

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE LOS VEGETALES  
A LA SALINIDAD

Luis F. García del Moral Garrido

RESUMEN

Se revisan las principales modificaciones que un exceso de sales en el suelo induce sobre la fisiología de los vegetales, así como las características que permiten a ciertas plantas vivir y crecer en ambientes salinos. Los efectos fisiológicos provocados por la salinidad pueden ser resumidos como: (a) déficit hídrico, consecuencia del potencial hídrico más negativo del medio radical causado por los iones salinos en exceso; (b) alteraciones en el balance iónico interno, ya que los iones sodio y cloro en exceso pueden disminuir la absorción de potasio, nitratos y fosfatos o bien alterar su distribución en la planta; y (c) fenómenos de toxicidad, generalmente asociados con la masiva absorción de iones sodio y cloro. La resistencia a la salinidad puede ser conseguida tanto por *evitación* de sus efectos, basada en excluir, expulsar o diluir los iones salinos en exceso; como por *tolerancia*, adquirida mediante un alto grado de compartimentación de los iones absorbidos, así como por una adecuada osmorregulación entre vacuola y citoplasma mediante acumulación en este último de solutos orgánicos compatibles.

**Palabras clave:** *Salinidad, adaptaciones fisiológicas, evitación, tolerancia.*

SUMMARY

In this review, the main features induced by a salt excess in the soil on the physiology of higher plants, as well as the mechanisms of resistance to saline conditions, are discussed. The physiological effects of salinity may be described as: (a) water stress, arising from the more negative water potential of the rooting medium caused by saline ions; (b) nutrient ion imbalance, when the excess of sodium or chloride leads to a diminished uptake or impaired internal distribution of potassium, nitrates or phosphates; and (c) specific ion toxicity, usually associated with excessive chloride or sodium uptake. Salinity resistance may be acquired by means of avoidance mechanisms, based on exclud-

ing, extruding or diluting the excess of saline ions, or by tolerance mechanisms, based on a high degree of intracellular compartmentation of absorbed ions, and on an adequate osmorregulation between vacuole and cytoplasm obtained by accumulation of compatible organic solutes in the cytoplasm.

**Key words:** *Salinity, physiological adaptations, avoidance, tolerance.*

## INTRODUCCION

La mayoría de los estrés provocados por salinidad en la Naturaleza son debidos a sales de Na, principalmente ClNa, aunque los ambientes salinos pueden contener una gran variedad de otras sales. Las plantas capaces de soportar sin daños aparentes altas concentraciones de electrolitos en su ambiente son denominadas halófitas, término que literalmente significa "planta salada", en oposición a las que no pueden sobrevivir en tales ambientes o glicófitas ("plantas dulces"), también llamadas halófobas (1).

El límite de tolerancia a la salinidad viene indicado en primer lugar por un cese del crecimiento, seguido por la muerte de los tejidos, que comienza a manifestarse como zonas dispersas de aspecto quemado en la hoja, o bien situadas en forma de ribete alrededor del limbo. A continuación aparece inhibición de yemas, pérdida de turgor, caída de las hojas y, finalmente, marchitez irreversible de la planta (1, 2, 3, 4). Otro cambio típicamente inducido por la salinidad es la aparición de succulencia, mecanismo de dilución interna de sales por absorción de agua, lo que produce células con una elevada proporción volumen/superficie (1, 2, 3, 4, 5, 6).

A nivel subcelular parece que los orgánulos más afectados son los cloroplastos, ocurriendo una completa distorsión de su estructura, consistente en la desorganización del sistema lamelar, fenómeno que impide reconocer claramente los grana en comparación a cloroplastos normales. Además, puede observarse una inusual acumulación de gotitas lipídicas (3, 4). Las mitocondrias se hacen menos densas a los electrones y sus crestas se hinchan. El núcleo celular sufre un hinchamiento de su doble membrana, mientras que en el aparato de Golgi y retículo endoplasmático se detecta una acumulación de vesículas con un material denso a los electrones, posiblemente lípidos con destino a la reparación de estructuras dañadas por la salinidad (1, 3, 4).

La salinidad también induce adelgazamiento y menor ramificación en las raíces de plantas sensibles (2, 3), provocando un aumento del espesor de las paredes celulares, aunque las características más llamativas ocurren en la anchura de las bandas de Caspary a nivel de las paredes radiales de las células endodérmicas, así como en el número de capas celulares del córtex (3, 4, 7, 8). En efecto, la relación entre la anchura de la banda de Caspary y la pared radial de la célula muestra una disminución desde 1 en las hidrohalófitas, pasando por 0.9-0.8 en las xerohalófitas y 0.6-0.5 en plantas de dunas o lugares arenosos, hasta 0.4-0.3 en las plantas de cultivo, tales como tomate o lechuga. Es decir, en las hidrohalófitas la totalidad de la pared radial de la célula se

encuentra cubierta por la banda de Caspary, mientras que en las glicófitas cubre tan sólo un 30 ó 40%. También, las halófitas presentan un córtex bastante reducido, con sólo 2 ó 3 capas de células, en oposición a las plantas glicófitas que suelen poseer más de 4, llegando incluso a 14 en algunas plantas de cultivo (4, 7). Ambas modificaciones parecen dirigidas a limitar el transporte apoplástico de iones a través de la raíz en las plantas halófitas (7,8).

## EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA SALINIDAD.-

Desde BERNSTEIN y HAYWARD (5), los efectos de la salinidad sobre la fisiología de los vegetales han sido clasificados como osmóticos, nutritivos y de toxicidad. En términos de la moderna fisiología del estrés (1), los dos primeros son efectos secundarios inducidos por el estrés salino, mientras que el de toxicidad constituye un efecto primario debido a las sales.

*Efectos osmóticos.*- Si la salinidad disminuye el potencial hídrico externo por debajo del de la célula expone a la misma a un estrés hídrico secundario. Para distinguirlo del estrés por falta de agua en el suelo y ya que ambos conducen a una tensión de deshidratación osmótica, se le conoce como *sequía fisiológica* (1, 3, 9, 10). La principal evidencia de este estrés hídrico es la depresión del crecimiento y de la producción en numerosas glicófitas producida por las altas concentraciones de electrolitos, con independencia del tipo de sal; así como la disminución del crecimiento causada por agentes osmóticos inertes tales como dextranos o polietilenglicol (1, 2, 3, 5, 9, 10, 11, 12).

*Efectos nutritivos.*- Aún cuando se eliminase el efecto osmótico, una elevada concentración en sales repercute sobre los niveles de absorción de algunos elementos nutritivos, principalmente porque disminuye la absorción de agua por las raíces (y de solutos por tanto) y por los fenómenos de antagonismo y sinergismo en la absorción y transporte de los iones (3, 5, 9, 10, 12). En efecto, altas concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y otros iones encontrados en suelos salinos, como  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{SO}_4^{2-}$ , pueden inducir deficiencias en otros iones esenciales; especialmente  $\text{K}^+$ , fosfatos o nitratos (3, 5, 7, 10, 12). Así, han sido señaladas deficiencias en  $\text{K}^+$  en numerosas glicófitas sometidas a salinización con  $\text{ClNa}$ , debido a la dificultad en el transporte de este ion por su competencia con el  $\text{Na}^+$ . Igualmente, cloruros y sulfatos en exceso pueden provocar una disminución en el contenido de P total en muchas especies (2, 3, 5, 10, 12).

*Efectos de toxicidad.*- El daño inducido por el estrés primario o de toxicidad puede ser directo, de rápida aparición (minutos u horas) e identificado con un daño a membranas; o indirecto, que requiere exposiciones más prolongadas al estrés (días o semanas) para que se desarrolle y que cursa con la alteración de diversos procesos metabólicos (1).

El efecto general de una gran variedad de sales es una disminución en la tasa de fotosíntesis neta por unidad de área foliar, excepto en el caso de las halófitas (3, 6, 7, 9, 13). En algunas ocasiones, el principal responsable de esta disminución parece ser el cierre de estomas causado por la alteración en el ba-

lance hídrico (9, 13, 14). En otras, sin embargo, la reducción parece debida a daños en las reacciones luminosas y bioquímicas de fijación del  $\text{CO}_2$ , aunque se conoce poco acerca de los mecanismos celulares implicados (9, 13, 15, 16). La salinidad incrementa el nivel de respiración oscura en función de la concentración de la sal (1, 9, 13, 17, 18, 19). Este fenómeno probablemente constituye una reacción adaptativa y no una respuesta patológica, destinándose la energía así producida al bombeo de iones contra el gradiente termodinámico de potencial y a la reconstrucción de orgánulos y unidades proteicas cuyo nivel de desorganización aumenta bajo condiciones de salinidad (1, 9, 15, 18, 20).

También ha sido señalado un metabolismo defectuoso del nitrógeno como posible fuente del daño indirecto por estrés salino, ya que la disminución en el crecimiento podría conducir a una acumulación inusual de sustancias en la célula vegetal (2,3). En muchas especies, la sal deprime la síntesis de proteínas, mientras que aumenta la hidrólisis de las existentes (3, 4). Como resultado se produce un acúmulo de aminoácidos libres y también de sus derivados, alguno de los cuales puede ser tóxico. Así, bajo condiciones de salinidad se encuentra acumulación de oxiprolina, leucina, alanina, tirosina, metionina, fenilalanina, radicales sulfóxido y sulfonas (3). También se registra un aumento de la cantidad de amoníaco, que llega a ser de hasta diez veces su valor normal en la célula, así como una acumulación de putrescina y cadaverina (2, 3), diaminas altamente tóxicas para los vegetales. Igualmente, ha sido señalado un aumento de la actividad peroxidásica en hojas dañadas por  $\text{ClNa}$ , lo que conduce a la formación de melaninas y melanoidinas por oxidación de tirosina en las áreas necróticas (2, 3, 15). La actividad catalásica también parece aumentar, indicando una posible formación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2, 3, 15).

Asimismo, ha sido encontrada una ruptura de clorofilas y otros pigmentos, tales como carotenos y antocianinas, en presencia de elevadas concentraciones de sal. Ello puede conducir a la formación de carotenos oxidados y radicales tóxicos para la célula, además de otras sustancias que colorean las necrosis (3). Finalmente, respecto al daño directo parece deberse primordialmente a una alteración de la permeabilidad diferencial de las membranas, causada por cambios en los lípidos y desnaturalización y agregación de sus proteínas (1, 3, 15).

## RESISTENCIA A LA SALINIDAD.-

Es bien conocido que la resistencia de los vegetales a un estrés ambiental puede deberse a evitación (es decir, al desarrollo de una barrera química o fisiológica que impida a las células sufrir una alteración en el equilibrio termodinámico interno en presencia del estrés) o a tolerancia (cuando la célula es capaz de soportar ese desequilibrio termodinámico por largos periodos sin daños aparentes). Ambos tipos de resistencia pueden ser encontrados tanto en el estrés primario de toxicidad como en el secundario osmótico o nutritivo (1).

## EVITACION DEL ESTRES PRIMARIO.-

La planta puede utilizar alguno o varios de los métodos siguientes para evitar el estrés salino interno: a) puede excluir la sal de sus células pasivamente, impidiendo su entrada; b) puede expulsar la sal en forma activa, una vez que ha entrado; o c) puede diluir la sal entrante.

a) *Exclusión de sales*: Existen numerosos ejemplos de glicófitas e incluso de halófitas, en las que su resistencia al ClNa ha sido relacionada con la habilidad para excluir los iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  de los vástagos, presumiblemente por disminución de la permeabilidad selectiva de la membrana a estos iones (2, 10, 12, 15, 18, 22, 23). Es bien conocido que la permeabilidad diferencial de la célula vegetal depende de un balance (normalmente alrededor de 10:1) entre cationes monovalentes ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) y divalentes (principalmente  $\text{Ca}^{2+}$ ). El ion  $\text{Ca}_2^+$ , por tanto puede actuar como un agente protector de la membrana, garantizando su impermeabilidad a elevadas concentraciones exteriores de ClNa (50 mM o más) y permitiendo el crecimiento de plantas sensibles como la judía (24). Bajo estas condiciones habría una adsorción preferencial de  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la membrana modificando sus propiedades y disminuyendo la permeabilidad para los cationes monovalentes y otros iones (12, 18, 24). De esta forma, la exclusión concebiblemente podría mantener el balance iónico normal en presencia de concentraciones moderadamente altas de electrolitos, siempre que en el medio radical exista suficiente  $\text{Ca}^{2+}$  (10, 12, 22, 24).

b) *Expulsión activa de sales*: La mayoría de los sistemas relacionados con el transporte iónico en las plantas han sido estudiados sólo desde el punto de vista de la absorción, no de la expulsión de sales (1, 18). Sin embargo, existen numerosas evidencias electrofisiológicas de esta expulsión (1, 15, 18, 21, 25, 26, 27). De los estudios cinéticos se desprende que existen dos sistemas diferentes de ATPasas activadas por  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en las células de plantas haloresistentes. Uno de óptima actividad a elevadas concentraciones de  $\text{K}^+$  y que se localiza en el plasmalema celular y otro localizado en el tonoplasto y que requiere altas concentraciones de  $\text{Na}^+$ . De esta forma existiría un sistema de transporte que tomaría  $\text{Na}^+$  del citoplasma expulsándolo al medio circundante e intercambiándolo por  $\text{K}^+$ , y otro que también tomaría  $\text{Na}^+$  del citoplasma y lo vertiría en la vacuola (15, 18, 26). Existen también otras ATPasas de membrana específicas para iones distintos al  $\text{Na}^+$  y al  $\text{K}^+$ , como  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Li}^+$ , encontradas en raíces de maíz, trigo o cebada y en fracciones microsómicas de glándulas de sal de *Limonium* y *Tamarix* (28, 33), así como un antiportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  inducido por la salinidad en el tonoplasto de vesículas de raíces de cebada (29). Por tanto, está bien documentado que las bombas de expulsión de iones, reconocibles bioquímicamente como ATPasas de membrana, desempeñan un papel muy importante para mantener las funciones celulares en las plantas haloresistentes, contribuyendo a que la concentración de  $\text{Na}^+$  libre en el citoplasma sea lo más baja posible.

Relacionadas con la expulsión de iones se encuentran las glándulas salinas excretoras de sal, las cuales pueden estar constituidas por una o varias células

rodeadas de cutícula, pero siempre con una gran cavidad destinada a recoger y dar salida a la secreción salina (28, 30). Las células de la glándula se caracterizan por poseer un citoplasma bastante denso a los  $e^-$ , con numerosas mitocondrias, un núcleo voluminoso y pequeñas y abundantes vacuolas, frecuentemente incluyendo un material denso a los  $e^-$  (28,30). La secreción de estas glándulas consiste principalmente en gran cantidad de iones minerales, incluyendo los cationes  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Li^+$  y los aniones  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $CO_3^{2-}$ ; junto con algún material orgánico, comprendiendo aminoácidos libres y proteínas (28, 30, 31, 32, 33). Dado que las glándulas salinas no están en conexión directa con el tejido vascular cercano, parece que el recorrido de la sal hasta la glándula se realiza por vía simplásmica, a través de los plasmodesmos de las células adyacentes, siendo acumulada en las células secretoras por un proceso activo relacionado con el elevado número de mitocondrias presentes en las mismas (28, 30, 32). La secreción de la sal tendría lugar debido a la presión hidrostática que generaría la entrada de agua al interior de la glándula, como consecuencia del menor potencial hídrico frente al resto de las células de la epidermis, causado por el bajo potencial osmótico derivado de la acumulación de solutos (28, 30, 31). En los pelos vesiculados de ciertas especies de *Atriplex* que acumulan iones salinos, sin embargo, la sal no es realmente excretada de la hoja sino que es liberada por la rotura de la vesícula, siendo posteriormente lavada por la lluvia (32, 34, 35).

c) *Dilución de sales*: Dado que lo esencial del efecto de las sales no es su cantidad absoluta, sino su concentración, una absorción de agua en cantidad suficiente puede prevenir un incremento peligroso en el líquido tisular. Así, en numerosas halófitas cuando las concentración de solutos alcanza un determinado valor, las células (especialmente las del parénquima) se alargan permitiendo un mayor contenido de agua que previene la concentración excesiva del jugo celular y conduce a la succulencia de la hoja (1, 3, 4, 5, 6, 32). Desgraciadamente, hasta que el mecanismo fisiológico de aumento del volumen celular sea totalmente aclarado (36), no podrá ser explicado satisfactoriamente el mecanismo de la evitación de la salinidad debido a dilución. Se ha sugerido (32), que la succulencia quizás dependa del mantenimiento de paredes celulares muy delgadas y extensibles en forma plástica, para permitir una expansión celular continua por una absorción de agua capaz de mantener constante el balance iónico a medida que se incrementa el contenido de sales en la hoja. Este mecanismo de resistencia se encuentra bien desarrollado en diversas especies de *Atriplex*, *Salicornia*, *Suaeda* y otras quenopodiáceas de lugares salinos, así como en xerohalófitas de lugares secos, cuya succulencia es también una adaptación a la sequía.

La resistencia basada en evitación del estrés se fundamenta, por tanto, en mantener un contenido iónico limitado, especialmente en las células de la hoja. En su consecución cooperan características anatómicas, fisiológicas y bioquímicas; las cuales pueden ser agrupadas a dos niveles: radical, controlando la entrada de iones y su paso al xilema, y foliar, impidiendo su acumulación en la hoja.

En el paso de iones a través de la raíz pueden desarrollarse mecanismos de exclusión mediante (18,37): (a) aumento de la impermeabilidad del plasmalema y tonoplasto; (b) incremento en la suberificación de las paredes de las células de la banda de Caspary (fenómeno acusado en las halófitas como hemos indicado); (c) disminución del número de células de paso en la endodermis; y (d) desarrollo de una exodermis suberificada en algunas especies de monocotiledóneas.

En la estela, los procesos de transporte activo relacionados con el paso de solutos al xilema ofrecen otro lugar para la actuación de mecanismos de evitación. Posteriormente, el transporte activo hacia el exterior del xilema vía células de transferencia, puede regular también las proporciones y concentración de los diferentes iones suministrados al tallo (12, 20, 23, 37, 38). Estos iones (principalmente  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ ) así retirados del xilema, pueden ser retranslocados al córtex y excretados al exterior de la raíz por un proceso activo, redistribución que ha sido demostrada en mesocótilos de maíz (12, 39).

En la hoja, de nuevo, el transporte a través del plasmalema y tonoplasto resulta el último responsable de la distribución de los solutos que llegan por el xilema, tanto a nivel intracelular como a niveles superiores de organización. En algunos casos, como en la especie *Puccinellia peisonnis*, el movimiento hacia el simplasma puede ser incrementado incluso por suberificación de las paredes de la células que rodean los haces vasculares (10, 37). La capacidad de las vacuolas del mesofilo para acumular  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  puede ser ampliamente incrementada por aumento del tamaño celular y de la proporción vacuola/citoplasma, lo que ocurre no sólo en las halófitas suculentas, sino en otras muchas especies, aunque en menor extensión (6, 12, 32). Como ya ha sido indicado, una solución alternativa al problema de la acumulación de sal en la hoja la constituye su expulsión activa a través de la cutícula, bien mediante glándulas de sal o por ruptura de vesículas y tricomas especializados. Relativamente pocas especies poseen mecanismos efectivos capaces de excretar sal desde las hojas (31) o de secuestrar cantidades importantes por dilución en células suculentas, por lo que la compartimentación de los iones en exceso que llegan a la hoja juega un importante papel en la resistencia a la salinidad (12, 32, 37, 40, 41, 42), lo que se discutirá al estudiar los mecanismos de tolerancia en el siguiente apartado.

El transporte por el floema en relación a la salinidad resulta especialmente importante, ya que suministra los asimilados necesarios para el crecimiento a las hojas jóvenes (incapaces aún de autoabastecerse) y realiza la retranslocación de metabolitos útiles (incluyendo  $\text{K}^+$ ) desde las hojas senescentes a los tejidos jóvenes (12, 37). A este nivel puede existir una redistribución selectiva, ya que parece que los iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  son relativamente inmóviles en el floema de las halófitas (11, 32, 43).

Una respuesta característica a la salinidad consiste en la reducción de la transpiración por incremento tanto de las resistencias del mesófilo como estomática a la pérdida de vapor de agua, lo que limita la absorción pasiva de iones

por las raíces (6, 13). Esto se encuentra bien correlacionado con el aumento de la síntesis de ácido abscísico en plantas sometidas a estrés salino (12). Finalmente, en muchas especies sometidas a pulverización por agua de mar o a inundaciones periódicas con agua de elevada salinidad, la cutícula se hace más gruesa y existe mayor deposición de ceras, constituyendo una barrera a la entrada de sal en la hoja (37). El incremento de la pubescencia y la mayor deposición de cera epicuticular, pueden tener un papel igualmente importante en la reflexión de la radiación incidente, previniendo un excesivo aumento de la temperatura de la hoja y limitando la transpiración destinada a refrigerarla (37).

*Tolerancia del estrés primario.* - Los datos anteriores enfatizan la importancia de la evitación en la resistencia a la salinidad. Así, las glicófitas moderadamente resistentes deben su resistencia a evitación, como ocurre en la cebada. Sin embargo la comparación de la fisiología de las plantas glico y halófitas sugiere que la acumulación de iones y, por tanto la tolerancia, parece ser un mecanismo superior de adaptación a los hábitos salinos, puesto que posibilita a la planta para obtener agua a valores muy negativos de potencial hídrico en su ambiente (contribuyendo así a superar el efecto osmótico secundario) e impide su deshidratación. Esa tolerancia se fundamenta tanto en un alto grado de compartimentación de los iones dentro de la célula como en un adecuado ajuste osmótico entre vacuola y citoplasma, adquirido por la acumulación de solutos orgánicos (osmorregulación) (10, 11, 12, 18, 32, 42), cuyo mecanismo fisiológico se expondrá más adelante.

Existen dos posibles mecanismos de tolerancia al daño producido por el estrés primario (1, 20, 32, 42): a) La planta puede amortiguar el cambio en el balance iónico, excretando la sal absorbida en la vacuola, evitando así el daño directo e indirecto. b) La planta puede tolerar el cambio en el balance iónico. El primer mecanismo es idéntico al de resistencia al estrés osmótico y, por lo tanto, se estudiará posteriormente junto a la evitación del daño osmótico, en el apartado de osmorregulación. El segundo requiere estructuras protoplasmáticas y orgánulos capaces de mantener sus propiedades normales en presencia del cambio iónico provocado por la salinidad. De hecho, este es el único mecanismo disponible para aquellas células con vacuoma muy reducido o incluso sin vacuolas, por ejemplo, microorganismos halófilos y células meristemáticas de plantas superiores (1, 32, 42).

La tolerancia al daño primario indirecto, es decir, al provocado por alteraciones en las vías metabólicas ha sido explicada por un elevado grado de compartimentación en el citoplasma de los iones absorbidos, evitando que entren en contacto con enzimas y unidades proteicas sensibles (10, 11, 20, 32, 37, 41, 42, 43, 44). Esto parece recibir confirmación por el hecho de que muchos enzimas aislados desde especies halófitas sean tan sensibles a la sal *in vitro* como los aislados desde glicofitas (10, 11, 12, 32), aunque la necesidad de esta compartimentación en la tolerancia a la salinidad ha sido cuestionada muy recientemente (27).

Se han realizado numerosas investigaciones para demostrar si realmente existe una compartimentación de este tipo, aunque sin resultados concluyentes (10, 27, 40, 42, 44). Los estudios sobre la localización intracelular de los iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  (10, 41) conducen a la conclusión general de que el  $\text{Na}^+$  posee una elevada afinidad por las membranas, mientras que el  $\text{Cl}^-$  se dispersa por toda la célula. Así, utilizando sales de antimonio que marcan la localización del  $\text{Na}^+$ , se han encontrado acúmulos en el núcleo, mitocondrias, espacios intercelulares cerca de las paredes celulares y entre éstas y el plasmalema. De acuerdo con estos resultados es posible aceptar la compartimentación del  $\text{Na}^+$ , pero resulta más difícil la del  $\text{Cl}^-$  (10, 41, 42). Sin embargo, respecto a este ión se ha sugerido que la planta puede inmovilizarlo mediante su ligamiento a ciertas proteínas solubles del tipo de las albúminas, capaces de aceptarlo y cuya cantidad en la célula aumenta con la exposición a elevadas concentraciones externas de  $\text{ClNa}$  (2). Otros autores han demostrado su existencia en el lumen del retículo endoplasmático y en los plasmodesmos, señalándolos como posibles lugares de compartimentación (11, 12).

Es interesante considerar la influencia de la salinidad sobre el proceso bioquímico de fijación del  $\text{CO}_2$ . La competición entre los enzimas PEP-carboxilasa y RDP-carboxilasa es decisiva para que la fotosíntesis de una planta siga el camino  $\text{C}_3$  o  $\text{C}_4$ . La salinidad afecta a estos dos enzimas de forma diferente, según el grado de tolerancia a las sales de la especie considerada (11). En la halófito *Aeluropus litoralis* ambos enzimas incrementan su actividad con el tiempo de exposición a la sal y con la edad de la hoja, pero se altera su proporción relativa en la célula. Al comienzo, la PEP-carboxilasa se encuentra en relación 1 a 10 de la RDP-carboxilasa, pero al finalizar el tratamiento la proporción es de 1 a 3. Concomitantemente, la planta varía la fijación del  $\text{CO}_2$  desde la ruta  $\text{C}_3$  a la  $\text{C}_4$ , adquiriendo el metabolismo ácido de las crasuláceas (11, 45, 46), lo que se traduce en una mayor captación de  $\text{CO}_2$  por unidad de agua transpirada (9, 11). Además, si tenemos en cuenta que el transporte del  $\text{ClNa}$  hacia las hojas depende en gran medida de su nivel de transpiración y dado que éste es menor bajo el metabolismo CAM, la planta adquiere la ventaja adicional de poder excluir más fácilmente la sal de los vástagos. Actualmente se piensa, sin embargo, que este cambio es consecuencia más bien del estrés hídrico asociado que una respuesta exclusiva a la salinidad. Ello parece confirmarse porque muchas plantas presentan este comportamiento también en respuesta a las variaciones estacionales en la humedad del medio. Este cambio al metabolismo CAM permite a la planta continuar creciendo, pero a niveles bastante más reducidos debido a la baja capacidad de esta ruta fotosintética para la fijación oscura del  $\text{CO}_2$  (9).

El mecanismo de tolerancia al daño primario directo, es decir lesiones a las membranas, debe depender de las propiedades de sus lípidos o de sus proteínas, o de ambos conjuntamente (3, 15, 32, 47). Desafortunadamente, la información disponible es escasa en este punto. Se conoce que los cambios inducidos a las membranas en presencia de estrés salino son muy semejantes para

la mayoría de las especies, consistiendo en desorganización estructural y alteración de las uniones entre lípidos y proteínas (15, 32). Algunas investigaciones sobre la relación existente entre actividad enzimática y lípidos demuestran que ciertas membranas pueden recuperar su actividad ATPásica perdida con la ayuda de la fosfatidilcolina, aunque la dependencia de estas nuevas ATPasas frente a la temperatura resulta algo diferente (15). También ha sido señalado que la tolerancia de las membranas a la salinidad está directamente relacionada con el grado de saturación de sus fosfolípidos (15, 47). Por tanto, parece que la tolerancia de las membranas a la salinidad requiere el ajuste de ciertos lípidos considerados como protectores, así como la síntesis de nuevos fosfolípidos, procesos que requieren energía (15, 32, 47).

*Resistencia al estrés secundario de deshidratación.*- Para que una planta pueda absorber agua e iones de un suelo altamente salino, con un potencial hídrico muy negativo, el potencial hídrico de sus células deberá ser aún más negativo. Para conseguirlo, las células de las especies halófitas desarrollan una serie de mecanismos fisicoquímicos conocidos globalmente como osmorregulación (10, 11, 12, 18, 20). Dado que el estrés osmótico es un tipo de déficit hídrico, cuando la planta está expuesta a una solución salina hipertónica existen dos mecanismos por los que puede retener su turgor: a) Absorbiendo la sal, el agente osmótico más asequible y barato termodinámicamente bajo condiciones salinas; y b) Incrementando su concentración de solutos orgánicos, proceso que requiere gasto de energía metabólica. Ambos mecanismos son de evitación de la deshidratación y operan simultáneamente en las células de las plantas halófitas (1, 7, 10, 11), por lo que se considerarán conjuntamente.

Dentro de la célula los iones absorbidos en gran cantidad (principalmente  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ ) se acumulan, mediante un proceso activo, en la vacuola (10, 11, 21, 32, 42, 43) la cual ocupa aproximadamente el 95% del volumen de la célula madura en el caso de la hoja. Este hecho implica que la concentración iónica en el citoplasma deberá ser alta también, para que su potencial hídrico alcance valores similares al de la vacuola y no exista deshidratación de las estructuras protoplasmáticas. Este equilibrio osmótico vacuola/citoplasma puede lograrse también por un acúmulo de iones (lo que obliga a suponer que las estructuras y funciones metabólicas pueden mantenerse a concentraciones elevadas de electrolitos, es decir, que poseen un alto grado de tolerancia mediante un elevado gasto de energía) o por otros mecanismos de ajuste (10, 11, 20, 32).

La evidencia electroquímica sugiere que el citoplasma de las células de las plantas halófitas se mantiene a concentraciones de sales moderadas, del orden del 20 ó 25% de la vacuola, bajo condiciones salinas, por lo que actualmente se piensa (10, 11, 37, 42) que la acumulación de varios solutos orgánicos compatibles es el mecanismo preferencial de osmorregulación entre vacuola y citoplasma en la mayoría de las células de halófitas (10, 11, 32, 42). El término soluto compatible, introducido recientemente, se utiliza para designar una serie de sustancias no inhibitoras o de baja toxicidad "in vitro", que se acumulan en el citoplasma a pequeños valores de potencial hídrico externo (10, 11, 42).

En plantas superiores se han señalado una serie de citosolutos compatibles, tales como prolina, sorbitol, glicinabetaína y otros. Este número es aún mayor para microorganismos halófitos e incluye diversos polialcoholes (arabitol, glicerol, manitol) (10, 11, 42). En este sentido es notable el hecho de que el nivel de prolina, normalmente en proporción mínima en el "pool" de aminoácidos de muchos organismos, pueda incrementarse hasta hacerse mayoritario en numerosas halófitas (10, 42). Así, en hojas de *Nicotiana* adaptadas a la salinidad se ha encontrado una estrecha correlación entre la cantidad de prolina intracelular y concentración externa de  $\text{ClNa}$  (12, 21). Sin embargo, la acumulación de este compuesto constituye una respuesta casi universal al estrés hídrico, por lo que se ha propuesto que probablemente la prolina actúe como agente protector de la hidratación de las proteínas, contribuyendo a fijar agua, más que como soluto osmótico compatible (10, 12, 21).

Otro compuesto muy interesante es la glicinabetaína, la cual se ha demostrado que no inhibe la actividad enzimática ni la función de diversos orgánulos "in vitro" a altísimas concentraciones, teniendo también propiedades estabilizadoras de macromoléculas, y cuya cantidad incrementa en respuesta a la concentración salina. También se ha comprobado que la acumulación citoplasmática de glicinabetaína influye el flujo de iones  $\text{Na}^+$  a través del tonoplasto, tendiendo a incrementar su acumulación en la vacuola (10, 12, 42).

La lista de posibles citosolutos compatibles en plantas superiores está ampliándose constantemente, incluyendo ácidos orgánicos (málico y oxálico, principalmente), sacarosa y otros azúcares derivados (10). Un posible candidato interesante para este papel ha resultado ser el dimetilsulfoniopropionato, el cual se encuentra en grandes cantidades en el citoplasma de las algas marinas (10, 42). Igualmente, se ha apuntado la importancia de ciertos derivados sulfónicos y del glicerol, este último con la ventaja adicional de actuar como agente protector de la estructura de ciertas macromoléculas esenciales (1, 10, 42). La acumulación de solutos compatibles en las halófitas parece ocurrir bajo una fuerte base taxonómica, de modo que una misma familia tiende siempre a acumular un determinado soluto (10, 37, 42). Así pueden citarse glicinabetaína como propio de las Quenopodiáceas y Gramíneas, sorbitol en las Plantagináceas, prolina en las Leguminosas y Labiadas o betadimetilsulfoniopropionato en las Compuestas (10, 42). La acumulación de prolina, como ya ha sido discutido, resulta un fenómeno más extendido.

De todo lo anterior, podemos concluir que el mecanismo de ajuste osmótico en las células de plantas halófitas viene dado por la existencia de un sistema altamente especializado capaz de excretar rápidamente el exceso protoplasmático de sales en la vacuola por un proceso activo y de un tonoplasto altamente impermeable a los iones aún a elevadas concentraciones, para prevenir la difusión hacia atrás y su vuelta al citoplasma. El balance osmótico entre vacuola y citoplasma viene adquirido por la acumulación de una serie de compuestos orgánicos en el citoplasma, de los cuales los ácidos orgánicos pueden actuar contrarrestando el exceso de cationes (equilibrando el exceso de carga positiva) dentro de la vacuola (10, 11, 12, 32, 42).

*Resistencia al estrés de deficiencias nutritivas.*- Las elevadas concentraciones de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ , así como de otros iones encontrados en suelos salinos, pueden inducir deficiencias en otros elementos esenciales (2, 5, 18). Sin embargo, las halófitas son capaces de mantener unos buenos niveles de absorción de nutrientes aún bajo condiciones de alta salinidad. Dejando aparte los mecanismos generales de absorción de elementos nutritivos, los factores que lo hacen posible se relacionan con una rápida conversión de los nutrientes aniónicos a compuestos orgánicos, lo que facilita un elevado gradiente de concentración (1, 18); existencia de gran número de lugares específicos de absorción en el plasmalema de las células radicales y foliares (18); y funcionamiento de un mecanismo de absorción pasiva relacionado con la creación de un gradiente de potencial electroquímico, bien mediante la actividad de las bombas de iones o por producción de ciertos iones orgánicos desde sustratos no iónicos dentro de la célula. Un buen ejemplo lo constituye la síntesis de ácidos orgánicos, los cuales pueden intercambiar iones hidrógeno por cationes metálicos a través de las membranas. También, el bicarbonato formado por procesos de descarboxilación en las células de la raíz puede ser intercambiado por iones nitrato de la solución externa, que son transportados junto con iones  $\text{K}^+$  vía xilema hasta las hojas. De nuevo se forma bicarbonato durante el metabolismo del nitrógeno y, tras su conversión a ácidos orgánicos, es transportado, asociado también al  $\text{K}^+$ , vía floema hasta la raíz. De esta manera se establecería un proceso de absorción cíclico en el cual un anión es cambiado por otro (1, 18).

Todos estos son mecanismos de evitación de la deficiencia nutritiva, pero también los hay de tolerancia como es la capacidad de sustitución de unos iones por otros en procesos no demasiado específicos (18, 41). Así sucede con el  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , por ejemplo en la activación de ciertas enzimas, como la malato deshidrogenasa de *Suaeda maritima* (41). Sin embargo, el  $\text{Na}^+$  no parece capaz de sustituir el papel del  $\text{K}^+$  en la síntesis de clorofila o de proteínas, aunque todavía quedan numerosas incógnitas acerca de los factores que condicionan la especificidad de un determinado ión (41).

## CONCLUSIONES.-

Para la fisiología de las halófitas, la tolerancia parece ser definitivamente el factor principal, puesto que el contenido en sales de sus células se asemeja al del medio externo. El resultado es una inusualmente elevada concentración de sus jugos celulares y un bajo potencial hídrico, como hemos discutido. Finalmente, de lo expuesto en esta revisión puede concluirse que las bases fisiológicas que posibilitan a las plantas para tolerar un ambiente salino, parecen venir condicionadas por: a) elevada capacidad para excluir la sal de los tejidos, células y orgánulos sensibles (Compartimentación); b) alta capacidad para conseguir un ajuste osmótico suficiente (Osmorregulación); c) estabilidad inherente de membranas, macromoléculas y sistemas enzimáticos en un medio de alta concentración iónica; d) capacidad para generar factores estabilizadores de ma-

cromoléculas, tales como la prolina o el glicerol (“agentes protectores”) y e) posibilidad de llevar a cabo otros tipos de modificaciones adaptativas con la mejor repercusión posible sobre el crecimiento.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) Levitt, J. (1972). “Responses of plants to environmental stresses”. Academic Press, New York. 697 p.
- (2) Strogonov, B.P. (1964). Physiological basis of salt tolerance of plants (as affected by various types of salinity). Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 279 p.
- (3) Gollek, B. (ed.) (1973). Structure and function of plant cells in saline habitats. Willey, New York, 284 p.
- (4) Poljakoff-Mayber, A. (1975). Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. En: Plants in saline environments. A. Poljakoff-Mayber and J. Gale (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 97-117.
- (5) Bernstein, L. and Hayward, H.E. (1958). Physiology of salt tolerance. Ann. Rev. Plant Physiol. 9:25-46.
- (6) Longstreth, D.J. and Nobel, P.S. (1979). Salinity effects on leaf anatomy. Consequences for photosynthesis. Plant Physiol. 63:700-703.
- (7) Flowers, T.J. (1985). Physiology of halophytes. Plant Soil 89:41-56.
- (8) Greenway, H. and Munns, R. (1983). Interactions between growth, uptake of  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Na}^+$ , and water relations of plants in saline environments. II. Highly vacuolated cells. Plant Cell Environ. 6:575-589.
- (9) Gale, J. (1975). Water balance and gas exchange of plants under saline conditions. En: Plants in saline environments. A. Poljakoff-Mayber and J. Gale (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 147-167.
- (10) Wyn Jones, R.G. (1981). Salt tolerance. En: Physiological processes limiting plant productivity. C.B. Johnson (ed.), Butterworths, London, 271-292.
- (11) Hellebush, J.A. (1976). Osmoregulation. Ann. Rev. Plant Physiol. 37:485-505.
- (12) Greenway, H. and Munns, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Ann. Rev. Plant Physiol. 31: 149-190.
- (13) Taleisnik, E.L. (1987). Salinity effects on growth and carbon balance in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennelli*. Physiol. Plant. 71: 213-218.
- (14) Ball, M.C. and Farquhar, G.D. (1984). Photosynthesis and stomatal responses of two mangrove species, *Aegiceras corniculatum* and *Avicennia marina*, to long term salinity and humidity conditions. Plant Physiol. 74: 1-6.
- (15) Kylin, A. and Quatrano, R.S. (1975). Metabolic and biochemical aspects of salt tolerance. En: Plants in saline environments. A. Poljakoff-Mayber and J. Gale (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 147-167.
- (16) Kaiser, W.M. (1987). Effects of water deficits on photosynthetic capacity. Physiol. Plant. 71: 142-149.
- (17) Livne, A. and Levin, N. (1967). Tissue respiration and mitochondrial oxidative phosphorylation of NaCl-treated pea seedlings. Plant Physiol. 42: 407-414.
- (18) Rains, D.W. (1972). Salt transport by plants in relation to salinity. Ann. Rev. Plant Physiol. 23: 367-388.
- (19) Schwarz, M. and Gale, J. (1981). Maintenance respiration and carbon balance of plants at low levels of sodium chloride salinity. J. exp. Bot. 32: 933-941.
- (20) Yeo, A.R. (1983). Salinity resistance: Physiology and prices. Physiol. Plant. 58: 214-222.
- (21) Lerner, H.R. (1985). Adaptation to salinity at the plant cell level. Plant Soil 89: 3-14.
- (22) Hyder, S.Z. and Greenway, H. (1965). Effects of  $\text{Ca}^{++}$  on plant sensitivity to high NaCl concentration. Plant Soil. 23: 730-760.
- (23) Matoh, T.; Matsushita, N. and Takahashi, E. (1988). Salt tolerance of the reed plant *Phragmites communis*. Physiol. Plant. 72: 8-14.

- (24) Lahaye, P.A. and Epstein, E. (1971). Calcium and salt toleration by beans plants. *Physiol. Plant.* 25: 213-218.
- (25) Jeschke, W.D.; Stelter, W.; Reising, B. and Behl, R. (1983). Vacuolar Na/K exchange, its occurrence in roots cell of *Hordeum Atriplex* and *Zea* and its significance for K/Na discrimination in roots. *J. exp. Bot.* 34: 964-979.
- (26) Rea, P.A. and Sanders, D. (1987). Tonoplast energization: two H<sup>+</sup> pumps, one membrane. *Physiol. Plant.* 71: 131-141.
- (27) Cheeseman, J.M. (1988). Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.* 87: 547-550.
- (28) Thompson, W.W. (1975). The esturcture and function of salt glands. En: *Plants in saline environments*. A. Poljakoff-Mayber and J. Gale (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 118-146.
- (29) Garbarino, J. and Dupont, F.M. (1988). NaCl induces a Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in tonoplast vesicles from barley roots. *Plant Physiol.* 86: 231-236.
- (30) Lüttge, U. (1971). Structure and function of plants glands. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22: 23-44.
- (31) Hill, A.E. and Hill, B.S. (1976). Elimination processes by glands: mineral ions. En: *Encyclopedia of Plant Physiology N.S.* vol. 12B. U. Lüttge and W.G. Pittman (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 225-243.
- (32) Munns, R.; Greenway, H. and Kirts, G.D. (1983). Halotolerant eukaryotes. En: *Encyclopedia of Plant Physiology N.S.* vol. 12C. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 59-135.
- (33) Hagemeyer, J. and Waisel, Y. (1988). Excretion of ions (Cd<sup>2+</sup>, Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>) by *Tamarix aphylla*. *Physiol. Plant.* 73: 541-546.
- (34) Jeschke, W.D. and Stelter, W. (1983). Ionic relations of garden orache, *Atriplex hortensis* L.: growth and ion distribution at moderate salinity and the function of bladder hairs. *J. exp. Bot.* 34: 796-810.
- (35) Mozafar, A. and Goodin, J.R. (1970). Vesiculated hairs: A mechanisms for salt tolerance in *Atriplex halimus* L. *Plant Physiol.* 45: 62-65.
- (36) Boyer, J.S. (1988). Cell enlargement and growth-induced water potentials. *Physiol. Plants.* 73: 311-316.
- (37) Gorham, J.; Wyn Jones, R.G. and McDonnel, E. (1985). Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant Soil* 89: 15-40.
- (38) Kramer, D. (1983). The possible role of transfer cells in the adaptation of plants to salinity. *Physiol. Plant.* 58: 549-555.
- (39) Johanson, J.G. and Cheeseman, J.M. (1983). Uptake and distribution of sodium and potassium by corn seedlings. I. Role of the mesocotyl in sodium exclusion. *Plant Physiol.* 73: 153-158.
- (40) Harvey, D.M.R.; Hall, J.L.; Flowers, T.J. and Kent, B. (1981). Quantitative ion localization within *Suaeda maritima* leaf mesophyll cells. *Planta* 151: 555-560.
- (41) Flowers, T.J. and Läuchli, A. (1983). Sodium versus potassium: Substitution and compartimentation. En: *Encyclopedia of Plant Physiology N.S.* vol. 15B. A. Läuchli and R.L. Bielecki (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 651-658.
- (42) Wyn Jones, R.G. and Gorham, J. (1983). Osmoregulation. En: *Encyclopedia of Plant Physiology N.S.* vol. 12C O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 59-135.
- (43) Yeo, A.R. (1981). Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L. Dum.: intracellular compartmentation of ions. *J. exp. Bot.* 32: 487-497.
- (44) Gorham, J. and Wyn Jones, R.G. (1983). Solute distribution in *Suaeda maritima*. *Planta* 157: 344-349.
- (45) Shomer-Ilan, A. and Waisel, Y. (1973). The effect of sodium chloride on the balance between the C<sub>3</sub>- and C<sub>4</sub>- carbon fixation pathways. *Physiol. Plant.* 29: 190-193.
- (46) Winter, K. and Willert, D.J. (1972). Sodium chloride induced crassulaceam acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Z. Pflanzenphysiol.* 67: 166-170.
- (47) Kuiper, P.J.C. (1969). Effect of lipids on chloride and sodium transport in bean and cotton plants. *Plant Physiol.* 44: 968-972.

(La revisión bibliográfica para este trabajo se completó en febrero de 1989).