

CAPÍTULO 5

TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN PLANTAS DE ÑAME ESPINO (*DIOSCOREA ROTUNDATA. POIR*)

María Paulina Torres Pérez¹⁴
Eder Durango Ballesteros¹⁵

¹⁴Biólogo. Magister en ciencias Ambientales. Joven Investigadora CECAR

¹⁵Ingeniero Agrónomo, Maestría en Biotecnología. Doctorado en Biotecnología Agrícola, mención Vegetal. Instructor Investigador en el SENA Programa SENNOVA

Introducción

El ñame se ha convertido en uno de los principales alimentos para un grupo innumerable de personas que habitan en regiones tropicales y subtropicales, África, América Central, Sur América, partes de Asia, Caribe e Islas del Pacífico, debido a su alto contenido de carbohidratos (Tous, 2010). Lo que ha generado una alta demanda en su comercialización y por ende en la economía a nivel mundial (Amusa, et al; 2004).

Como todo cultivo, el ñame se puede ver afectado por enfermedades que generen la disminución del rendimiento y la calidad del producto final (Reina, 2012). La producción de ñame en Colombia se ha visto afectada principalmente por enfermedades fúngicas como, la antracnosis, ocasionada por *Colletotrichum gloeosporioides*, la cual ha ocasionado en el país una de las afectaciones de mayor grado causando una reducción en el área sembrada de 25.000 hectáreas en el 1989 a 1.000 hectáreas en 1990 (Reina, 2012) donde la región Caribe fue la que sufrió el mayor impacto por ser el área de mayor producción de ñame (Cerón, et al; 2006). Como una posible solución a las necesidades de establecer el cultivo de ñame la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) comenzó en el año de 1986 a establecer la búsqueda de genotipos más resistentes de ñame criollo por ser el más susceptible a la enfermedad antracnosis (Reina, 2012). Diferentes entidades como Corpoica, ICA, universidades de Sucre y Córdoba, se han dedicado al mejoramiento del cultivo estableciendo cultivos in vitro de ñame con el fin de mejorar su resistencia.

La fase de aclimatación en vivero de las plántulas de ñame, constituyen uno de los pasos más importantes que garantizan la supervivencia del cultivo en campo (Garrido, et al; 2010). Una vez estas plántulas pasan a campo los parámetros fisicoquímicos, químicos, físicos y biológicos del suelo no estarán controlados puesto que son propios de cada tipo de sustrato, por lo que las plántulas de ñame presentan los mayores índices de mortalidad (Díaz, et al; 2010). A partir de esto, surge la necesidad de evaluar

las condiciones del suelo donde serán trasladados los cultivos de plántulas generadas in vitro o los establecidos mediante siembra convencional, con la finalidad de establecer parámetros que nos ayuden a garantizar la supervivencia de la mayor parte de las plantas cultivadas.

Uno de los principales problemas presentes en los diferentes cultivos, se encuentran relacionados con la salinidad de los suelos cultivables. Este fenómeno afecta a la humanidad desde el inicio de la Agricultura, y existen registros históricos de migraciones provocadas por la salinización del suelo (africano, et al; 2015). Aproximadamente, el 10% de los suelos a nivel mundial se encuentran afectados por parámetros de salinidad y se calcula que entre el 25 y 50 % de las zonas de regadío están salinizadas (Rhoades, et al; 1992). En Colombia, alrededor de 600.000 hectáreas se encuentran afectadas por sales, que corresponden al 0,52 % de la superficie total del país (Casierra-Posada, et al., 2000).

La salinidad de los suelos se puede generar de forma natural, es decir, a partir de la acumulación de sales por largos periodos de tiempo en zonas áridas y semiáridas procedente de la erosión de las rocas parentales que liberan sales solubles de varios tipos, principalmente cloruros de sodio, calcio y magnesio, y en menor grado, sulfatos y carbonatos (Petroni S., 2013), siendo el cloruro de sodio (NaCl) la sal que se libera de manera más abundante y es la más soluble (Flowers, 2004), otra de las causas más comunes es la deposición de sales orgánicas acarreada por el viento y la lluvia. La lluvia que contiene 10 mg/kg de NaCl y deposita 10 kg/ha de sal por cada 100 mm de lluvia al año (Munns, et al; 2008).

Dentro de los principales departamentos de Colombia dedicados al cultivo de ñame para el sustento y comercialización se encuentran Córdoba, Sucre, Bolívar, Atlántico y Magdalena (Ballesteros et al; 2000). El departamento de Sucre, cuenta con varios municipios dedicados al cultivo de ñame como son Corozal, Sincelejo, Toluviéjo, Sampués y los Palmitos (Lavalett Oñate, 2009).

Los municipios del departamento de Sucre, se encuentran divididos en cinco subregiones fisiográficas: Golfo de Morrosquillo, Montes de María, Sabanas, San Jorge y La Mojana, el municipio de Toluviéjo mencionado anteriormente como uno de los dedicados al cultivo del ñame; hace parte de la subregión golfo de Morrosquillo, la cual; se ubica al norte del

departamento, bordeada por las playas del golfo de Morrosquillo, gracias a su ubicación estas zonas costeras presenta limitaciones por fertilidad, acidez, salinidad o en algunos casos encharcamiento (Aguilera, 2005). Por lo tanto, es de suponerse el poco establecimiento de las actividades agrícolas gracias a la salinidad de los suelos, puesto que, los Solonchaks y Solonetz, se encuentran en zonas climáticas áridas y semiáridas y regiones costeras en todos los climas (IUSS, 2007).

Con el desarrollo de esta investigación, se busca establecer límites tolerables de salinidad en el suelo para implantar el cultivo de ñame mediante la utilización de semillas asexual y plántulas generadas in vitro, con el fin de garantizar la supervivencia en campo del cultivo y de esta forma descartar problemas de germinación de las semillas por parámetros de salinidad. De igual forma, busca reducir las pérdidas económicas de los agricultores, fomentar como actividad económica la agricultura y promover en los agricultores los estudios de análisis del suelo, por el hecho de que mediante el conocimiento las características de este se pueden evitar futuros problemas que afecten negativamente la supervivencia y productividad de los cultivos establecidos en la región Sucreña.

En Colombia, el cultivo de ñame representa una de las principales fuentes de alimentación de la costa atlántica y de ingresos en diferentes zonas del país para los pequeños y grandes agricultores en las principales zonas de producción dentro de las que podemos mencionar: zonas costeras del departamento de Córdoba, municipios del Cesar y la Guajira, la subregión de los Montes de María en los departamentos de Bolívar y Sucre donde también es comercializado (Ballesteros, et al; 2000). Datos proporcionados por la FAO, indican que Colombia con 361.034 toneladas se encuentra entre los países americanos que en el año 2012 hicieron parte de la lista de los veinte países con mayor producción a nivel mundial del cultivo de ñame; donde reportan un área cosechada de 30.929 ha y un rendimiento de 11,7 t/ha (Pinzón, 2014).

Los departamentos de Córdoba, Bolívar y Sucre, que hacen parte de la región caribe colombiana, son los que aportan más del 90% de la producción de ñame para este país; los principales municipios dedicados a la siembra del cultivo de ñame son: Chalan, Coloso, Toluviejo, Ovejas, Carmen de Bolívar, Sampués, Morroa, San Antero, Coveñas, Lórica,

Moñitos, San Pelayo, Cereté, Sincelejo, San Jacinto, San Juan Nepomuceno, San Antonio y Palmito (Pinzón, 2014).

En el departamento de Sucre las especies más cultivadas son el ñame “Espino” (*Dioscorea rotundata*) y el ñame “Criollo” (*Dioscorea alata*) con alrededor de un 75% de la cantidad total cultivada (Reina, 2012). Las condiciones climáticas en este departamento favorecen el desarrollo de la enfermedad antracnosis lo que genera la baja productividad del cultivo y afecta la calidad del tubérculo de ñame (Negrete, et al; 1997). Por su parte, en la costa Atlántica la producción convencional de ñame se realiza de manera muy rudimentaria lo que incrementa costos, reduce la producción y contribuye a la presencia de problemas fitosanitarios (Garrido, et al; 2010). Con el fin de brindarle solución a los problemas fitosanitarios se ha empleado el uso de técnicas biotecnológicas como cultivos de tejidos vegetales a través de la propagación in vitro que permite la producción masiva de plantas libres de patógenos, a bajo costo, en espacio reducido, en menor tiempo, bajo condiciones controladas (Calva, et al; 2005). Uno de los inconvenientes que se presentan con respecto a las plantas generadas in vitro es el proceso de aclimatación debido a que las condiciones de invernadero son diferentes a las condiciones de crecimiento in vitro (Primitiva et al., 2010). Uno de los problemas que se pueden presentar al momento de trasladar este tipo de plantas a campo es enfrentarse a suelos altamente salinos lo que muy posiblemente puede generar estrés en la planta y conducir a la muerte de la misma ya que estas se manejan en condiciones controladas.

El departamento de Sucre, cuenta con varios municipios dedicados al cultivo de ñame, siendo uno de esto Tolviejo (Lavalett, 2009) que hace parte de la subregion Golfo de Morrosquillo y por ser una zona costera, supone suelos con alto grado de salinidad.

Dentro de los principales factores abióticos que afectan la productividad de los cultivos alrededor del mundo, es la salinidad de los suelos (Petrone, 2013). Un suelo es salino cuando presenta enriquecimiento con cloruros y sulfatos de sodio y magnesio (Garsaball, et al; 2007). Un suelo salino, presenta una alta concentración de sales solubles y se caracterizan cuando la conductividad eléctrica (ECe) es 4 dS/m o más, que es igual a tener aproximadamente 40 mMNaCl, generando una presión osmótica de aproximadamente 0.2 MPa (Tester, et al; 2003). Una de las causas que

ocasionan la salinidad de los suelos, está ligada a la deposición de sales oceánicas conducidas en el viento y la lluvia (petrone, 2013). El contenido de NaCl en el agua lluvia es de 6-50 mg/kg esta concentración presenta una disminución con la distancia de la costa (Petrone, 2013). El agua lluvia que contiene 10 mg/kg de NaCl deposita 10 kg/ha de sal por cada 100 mm de lluvia al año (Munns, et al; 2008).

La alta concentración de sales en el suelo, propone ser un riesgo innegable para la agricultura, un estudio realizado por Garsaball y colaboradores en el 2007, encontró que el incremento en los niveles de salinidad disminuye la germinación de las semillas de maíz, ciertamente las plantas que son capaces de crecer bajo condiciones de alta salinidad, son las halófitas las cuales crecen en concentraciones de NaCl mayores a 400 mM (Flowers, 2004), sin embargo, Posada y Colaboradores en el 2000 indicaron que las plantas de Lulo (*Solanum quitoense* L.), presentan una tolerancia moderada a la salinidad NaCl, al igual que Petrone, 2013 en su estudio Variación funcional relacionada con la tolerancia al estrés salino de *Gossypium hirsutum* en México; indica que los cultivares de algodón se clasifican como cultivos medianamente tolerantes al estrés salino, y su crecimiento disminuye a los 7.7 dS/m.

Uno de los factores abióticos de estrés para el desarrollo de plantas es la salinidad, representando graves problemas para la agricultura. Altas concentraciones de sal en los suelos, disminuyen las cosechas en una gran variedad de plantas, por tanto, un carácter de importancia en la mejora de plantas es la selección a tolerancia a salinidad. Mediante técnicas de selección in vitro se puede conseguir mejorar considerablemente la tolerancia a la salinidad de plantas con importancia agrícolas. (Gutiérrez et al, 2003).

Bajo condiciones de campo, las altas concentraciones de sales y la sequía constituyen las mayores causas de estrés osmótico para las plantas. Las membranas citoplasmáticas en las células vegetales presentan un potencial eléctrico de -140 mV, el cual favorece el transporte pasivo de Na⁺ hacia el interior de la célula, especialmente cuando las concentraciones extracelulares de Na⁺ son elevadas, entrando este, a través de transportadores proteicos de alta afinidad por el K⁺. (Fuentes et al, 2006).

Los excesos de iones de Na⁺ y Cl⁻ en las células vegetales pueden provocar cambios conformacionales de las proteínas estructurales, en el

potencial eléctrico de la membrana citoplasmática, canales y transportadores iónicos, pudiendo inducir la acumulación y biosíntesis de ácido absísico (ABA) en hojas y raíces de las plantas (Jia et al, 2002) e induciendo la acumulación de especies reactivas del oxígeno, indicando que el mejoramiento a la tolerancia de estrés salino, puede ser una consecuencia del mejoramiento a la resistencia al estrés oxidativo (Hernández et al, 2001).

La acumulación de iones en vacuolas es uno de las estrategias usadas por las plantas para la tolerancia al estrés salino, disminuyendo el volumen citoplasmático. La célula genera un incremento en la osmolaridad para mantener la turgencia, requiriendo menos cantidades de solutos para mantener las concentraciones de potasio a un nivel alto. (Mimura, et al, 2003).

En condiciones de alta salinidad, la concentración iónica citoplasmática de las células de plantas se altera como resultado tanto de la absorción de Na⁺ y Cl⁻. Concentraciones de NaCl superiores a 0.3-0.5 M inhiben la mayoría de los enzimas, por un desbalance entre las fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas que mantienen la estructura de las proteínas solubles y de membranas (Serrano, 1996; Hasegawa, et al, 2000; Serrano y Rodríguez, 2001; Zhu, 2001). Algunas de estas enzimas pueden ser sensibles a concentraciones bajas de Na⁺ y Cl⁻, de forma que la inhibición de su actividad puede ser determinante de la sensibilidad al estrés salino.

En plantas de *Citrus sinensis* (Bañuls y Primo, 1992) y soja (Abel, 1969), el NaCl y KCl son igualmente tóxicos, mientras que el NaNO₃ es menos tóxico, lo que indica que el componente tóxico de las sales es fundamentalmente el Cl⁻. Por el contrario, en tomate (Rush y Epstein, 1981) y trigo (Gorham et al, 1990), el NaCl es más tóxico que el KCl, indicando que, en este caso, el componente tóxico de la sal es el Na⁺.

En suspensiones celulares de tabaco, se probaron concentraciones osmóticamente equivalentes de sorbitol, manitol, NaCl y KCl, las cuales provocaron una inhibición del crecimiento celular, mostrando mayor efecto en las células, el NaCl y KCl (LaRosa et al, 1985) lo que indica que, en parte, los efectos causados por estas sales son debidos al componente iónico.

La toxicidad del estrés salino sobre las membranas celulares, podría ser ocasionado por el desplazamiento de los iones Ca²⁺ por el Na⁺, asociados

a la membrana plasmática y sistemas endomembranarios (Lynch y Läuchli, 1988), ocasionando una alteración del homeostasis del Ca^{2+} intracelular (Läuchli, 1990, Rengel, 1992). Resultados posteriores han indicado que el estrés salino es percibido por la planta a través de un aumento transitorio de la concentración de Ca^{2+} citosólico (Sanders, et al, 1999; Knight, 2000), para facilitar su adaptación al estrés (Knight y Knight, 2001).

El trasplante de vitroplantas a suelos con concentraciones de 40 y 45 mM de NaCl tuvo efecto negativo en la sobrevivencia en las plántulas. Después de cuatro semanas de trasplantadas, todas las plantas presentaron amarillamiento de hojas y tallos y finalmente cambio de color a café, tanto en tallos como las hojas, presentando un olor desagradable en las raíces, olor característico de material en descomposición.

Materiales y métodos.

El genotipo, el tipo de explante y el picloram influyen en la inducción de masas proembriónicas, callos y número de embriones en la especie *D. rotundata*. Por esto, para el establecimiento de la embriogénesis somática en *D. rotundata* se debe considerar el uso de hojas con pecíolo del cultivar alemán bajo el efecto de una concentración de 2 mg L⁻¹ de picloram. En este sentido, se demostró que es posible inducir masas proembriónicas en el cultivar alemán con un porcentaje superior al 90%, lo cual constituye una base experimental para futuras investigaciones sobre la optimización de la embriogénesis somática en esta especie.

Ubicación geográfica. El estudio se realizó en el invernadero de la Corporación Universitaria del Caribe- CECAR, por un periodo de 3 meses. Localizado a 9°18'38.8 de latitud norte y 75°22'01.9 de longitud oeste, con una elevación de 190 m.s.n.m., el área presenta clima cálido muy seco, con temperaturas promedio de 31 a 35 °C, precipitaciones anuales de 1099 mm y humedades relativas de 76 a 84%

Material Vegetal. Para el establecimiento del ensayo se utilizaron segmentos de tubérculos de ñame espino cultivar botón. Comprados a agricultores de la región.

Sustrato para siembra. El sustrato se depositó en bolsas para vivero de 10 kg, conteniendo una mezcla de suelo y abono orgánico en proporción 70/30. Se establecieron tres tratamientos, 0, 40 y 45 mM

de NaCl, denominados T0, T1 y T2 respectivamente. Para obtener la concentración de sal planteada en cada tratamiento, la sal sodio, se adiciono y mezclo con la cantidad total de suelo para cada tratamiento y posteriormente se distribuyó en cada bolsa, para garantizar la salinidad, se midió la conductividad eléctrica en cada tratamiento, mediante el uso del equipo multiparámetro pro DSS.

Propagación del cultivo. La propagación a partir de tubérculos se realizó sembrando en cada bolsa de 10 kg 20 segmentos de tubérculos. Cada tubérculo se cortó en segmentos de 50 gramos aproximadamente, los cuales fueron desinfestados con un fungicida de ingrediente activo Azoxystrobin, perteneciente al grupo de los ã-metoxiacrilatos (Nombre comercial Amistar 50 GW), asperjando las semillas picadas y posteriormente dejándolos secar a temperatura ambiente. Los segmentos o trozos de ñame fueron colocados uno por bolsa.

Semanalmente se realizaron mediciones en cada tratamiento, como son: altura de la planta a partir de que el brote alcanzara 2 cm aproximadamente, número de hoja desde la aparición del primer par. Finalmente se realizó el cálculo del porcentaje de brotación para los segmentos de tubérculos, (Africano, et al; 2015). Y se evaluó la conductividad eléctrica en 4 muestras tomadas a lo largo de la fase experimental.

Porcentaje de sobrevivencia de los brotes. Se determinó mediante la siguiente fórmula:

% sobrevivencia = $P_v / (P_v + P_m) * 100$ donde P_v - las plantas vivas y P_m - plantas muertas (Falcón, et al; 2015).

Fluorescencia de la clorofila. Con el fin de caracterizar el efecto y modo de acción del estrés por salinidad en el cultivo de ñame a la semana final de la fase experimental, se realizaron mediciones de la eficiencia fotosintética (F_v/F_m) con un Fluorimetro (Hansatech pocket PEA), tomando 3 hojas de cada planta en cada tratamiento, las cuales se colocaron en cámara oscura durante 20 minutos, para reducir la actividad del Foto Sistema II (PSII) a valores cercanos a 0, luego, se procedió a realizar las mediciones adaptando el equipo al clic conservando la condición de oscuridad de la hoja (Africano, et al; 2015).

Conductividad eléctrica del suelo. Se estableció siguiendo la metodología propuesta en el Manual de técnicas de análisis de suelo aplicada a la remediación de sitios contaminados (Linares, et al; 2006). Se preparó una pasta saturada con 40 gr de suelo de los tratamientos y 40 ml

de agua destilada, se dejó reposo durante 5 horas, transcurrido este tiempo se filtró y se midió la conductividad eléctrica con el equipo multiparametro pro DSS.

Diseño experimental. Los ensayos se realizaron bajo un diseño Completamente aleatorizado (DCA), con 3 tratamientos y 20 repeticiones, donde el tratamiento T0 fue el testigo, sin aplicación de NaCl, T1 correspondió a la aplicación de NaCl a una concentración de 40 mM de NaCl (4,0 ds/m) y el T2 con aplicación de NaCl a una concentración de 45 mM de NaCl (4.5 ds/m). La unidad experimental estuvo constituida por una planta. A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza (ANAVA) con una confianza del 95, mediante la aplicación del programa Infostat 2010 versión estudiantil.

Efecto de la salinidad en la propagación convencional por segmentos de tubérculos.

Se sembraron 60 segmentos de tubérculos de ñame opino, de los cuales, a los 39 días de la siembra de tubérculos, en suelos no salinos, se obtuvieron 19 brotados, y en los suelos con concentraciones de 40 y 45 mM de NaCl, se registraron 9 brotes a los 48 días y 4 brotes a los 53 días respectivamente.

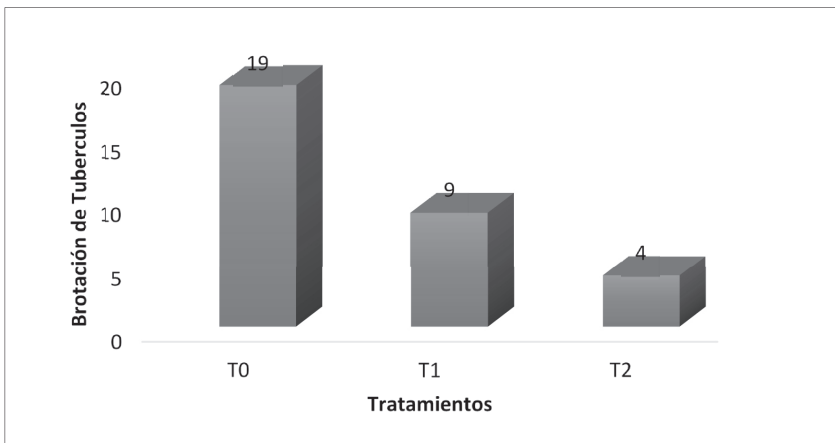


Figura 4. Número de tubérculos brotados en cada tratamiento, después de 39, 48 y 53 de la siembra en cada tratamiento.

Altura del tallo. El mayor promedio de altura, se registró en el tratamiento control T0, seguido del tratamiento T1 y finalmente el menor promedio en el tratamiento T2, con promedios de 85.7525, 29.5575, 5.2375 cm respectivamente (Figura 5).

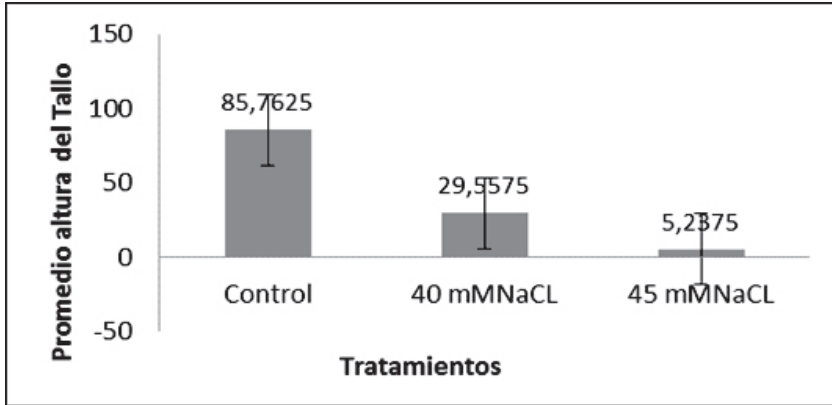


Figura 5. Altura del tallo de las plantas de (*Dioscrea rotundata*) registrado a los 7, 14, 21, 28, 35, 42, y 49, días de brotados en cada tratamiento.

Número de hojas. En los tratamientos control, T1 con 40 mM NaCl, y T2 45 mM NaCl, se observó que el número de hojas fue variable, mostrando el tratamiento control en promedio a las siete semanas de 9.04 hojas, mayor que en el tratamiento T1 y T2. Los cuales obtuvieron en promedio 3.05 y 0.38 hojas (Figura 6). Los datos obtenidos en los tres tratamientos son estadísticamente diferentes, el AVOVA arrojó un p-Valor < 0.05.

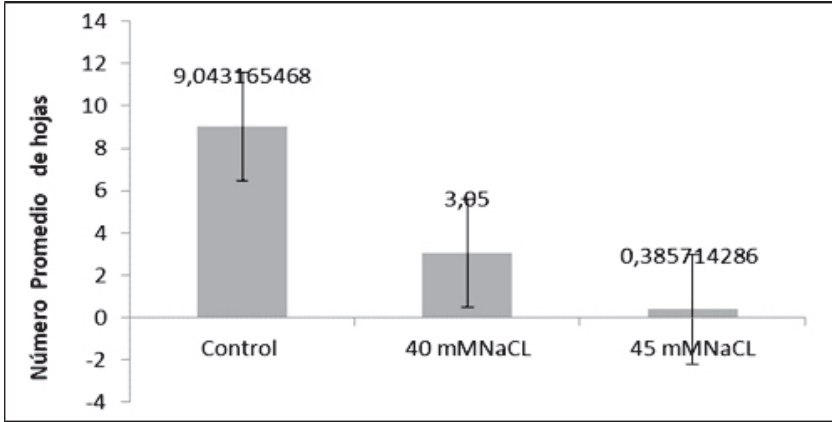


Figura 6. Promedio del número de hojas registrado en los tratamientos (control, T1 con 40 mMNaCl, y T2 45 mMNaCl) en los días 7, 14, 21, 28, 35, 42, y 49. Luego de la brotación de los tubérculos de *Dioscörea rotundata*.

Porcentaje de sobrevivencia de los tubérculos de ñame espino (*dioscorea rotundata*).

Se analizó como variable respuesta el porcentaje de sobrevivencia de los tubérculos de ñame *Dioscorea rotundata* de cada tratamiento a los 49 días. Con respecto al tratamiento testigo en el que la brotación de los tubérculos se acerca a un 100%, los tratamientos con 40 mMNaCl y 45 mMNaCl en el suelo presentaron una disminución en la brotación de los tubérculos, con porcentajes del 40% y 20% respectivamente (Figura 7) datos que presentan diferencia significativa con P valor < 0.05.

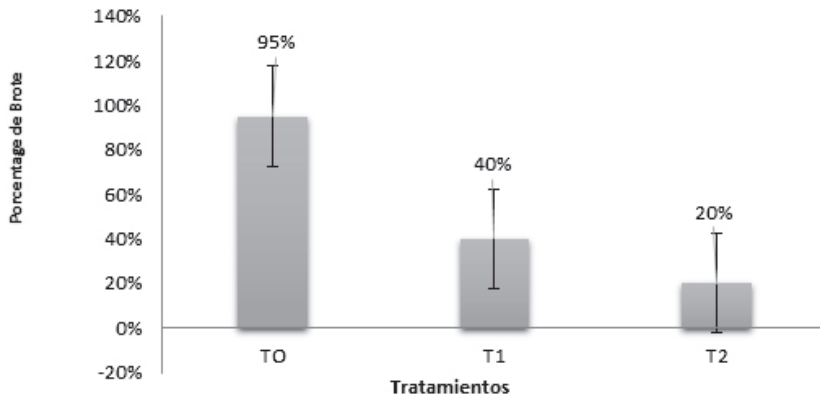


Figura 7. Porcentaje de Brote a los 49 días después de la siembra ñame (*Dioscórca rotundata*) bajo condiciones de suelo salino.

Fluorescencia de la clorofila. Con la finalidad de evaluar las condiciones de estrés de las plantas de ñame (*Dioscórca rotundata*), a los 49 días se midió la fluorescencia (Figura 8) de la clorofila en tres plantas de cada tratamiento T0, T1 y T2.

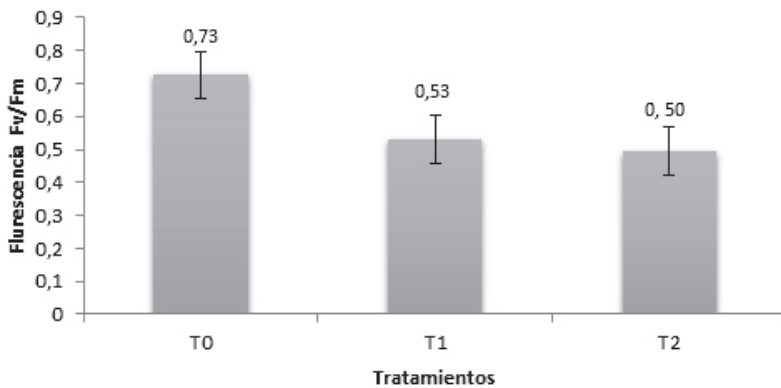


Figura 8. Eficiencia fotosintética (Fv/Fm), en plantas de ñame (*Dioscórca rotundata*) sembradas bajo condiciones de salinidad.

Conductividad eléctrica de suelo salino. A lo largo de la fase experimental, se tomaron 4 muestras de suelo con el fin de monitorear el comportamiento del parámetro de conductividad (Tabla 2).

Tabla 2. *Conductividad eléctrica del suelo en cada tratamiento.*

MUESTRA	TRATAMIENTO	CONDUCTIVIDAD ds/m
1	T0	2,0
2	T0	1,5
3	T0	1,3
4	T0	2,1
1	T1	4,0
2	T1	4,3
3	T1	4,4
4	T1	4,0
1	T2	4,5
2	T2	4,6
3	T2	4,8
4	T2	4,5

Fuente: *cálculos del estudio*

La tendencia de la conductividad eléctrica de los tratamientos T0, T1 y T2. En el tratamiento T0 el promedio de las muestras fue de 1,72 ds/m, valor se encuentra por debajo de 4 ds/m por lo que se puede inferir que el tratamiento control, no tenía suelos salinos (Figura 9). El tratamiento T1 mantuvo los valores de conductividad por encima de 4 indicando salinidad en el suelo que equivalen a más o menos 40 mMNaCl los cuales, corresponden al valor agregado al suelo al principio de la investigación. El tratamiento T2 con 4.6 registro un valor superior que el tratamiento T1 que corresponde aproximadamente a 46 mMNaCl presentes en el suelo.

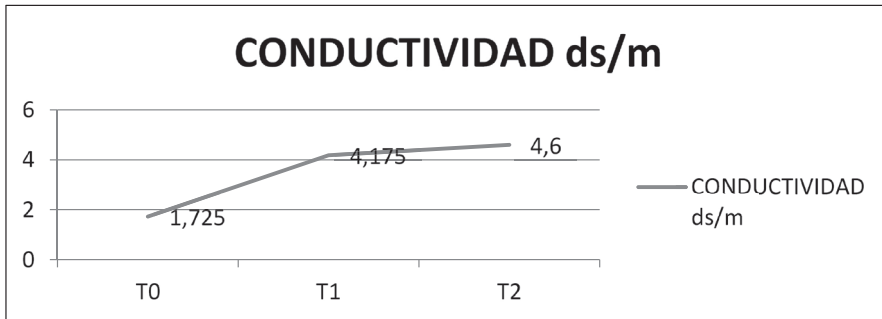


Figura 9. Conductividad eléctrica en ds/m presente en 4 muestras del suelo empleado para la siembra de los tubérculos, con el fin de evaluar la tolerancia de las plantas de ñame en suelos salinos, tomadas a lo largo del experimento.

Brotación de tubérculos de ñame (*dioscórrea rotundata*) bajo estrés salino

Según los resultados obtenidos y tomando como referencia el tratamiento control, la salinidad presente en el suelo del tratamiento T1 y T2 tuvo influencia en la brotación de tubérculos de *Dioscórrea rotundata*. En términos generales, cuando las plantas se encuentran bajo condiciones de estrés salino se presenta una ruptura de la homeostasis iónica de la planta gracias a la toxicidad causada por el sodio (Na^+) en el citoplasma y a su vez provoca una deficiencia de iones como el potasio; por otro lado las soluciones salinas afectan los procesos enzimáticos de la glicólisis, ciclo de Krebs y la fotofosforilación dando como resultado una menor disponibilidad de energía y adsorción de nutrientes (Mata-Fernández, et al; 2007).

Los datos obtenidos con respecto a la altura del tallo indican que la longitud de la planta fue afectada por la conductividad en los suelos de 4 ds/m para el tratamiento T1 y 4.5 ds/m en el tratamiento T2. La disminución en el tamaño de las plantas presentes en los tratamientos con 40 y 45 mMNaCl, puede estar relacionado con la disminución del potencial hídrico del suelo durante las primeras etapas de crecimiento (Mata-Fernández, et al; 2007), que interviene afectando la toma de agua por la planta, el efecto osmótico de los suelos salinos se refiere a altas concentraciones de sales que incrementan las fuerzas potenciales reteniendo el agua en la solución del suelo dificultando la extracción de esta por las raíces de las plantas (Mata-Fernández, et al., 2007), generando un variabilidad en la

toma de nutrientes gracias a la baja disponibilidad de agua y aumento en la concentración de elementos como Na^+ , Cl^- , (Leidi, et al; 2002). Estos datos concuerdan con lo descrito por Coca, et al; en el año 2012, quienes encontraron una reducción en la altura del pseudotallo de *Allium cepa* L., crecida bajo condiciones de salinidad de 90 mM de NaCl, de igual forma lo descrito por Manga et al; en 1988, que reportaron la disminución del el pseudotallo en plantas de cebolla con el aumento del nivel de salinidad en el suelo.

Es de anotar que dependiendo de cuál sea el catión predominante en el complejo de cambio Ca^{+2} o Na^+ del suelo; la concentración de sales confiere propiedades nocivas para los cultivos (Mata-Fernández, et al; 2007) sobre todo cuando alguno de estos se concentran en la zona radical de los cultivos generando valores muy altos en la presión osmótica del suelo con evidentes consecuencias en el desarrollo de la planta ocasionando la disminución del tamaño de la planta y por ende, la baja productividad (Sánchez-Bernal, et al; 2008).

El número de hojas fue otra variable afectada por la salinidad de los suelos según los datos registrados. Comparados con el tratamiento control con un promedio de 9,04 en la aparición de hojas en todas las repeticiones, el tratamiento T2 fue el más afectado con promedio de 0,38, anotando que el promedio para el tratamiento T1 fue de 3.05 menos que en el tratamiento control, pero mayor que el del tratamiento T2. La disminución en el número de hojas es variable con respecto al cultivo que se esté analizando y la concentración de salinidad a la que esté expuesto (Goykovic et al; 2007). En el caso del tomate, cuando se encuentra sometido a niveles de salinidad presenta reducción en el número de hojas y área foliar (Romero, et al; 2001). Esta respuesta, puede estar relacionada directamente con el desequilibrio osmótico que presentan las plantas al absorber más sodios y cloruros que agua, generando problemas de toxicidad y nutricionales que a su vez ocasionan problemas de crecimiento y desarrollo en el material vegetal (Yokoi, et al; 2002). De acuerdo con un estudio realizado por Lesmes et al; en el 2007, quien obtuvo mayor número de hojas en plantas de lechuga 'Batavia' (*Lactuca sativa* L.) establecidas sin adición de NaCl, indicando, que la salinidad afecta los procesos de división y expansión celular del tejido foliar, confirmado por Salisbury et al; 1992, quienes señalan que en plantas sometidas a ciertas condiciones pueden verse afectadas por limitantes que conducen a disminuir la división celular, el cual, es un proceso necesario para el crecimiento de órganos como las hojas. La reducción de la toma de potasio K^+ por las plantas y por ende la reducción de este elemento en los tejidos de las mismas, gracias al incremento de la salinidad en el medio que

favorece la toma de Na^+ que posteriormente retarda el transporte de K^+ a los brotes de la planta (relación Na^+/K^+) inactivan enzimas y disminuyen la síntesis de proteínas en las plantas (Azcón-Bieto, 2000).

Sobrevivencia de tubérculos de ñame (*dioscórrea rotundata*) al estrés salino

Según los datos obtenidos la salinidad tuvo un efecto negativo sobre la brotación de los tubérculos de *Dioscórrea rotundata*. Estos resultados muestran que el incremento de la salinidad del suelo redujo el porcentaje de brotación de los tubérculos (Garsaball, et al., 2007), según Dodd et al; en 1999, un incremento de la salinidad generalmente reducen de la germinación, proceso que puede estar relacionado con la absorción y acumulación de iones en la semilla o plántula, lo que concuerda con lo propuesto por Prisco, et al; 1970, quienes indican que un alto contenido de sales en el suelo, especialmente cloruro de sodio, puede inhibir la germinación a causa de la sequía fisiológica, disminución del potencial hídrico y aumento de la concentración de iones en el embrión generando efectos tóxicos.

Fluorescencia de la clorofila en plantas de ñame *dioscórrea rotundata*.

La medición de esta variable arrojó datos relacionados con el aparato fotosintético en relación con el estrés de las plantas a causa de la salinidad presente en el suelo. Tomando como punto de referencia la máxima eficiencia fotosintética con valor de 0.8 F_v/F_m (Magnusson, 1997), en los resultados obtenidos se evidencia la disminución de la eficiencia fotosintética en los tratamientos sometidos a estrés por salinidad, sin embargo, en condiciones in vivo la emisión de la fluorescencia de los sistemas fotosintéticos es cambiante según las condiciones ambientales a las que se encuentran sometidos, como son altas temperaturas, heladas, sequias, intensidad lumínica, deficiencia nutricional, salinidad, entre otros, los cuales afectan directa o indirectamente la función del PSII y por ende, modifica la emisión de la fluorescencia (Moreno, et al; 2008). La fluorescencia basal (F_0) es la que se emite cuando la QA (quinona, receptora primaria de electrones en el PSII) se encuentra completamente oxidada y por lo tanto los centros de reacción del PSII se encuentran abiertos, completamente necesario en la activación de las reacciones fotoquímicas (Mouget et al; 2002). La relación F_v/F_m , es “una estimación de la eficiencia cuántica máxima de la actividad fotoquímica del PSII cuando todos los centros de reacción del PSII están

abiertos” (Baker et al; 2004). Fv hace referencia a la fluorescencia máxima, mientras que Fv fluorescencia mínima; por lo tanto, una disminución en el Fv/Fm indica una reducción en la eficiencia fotoquímica del PSII y una perturbación o daños en el aparato fotosintético (Jiménez, et al; 2015). Es muy probable que la salinidad presente en el suelo de las plantas haya generado cierre estomático como primera respuesta al estrés (Jiménez, et al; 2015), asumiendo que el intercambio de gases con la atmósfera también se vio afectado ocasionando la disminución de CO₂ que generó saturación de electrones en el PSII (Africano, et al; 2015).

Conductividad eléctrica del suelo.

El parámetro de conductividad eléctrica del suelo se calculó con el fin de monitorear los cambios posibles presentados a lo largo de la investigación. Los valores obtenidos en este estudio evidencian un tratamiento sin salinidad y dos tratamientos con salinidad. Es necesario aclarar que la salinidad de los suelos agrícolas afecta directamente la productividad de los cultivos tolerantes a esta condición (Camacho, 2013). La salinidad del suelo se expresa en términos de conductividad eléctrica (CE), que indica la “velocidad con la que la corriente eléctrica atraviesa una solución salina, siendo ésta proporcional a la concentración de sales en la solución” (Mata-Fernández, et al; 2007). La conductividad eléctrica del suelo, se mide en milimhos por centímetro cúbico (mmhos/cm³) o decism (dSm⁻¹) (Basurto, et al; 2008). Un suelo es salino cuando el complejo coloidal presenta principalmente con sodio (Na⁺) determinado cuando la conductividad del extracto de saturación es mayor a 4 dSm⁻¹ a 25° C (Allison, et al; 1990). Dentro de las consecuencias generadas por la salinidad perjudican el desarrollo y la productividad de los cultivos (Mata-Fernández, et al; 2007).

Conclusiones.

- La salinidad de los suelos afecta negativamente el cultivo de ñame *Dioscorea rotundata*, interviene en la brotación de las semillas, altura de la planta, y aparición del número de hojas.
- La salinidad de los suelos produce sequía fisiológica en plantas de *Dioscorea rotundata*.
- La fluorescencia de la clorofila de las plantas de ñame *Dioscorea rotundata*, se ve afectada a causa de la salinidad. A mayores valores de salinidad se presentan menores valores en la eficiencia fotoquímica Fv/Fm del PSII.

- Las plantas de ñame *Dioscorea rotundata* no sobreviven en condiciones de suelo salino con conductividad eléctrica igual o mayor a 4 ds/m.
- La conductividad eléctrica del suelo es una medida de gran utilidad cuando se requiere establecer cultivos de *Dioscorea rotundata* mediante el empleo de semillas o plantas generadas in vitro.

Referencias Bibliográficas

- Abang, M. M., Winter, S., Mignouna, H. D., Green, K. R., & Asiedu, R. (2003). Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 486-496.
- Africano Pérez, K. L., & Plinzón Sandoval, E. H. (2015). Comportamiento fisiológico de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a estrés por salinidad. *Conexión Agropecuaria JDC*, 4(2), 11-22.
- Amusa, N., Adigbite, A., Muhammed, S., & Baiyewu, R. (2004). Yam diseases and its management in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 497-502.
- Baker, N. R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental botany*, 55(403), 1607-1621.
- Camacho-Tamayo, J. H. (2013). Relación espacial entre la conductividad eléctrica y algunas propiedades químicas del suelo. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 16(2), 401-408.
- Casierra-Posada, F., Ebert, G., & Lüdders, P. (2000). Efecto de la salinidad por cloruro de sodio sobre el balance de nutrientes en plantas de lulo (*Solanum quitoense*). *Agron Colomb*, 17(1-3), 85-90.
- Dodd, G. L., & Donovan, L. A. (1999). Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *American Journal of Botany*, 86(8), 1146-1153.
- Falcón Oconor, E., Rodríguez Leyva, O., & Rodríguez Matos, Y. (2015). Aplicación combinada de micorriza y FitoMas-E en plantas de *Talipariti elatum* (Sw.) Fryxell (Majagua). *Cultivos Tropicales*, 36(4), 35-42.

- Flowers, T. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany*, 55(396), 307-319.
- Garsaball, J. A. L., Méndez, J. R., & Mayz-Figueroa, J. (2007). Efecto de la salinidad del suelo sobre la germinación de semillas de maíz de diferentes pesos en el oriente venezolano. *Revista Temas Agrarios*, 12(2).
- Jiménez-Suancha, S. C., & Balaguera-López, H. E. (2015). Fluorescence as an indicator of stress in *Helianthus annuus* L. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(1), 149-160.
- Magnusson, G. (1997). Diurnal measurements of F_v/F_m used to improve productivity estimates in macroalgae. *Marine Biology*, 130(2), 203-208.
- Mata-Fernández, I., Rodríguez-Gamiño, M., López-Blanco, J., & Vela-Correa, G. (2007). Dinámica de la salinidad en los suelos.
- Moreno, S. G., Vela, H. P., & Alvarez, M. O. S. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4), 119-129.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- Pinzón Gutiérrez, Y. A. (2014). Caracterización morfológica y molecular de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de ñame (*Dioscorea* spp.) y establecimiento de una escala de virulencia para su caracterización patogénica. Universidad Nacional de Colombia.
- Prisco, J. T., & O'LEARY, J. W. (1970). Osmotic and 'toxic' effects of salinity on germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. *Turrialba*, 20(2), 177-184.
- Rhoades, J. D., Kandiah, A., & Mashali, A. M. (1992). The use of saline waters for crop production (Vol. 48): FAO Rome.
- Thurston, H. D. (1998). *Tropical plant diseases: American Phytopathological Society (APS Press)*.
- Tous Villareal, J. D. (2010). Caracterización morfológica y molecular del hongo *Colletotrichum* spp, agente causal de la antracnosis en ñame (*Dioscorea* spp) en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre.

Tolerancia al estrés salino en plantas de ñame espino (*dioscorea rotundata*. Poir)

Yokoi, S., Bressan, R. A., & Hasegawa, P. M. (2002). Salt stress tolerance of plants. JIRCAS working report, 23(01), 25-33.