
UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

"Respuesta al estrés salino inducido con NaCl, en los cultivares de *Musa* 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB) en fase de aclimatización"

TESIS DE DIPLOMA

Autor(a): Lucia Sandra Pérez Borroto

Tutor: Dr. C. Borys Chong Pérez

Co-Tutor: Lic. Leonardo Julio Moreno

Consultantes: Dr. C. Justo González Olmedo

Santa Clara

2015

UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA



TESIS DE DIPLOMA

"Respuesta al estrés salino inducido con NaCl en los cultivares de *Musa*
'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB) en fase de aclimatización"

Tutor: Dr. C. Borys Chong Pérez*boris@ibp.co.cu

Co-Tutor: Lic. Leonardo Julio Moreno*lmoreno@ibp.co.cu

Consultantes: Dr. C. Justo González Olmedo**justo@bioplantas.cu

*Instituto de Biotecnología de las Plantas
Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas.
Carretera a Camajuaní km 5,5, Santa Clara, Cuba.

**Centro de Bioplantas
Universidad “Máximo Gómez Báez” de Ciego de Ávila
Carretera a Morón Km 9,5, Ciego de Ávila, Cuba.

Santa Clara

2015

Dedicatoria

A la Lucía de 1928, a René Pérez Vázquez y a mis dos madres Ángela y María Borroto

Resumen

Los plátanos y bananos cultivados en regiones tropicales y subtropicales, son severamente afectados por la salinización de los suelos. Se han desarrollado técnicas biotecnológicas en aras de obtener y/o seleccionar cultivares tolerantes a la salinidad, tanto en fase *in vitro* como de aclimatización, empleando agentes osmo-estresantes incorporados al medio de cultivo o en el suelo. La presente investigación fue desarrollada con el objetivo de determinar la respuesta al estrés salino inducido con NaCl en los cultivares de *Musa*. ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) en fase de aclimatización. Se determinaron variables morfológicas (niveles de clorosis y necrosis), fisiológicas (contenido de clorofilas) y bioquímicas (contenido de prolina, malondialdehído y peróxido de hidrógeno) en plantas sometidas al estrés y controles. Además se caracterizaron los niveles de salinidad para el suelo y agua de riego empleados durante la inducción del estrés. Las plantas pertenecientes al cultivar ‘Grande naine’ presentaron mayores niveles de afectación que las del cultivar ‘Pelipita’ en todos los indicadores analizados, excepto contenido de clorofilas. Ambos cultivares mostraron un incremento en el número de hojas cloróticas y necróticas, contenido de clorofilas, prolina, peróxido de hidrógeno y malondialdehído ante mayores concentraciones de NaCl en suelo. Las mayores afectaciones para ambos cultivares se apreciaron en suelo y agua de riego con niveles de salinidad superiores a los 2,3 y 5,0 dS/m, respectivamente. Teniendo en cuenta estos resultados, el uso del NaCl como agente inductor y el procedimiento empleado durante la investigación, podrían constituir una metodología para la selección temprana en fase de aclimatización de cultivares de *Musa* con respuesta tolerante a la salinidad.

Palabras claves: clorofila, malondialdehído, peróxido de hidrógeno, prolina, selección.

Abstract

Bananas and plantains grown in tropical and subtropical regions are severely affected by soil salinization. Biotechnological techniques have been developed in order to obtain and / or selected cultivars tolerant to salinity, both under in vitro and acclimatization using osmo-stress agents incorporated into the culture medium or soil. This research was conducted in order to determine the response to salt stress induced NaCl in *Musa* cultivars 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) in acclimatization phase. Morphology (levels chlorosis and necrosis), physiological (chlorophyll content) and biochemical (proline content, malondialdehyde and hydrogen peroxide) in plants subjected to stress and controls were determined. Besides salinity levels for soil and irrigation water used for the induction of stress they were characterized. The plants in the cultivar 'Grande naine' involvement had higher levels than the cultivar 'Pelipita' in all indicators analyzed except chlorophyll content. Both cultivars showed an increase in the number of chlorotic and necrotic leaves, chlorophyll content, proline, hydrogen peroxide and malondialdehyde to higher NaCl concentrations in soil. The greatest damage to both cultivars were observed in soil and irrigation water with levels higher than 2,3 and 5,0 dS/m respectively salinity. Given these results, the use of NaCl as inducing agent and the procedure used during the investigation, could constitute a methodology for early selection in acclimatization phase *Musa* cultivars tolerant to salinity response.

Keywords: chlorophyll, malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline, selection.

Índice

1.	Introducción -----	1
2.	Revisión bibliográfica-----	4
2.1	Generalidades sobre el cultivo -----	4
2.1.1	Origen, y distribución -----	4
2.1.2	Taxonomía y diversidad genética -----	5
2.1.3	Importancia económica y alimentaria -----	6
2.1.4	Características del cultivar 'Grande naine' -----	7
2.1.5	Características del cultivar 'Pelipita' -----	8
2.2	Estrés abiótico en plantas -----	9
2.2.1	Tipos de estrés abiótico -----	9
2.2.2	Estrés salino -----	9
2.2.3	Efectos de la salinidad en las plantas -----	10
2.2.4	Mecanismos de tolerancia frente al estrés salino -----	12
2.3	Sensibilidad de los plátanos y bananos a la salinidad -----	13
2.4	Indicadores de tolerancia al estrés por salinidad -----	13
2.4.1	Indicadores morfológicos -----	13
2.4.2	Indicadores fisiológicos -----	14
2.4.2.1	Clorofilas -----	14
2.4.3	Indicadores bioquímicos -----	15
2.4.3.1	Prolina -----	15
2.4.3.2	Peróxido de hidrógeno -----	16
2.4.3.3	Malondialdehído -----	18
2.5	Análisis de salinidad en suelo y agua de riego -----	19
2.5.1	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo -----	19
2.5.2	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego -----	21
3.	Materiales y métodos -----	23
3.1	Procedimientos generales -----	23
3.1.1	Material vegetal -----	23
3.1.2	Riego -----	23
3.2	Diseño y ejecución experimental -----	24
3.3	Inducción de estrés por salinidad con NaCl -----	24
3.4	Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de estrés salino -----	24
3.4.1	Indicadores morfológicos -----	24
3.4.2	Indicadores fisiológicos -----	24
3.4.2.2	Contenido total de clorofilas -----	24
3.4.3	Indicadores bioquímicos -----	25
3.4.3.1	Contenido de prolina -----	25
3.4.3.2	Contenido de Peróxido de hidrógeno -----	26
3.4.3.3	Contenido de Malondialdehído -----	26
3.5	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo -----	26
3.6	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego-----	27
3.7	Procesamiento estadístico -----	27
4.	Resultados -----	28
4.1	Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en los cultivares de <i>Musa</i> 'Grande naine' y 'Pelipita' sometidos a estrés salino en fase de aclimatización -----	28

4.1.1	Indicadores morfológicos -----	28
4.1.1.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de clorosis -----	28
4.1.1.2	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de necrosis -----	31
4.1.2	Indicadores fisiológicos -----	34
4.1.2.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl en la concentración relativa de clorofilas -----	34
4.1.3	Indicadores bioquímicos -----	35
4.1.3.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de prolina -----	35
4.1.3.2	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de Peróxido de hidrógeno -----	37
4.1.3.3	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de Malondialdehído-----	38
4.2	Clasificación de salinidad en suelo y agua de riego -----	39
4.2.1	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo -----	39
4.2.2	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego -----	40
4.3	Correlación entre niveles de salinidad e indicadores fisiológicos y bioquímicos -----	41
4.3.1	Relación estadística de indicadores fisiológicos con niveles de salinidad -----	41
4.3.1.1	Relación estadística Contenido de clorofilas – Salinidad -----	41
4.3.2.	Relación estadística de indicadores bioquímicos con niveles de salinidad -----	42
4.3.2.1	Relación estadística Prolina – Salinidad -----	42
4.3.2.2	Relación estadística Peróxido de hidrógeno – Salinidad -----	42
4.3.2.3	Relación estadística Malondialdehído – Salinidad -----	43
5.	Discusión -----	45
5.1	Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en los cultivares de <i>Musa</i> ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino en fase de aclimatización -----	45
5.1.1	Indicadores morfológicos -----	45
5.1.1.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de clorosis -----	45
5.1.1.2	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de necrosis -----	46
5.1.2	Indicadores fisiológicos -----	47
5.1.2.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl en la concentración relativa de clorofilas -----	47
5.1.3	Indicadores bioquímicos -----	48
5.1.3.1	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de prolina -----	48
5.1.3.2	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de Peróxido de hidrógeno -----	51
5.1.3.3	Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de Malondialdehído -----	53
5.2	Clasificación de salinidad en suelo y agua de riego -----	55
5.2.1	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo -----	55
5.2.2	Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego -----	56
5.3	Correlación entre niveles de salinidad e indicadores fisiológicos y bioquímicos -----	57
5.3.1	Relación estadística de indicadores fisiológicos con niveles de salinidad -----	57
5.3.1.1	Relación estadística Contenido de clorofilas – Salinidad -----	57

5.3.2.	Relación estadística de indicadores bioquímicos con niveles de salinidad -----	57
5.3.2.1	Relación estadística Prolina – Salinidad -----	57
5.3.2.2	Relación estadística Peróxido de hidrogeno – Salinidad -----	58
5.3.2.3	Relación estadística Malondialdehído – Salinidad -----	59
6.	Conclusiones -----	60
7.	Recomendaciones -----	61

1. Introducción

Las plantas se encuentran continuamente sometidas a situaciones ambientales cambiantes, lo que trae como consecuencia la proliferación de una serie de estímulos denominados estresores, que van a influenciar el desarrollo y crecimiento normal de las mismas (Bohnert, 1995). La sequía, el frío, la alta salinidad y el calor son los principales factores abióticos desfavorables que reducen el rendimiento de los cultivos con fines alimentarios en todo el mundo (Mantri *et al.*, 2012).

Los plátanos y bananos constituyen un alimento fundamental para más de 400 millones de personas en todo el mundo. Se cultivan en más de 130 países con una producción anual de 144 millones de t (FAOSTAT, 2014). Al ser cultivos que requieren de buenas condiciones de humedad y calidad de suelo, para su normal crecimiento y desarrollo se ubican en regiones tropicales y subtropicales (Koeppel, 2008). El cambio climático, acentuado en los últimos años, ha provocado que estos cultivos se vean afectados por diferentes tipos de estrés ambiental como el calor, la sequía y la salinidad (Moreno, 2014). Siendo este último uno de los principales factores que limita el crecimiento y la productividad de plátanos y bananos en los campos agrícolas (Nakayama, 2005)

Sería beneficioso entonces contar con variedades mejoradas que sean tolerantes al estrés abiótico y salino particularmente; por lo que el desarrollo de estudios sobre el comportamiento de dichos cultivares ante situaciones estresantes tanto en fase *in vitro* como en aclimatización resulta imprescindible para desarrollar una selección temprana.

En ese sentido, como métodos de selección se han empleados agentes estresantes tales como el (NaCl) utilizado en numerosas ocasiones (Broetto *et al.*, 1999; Ma, 2006; Moller, 2009; Mian, 2011; Mantri *et al.*, 2012). El mismo es incorporado al sustrato para generar estrés hiperosmótico, produciendo déficit de agua a nivel celular, tensión iónica por toxicidad a partir de los altos niveles de Na^+ en el citosol y finalmente la inhibición metabólica de actividades celulares (Nakayama, 2005), medibles morfológica, fisiológica y bioquímicamente. La utilización de NaCl como agente estresante está directamente

involucrada con los estudios sobre la resistencia al estrés salino de variedades de plátanos y bananos, así como en el desarrollo de los procesos de selección de las mismas.

Las plantas han desarrollado mecanismos bioquímicos y moleculares antiestrés, como los de detección y eliminación de especies reactivas del oxígeno, ampliamente estudiados. También se conoce la producción de moléculas de respuesta a estrés, empleadas como indicadores de tolerancia, entre ellas se encuentran la prolina, el malondialdehído y el peróxido de hidrógeno (Smirnoff, 1993; Fadzilla *et al.*, 1997). El uso de estos indicadores bioquímicos de estrés salino, unido a indicadores morfológicos y fisiológicos, como el estado de necrosis de las hojas y el contenido relativo de clorofilas, respectivamente, podría ser de utilidad para la selección de variedades tolerantes al estrés salino en fase de aclimatización. Desde hace varios años se han desarrollado estudios de selección de variedades tolerantes al estrés abiótico con el fin de obtener mejores rendimientos en campo y por ende producciones menos afectadas (Tarczynski *et al.* 1993; García *et al.*, 2004; Mahmood *et al.*, 2009; Upendra *et al.*, 2011).

Conociendo las posibilidades generadas por las técnicas biotecnológicas, la importancia que tiene para la agricultura la evaluación de nuevas variedades con tolerancia al estrés salino y los antecedentes anteriormente descritos, se planteó la siguiente hipótesis: “El análisis de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, permitiría determinar la respuesta al estrés por salinidad inducido con NaCl en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) en fase de aclimatización”.

Teniendo en cuenta estos aspectos, se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo General

Determinar la respuesta al estrés por salinidad inducido con NaCl, en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) en fase de aclimatización.

Objetivos Específicos

- 1- Determinar indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidas a estrés por salinidad con NaCl.
- 2- Determinar niveles de salinidad en suelo y agua de riego.

- 3- Correlacionar los niveles de salinidad en suelo con indicadores fisiológicos y bioquímicos evaluados en las plantas de los cultivares de *Musa* 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB) sometidas a estrés por salinidad con NaCl.

2. Revisión bibliográfica

2.1 Generalidades sobre el cultivo

Como denominación el plátano, banano, cambur, topocho o guineo agrupa a un gran número de plantas herbáceas pertenecientes al género *Musa*, incluyendo tanto a los híbridos obtenidos horticulturalmente, como a los cultivares genéticamente puros de estas especies (Cheesman, 1948).

Las plantas del género *Musa*, son descritas como megaforbias (Morton, 1987). Suele decirse que carecen de verdadero tronco, presentando en su lugar vainas foliares desarrolladas en forma de pseudotallos no leñosos de hasta 30 cm de diámetro basal y que pueden alcanzar 7 m de altura. No obstante, si poseen como tallo verdadero un cormo subterráneo erecto, con poco crecimiento horizontal (Araya, 2008). Las hojas de este género se cuentan entre las más grandes del reino vegetal (hasta 3 m de longitud), se disponen en espiral y son de tipo liso, tiernas, oblongas, con ápice trunco, base redonda, generalmente verde por el haz y más clara por el envés. Posee inflorescencias espigadas o en panícula; con flores hermafroditas o unisexuales, bracteadas, de perianto zigomorfo (diferenciado a menudo en cáliz y corola); el androceo está constituido generalmente por 5 estambres y 1 estaminodio, mientras el ovario es ínfero trilocular. Por otra parte los frutos son abayados o capsulares. Algunas especies producen frutos sin semillas, perpetuándose por vía vegetativa. El rizoma produce uno o varios retoños que sustituirán a la planta madre una vez muerta, hecho que ocurre después de la formación de los frutos.

Son propios de regiones tropicales y subtropicales, de suelos fértiles, húmedos y ligeramente ácidos, con un pH en torno a 6; por lo que rara vez dan buenos resultados fuera de la banda comprendida entre los 30° N y 30° S. Algunos cultivos están adaptados a altitudes de hasta 2.300 msnm, pero la mayoría no prospera a más de 600 m de altitud (Lamz y González, 2013).

2.1.1 Origen y distribución

El género *Musa* posee un origen ampliamente debatido (Araya, 2008). Las primeras referencias sobre plátanos diploides comestibles pertenecen presumiblemente a la especie *Musa acuminata* Colla, cuyo primer y decisivo paso en la evolución fue el origen de la

partenocarpia y desaparición de la semilla. Los cambios posteriores se basaron en la hibridación de *M. acuminata* con una segunda especie *Musa balbisiana* Colla.

La mayor parte de los naturalistas ubican el origen del plátano en India o en las islas de Oceanía (López, 1998), debido a que aparece en pinturas rupestres de cavernas posiblemente de los años 300 y 400 a.n.e. Para este autor muchas variedades cultivadas pertenecen a especies nativas del noreste de la India, referidas desde la poesía épica del budismo primitivo en los años 500-600 AC. En el Mediterráneo de los tiempos clásicos, los plátanos y bananos sólo se conocían de oídas; fueron descritos por Megástenes, Teofrasto y Plinio, que parecen convenir que las plantas llegaron al área después de la conquista de los árabes en el año 650 D.C.

Se plantea que el género se originó en la península malaya en Asia (Belalcázar, 1991), donde existían tanto la especie *M. acuminata* como *M. balbisiana*, cuyos cruzamientos dieron origen a todas las variedades de plátanos y bananos comestibles conocidas en América.

Sobre su distribución fuera de Asia, se especula que pudo haber sido desde Indonesia hasta Madagascar cruzando el Océano Índico; con posterior introducción al este de África, República Democrática del Congo y posteriormente a la región Oeste del continente. Se plantea que los portugueses se encargaron de introducir el plátano desde África hacia las Islas Canarias poco después de 1402 y Fray Tomás de Berlanga lo llevó a Santo Domingo en América en el año 1516 (Simmonds, 1966); de ahí fue introducido en Cuba pasando posteriormente al resto del continente americano (López, 1998).

2.1.2 Taxonomía y diversidad genética

Desde la primera clasificación científica del género *Musa* realizada por varios autores también se han tratado su ubicación taxonómica de diferentes maneras. Actualmente los plátanos y bananos se encuentran clasificados taxonómicamente dentro del Reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Liliopsida*, orden *Zingiberales*, familia *Musaceae* y género *Musa* (Gardens, 2014).

Dicho género es altamente diverso, encontrándose informadas unas 50 especies, dada la alta tasa de variabilidad genética. Aunque la mayoría de las variedades proceden exclusivamente de *M. acuminata*. Entre las más importantes, destacan Pisang Jari Buaya

(diploide de alta resistencia a nemátodos), Gros Michel de extraordinarias cualidades en cuanto al manejo y conservación; 'Lacatan' caracterizado por un crecimiento muy rápido, 'Sucrier', 'Dedo de Dama' o 'Guineo Blanco' resistente a la sequía y al mal de Panamá, así como el subgrupo Cavendish con sus cultivares principales 'Enano', 'Gigante', 'Robusta' y 'Valery'. Además se encuentran cultivares como el Morado de alta productividad con racimos compactos de unos 100 frutos y el 'Golden Beauty' con resistencia a enfermedades como mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* Schltdl.) y Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). De origen exclusivamente de *M. balbisiana* las variedades más importantes son 'Maricongo' y 'Saba', con alta resistencia a la Sigatoka negra. Existen cultivares híbridos diploides, triploides y tetraploides, de los cuales son destacables el Burro u Orinoco, el Francés, el Macho y el Manzana, muy resistente a la Sigatoka pero susceptible al mal de Panamá; además destacan los cultivares 'Mysore', 'Cenizo' caracterizado por una alta concentración de azúcar, 'Chato' o 'Bluggoe' resistente a las enfermedades, 'Pelipita' resistente a la Sigatoka negra, así como 'Tiparot', 'Dominico' y 'FHIA 21' de alta productividad caracterizado por racimos largos con un promedio de 80 dedos (AGRI-NOVA, 2015).

2.1.3 Importancia económica y alimentaria

Los bananos y plátanos ocupan el cuarto lugar como el cultivo más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz, siendo las frutas de exportación de mayor importancia del planeta (UNCST, 2007). Además de constituir un alimento básico para 500 millones de personas, representan una importante fuente de empleo e ingresos en numerosos países en desarrollo. Se cultivan tanto en zonas tropicales como subtropicales, bajo diferentes sistemas, en 10 millones de hectáreas y en más de 130 países, con rendimientos entre 7 y 70 t ha⁻¹. Los países latinoamericanos y del Caribe producen el 90% del total de los plátanos y bananos que entran en el comercio internacional (Chen, 2011); aunque es la India el principal productor con cerca de 26 millones de toneladas (Granados *et al.*, 2014).

Es un alimento altamente digestivo, por lo que favorece la secreción de jugos gástricos, siendo entonces empleado en las dietas de personas afectadas por trastornos intestinales y

en la de niños de corta edad. Tiene un elevado valor energético (1,1-2,7 kcal/100 g), siendo una importante fuente de vitaminas B1, B2 y C, tanto como el tomate o la naranja. Numerosas son las sales minerales que contiene, entre ellas las de hierro, fósforo, potasio y calcio, además de altos niveles de vitaminas A y B6, siendo esta última muy útil para aliviar el estrés y la ansiedad (AGRI-NOVA, 2015) (Anexo 1).

2.1.4 Características del cultivar 'Grande naine'

Los cultivares pertenecientes al subgrupo Cavendish (AAA) cuentan con el 41% de la producción mundial, de los cuales un tercio (13% de la producción mundial) se exporta (FAOSTAT, 2014). Los cultivares Cavendish han dominado el mercado de exportación desde la sustitución del 'Gros Michel' hace más de 50 años, debido a sus altos rendimientos, larga vida de almacenamiento durante el transporte y sabor ampliamente aceptado. Estos cultivares son susceptibles a varias plagas y enfermedades, particularmente a la Sigatoka negra (*M. fijiensis*); requiriendo aplicaciones regulares de plaguicidas. Alrededor del mundo se cultivan distintos cultivares Cavendish, como el 'Williams', 'Valery', 'Poyo', 'Robusta', 'Giant Cavendish' y 'Grande naine'. Este último cultivar tiende a ser menos susceptible a los daños causados por los vientos, aunque presenta un rendimiento bajo en suelos pobres nutricionalmente, así como en condiciones de sequía y salinidad (Daniells, 2002).

El cultivar 'Grande naine' es un triploide que solamente tiene genoma de *M. acuminata* y se ubica dentro del grupo AAA. Su pseudotallo es de porte relativamente bajo, cilíndrico, de una altura entre 2,0-3,0 m y diámetro aproximado de 50 cm, medido a un metro de la superficie del suelo en el momento de aparecer la inflorescencia. Las hojas en su estadio adulto son de superficie cerosa, color verde mate con manchas pardo-negruczas en el haz y color verde claro hacia el envés. El nervio central es verde amarillo y tiene ligeras tonalidades rosadas; el pecíolo es grueso, corto y posee borde rojizo que se prolonga hacia todo el limbo. Los retoños son abundantes, cerosos y presentan muchas hojas que luego desaparecen. La inflorescencia es pendulada, la pámpana es aovada, donde sus bellotas son de color morado con cera y brácteas deciduas. El número de manos en la inflorescencia femenina está entre ocho y catorce con doble hilera. La infrutescencia es ligeramente

cónica, con frutos de pedúnculo largo y delgado, forma curva y color amarillo verdoso al madurar (Pérez, 1994).

La distribución de este cultivar es a escala mundial y predomina entre los bananos cultivados con fines comerciales y de exportación. Entre las ventajas que ofrece este cultivar se destacan los altos rendimientos, altos índices de cosecha, un intervalo de emergencia-floración y floración-madurez fisiológica de 196 y 122 días respectivamente y un ciclo productivo en 318 días; además la altura promedio del pseudotallo es de 2,5 m lo que confiere mayor resistencia al viento y facilita las labores agronómicas y de cosecha (Soto, 1985). Es el cultivar más comercializado a nivel mundial (Gómez, 2010).

2.1.5 Características del cultivar 'Pelipita'

El 'Pelipita' es uno de los cultivares de plátano de cocción más sembrados en Centro América, junto al 'Currare', 'Dominico' y 'Chato' o 'Moroca'. Es una planta herbácea de clima tropical, perteneciente a la familia de las Musáceas. Dicho cultivar fue descubierto en la colección de la United Fruit Co. en Honduras y pertenece al grupo ABB, siendo originario de las Islas Filipinas. La planta de 'Pelipita' es más vigorosa que la de otros cultivares, posee un pseudotallo verde pálido que alcanza alturas de hasta 4,5 m a la parición. Genera hasta 120 dedos cortos y achuponados por cada racimo que pueden llegar a pesar hasta 20 kg o más. Este cultivar se caracteriza por una alta resistencia ante el ataque de las enfermedades conocidas como el moko (*Pseudomonas solanacearum* Migula.). Además presenta buen nivel de tolerancia a la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) (Rodríguez *et al.*, 1985). Muestra rendimientos satisfactorios en condiciones de estrés ambiental por sequía o salinidad elevada de los suelos, aunque se recomienda establecer sus plantaciones en terrenos de topografía plana o casi plana, con suelos preferentemente de tipo Pardo o Ferralítico rojo de textura franco arenosa muy fina, franco limosa o franco limosa arcillosa, sin problemas internos de drenaje y con pH de 5,5 a 7. Requiere niveles de precipitación entre 1800 y 3000 mm de agua por año, así como temperaturas de 20 a 30 °C; pudiendo producirse retardo en el desarrollo fisiológico ante bajas temperaturas (Granados *et al.*, 2014).

2.2 Estrés abiótico en plantas

Las plantas están sometidas frecuentemente a escenarios desfavorables para su desarrollo y funcionamiento, ocasionados por alteraciones en el medio ambiente (Valdes y Balbín, 2002). Este conjunto de situaciones contraproducentes se conoce con el nombre de estrés medioambiental. Los estreses medioambientales (Gadea, 2011), son clasificados genéricamente como estrés biótico ocasionado por animales, otras plantas (relaciones de competencia, alelopatía), bacterias, hongos, virus, viroides y estrés abiótico causado por radiaciones, temperaturas extremas, disponibilidad de agua, salinidad, desbalances en la nutrición mineral y compuestos tóxicos.

2.2.1 Tipos de estrés abiótico

Los estreses abióticos, en dependencia del agente causal, pueden dividirse en físicos y químicos. Entre los factores físicos (en realidad, físico-químicos) se pueden mencionar el estrés por déficit o exceso de agua, temperaturas extremas (calor, frío, congelación), salinidad (en su componente osmótico) y radiación ultravioleta (UV). Entre los factores químicos destacan la contaminación atmosférica por metales pesados, toxinas y salinidad (en su componente iónico) (Azcón-Bietoy Talón, 2008).

2.2.2 Estrés salino

La salinidad es una cualidad que limita el funcionamiento adecuado del sistema edáfico, cuando ésta excede su concentración umbral, influye adversamente en la relación inter-nutrientes, en la reacción ácido – base, la permeabilidad y la estabilidad hídrica, además la alta concentración de iones presentes en el medio provoca trastornos fisiológicos a los cultivos, mediante fenómenos osmóticos, nutricionales y tóxicos, que generan disminuciones de los rendimientos, e incluso la muerte de las plantas (Valdes y Balbín, 2002).

En Cuba, este fenómeno no puede ser subestimado, ya que restringe los resultados productivos de la agricultura nacional y genera problemas ambientales en nuestro entorno; en la actualidad, afecta en diferentes niveles a un millón de hectáreas de suelos, que representa el 14% del área agrícola, con potencialidad para la degradación de otro millón más, si ellos no son adecuadamente manejados mediante buenas prácticas agrícolas. La

mayoría de las áreas salinizadas o en peligro de salinización están dedicadas a cultivos de pastos, arroz, caña de azúcar y cultivos varios, con la obtención en ellas de producciones no rentables. Cuba, por su condición de insularidad, presenta áreas con salinidad primaria, sin embargo, la mayoría de los suelos afectados se deben a la actividad antrópica, iniciada en el siglo XVI, básicamente por la deforestación de tierras altas y ciénagas costeras. Esta situación fue agravada durante el siglo XX por el uso, para el riego, de aguas salinizadas de acuíferos con intrusión marina, así como otras aguas de baja calidad y esencialmente por la elevación del manto freático salinizado como consecuencia de la intensificación del riego y construcción de embalses, sin haber considerado la construcción de sistemas de drenaje que controlaran y evacuaran al manto freático, las sales disueltas (Vento, 2011).

2.2.3 Efectos de la salinidad en las plantas

La salinidad en el suelo reduce el crecimiento y la productividad de los cultivos debido a la disminución de la presión osmótica en el sustrato y al aumento de la concentración de iones específicos a niveles tóxicos para las plantas. Dichos factores interfieren en procesos fisiológicos como la transpiración, respiración, translocación y fotosíntesis, además de causar desequilibrio hídrico e iónico en la planta (Richards, 1992, Bohra, 1993).

El estrés salino tiene dos componentes que afectan negativamente el crecimiento vegetal: el componente osmótico y el iónico (Valdes y Balbín, 2002). La elevada concentración salina provoca un descenso del potencial hídrico del suelo, el cual induce estados de sequía fisiológica en las plantas (componente osmótico de la salinidad). Por otra parte determinados iones como el Cl^- , Na^+ , NO_3^- , SO_4^{2-} y NH_4^+ resultan tóxicos para la inmensa mayoría de las plantas cultivadas (componente iónico). La toxicidad metabólica del Na^+ está asociada con perturbaciones en la membrana celular y con la competencia por los sitios de enlace del K^+ esencial para el metabolismo. Por lo que a una alta concentración de Na^+ ocurre el desplazamiento de los iones de Ca^{2+} de los sitios de enlace en la membrana celular en raíz, alterando su permeabilidad, lo que causa una salida del K^+ desde el citosol y favorece la entrada de mayor cantidad de Na^+ (Dood *et al.*, 2010).

Las altas concentraciones de Na^+ deterioran la selectividad de la membrana y favorecen la acumulación pasiva del propio ión en raíces y tallos inhibiendo paulatinamente el crecimiento de los mismos. Además se produce una disminución en el contenido de agua y la disponibilidad de nutrientes, además de la acumulación de metabolitos en cantidades tóxicas (Madueño-Molina *et al.*, 2006).

La toxicidad por iones, el estrés osmótico y las deficiencias nutricionales por efecto de la salinidad pueden producir trastornos metabólicos que originan un fenómeno de considerables implicaciones en el orden fisiológico a partir de la producción por la propia planta de intermediarios químicos tóxicos conocidos como especies reactivas del oxígeno (ERO); dicho fenómeno recibe el nombre de estrés oxidativo (Alonso, 2014).

Las ERO como el radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}) son producidos durante los procesos celulares aeróbicos normales de la célula, como la cadena de transporte electrónico en cloroplasto, la oxidación del glicolato durante la fotorrespiración y por transformaciones metabólicas de determinados compuestos como la xantina y la glucosa. Sin embargo los niveles de las ERO son también incrementados drásticamente por cambios estresantes en el medio (Arora *et al.*, 2002). Independientemente de que las ERO sean moléculas que tienen una elevada afinidad por las membranas, ADN o proteínas y por esta razón son consideradas como especies tóxicas disruptoras del metabolismo celular; se han encontrado evidencias de su funcionamiento como señales moleculares que median respuestas a varios estímulos como los producidos durante el estrés abiótico (Desikan *et al.*, 2004).

En condiciones de estrés salino se incrementa la formación de las ERO debido a que aumenta el número de electrones que escapan de la cadena transportadora y reaccionan con el oxígeno en los cloroplastos y mitocondrias (El-baky *et al.*, 2003).

Por otra parte, la peroxidación intensiva de los lípidos de membrana y la ruptura de las moléculas de ATP en condiciones de estrés salino provoca la degradación de sofisticados sistemas como los complejos ribosomas-membranas del Retículo Endoplasmático Rugoso (RER), con una directa afectación a los procesos de biosíntesis proteica (Alonso, 2014).

2.2.4 Mecanismos de tolerancia frente al estrés salino

Los mecanismos implicados en la tolerancia a salinidad pueden ser agrupados en tres tipos fundamentales: 1) la homeostasis celular, que incluye la homeostasis iónica y el ajuste osmótico, 2) la detoxificación y 3) la regulación del crecimiento (Zhu, 2001).

El efecto limitante de la salinidad en el crecimiento de las plantas se debe tanto al desajuste osmótico por desbalance iónico generado en etapas tempranas del estrés, como a los efectos directos desencadenados por el propio ión durante la transición de estrés inicial lento a moderado (Munns y Tester, 2008).

Ante altos niveles de salinidad, las plantas sensibles carecen de mecanismos de control para el transporte de Na^+ , donde el efecto iónico prevalece sobre el osmótico. En las células vegetales con metabolismos normales, se requieren mayores niveles de K^+ (100–200 mM) y bajos niveles de Na^+ (10–20 mM) (Carden *et al.*, 2003). Por lo que la tolerancia al estrés salino involucra primeramente el mantenimiento o rápido restablecimiento de la homeostasia iónica y osmótica (Munns y Tester, 2008). Segundamente la eficiente exclusión de los excesos del ión Na^+ por el citoplasma (mediante proteínas transportadoras transmembranales) y el secuestro del propio ión por las vacuolas son los principales mecanismos fisiológicos de adaptación al estrés salino en plantas. Para contrarrestar el efecto nocivo del estrés oxidativo, las plantas poseen sistemas enzimáticos y compuestos antioxidantes eficientes de naturaleza no proteica, que contribuyen de forma sinérgica a mantener la concentración de las ERO en niveles no tóxicos. Como respuesta adaptativa en el transcurso de la evolución, se han desarrollado finos mecanismos a nivel metabólico para elevar la concentración de tales compuestos, ya sean no enzimáticos como el ascorbato, el tocoferol y los pigmentos carotenoides; así como una variedad de enzimas distribuidas en diferentes compartimentos celulares, entre las que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), las peroxidasas y las del ciclo ascorbato-glutatión. Estas defensas no están restringidas a compartimentos intracelulares, sino que también se localizan aunque de manera limitada, en el apoplasto (Alonso, 2014).

2.3 Sensibilidad de los plátanos y bananos a la salinidad

El cambio climático ha provocado un aumento de la temperatura global del planeta y una reducción de las precipitaciones, en algunas temporadas del año (Moreno, 2014). Esto trae consigo que los cultivos de plátanos y bananos se vean afectados por diferentes tipos de estrés ambientales como sequía y salinidad, comprometiendo su productividad.

El cultivo de plátanos y bananos presenta limitaciones de producción en áreas con problemas de salinidad o sodicidad del suelo. Estos problemas, causados por la aplicación de un agua de riego salinizada y por un inadecuado manejo del suelo, se están agravando en las regiones áridas y semi-áridas de todo el mundo (de Jesus, 2002).

La sensibilidad a la alta salinidad en plátanos y bananos es mayor durante los estadios de plántulas, inmediatamente después del trasplante y en conjugación con otros estreses (provocados por enfermedades, insectos, nutrientes) (Valdes y Balbín, 2002). El efecto inmediato de la salinidad sobre plátanos y bananos es la sequía fisiológica provocada por la reducción del potencial osmótico a nivel de sustrato, posteriormente el desequilibrio nutricional por alta concentración iónica y la inhibición de la absorción de otros cationes por acumulación tóxica de Na^+ y Cl^- . Además de los disturbios fisiológicos, ocurren variaciones en los patrones isoenzimáticos, principalmente relacionados con las peroxidasas (Gomes *et al.*, 1999).

2.4 Indicadores de tolerancia al estrés por salinidad

2.4.1 Indicadores morfológicos

La superficie foliar proporciona una interfase importante entre la planta y su medio ambiente, por lo que la sobrevivencia de las mismas en condiciones estresantes puede depender de las características de la superficie foliar (Hernández *et al.*, 1999).

Las plantas que son expuestas a estrés por salinidad y/o sequía han mostrado una incrementada susceptibilidad a la fotoinhibición con el subsecuente desarrollo de clorosis (Taylor, 1987). Los daños fotooxidativos son exacerbados en condiciones de estrés. Al elevarse los niveles de ácido abscísico (ABA) se provoca el cierre estomático y se reduce la relación CO_2/O_2 en las hojas de las plantas. Al inhibirse la fijación del CO_2 se incrementa la formación de ERO debido al aumento del número de electrones que escapan de la cadena transportadora y reaccionan con el oxígeno en cloroplastos y mitocondrias, comprometidos

estructuralmente ante altos niveles de ERO (El-baky *et al.*, 2003). De esta manera la presencia de clorosis constituye un indicador morfológico de estrés celular.

Altas concentraciones de sales en el suelo, inducen un proceso de sequía osmótica en la planta, provocando deshidratación y en estadios prolongados muerte celular (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Por lo que una de las manifestaciones visibles ante el estrés salino es el marchitamiento característico de las hojas, con el subsecuente desarrollo de áreas necróticas, generando una disminución del área foliar con el objetivo de prevenir mayores pérdidas de agua por transpiración y aumentando la eficiencia en el uso de la misma (Granados-Sánchez y López, 1998). La necrosis suele presentarse inicialmente en los bordes, en el extremo distal de los folíolos y luego avanza hasta el extremo proximal, muchas veces sin que se presenten franjas cloróticas intermedias entre el área necrótica y la sana (Casierra-Posada y García, 2005)

2.4.2 Indicadores fisiológicos

2.4.2.1 Clorofilas

Las clorofilas son una familia de pigmentos de estructura química común: un anillo de porfirina compuesto por un tetrapirrol con sustituyentes laterales y un átomo de Mg^{2+} , además de una larga cadena llamada fitol. Existen varios tipos de clorofilas: a, b, c y d, con diversas longitudes de onda que les confieren propiedades de absorción según sus estructuras moleculares (Demmig-Adams y Demmig- Adams, 1996). Los principales tipos de clorofilas son a y b; la primera constituye el 75% de las clorofilas en plantas verdes y tienen como función capturar energía luminosa en el espectro rojo y violeta. Por su parte, la clorofila de tipo b es un pigmento de menor entidad que tiene la propiedad de transferir la energía recibida a las clorofilas de tipo a, las cuales finalmente convierten la energía luminosa en energía química (Arnón *et al.*, 1949).

La clorofila puede detectarse fácilmente gracias a su comportamiento frente a la luz, por lo que medir ópticamente su concentración en una muestra de tejido vegetal permite indirectamente estimar la actividad fotosintética. De esta manera la medición de clorofila constituye un importante instrumento de detección de daños fisiológicos ante situaciones de estrés celular.

Ante condiciones de estrés salino por altos niveles de NaCl en el suelo, ocurren modificaciones de pH en el mismo, causando deficiencias específicas de elementos metálicos como hierro y magnesio, siendo este último un componente estructural fundamental de la macromolécula de clorofila. Bajo estrés salino, los iones Na^+ y Cl^- penetran la concha de hidratación de algunas proteínas interfiriendo con las interacciones no covalentes entre los aminoácidos de las mismas. Esto a su vez, provoca cambios conformacionales y pérdida de sus funciones biológicas, como es el caso de enzimas implicadas en los mecanismos de biosíntesis de los pirroles, componentes estructurales de la clorofila (Salama y El-Fouly, 2001). La disminución en la concentración de pigmentos clorofílicos en condiciones de estrés salino también se relaciona con la destrucción de los cloroplastos ante un aumento de la actividad de la enzima clorofilasa, afectando los procesos de biosíntesis (Argente *et al.*, 2006).

2.4.3 Indicadores bioquímicos

2.4.3.1 Prolina

Una respuesta de las plantas al bajo potencial hídrico del suelo, ocasionado por el incremento de sales, es la acumulación de solutos osmóticamente compatibles. Dentro de éstos, la prolina es un componente importante con una amplia distribución en plantas (Nolte *et al.*, 1997). Este osmolito, es un compuesto orgánico altamente soluble que no posee carga a pH fisiológico y que se almacena en altas concentraciones dentro de las células sin ser tóxico (Moreno *et al.*, 2010).

La capacidad de acumular y utilizar prolina ha sido correlacionada en ciertas plantas con cultivares tolerantes a la sequía y deshidratación por altas concentraciones de iones (Al-Sulaiti *et al.*, 1990). La prolina actúa como estabilizador de proteínas (Paleg *et al.*, 1984), como capturador de especies reactivas del oxígeno (Smirnoff y Cumbes, 1989), como osmolito compatible (Chiang y Dandekar, 1995), fuente de carbono y nitrógeno (Samaras *et al.*, 1995) y en el mantenimiento del potencial redox celular (Hare *et al.*, 1998). Por otro lado se conoce la inducción de genes específicos y la variación de actividades enzimáticas relacionadas al metabolismo de la prolina en respuesta al estrés osmótico (Berteli *et al.*, 1995; Kiyouse *et al.*, 1996; Borsani *et al.*, 1999).

Para la acumulación de prolina se describen dos procesos principales de ajuste metabólico, la estimulación de la síntesis y la disminución de los procesos de oxidación (Hu *et al.*, 1992; Delauney y Verna, 1993). A su vez un enlentecimiento en la síntesis proteica bajo condiciones de estrés, contribuye también a la acumulación de prolina.

El precursor de este aminoácido es el glutamato, aunque en condiciones de estrés la ruta biosintética incorpora a la ornitina como precursor alternativo (Hanson y Hitz, 1982). De manera general en estas condiciones ocurre una estimulación de la biosíntesis, aunque este mecanismo no explica por sí solo los aumentos de la concentración de prolina en tejido foliar (Verbruggen *et al.*, 1996).

El ácido abscísico (ABA) posee una participación bien documentada en la inducción de genes relacionados con la producción de prolina en condiciones de estrés, incrementando sus niveles (Chandler y Robertson, 1994).

Los procesos de acumulación de prolina por síntesis *de novo* son una respuesta común ante situaciones de estrés por salinidad o sequía y es probable que esta estrategia permaneciera desde las plantas primitivas debido a la multiplicidad de funciones de esta molécula en relación con la protección ante situaciones de estrés (Chiang y Dandekar, 1995). Es probable que la prolina interactúe con diferentes proteínas, entre ellas enzimas, para preservar la estructura y por lo tanto su actividad biológica. Estudios *in vitro* plantean que la prolina funciona como osmolito citoplasmático, retardando la desnaturalización térmica de enzimas (Pollar y Wyn Jones, 1979), además de proteger frente algunas formas de desnaturalización debidas al radical hidroxilo (Smirnoff y Cumbes, 1995; Ortega *et al.*, 1999). Altas concentraciones de prolina, también constituyen una eficiente protección contra la perturbación inducida por deshidratación (Paley *et al.*, 1984).

2.4.3.2 Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

Las células de las plantas son capaces de producir especies reactivas del oxígeno, especialmente el H₂O₂ de manera constitutiva en cantidades significativas. Esta producción está asociada fundamentalmente a compartimentos extracelulares (matriz extracelular) y es regulada por factores del desarrollo como hormonas, luz y cortes en la superficie vegetal (Wojtaszek, 1997). El H₂O₂ es principalmente detectado en células que experimentan lignificación como las fibras floemáticas y elementos traqueales y en algunas células

epidérmicas. Por otra parte, la producción intensiva del H_2O_2 puede ser observada en células dañadas o sometidas a estrés mecánico (Olson y Varner, 1993).

En respuesta al estrés osmótico inducido por altas concentraciones de sales como el NaCl o por deshidratación, se ha observado la acumulación de H_2O_2 , producido a partir de la dismutación del radical superóxido por la enzima SOD (Asada *et al.*, 1974). El H_2O_2 en los cloroplastos es eliminado por acción de las enzimas peroxidadasas que utilizan los fotoreductores producidos en los tilacoides como donantes de electrones (Nakano y Asada, 1981, Asada y Badger, 1984). De esta manera, es poco probable que ocurra la difusión de dicha ERO de cloroplastos hasta peroxisomas; no obstante, ante un escape los niveles de H_2O_2 son reducidos por la actividad de la enzima CAT.

El H_2O_2 está relacionado con la modulación de la expresión de varios genes, incluyendo los que codifican para enzimas antioxidantes (Neill *et al.*, 2002). Entre las especies reactivas del oxígeno, parece ser quien desempeña el papel más importante en la señalización de los cambios estresantes, debido a su elevada estabilidad y largo tiempo de vida media. Por lo que si el H_2O_2 constituye una señal de estrés, las fluctuaciones del mismo en plantas podrían reflejar cambios espaciales y temporales en el ambiente. Para que el H_2O_2 funcione como molécula específicamente señalizadora, debe existir un mecanismo que reconozca el incremento en los niveles de esta especie. En este sentido el H_2O_2 puede interactuar con residuos de cisteína dentro de las proteínas. La modulación redox de proteínas podría potencialmente alterar la conformación proteica, afectando la actividad de las mismas y por tanto dar inicio a subsecuentes respuestas celulares (Hung, *et al.*, 2005).

Ante estrés por altas concentraciones de sales, el H_2O_2 puede llegar a acumularse en las membranas liposomales, pudiendo destruir este orgánulo y provocar la salida hacia el citosol de enzimas hidrolíticas que intensifican drásticamente los procesos de hidrólisis y autólisis de los tejidos. De esta manera, un exceso en los niveles estándar de H_2O_2 en las células vegetales, provoca la acumulación de derivados tales como aldehídos lipídicos, cetonas y epóxidos, los cuales unidos a toxinas de naturaleza no lipídica como las especies altamente reactivas de quinonas, causan la intoxicación general de las células (Tappel, 1964; Green, 1966). Los peróxidos pueden además inactivar los grupos tioles de las enzimas y oxidar grupos SH de aminoácidos y proteínas (Wills, 1966).

2.4.3.3 Malondialdehído (MDA)

Uno de los objetivos comúnmente afectados por el estrés salino en la célula vegetal son los sistemas de membranas, que bajo condiciones normales desarrollan numerosos procesos de mantenimiento celular. Las especies reactivas del oxígeno producidas durante situaciones de estrés constituyen fuente de afectación directa a la membrana celular (Verma y Dubey, 2003). Los estreses abióticos como la sequía, temperaturas altas o bajas, iluminación o salinidad son conocidos por acelerar la producción de especies reactivas del oxígeno, causando daños a los sistemas de membrana y consecuentemente a diversos procesos celulares (Dat *et al.*, 2000; Mittler, 2002).

Las membranas biológicas poseen altas proporciones de ácidos grasos insaturados y están inmersas en un fluido que contiene metales y además es rico en oxígeno. Por lo que los lípidos de membrana son muy susceptibles al ataque peroxidativo (Snaich, 1992; Mittler, 2002).

La principal manifestación molecular del incremento en el estrés oxidativo es la peroxidación de los lípidos de membrana, que se ha propuesto como punto de confluencia de varias fisiopatías y diversos tipos de estrés (Rivera, 2005). El deterioro de los lípidos conlleva a la pérdida de integridad y fluidez membranal, afectando a su vez la función apropiada de las proteínas de membrana, ya sea por un ataque directo de las EROS o por la pérdida de actividad debida a un ambiente lipídico desfavorable. Aunque los lípidos, las proteínas y el ADN son susceptibles al ataque por radicales libres, se ha observado que la peroxidación de lípidos esta cinéticamente favorecida. De esta manera, la peroxidación preferencial de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas tiene una función protectora al prevenir el ataque a las proteínas y al ADN (Shewfelt y Purvis, 1995; Kratsch y Wise, 2000).

El MDA es uno de tres dialdehídos de carbono altamente reactivos producidos en los procesos de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de membranas. El monitoreo de los niveles de MDA en los materiales biológicos se puede utilizar como un indicador importante de peroxidación de lípidos *in vitro* e *in vivo*. El enfoque más preciso para medir la peroxidación lipídica es cuantificar directamente los productos de hidroperóxido primario, sin embargo, estos son extremadamente difíciles de medir como resultado de su labilidad y requieren procedimientos largos. En consecuencia, la determinación de MDA,

un producto final secundario de la degradación oxidativa de lípidos, se ha convertido en el sistema de elección para estimar la peroxidación lipídica (Janero, 1990).

2.5 Análisis de salinidad en suelo y agua de riego

La relación existente entre los procesos fisiológicos y bioquímicos durante situaciones de estrés celular, comprende numerosos mecanismos exógenos de tipo ambiental, donde el sustrato, la biota (micro o macro) y los fenómenos estocásticos modulan positiva o negativamente los mecanismos de respuesta al estrés. Por lo tanto se hace necesario estudiar además de los procesos celulares generadores de daño por estrés oxidativo, factores abióticos externos como suelo y agua de riego.

A partir de los análisis complementarios de dichos factores, pueden relacionarse respuestas celulares con incrementos de determinado componente encontrado tanto en suelo como en agua, llegando a comprenderse de manera más amplia, la interacción existente entre elementos del medio externo con mecanismos de desajuste celular, producción de metabolitos, activación, enlentecimiento o inhibición de rutas.

2.5.1 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo

Todos los suelos son susceptibles a presentar afectaciones por salinidad, pues son el resultado de diversos procesos naturales y antrópicos que conducen, en menor o mayor grado, a una acumulación de sales. Cuando la sal es visible en la superficie del suelo su nivel de salinidad puede ser muy elevado y el cultivo estará afectado casi con seguridad. Para adelantarse a la aparición de estos problemas, se deben emplear herramientas capaces de evaluar el nivel de sales del suelo antes de que se aprecien los síntomas de salinidad. Para ello se pueden seguir varias estrategias, como son los análisis en campo mediante la utilización de sondas, o en laboratorios a partir de muestreos. Los análisis en laboratorios suelen ser procedimientos costosos en tiempo y recursos debido a que se deben tomar muestras de suelo en varios sitios parcelados, a diferentes profundidades, para su posterior selección, secado, molido, tamizado, envasado y almacenamiento (INEGI, 2000).

El procedimiento estándar para la determinación de la salinidad de los suelos en laboratorio requiere la realización de lo que comúnmente se denomina "pasta saturada del suelo", para posteriormente obtener el extracto de saturación donde se medirá la conductividad eléctrica. Hay métodos simplificados que se basan en la obtención del extracto de una suspensión suelo-agua formada por cinco partes de agua y una de suelo. En este extracto se mide la conductividad eléctrica, la cual puede relacionarse de modo aproximado con la medida de referencia en el extracto de saturación. Por otra parte la salinidad del suelo también puede evaluarse mediante el uso de sondas. La propiedad medida con la sonda es la conductividad eléctrica aparente (CEa) del suelo. Esta propiedad depende de otras características del suelo, además de la propia salinidad, como son la humedad y la textura. La conductividad eléctrica aparente de un suelo es, en consecuencia, distinta de la conductividad eléctrica de la solución del suelo y de la conductividad eléctrica en el extracto de saturación. Sin embargo, la utilización de sondas presenta la ventaja de la inmediatez de la medida y la desventaja de la compleja correspondencia que existe entre la medida de la sonda y la medida de referencia en el extracto de saturación (Fernandez, 2006).

A partir de los niveles de conductividad los suelos pueden clasificarse en cuanto a los niveles de salinidad (Tabla I), relacionando posteriormente estos valores con las especificidades de siembra establecidas para los cultivares de interés productivo, pudiendo así, seleccionar áreas de sembrado con índices de sales en el suelo que no comprometan el rendimientos de dichos cultivos.

Tabla I: Clasificación de suelos salinos según su conductividad eléctrica y su efecto en cultivos. (Vázquez y Bautista, 1993)

Clasificación del suelo	Conductividad eléctrica (dS/m)	Efecto en el cultivo
No salino	0 - 2	No afecta a los cultivos
Ligeramente salino	2 - 4	Puede disminuir los rendimientos de los cultivos sensibles
Moderadamente salino	4 - 8	Disminuye el rendimiento de la mayoría de los cultivos.
Salino	8 - 16	Rendimiento satisfactorio sólo de cultivos tolerantes
Extremadamente salino	> 16	Rendimiento satisfactorio sólo de cultivos muy tolerantes

2.5.2 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego

Por sus propias características estructurales, el agua disuelve y/o mantiene en suspensión un gran número de sustancias, pudiendo resultar potencialmente tóxicas para las plantas. La acumulación de las mismas, sean o no directamente tóxicas, genera problemas en el desarrollo fisiológico normal de estos vegetales (Hazem-Kalaji y Piet-kiwicz, 1993). Por ello, la aplicación de agua para riego con fines agrícolas debe estar precedida por un estudio para su tipificación, así como posteriormente la aprobación de su empleo (Pasternak y De Malach, 1994).

El origen de las sustancias presentes en el agua, principalmente las disueltas, es el material geológico que ha estado en contacto con ella, a través de los procesos de disolución e hidrólisis de los minerales que los constituyen (Ayers y Westcot, 1987). La concentración de las sales disueltas en el agua de riego varía durante su almacenamiento y transporte antes de llegar al punto de aplicación. Al ser aplicada al suelo, la concentración de las sales ocurre a una mayor rapidez por evaporación del agua desde la superficie del suelo y por la transpiración de las plantas (Pillsbury, 1981).

Todas las aguas de irrigación contienen sales disueltas en cantidades variables. La calidad del agua está determinada por la presencia de algunos constituyentes de importancia en el ambiente y por la concentración total de todos ellos. Al encontrarse en solución, las sales están separadas en aniones y cationes que finalmente serán las formas en que cada constituyente se determinará analíticamente para la clasificación de la calidad del agua. A lo largo del tiempo se han desarrollado diversos sistemas de clasificación de las aguas para riego (Carter, 1975), que independientemente de presentar pequeñas variaciones, toman en consideración la presencia de constituyentes particulares que pueden ser fitotóxicos (por ejemplo Boro o metales pesados), representar riesgos para la calidad del suelo (por ejemplo Sodio); así como la concentración total de los constituyentes solubles en el agua.

La capacidad del agua para conducir la electricidad aumenta con la concentración de sales. De esta forma, midiendo la conductividad eléctrica (CE) del agua mediante un par de electrodos, se puede estimar su salinidad de forma rápida y fiable. La conductividad eléctrica se mide generalmente en unidades de dS/m (deciSiemens por metro). Dicha

conductividad depende de la temperatura por lo que, para realizar comparaciones válidas la conductividad eléctrica debe expresarse en relación a una temperatura de referencia, habitualmente de 25 °C. En consecuencia, cuanto mayor es la conductividad a 25 °C (CE_{25}), mayor es la concentración de sales del agua (IVIA, 2015).

A partir de la conductividad puede evaluarse la calidad del agua de riego en función de su salinidad, siendo las aguas con mejor calidad las de concentraciones salinas inferiores a los 1.3 dS/m (Vento, 2011).

3. Materiales y métodos

La investigación se realizó en la fase de aclimatización y el laboratorio de Biología molecular del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), adscrito a la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV); además del laboratorio de Espectroscopia de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la propia universidad, durante el período comprendido entre septiembre de 2014 y mayo de 2015.

3.1 Procedimientos generales

3.1.1 Material vegetal

Para el presente estudio se emplearon los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’. El primero con genotipo AAA altamente susceptible al déficit salino (Daniells, 2002) y el segundo con genotipo ABB tolerante a este factor (Granados *et al.*, 2014)

Se utilizaron plantas crecidas en la fase de aclimatización provenientes del cultivo *in vitro*. Estas fueron sembradas de manera independiente en envases plásticos de 600 ml de capacidad utilizando como sustrato una mezcla de cachaza (80%) y zeolita (20%).

Para iniciar el experimento fueron seleccionadas plantas con más de tres hojas completamente expandidas; una altura promedio de 17 cm medida con una regla graduada desde la base de la planta, hasta el punto de inserción en el tallo de la hoja más joven completamente expandida; y un diámetro promedio del pseudotallo de 1,35 cm, medido con un pie de rey a dos centímetros de la base de la planta.

3.1.2 Riego

Las plantas fueron irrigadas de forma manual con concentraciones preestablecidas de NaCl disuelto en agua corriente (100, 150, 200, 250, 300 mM) (Mahmood *et al.*, 2009; Junior, 2012; Rustigi, 2013). A cada planta se le adicionaron 0,2 L de solución salina tres veces por semana a días alternos durante 21 días, tiempo al cual se realizó la evaluación del experimento.

3.2 Diseño y ejecución experimental

Para dar cumplimiento al objetivo: “determinar la respuesta al estrés por salinidad inducido con NaCl, en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) en fase de aclimatización” se estableció un diseño experimental de tipo Completamente Aleatorizado, definiendo como factores “Variedades” (con dos niveles: ‘Pelipita’ y ‘Grande naine’) y “Concentración salina” (con seis niveles: control (0), 100, 150, 200, 250 y 300 mM de NaCl). Con un tamaño de muestra (n) de 114 plantas.

La ejecución experimental se definió en tres etapas: primeramente se llevó a cabo la inducción del estrés a las 114 plantas de ambas variedades. Segundamente, se realizó la determinación de síntomas visuales de estrés, así como de indicadores fisiológicos y bioquímicos en las plantas estresadas. Por último se determinó salinidad para el suelo y agua de riego tratados en el experimento y se correlacionó con los indicadores fisiológicos y bioquímicos determinados previamente.

3.3 Inducción de estrés por salinidad con NaCl

Se seleccionaron 60 plantas del cultivar ‘Grande naine’ y 54 del cultivar ‘Pelipita’ distribuidas aleatoriamente en las dos repeticiones del experimento. En ambas repeticiones las plantas fueron ubicadas aleatoriamente en seis grupos experimentales: control y las cinco concentraciones representativas de NaCl previamente establecidas.

3.4 Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de estrés salino

3.4.1 Indicadores morfológicos

A los 21 días del experimento se evaluó la presencia y estado de avance de los procesos cloróticos y necróticos en la totalidad de las hojas de las plantas sometidas al estrés con NaCl en las dos réplicas del experimento.

3.4.2 Indicadores fisiológicos

3.4.2.2 Contenido total de clorofilas

El contenido total de clorofilas se determinó mediante el empleo del equipo medidor de clorofilas totales TYS-A (China) y basado en su instructivo técnico. El medidor de clorofilas totales mide la concentración relativa de clorofila por medio de la luz transmitida a través de la hoja a 650 nm (longitud de onda fotosintéticamente activa) y 940 nm.

A los 21 días en horario de la mañana (9-11 am) se realizaron lecturas *SPAD* (Soil and Plant Analysis Development) en la hoja más joven completamente expandida de todas las plantas en ambas réplicas del experimento de inducción de estrés. Las mismas fueron efectuadas en seis puntos de la hoja, dos cercanos al ‘ápice, dos a la región foliar media y dos al peciolo, completando un total de seis lecturas que posteriormente promediadas equivalen al contenido relativo de clorofila presente en la hoja.

3.4.3 Indicadores bioquímicos

Para la determinación de los indicadores bioquímicos de estrés salino, fue cortada la hoja más joven completamente expandida de las 144 plantas, posteriormente triturada en frío con nitrógeno líquido y almacenada a -80°C para su posterior uso. La cuantificación de cada indicador se realizó por espectrofotometría usando un espectrofotómetro GENESYS 6; Thermo Electronic Corporation; Visionlite; Version 2.1.

3.4.3.1 Contenido de prolina

El contenido de prolina se determinó según Bates *et al.*, (1973) con las siguientes modificaciones: a 100 mg de tejido vegetal previamente pulverizado se le adicionaron 2 ml de ácido sulfosalicílico al 3% (m/v) y se calentó a 100°C durante 15 minutos. Posteriormente, fue enfriado en baño de agua corriente y se centrifugó a 10000 g por dos minutos. Se extrajeron 2 ml del sobrenadante y se adicionó 2 ml de ninhidrina en medio ácido (0.1561 g de ninhidrina + 3.75 ml de ácido acético glacial + 2.5 ml de ácido fosfórico 3 M y 2 ml ácido acético glacial, respectivamente (Moreno *et al.*, 2010). La mezcla anterior fue calentada a 100°C durante 45 minutos y luego se enfrió en hielo para terminar la reacción. A continuación, se adicionaron 4 ml de tolueno, se agitó vigorosamente y se dejó reposar durante unos minutos para extraer el producto de reacción. Se leyó la absorbancia a 520 nm utilizando como blanco el tolueno. El contenido de prolina se determinó por una

curva de calibración previamente realizada con concentraciones conocidas de este aminoácido disuelto en tolueno.

3.4.3.2 Contenido de peróxido de hidrógeno

El contenido de H₂O₂ se determinó según Mahmood *et al.* (2012) como se describe a continuación: a 200 mg de tejido vegetal se les adicionó 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 0.1% (m/v) y luego se centrifugó a 12 000 g por 15 minutos. Se tomaron 0.5 ml del sobrenadante y se adicionaron 0.5 ml de solución amortiguadora de fosfato de potasio 10 mM (pH 7.0) y 1 ml de yoduro de potasio 1M disuelto en agua bidestilada. Inmediatamente se leyó la absorbancia a 390 nm utilizando como blanco TCA al 0.1%. El contenido de H₂O₂ se determinó por una curva de calibración previamente realizada con concentraciones conocidas de este compuesto.

3.4.3.3 Contenido de malondialdehído

El contenido de MDA se determinó en el tejido foliar de las plantas controles y tratadas con concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl, según Wang *et al.* (2009) como se describe a continuación: A 1g de tejido vegetal previamente macerado se le añaden 5 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,6% en ácido tricloroacético (TCA) al 10% (p/v) y se dejó reposar durante 5 minutos. Luego se calentó la mezcla a 100°C por 15 minutos y posteriormente se enfrió en hielo por 5 minutos. Pasado ese tiempo se centrifugó inmediatamente a 4000 rpm durante 10 minutos a 4°C. La absorbancia del sobrenadante fue medida a 450, 532 y 600 nm. Para calcular la concentración de MDA se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Equivalentes de MDA (nmol g MF}^{-1}\text{)} = 6.45 (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 (\text{OD}_{450}) \times 1000$$

3.5 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo

Fueron seleccionadas aleatoriamente 48 muestras de suelos, cuatro por cada cultivar y tratamiento, para un total de ocho muestras en los cinco grupos experimentales con NaCl y cuatro en los controles.

La selección, secado, molido, tamizado, envasado y almacenamiento del suelo cumplieron con los supuestos de normatividad de muestreo y análisis de suelo (INEGI, 2000).

Las muestras fueron sometidas a un análisis de salinidad mediante conductividad eléctrica (Fernandez, 2006). La clasificación del suelo según su nivel de salinidad fue realizada según Vázquez y Bautista, 1993.

3.6 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego

Se dispusieron seis muestras correspondientes al control y las cinco concentraciones empleadas durante el experimento de inducción del estrés salino con NaCl. A dichas muestras se les midió la conductividad según el protocolo descrito para agua de riego (IVIA, 2015); posteriormente se clasificaron en los niveles correspondientes de salinidad por conductividad eléctrica descritos por el Instituto Cubano de Suelo (Vento, 2011).

3.7 Procesamiento estadístico

Para el análisis de los datos experimentales, así como la elaboración de tablas y gráficos se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XVII del sistema operativo Windows. Para comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se aplicaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene respectivamente. Se realizó análisis paramétrico de todos los datos puesto que cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Las diferencias estadísticas entre los tratamientos fueron determinadas mediante la realización de ANOVA y la prueba de Tuckey para un intervalo de confianza de un 95% ($p < 0,05$).

4. Resultados







4.1 Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino en fase de aclimatización

4.1.1 Indicadores morfológicos

4.1.1.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de clorosis

El tejido foliar en condiciones de estrés salino inducido con NaCl, presentó áreas cloróticas. Debido a que la presencia de áreas cloróticas mostró variaciones, fue necesaria la elaboración de una escala cualitativa para su evaluación (Tabla II).

Tabla II. Escala cualitativa para la evaluación de la formación de áreas cloróticas en tejido foliar del cultivar de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) expuesto a estrés salino inducido con NaCl.

Grado de clorosis	Descripción	Imagen
1	Sin afectación	
2	Clorosis inicial en el borde	
3	Clorosis en el interior de la hoja <25%	
4	Clorosis 25%<x<50%	
5	Clorosis 50%≤x<75%	
6	Clorosis 75%≤x<90%	

La construcción de la escala cualitativa se realizó a partir de un estudio de frecuencia de aparición de cada grado. Esta escala permitió diferenciar la afectación en el tejido por clorosis y se estructuró en 6 grados, donde el grado 1 se corresponde al tejido sin afectación y el 6 al completamente clorótico.

En el tejido foliar de las plantas controles fueron evaluados todos los grados excepto 5 y 6 para el cultivar ‘Pelipita’.

De manera general el tejido foliar evaluado a distintas concentraciones de NaCl manifestó todos los grados de afectación, con diversas frecuencias de aparición, siendo el grado 6 el de mayor frecuencia con un 35,67% de representatividad. Los grados 3, 5 y 6 fueron los de mayor frecuencia en 100 mM de concentración; 2, 5 y 6 en 150 mM y para las concentraciones de 200 hasta 300 mM, los grados 5 y 6. Para el cultivar ‘Grande naine’ se apreció una mayor frecuencia de aparición de los grados de afectación a todas las concentraciones de NaCl, en relación con el cultivar ‘Pelipita’ (Fig. 1).

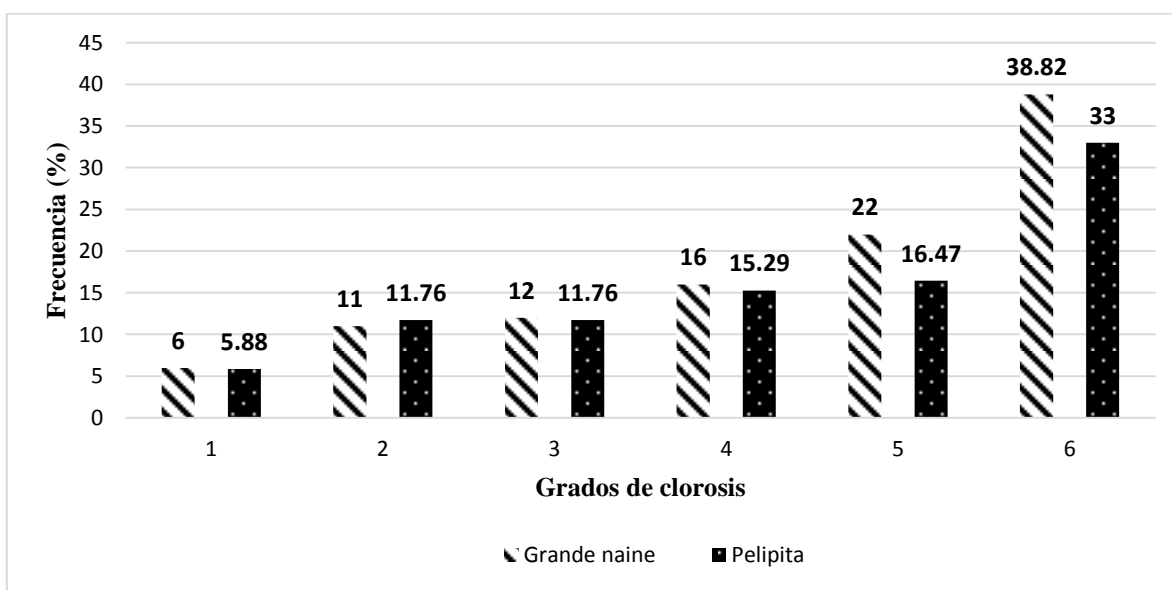


Figura 1. Frecuencia de aparición de los grados de afectación por clorosis en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidas a estrés salino inducido con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control, según la escala cualitativa para los grados de clorosis realizada en el cultivar ‘Grande naine’ (AAA).

Empleando la escala elaborada se diferenció la respuesta de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ según el promedio de hojas cloróticas a diferentes concentraciones de NaCl (Fig. 2).

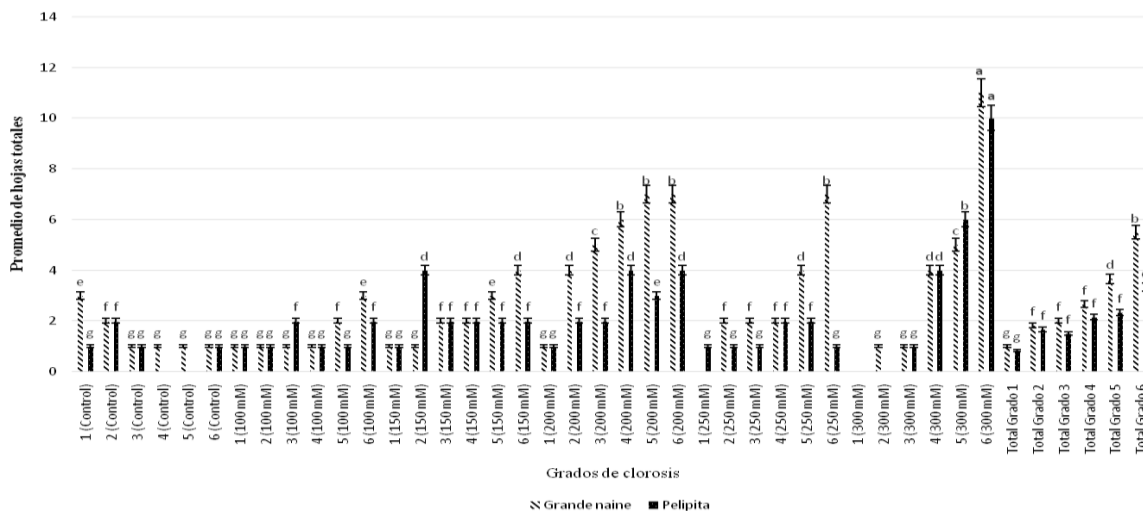


Figura 2. Promedio de hojas por grado de clorosis en las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidos a estrés salino con diferentes concentraciones de NaCl (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control, según la escala cualitativa para los grados de clorosis realizada en el cultivar ‘Grande naine’ (AAA). Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para $p < 0.05$.

Para los cultivares estresados con NaCl a medida que aumentó la concentración, se incrementó la presencia de áreas cloróticas (Fig. 1). En las concentraciones de NaCl empleadas, se observó una respuesta diferenciada en dependencia del cultivar siendo ‘Pelipita’ el de menor grado de presencia de clorosis, excepto a 300 mM donde no muestra diferencias significativas con respecto al cultivar ‘Grande naine’. El número de hojas con presencia de clorosis en grado 1 para este cultivar fue significativamente diferente entre el control y los tratamientos con NaCl. Mientras que para el grado 2 se encontraron diferencias significativas entre plantas tratadas con 150 mM de NaCl, el resto de los tratamientos y el control. El grado 3 presentó niveles de aparición significativamente diferentes en plantas tratadas con 200 mM de NaCl, el resto de los tratamientos y el control. En los grados 4, 5 y 6 fueron encontradas diferencias significativas entre los tratamientos con 200 y 300 mM de NaCl en relación con el resto de las concentraciones empleadas y el control.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el número de hojas con presencia de clorosis en grado 1 fue significativamente diferente entre las plantas controles y las tratadas con 100, 150 y 200 mM de NaCl, no presentándose en las concentraciones de 250 y 300 mM. Mientras que para los grados 2 y 3 se encontraron diferencias significativas entre plantas tratadas con 200 mM de NaCl en relación al resto de los tratamientos y el control. El grado 4 presentó






niveles de aparición significativamente diferentes en plantas tratadas con 200 y 300 mM de NaCl. Finalmente para los grados 5 y 6 fueron encontradas diferencias significativas entre los tratamientos con 200, 250 y 300 mM en relación al resto de las concentraciones empleadas y el control.

La presencia de clorosis en sus máximos grados de afectación 5 y 6 fue significativamente superior en concentraciones de NaCl de 200 mM para el cultivar ‘Grande naine’ y 300 mM para el cultivar ‘Pelipita’, en comparación con el resto de los tratamientos empleados. Por lo que 200, 250 mM y 300 mM pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad en los cultivares ‘Pelipita’ y ‘Grande naine’ respectivamente.

4.1.1.2 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de necrosis

El tejido foliar en condiciones de estrés salino inducido con NaCl, presentó áreas necróticas asociadas a la aparición de clorosis. Debido a que la formación de áreas necróticas presentó variaciones, fue necesaria la elaboración de una escala cualitativa para su evaluación (Tabla III).

Tabla III. Escala cualitativa para la evaluación de la formación de áreas necróticas en tejido foliar del cultivar de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) expuesto a estrés salino inducido con NaCl.

Grado de necrosis	Descripción	Imagen
1	Sin afectación	
2	Necrosis <25%	
3	Necrosis 25% x <50%	
4	Necrosis 50% $\leq x$ <75%	
5	Necrosis 75% $\leq x$ <90%	

La construcción de la escala cualitativa se realizó a partir de un estudio de frecuencia de aparición de cada grado. Esta escala permitió diferenciar la afectación en el tejido por necrosis y se estructuró en 5 grados, donde el grado 1 se corresponde al tejido no afectado y el grado 5 al completamente necrótico.

El tejido foliar de las plantas controles del cultivar ‘Pelipita’ no manifestó afectación por necrosis. De manera general el tejido foliar evaluado a distintas concentraciones de NaCl presentó el grado de afectación 5 como el de mayor frecuencia para una representatividad del 53,14%. Para el cultivar ‘Grande naine’ se apreció una mayor frecuencia de aparición de los grados de afectación (excepto el 5) a todas las concentraciones de NaCl en relación con el cultivar ‘Pelipita’ (Fig. 3).

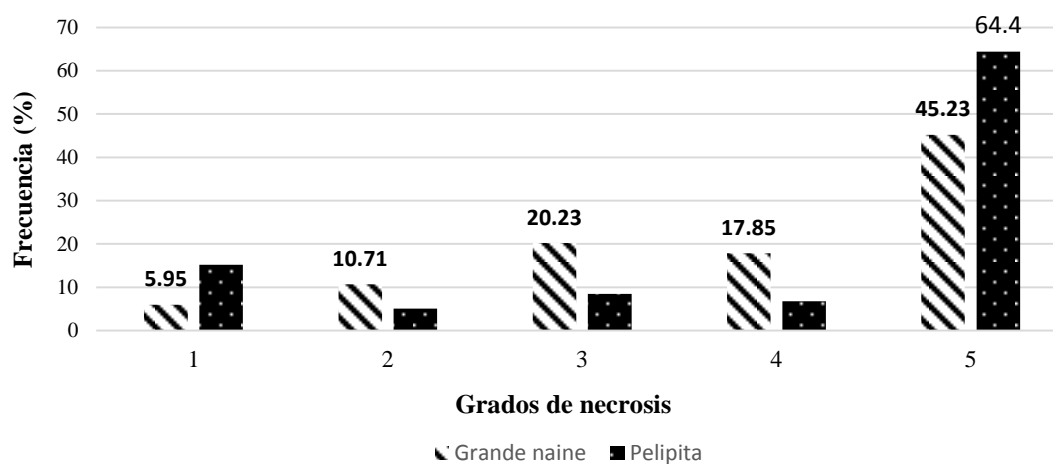


Figura 3. Frecuencia de aparición de los grados de afectación por necrosis en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidas a estrés salino inducido con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control, según la escala cualitativa para los grados de necrosis realizada en el cultivar ‘Grande naine’ (AAA).

A partir del empleo de la escala elaborada se diferenció la respuesta de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ según el número de hojas necróticas a diferentes concentraciones de NaCl (Fig. 4).

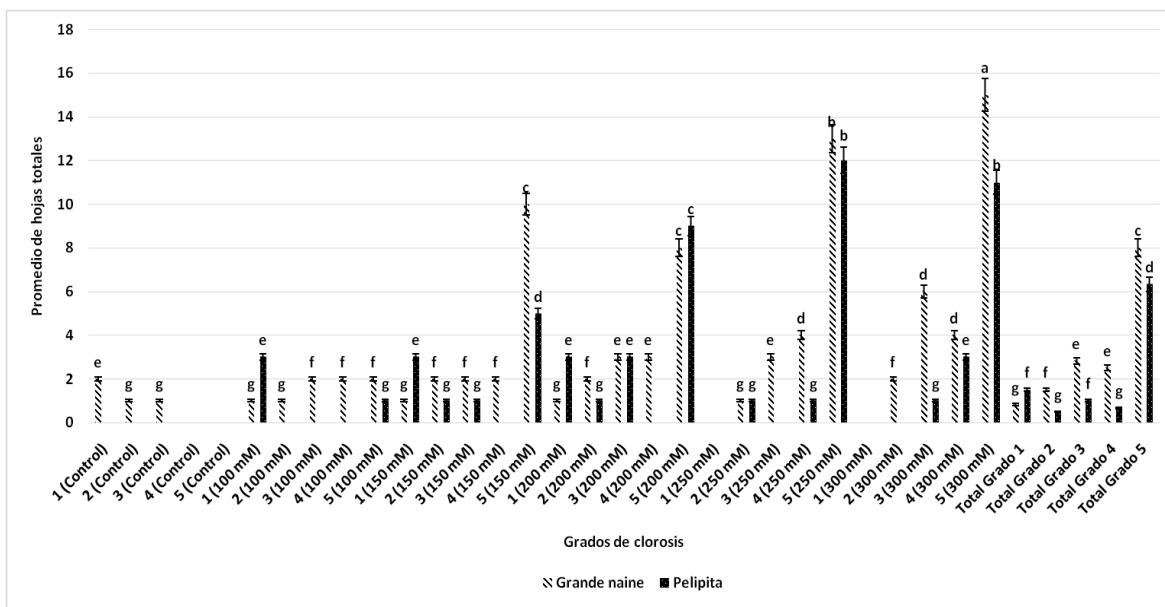


Figura 4. Promedio de hojas por grado de necrosis en las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidos a estrés salino con diferentes concentraciones de NaCl (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control, según la escala cualitativa para los grados de necrosis realizada en el cultivar ‘Grande naine’ (AAA). Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para $p < 0.05$.

Para los cultivares estresados con NaCl a medida que aumentó la concentración, se incrementó la presencia de áreas necróticas. En las concentraciones de NaCl empleadas, se observó una respuesta diferenciada en dependencia del cultivar siendo ‘Pelipita’ el de menor grado de presencia de necrosis. El número de hojas necróticas con grado 1 para este cultivar solo fue reportando en las concentraciones de 150 y 200 mM de NaCl y el control. Los grados 2 y 3 solo se reportan en plantas tratadas con 150 y 200 mM de NaCl, mientras que el grado 4 solo fue encontrado a concentraciones de 250 y 300 mM. En el grado 5 se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos con 150, 200, 250 y 300 mM en relación con el control y 100 mM de NaCl.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el número de hojas necróticas con grado 1 no fue encontrado en plantas tratadas con 250 y 300 mM de NaCl. El grado 2 fue informado en todos los tratamientos y no presento diferencias significativas entre ellos. El grado 3 presentó diferencias significativas entre los 300 mM de concentración y el resto de los tratamientos empleados además del control. El grado 4 no fue hallado en plantas controles. Mientras que para el grado 5 se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de 150 a 250, 300 y 100 mM de NaCl y el control.

La presencia de necrosis en sus máximos grados de afectación fue significativamente superior en concentraciones de NaCl de 250 mM para el cultivar ‘Grande naine’ y 300 mM para el cultivar ‘Pelipita’, en comparación con el resto de los tratamientos empleados. Por lo que 250 mM y 300 mM pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad en los cultivares ‘Pelipita’ y ‘Grande naine’ respectivamente.

4.1.2 Indicadores fisiológicos

4.1.2.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl en la concentración relativa de clorofilas

A partir del análisis de la concentración relativa de clorofilas en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre concentraciones de NaCl, como entre los propios cultivares. De forma general con el aumento de las concentraciones de NaCl disminuyó el contenido total de clorofilas (Fig. 5), siendo ‘Grande naine’ el cultivar con mayor disminución.

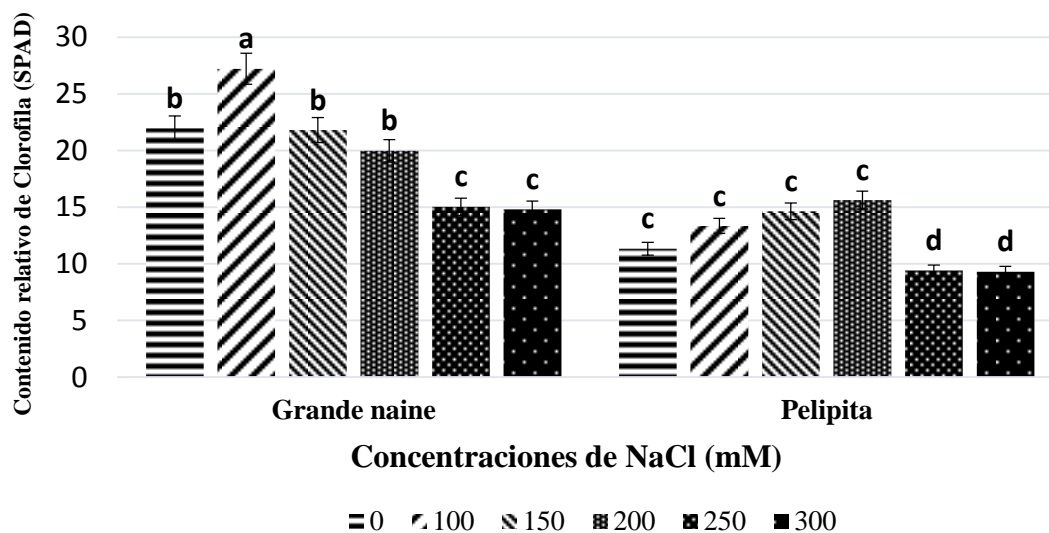


Figura 5. Contenido relativo de clorofilas según lecturas SPAD (Soil and Plant Analysis Development) en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control. Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para $p < 0.05$.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el contenido total de clorofilas fue significativamente diferente entre las plantas tratadas con 150 y 250 a 300 mM de NaCl, respecto al resto de

los tratamientos y el control. Mientras que para el cultivar ‘Pelipita’ el contenido total de clorofilas fue significativamente diferente en concentraciones de 250 a 300 mM de NaCl, respecto al resto de los tratamientos y el control.

Para ambos cultivares el contenido relativo de clorofilas entre las plantas controles y las concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl fue significativamente diferente; en dichas concentraciones los niveles de clorofila fueron significativamente más bajos que para el resto de los tratamientos denotando un mayor nivel de daño a las macromoléculas de clorofila.

La disminución de la concentración relativa de clorofilas fue significativamente superior a 250 y 300 mM de NaCl, en comparación con el resto de los tratamientos y el control; por lo que pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad en los cultivares ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a condiciones de estrés salino inducido con NaCl.

4.1.3 Indicadores bioquímicos

4.1.3.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de prolina

A partir del análisis del contenido de prolina en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre concentraciones de NaCl, como entre los propios cultivares. De forma general con el aumento de las concentraciones de NaCl ocurrió una disminución y posteriormente un aumento drástico del contenido de prolina para ambos cultivares (Fig. 6), siendo ‘Grande naine’ el cultivar con mayores niveles, en comparación con el cultivar ‘Pelipita’.

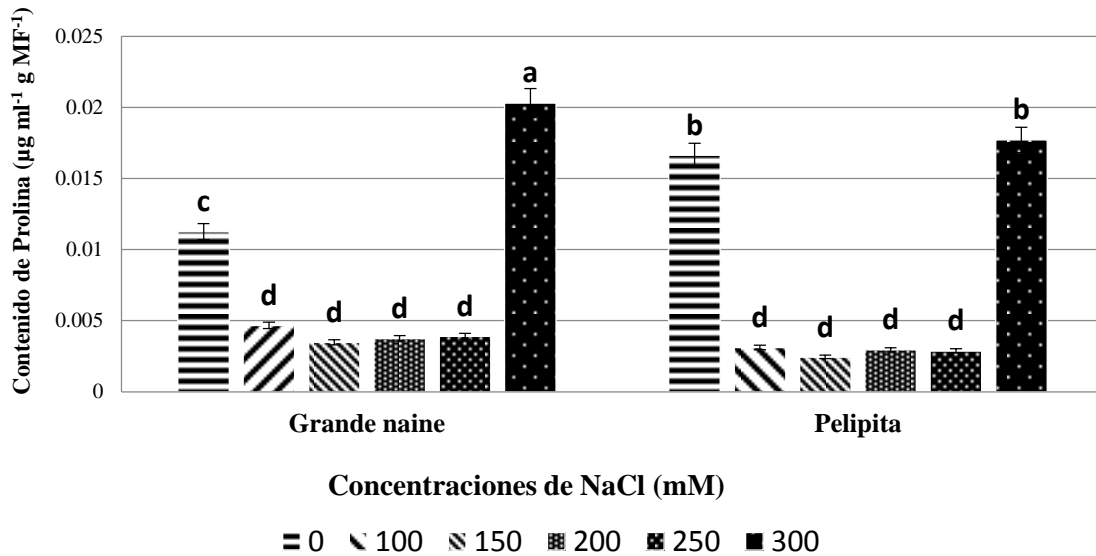


Figura 6. Contenido de prolina en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control. Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para $p < 0.05$.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el contenido de prolina fue significativamente diferente entre plantas controles y tratadas con concentraciones de 100 a 250 y 300 mM de NaCl; mientras que para el cultivar ‘Pelipita’ las diferencias significativas se encontraron entre control y 300 mM, respecto al resto de los tratamientos. Además el contenido de prolina entre plantas controles de dicho cultivar fue significativamente diferente en comparación al control del cultivar ‘Grande naine’. A 300 mM de NaCl se aprecia un pico de concentración para dicho aminoácido.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el contenido máximo de prolina resulto significativamente superior en comparación al cultivar ‘Pelipita’, indicando una mayor susceptibilidad ante condiciones de estrés salino para dicho cultivar.

Los mayores niveles de prolina para ambos cultivares fueron apreciados a la concentración de 300 mM de NaCl, por lo que a dicha concentración pudieran inducirse respuestas de máxima sensibilidad.

4.1.3.2 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de peróxido de hidrógeno

A partir del análisis del contenido de H_2O_2 en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre concentraciones de NaCl, como entre los propios cultivares. De forma general con el aumento de las concentraciones de NaCl ocurrieron procesos de disminución, aumento, posterior disminución e incremento final del contenido de H_2O_2 para ambos cultivares (Fig. 7), lo que se relaciona con los mecanismos de detección y degradación de esta especie reactiva del oxígeno.

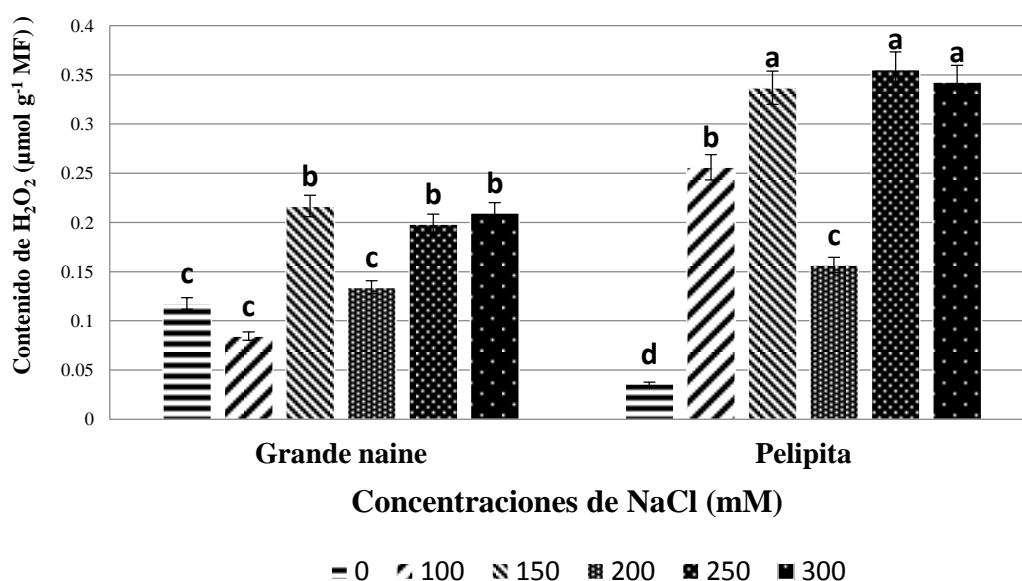


Figura 7. Contenido de H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{MF}^{-1}$) en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control. Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para $p < 0.05$.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el contenido de H_2O_2 fue significativamente diferente entre plantas tratadas con 150, 250 a 300 mM de NaCl, con respecto al resto de los tratamientos y control. Para el cultivar ‘Pelipita’, el contenido de H_2O_2 presentó diferencias significativas entre plantas tratadas con 100 y 200 mM, las tratadas con 150, 250, 300 mM de NaCl y las plantas control que fueron diferentes a todas. Dicho cultivar mostró los mayores niveles de esta especie reactiva del oxígeno, lo que se relaciona con los mecanismos de detección y degradación propios de sistemas con respuesta tolerante al estrés salino.

Los mayores niveles de H_2O_2 para ambos cultivares fueron apreciados a las concentraciones de 150, 250 y 300 mM de NaCl para ambos cultivares, no obstante, las concentraciones reportadas para ‘Pelipita’ fueron significativamente superiores a las determinadas en ‘Grande naine’, por lo que dicho cultivar pudiera presentar un nivel de tolerancia a niveles superiores de esta ERO, relacionable con la sensibilidad diferencial a concentraciones de sales descrito para estos cultivares.

4.1.3.3 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de malondialdehído

A partir del análisis del contenido de MDA en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre concentraciones analizadas (control, 250 y 300 mM de NaCl), como entre cultivares. De forma general ocurre un aumento en las concentraciones de MDA entre las plantas control y las concentraciones de NaCl empleadas (Fig. 8).

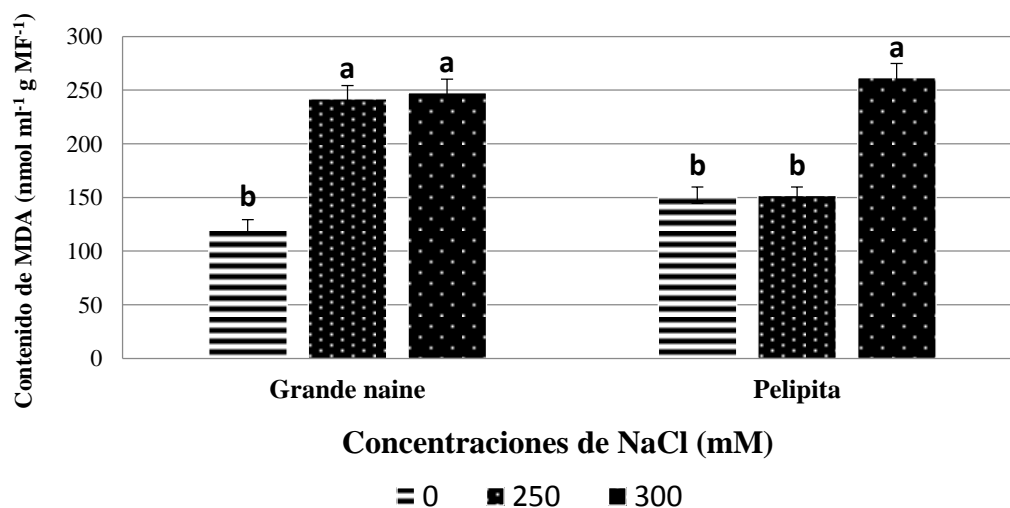


Figura 8. Contenido de MDA (nmol ml⁻¹ g MF⁻¹) en tejido foliar de las 144 plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control. Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas según prueba de Tukey HSD para p<0.05.

Para el cultivar ‘Grande naine’ el contenido de MDA fue significativamente diferente entre plantas tratadas con concentraciones de 250 a 300 mM de NaCl y control. Para el cultivar ‘Pelipita’ el contenido de MDA fue significativamente diferente entre plantas tratadas con 300 mM de NaCl y los dos tratamientos restantes. Dicho cultivar presentó un aumento del

contenido de MDA a mayor concentración de NaCl (300 mM) que el cultivar ‘Grande naine’ (250 mM). Lo cual indica una respuesta de tolerancia a la salinidad a mayores concentraciones de NaCl que el cultivar ‘Grande naine’.

Los incrementos en el nivel de MDA para ambos cultivares fueron apreciados a concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl, por lo que a dichas concentraciones pudieran inducirse respuestas de máxima sensibilidad.

4.2 Clasificación de salinidad en suelo y agua de riego

4.2.1 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo

A partir del análisis de los niveles de salinidad por conductividad eléctrica de las muestras de suelo tratados con NaCl a diferentes concentraciones (Anexo II), se definieron dos clasificaciones. Suelo de tipo ‘No salino’ para las plantas control y las tratadas con concentraciones de 100 a 200 mM de NaCl y suelo de tipo ‘Poco salino’ para los tratamientos correspondientes a 250 y 300 mM de NaCl (Tabla IV).

Tabla IV. Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en muestras de suelo tratadas con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100, 150, 200, 250 y 300 mM).

Concentración de NaCl (mM)	Salinidad por conductividad eléctrica (dS/m)	Clasificación
0	0,834	No salino
100	1,276	No salino
150	1,435	No salino
200	1,658	No salino
250	2,326	Poco salino
300	3,191	Poco salino

Los suelos con valores de salinidad de 2,3 y 3,2 dS/m (correspondientes a concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl respectivamente) se relacionan significativamente con las

respuestas de los indicadores fisiológicos y bioquímicos analizados. Por lo que dichas concentraciones podrían ser empleadas para diferenciar las respuestas de tolerancia o susceptibilidad en cultivares de *Musa* spp. sometidos a estrés salino inducido con NaCl.

4.2.2 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego

A partir del análisis de los niveles de salinidad por conductividad eléctrica de las muestras de agua de riego tratadas con NaCl a diferentes concentraciones, se definieron dos clasificaciones. Agua de riego de tipo ‘Moderadamente salina’ para las plantas control y las tratadas con concentraciones de 100 a 200 mM de NaCl y agua de riego de tipo ‘Fuertemente salina’ para los tratamientos correspondientes a 250 y 300 mM de NaCl (Tabla. V).

Tabla V. Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en muestras agua de riego suelo tratadas con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100, 150,200, 250 y 300 mM).

Concentración de NaCl (mM)	Salinidad (dS/m)	Clasificación
0	0,089	Moderadamente salina
100	4,087	Moderadamente salina
150	4,218	Moderadamente salina
200	4,643	Moderadamente salina
250	5,139	Fuertemente salina
300	5,712	Fuertemente salina

El agua de riego con valores de salinidad de 5,1 y 5,7dS/m (correspondientes a concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl respectivamente) se relacionan significativamente con las respuestas de los indicadores fisiológicos y bioquímicos analizados. Por lo tanto, dichas concentraciones podrían ser empleadas para diferenciar las respuestas de tolerancia o susceptibilidad en cultivares de *Musa* spp. sometidos a estrés

salino inducido con NaCl. Además podrían emplearse en los procesos de selección de agua con fines de riego, principalmente en los períodos de seca en las áreas productoras de estos cultivos con mantos acuíferos salinizados por intrusión salina.

4.3 Correlación entre niveles de salinidad e indicadores fisiológicos y bioquímicos

4.3.1 Relación estadística de indicadores fisiológicos con niveles de salinidad

4.3.1.1 Relación estadística Contenido de clorofilas – Salinidad

A partir del análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido relativo de clorofilas en las plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ se obtuvo una correlación clasificada como medianamente alta (Fig. 9), a partir de la que se definió la siguiente ecuación o modelo ajustado de predicción: **Contenido de clorofila = 23,2974 - 3,28294*Salinidad (dS/m)**

Se obtuvo un R^2 de 77,0185 por ciento lo cual indica que el modelo ajustado explica 77,0185% de la variabilidad del contenido relativo de clorofilas respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM).

Regresión Múltiple

Contenido de clorofila = 23,2974 - 3,28294*Salinidad (dS/metro)
R-cuadrada = 77,0185 por ciento

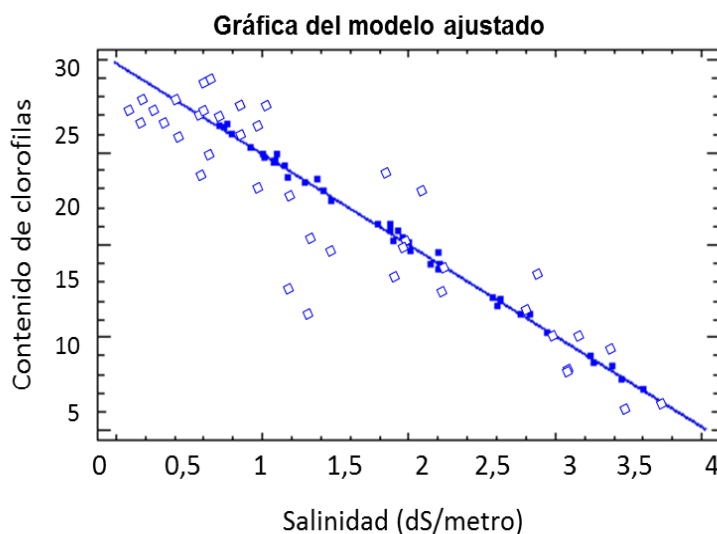


Figura 9. Gráfica de Modelo Ajustado según prueba de Regresión Múltiple Contenido de clorofilas – Salinidad de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control.

4.3.2. Relación estadística de indicadores bioquímicos con niveles de salinidad

4.3.2.1 Relación estadística Prolina – Salinidad

A partir del análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de prolina en las plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ se obtuvo una correlación clasificada como alta (Fig. 10), a partir de la que se definió la siguiente ecuación o modelo ajustado de predicción: **Contenido de Prolina = 0,00919288 + 0,00000529691*Salinidad (dS/m)**

Se obtuvo un R² de 94,2409 por ciento lo cual indica que el modelo ajustado explica 94,2409% de la variabilidad del contenido relativo de prolina respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM).

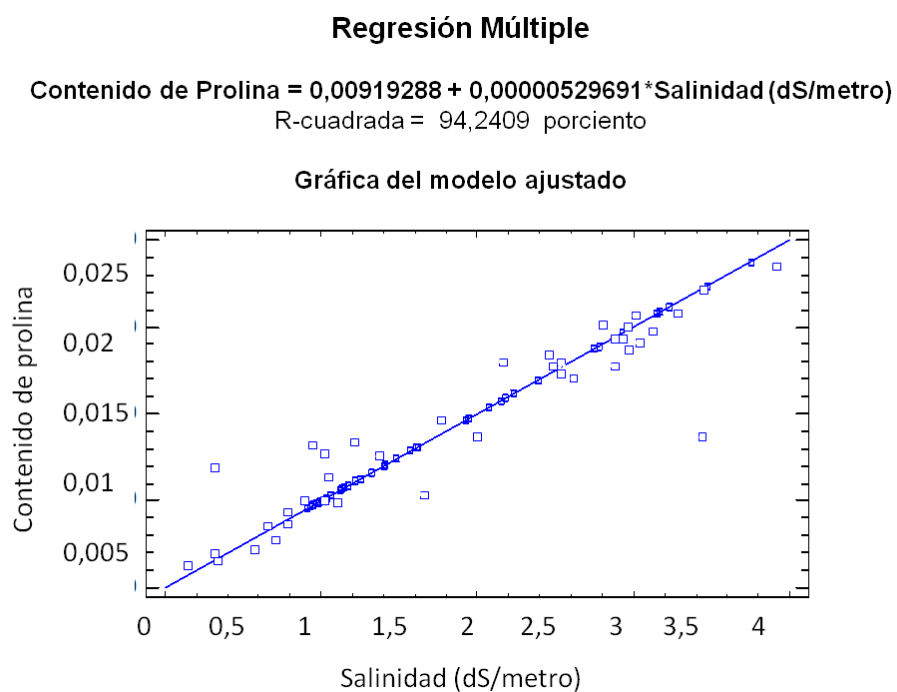


Figura 10. Gráfica de Modelo Ajustado según prueba de Regresión Múltiple Contenido de Prolina– Salinidad de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control.

4.3.2.2 Relación estadística Peróxido de hidrógeno – Salinidad

A partir del análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de H₂O₂ en las plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ se obtuvo una correlación clasificada como baja (Fig. 11), a partir de la que se definió la siguiente

ecuación o modelo ajustado de predicción: **Contenido de H₂O₂ = 0,252736 + 0,000888458*Salinidad (dS/m)**

Se obtuvo un R² de 26,4573 por ciento lo cual indica que el modelo ajustado explica 26,4573% de la variabilidad del contenido relativo de peróxido de hidrogeno respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM).

Regresión Múltiple

Contenido de H₂O₂ = 0,252736 + 0,000888458*Salinidad (dS/metro)
R-cuadrada = 26,4573 por ciento

Gráfica del modelo ajustado

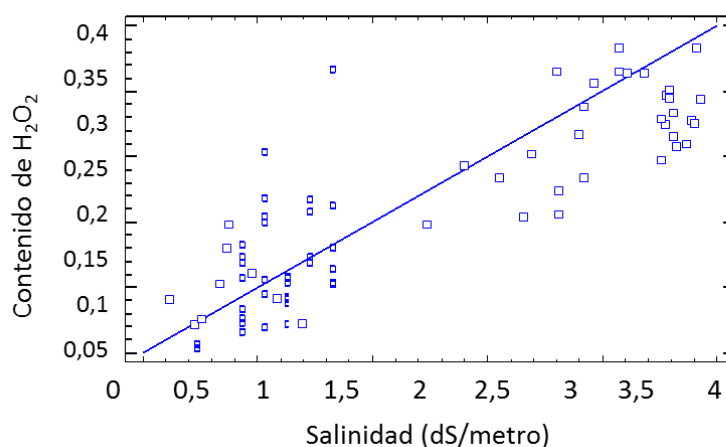


Figura 11. Gráfica de Modelo Ajustado según prueba de Regresión Múltiple Contenido de H₂O₂ – Salinidad de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control.

4.3.2.3 Relación estadística Malondialdehído – Salinidad

A partir del análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de malondialdehído en las plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ se obtuvo una correlación clasificada alta (Fig. 12), a partir de la que se definió la siguiente ecuación o modelo ajustado de predicción: **Contenido de MDA = 151,708 + 0,359382*Salinidad (dS/m)**

Se obtuvo un R² de 92,1674 por ciento lo cual indica que el modelo ajustado explica 92,1674% de la variabilidad del contenido relativo de MDA respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM).

Regresión Múltiple

$$\text{Contenido de MDA} = 151,708 + 0,359382 * \text{Salinidad (dS/metro)}$$

R-cuadrada = 92,1674 por ciento

Gráfica del modelo ajustado

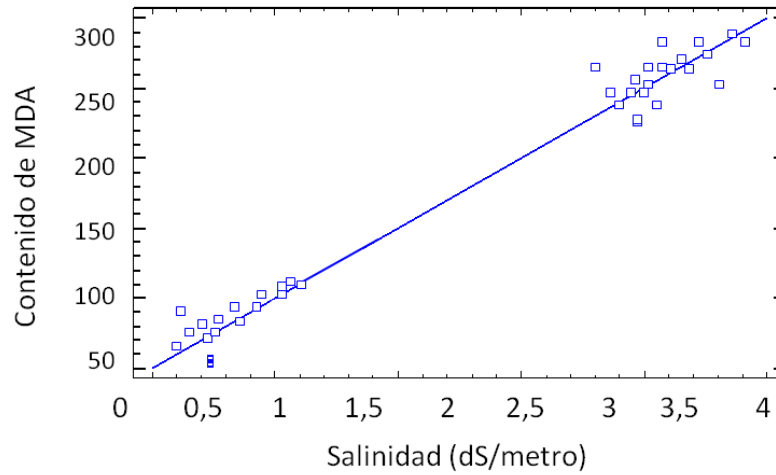


Figura 12. Gráfica de Modelo Ajustado según prueba de Regresión Múltiple Contenido de MDA– Salinidad de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino con NaCl a diferentes concentraciones (100, 150, 200, 250 y 300 mM) y control.

5. Discusión

5.1. Determinación de indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino en fase de aclimatización

5.1.1 Indicadores morfológicos

5.1.1.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de clorosis

En condiciones de estrés salino, se observó la presencia de áreas cloróticas, proceso que puede relacionarse con la modificación estructural y funcional de la macromolécula de clorofila, a partir de deficiencias de nutrientes, específicamente de elementos metálicos como el hierro y el magnesio componente fundamental de la clorofila. Las mismas podrían ser causadas por modificaciones en el pH del suelo provocadas por altas concentraciones de sales como el NaCl (Salama y El-Fouly, 2001).

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Zapata *et al.* (2003) donde ante un aumento de la concentración de sales en el suelo ocurre un incremento de la clorosis en plantas de maíz (*Zea mays* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), melón (*Cucumis melo* L.) y brócoli (*Brassica oleracea* L. *itálica*). En investigaciones realizadas en plantas de caraota o frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) el uso de NaCl produjo un incremento de la clorosis a medida que aumentaron las concentraciones en el medio (García *et al.*, 2010). También se informó igual respuesta para plantas de curarí (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) G.Nicholson) en condiciones de estrés salino inducido con NaCl (Ramírez *et al.*, 2014).

En la presente investigación se reportan menores índices de clorosis para las plantas del cultivar ‘Pelipita’, lo que se relaciona con los mecanismos de tolerancia al estrés por salinidad descritos para dicho cultivar (Granados *et al.*, 2014); fisiológicamente los cultivares con respuesta tolerante poseen a nivel celular mecanismos de exclusión y secuestro de Na⁺ en membranas y vacuolas, respectivamente, los cuales permiten tolerar mayores concentraciones citosólicas de este ión (Valdés y Balbín, 2002). En el cultivar ‘Grande naine’ los niveles de clorosis fueron significativamente superiores a los del cultivar

'Pelipita' denotando un menor grado de tolerancia a las condiciones de estrés salino inducido con NaCl, lo cual se corresponde a lo referido en la literatura por Daniells (2002).

La presencia de clorosis en sus máximos grados de afectación fue significativamente superior en concentraciones de NaCl de 200 mM para el cultivar 'Grande naine' y 300 mM para el cultivar 'Pelipita' en comparación con el resto de los tratamientos empleados. Por lo que 200, 250 y 300 mM pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad en cuanto a la presencia de clorosis, lo que pudiera relacionarse con lo propuesto por Yabor (2010) donde las concentraciones de máxima sensibilidad para plantas transgénicas de piña (*Anana comosus* (L. (Merr.)) fueron aquellas a las se determinaron los mayores daños, pero aún no se alcanzó el estado de letalidad media de los individuos.

5.1.1.2 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el grado de necrosis

En condiciones de estrés salino, se observó la presencia de áreas necróticas asociadas a la aparición de clorosis, lo que puede relacionarse con los mecanismos de muerte celular por deshidratación, ante la acción osmo-estresante del ión Na^+ (Valdes y Balbín, 2002) y la actividad del ión Cl^- relacionada con la generación de quemaduras en el tejido foliar (Villa-Castorena *et al.*, 2006).

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Casierra-Posada *et al.*, (2000) en plantas de lulo (*Solanum quitoense* L.) sometidas a estrés con NaCl, donde ante mayores niveles de sal ocurre un incremento en la presencia de áreas necróticas. También en estudios realizados por Casierra-Posada y García (2005) en plantas de fresa (*Fragaria* sp.) se aprecia un aumento de las áreas necróticas en el tejido foliar, ante el incremento de las concentraciones de NaCl. En investigaciones realizadas en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) sometidas a estrés con NaCl, se aprecia la misma respuesta en cuanto a la presencia de áreas necróticas (Ramírez-Serrano *et al.*, 2008). Además en estudios realizados por García *et al.* (2010) y Ramírez *et al.* (2014) en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y curarí (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) G.Nicholson) respectivamente, se observó que con el incremento gradual de las condiciones salinas una de las primeras respuestas fue el desarrollo de necrosis en el tejido foliar asociada a la aparición de clorosis,

primeramente de forma inicial en el margen de las hojas y posteriormente cubriendo toda el área foliar.

En la presente investigación se reportan menores índices de necrosis para las plantas del cultivar 'Pelipita', lo que puede relacionarse con los mecanismos de tolerancia al estrés por salinidad descritos para dicho cultivar (Granados *et al.*, 2014). El cultivar 'Grande naine' presentó niveles de necrosis significativamente superiores que los del cultivar 'Pelipita' indicando un menor grado de tolerancia a las condiciones de estrés salino, lo cual se corresponde a lo referido en la literatura por Daniells (2002).

La presencia de necrosis en sus máximos grados de afectación fue significativamente superior en concentraciones de NaCl de 250 mM para el cultivar 'Grande naine' y 300 mM para el cultivar 'Pelipita'. Por lo que 250 y 300 mM pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad. Dicho planteamiento podría relacionarse con lo propuesto por Yabor (2010) donde en plantas transgénicas de piña (*A. comosus*) las concentraciones de máxima sensibilidad fueron aquellas a las se determinaron los mayores daños, pero aún no se alcanzó el estado de letalidad media de los individuos.

5. 1.2 Indicadores fisiológicos

5.1.2.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl en la concentración relativa de clorofilas

En condiciones de estrés salino, se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de NaCl empleadas. A medida que aumentaron los niveles de NaCl, hubo una disminución en la concentración de pigmentos clorofílicos en el tejido foliar de ambos cultivares estudiados, lo que puede relacionarse con las deficiencias de nutrientes desencadenadas por cambios de pH en el suelo producidos por el NaCl (Salama y El-Fouly, 2001), así como con el efecto de los iones Na^+ y Cl^- , que poseen la capacidad de penetrar la concha de hidratación de numerosas proteínas como las relacionadas con los procesos de biosíntesis de las porfirinas. Estos iones interfieren con las interacciones no covalentes entre los aminoácidos de dichas proteínas, provocando cambios conformacionales y por ende la pérdida de sus funciones biológicas (Zhu, 2001). Además la disminución en la concentración relativa de clorofilas ante un aumento del NaCl, pudiera relacionarse con los

mecanismos de generación y acumulación de ERO, que producen daños directos a las macromoléculas de clorofila y a la estructura de los cloroplastos (El-baky *et al.*, 2003).

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Almeida-Viégas *et al.* (1999), Ebert *et al.* (1999) y Posada *et al.* (2000) en plantas de lulo (*Solanum quitoense* L.) sometidas a estrés, donde ocurre una disminución de la concentración de clorofilas, a medida que incrementan los niveles de NaCl. También en estudios realizados por Schmutz (1998) en plantas de mango (*Mangifera indica* L.) y Delfine *et al.* (1999) en plantas de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) sometidas a estrés salino con NaCl, se informó una respuesta similar en cuanto a la disminución de la concentración de clorofilas ante un aumento en los niveles del agente inductor de estrés. En investigaciones realizadas por Argentel *et al.* (2006) en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) en condiciones de estrés salino también se aprecia una disminución en la concentración de pigmentos clorofílicos ante el aumento de los niveles de NaCl.

En la presente investigación se reporta una menor disminución de la concentración relativa de clorofilas en el cultivar 'Pelipita', lo que puede relacionarse con las respuestas de tipo tolerante al estrés por salinidad descritos para dicho cultivar (Granados *et al.*, 2014). El cultivar 'Grande naine' presentó una disminución de la concentración relativa de clorofilas significativamente superior a la del cultivar 'Pelipita' indicando un mayor grado de labilidad ante condiciones de estrés salino, lo cual se corresponde a lo referido en la literatura por Daniells (2002).

La disminución de la concentración relativa de clorofilas fue significativamente superior a 250 y 300 mM de NaCl, por lo que pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad. Lo anteriormente planteado se relaciona con lo propuesto por Yabor (2010) donde en plantas transgénicas de piña (*A. comosus* (L.) Merr.) las concentraciones de máxima sensibilidad fueron aquellas a las se determinaron los mayores daños, pero aún no se alcanzó el estado de letalidad media de los individuos.

5. 1.3 Indicadores bioquímicos

5.1.3.1 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de prolina

A partir del análisis de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se apreció una disminución y posteriormente un aumento drástico del contenido de prolina. Esto puede relacionarse con los procesos de biosíntesis, movilización y/o acumulación de este osmolito (Hanson y Hitz, 1982); ante condiciones de deshidratación y citotoxicidad por altas concentraciones de iones como Na^+ y Cl^- ocurre un incremento en la biosíntesis de prolina (vía ácido glutámico, por la enzima "1-pirrolina-5-carboxilato sintetasa (P5CS)), así como un enlentecimiento de los procesos oxidativos, asociado a su vez con la expresión de proteínas transportadas, como la Pro-T específica para dicho osmolito. La expresión de proteínas transportadas se relaciona con los procesos de movilización de prolina a los órganos de la planta con mayores niveles de afectación, normalmente raíces y tallo, por lo que el contenido de prolina en el tejido foliar sufre una disminución en condiciones de estrés salino (Nolte *et al.*, 1997). A concentraciones donde la afectación alcanza el tejido foliar, comprometiendo la viabilidad del mismo, fundamentalmente por acción de las ERO, los procesos de biosíntesis vía glutamato son favorecidos, incorporando a su vez procesos biosintéticos vía ornitina, lo que produce un aumento considerable del contenido de prolina (Hanson y Hitz, 1982).

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Rhodes y Handa (1989) en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) sometidas a estrés salino con NaCl. También existe concordancia con investigaciones realizadas por Berteli *et al.* (1995) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) sometidas a estrés salino; así como en plantas de *Arabidopsis thaliana* (L.), Heynh. (Strizhov *et al.*, 1997) y en *Vigna aconitifolia* Jacq. (Yoshiba *et al.*, 1995; Igarashi *et al.*, 1997) donde los niveles de prolina en tejido foliar presentan una disminución a concentraciones medias e incremento ante concentraciones altas de NaCl. También en plantas de *Phaseolus aureus*, *L. corniculatus*, trigo (*Triticum aestivum* L.) y ají dulce (*Capsicum chinense* Jacq.) ocurre una acumulación drástica de prolina en tejido foliar a altas concentraciones de NaCl (Verbruggen *et al.*, 1996; Borsani *et al.*, 1999). En estudios realizados a plantas de algodón (*Gossypium herbaceum* L.) sometidas a estrés salino se observa una respuesta similar (Dood *et al.*, 2010).

En la presente investigación el contenido de prolina para el cultivar ‘Grande naine’ resultó significativamente superior en relación al cultivar ‘Pelipita’, lo que podría vincularse con la sensibilidad diferencial a la concentración de sales de estos cultivares. Dicho cultivar presentó plantas control con menores concentraciones de prolina, en comparación con el cultivar ‘Pelipita’, no obstante exhibió mayores concentraciones del osmolito a 300 mM, respuesta que puede relacionarse con un grado de labilidad superior en condiciones de estrés salino. Dado el hecho de que la biosíntesis de prolina es un proceso altamente demandante de energía y que se requieren cantidades pequeñas del aminoácido para el control de transportadores de la membrana plasmática, la sobreproducción de prolina puede ser interpretada como un mayor daño ante el estrés salino (Desingh y Kanagaraj, 2007).

La acumulación de prolina en cultivares susceptibles ha sido observada en numerosas especies de plantas y se correlaciona con el grado de deterioro inducido por el estrés, hay autores que plantean que el aumento de este aminoácido podría deberse a los mecanismo de eliminación del exceso de amonio (Amini y Ehsanpour, 2005).

Según Rahnama y Ebrahimzadeh (2004), en cuatro cultivares de *Solanum tuberosum* L., se encontró un contenido básico de prolina más alto en plantas control tolerantes a sal, que en los cultivares sensibles; sin embargo, en callos, este comportamiento no fue observado. Por otro lado, el aumento del contenido de prolina inducido por NaCl, fue siempre más alto en los cultivares susceptibles que en los tolerantes. También en dos cultivares de *Sorghum bicolor* (L.) Moench., uno sensitivo y otro tolerante a la salinidad, la concentración de prolina aumentó en las hojas de plántulas estresadas, especialmente en el cultivar susceptible (Lacerda *et al.*, 2005). En estudios realizados a plantas de *Capsicum annuum* L. sometidas a estrés inducido con NaCl, se observó una respuesta similar en cuanto al aumento diferencial del contenido de prolina entre cultivares tolerantes y susceptibles, siendo los cultivares reportados tolerantes los que presentaron menores niveles ante la concentración más alta de NaCl empleado (Medina, 2007). Al analizar 30 cultivares de *Triticum aestivum* L. sometidos a estrés salino, el contenido de prolina en hojas, aumentó 5.2 veces en 19 cultivares considerados como tolerantes a sales, mientras que en los cultivares susceptibles aumentó 13.8 veces según Poustini *et al.* (2007). Similares resultados fueron obtenidos por Madueño-Molina *et al.* (2007) en plantas de frijolillo

(*Rhynchosia minima* L.) sometidas a estrés salino; así como en estudios realizados por Guerrero *et al.* (2008) y Lamz *et al.* (2013) en genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) con tolerancia a la salinidad seleccionados tempranamente.

Por otra parte existen evidencias de una mayor acumulación del contenido de prolina en cultivares tolerantes a la salinidad respecto a cultivares sensibles, como los estudios realizados en varios genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) por Ahmad *et al.* (2007) y Shereen *et al.* (2007), reportándose también similar respuesta en cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) (Bayoumi *et al.*, 2008); sin embargo, en el presente estudio los resultados no concuerdan con lo anteriormente señalado.

El principal aumento en el contenido de prolina fue reportado a 300 mM de NaCl, por lo que dicha concentración pudiese relacionarse con la inducción de respuestas de máxima sensibilidad. Lo anteriormente planteado se relaciona con lo propuesto por Yabor (2010) donde en plantas transgénicas de piña (*A. comosus* L.) las concentraciones de máxima sensibilidad fueron aquellas a las se determinaron los mayores daños, pero aún no se alcanzó el estado de letalidad media de los individuos.

5.1.3.2 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de peróxido de hidrógeno

A partir del análisis de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se apreció una disminución y posteriormente un aumento del contenido de peróxido de hidrógeno, lo que se relaciona con los mecanismos de detección y degradación de esta especie reactiva del oxígeno. El H₂O₂ desempeña un papel importante en la señalización de los cambios estresantes, debido a su elevada estabilidad y largo tiempo de vida media en comparación con otras especies reactivas del oxígeno; no obstante para que funcione como molécula señalizadora de estrés, debe existir un mecanismo que reconozca el incremento en los niveles de esta especie, en ese sentido la modulación redox de proteínas podría iniciar subsecuentes respuestas celulares (Hung *et al.*, 2005). Este proceso modulador depende de las concentraciones de dicha ERO en cloroplasto, peroxisoma o citosol, por lo que resulta

común que los procesos de activación de los mecanismos de degradación de H_2O_2 ocurran completamente, solo ante aumentos considerables de esta especie, generados por la actividad de la SOD (Desikan *et al.*, 2003). Los mecanismos degradativos del peróxido de hidrógeno, están constituidos primeramente por el sistema antioxidante ácido ascórbico - enzima ascorbato peroxidasa, presente en cloroplasto, citosol, vacuola y en el espacio apoplástico de las células foliares en elevada concentración (Foyer *et al.*, 1991); este sistema antioxidante es quizá el más importante en las plantas y posee como función fundamental eliminar el H_2O_2 (Foyer, 1993). En segundo lugar se encuentra el complejo degradativo constituido por la enzima CAT exclusiva de los peroxisomas, la cual contiene hierro en su estructura y cataliza la dismutación del H_2O_2 en agua y oxígeno molecular (Arora *et al.*, 2002). De forma general ambos mecanismos degradativos son de tipo fluctuante, caracterizados por procesos de activación intermitentes a causa del incremento-decremento en las concentraciones de H_2O_2 por lo que resulta natural que ante concentraciones variables de un agente inductor de estrés los niveles de esta ERO, se aprecien de manera inestable (del Rio *et al.*, 1998). En plantas sometidas a estrés salino, la generación y degradación de H_2O_2 se manifiesta también de manera fluctuante, a niveles de salinidad donde los principales daños no afectan la actividad fotosintética, los niveles de O_2 se encuentran aumentados por lo que ante la actividad de la SOD el contenido de peróxido de hidrogeno tienden a incrementarse; no obstante a mayores concentraciones de NaCl en el medio, se produce un enlentecimiento en los mecanismos degradativos de esta especie reactiva, favoreciéndose cinéticamente aquellos relacionados con la degradación del radical OH^\cdot y el intermediario $^\cdot O_2^-$ altamente reactivos y por ende tóxicos para la célula (Asada, 1992). Por lo tanto a concentraciones salinas de carácter elevado se reportan picos de acumulación de esta ERO, principalmente en cloroplastos, por la actividad degradativa ineficiente de las enzimas peroxidadas (Palatnik *et al.*, 2002).

En la presente investigación los niveles de H_2O_2 se apreciaron de manera fluctuante describiendo un aumento inicial, con un posterior decremento y aumento final de las concentraciones en tejido foliar, lo cual puede relacionarse con los procesos de activación intermitente de las rutas degradativas, explicados previamente.

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Chen *et al.* (1997) en plántulas de soya, en cítrico (Gueta-Dahan, *et al.*, 1997), en *Pisum sativum* L. (Gómez *et al.*, 1999, Hernández *et al.*, 1999) y en la especie *Setaria itálica* (Sreenivasulu *et al.*, 2000). Similares resultados se obtuvieron en cultivares de trigo con respuesta tolerante y susceptible a la salinidad (Sairam *et al.*, 2002).

El cultivar ‘Pelipita’ presentó niveles de H₂O₂ significativamente superiores a los reportados para el cultivar ‘Grande naine’, lo que podría relacionarse con un mayor nivel de tolerancia a concentraciones de esta ERO para dicho cultivar. El cultivar ‘Pelipita’ se encuentra reportado como tolerante ante condiciones de estrés salino (Granados *et al.*, 2014), por lo que un mayor contenido de H₂O₂ en tejido foliar podría indicar mayor actividad enzimática para la SOD (primera enzima de la ruta degradativa de ERO) y por ende la persistencia de dichos mecanismos aún en condiciones de estrés con altas concentraciones de NaCl. No obstante, puede también asociarse esta respuesta a un enlentecimiento de la actividad enzimática de peróxidasas y CAT, ante la acumulación de ERO provocadas por estrés con altas concentraciones de sales.

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Hemández *et al.* (1999) donde se observaron mayores niveles de H₂O₂ en cultivares tolerantes a la salinidad. Resultados similares fueron obtenidos por Gómez *et al.* (1999) en cultivares de guisante (*P. sativum* L.) donde se observó un mayor incremento del contenido de H₂O₂ en cultivares tolerantes sometidos a estrés con altas concentraciones de NaCl. Por otra parte, estudios realizados por Hernández *et al.* (2000) con plantas tolerantes de *P. sativum* cv Granada reportaron un aumento en las concentraciones de H₂O₂ ante elevadas concentraciones de sales, mientras que la variedad Chillis sensible a elevadas concentraciones de sales no mostró cambios significativos en los niveles de esta ERO. Similar respuesta fue encontrada en cultivares de trigo tolerantes a salinidad (Argentel *et al.*, 2006).

5.1.3.2 Efecto del estrés salino inducido con NaCl sobre el contenido de malondialdehído

A partir del análisis de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ y ‘Pelipita’ sometidos a estrés salino, se apreció un aumento del contenido de MDA ante el incremento en las concentraciones de NaCl, lo que se relaciona con los mecanismos de peroxidación de lípidos de membrana por favorecimiento cinético de las rutas anti estrés para proteínas y

ADN, en plantas sometidas a estrés por salinidad. Las especies reactivas del oxígeno producidas durante situaciones estresantes constituyen fuente de afectación directa a la membrana celular, por lo que un incremento en los niveles de MDA a causa de la peroxidación lipídica, resulta una síntoma relativamente inmediato de daño por estrés oxidativo (Verma y Dubey, 2003). Ante condiciones de estrés salino ocurre el incremento de ERO como el radical OH^\cdot , de gran afinidad por ADN, proteínas y componentes lipídicos de membranas, siendo los dos primeros, los blancos con mayores posibilidades de afectación directa por la actividad de esta especie reactiva; esta afinidad produce un reordenamiento de la actividad enzimática vinculada a la degradación de ERO, principalmente del radical OH^\cdot , favoreciéndose cinéticamente las rutas protectoras de ADN y proteínas, mientras que ocurre un enlentecimiento de la maquinaria defensiva a nivel de membrana (Shewfelt y Purvis, 1995). Por lo tanto ante mayores concentraciones de agente estresante ocurre un aumento del contenido de MDA a razón de los procesos de lipoperoxidación en membrana.

Esta respuesta resulta coincidente con los estudios realizados por Hemández *et al.* (1999) y Gómez *et al.* (1999) en cultivares de guisante donde se reporta una producción elevada de MDA ante el aumento de las concentraciones de NaCl. Similares respuestas fueron obtenidas por El-baky *et al.* (2003) con cuatro variedades de *Allium cepa* L. en las que se reportaron incrementos en la peroxidación lipídica (medida por el contenido de MDA) en aquellas plantas sometidas a estrés salino. También, estudios realizados por Khattab (2007) en tejido foliar de canola (*Brassica napus* L.) en condiciones de estrés salino, así como por Guerrero *et al.* (2008) en genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.), Bekheta *et al.* (2009), Sadak *et al.* (2010) y Abdelhamid *et al.* (2013) en tejido foliar de cultivares de haba (*Vicia faba* L.), se relacionó el aumento de las concentraciones de NaCl con el incremento de lesiones de la membrana, ante un mayor contenido de MDA.

En la presente investigación el cultivar ‘Pelipita’ presentó un aumento del contenido de MDA a mayor concentración de NaCl (300 mM) que el cultivar ‘Grande naine’ (250 mM). Lo cual indica una respuesta de tolerancia a la salinidad a mayores concentraciones de NaCl que el cultivar ‘Grande naine’. Este incremento diferencial de los niveles de MDA ante estrés salino ha sido informado por varios autores, teniendo en cuenta los mecanismos

de respuesta según el grado de tolerancia presentada por los cultivares estudiados. En variedades susceptibles de arroz, se han reportados incrementos de MDA a menores concentraciones que variedades tolerantes sometidas a estrés salino con NaCl, donde el incremento ocurre a mayores concentraciones de agente estresante (Demiral y Turkan, 2005; Khan y Panda, 2008); similar respuesta fue obtenida por Bekheta *et al.* (2009), Sadaket *al.* (2010) y Abdelhamid *et al.* (2013) en cultivares de haba (*Vicia faba* L.).

El principal aumento en la concentración de MDA se informó a 250 mM para el cultivar ‘Grande naine’ y 300 mM de NaCl para el cultivar ‘Pelipita’, por lo que pudiesen ser concentraciones que inducen respuestas de máxima sensibilidad. Lo anteriormente planteado se relaciona con lo propuesto por Yabor (2010) donde en plantas transgénicas de piña (*A. comosus* L.) las concentraciones de máxima sensibilidad fueron aquellas a las se determinaron los mayores daños, pero aún no se alcanzó el estado de letalidad media de los individuos.

5.2. Clasificación de salinidad en suelo y agua de riego

5.2.1 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en suelo

A partir del análisis de los niveles de salinidad por conductividad eléctrica en muestras del suelo empleado durante la etapa experimental de la presente investigación, se definieron dos clasificaciones: suelo de tipo ‘No salino’ para plantas control y concentraciones de hasta 200 mM de NaCl y suelo de tipo ‘Poco salino’ para los tratamientos correspondientes a 250 y 300 mM de NaCl. Esta diferencia de clasificación se relaciona con los índices de salinidad mediada por conductividad eléctrica descritos por Vázquez y Bautista, (1993). Los suelos con valores de salinidad de 2,3 y 3,2 dS/m (correspondientes a concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl respectivamente) se relacionan significativamente con las respuestas de los indicadores fisiológicos y bioquímicos analizados; por lo que dichas concentraciones podrían ser relacionadas con respuestas de tolerancia o susceptibilidad en los cultivares estudiados.

Estudios de este tipo se han desarrollados por diversos autores como Abrisqueta *et al.* (1962), Arpena, y Sánchez (1962), Jiménez (1999), Hasegawa *et al.* (2000), Kalenhonkar

et al. (2001) y Huerta-Ocampo *et al.* (2014), donde se establece una relación entre los indicadores de estrés analizados y los índices de salinidad en suelo.

5.2.2 Clasificación de salinidad por conductividad eléctrica en agua de riego

A partir del análisis de los niveles de salinidad por conductividad eléctrica muestras del agua de riego empleada durante la etapa experimental de la presente investigación, se definieron dos clasificaciones: agua de riego de tipo ‘Moderadamente salina’ para las plantas control y las concentraciones hasta 200 mM de NaCl y agua de riego de tipo ‘Fuertemente salina’ para los tratamientos correspondientes a 250 y 300 mM de NaCl. Esta diferencia de clasificación se relaciona con los índices de salinidad mediada por conductividad eléctrica descritos por Vento, (2011). El agua de riego con valores de salinidad de 5,1 y 5,7 dS/m (correspondientes a concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl respectivamente) fueron relacionadas significativamente con las respuestas de los indicadores fisiológicos y bioquímicos analizados; por lo que dichas concentraciones podrían ser relacionadas con respuestas de tolerancia o susceptibilidad en los cultivos estudiados.

Estudios de este tipo se han desarrollado por diversos autores como Ayers y Westcot (1985), Hazem-Kalaji y Pietkiewicz (1993), así como Pasternak y De Malach (1994). Investigaciones en varios cultivos de banano reportaron una relación directa entre los niveles de salinidad y el incremento de indicadores de estrés en tejido foliar. En dicha investigación el efecto del NaCl (0,3, 2,5 y 5,0 dS/m) sobre los cultivos ‘Cavendish Enano’ (AAA), ‘Robusta’ (AAA), ‘Neypoovan’ (AB), ‘Poovan’ (AAB), ‘Karpooravalli’ (ABB) y ‘Monthan’ (ABB,) revelaron un aumento de los niveles indicadores de estrés ante el incremento del NaCl en el agua de riego, especialmente en el cultivar ‘Cavendish Enano’ (AAA) donde a 2,5 dS/m se reportaron los mayores incrementos (Palaniappan y Yerriswamy, 1996). En otras investigaciones como las desarrolladas por Roblez-Pérez (2002) y Cortés-Jiménez *et al.* (2009) también se estableció una relación entre los indicadores de estrés analizados y los índices de salinidad en agua de riego.

5.3 Correlación entre niveles de salinidad e indicadores fisiológicos y bioquímicos

5.3.1 Relación estadística de indicadores fisiológicos con niveles de salinidad

5.3.1.1 Relación estadística Contenido de clorofilas – Salinidad

Mediante el análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido relativo de clorofilas en las plantas de los cultivares estudiados, se obtuvo una correlación medianamente alta, a partir de la cual se explica aproximadamente el 77% de la variabilidad del contenido relativo de clorofilas respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM). Estableciendo entonces una relación directa entre el decremento de los niveles de clorofilas y el aumento de la salinidad.

Se han encontrado similares relaciones en estudios desarrollados por Brugnoli y Laureti (1991), Almeida-Viégas *et al.* (1999) y Casierra-Posada *et al.* (2000) en plantas de lulo (*S. quitoense* L.) sometidas a estrés, donde se reporta una correlación del 80, 77 y 84% respectivamente entre la concentración de clorofilas y los niveles de NaCl. En estudios realizados por Delfine *et al.* (1999) en plantas de espinaca (*S. oleracea*) sometidas a estrés salino con NaCl, también se informó una correlación medianamente alta (86%) entre la concentración de clorofilas y los niveles de sal. Similar resultado fue obtenido por Argenteal *et al.* (2006) en plantas de trigo en condiciones de estrés salino reportándose una correlación del 70% entre la concentración de pigmentos clorofílicos y los niveles de NaCl.

4.3.2. Relación estadística de indicadores bioquímicos con niveles de salinidad

4.3.2.1 Relación estadística Prolina – Salinidad

Mediante el análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de prolina en las plantas de los cultivares estudiados, se obtuvo una correlación alta, a partir de la cual se explica aproximadamente el 94% de la variabilidad del contenido de prolina respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM). Estableciendo entonces una relación directa entre el aumento de los niveles de dicho aminoácido y el incremento de la salinidad.

Una relación estadísticamente significativa fue observada en tres cultivares de *C. annuum* L. donde se explicó la variabilidad del contenido de prolina respecto a los niveles de salinidad en aproximadamente un 96% (Medina, 2007). Otros estudios que muestran similares resultados, son los realizados en 30 cultivares de *T. aestivum* L. sometidos a estrés salino, donde el contenido de prolina en hojas, fue altamente correlacionado con el aumento de las concentraciones de NaCl en aproximadamente un 92% según Poustini *et al.* (2007). Similares respuestas fueron obtenidas por Madueño-Molina *et al.* (2007) en plantas de frijolillo (*R. minima* L.) sometidas a estrés salino, donde la variabilidad del contenido de prolina fue correlacionada a más del 90% con los niveles de salinidad; además en estudios realizados por Guerrero *et al.* (2008) y Lamz *et al.* (2013) en cultivares de arroz con tolerancia a la salinidad seleccionados tempranamente, fue descrita una correlación prolina – salinidad del 92 y 96%, respectivamente.

4.3.2.2 Relación estadística Peróxido de hidrógeno – Salinidad

Mediante el análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de H₂O₂ en las plantas de los cultivares estudiados, se obtuvo una correlación baja, a partir de la cual se explica aproximadamente el 26% de la variabilidad del contenido de H₂O₂ respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM). Esta respuesta podría estar dada por el carácter fluctuante de los mecanismos de detección y degradación, así como la vida media corta de dicha ERO (del Rio *et al.*, 1998).

Similares respuestas fueron observadas en el estudio realizado por Hemández *et al.* (1999) donde se observó una baja correlación (35%) entre los niveles de salinidad y el contenido de peróxido de hidrógeno. Resultados afines fueron obtenidos por Gómez *et al.* (1999) en cultivares de guisante (*P. sativum* L.) donde se observó una correlación del 28% entre el contenido de H₂O₂ y las concentraciones de NaCl empleadas. También en el estudio realizado por Argente *et al.* (2006) con plantas tolerantes de trigo, se informó una baja correlación (25%) entre el contenido de H₂O₂ y las concentraciones de NaCl. Para los autores referidos anteriormente, esta respuesta estuvo vinculada al carácter fluctuante de los mecanismos de detección y degradación y de dicha ERO.

5.3.2.3 Relación estadística Malondialdehído – Salinidad

Mediante el análisis estadístico de los niveles de salinidad en suelo y el contenido de MDA en las plantas de los cultivares estudiados, se obtuvo una correlación alta, a partir de la cual se explica aproximadamente el 92% de la variabilidad del contenido de MDA respecto a los niveles de salinidad (de 100 a 300 mM). Estableciendo entonces una relación directa entre el aumento de los niveles de dicho dialdehído y el incremento de la salinidad.

Se han encontrado similares relaciones en estudios desarrollados por Hemández *et al.* (1999) y Gómez *et al.* (1999) en cultivares de guisante donde se reporta una correlación del 90 y 94% respectivamente entre el contenido de MDA y las concentraciones de NaCl. En cuatro variedades de *Allium cepa* L. sometidas a estrés salino, fueron establecidas correlaciones altas (97, 91, 93 y 95%) entre los niveles de MDA y NaCl (El-baky *et al.*, 2003). También, estudios realizados por Guerrero *et al.* (2008) en cultivares de arroz (*O. sativa* L.), indicaron una alta correlación entre el contenido de MDA y las concentraciones de NaCl empleadas.

6. Conclusiones

1. Se determinó la respuesta al estrés por salinidad inducido con NaCl, en los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) en fase de aclimatización. Donde se observó una respuesta diferente entre los cultivares por su nivel de tolerancia al estrés salino, siendo el cultivar Pelipita (ABB) el de respuesta tolerante.
2. Se determinaron indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en plantas de los cultivares de *Musa* ‘Grande naine’ (AAA) y ‘Pelipita’ (ABB) sometidas a estrés por salinidad con NaCl. Donde los mayores niveles en todas las variables evaluadas indicaron una afectación superior a partir de las concentraciones de 250 y 300 mM de NaCl.
3. Se determinaron los niveles de salinidad en suelo y agua de riego, clasificándolos como poco salino y fuertemente salino respectivamente, a partir de 250 y 300 mM de NaCl. Las mayores afectaciones para ambos cultivares se apreciaron con niveles de salinidad superiores a los 2,3 dS/m en suelo y 5,0 dS/m en agua de riego.
4. Se establecieron correlaciones altas y medianamente altas entre todas las variables fisiológicas y bioquímicas evaluadas, a excepción del Peróxido de hidrógeno y los niveles de salinidad en suelo tratado a diferentes concentraciones de NaCl.

7. Recomendaciones

1. Determinar la respuesta al estrés salino de los cultivares estudiados con mayores concentraciones de NaCl.
2. Realizar determinaciones del contenido de clorofilas y peróxido de hidrógenos durante el transcurso del experimento.
3. Emplear ensayos enzimáticos asociados a la ruta del estrés oxidativo en cultivares de *Musa* spp. como complemento a los estudios de determinación de respuestas tolerantes o susceptibles a la salinidad.
4. Validar como metodología para la selección temprana de cultivares de *Musa* spp. con respuesta tolerante a la salinidad en fase de aclimatización, el uso del NaCl como agente inductor y el procedimiento empleado durante la investigación.

Referencias bibliográficas

- Abrisqueta, C., Guillen, M. G., Fernandez, F.G. y Caro, M. (1962) Contribución al estudio de la determinación de salinidad de suelos y su impacto en cultivos. *Anal. Edaf. Agrobiol.* 21: 545-554.
- AGRI-NOVA (2015) El cultivo del plátano (banano). [En línea] Disponible desde: www.agri-nova.com. [Consultado: 30 de marzo de 2015].
- Abdelhamid, A., Sadak, M., Schmidhalter, U. y El-Saady, A. (2013) Efectos combinados del estrés por salinidad y la nicotinamida sobre paráms bioquímicos y fisiológicos en plantas de haba. *Acta biol. Colomb.* 13.
- Ahmad, M. S. A., Jave, F. y Ashraf, M. (2007) Iso-osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissues of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plant Growth Regul* 68: 161-169.
- Almeida-Viegas, R; Barreto de Melo, A. y Gomes de Silveira, A. (1999) Nitrate reductase activity and proline accumulation in cashew in response to NaCl salt shock. *Revista brasileira de fisiología vegetal.* 11: 153-159.
- Al- Sulaiti, A., Blackewell, R., Lea, P. y Davies, W. (1990) Capacity for proline accumulation during water deficit and its relation with growth of barley photorespiratory mutants. *J. Exp. Bot.* 41: 4-14.
- Alonso, L., Domínguez, A., Alema, S. y Pérez, Y. (2014) *El estrés oxidativo en las plantas. Causas, efectos y mecanismos de defensa antioxidante.* Facultad de Agronomía, Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”.
- Amini, F. y Ehsanpour, A. (2005) Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na⁺ /K⁺ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. *Biochem & Biotech.* 1: 212-216.
- Araya, J. (2008) *Agrocadena del plátano, caracterización de la agrocadena.* Ministerio de Agricultura y Ganadería. Huetar del Norte. Costa Rica.
- Argentel, L., Gonzalez, L.M., Avila, C. y Aguilera, R. (2006) Comportamiento del contenido relativo de agua y la concentración de pigmentos fotosintéticos de variedades de trigo cultivadas en condiciones de salinidad. *Plant Physiol.* 33: 217-220.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol* 24: 1-15.
- Arora, A., Sairam, R.K. y Srisvastava, G.C. (2000) Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373: 102–109.
- Arpena, O. y Sánchez, J. (1962) Necesidades hídricas de las plantas de ciclo largo. *I.Citrus. Anal. Edafol. Agrobiol.* 21: 567-576.
- Asada, K. (1992) Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.* 85 : 235–241.
- Asada, K., Kiso, K. y Yoshikawa, K. (1984) Chloroplasts: formation of active oxygen and its scavenging. *Methods Enzymol. Plant Cell Physiol.* 25: 1169–1179.
- Ayers, R. S. y Westcot, W. (1985) *Water quality for agriculture.* Italy: Food and Agriculture Organization.
- Ayers, R. S. y Westcot, W. (1987) La calidad del agua en la agricultura. *FAO Riego y Drenaje.* 29.
- Azcón-Bieto J. y Talón, M. (2008) *Fundamentos de Fisiología Vegetal.* 2da Ed. Madrid: Interamericana McGraw Hill, 597 pp.
- Bates, L. S. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207

- Bayoumi, T. Y., Manal, H. E. y Metwali, E. M. (2008) Application of physiological and biochemical indices as a screening for salt tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 7 (14): 53-663.
- Bekheta, M. A., Abdelhamid, M. T. y El-Morsi, A. (2009) Physiological response of *Vicia faba* to prohexadione-calcium under saline conditions. *Planta Daninha* 27: 769-779.
- Belalcázar, S. (1991) *El cultivo de plátano en el trópico*. Colombia: ICA, Cali.
- Berteli, F., Corrales, E., Guerrero, C., Ariza, M.; Pliego, F. y Valpuesta, V. (1995) Salt stress increases ferredoxin-dependent glutamate synthase activity and protein level in the leaves of tomato. *Physiol. Plant*. 93: 259-264.
- Bohnert, H. J. y Jensen, R. G. (1995) Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol*. 14: 89-96.
- Bohra, J. (1993) Potassium nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) varieties under NaCl salinity. *Plant and Soil*. 152: 299-303.
- Borsani, O., Diaz, P. y Monza, J. (1999) Proline is involved in water stress responses of *Lotus corniculatus* nitrogen fixing and nitrate fed plants. *Plant Physiol*. 155: 269-273.
- Carden, D. E., Walker, D. J., Flowers, T. J. y Miller, A. J. (2003) Single-cell measurements of the contributions of cytosolic Na⁺ and K⁺ to salt tolerance. *Plant Physiology*. 131: 676-683.
- Carter, D. L. (1975) Problems of salinity in agriculture. *Plants in saline environments*. 8: 25-76.
- Casierra-Posada, F., Ebert, G., Lüdders, P., Ebert, G. y Lüdders, P. (2000) *Acumulación y distribución de iones en tejidos de lulo (Solanum quitoense) en condiciones de salinidad por NaCl*. III Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado.(3: 2000: Manizales, Colombia). Memorias. Manizales: Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales.[Links]. 76-80.
- Casierra-Posada, F. y García, N. (2005) Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria* sp.) bajo estrés salino. *Agronomy Journal*. 94: 38-47.
- Chen, P.-H., Salazar, E., Fernández, H., Castro, L., Russo, A. y Vásquez, S. (2011) Detección de polimorfismos RAPD en materiales de musa sp. con respuesta diferencial al ataque de *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. *Agronomía Tropical*. 61: 125-132.
- Cortés-Jiménez, J. M., Troyo-Diéguez, E., Murillo-Amador, B., García-Hernández, J. L., Garatuzza-Payán, J. y Suh-Lee, S. (2009) Índices de calidad del agua del acuífero del Valle del Yaqui y su efecto sobre la vegetación. *Sonora Terra Latinoamericana*. 27: 133-141.
- Chandler, P. y Robertson, M. (1994) Gene expression regulated by abscisic acid its relation to stress tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 45: 113-141.
- Cheesman, E. (1948) Classification of the Bananas. III. Critical Notes on Species. c. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L. *Kew Bulletin*. 2 145-153.
- Chiang, H. y Dandekar, M. (1989) Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. 28: 1057-1060.
- Daniells, J. (2002) J.D. Dwarf: ¿un cultivar de Cavendish superior? *INFOMUSA*. 11: 2-18.
- Dat. J. V., Vranová, E., Van-Montagu, M., Inzé, D. y Van-Breusegem, F. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol. Life Sci*. 57: 779-795.
- de Jesus, O. N., de Oliveira, S., Silva, M. y Rocha, H. S. (2002) Resistencia a la caída de los dedos de los genotipos diploides. *INFOMUSA*. 112: 22.
- del Rio, L. A., Pastori, G. M., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Sevilla, F., Corpas, F. J., Jiménez, A., López-Huertas, E. y Hernández, J. A. (1998) The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant Physiol* 116: 1195-1200.
- Delauney, A. y Verna, D (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J*. 4: 215-223.

- Delfine, S., Alvino, A., Villani, M. C. y Loreto, F. (1999) Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant Physiol.* 119: 1101-1106.
- Demmig-Adams, B. y Demmig-Adams, W. (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.* 1: 21-26.
- Desikan, R., Cheung, M.K., Clarke, A., Golding, S. Sagi, M., Fluhr, R., Rock, C., Hancock, J. y Neill, S. 2004. Hydrogen peroxide is a common signal for darkness- and ABA-induced stomatal closure in *Pisum sativum*. *Funct. Plant Biol* 31: 913-920.
- Desingh, R. y Kanagaraj, G. (2007) Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 33: 221-234.
- Dood, K., Guppy, C., Lockwood, P. y Rochester, I. (2010) The effect of sodicity on cotton: plant response to solutions containing high sodium concentrations. *Plant Soil.* 330: 239-249.
- Ebert, G., Casierra, F. y Lüdders, P. (1999) Influence of NaCl salinity and mineral uptake of *Solanum quitoense* L.). *Journal of Applied Botany.* 73: 31-33.
- El-baky, A., Hanaa, H., Amal, M.A. y Hussein, M. M. (2003) Influence of Salinity on Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes and Electrophoretic Patterns of Protein and Isoenzymes in Leaves of Some Onion Cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences.* 2 (8): 633-638.
- Fadzilla, N. M., Finch, R. y Burson, R. (1997) Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Journal of Experimental Botany.* 48: 325-331.
- FAOSTAT (2014) Banana crops and world wide production. [En línea] Disponible desde <http://www1.fao.org/>. [Consultado: 15 de enero de 2015].
- Fernandez, F. (2006) *Manual de técnicas de análisis de suelos*. Instituto Mexicano del Petróleo Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología. Mexico, D. F.
- Foyer, C. H. (1993) *In Antioxidants in Higher Plants* (eds Alscher, R. G. and Hess, J. L.). CRC Press. 31-58.
- Foyer, C. H., Lelandais, M., Edwards, E. A. y Mullineaux, P. M (1991) Oxidative Stress and Plant Metabolism. *Plant Physiology* 131-144.
- Gadea, P. (2011) Asimilación de amonio y acumulación de osmolitos nitrogenados en condiciones de déficit hídrico en la leguminosa modelo *Lotus japonicus*. In: *Pedeciba Biología/Bioquímica*.
- García, M. G., Marzano, G. y Sanabria, M. (2010) Efecto de la salinidad sobre el crecimiento, daño oxidativo y concentración foliar de metabolitos secundarios en dos variedades de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *Interciencia.* 35: 840-846.
- García, N., Martínez, V. y Carvajal, M. (2004) Effect of salinity on growth, mineral composition, and water relations of grafted tomato plants. *Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 616-622.
- Gardens, R. B. (2014) *Musa* (planta). World Checklist of Selected Plant Families. [En línea] Disponible desde. [Consultado: 24 de abril].
- Gómez J.M., Humer, J. A., Jiménez, A., del Río, L. A. y Sevilla, F. (1999) Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants. *Free Radic Res.* 2: 11-18.
- Gómez, R. R., Bermúdez, M., Chong, I. y Alvarado, Y. (2010) *Nuevo método para la selección rápida de plantas de banano (Musa spp. AAA cv. Grande naine) transformadas con gen bar procedentes de campo, empleando glufosinato de amonio*. Instituto de Biotecnología de las Plantas; Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Villa Clara. Cuba.
- Granados, C., Acevedo, D., Cabeza, A. y Lozano, A. (2014) Análisis de Perfil de Textura en Plátanos Pelipita, Hartón y Topocho. *Información tecnológica.* 25: 35-40.

- Granados-Sánchez, D. y López, R. (1998) Adaptaciones y estrategias de las plantas de zonas áridas. *Chapingo Serie Ciencias Forestales y del ambiente*. 4: 169-178.
- Green, F. A. (1966) To lipid metabolism - a fundamental feature in tummer - hostü relationship. *J. Theor. Biol.* 2: 213-215.
- Guerrero, Y., Martínez, Y., Rosabal, L., Mazorra, L., Pieters, A. y Núñez, M. (2008) *Efecto de la 24-epibrasinólida en el crecimiento, los niveles de prolina y de malondialdehido de plántulas de arroz (Oryza sativa L.) sometidas a estrés salino*. Laboratorio de Ecofisiología Vegetal. Centro de Ecología. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Venezuela.
- Khattab, H. (2007) Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions. *Aust J Basic Appli Sci.* 1: 323-334.
- Hanson, A. y Hitz, W. (1982) Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Plant Physiol.* 33: 163-203.
- Hare, P; Cress, W. y Van Staden, J. (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *PlantCellEnviroment.* 21: 535-553.
- Hasegawa, P., Bressan, R., Zhu, J-K. y Bohnert, H. J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463-499.
- Hazem-Kalaji, M. y Pietkiewicz, S. (1993) Salinity effects on plant growth and other physiological proceses. *Physiol. Plant.* 15: 89-124.
- Hernández, J. A., Campillo, A., Jiménez, A., Alarcón, J. J. y Sevilla, F. (1999) Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New phytologist.* 141 (2): 241-251.
- Hu, C., Delauney, A. y Verna, D. (1992) A bifunctional enzyme (pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first steps of proline biosynthesis in plants. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 89: 9354-9358.
- Hung, S. H., Yu, C.W y Lin, C. H. (2005) Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 46: 1-10.
- INEGI (2000) *Los análisis físicos y químicos en la cartografía edafológica. Guía Normativo-Metodológica*. Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática.
- IVIA (2015) *Cómo se evalúa la Salinidad en el agua de riego*. [En línea] Disponible desde www.estaciones.ivia.es/evaluar.html. [Consultado: Marzo 31 de 2015].
- Janero, D. R. (1990) Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic.Biol.Med.* 9: 515-540.
- Jiménez, G. E. (1999) *El campo experimental valle del Yaqui: su importancia en la producción agrícola en el sur de Sonora*. . Folleto informativo 1. Campo Experimental Valle de Yaqui-INEFAP. Ciudad Obregón, Sonora, México. .
- Junior, R. (2012) Crescimento de genótipos diplóides de bananeira submetidos ao estresse salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 16: 1145-1151.
- Kalenhonkar, M. J., Tyagi, N. K. y van der Zee, S. E. A. T. M. (2001) Solute transport modelling in soil for irrigation field experiments with álcali wáter. *Agric. Water Manege.* 51: 153-171.
- Koeppel, D. (2008) *Banana, the fate of the fruit that changed the world*. Nueva York: Hudson Street Press p. 44.
- Kratsch, H.A. y Wise, R.R (2000) The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell and environment.* 23: 337-350.
- Kyyosue, T., Yamaguchi-Shinosaki, K. y Shinosaki, K. (1996) A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzume involved in prolinemetabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 8: 1323-1335.

- Lacerda, C. F. (2004) Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany*. 54: 69-76.
- Lamz, A., Reyes, Y. y González, M. (2013) Indicadores bioquímicos para la selección temprana de genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) con tolerancia a la salinidad. *Cultrop* 34
- Lamz, A. y Gonzales, M. (2013) La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales*. 34.
- López, Z. (1998) *El plátano*. Editorial Pueblo y educación. La Habana, Cuba.
- Ma, S. (2006) Dissecting salt stress pathways. *Experimental Botany*. 57: 1097-1107.
- Madueño-Molina, A., Garcia-Peredes, D., Matinez-Hernandez, J. y Rubio-Torres, C. (2006) Germinación y desarrollo de plántulas de frijolillo *Rhynchosia minima* (L) DC en condiciones de salinidad. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 2: 2-10.
- Madueño-Molina, J. D., García-Paredes, J., Martínez-Hernández, R., Bugarín- Montoya, J. y Bojórquez-Serrano, I. (2007) Salinidad inducida con NaCl y aplicación de fósforo sobre las propiedades bioquímicas de frijolillo (*Rhynchosia minima* L (DC)). *Universidad y ciencia* 27.
- Mahmood, M., AbdulRahman, Z., Mohd-Saud, H., Shamsuddin, Z. y Subramaniam, S. (2009) Responses of Banana Plantlets to Rhizobacteria Inoculation under Salt Stress Condition. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 3: 290-305.
- Mantri, V. P., Suprasanna, P., Ford, R. y Pang, E. (2012) *Abiotic Stress Responses in Plants: Present and Future*. Australia: School of Applied Sciences, Health Innovations Research Institute, RMIT University.
- Medina, M. E. (2007) Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annuum* L. inducido por NaCl. *Arnaldoa*. 14 (2)
- Mian, A. (2011) Over-expression of an Na⁺ and K⁺ permeable HKT transporter in barley improves salt tolerance. *The Plant Journal*.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sci*. 7: 405-410.
- Moller, I. S. (2009) Shoot Na⁺ Exclusion and Increased Salinity Tolerance Engineered by Cell Type-Specific Alteration of Na⁺ Transport in *Arabidopsis*. *The Plant Cell Preview* a 2009 American Society of Plant Biologists.
- Moreno, L., Crespo, S., Pérez, W. y Melgarejo, L. M. (2010) *Respuesta bioquímica al estrés. Azúcares, prolina y sistema antioxidante*. In: Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Colombia: Universidad Nacional.
- Moreno, L. J. (2014) Respuesta de plantas in vitro de banano cv. Grande naine (Musa AAA) al estrés hídrico inducido con polietilenglicol. *Biotecnología Vegetal* 14: 21 - 27.
- Morton, J. (1987) *Fruits of warm climates*. Miami: Creative Resource Systems.
- Munns, R. y Tester, M. (2008) *Eco-geographic Distribution of Two Genes for Salinity Tolerance in Diploid wheats*. ICSC pp. 188-188.
- Nakano, Y. y Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nakayama, H., Horie, T., Yonamine, I., Shinmyo, A. y Yoshida, K. (2005) Improving salt tolerance
- Neill, S., Desikan, R. y Hancock, J. (2002) Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin. Plant Biol*. 5: 388-395.
- Nolte, T., Kobayashi, M., Yohiba, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari Y., Yamagushi-Shinozaki, K. y Shinozaki, K. (1999) Biological functions of proline in

- morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 18: 185-193.
- Olson, P. D. y Varner, J. E. (1993) Abrupt Increase in the Level of Hydrogen Peroxide in Leaves. *Plant J.* 4: 887-892.
- Ortega, J., Roche, D. y Sengupta-Gopalan, C. (1999) Oxidative turnover of soybean soot glutamine synthetase. In vitro and in vivo studies. *Plant Physiol.* 119: 1483-1495.
- Palaniappan, R. y Yerriswamy, R. M. (1996) *Valores límites de salinidad y manejo de sustancias nutritivas para los cultivares de banano cultivados sobre suelos y aguas salinos*. India: Mannuthy (IND) Kerala Agricultural University.
- Palatnik, J. F., Valle, E.M. y Carrillo, N. (2002) Oxidative stress and damage in chloroplasts from dawn to dusk. *Advances in Plant Physiology* 4: 75-88.
- Paleg, L., Stewart, G. y Bradber, J. (1984) Proline and glycine betaine influence protein solvation. *Plant Physiol.* 75: 974-978.
- Pasternak, D. y De Malach, Y. (1994) *Crop irrigation with saline water*. Pessarakli (ed.). Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc. New York: 599-622.
- Pérez, J. (1994) *Proyecto de estudio, evaluación, métodos de control y selección de la variabilidad somaclonal en el género Musa*. Santa clara: Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- Pillsbury, A. F. (1981) La salinidad de los ríos. *Investigación y Ciencia.* 60: 25-39.
- Pollard, A. y Wyn, J. R. (1979) Enzymes actives ins concentrated solutions of glycinebetaine and other solutes. *Planta Daninha.* 144: 294-298.
- Poustini K., A. S., M. Ranjbar (2007) Proline accumulation as a response to sal stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Genet Resour. Crop Evol* 54: 924-934.
- Rahnama, H. y Ebrahimzadeh, H. (2004) The effect of NaCl on praline accumulation in potato seedlings and calli. *Plant Physiol.* 26 (3): 263-270.
- Ramírez-Serrano, R., Larrinaga-Mayoral, J.A., Murillo-Amador, B., Hernandez-Saavedra, N.Y. y Fujiyama, H. (2008) Respuesta antioxidante enzimática en frutos de chile ancho (*Capsicum annuum* L.) bajo condicion de de estrés salino. *Sci. Agric.* 33: 377-388.
- Ramírez, M., Piña, Y., Ordoñez, B. y García, D. (2014) Efecto del NaCl en plántulas de curarí (*Tabebuia serratifolia*) en condiciones de laboratorio. *Pastos y Forrajes* 37
- Rhodes, H. y Handa, S. (1989) *Amino acids metabolism in relation to osmotic adjustment in plant cells*. In: Environmental stress in plants. Biochemical and physiological mechanisms. Germany: J.H. Cerry Springer-Verlag. pp 41-42.
- Richards, P. (1992) Increasing salinity tolerance of grain crops: is it worthwhile? . *Plant and Soil* 146: 89-98.
- Rivera, F. (2005) *Parámetros indicadores de inducción y protección al daño por frío (DPF) en frutos de limón 'Mexicano' (Citrus aurantifolia S.)*. In: Division de Ciencias Biologicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Mexico.
- Roblez-Pérez, C. (2008) *Calidad del agua de riego*. In: Química Agronomica. Escuela de Ciencias Químicas UABJO.
- Rodríguez, M., Morales J. y Chavarría, J. (1985) *Producción de plátanos (Musa AAB, ABB)*. Costa Rica: Centro Agrotécnico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Departamento de producción vegetal. Turrialba.
- Rustigi, J., Alonso, M., Fernandez, B. y Mora, N. (2013) High efficiency transformation of Banana (*Musa acuminata* L. var Matti (AA)) for enhanced tolerance to salt and drought stress. *Plant Physiol.* 5: 66-71.
- Sadak, M. S. H., Abdelhamid, M. T. y El-Saady, M. (2010) Physiological responses of faba bean plant to ascorbic acid grown under salinity stress. *Egypt J Agron.* 32 (1): 89-106.

- Sairam, R. K. y Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long-term salt stress. *Plant Sci.* 162: 897–904.
- Samaras, Y., Bressan, R., Csonka, M., Garcia-Rios, P. y Rhodes, J. (1995) Proline accumulation during drought and salinity In: *Environment and Plant Metabolism flexibility and acclimation. W.J Davies Bios Scientific.* 4: 161-186.
- Salama, Z. A. y El-Fouly, M. M. (2001) Differential Responses of Two Tomato Cultivars (*Lycopersicon esculentum* L.) to NaCl Stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 4: 1456-1459.
- Shereen, A., Ansari, R. U., Yasmin, S., Raza, S., Mumtaz, S., Khan, M. A. y Mujtaba, S. M. (2007) Physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to salt stress. *Pak. J. Bot.* 39: 2527-2534.
- Shewfelt, R. L., y Purvis, A. C. (1995) Toward a comprehensive model for lipoperoxidation in plant tissue disorders. *HortSci.* 30: 213-218.
- Simmonds, N. (1966) *Bananas.* 2 ed. London: Longmans Green. 535p.
- Smirnoff, N. (1993) The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany.* 78: 661–669.
- Smirnoff, N. y Cumbes, Q. (1995) Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh during development and in response to desiccation. *Plant Cell Environment.* 18: 1280-1290.
- Schmutz, U. (1998) *Physiological characterization of salt tolerance in mango.* Tesis de doctorado. Belgica: Humboldt Universitat zu Berlin, ISHS, Leuven. pp. 46-66
- Snaich, K. M. (1992) Metals and lipid oxidation. *Contemporary issues. Lipids.* 27: 209-218.
- Soto, M. (1985) *Bananos: Cultivo y comercialización.* Costa Rica: LIL S.A San José.
- Tappel, A. L. (1964) Free-radical lipid peroxidation damage and its inhibition. *Feeder Proc.* 24: 8-14.
- Tarczynski, M. C., Jensen, R. G. y Bohnert, H. J. (1993) Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science.* 259 508-510.
- Upendra, S. K. S., Ganapathi, T. R. y Srinivas, L. (2011) Cloning and characterization of a novel stress-responsive WRKY transcription factor gene (*MusaWRKY71*) from *Musa* spp. cv. *Karibale Monthan* (ABB group) using transformed banana cells. *Molecular biology reports.* 38: 4023-4035.
- Valdes, P. y Balbín, M. (2002) *Fisiología del estrés salino.* Cuba: Universidad Agraria de La Habana.
- Vázquez, A.A. y Bautista, N.A. (1993) *Guía para interpretar el análisis químico de suelo y planta.* México: Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de Suelos.
- Vento, M., Otero, L. y Morales, M. (2011) Salinidad del suelo: un problema que incumbe a todos. *Agricultura Organica.* 1.
- Verbruggen, N., Xue-Jun, H., May, M. y Van Montagnu, M. (1996) Environmental and developmental signals modulate proline homeostasis: Evidence for negative transcriptional regulator. *Proc. Nat. Acad. Scd, USA.* 63: 8787-8791.
- Verma, S. y Dubey, R. S. (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *PlantSci.* 164: 645–655.
- Villa-Castorena, M., Catalan-Velencia, E. A., Inzunza-Ibarra, M. A. y Ulery, A. L. (2006) Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de Chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. *Fitotecnica Mexicana.* 29: 79-88.
- Wills, E. O. (1966) Mechanism of Lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem. J.* 99: 667-670.
- Wojtaszek, P. (1997) Oxidative burst : an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322: 681-692.

- Yabor, L. (2010) Characterization of a field-grown transgenic pineapple clone containing the genes chitinase, ap24 and bar. *In Vitro Cell.Dev.Biol- Plan.* 46: 1–7.
- Zapata, P. J., Botella, M. A., Pretel, M. T., Amorós, A. y Serrano, M. (2003) *Implicación del etileno en la respuesta al estrés salino en varias especies vegetales.* España: Actas de Horticultura Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas de Pontevedra.
- Zhu, J.-K. (2001) Plant salt tolerance. *Trends in plant science.* 6: 66-71

Anexo I

Tabla 1. Valor nutricional del plátano fresco por 100 g de sustancia comestible.

Agua (g)	75,7	
Proteínas (g)	1,1	
Lípidos (g)	0,2	
Carbohidratos	Total (g)	22,2
	Fibras (g)	0,6
Vitaminas	A (UI)	0,6
	B ₁ (mg)	0,05
	B ₂ (mg)	0,06
	B ₆ (mg)	0,32
	Ácido nicotínico (mg)	0,6
	Ácido pantoténico (mg)	0,2
	C (mg)	10
Otros componentes orgánicos	Ácido málico (mg)	10
	Ácido cítrico (mg)	150
Sales minerales	Ácido oxálico (mg)	6,4
	Sodio (mg)	1
	Potasio (mg)	420
	Calcio (mg)	8
	Magnesio (mg)	31
	Manganeso (mg)	0,64
	Hierro (mg)	0,7
	Cobre (mg)	0,2
	Fósforo (mg)	28
	Azufre (mg)	12
	Cloro (mg)	125
Calorías (Kcal)	85	

Tabla 2. Valor nutricional del plátano comercial.

Agua (g)	514,8	
Proteínas (g)	7,5	
Lípidos (g)	1,4	
Carbohidratos	Total (g)	151
	Fibras (g)	4,1
Vitaminas	A (UI)	1 292
	B ₁ (mg)	0,34
	B ₂ (mg)	0,41
	B ₆ (mg)	2,18
	Ácido nicotínico (mg)	4,1
	Ácido pantoténico (mg)	1,4
	C (mg)	68
Otros componentes orgánicos	Ácido málico (mg)	3 400
	Ácido cítrico (mg)	1 020
Sales minerales	Ácido oxálico (mg)	42,2
	Sodio (mg)	7
	Potasio (mg)	2 856
	Calcio (mg)	54
	Magnesio (mg)	211
	Manganeso (mg)	4,35
	Hierro (mg)	4,8
	Cobre (mg)	1,36
	Fósforo (mg)	190
	Azufre (mg)	82
	Cloro (mg)	850
Calorías (Kcal)	578	

Anexo II

Tabla I. Clasificación de los niveles de salinidad en suelo según su conductividad eléctrica (Vázquez y Bautista, 1993).

Clasificación del suelo	Conduct. Eléctrica* en el extracto de saturación (dS/m)	Efecto en el cultivo
No salino	0 - 2	No afecta a los cultivos
Ligeramente salino	2 - 4	Puede disminuir los rendimientos de los cultivos sensibles
Moderadamente salino	4 - 8	Disminuye el rendimiento de la mayoría de los cultivos.
Salino	8 - 16	Rendimiento satisfactorio sólo de cultivos tolerantes
Extremadamente salino	> 16	Rendimiento satisfactorio sólo de cultivos muy tolerantes

Tabla II. Clasificación de los niveles de salinidad en agua de riego según su conductividad eléctrica (Vento, 2011).

Conduct. Eléctrica* en muestra de agua (dS/m)	Clasificación
1.5 <	No salina
1.6–2.6	Ligeramente salina
2.7 –5.0	Moderadamente salina
5.1 - 10	Fuertemente salina