T. 1995. Amaranto y Quinoa: Cultivos alternativos de importancia alimenticia. *Geo-UNAM Vol* : 6-13
- Richards, R.A. 1992. Increasing salinity tolerance of grain crops: Is it worthwhile ? *Plant and Soil* 146: 89-98
- Richner, W; Soldati, A and Stamp, P 1996. Shoot-to-root relations in field-grown maize seedlings. *Agron J.* 88: 56-61
- Robinson, S.D, Downton, W.S. and Millhouse, J.A. 1983. Photosynthesis and ion content of leaves and isolated chloroplasts of salt-stressed spinach. *Plant Physiol.* 73: 238-242
- Rogers, M. and Noble, C.L. 1992. Variation in growth and ion accumulation between two selected populations of *Trifolium repens* L. differing in salt tolerance. *Plant and Soil* 146: 131-136
- Rojas, T.R. 1983. La agricultura chinampera. *Compilación histórica.* UACH, Texc Méx.
- Rzedowsky, J y Rzedowsky, G. 1979. Flora fanerogámica del Valle de México. CECSA. Méx.
- Sanada, Y, Kuribayashi, K ; Andoh, T; Takeda, M; Tamai, N and Wada, K. 1992. Facultative halophytes accumulate proline as the early response under salt stress. *Photosynthesis Research* 34 (1) pp 218 - 218
- Sanchez, A.I. and Gonzalez-Utor, L. 1992. Quantitative determination of changes induced by NaCl in vacuoles and cellular size of *Lycopersicon esculentum* root cells *Plant, Cell and Environment* 15. 867-870
- Schroeder, J and Hagiwara, S. 1989. Cytosolic calcium regulates ion channels in the plasma membrane of *Vicia faba* guard cells. *Nature.* 338: 427-430
- Schumaker, K.S and Sze, H. 1985. A Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport system driven by the proton electrochemical gradient of a tonoplast H<sup>+</sup>-ATPase from oat roots. *Plant Physiol.* 79: 1111-1117
- Schwarz, M and Gale, J. 1981. Maintenance respiration and carbon balance of plants at low levels of sodium chloride salinity. *J. Exp. Bot.* 32: 933-941
- Seemann, J.R and Chritchley, C. 1985. Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta* 164: 151-161
- Seliskar, D M. 1985 Morphometric variation of five tidal marsh halophytes along environmental gradients. *Amer J. Bot.* 72(9): 1340-1352

- Shalhevet, J; Huck, M.G and Schroeder, B.P 1995. Root and shoot growth responses to salinity in maize and soybean. *Agron. J.* 87: 512-516
- Shannon, M. C. 1984. Breeding, selection, and the genetics of salt tolerance. In *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement.* eds. R. C. Staples and G. H. Toeniessen. Wiley and Sons, N.Y. pp 231-254
- Shannon, M. C. 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Plant and soil* 89: 227-241
- Shaviv, A and Hagin, J. 1993. Interaction of salinity and enhanced ammonium and potassium nutrition in wheat. *Plant and Soil* 154: 133-137
- Shufen, W. A study on the nutritive value of amaranth seeds. *Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto. Oaxtepec, Morelos, Méx* p 77-78
- Shufen, W; Zhiwu, N and Zhangsheng, W. 1991. A study on the utilization of amaranth seeds as feed for laying hens. *Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto. Oaxtepec, Morelos, Méx* p 106-107
- Sinha, A; Gupta, S and Rana, R. 1986. Effect of soil water availability on growth and chemical composition of *Sorghum halapense* L. *Plant and Soil.* 95, 411-418
- Sokal, R.R and Rohlf, F.J. 1985. *Biometry.* W.H Freeman, New York.
- Staal, M; Maathius, J; Theo, J; Elzenga, J; Overbeek, H and Prins, H.B. 1991.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt-sensitive *Plantago media*. *Physiol Plant.* 82: 179-184
- Stassar, J.M., Neirinckx, L and Dejaegera, R. 1981. The interactions between monovalents cations and calcium during their adsorption on isolated cell walls and absorption by intact barley roots. *Annals of Botany.* 47: 647-652
- Storey, R. and Wyn Jones, G. 1979. Responses of *Atriplex spongiosa* and *Suaeda monoica* to salinity. *Plant Physiol* 63: 156-162
- Sumar, K.L 1991. Reintroducción del cultivo de la kiwicha (amaranto) en Perú. *Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto. Oaxtepec, Morelos, Méx* pp 121-128
- Surjus, A, and Durand, M. 1996. Lipid changes in soybean root membranes in response to salt treatment. *Jour. Exp. Bot.* Vol. 47(294): 17-23
- Sutcliffe, J F and Baker, D 1979 *Las plantas y las sales minerales* Omega, España.
- Sze, H. 1985.  $\text{H}^+$ -Translocating ATPases: Advances using membrane vesicles. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36: 175-208
- Tarik Al-ani, and N.A, Ouda. 1972. Distribution of cations in bean plants grown at varying K and Na levels. *Plant and Soil.* 37: 641-648
- Terry, B; Tyerman, S and Findlay, G. 1991. Ion channels in the plasma membrane of *Amaranthus* protoplasts: One cation anion channel dominate the conductance. *J. Memb. Biol.* 121: 223-236
- Thiel, G; Lynch, J and Lauchli, A. 1988. Short-term effects of salinity stress on the turgor and elongation of growing barley leaves. *J. Plant Physiol.* 132: 38-44
- Tomos, A D. 1988. Cellular water relations of plants. In *Water Science Reviews* 3 de. F Francks. Pp 186-277. Cambridge University Press Cambridge.

- Trejo Calzada, R; López Peralta, M y Rodríguez Ontiveros, J.L 1991. Ajuste osmótico de células de *Amaranthus hypocondriacus* L en medio salino (NaCl). Memorias del Primer Congreso Internacional del Amarantho. Oaxtepec, Morelos, Méx p 81
- Tyerman, S and Findlay, G. 1989. Current-voltage curves of single Cl channels which coexist with two types of K<sup>+</sup> channels in the tonoplast of *Chara corallina*. J. Exp. Bot. 40: 105-118
- Tyerman, S. and Schachtman, D.P. 1992. The role of ion channels in plant nutrition and prospects for their genetic manipulation. Plant and Soil 146: 137-144
- Veen, B.W and Kleinendorst, A. 1986. The role of nitrate in osmoregulation of italian ryegrass, Plant and Soil, 91, 433-436
- Velazco, G.R 1994. Mecanismos de resistencia del frijol mungo (*Vigna radiata*) a la salinidad. Tesis M.en C. Fac. de Cienc. UNAM. Méx.
- Wainwright, S.J. 1980. Plants in relation to salinity. Adv. Bot. Res. 8: 221-261
- Waisel, Y. 1972. Biology of halophytes. Academic Press. N.Y
- Weaver, R.J. 1982. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Trillas, Méx.
- Wilson, J.B, 1988. A review of evidence on the control of shoot:root ratio, in relation to models. Ann. Bot. 61: 433-449
- Yeo, A.R. and Flowers, T. 1980. Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L. Dum.: Evaluation of the effect of salinity upon growth. Jour. Exper. Bot. Vol.34 ( 123 ) : 1171-1183.
- Yeo, A.R. 1983. Salinity resistance: Physiology and prices. Physiol., Plant. 58: 214-222
- Yeo, A.R. and Flowers, T. 1985. The absence of an effect of the Na/Ca ratio on sodium chloride up-take by rice (*Oryza sativa* L). New Phytol. 99: 80-90
- Yeo, A.R; Lee, K.S; Izard, I; Boursier, J and Flowers, T.J. 1991. Short-and long-terms effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). Jour., Exp., Bot. 42 (240) : 881.889
- Yokoishi, T and Tanimoto, S. 1994 Seed germination of the halophyte *Suaeda japonica* under salt stress. J Plant Res. 107 (1088): 385-388
- Yuc, S. 1991. Researches and developments of american grain amaranth in China. Memorias del Primer Congreso Internacional del Amarantho. Oaxtepec, Morelos, Méx p 50
- Zhang, J and Davies, W.J. 1989. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. Plant, Cell Environ. 12: 73-81
- Zhang, J and Davies, W.J. 1990 changes in the concentration of ABA in xilem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. plant cell environ. 13: 277-285
- Zsoldos, F and Erdei, L. 1981. Membrane and ion transport properties in cereals under acidic and alkaline stress. 1: Effects of pH on potassium uptake and growth of rice and wheat. Physiol. Plant. 53: 468-470.