

Efecto de distintos niveles de salinidad sobre el contenido de clorofila, composición mineral y crecimiento en centeno (*Secale Cereale*) tetraploide

por A. M.^a RIVERA y L. HERAS

Estación Experimental de Aula Dei, Zaragoza

Recibido el 2 - XI - 73

A B S T R A C T

RIVERA, A. M.^a and HERAS, L. — Effect of different salinity levels on chlorophyll content, mineral composition and growth of tetraploid rye. *An. Aula Dei*, **12** (1-2): 100-08.

In this work the influence of different salinity levels on tetraploid rye (*Secale Cereale*) is studied.

An inverse relation between the salinity doses and growth is observed.

Salinity affects the chlorophyll chloroplastic protein bounding, although a sharp decrease of the total chlorophyll content is not found.

The vegetal material subject to saline treatment shows a lower content of sulfates, nitrates, potassium, calcium, magnesium and iron, and a higher content of chlorides, total nitrogen, sodium, manganese and silicon, while the level of phosphorus, aluminium, zinc and copper is not affected by the treatment.

INTRODUCCION

La salinización del suelo crea condiciones extremadamente desfavorables para el crecimiento de las plantas y además determina un cambio en la relación de las plantas con su medio ambiente. Así, por ejemplo, la luz y la temperatura que, en condiciones normales, tienen un efecto favorable sobre el desarrollo de las plantas, en suelos salinos pueden invertir este papel.

Las condiciones del medio creadas por la salinidad modifican también el metabolismo de las plantas, como consecuencia de un desequilibrio entre los elementos nutritivos minerales básicos.

Por tanto, un estudio sobre la fisiología vegetal en medio salino tendrá unas derivaciones prácticas inmediatas en cuanto que puede suministrar información acerca de la posibilidad de aplicación de técnicas agronómicas adecuadas para revalorizar un suelo salinizado, para la selección de especies y variedades vegetales tolerantes y para el desarrollo de métodos que permitan aumentar la tolerancia de las plantas a las sales.

Dado que en España, y concretamente en el valle del Ebro, los suelos actual y potencialmente salinos se hallan ampliamente distribuidos en las zonas de cultivo, es de gran interés el estudio del mecanismo por el que la sal afecta a las plantas.

En este trabajo se estudian los efectos que producen distintos niveles de salinización sobre el contenido de clorofila, composición mineral, crecimiento y desarrollo de plantas de centeno tetraploide.

MATERIAL Y METODOS

Como material vegetal se utilizó centeno tetraploide de variedad Gigantón.

Se montó la experiencia en invernadero en macetas de plástico de 15 litros de capacidad con dispositivo de subirrigación y cuarzo (2 mm. Ø) como soporte.

Las soluciones nutritivas se preparan siguiendo las indicaciones dadas por HOAGLAND y SNYDER (1933). El Fe se adiciona en forma de Fe-EDTA (STEINER and VAN WINDEN, 1970).

Los tratamientos salinos se comenzaron a los 29 días de realizada la siembra, cuando las plantas tenían una altura de 35 a 40 cms., y las dosis fueron de 60 meq/l y 100 meq/l de NaCl.

A los 58 días de realizada la siembra se procedió al muestreo del material vegetal y sobre él se realizaron las siguientes determinaciones:

1. *Sobre materia fresca*: Clorofila siguiendo la técnica de ARNON (1949).

2. *Sobre materia seca:* Cl⁻ y SO₄²⁻ según el método de ULRICH y JOHNSON (1959); N total por el método Kjeldahl, utilizando Se metálico como catalizador y N nítrico según las técnicas descritas por IR. J. CH. VAN SCHONWENBURG (1968):
 - *Extracción:* A 2 gr. de material se le añaden 50 ml. de una solución que contiene 7,5 gr. de Ag₂SO₄ + 40 gr. de CuSO₄·5H₂O por litro. Agitar media hora y filtrar.
 - *Nitración:* A 5 ml. del filtrado se le agregan en el orden siguiente 2 ml. de xilenol (2,5 gr. de 3-4 dimetil-fenol/100 ml. de NaOH 0,2 N) y 20 ml. de H₂SO₄ diluido. Se agitan y se dejan en reposo 30 minutos. Transcurrido este tiempo se adicionan 50 ml. de H₂O destilada.
 - *Destilación:* Se realiza en un apartado de semimicrodestilación DRA. Se toman alícuotas de 2 ml. a las que se añaden 5 ml. de etanol; transcurrido un minuto y medio, y en plena destilación, se agregan a la muestra otros 5 ml. de etanol. Se recoge el destilado sobre NaOH 0,4 N.
 - *Colorimetría:* Lectura a 430 nm. en Beckman D.B.
3. *Sobre material incinerado:* 1 gr. de material seco se incinera a 550° C y se disuelve en 3 ml. de HCl concentrado y 3 ml. de H₂O, calentando hasta la disolución total. Se filtra y diluye con agua a 25 ml. sobre las alícuotas correspondientes se determinan: P por el método del vanadato-molibdato (JACKSON, 1957); Na y K por fotometría de llama; Ca, Mg y micronutrientes por espectrofotometría de absorción atómica utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer 303.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. CRECIMIENTO Y DESARROLLO

Como índice del crecimiento y desarrollo se consideraron los pesos fresco y seco de la parte aérea de una planta completa.

En el cuadro núm. 1 se expresan estos datos, observándose una disminución de los valores encontrados conforme se aumentan las dosis de NaCl suministradas.

CUADRO 1.—*Pesos fresco y seco expresados en gramos.*

<i>Tratamiento</i>	<i>Número plantas</i>	<i>Peso fresco</i>	<i>Peso seco</i>	<i>Peso fresco por planta</i>	<i>Peso seco por planta</i>
Testigo	70	306,80	45,25	4,38	0,65
60 meq/l. Na Cl	69	282,91	43,00	4,10	0,62
100 meq/l. Na Cl	70	238,70	38,91	3,41	0,56

Estos valores representan una reducción en la producción de materia seca del 13,8 % para una conductividad específica de 11,73 mmhos/cm. y del 4,6 % para 7,61 mmhos/cm.

Estos resultados concuerdan con lo expresado por varios autores (OSAWA, 1966; ROBINSON y WORKER, 1965; MASUI y MASAKI, 1966; SHEN y TUNG, 1964; SHIMOSE, 1968; KARMARKAR y JOSHI, 1969) en el sentido de una disminución de la producción de materia seca conforme aumenta la salinidad.

Sin embargo, en nuestro caso la reducción del contenido de materia seca no es tan acusada como la encontrada en otros casos, incluso con tratamiento salino menos intenso. La posible explicación de esta disparidad puede estar en la época en que comenzó el tratamiento salino, pues según BAINS y FIREMAN (1964), OSAWA (1966), FURR y REAN (1967) y KOVAL'SKAYA (1958) la influencia de la salinidad depende del estado de desarrollo de la planta, siendo ésta más sensible en el estado inicial de su desarrollo.

2. CLOROFILA

En el cuadro núm. 2 figuran los contenidos de clorofila total, clorofila *a* y clorofila *b* extractadas con acetona al 80 %.

Como puede observarse, solamente el tratamiento salino alto tiene una aparente repercusión sobre el contenido de clorofila total, aun cuando la disminución es muy pequeña. Este resultado concuerda con lo expresado por GODNEV (1948) en el sentido de

CUADRO 2.— *Contenido de clorofila total, clorofila a, clorofila b y relación a/b. Las cantidades se expresan en mgr/gr. Cada valor es la de 4 determinaciones.*

	<i>Testigo</i>	<i>60 meq/l. Na Cl</i>	<i>100 meq/l. Na Cl</i>
Clorofila total	2,70	2,65	2,48
Clorofila a	2,08	1,97	1,84
Clorofila b	0,62	0,68	0,64
Relación a/b	3,35	2,90	2,87

que la salinidad produce un descenso del contenido de clorofila, aunque en nuestro caso dicho descenso no sea muy acusado. El hecho de que el tratamiento salino bajo no tenga prácticamente repercusión en el sistema clorofílico, y que el tratamiento alto produzca una ligera disminución, lo atribuimos por una parte al hecho de que el centeno es una planta relativamente resistente a la salinidad, y por otra parte al haber sometido las plantas al efecto de las sales tardíamente.

La relación clorofila a/clorofila b se altera por efecto de la sal, lo cual es debido, como puede observarse en los datos que figuran en el cuadro núm. 2, a una disminución de clorofila a, y a que el contenido de clorofila b permanece prácticamente constante.

La disminución del contenido de clorofila total ha sido atribuida por varios autores a una destrucción de la clorofila debida a una debilidad de la unión pigmento-cloroplasto, debilidad que va aumentando por efecto de la sal. Con objeto de comprobar este hecho se procedió a una extracción de clorofila con acetona al 60 %, ya que según OSIPOVA (1947) en estas condiciones sólo se extrae la clorofila menos fuertemente ligada a las proteínas cloroplásticas. Los resultados obtenidos figuran en el cuadro núm. 3.

Efectivamente, el tratamiento salino alto presenta un mayor contenido de clorofila extractada con acetona al 60 % y la debi-

CUADRO 3.— *Clorofila total (mgr/gr) extractada con acetona al 60 % y porcentaje de ésta frente a la total extractada con acetona al 80 %.*

	<i>Testigo</i>	<i>60 meq/l. Na Cl</i>	<i>100 meq/l. Na Cl</i>
Clorofila total extractada con acetona 60 %	1,38	1,38	1,56
% de clorofila no ligada	51	52	63

lidad de la unión entre la clorofila y las proteínas cloroplásticas, expresada como porcentaje de clorofila extractada con acetona al 60 % frente al contenido de clorofila total de la hoja, es mayor en los tratamientos salinos.

3. COMPOSICIÓN MINERAL

a) *Aniones*

Como puede observarse en el cuadro núm. 4, existe una correlación negativa entre el comportamiento de los Cl^- y el resto de los aniones. A estos mismos resultados han llegado GAUCH y WADLEIGH (1951), FARUQUE (1968) y RAVIKOVITCH y YOLIS (1971).

Conforme aumenta la salinidad el contenido de Cl^- aumenta, y simultáneamente los contenidos de SO_4^{2-} y de NO_3^- disminuyen.

Sin embargo, los resultados respecto a los NO_3^- no pueden atribuirse a una absorción menor en presencia de Cl^- , ya que observamos que el contenido de nitrógeno total es mayor en los tratamientos salinos que en el control. Esto se debe a una alteración en el metabolismo nitrogenado de las plantas desarrolladas en condiciones de salinidad.

Efectivamente, como indica STROGONOV (1962) no hay duda de que el metabolismo nitrogenado de plantas cultivadas en condiciones salinas difiere del de las plantas normales. En primer lugar en las plantas afectadas por la salinidad se observan alteraciones en la destrucción y síntesis de proteínas, con formación y acumulación de sustancias nitrogenadas (aminas y diaminas), que pueden tener un efecto nocivo sobre los procesos fisiológicos normales de la planta.

Estas alteraciones en el metabolismo del nitrógeno podrían explicar también el efecto inhibitor que tienen las sales sobre el crecimiento, en el sentido de que la acumulación de sustancias nitrogenadas impide que éstas sean utilizadas para la formación de nuevas células y tejidos.

b) *Cationes*

Los contenidos de Na y K evidencian un comportamiento antagónico: conforme aumentan los niveles de salinización el primero se eleva en tanto que el K disminuye.

AYERS y EBERHARD (1960) obtienen similar respuesta en estudios hechos con habas. También RAVIKOVITCH y YOLES (1971) llegan a los mismos resultados con trébol, pero en cambio observan que en el mijo el contenido de K no disminuye, sino que aumenta, al aumentar la salinidad.

Los contenidos en Ca y Mg disminuyen ligeramente por efecto de la salinidad, de acuerdo con lo observado por GAUCH y EATON (1942).

En el P no se observa ninguna respuesta a la salinidad.

CUADRO 4. — *Contenido de macronutrientes expresado como % de materia seca. Estos valores son la media de 8 determinaciones.*

	% Cl	% SO ₄ ²⁻	% NO ₃ ⁻	% N	% P	% Na	% K	% Ca	% Mg
Testigo	0,087	1,843	0,593	2,879	0,447	0,032	4,749	0,386	0,293
60 meq/l. Na Cl	4,103	1,562	0,577	3,099	0,394	0,930	4,686	0,302	0,249
100 meq/l. Na Cl	5,032	1,237	0,421	3,509	0,462	1,728	4,197	0,309	0,217

c) *Microelementos*

En el cuadro núm. 5 se expresan los contenidos en Fe, Zn, Mn, Cu, Al y Si.

Los contenidos de Fe son inferiores en las plantas procedentes de tratamientos salinos que en las del control.

En el Mn, por el contrario, se manifiesta una tendencia a aumentar. Lo mismo ocurre con el Si.

En los restantes microelementos estudiados, Zn, Cu y Al no se observa ninguna respuesta a la salinidad.

CUADRO 5. — *Contenido de micronutrientes expresado como p.p.m. de materia seca.*

	Fe	Zn	Mn	Cu	Al	Si
Testigo	135	44	144	21	11	120
60 meq/l. Na Cl	101	42	181	21	8	140
100 me/l. Na Cl	128	60	201	23	13	190

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se estudia la respuesta de un centeno tetraploide, cultivado sobre soporte de cuarzo y con soluciones nutritivas, a diferentes dosis de NaCl incorporadas a esas soluciones. Los niveles de NaCl son de 60 meq/l. y 100 meq/l.

En nuestras condiciones experimentales el material estudiado ha respondido a los tratamientos salinos, observándose varios efectos cuya intensidad es función de la dosis de NaCl aplicada y de la resistencia de esta especie a la salinidad.

Existe, en primer lugar, una relación inversa entre salinidad y crecimiento.

Se observa también que la salinidad debilita la unión de la clorofila con las proteínas cloroplásticas, lo que explicaría el menor contenido de clorofila total en el tratamiento salino.

En cuanto a la composición mineral se puede apreciar una disminución del contenido de SO_4^{2-} y NO_3^- , en tanto que el de Cl^- y el de N total aumentan.

En los cationes aparece una disminución de K, Ca, Mg y Fe; por el contrario, el Na, Mn y Si aumentan. Los contenidos de P, Al, Zn y Cu no parecen afectados por la salinidad.

BIBLIOGRAFIA

1. ARNON, D. I.
1949 Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, **24** (1): 3.
2. AYERS, A. D., EBERHARD, D. L.
1960 Response of edible Broadbean to several levels of salinity. *Agron. J.*, **52** (2): 110-111.
3. BAINS, S. S., FIREMAN, M.
1964 Effect of exchangeable Na percentage on the growth and absorption of essential nutrients and Na by five crop plants. *Agron. J.*, **56**: 432-435.
4. FARUQUE, A. H. M.
1968 The effect of salinity on phytotoxicity and ion uptake of Pecan seedlings. *Diss. Abstr. Sect. B*, **29**: 432. *Cit. Hort. Abst.*, **39** (3): N.º 4465.
5. FURR, J. R., REAM, C. L.
1967 Growth and salt uptake of date seedlings in relation to salinity of the irrigation water. *Rep. 44th. ann. Date Grs. Inst., Coachella*, **44**: 2-4. *Cit. Hort. Abst.* **38** (3): N.º 6496.

6. GAUCH, H. G., EATON, F. M.
1942 Effect of saline substrate on barley. *Plant Physiol*, **17** (3): 347.
7. GAUCH, H. G., WADLEIGH, C. H.
1951 Salt tolerance and chemical composition of Rhodes and Dallis grasses grown in sand culture. *Bot. Gaz.*, **112** (3): 259-271.
8. GODNEV, J. N.
1948 The effect of cations and anions on the ease of extraction of chlorophyll from live tissues. *Izvest. Akad. Nauk. SSSR 3. Cit. por Strogonov* (1962).
9. HOAGLAND, SNYDER
1953 Cit. por Hewitt, E. J. (1952). Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Technical Communication N. 22 (Revised) Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops. East Malling, Maidstone, Kent. C. A. B.
10. JACKSON, M. C.
1957 Analisis químico de suelos. Ed. Omega, S. A. Barcelona, pág. 662.
11. KARMARKAR, S. M., JOSHI, G. V.
1969 Effect of sand culture and Na Cl on growth, physical structure and organic acid metabolism. *Plant and Soil*, **30**: 41-48.
12. KOVAL'SKAYA, E. M.
1958 Changes in the salt tolerance of plants during ontogenesis. Cit. por Strogonov (1962).
13. MASUI, M., MASAKI, Y.
1966 Studies on the absorption of nutrient elements by musk melons. V. On the growth injury symptoms of musk melons. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, **35**: 57-65.
14. OSAWA, T.
1966 The effect of the stage of growth on the salt tolerance of some vegetable crops. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, **35**: 291-296.
15. OSIPOVA, O. P.
1947 Extraction of chlorophyll from green plants. *Doklady Akad. Nauk. SSSR*, **57** (8). Cit. por Strogonov (1962).
16. RAVIKOVITCH, S., YOLIS, D.
1971 The influence of phosphorus and nitrogen on millet and clover growing in soils affected by salinity. *Plant and soils*, **35**: 555-558.
17. ROBINSON, F. E., WORKER, G. F.
1965 Growth of sugar cane in areas irrigated with Colorado river water. *Calif. Agric.*, **19** (8): 2-3.
18. SCHONWENBURG, VAN IR. J. CH.
1968 Methods of analysis of plant material. Post. Graduate Training Programme in Soil Science. Wageningen. Netherlands.
19. SHEN, I. S., TUNG, H. L.
1964 Study on salt tolerance in sugar cane. *Rep. Taiwan Sugar Exp. Stat.*, **35**: 1-24. Cit. *Hort. Abst.*, **35** (1): N.º 2229.
20. SHIMOSE, N.
1968 Physiology of salt injury in crops. Part. 7 Salt tolerance of onion, celery, spinach, cucumber, and kidney bean plant. *J. Sci. Soil Manure, Japan*, **39**: 548-553. Cit. *Hort. Abst.*, **40** (3): N.º 6030.
21. STEINER, A. A., VAN WINDEN, H.
1970 Recipe for ferric salt of Ethilenediaminotetracetic acid. *Plant Physiol*. **46** (6): 862.
22. STROGONOV, B. P.
1962 Physiological basis of salt tolerance of plants. Inst. Fisiol. Rast. im K. A. Timiryazeva. Published by the Israel program for scientific translations.
23. ULRICH, A., JOHNSON, C. M.
1959 Analytical methods for use in plant analysis. Bulletin 766. *California Agric. Exp. Stat.*, pp. 38.