



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.) CV.  
Nuffar AL ESTRÉS SALINO EN DOS CULTIVOS HIDROPÓNICOS ORGÁNICOS

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales

(Orientación Agricultura Sustentable)

P r e s e n t a

Juan Ángel Larrinaga Arce

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 27 del Mes de Agosto del 2014, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

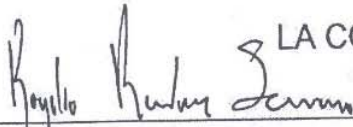
### **"EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.) CV. Nuffar AL ESTRÉS SALINO EN DOS CULTIVOS HIDROPÓNICOS ORGÁNICOS"**

Presentada por el alumno:

**Juan Ángel Larrinaga Arce**

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **AGRICULTURA SUSTENTABLE**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.



Dr. Rogelio Ramírez Serrano  
DIRECTOR DE TESIS

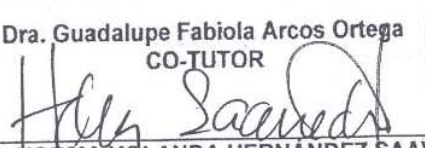
LA COMISION REVISORA



Dra. Tania Zenteno Savin  
CO-TUTOR



Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega  
CO-TUTOR



DRA. NORMA YOLANDA HERNÁNDEZ SAAVEDRA,  
ENCARGADA DEL DESPACHO DE LA DIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
Y FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

## **COMITÉ TUTORIAL**

Dr. Rogelio Ramírez Serrano

**Director de Tesis**

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

Dra. Tania Zenteno Savín

**Co-Tutor**

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega

**Co-Tutor**

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste; S. C.

## **REVISOR DE TESIS**

Dr. Rogelio Ramírez Serrano

Dra. Tania Zenteno Savín

Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega

## **JURADO DE EXAMEN DE GRADO**

Dr. Rogelio Ramírez Serrano

Dra. Tania Zenteno Savín

Dra. Fabiola Guadalupe Arcos Ortega

Suplente. Dra. Alejandra Nieto Garibay

## Resumen

En las zonas áridas y semiáridas la salinidad es un factor abiótico causante de la reducción del crecimiento y la producción vegetal, debido a esta problemática y la baja disponibilidad de agua, surge la necesidad de implementar técnicas de cultivo hidropónico, usando aguas salobres o desalinizadas como fuente de agua de riego para la agricultura. El objetivo del estudio fue evaluar el cultivo de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) cv. Nuffar (la cual es considerada como el cultivo orgánico más rentable en Baja California Sur) en dos sistemas hidropónicos con fuentes orgánicas y analizar su crecimiento bajo condiciones de salinidad. Plantas de albahaca fueron expuestas a cuatro concentraciones de cloruro de sodio (NaCl, 0, 25, 50 y 100 mM) en dos sistemas de cultivo hidropónico (arena con riego por goteo localizado y raíz flotante), en dos periodos de tiempo, a 15 y 45 días. La tasa relativa de crecimiento (TRC), tasa de asimilación neta (TAN), índice de área foliar (IAF), actividad fotosintética, conductancia estomática y transpiración fueron significativamente mayor en el sistema raíz flotante en comparación al sistema arena ( $p < 0.05$ ). El contenido relativo de clorofila fue mayor en raíz flotante que en el sistema arena. El potencial hídrico fue menor a 100 mM en ambos sistemas. En las plantas del sistema de raíz flotante el contenido de sodio ( $\text{Na}^+$ ) después de 45 días aumento significativamente ( $p < 0.05$ ), mientras que el contenido de potasio ( $\text{K}^+$ ), calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) y manganeso ( $\text{Mn}^{2+}$ ) disminuyó en hoja, tallo y raíz. La actividad de superóxido dismutasa (SOD, E.C. 1.15.1.1) en hojas fue mayor en el sistema arena que en el sistema raíz flotante ( $p < 0.05$ ), no se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre periodos (15 y 45 días) en ninguno de los dos sistemas. La actividad de catalasa (CAT, E.C. 1.11.1.6) a 100 mM fue mayor en el sistema raíz flotante que en arena ( $p < 0.05$ ). La actividad de ascorbato peroxidasa (APX, EC 1.11.1.11) fue significativamente mayor a 50 mM en el sistema de raíz flotante ( $p < 0.05$ ), mientras que en el sistema arena fue mayor a 100 mM ( $p < 0.05$ ). En conclusión el sistema antioxidante de albahaca logro mitigar el efecto de los radicales libres generados por el estrés salino a 50 mM de NaCl, definiendo esta concentración como el umbral de tolerancia para evitar daño oxidativo en los sistemas arena y de raíz flotante. Con base en los resultados del presente estudio se sugiere que el sistema hidropónico de raíz flotante es una buena opción para la producción de albahaca a nivel comercial.

**Palabras claves:** Albahaca, hidroponía, salinidad.

## Abstract

In arid and semi-arid regions salinity is an abiotic factor that causes reduction in crop growth and production. Due to this problem and low water availability there is a need to implement hydroponic techniques using brackish or desalinated water for agriculture. The objective of this study was to assess basil (*Ocimum basilicum* L. cv. Nuffar), which is considered as the most profitable organic farming in Baja California Sur, in two hydroponic systems with organic sources and analyze its growth under salinity conditions. Basil plants were exposed to four sodium chloride concentration (NaCl 0, 25, 50, and 100 mM) in two hydroponic cultivation systems (sand drip irrigation and root floating systems) in two time periods (15 and 45 days). Relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), leaf index area (LAI), photosynthetic activity, stomatal conductance, and transpiration were significantly higher in the root floating system compared to the sand drip system. Water potential was less at 100 mM in both systems. Sodium (Na<sup>+</sup>) in plants in the root floating system was significantly higher ( $p < 0.05$ ) after 45 days while potassium (K<sup>+</sup>), calcium (Ca<sup>2+</sup>), magnesium (Mg<sup>2+</sup>), and manganese (Mn<sup>2+</sup>) content decreased in leaf, stem, and root. The superoxide dismutase activity (SOD, E.C. 1.15.1.1) in leaves was higher in the sand drip system than floating root systems ( $p < 0.05$ ). No significant differences were observed in both periods (15 and 45 days) in either of the systems. Catalase activity (CAT, E.C. 1.11.1.6) at 100 mM was higher in the root floating system than in the sand drip system ( $p < 0.05$ ). Peroxidase activity (APX, E.C. 1.11.1.11) was significantly higher at 50 mM in the root floating system ( $p < 0.05$ ) while in the sand drip system it was higher at 100 mM ( $p < 0.05$ ). In conclusion, the antioxidant system of basil was able to mitigate the effect of free radicals caused by saline stress at 50 mM of NaCl defining this concentration as the tolerance peak to avoid oxidative damage in the sand drip and root floating systems. Based on the results of this study we suggest that the root floating system is a good choice for the production of commercially basil.

**Keywords:** Basil, hydroponic, salinity

## **Dedicatoria**

A mi padre con todo el respeto y admiración por ser mi guía y darme la confianza de experimentar y equivocarme en las etapas más complicadas de la vida, en base a ello soy una persona con virtudes y defectos.

A mi madre por darme la vida y enseñarme con su actitud que puedo madurar y solo ver lo positivo de la vida.

A Luis mi hermano a quien respeto y siento un gran orgullo de ser el mejor hermano que puede tener.

A mi esposa Perla por todo el amor, cariño y comprensión hacia mi persona y por ser una mujer positiva y llena de alegría ante la vida.

A mis abuelos Rafael Larrinaga y Guadalupe Arce por haber tenido el privilegio de convivir y aprender parte de la escuela de la vida. Donde quiera que sus espíritus se encuentren.

**“NO BASTA SABER, SE DEBE TAMBIÉN APLICAR. NO ES SUFICIENTE  
QUERER, SE DEBE TAMBIÉN HACER”.**

Johann Wolfgang Von Goethe

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgar la beca No. 260439 para llevar a cabo los estudios de Maestría.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), y en particular al personal, Dra. Elisa Serviere Zaragoza, Dra. Norma Y. Hernandez Saavedra, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Lic. Leticia González Rubio, Lic. Tania Verónica Núñez Valdez y M.C. Diana Dorantes por la amabilidad y disposición que siempre me brindaron y de manera muy especial para Ana María Talamantes Cota y Susana Luna García por todo el apoyo, una palabra de ánimo, una sonrisa, sin duda excelentes personas. Al Centro de cómputo Horacio Sandoval Gómez y Jose Melero Astorga por el apoyo y facilidades. A cada uno de ustedes muchísimas gracias.

A mis asesores Dr. Rogelio Ramírez Serrano, por la libertad de trabajo, apoyo y paciencia, a la Dra. Tania Zenteno Savín por sus sugerencias acertadas y espacio brindado, a la Dra. Fabiola Guadalupe Arcos Ortega por las atenciones y apoyo brindado. A todos muchas gracias.

Al laboratorio de Fisiotecnia Vegetal, a los técnicos M.C. María del Carmen Mercado Guido y Lidia Hirales Lucero por su apoyo muchas gracias. Así mismo, al personal del Laboratorio de Biotecnología Vegetal, M.C. Margarito Rodríguez Álvarez, Sergio Manuel Real Cosió y M.C. Mario Arce Montoya por todas las facilidades brindadas. De igual manera, al Laboratorio de Estrés Oxidativo y Biomedicina, a los técnicos Ing. Orlando Lugo Lugo y Biol. Norma Olimpia Olguín por su apoyo en el entrenamiento y análisis. Muchas gracias.

Al técnico Ariel Arturo Cruz Villacorta del Laboratorio de Microscopia Electrónica del CIBNOR. Al Laboratorio de Absorción Atómica, a los técnicos Baudilio Acosta Vargas y Griselda F. Peña Armenta, así mismo al técnico Ing. Mario Benson Rosas del Laboratorio de Agroquímicos de la Unidad Guerrero Negro por su apoyo en el entrenamiento técnico. Muchas gracias.

Al Laboratorio de semillas del Departamento de Agronomía, UABCS, Dr. Francisco Higinio Ruiz Espinoza y al personal del campo agrícola experimental CIBNOR La Paz. A todos por su disposición y apoyo muchas gracias.

Finalmente a mis compañeros de Maestría, y en especial a Cinthia, Emmanuel, Elisa, Martin, Carlos por sus pláticas, consejos y momentos de alegrías. Muchas gracias compañeros.

## CONTENIDO

Resumen.....	iv
Abstract.....	v
Dedicatoria.....	vi
Agradecimientos .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	xii
LISTA DE TABLAS .....	xvi
ABREVIATURAS .....	xvi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
2.1. Agricultura de Zonas Áridas.....	3
2.2. Problemas que ocurren en la agricultura de Zonas Áridas .....	3
2.3. Respuestas de las plantas al estrés salino .....	5
2.4. Mecanismos de las plantas ante estrés abióticos y en especial ante un estrés salino.....	7
2.5. Estrés oxidativo en hierbas aromáticas .....	9
2.6. Especies de plantas sensibles al estrés salino .....	11
2.7. La albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) como modelo de estudio.....	12
2.8. Los sistemas hidropónicos.....	14
III. JUSTIFICACIÓN .....	15
IV. OBJETIVOS.....	16
4.1. Objetivo general.....	16
4.2. Objetivos específicos .....	16
V. HIPÓTESIS.....	16
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17



6.1. Descripción del sitio de estudio.....	17
6.2. Material biológico.....	17
6.3. Diseño de los sistemas hidropónicos.....	17
6.3.1. Diseño sistema arena.....	17
6.3.2- Sistema raíz flotante.....	19
6.4. Análisis del agua y desinfección de la arena de río.....	20
6.5. Metodología para siembra y trasplante de ( <i>O. basilicum</i> ).....	20
6.6. Establecimiento del sistema hidropónico para el cultivo de albahaca (campo).....	21
6.7. Variables morfológicas.....	22
6.8. Variables fisiológicas.....	23
6.9. Microscopia electrónica.....	23
6.10. Contenido mineral.....	24
6.11. Análisis estadístico.....	24
6.12. Determinación de la respuesta enzimática.....	25
6.12.1. Preparación de muestras en tejido vegetal.....	25
6.12.2. Análisis de la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) total.....	26
6.12.3. Análisis de la actividad enzimática de Catalasa (CAT).....	26
6.12.4. Actividad enzimática de ascorbato peroxidasa (APX).....	26
6.12.5. Peroxidación de lípidos (TBARS).....	27
7. RESULTADOS.....	28
7.1 Efecto del NaCl sobre las variables morfométricas en sistemas hidropónicos arena y raíz flotante.....	28
7.1.1 Determinación de biomasa 15 días.....	29

7.1.2 Determinación de biomasa 45 días.....	30
7.1.3 Tasa relativa de crecimiento (TRC) .....	31
7.1.4 Tasa de asimilación neta (TAN).....	33
7.1.5 Índice de área foliar (IAF) .....	34
7.2. Evaluación de la respuesta fisiológica bajo estrés por NaCl en el sistema arena y raíz flotante .....	35
7.2.1 Tasa fotosíntesis.....	35
7.2.2 Conductividad estomática .....	36
7.2.3 Transpiración .....	37
7.2.4 Cantidad relativa de clorofila (SPAD).....	37
7.2.5 Potencial hídrico .....	39
7.3. Microscopia electrónica .....	41
7.3.1 Apariencia de la epidermis abaxial en el sistema arena. ....	41
7.3.2 Apariencia de la epidermis abaxial en el sistema raíz flotante.....	42
7.4. Contenido mineral de hoja, tallo y raíz en albahaca a 45 días.....	42
7.4.1. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en hojas .....	42
7.4.2. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en tallo. ....	45
7.4.3. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en raíz. ....	47
7.5 Actividad de las enzimas antioxidantes en albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) bajo estrés por NaCl en sistemas hidropónico basado en arena y raíz flotante. ....	49
7.5.1. Actividad enzimática total de superóxido dismutasa (SOD).....	49
7.5.2. Actividad enzimática de catalasa (CAT) .....	50
7.5.3. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX).....	51

7.5.4. Peroxidación de lípidos (TBARS).....	52
7.5.5. Análisis componentes principales .....	53
8- DISCUSIÓN .....	55
8.1 Efecto del NaCl sobre las variables morfológicas en sistemas hidropónicos arena y raíz flotante. ....	55
8.2 Evaluación de la respuesta fisiológica bajo estrés por NaCl en el sistema arena y raíz flotante. ....	58
8.3 Contenido mineral de hoja, tallo y raíz en albahaca a 45 días.....	61
8.4 Actividad de las enzimas antioxidantes en albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) bajo estrés por NaCl en sistemas hidropónico basado en arena y raíz flotante. ....	62
9- CONCLUSIONES .....	69
10- LITERATURA CITADA .....	70

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cambios en el índice del crecimiento de las plantas en respuesta a exposición a salinidad (NaCl) (tomada y modificada de Munns, 2005). .....	5
Figura 2. Producción y eliminación de especies reactivas, a consecuencia de factores estresantes, principalmente salinidad, en plantas. PSI= Fotosistema I; O <sub>2</sub> = Oxígeno; O <sub>2</sub> • <sup>-</sup> = Radical superóxido; SOD= Superóxido dismutasa; H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> = Peróxido de hidrógeno; APX= Ascorbato peroxidasa; •OH= Radical hidroxilo; LOOH= Lipoperoxido (tomado y modificado de Sairam y Tyagi, 2004). .....	6
Figura 3. Reacciones catalizadas por las enzimas involucradas en el sistema de defensa antioxidante en plantas. SOD= Superóxido dismutasa; CAT= Catalasa; POD= Peroxidasa; APX= Ascorbato peroxidasa; GR= Glutación reductasa; DHAR= Dehidroascorbato; MDHA= Monodehidroascorbato (tomada y modificada de Pessarakli, 2011). .....	8
Figura 4. Efecto del estrés salino en el crecimiento (en peso seco) sometidas a concentraciones de sal NaCl (tomado y modificado de Munns y Tester, 2008). ....	11
Figura 5. Planta de albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) cultivar Nuffar.....	13
Figura 6. Producción relativa (%) de albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) en el Estado de Baja California Sur (SIAP, 2010). .....	13
Figura 7. Sistema hidropónico arena con riego localizado, se observa el sistema de irrigación conformado por bidones de almacenamiento de agua, manguera, y goteros. ....	18
Figura 8. Sistema hidropónico raíz flotante, se observa el sistema de aireación y el programador de riegos automatizado.....	19
Figura 9. Cultivo de albahaca en sistemas hidropónicos cultivo arena (izquierda) y raíz flotante (derecha) bajo diferentes niveles de salinidad (15 días). B. Longitud de raíz en tratamientos control A-T y H-T; C. Longitud de raíz en tratamientos A-25 y H-25 (25 mM NaCl); D. Longitud de raíz en tratamientos A-50 y H-50 (50 mM NaCl); E. Longitud de raíz en tratamientos A-100 y H-100 (100 mM de NaCl). .....	28
Figura 10. Aspecto de las hojas, tallo y raíz de albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) cultivar Nuffar expuestas a salinidad (25 mM, 50 mM, 100 mM NaCl) en sistemas de producción hidropónico: Arena (A) y Raíz flotante (H) por 15 días. ....	30

- Figura 11. Efecto del NaCl sobre hojas, tallo y raíz de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar en sistemas de producción hidropónico: Arena (izquierda) y Raíz flotante (derecha) a 45 días. ....31
- Figura 12. Tasa relativa de crecimiento (TRC,  $\text{g d}^{-1}$ ) (A) a 15 días, y (B) a (45) días bajo condiciones de salinidad en sistemas hidropónicos. Los datos se presentan como media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p<0.05$ ). ....32
- Figura 13. Tasa de asimilación neta en cultivos hidropónicos, bajo gradientes salinos. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p<0.05$ ). ....33
- Figura 14. Índice de área foliar en cultivo albahaca (*O. basilicum*) bajo condiciones de salinidad 15 y 45 días. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p<0.05$ ). ....34
- Figura 15. Actividad fotosintética en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  el error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $P<0.05$ ). ....35
- Figura 16. Conductividad estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en albahaca (*O. basilicum*) bajo salinidad. A) 15 días. B) 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P<0.05$ ). ....36
- Figura 17. Tasa de transpiración bajo tratamientos salinos. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P<0.05$ ). ....37
- Figura 18. Contenido relativo de clorofila de (*O. basilicum*) en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. . Las barras en columna representan la media  $\pm$  el error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $p<0.05$ ). ....38
- Figura 19. Potencial hídrico (Mpa) de (*O. basilicum*) en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días.

Las barras en columna representan la media $\pm$ el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $p < 0.05$ ). .....	39
Figura 20. Muestras de tejido vegetal utilizadas en las mediciones del potencial hídrico (Mpa) de ( <i>O. basilicum</i> ) (izquierda) muestras de tejido 15 días (derecha) muestras de tejido 45 días. ....	40
Figura 21. Fotomicrografía electrónica al microscopio de barrido a 1000x mostrando la epidermis abaxial foliar de albahaca en sistema arena, bajo tratamientos salinos. Se observan estomas (Est) y epidermis abaxial (Ea). .....	41
Figura 22. Fotomicrografía electrónica al microscopio de barrido a 1000x mostrando la epidermis abaxial foliar de albahaca en sistema raíz flotante, bajo tratamientos salinos. Se observan estomas (Est) y tricomas (Tr). .....	42
Figura 23. Contenido mineral de tejido foliar en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.....	44
Figura 24. Contenido mineral de tallo en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.....	46
Figura 25. Contenido mineral de raíz en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.....	48
Figura 26. Actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD unidades gramo <sup>-1</sup> de tejido fresco). A) A 15 días y. B) a 45 días de tratamiento. Tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM ( <i>O. basilicum</i> ) cultivar Nuffar. ....	50
Figura. 27. Actividad enzimática Catalasa. A) Actividad 15 días. B) Actividad 45 días. Tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM ( <i>O. basilicum</i> ) cultivar Nuffar.....	51
Figura 28. Actividad enzimática de ascorbato peroxidasa. (APX, unidades por gramo <sup>-1</sup> de tejido fresco) en albahaca ( <i>O. basilicum</i> ) cultivar Nuffar a A) 15 días y B) 45 días de tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM.....	52
Figura 29. Nivel de peroxidación de lípidos (cuantificación como el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS, nmoles gramo <sup>-1</sup> de tejido	

fresco en hojas de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar. A 15 días, y B 45 días de tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Letras diferentes denotan diferencias entre tratamientos,  $p < 0.05$ .....53

## LISTA DE TABLAS

Tabla I. Tratamientos aplicados en ambos sistemas hidropónicos, como estresores salinos en el cultivo de albahaca cultivar Nuffar..... 22

Tabla II. Efecto de la salinidad sobre los parámetros de crecimiento en albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar, tratados con 0, 25, 50 y 100 mM NaCl por 15 días.. 29

Tabla III. Efecto de la salinidad sobre los parámetros de crecimiento en albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar, tratados con 0, 25, 50 y 100 mM NaCl por 45 días. 31

## ABREVIATURAS

CNA	Comisión Nacional de Agua
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
Na <sup>+</sup>	Sodio
Cl <sup>-</sup>	Cloro
ERO	Especie reactivas de oxígeno
O <sub>2</sub>	Oxígeno
•OH <sup>-</sup>	Radical hidroxilo
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogeno
Ca <sup>2+</sup>	Calcio
Mg <sup>2+</sup>	Magnesio
Mn <sup>2+</sup>	Manganeso
K <sup>+</sup>	Potasio
ADN	Ácido desoxirribonucleico
PSI	Fotosistema I
PSII	Fotosistema II
SOD	Superoxido dismutasa
APX	Ascorbato peroxidasa
LOOH	Lipoperóxido
GPX	Glutación peroxidasa
CAT	Catalasa
GSH	Glutación reducido
GR	Glutación reductasa
DHAR	Dehidroascorbato reductasa
POD	Peroxidasa
Glu	Glutamina
Cys	Cisteína
Gly	Glicina
MDHA	Monodehidroascorbato
Tr	Tricoma



Est	Estoma
H-T	Sistema raíz flotante
A-T	Sistema arena
Ea	Epidermis abaxial
SPAD	Cantidad relativa de clorofila
IAF	Índice de Área Foliar
TAN	Tasa de Asimilación Neta
TRC	Tasa Relativa de Crecimiento
TBARS	Concentración de malondialdehido
PCA	Ánalysis de componentes principales
AF	Área foliar
PF	Peso fresco
PS	Peso seco
PMSF	Fenil-metil-sulfonil fluoruro
PVPP	Polivinil- polipirrolidona
RuBP	Ribulosa-1,5-bifosfato
CIC	Capacidad de intercambio catiónico
CV	Cultivar
AA	Ácido ascorbico
3cl	Estado triplete de clorofila

## I. INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo y agua es el principal agente ambiental causante de la reducción del crecimiento y producción vegetal (Yamaguchi y Blumwald, 2005). La salinización ha sido identificada como un factor muy importante en la degradación de los suelos, se estima que, a nivel mundial, alrededor de 800 millones de hectáreas se encuentran bajo irrigación y 200 millones están sujetas al estrés salino (FAO, 2008). La salinización del estrato agrícola es un fenómeno que cada día avanza en extensión; aproximadamente el 10% de la superficie terrestre está constituida por suelos salinos (Szalbocs, 1994). Por lo anterior, la expectativa resultante para mediados del siglo XXI es la pérdida de fertilidad del 50% (Manchanda y Garg, 2008). En México, el 10% del área irrigada tiene problemas de salinidad y un 64% de éstase localizado en la parte norte del país. (Umali, 1993).

La salinidad afecta la fisiología vegetal e induce el deterioro de suelos y, por consecuencia, amenaza la obtención de mejoras productivas, el rendimiento y calidad de las cosechas obtenidas. Las condiciones climáticas de Baja California Sur, caracterizadas por una baja precipitación, incrementan el problema de la salinidad como un estrés abiótico con efectos importantes sobre la producción de alimentos. Durante el 2011 la precipitación anual registrada en el Estado fue de 69.4 mm (CNA, 2011). Adicionalmente a esta escasa disponibilidad de agua de riego, los acuíferos del Estado, se caracterizan por presencia de sales disueltas en concentraciones entre 800 y 1200 ppm que, al ser utilizadas como agua de riego para los cultivos, contribuyen la salinización de los suelos, afectando su fertilidad de manera general y dificultando las actividades para el desarrollo agrícola (Larrinaga-Mayoral, 2001).

La salinidad en las plantas afecta directamente el proceso de fotosíntesis debido al cierre estomático y la asimilación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), lo que disminuye la absorción de agua por las raíces Dubey (1997) y la formación de sabia. La toxicidad por acumulación de sodio (Na<sup>+</sup>) en los tejidos de las plantas

puede constituir un estrés adicional (Munns, 2002); Los efectos de sequía y salinidad a menudo ocurren simultáneamente, lo que es muy común en zonas áridas y semi-áridas (Morales *et al.*, 2004). Los mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de la tolerancia a la salinidad en las plantas no están aun suficientemente dilucidados y, por lo tanto, avanzar en el desarrollo de cultivos tolerantes a la sal ha sido lento.

La albahaca (*O. basilicum*) es uno de los cultivos con potencial de comercialización para el mercado de exportación, que se cultiva bajo el sistema de agricultura orgánica en el municipio de Los Cabos, Baja California Sur. Esta planta, también conocida como basílica, es apreciada por sus propiedades organolépticas y farmacéuticas. (Fenech, 2003). La albahaca se emplea para sazonar comidas debido a sus cualidades aromáticas (Kähkönen, 1999). Recientemente, esta planta ha sido identificada como valiosa fuente de fitoquímicos, muchos de los cuales poseen propiedades antioxidantes (Kähkönen, 1999).

No obstante, no se tienen antecedentes de la respuesta de los antioxidantes enzimáticos como bioindicadores del estrés abiótico por salinidad en el cultivo de albahaca. ¿En qué medida los mecanismos antioxidantes que presenta *Ocimum basilicum* pueden contrarrestar los efectos de la salinidad (NaCl) bajo sistemas de producción hidropónica? Los sistemas hidropónicos permiten hacer un uso eficiente del agua, sugiriéndose estas tecnologías para zonas áridas y semiáridas donde el recurso hídrico es una limitante para la producción de alimentos. Con base a lo anterior, el presente trabajo se orienta a estudiar la respuesta al estrés por salinidad en albahaca mediante técnicas de producción intensiva hidropónica utilizando riego con diferentes grados de salinidad.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Agricultura de Zonas Áridas

La agricultura desarrollada en climas áridos y semi-desérticos con cultivos como: maíz (*Zea mays*), tomate (*Lycopersicon esculentum*) chile (*Capsicum annuum* L.), albahaca (*O. basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*), entre otros, proporcionan alimentos a millones de habitantes. Países como Israel, Chile, España y Egipto han demostrado que la innovación y el uso de técnicas de canalización y reciclaje de aguas, hacen posible el cultivo de diversas especies: jojoba, pythaya, cactus, opuntia o especies de flores (Fernández, 2010). En zonas áridas los cultivos comúnmente presentan daños fisiológicos ocasionados por las condiciones propias del clima. La alta radiación solar, vientos de alta intensidad, baja humedad relativa, cambios bruscos en la temperatura, así como condiciones alcalinas del suelo y agua de riego con alto contenido salino, presentan un ambiente de estrés a las plantas, el cual afecta su potencial productivo (Larrinaga-Mayoral, 2001).

### 2.2. Problemas que ocurren en la agricultura de Zonas Áridas

La salinidad de los suelos es uno de los principales factores de estrés abióticos que afecta el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas, limitando con ello la producción de alimentos de origen vegetal (Hasegawa *et al.*, 2000; Azcón y Talón, 2000). La salinidad afecta una serie de respuestas fisiológicas y bioquímicas en las plantas de diferentes maneras, incluyendo efectos osmóticos y la toxicidad específica de iones y/o trastornos nutricionales (Munns y Tester, 2008; Benavides, 2009). La tolerancia al sodio ( $\text{Na}^+$ ) y cloro ( $\text{Cl}^-$ ) está asociada con la capacidad de regular estos iones a través de la compartimentación y el mantenimiento de la integridad de la membrana (Yeo, 1983). El grado en el cual las plantas pueden tolerar altas concentraciones de sal en el medio de enraizamiento depende de su resistencia y adaptación genética (Shannon, 1990). Las células poseen sensores a la presión osmótica que ayudan a regular la turgencia (Azcón y Talón, 2000).

Ciertos osmolitos como prolina, se han relacionado a la resistencia a la sequía y humedad (Delauney y Verma, 1993). Los niveles de prolina incrementan con las concentraciones de sal (Dracup, 1991).

El estrés salino induce el desequilibrio iónico en las plantas afectando el potencial eléctrico y las características bioquímicas y morfológicas de la membrana citoplasmática (Zhu, 2002), El cloro produce quemaduras en la hoja, afecta la asimilación de CO<sub>2</sub> e inhibe la absorción de nitrógeno (Jacoby, 1994). El sodio se asocia a perturbaciones en la membrana, es antagónico del potasio por los sitios de enlace esenciales en el metabolismo (Bhandal y Malik, 1988). En suelos salinos, el sodio altera la permeabilidad de la membrana, debido a que desplaza los iones calcio en la membrana celular y afecta la relación Na/K en la célula (Cramer *et al.*, 1994).

El efecto de la salinidad sobre el crecimiento de las plantas se presenta en dos fases: En la primera fase, el efecto de la salinidad incide sobre la tasa del crecimiento rápidamente, debido a que los cambios osmóticos reducen la capacidad de la planta para absorber agua fuera de la raíz afectando la cantidad del agua disponible para las células, (Munns, 2005). Dependiendo de la concentración de NaCl, después del defecto inicial puede haber una recuperación gradual de la tasa de crecimiento hasta alcanzar un nuevo estado de equilibrio (Fig. 1). La segunda fase es lenta e involucra procesos de toxicidad, pudiendo resultar en la muerte de las hojas y en la reducción del área fotosintética total (Munns, 2005). El resultado global es una disminución en el equilibrio total de carbonos necesarios para sostener el crecimiento.

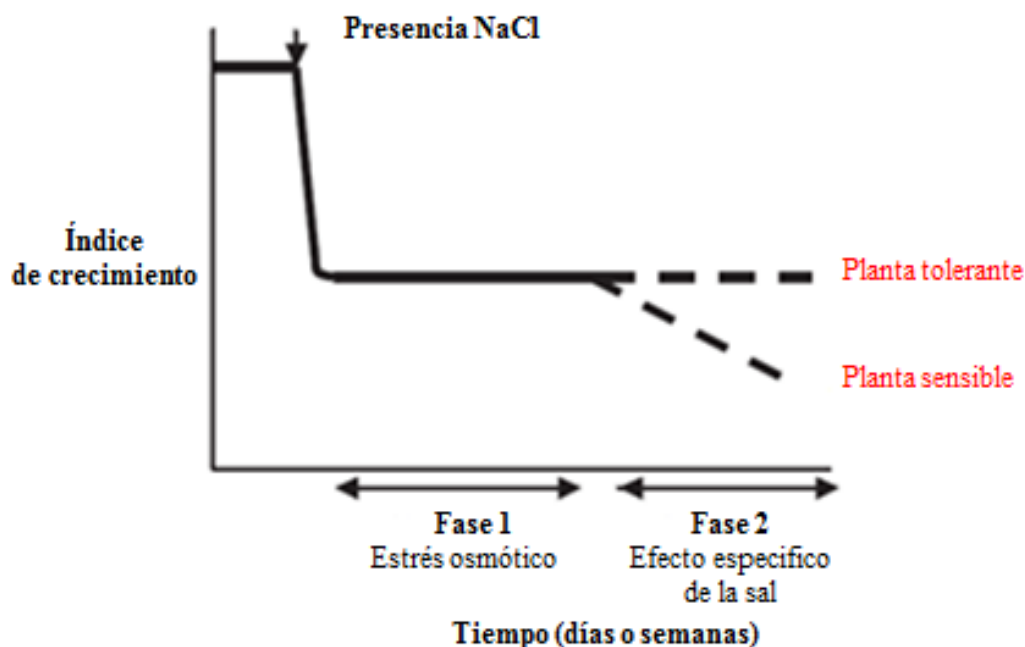


Figura 1. Cambios en el índice del crecimiento de las plantas en respuesta a exposición a salinidad (NaCl) (tomada y modificada de Munns, 2005).

### 2.3. Respuestas de las plantas al estrés salino

Cuando el equilibrio entre la producción de especies reactivas y las defensas antioxidantes es perturbado por factores ya sean bióticos o abióticos, se produce lo que se conoce como estrés oxidativo (Cadenas y Sies, 1985; Sies, 1991; Gill y Tuteja, 2010). El término especies reactivas de oxígeno (ERO) se refiere, tanto a los radicales libres de oxígeno, como son el anión superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), el radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ), así como a otras moléculas derivadas del oxígeno que no son radicales pero tienen una reactividad igualmente elevada, como el oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Las EROs tienen un papel muy importante en los procesos de señalización y controlan procesos en las plantas, tales como el crecimiento, el desarrollo, la respuesta a estímulos medio-ambientales y la muerte celular programada (Apel y Hirt, 2004; Bailey-Serres y Mittler, 2006). Las plantas, producen continuamente en

el cloroplasto, mitocondria y peroxisomas (Fig. 2). En condiciones basales, la producción y remoción de ERO está estrictamente controlada por acción de las defensas antioxidantes (Benavides, 2000). Sin embargo, este equilibrio puede ser perturbado por diversos factores fisicoquímicos, como son el déficit hídrico, la salinidad, las temperaturas extremas, la excesiva o insuficiente radiación luminosa, la anaerobiosis por encharcamiento o inundación, los factores mecánicos como el viento o la compactación del suelo y las lesiones, cambio en el metabolismo basal de la célula como respuesta al estrés iónico inducido por las altas concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  la disminución de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  aumenta la producción de ERO. El desbalance entre la producción de ERO y las defensas antioxidantes puede causar oxidación de los pigmentos fotosintéticos, ADN, proteínas y lípidos e inducir daños en la estructura y la función de las células (Mittler, 2002, Logan *et al.*, 2006; Halliwell y Gutteridge, 1999). Las ERO pueden causar la degradación de la clorofila y la peroxidación lipídica de la membrana, reduciendo su fluidez y selectividad (Dhindsa, 1981).

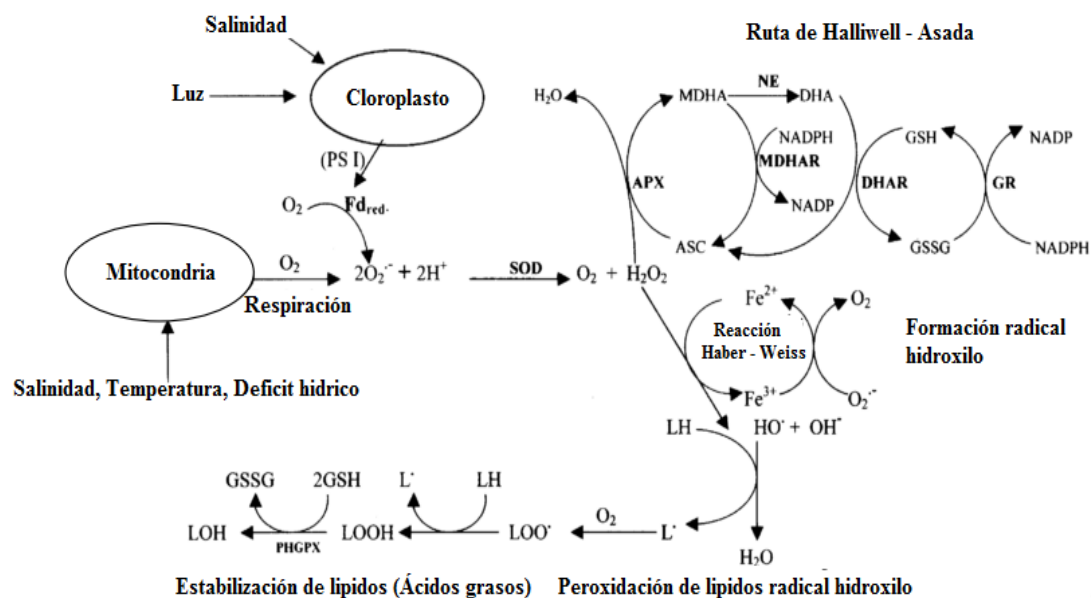


Figura 2. Producción y eliminación de especies reactivas, a consecuencia de factores estresantes, principalmente salinidad, en plantas. PSI= Fotosistema I; O<sub>2</sub>= Oxígeno; O<sub>2</sub><sup>•-</sup>= Radical superóxido; SOD= Superóxido dismutasa; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>= Peróxido de hidrógeno; APX= Ascorbato peroxidasa; •OH= Radical hidroxilo; LOOH= Lipoperoxido (tomado y modificado de Sairam y Tyagi, 2004).

#### 2.4. Mecanismos de las plantas ante estrés abióticos y en especial ante un estrés salino.

Las plantas han desarrollado estrategias para evitar el estrés oxidativo. Estos mecanismos pueden ser enzimáticos o no enzimáticos, y guardan complejas relaciones entre ellos, dependiendo de los compartimientos celulares en los que se encuentren. Los principales antioxidantes enzimáticos en plantas son la familia de la superóxido dismutasa (SOD), la ascorbato peroxidasa (APX), la glutatión peroxidasa (GPX) y la catalasa (CAT) (Fig. 3). Estas enzimas antioxidantes son capaces de remover, neutralizar o eliminarlas ERO; sin embargo, las plantas carentes de estas defensas no podrían convertir eficientemente la energía solar en energía química (Scandalios, 1993), debido a que la presión del oxígeno en el cloroplasto es mayor que en otros organelos (Dat *et al.*, 2000).

Los principales antioxidantes no-enzimáticos incluyen compuestos como el Ascorbato y el glutatión (GSH), así como tocoferoles, flavonoides, alcaloides y carotenoides que se encuentran en las plantas en altas concentraciones y constituyen la primera línea de defensa en contra de las ERO (Pessaraki, 2011). El ascorbato es el antioxidante de bajo peso molecular más abundante en las plantas Colville y Smirnoff (2008) y desempeña un papel en los procesos fisiológicos como el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo. En su mayoría, el ascorbato se encuentra en los tejidos fotosintéticos y tiene un papel clave en la defensa contra el estrés salino (Smirnoff, 2004).

El GSH es un tripéptido (Glu-Cys-Gly) cuya función antioxidante es facilitada por el grupo sulfhidrilo de cisteína. El GSH es sintetizado en el citosol y cloroplastos de las células de las plantas. (Foyer *et al.*, 2001). El  $\alpha$ -tocoferol representa un grupo de antioxidantes lipofílicos que son sintetizados solamente por organismos fotosintéticos, actúa como estabilizador de la membrana e induce tolerancia al déficit hídrico y la salinidad en diferentes especies de plantas (Bafeel y Ibrahim, 2008). Los carotenoides funcionan como pigmentos accesorios en la recolección de la luz durante la fotosíntesis, pero quizá su papel más importante



es detoxificar ERO. (Young, 1991). Los carotenoides también sirven como moléculas precursoras de señales que influyen en el desarrollo de las plantas bajo condiciones de estrés salino (Li *et al.*, 2008).

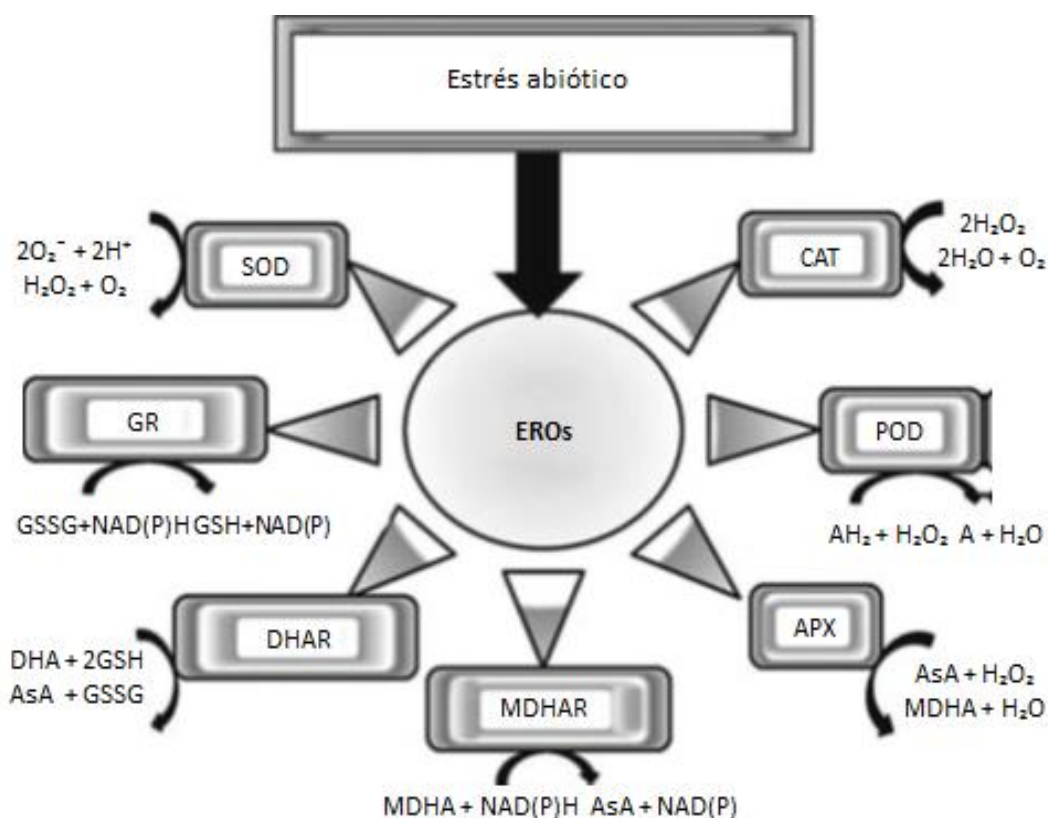


Figura 3. Reacciones catalizadas por las enzimas involucradas en el sistema de defensa antioxidante en plantas. SOD= Superóxido dismutasa; CAT= Catalasa; POD= Peroxidasa; APX= Ascorbato peroxidasa; GR= Glutati6n reductasa; DHAR= Dehidroascorbato; MDHA= Monodehidroascorbato (tomada y modificada de Pessaraki, 2011).

### 2.5. Estrés oxidativo en hierbas aromáticas

La actividad de las enzimas antioxidante de cinco plantas aromáticas comestibles hierbabuena (*Mentha sátiva*), menta (*Mentha piperita*), perejil (*Petroselinum crispum*), albahaca (*O. basilicum*) y orégano francés (*Plecthranthus amboinicus* L) (Rodríguez *et al.*, 2006). En albahaca común se encontró mayor actividad anti radical, por su parte la albahaca común mostro el mayor poder reductor, es decir mayor capacidad antioxidante total, mientras que el orégano tuvo menor actividad de las enzimas antioxidante (Rodríguez *et al.*, 2006).

Con base a los valores obtenidos por el método del poder antioxidante de reducción férrica (FRAP), la albahaca sobresalió en comparación con el resto de las plantas estudiadas con más del doble de la actividad antioxidante. Tarchoune *et al.* (2012) estudiaron el efecto de diferentes sales de sodio sobre los parámetros fisiológicos y la respuesta antioxidante en cultivar “Fine” de albahaca (*O. basilicum*) después de 15 días de tratamiento con concentraciones equimolares de 25 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 50 mM NaCl no se observaron cambios en la biomasa seca, área foliar y número de hojas. Sin embargo, a los 30 días de tratamiento la materia seca y área foliar decreció de manera similar bajo ambos tratamientos en comparación con el control, mientras que no se observó efecto por la exposición a estas sales en el número de hojas (Tarchoune *et al.*, 2011). Los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bajo el tratamiento con NaCl incrementaron en plantas después de 15 y 30 días. (Tarchoune *et al.*, 2012).

En plantas tratadas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se mantuvieron sin cambios en comparación con el control (Tarchoune *et al.*, 2012). Estos resultados sugieren que bajo exposición de NaCl las defensas antioxidantes contra el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> son menores que la producción de esta ERO (Tarchoune *et al.*, 2012). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido por la poliamina oxidasa apoplástica influye en la señalización del estrés salino en tabaco (*Nicotina tabacum*) y juega un papel en el balance de la respuesta al estrés tolerante y la muerte celular (Moschou *et al.*, 2008). La actividad de la enzima antioxidante ascorbato peroxidasa (APX) se mantiene

constante después de 15 días de exposición a  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , mientras que bajo exposición  $\text{NaCl}$  incrementa el doble. Después de 30 días la actividad de APX incrementa en plantas tratadas con 25 mM  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y decrece en plantas tratadas con 50 mM  $\text{NaCl}$  en comparación con el control (Tarchoune *et al.*, 2011). La velocidad de asimilación de  $\text{CO}_2$  en hojas de albahaca (*O. basilicum*) expuesta a  $\text{NaCl}$  disminuye, posiblemente debido a una disminución en la conductancia estomática (Tarchoune *et al.*, 2011).

Benzarti *et al.* (2012) evaluaron la actividad fotosintética y la respuesta antioxidante en “plantas de sal” (*Atriplex portulacoides*) bajo salinidad extrema. No se observaron cambios en la actividad enzimática de la catalasa (CAT) en hojas a concentraciones de 400 mM  $\text{NaCl}$  pero ésta disminuye a salinidades (800-1000mM). La actividad de la superóxido dismutasa (SOD) aumentó significativamente en respuesta a ambos tratamientos, siendo proporcional a la concentración salina (Benzarti *et al.*, 2012). La actividad de (APX) en hojas fue más alta a 400 mM  $\text{NaCl}$  que bajo condiciones control (Benzarti *et al.*, 2012). Las enzimas SOD Y CAT están involucradas en la detoxificación del ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) y ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y así previenen la formación de ( $\cdot\text{OH}$ ) (Benzarti *et al.*, 2012).

Aymen y Cherif (2013) realizaron un estudio sobre la emergencia y crecimiento de plántulas de cilantro (*C. sativa*) bajo salinidad, los resultados indican que con el incremento de la salinidad decreció el peso fresco y seco y el contenido de minerales. Mehr y Bahabadi (2013) analizaron la respuesta fisiológica y antioxidante de cilantro (*C. sativum*) bajo salinidad a diferentes niveles (0, 25 mM, 50 mM, 75 mM y 100 mM  $\text{NaCl}$ ) (Mehr y Bahabadi, 2013). Los resultados sugieren que la actividad de CAT en plantas tratadas incrementa con la concentración de  $\text{NaCl}$  en comparación al control. La mayor actividad de CAT fue observada a 75 y 100 mM  $\text{NaCl}$ .

## 2.6. Especies de plantas sensibles al estrés salino

El crecimiento de las plantas puede variar dentro de un amplio rango, en función de la capacidad genética de las especies, etapa fenológica, interacciones ambientales y tipo de ion (Foolad, 2007). Por ejemplo; entre los cereales, el arroz (*O. sativa*) es el más sensible y la cebada (*Hordeum vulgare*) es más tolerante (Munns y Tester, 2008). El efecto de la salinidad sobre el crecimiento se atribuye a la combinación de los efectos del estrés hídrico, toxicidad iónica, perturbación de la nutrición mineral y estrés oxidativo (Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2002). Las plantas se clasifican en dos grupos: halófitas si pueden desarrollarse en suelos de (3.5 M) NaCl y en el mayor de los casos crecen satisfactoriamente (0.3 y 1 M) de NaCl.

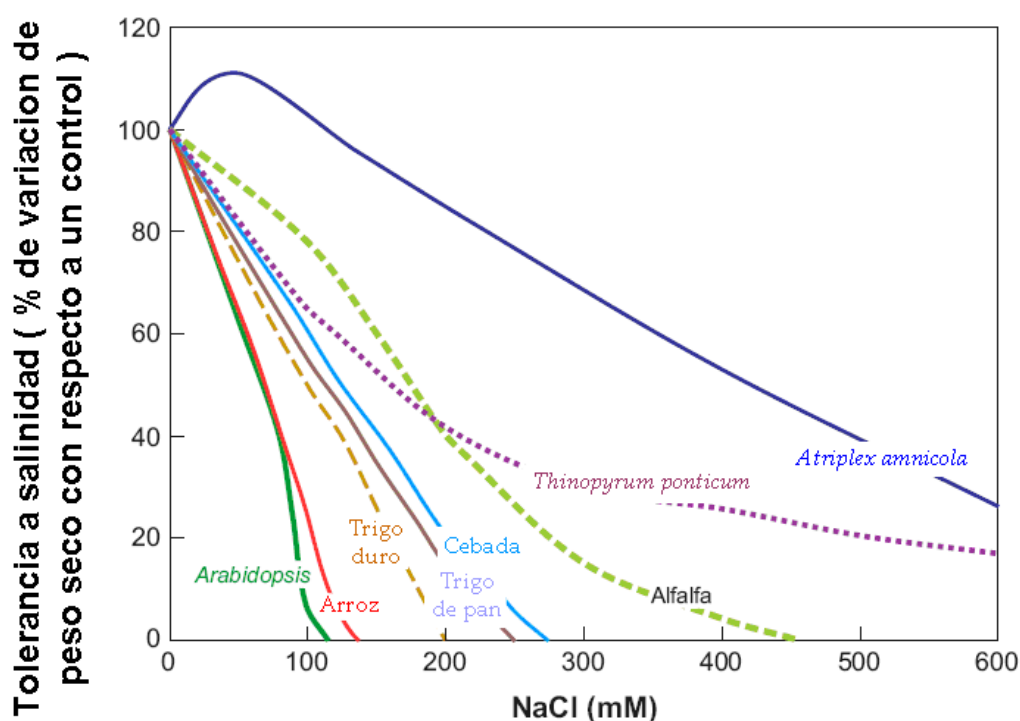


Figura 4. Efecto del estrés salino en el crecimiento (en peso seco) sometidas a concentraciones de sal NaCl (tomado y modificado de Munns y Tester, 2008).

## 2.7. La albahaca (*O. basilicum*) como modelo de estudio

La albahaca *O. basilicum* originaria de la India está considerada dentro de la clasificación de hierbas aromáticas y es blanco a especie de mayor elite para la producción orgánica con potencial de comercialización para el mercado de exportación. Es una planta propia de parcelas intensivas o de jardín, hierba anual hasta de 1 metro, con tallos rectos y múltiples, redondeados por debajo y cuadrangulares por arriba y hojas ovadas o lanceoladas, opuestas de hasta 5 cm largamente pecioladas, con el haz más oscuro que el envés, muy aromáticas (Fenech, 2003).

Las flores de la albahaca son agrupadas en espiga de verticilos poco densos, formados por seis flores cada uno, con cáliz pentalobular con el margen ciliado, corola de hasta 1 cm. Las flores pueden ser blancas o rosadas, con los estambres blancos y labio superior cuadrilobulado e inferior entero (Fenech, 2003). Su desarrollo es de clima cálido, templado-cálido, no resiste heladas ni temperaturas inferiores a 0°C, se desarrolla en suelos franco-arenosos con humedad relativa de 60-70%.

La producción de albahaca reporta ingresos de \$ 42 millones de pesos y rendimientos de 8 ton/ha<sup>-1</sup> a nivel nacional, mientras que en Baja California Sur los rendimientos de producción alcanzan 6.5 ton/ha<sup>-1</sup> con ingresos de \$ 38 millones de pesos (SIAP, 2011). Murillo *et al.* (2010) evaluaron el rendimiento de albahaca como biomasa foliar fresca aplicando abonos verdes y ácidos húmicos. Los rendimientos fueron superior a la media nacional 8 ton/ha<sup>-1</sup>, obteniendo rendimientos de 12 ton/ha<sup>-1</sup> con fuentes de abono verde mientras que la aplicación de ácidos húmicos inyectados al sistema de riego incrementó a 15 ton/ha<sup>-1</sup>, en la zona productora orgánica del municipio de Los Cabos.



Figura 5. Planta de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar.

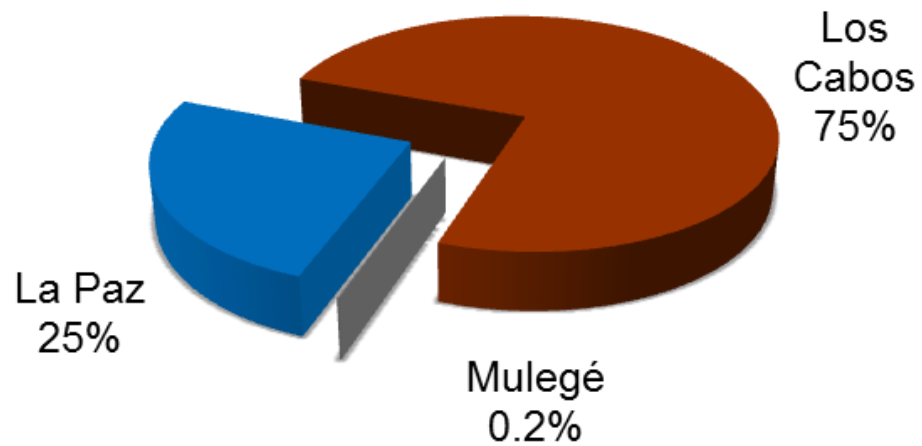


Figura 6. Producción relativa (%) de albahaca (*O. basilicum*) en el Estado de Baja California Sur (SIAP, 2010).

## 2.8. Los sistemas hidropónicos

La hidroponía, del griego Hydro= *agua*, Ponos= *labor*, se define como la ciencia del crecimiento de las plantas sin utilizar el suelo (Resh, 1992). Los cultivos hidropónicos proveen un sistema de producción para crecer y desarrollar plantas en solución nutritiva, mediante el uso de medios artificiales inertes tales como: arena, grava, vermiculita, lana de roca que proveen un soporte a la planta. El cultivo de las plantas en solución acuosa se ha implementado desde tiempos remotos, un claro ejemplo son los jardines colgantes de babilonia, los jardines flotantes de los aztecas en México y los de la China imperial, existiendo también jeroglíficos egipcios. La hidroponía es usada ampliamente en regiones áridas donde el suministro de agua es limitado para la producción de cultivos rentables (Resh, 1992).

Por definición, el cultivo en agua es el auténtico cultivo hidropónico; en este medio las raíces de las plantas están suspendidas sobre un medio líquido nutritivo (Resh, 1992). Existen básicamente 6 tipos de sistemas hidropónicos, wick (mecha absorbente), raíz flotante, inundación y dren, goteo de sistemas de recuperación y no recuperación, flujo constante de la solución (NFT) y aeropónico (<http://www.simplyhydro.com/system.htm#WICK%20SYSTEM>). El cultivo en arena es uno de los métodos de producción modificados más utilizado en los sistemas hidropónicos, adaptándose a regiones particularmente desérticas, donde suelo y agua son una limitante para el desarrollo agrícola (Resh, 1992).

En México y en países del medio oriente, donde los proyectos de invernadero se establecieron en la costa, la arena de playa fue utilizada como medio físico de cultivo previo a su desinfección y lavado de sales (Resh, 1992). Los complejos hidropónicos combinados con unidades de desalinización, están siendo desarrollados para usar agua de mar como fuente de agua de riego; principalmente su mayoría se cultiva tomate (*L. esculentum*), debido a su elevado potencial productivo (Resh, 1992). La solución nutritiva la relación mutua entre los aniones y cationes, la concentración de nutrimentos expresada con la

conductividad eléctrica (CE), el pH, la relación  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$  y la temperatura es parte fundamental en la hidroponía; de ésta depende la magnitud y la calidad de la producción (Herrera, 1999). Estas relaciones de aniones y cationes deben ser reguladas de acuerdo a la demanda de las plantas en la etapa fenológica del cultivo (Herrera, 1999).

La producción de hierbas en los modelos productivos por hidroponía puede ser una alternativa bajo condiciones de invernadero (Herrera, 1999). México es el principal proveedor de albahaca verde (*O. basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y perejil (*Petroselinum sativum*) al mercado de E.U.A (Minero, 2004).

### III. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de hierbas aromáticas como la albahaca constituye una cadena productiva de alto impacto económico para los productores y, por lo tanto, una fortaleza en la agricultura orgánica de Baja California Sur. Sin embargo, la baja disponibilidad del recurso hídrico para la producción de alimentos, así como factores estresantes como la salinidad, limita el potencial productivo de este sector agrícola en Baja California Sur. Recientemente la albahaca ha sido identificada como una fuente valiosa de diversos metabolitos, muchos de los cuales poseen propiedades antioxidantes.

Debido a esto, en el presente trabajo se evaluaron dos sistemas hidropónicos para el cultivo de albahaca, expuestos a estrés salino y en donde se estudiará la respuesta morfométrica, fisiológica, contenido mineral y actividad enzimática. Lo anterior nos permitirá conocer los umbrales de tolerancia de albahaca a la salinidad, con la finalidad de utilizar aguas salobres disponibles y no aptas para cultivos sensibles y optar por un sistema de producción de albahaca sustentable.



## IV. OBJETIVOS

### 4.1. *Objetivo general*

- Evaluar la respuesta de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar al estrés salino en dos sistemas hidropónicos (arena con riego por goteo localizado y raíz flotante), para obtener el umbral de tolerancia al estrés salino generado por el cloruro de sodio (NaCl) y así proponer una alternativa de producción agrícola sustentable.

### 4.2. *Objetivos específicos*

- Evaluar las características morfológicas, fisiológicas y contenido mineral en albahaca al estrés salino (0, 25 mM, 50 mM y 100 mM de NaCl) en dos sistemas hidropónicos (arena con riego por goteo localizado y raíz flotante).
- Determinar la respuesta enzimática de SOD, CAT, APX y TBARS en albahaca al estrés salino (0, 25 mM, 50 mM y 100 mM de NaCl) en dos sistemas hidropónicos (arena con riego por goteo localizado y raíz flotante).

## V. HIPÓTESIS

Si las plantas de albahaca (*O. basilicum*) activan su mecanismo de defensa enzimático contra los radicales libres del oxígeno bajo condiciones de salinidad, entonces al evaluar el cultivo de albahaca bajo condiciones de estrés salino, en los sistemas hidropónicos de arena y raíz flotante, podremos seleccionar el sistema que permita mitigar en mayor intensidad dicho estrés como estrategia de adaptación para su crecimiento y desarrollo.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Descripción del sitio de estudio

El desarrollo experimental se realizó bajo condiciones semi-controladas tipo invernadero con malla antiáfida, en un área confinada de 10 m<sup>2</sup>, situado en el campo agrícola experimental del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR, S.C.). La etapa de germinación se desarrolló en el invernadero anexo al Laboratorio de Biotecnología Vegetal bajo condiciones controladas de humedad 69% y temperatura 25±2 °C. Las instalaciones se encuentran en los terrenos litorales de El Comitán, localizado en la porción meridional de la península de Baja California Sur, a 24°08' latitud norte y 110°24' longitud oeste, ubicada a 17 km al oeste de la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

### 6.2. Material biológico

Previo a los experimentos se procedió a recolectar semillas de la inflorescencia de albahaca (*O. basilicum*), proporcionadas por el Departamento de Agronomía, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Se limpiaron las semillas, se eliminaron impurezas de manera manual y fueron desinfectadas en condiciones de laboratorio bajo la campana de flujo laminar, con una solución desinfectante (etanol al 75%). Posteriormente, se agregó solución de lavado (cloro 40% [Cloralex] + tween 20 [Sigma] al 0.1%) se agitó durante 10 minutos suavemente y se retiró el sobrenadante. Se realizaron 10 lavados con agua destilada estéril agitando constantemente durante 5 minutos, para finalmente guardar las semillas en tubos Eppendorf a 4°C durante 3 días.

### 6.3. Diseño de los sistemas hidropónicos.

#### 6.3.1. Diseño sistema arena.

Para el diseño en arena se utilizaron 12 cajas de plástico (NOVATEC, Zamora 28, México) con las siguientes dimensiones, largo= 56cm, ancho= 37cm y alto= 50 cm. Se utilizaron 2 mesas sólidas de fierro con dimensiones de largo= 2

m x ancho= 1 m; se diseñaron dos bases de hierro para soportar 2 contenedores por cada mesa con capacidad de 20L, fijadas a la estructura de soporte con tornillos de  $\frac{1}{2}$  x 3". Se estableció como altura 0.8 m de la base de descarga, respecto a la superficie del cultivo, con la finalidad de conducir el agua por gravedad a las 24 plantas por tratamiento. Se estableció un total de 96 plantas entre los 4 tratamientos (Fig. 7).

Para el sistema de irrigación de agua al invernadero se instaló una llave de paso de 3/4 pulgadas, mientras que para la conducción de agua a cada planta se perforaron en la parte central inferior los cuatro bidones con una broca de 5/8 colocando un empaque de 16 mm para adaptar las llaves control de 16 mm, se utilizaron 2 codos de 90° de 16 mm para formar dos ángulos de 90° invertidos; finalmente, se utilizaron 12 m de manguera "ciega" de 16 mm de conducción, 24 m de 4 mm de localización en el total de plantas con goteros regulables con estaca.



Figura 7. Sistema hidropónico arena con riego localizado, se observa el sistema de irrigación conformado por bidones de almacenamiento de agua, manguera, y goteros.

### 6.3.2- Sistema raíz flotante

En el diseño raíz flotante se utilizaron 12 cajas de plástico (NOVATEC, Zamora 28, México) con las siguientes dimensiones; largo= 56 cm, ancho= 37cm y alto= 50 cm. Se utilizaron 2 mesas de fierro como soporte (largo= 2.0 m x ancho= 1.0 m). Se utilizaron 2 bombas de dos salidas (ELITE 802), 10 m de manguera semi-flexible de 1/8 pulgada, para la distribución del aire, se adaptaron 8 conectores "T" de plástico 1/8 pulgada. Se requirieron 12 adaptadores macho de 1/2 pulgada, 12 coples de 1/2 pulgada, 6m de tubo hidráulico (PVC) de 1/2 pulgada para fabricar los difusores de oxígeno, cinta teflón y pegamento (WELD ON 717 PVC) (Fig. 8).

Se requirieron cuatro láminas de poliestireno de 1 x 1 x 1 pulgadas de grosor, recortadas a medida de los contenedores para utilizarse como soporte de las plantas y evitar evaporación del agua. Se adaptaron 96 vasos de plástico al sistema y se utilizó una lámina de poliuretano de 80 x 40 x 4 pulgadas como tutor o guía de las plantas.



Figura 8. Sistema hidropónico raíz flotante, se observa el sistema de aireación y el programador de riegos automatizado.

#### *6.4. Análisis del agua y desinfección de la arena de río*

Se realizó un análisis químico al agua filtrada por osmosis inversa en la planta desalinizadora disponible en el campo agrícola experimental del CIBNOR para determinar la conductividad eléctrica así el contenido de minerales y sales disueltos en el agua. Para el sistema hidropónico en arena, se obtuvo arena a través de un banco de sedimentos de arroyo local. La eliminación de impurezas físicas (materia orgánica, rastros entre otros.) con un tamiz (luz de maya No.10), obteniendo así partículas <2.0 mm para evitar problemas de saturación en el sustrato. Posteriormente, con agua a presión se realizaron 2 lavados para quitar el polvo. Enseguida se preparó una solución de hipoclorito de sodio al 5% (Cloralex) y se dejó reposar durante 24 hr.

Se realizaron dos lavados a la arena con agua de pozo filtrada por la desalinizadora del campo agrícola CIBNOR. Una vez desinfectado el sustrato, se perforaron con una broca (1/8 pulgada) los contenedores del sistema de riego (Novatec, Zamora 28, México), realizando 4 perforaciones por contenedor, para permitir el drenado del agua. Enseguida se colocó una malla antiáfidos al fondo de los contenedores y se procedió a llenar los recipientes con la arena desinfectada.

#### *6.5. Metodología para siembra y trasplante de *O. basilicum*.*

Para llevar a cabo la siembra de albahaca, se emplearon charolas para germinación de 162 cavidades las cuales fueron desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 5 % (Cloralex) durante 10 minutos, retirando la solución desinfectante con 2 lavados con agua potable. Enseguida se procedió a llenar las charolas para germinación con sustrato (Sunshine, Sun Gro Horticulture, Canadá). Posteriormente se utilizó una pipeta Pasteur de 5mL para realizar la siembra en el sustrato, colocando una semilla por cavidad. Una vez realizada la siembra a  $25 \pm 2$  °C, se colocó plástico negro (calibre 600) para incrementar la temperatura induciendo así, una mayor respuesta de emergencia. Una vez que emergió el hipocotilo se retiró el plástico para evitar elongación celular (aproximadamente 5 días). Al presentar el par de hojas verdaderas (fotosintéticas) se aplicaron dosis

(0.5 mL L<sup>-1</sup>) de ácidos húmicos (Humitron 12L) más fertilización orgánica 0.5 mL L<sup>-1</sup> a base de extracto de macroalgas (Agrokelp plus) cada 5 días, vía inmersión. Cuando las plántulas de albahaca presentaron dos pares de hojas verdaderas, se llevó a cabo el proceso de aclimatación, transfiriendo las plántulas por la mañana en horas frescas de laboratorio al invernadero en campo, donde se aclimataron por un periodo de 5 días, antes de realizar el trasplante.

En esta fase de desarrollo las plántulas estuvieron por un periodo de 22 días de su emergencia al trasplante. Finalmente se llevó a cabo el trasplante en horas frescas por la tarde, en contenedores de plástico (NOVATEC, Zamora 28, México) donde se manejó un volumen de 40 L por contenedor en el sistema raíz flotante y 40 kg para el cultivo en arena. Antes de aplicar los tratamientos (0, 25, 50 y 100 mM NaCl), por un periodo de 12 días se llevó a cabo la nutrición de las plantas a base de extractos orgánicos enlistados en el Instituto de Revisión de Materiales Orgánicos (OMRI, por sus siglas en inglés) Agrokelp plus y Fulvibat para fortalecer el cultivo.

#### *6.6. Establecimiento del sistema hidropónico para el cultivo de albahaca (campo)*

El experimento se realizó estableciendo un diseño en bloques en base a un arreglo bifactorial. Como factor 'A' se asignaron tratamientos a 0, 25, 50 y 100 mM NaCl (se utilizaron Agrokelp plus y Fulvibat como fuentes orgánicas), mientras que como factor 'B' se establecieron los sistemas hidropónicos de arena y raíz flotante (A-T y H-T respectivamente). Se emplearon 24 repeticiones por tratamiento. Se utilizó agua de la planta desalinizadora del campo experimental CIBNOR, como fuente de preparación de las diluciones.

Con base en los análisis realizados por el laboratorio de aguas, pertenecientes al CIBNOR se determinó que el agua utilizada contenía un conductividad eléctrica (C.E.) de 1.45 mS m<sup>-1</sup>, misma que se utilizó como control para ambos sistemas (A-T y H-T); se ajustaron las concentraciones de NaCl a 25, 50 y 100 mM (Fermont, México) designando los tratamientos A-25, A-50 y A-100

mM para el sistema arena y H-25, H-50 y H-100 mM para el sistema raíz flotante (Tabla I). El experimento tuvo una duración de 45 días.

Tabla I. Tratamientos aplicados en ambos sistemas hidropónicos, como estresores salinos en el cultivo de albahaca cv. Nuffar.

<b>Sistema</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>H<sub>2</sub>O (fuente)</b>	<b>NaCl (mM)</b>	<b>C.E. (mS.m<sup>-1</sup>)</b>
Cultivo arena	A-T	Pozo	0	1.4
	A-25	Pozo + NaCl	25	2.1
	A-50	Pozo + NaCl	50	4.4
	A-100	Pozo + NaCl	100	8.9
Raíz flotante	H-T	Pozo	0	1.4
	H-25	Pozo + NaCl	25	2.1
	H-50	Pozo + NaCl	50	4.4
	H-100	Pozo + NaCl	100	8.9

### 6.7. Variables morfológicas

Se colectaron 3 plantas de albahaca por cada tratamiento en ambos sistemas hidropónicos de manera aleatoria en dos periodos de tiempo T1 y T2 (15 y 45 días respectivamente) después del trasplante al contenedor (Novatec, Zamora 28, México). A cada planta de albahaca se le determinó, área foliar, peso fresco, peso seco, tasa de crecimiento relativo (TRC), tasa de asimilación neta (TAN) el índice de área foliar (IAF). El área foliar se midió mediante el equipo Li-3100 El peso fresco de raíz, tallo y hoja se determinó mediante el uso de una balanza granataria (AG204, Mettler-Toledo). Para determinar el peso seco, las muestras de raíz, tallo y hoja de albahaca se almacenaron en bolsas de papel y se

introdujeron a la estufa de secado (SHEL LAB) a una temperatura constante de 70°C durante 48 h. Con base en las variables de respuesta se calcularon TRC, TAN, y el IAF, a través de los valores área foliar, peso fresco y peso seco con las formulas propuestas por Radford (1967), Evans (1972) y, Hunt (1990).

$$(1) \text{ TRC} = (\text{LnPS}_2 - \text{LnPS}_1) / (T_2 - T_1)$$

$$(2) \text{ TAN} = (\text{PS}_2 - \text{PS}_1) / (T_2 - T_1) * (\text{LnAF}_2 - \text{LnAF}_1) / (\text{AF}_2 - \text{AF}_1)$$

$$(3) \text{ IAF} = \text{AF}/\text{AS},$$

Donde, TRC: tasa relativa de crecimiento; TAN: tasa de asimilación neta; IAF: índice de área foliar; PS: peso seco; T: tiempo; Ln: logaritmo neperiano.

### 6.8. Variables fisiológicas

En hojas frescas por la mañana (9 a 10 A.M.) bajo condiciones de temperatura 24.9°C y humedad relativa de 56% (termohigrómetro digital) se midió la actividad fotosintética, conductancia estomática y tasa de transpiración en hojas de mayor actividad (tercera hoja) ubicada a partir del punto de crecimiento, (ADC BioScientific LCi Analyser). Para determinar la cantidad relativa de clorofila se utilizó el equipo portátil (SPAD-502 Minolta, Japón). El potencial hídrico del tejido se determinó mediante uso del potenciómetro WP4-T.

### 6.9. Microscopia electrónica

Se realizó una colecta de tejido foliar de albahaca en hojas frescas (9-10 A.M.) Se colectó la tercera hoja a partir del punto de crecimiento en tubos Eppendorf, en los distintos tratamientos, posteriormente se llevaron las muestras al laboratorio. Siguiendo la metodología de Lebsky *et al.* (2010). Se utilizó una solución fijadora de glutaraldehído al 2,5%, en una solución de cacodilato de sodio (0.2 M, pH 7.2 a 7.4) durante 24 horas a 4° C. Enseguida se realizó un lavado con la misma solución y se deshidrataron en grados crecientes de etanol (30%, 50%, 70%, 95% y 100%) seguido de hexametil-disilazano, durante 20 minutos en cada inmersión. Después de la deshidratación, las muestras fueron secadas en CO<sub>2</sub> (Critical Point Drier, Samdry-PVT-3B). Posteriormente las muestras se colocaron



en porta objetos con la superficie haz y envés de la hoja, fijándola con cinta adherente. Enseguida se recubrieron con iones de oro (3+) en un pulverizador catódico (Denton Vacuum). Finalmente se examinaron en el microscópico electrónico (S-3000N, Hitachi, Japón) a una distancia de trabajo 1000X con un voltaje de 15 kV.

#### *6.10. Contenido mineral*

Las muestras de raíz, tallo y hoja de albahaca se almacenaron en bolsas de papel y se introdujeron a la estufa de secado (SHEL LAB, modelo FX-5, serie-1000203) a una temperatura de 70°C durante 48 hr hasta su deshidratación. Posteriormente se pesaron 0.5 g de hoja, tallo y raíz, en una balanza analítica (AND HR-120 Max 120g- d=0.1mg). Para la digestión de muestras se adicionó una mezcla de ácido nítrico HNO<sub>3</sub> (10 mL) y peróxido de hidrogeno H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mL) en un horno de microondas (CEM MARS 5X, Mathews, INC, USA). Las muestras digeridas, fueron filtradas en papel grado (610), diluidas y aforadas a un volumen de 50 mL con agua desionizada. Mediante lineamientos de la agencia de protección ambiental (EPA por sus siglas en inglés), se analizaron iones de sodio (Na<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), calcio (Ca<sup>2+</sup>), magnesio (Mg<sup>2+</sup>) y manganeso (Mn<sup>2+</sup>), utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica con flama de aire acetileno (AVANTA, GBC Scientific Equipment, Dandenong, Australia). Para los análisis se unieron varias muestras para cubrir la cantidad requerida por la técnica. Los resultados son reportados g·kg<sup>-1</sup>.

#### *6.11. Análisis estadístico*

Se realizaron análisis de normalidad, homocedasticidad e independencia de medias para verificar si los datos se distribuyen de manera normal (Wayne, 2002) Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías y pruebas de comparación múltiple de Tukey para conocer que tratamientos difieren entre sí. Las diferencias significativas entre hojas, tallos y raíz de cada tratamiento entre sistemas fueron determinadas con pruebas T Student. Se realizó un análisis multivariado para la relación de variables. Se tomó el nivel  $\alpha < 0.05$  como significancia estadística. Los

datos son expresados como la media  $\pm$  error estándar. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica (Ver. 7.0, StatSoft Inc. 2007). Para la elaboración de los gráficos se utilizó el programa Sigmaplot (Ver. 10.0, SPSS).

## 6.12. Determinación de la respuesta enzimática

### 6.12.1. Preparación de muestras en tejido vegetal.

Muestras de tejido vegetal fueron tomadas por la mañana (9-10 A.M.) bajo condiciones de temperatura promedio 24.9 °C y humedad relativa de 56%, (TERMOHIGROMETRO DIGITAL) seleccionando la tercera hoja a partir del punto de crecimiento. Las muestras se colocaron en nitrógeno líquido y se trasladaron al ultra congelador, almacenándose a -80°C hasta su procesamiento. En una balanza granataría (METTLER TOLEDO B303-5) se pesó 1.0 g de tejido. Se adicionaron 2 mL de solución amortiguadora de fosfatos de potasio (NaKPi) 50 mM, pH 7.8, más 20  $\mu$ L de fluoruro-fenil-metil-sulfonil (PMSF, 0.1 mM). La mezcla se homogenizó a 8000 rpm (POLYTRON PT 3100), manteniendo a 4°C. El homogenizado se centrifugó a 1000 x g durante 15 minutos a 4°C. El sobrenadante se utilizó para realizar los análisis de peroxidación de lípidos mediante el método de cuantificación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y la cuantificación de las actividades enzimáticas de SOD y CAT. El extracto de homogenizado para el análisis de la actividad de APX se preparó una solución amortiguadora de fosfatos (50 mM, pH 7.0; Polivinilpirrolidona, PVPP 1%; Triton X-100; ácido ascórbico 0.5 mM y ácido etilendiaminotetraacético, EDTA 0.1 mM). La solución se homogenizó a 8000 rpm (POLYTRON PT 3100). Las muestras homogenizadas se centrifugaron a 1000 x g durante 20 min. El sobrenadante recuperado se utilizó para realizar el análisis de APX.

#### 6.12.2. Análisis de la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) total

Se midió la actividad enzimática SOD total (E.C. 1.15.1.1) siguiendo el método descrito por Paoletti *et al.* (1986). Se siguió el cambio de absorbancia a 560nm por espectrofotometría (Beckman Coulter DU-800) cada 30 segundos durante 5 minutos. La cantidad de SOD se expresa en Unidades de tejido fresco. Una unidad de actividad de SOD se define como la cantidad de enzima requerida para inhibir la reacción de  $O_2^{\cdot -}$  con NBT al 50%.

#### 6.12.3. Análisis de la actividad enzimática de Catalasa (CAT)

De acuerdo al método descrito por Aebi, (1984), se determinó la actividad enzimática de CAT (E.C. 1.11.1.6) siguiendo la desaparición del ( $H_2O_2$ ), como el cambio en de la absorbancia a 240 nm cada 15 segundos durante 3 minutos en un espectrofotómetro (DU- 800, Beckman Coulter, EUA). La reacción estuvo compuesta por ( $H_2O_2$ ) 20 mM en solución amortiguadora de fosfatos (0.1M). Los resultados se expresan en Unidades de CAT  $g^{-1}$  de tejido fresco. Una unidad de la actividad de CAT se define como la cantidad de la enzima requerida para reducir  $1\mu mol H_2O_2 min^{-1}$ .

#### 6.12.4. Actividad enzimática de ascorbato peroxidasa (APX)

La actividad enzimática de APX (E.C. 1.11.1.11.) se determinó por espectrofotometría mediante el método de Nakano y Asada (1981) donde la oxidación del ácido ascórbico es dependiente de la reducción de  $H_2O_2$  a 290 nm a 25°C. La cantidad de ascorbato oxidado se calculó con base en el coeficiente de extinción molar del ascorbato a 290nm  $2.8mM cm^{-1}$  (DU-800, Beckman Coulter, EUA). La actividad del ascorbato peroxidasa se expresa en Unidades de APX  $g^{-1}$  de tejido fresco. Una unidad de APX como la cantidad de enzima que oxida  $1\mu mol$  de ascorbato por minuto a temperatura ambiente.

#### 6.12.5. Peroxidación de lípidos (TBARS)

Los niveles de peroxidación de lípidos, cuantificados como la concentración de las sustancias reactiva al ácido tiobarbiturico (TBARS), se determinaron como un indicador del daño oxidativo, siguiendo el método descrito por Persky *et al.* (2000). Se homogenizo 1g de tejido fresco con solución amortiguadora de fosfato (0.1M, pH 6.8); posteriormente, se centrifugó a 3000rpm por 1min a 4°C. Se adiciono ácido tiobarbitúrico (TBA, 1% w/v) y se incubó a 90°C durante 10 min. Enseguida la reacción se enfrió a 4°C y las muestras fueron centrifugadas a 3000rpm por 15min. Los niveles de TBARS fueron leídos a 600 nm por espectrofotometría (Beckman Coulter DU- 800). Los niveles de peroxidación son expresados en TBARS nmoles · g tejido fresco<sup>-1</sup>.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Efecto del NaCl sobre las variables morfométricas en sistemas hidropónicos arena y raíz flotante.

La figura 9A muestra los sistemas hidropónicos utilizados en el presente estudio, cultivo arena y sistema raíz flotante. El crecimiento de las plantas de albahaca (*O. basilicum*) a 15 y 45 días después de iniciar los tratamientos en el sistema raíz flotante fue mayor en comparación con el sistema arena (Figs. 9B, 9C, 9D y 9E). Las plantas sometidas a los tratamientos H-25 y H-50 en el sistema raíz flotante desarrollaron mayor altura, área foliar, grosor del tallo, y longitud de raíz. Las plantas en el sistema raíz flotante bajo los tratamientos H-50 y H-100 presentaron un color verde intenso en la hoja, con respecto a los otros tratamientos. El efecto del NaCl en el sistema raíz flotante se observó en el tamaño de la hoja en el tratamiento H-100 mM. En el sistema arena, no se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la pigmentación, o tamaño de hojas en los diferentes tratamientos.



Figura 9. Cultivo de albahaca en sistemas hidropónicos cultivo arena (izquierda) y raíz flotante (derecha) bajo diferentes niveles de salinidad (15 días). B. Longitud de raíz en tratamientos control A-T y H-T; C. Longitud de raíz en tratamientos A-25 y H-25 (25 mM NaCl); D. Longitud de raíz en tratamientos A-50 y H-50 (50 mM NaCl); E. Longitud de raíz en tratamientos A-100 y H-100 (100 mM de NaCl).

### 7.1.1 Determinación de biomasa 15 días

No se observaron diferencias significativas en el peso fresco, peso seco y área foliar en las plantas de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar en el sistema arena después de 15 días de tratamientos con NaCl (Tabla II). La acumulación de biomasa en el sistema raíz flotante aparentemente fue superior al sistema arena; sin embargo, en raíz flotante no se observaron diferencias estadísticas en peso fresco, peso seco y área foliar entre tratamientos (25, 50 y 100mM) en comparación al control. No se observaron diferencias en el peso fresco y seco (tallo y raíz) en respuesta a los tratamientos con NaCl en el sistema arena y raíz flotante.

Tabla II. Parámetros de crecimiento en albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar, tratados con 0, 25, 50 y 100 mM NaCl por 15 días.

15 días	Arena				Raíz Flotante			
	A-T	A-25mM NaCl	A-50mM NaCl	A-100mM NaCl	H-T	H-25mM NaCl	H-50mM NaCl	H-100mM NaCl
<b>Hoja</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	0.94 ± 0.18b	0.66 ± 0.24b	1.09 ± 0.03b	0.88 ± 0.10b	2.94 ± 0.10a	3.19 ± 0.26a	3.7 ± 0.86a	3.46 ± 0.30a
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.10 ± 0.01bc	0.08 ± 0.02c	0.10 ± 0.00 bc	0.08 ± 0.00c	0.20 ± 0.00abc	0.22 ± 0.02ab	0.27 ± 0.06a	0.26 ± 0.03a
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	72.82 ± 11.27bc	63.76 ± 12.57bc	58.27 ± 3.50c	66.16 ± 5.7bc	121.25 ± 4.16ab	138.97 ± 13.05a	150.94 ± 22.44a	154.46 ± 15.73a
<b>Tallo</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	0.47 ± 0.08bc	0.33 ± 0.06c	0.44 ± 0.01c	0.37 ± 0.05c	0.92 ± 0.07abc	1.13 ± 0.16abc	1.43 ± 0.40a	1.31 ± 0.18ab
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.04 ± 0.01ab	0.03 ± 0.00b	0.04 ± 0.00ab	0.03 ± 0.00b	0.07 ± 0.00ab	0.07 ± 0.00ab	0.10 ± 0.02a	0.10 ± 0.01a
<b>Raíz</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	0.46 ± 0.07b	0.42 ± 0.16b	0.45 ± 0.10b	0.49 ± 0.07b	1.24 ± 0.10ab	2.88 ± 0.58a	3.13 ± 0.96a	2.01 ± 0.35ab
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.04 ± 0.00b	0.03 ± 0.00b	0.03 ± 0.00b	0.03 ± 0.00b	0.09 ± 0.01ab	0.13 ± 0.01a	0.14 ± 0.03a	0.14 ± 0.01a

Los datos se presentan como promedio ± error estándar (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.05$  entre tratamientos de NaCl y sistemas hidropónicos.

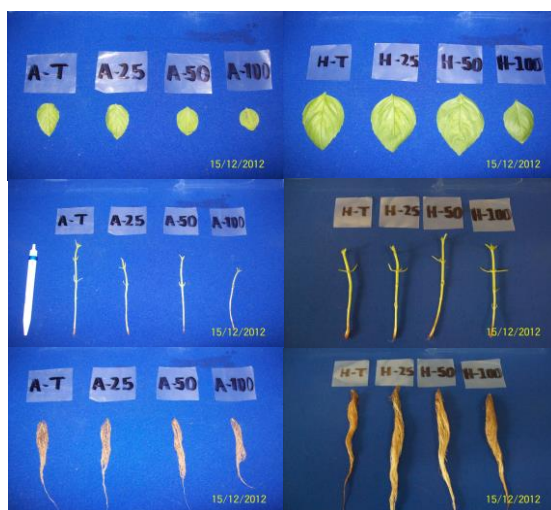


Figura 10. Aspecto de las hojas, tallo y raíz de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar expuestas a salinidad (25 mM, 50 mM, 100 mM NaCl) en sistemas de producción hidropónico: Arena (A) y Raíz flotante (H) por 15 días.

#### 7.1.2 Determinación de biomasa 45 días

Después de 45 días de tratamientos con NaCl, no se observaron diferencias estadísticas en peso fresco, peso seco y área foliar ( $p= 0.000$ ;  $0.000$ ;  $0.000$ ) en el sistema arena respecto al control (Tabla III). Sin embargo, el tratamiento 25 mM NaCl del sistema raíz flotante se observó mayor cantidad de tejido fresco ( $12.86 \pm 0.86$ ,  $p= 0.000$ ) y seco ( $2.05 \pm 0.08$ ,  $p= 0.000$ ) de la hoja; el área foliar ( $503.76 \pm 46.76$ ,  $p= 0.002$ ) fue significativamente mayor a 25 y 50 mM respecto al control ( $280.70 \pm 24.78$ ,  $p= 0.002$ ). No se observaron diferencias significativas en el peso fresco ( $0.94 \pm 0.08$ ,  $p= 0.000$ ) y peso seco ( $0.56 \pm 0.02$ ,  $p= 0.000$ ) del tallo, y peso fresco ( $0.56 \pm 0.03$ ,  $p= 0.000$ ) y peso seco ( $0.09 \pm 0.00$ ,  $p= 0.000$ ) de raíz entre los tratamientos (0. 25, 50 y 100 mM, en el sistema arena. En el sistema raíz flotante a concentraciones de 25 y 50 mM el peso fresco ( $7.91 \pm 0.87$ ,  $p= 0.000$ ) y seco ( $1.09 \pm 0.10$ ,  $p= 0.001$ ) de tallo, así como peso fresco ( $26.15 \pm 3.67$ ,  $p= 0.000$ ), peso seco ( $1.36 \pm 0.13$ ,  $p= 0.000$ ) de raíz fue mayor con respecto al control en peso fresco y seco de tallo ( $3.49 \pm 0.25$ ,  $p=0.000$ ;  $0.56 \pm 0.02$ ,  $p=0.001$ , respectivamente). A concentraciones de 100 mM en el sistema flotante no se observaron diferencias significativas en el peso seco ( $0.81 \pm 0.11$ ,  $p= 0.001$ ) del

tallo y ( $0.79 \pm 0.04$ ,  $p= 0.000$ ) en raíz. El peso fresco del tallo ( $5.73 \pm 0.67$ ,  $p= 0.000$ ) fue mayor que en el control ( $3.49 \pm 0.25$ ,  $p= 0.000$ ).

Tabla III. Efecto de la salinidad sobre los parámetros de crecimiento en albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar, tratados con 0, 25, 50 y 100 mM NaCl por 45 días.

45 días	Arena				Raíz Flotante			
	A-T	A-25mM NaCl	A-50mM NaCl	A-100mM NaCl	H-T	H-25mM NaCl	H-50mM NaCl	H-100mM NaCl
<b>Hoja</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	2.61 ± 0.26c	1.96 ± 0.08c	2.29 ± 0.23c	2.37 ± 0.20c	6.88 ± 0.27b	12.86 ± 0.86a	11.99 ± 0.56a	11.66 ± 0.57a
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.28 ± 0.04d	0.25 ± 0.04d	0.36 ± 0.05d	0.29 ± 0.05d	1.03 ± 0.08c	2.05 ± 0.08a	1.82 ± 0.13ab	1.57 ± 0.17b
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	102.45 ± 12.20c	102.41 ± 7.03c	111.31 ± 18.80c	111.49 ± 22.17c	280.70 ± 24.78b	503.75 ± 46.76a	456.09 ± 29.22a	399.16 ± 23.54ab
<b>Tallo</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	0.94 ± 0.08d	0.93 ± 0.09d	1.18 ± 0.26d	0.98 ± 0.15d	3.49 ± 0.25c	7.91 ± 0.87a	7.99 ± 0.34a	5.73 ± 0.67b
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.12 ± 0.02c	0.14 ± 0.01c	0.19 ± 0.04c	0.15 ± 0.02c	0.56 ± 0.02b	1.09 ± 0.10a	1.08 ± 0.06a	0.81 ± 0.11ab
<b>Raíz</b>								
PF (g planta <sup>-1</sup> )	0.56 ± 0.03c	0.48 ± 0.04c	0.83 ± 0.06c	0.64 ± 0.09c	9.89 ± 0.63b	26.15 ± 3.67a	23.73 ± 1.61a	12.75 ± 1.03b
PS (g planta <sup>-1</sup> )	0.09 ± 0.00c	0.07 ± 0.00c	0.12 ± 0.02c	0.10 ± 0.01c	0.59 ± 0.04b	1.36 ± 0.13a	1.27 ± 0.09a	0.79 ± 0.04b

Los datos se presentan como promedio  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.05$  entre tratamientos con NaCl y sistemas hidropónicos.



Figura 11. Efecto del NaCl sobre hojas, tallo y raíz de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar en sistemas de producción hidropónico: Arena (izquierda) y Raíz flotante (derecha) a 45 días.

### 7.1.3 Tasa relativa de crecimiento (TRC)

En la Figura 12A se presentan los resultados de la TRC para plantas de albahaca en sistema raíz flotante y arena expuestos a diferentes niveles de salinidad. En el sistema raíz flotante bajo los tratamientos H-50 y H-100 mM se observó la mayor TRC por día ( $0.15 \text{ g d}^{-1}$  y  $0.16 \text{ g d}^{-1}$ ). En el cultivo arena, en



condiciones control (A-T) se observó mayor TRC ( $0.098 \text{ g d}^{-1}$ ,  $p= 0.000$ ) seguido del tratamiento (A-50) ( $0.092 \text{ g d}^{-1}$ ,  $p= 0.000$ ). No se observaron diferencias significativas en la TRC en ninguno de los sistemas (flotante y arena) ( $p>0.05$ ) entre tratamientos; sin embargo, se observaron diferencias significativas en la interacción sistema\*sistema ( $p= 0.393$ ). Se observó una tendencia (NS) al aumento de la TRC con la salinidad en el cultivo flotante. En el cultivo arena se observó un decremento ( $P= 0.000$ ) a medida que incrementó la concentración de sales en el medio.

Las plantas de albahaca expuesta a salinidad a 45 días no presentaron diferencias significativas en la TRC entre los tratamientos del sistema arena, respecto al control ( $p= 0.000$ ) (Fig. 12B). En los tratamientos del sistema raíz flotante se observaron diferencias significativas H-25 ( $0.10 \text{ g d}^{-1}$ ,  $p= 0.003$ ), H-50 ( $0.10 \text{ g d}^{-1}$ ,  $p= 0.003$ ) y 100 mM ( $0.09 \text{ g d}^{-1}$ ,  $p= 0.003$ ), respecto al control (H-T). Se observaron diferencias significativas en la interacción sistema\*sistema ( $p= 0.024$ ).

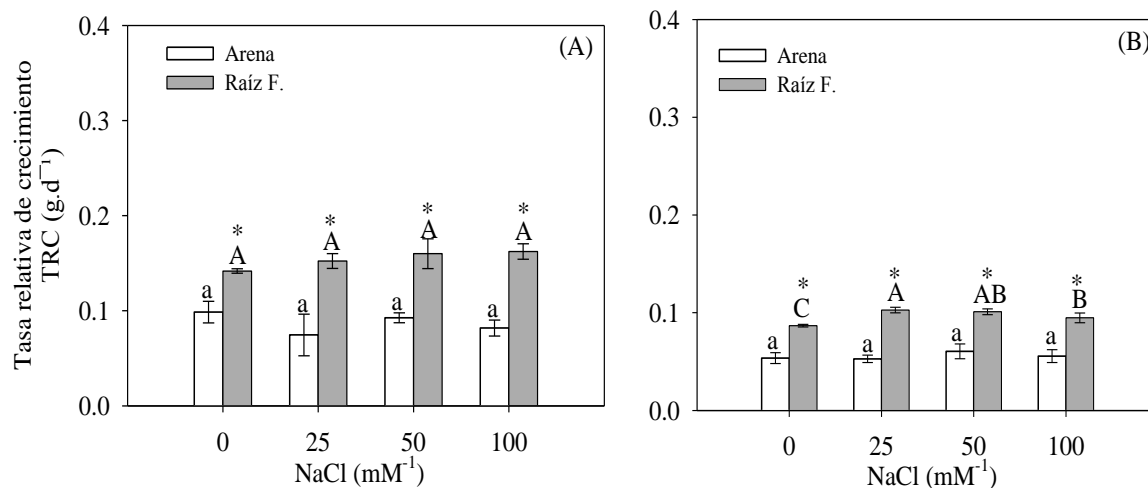
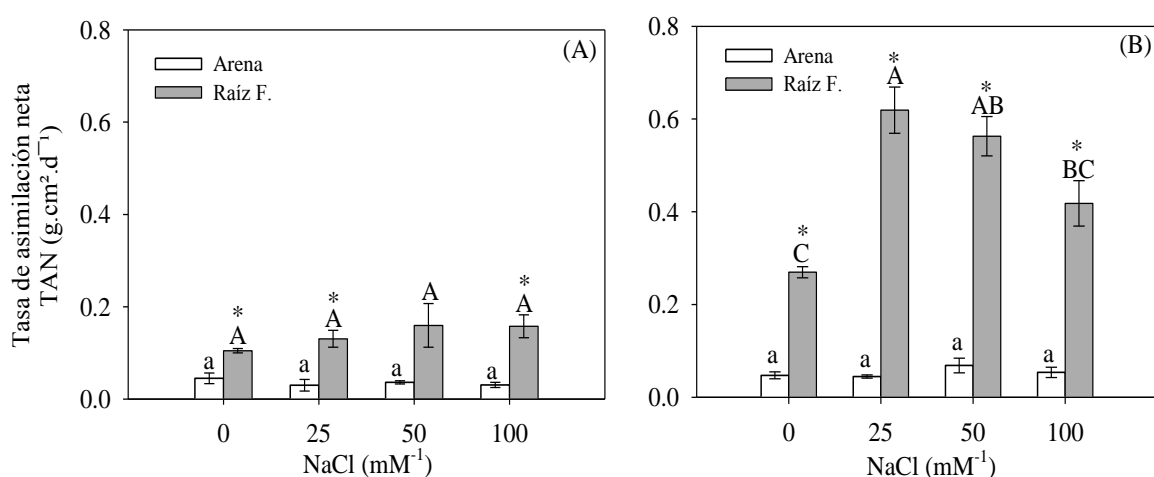


Figura 12. Tasa relativa de crecimiento (TRC,  $\text{g d}^{-1}$ ) (A) a 15 días, y (B) a (45) días bajo condiciones de salinidad en sistemas hidropónicos. Los datos se presentan como media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ).

#### 7.1.4 Tasa de asimilación neta (TAN)

No se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. A medida que se incrementó la concentración de NaCl en el medio, la TAN aumentó ( $p = 0.655$ ) en el sistema flotante; la mayor ganancia de peso seco se observó bajo los tratamientos H-50 ( $0.159 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ,  $p = 0.655$ ) y H-100 ( $0.157 \text{ g cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ,  $p = 0.655$  respectivamente). En el sistema arena la TAN decreció en función de la concentración de sal. Bajo condiciones control (A-T) se observó la mayor TAN ( $0.044 \text{ g cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ), seguido del tratamiento (A-50 y A-100) con  $0.036 \text{ g cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ,  $p = 0.000$  y  $0.033 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ,  $p = 0.000$ ) (Fig. 13A).

Se observaron diferencias significativas en la TAN a los 45 días en el sistema raíz flotante (Fig. 13B). En el sistema raíz flotante, bajo el tratamiento con 25mM se observó una TAN de  $0.61 \text{ g.cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , ( $p = 0.000$ ), seguido de 50 mM ( $0.56 \text{ g.cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ,  $p = 0.000$ ), y 100 mM ( $0.41 \text{ g.cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ,  $p = 0.000$ ), con respecto al control ( $0.26 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ,  $p = 0.000$ ) (Fig. 13B). En el sistema arena no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la tasa de asimilación en los dos periodos de tiempo.

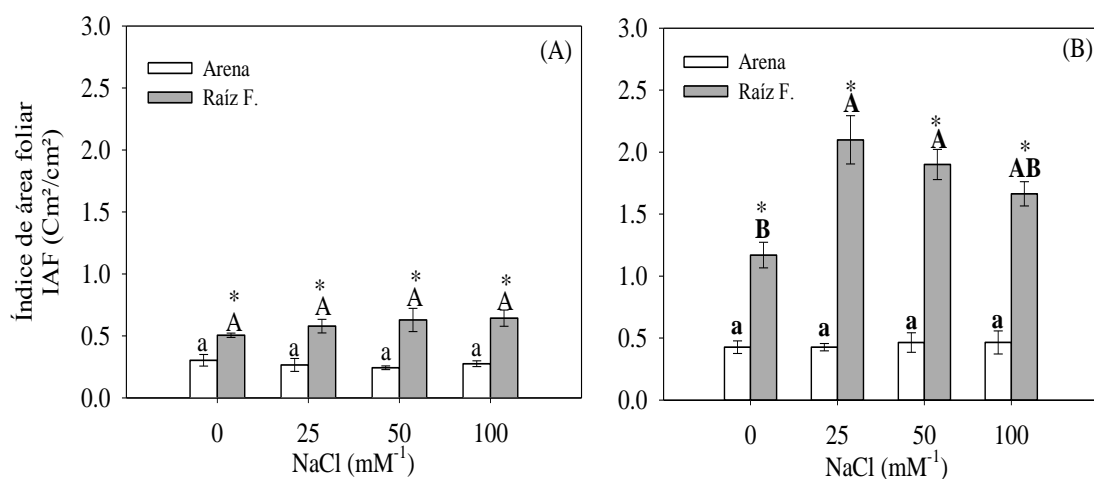


**Figura 13.** Tasa de asimilación neta en cultivos hidropónicos, bajo gradientes salinos. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ).

### 7.1.5 Índice de área foliar (IAF)

A los 15 días de cultivo (Fig. 14A) el IAF en albahaca (*O. basilicum*) fue mayor ( $0.64 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ ) en el sistema raíz flotante bajo el tratamiento H-100 (fenómeno relacionado con fotosíntesis), seguido de los tratamiento H-50, 25 y H-T ( $0.62, 0.57, 0.50 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ , respectivamente); no se observaron diferencias estadísticas en el sistema raíz flotante. En el sistema arena, el IAF máximo se observó bajo condiciones control (A-T)  $0.30 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ ,  $P= 0.000$  y  $0.24 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ ,  $P= 0.000$  en A-25 como IAF más bajo. No se observaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

A los 45 días bajo los tratamientos 25 y 50 mM en el sistema raíz flotante se observaron diferencias significativas respecto al control. La concentración H-25 mM fue mayor ( $2.09 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ ,  $P= 0.758$ ) (Fig. 14B). Bajo condiciones control H-T se observó un IAF de  $1.16 \text{ cm} \bullet \text{cm}^{-2}$ ,  $P= 0.758$ . En el sistema arena no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 25, 50 y 100 mM, respecto al control (A-T).



**Figura 14.** Índice de área foliar en cultivo albahaca (*O. basilicum*) bajo condiciones de salinidad 15 y 45 días. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ).

## 7.2. Evaluación de la respuesta fisiológica bajo estrés por NaCl en el sistema arena y raíz flotante

### 7.2.1 Tasa fotosíntesis

En ambos sistemas, a los 15 días, a medida que incrementó la concentración de sales en el medio la actividad fotosintética ( $A \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) aumentó (Fig. 15A). El sistema arena presentó su máxima actividad a 50 mM ( $3.41 \mu\text{mol} (\text{CO}_2) \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ,  $p= 0.003$ ) comparada con el control ( $1.3 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $p= 0.003$ ). No se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos en el sistema arena. El tratamiento H-100 mM en el sistema raíz flotante registró la máxima actividad ( $6.79 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ,  $p= 0.000$ ) encontrando diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos control H-T y H-25. Se observaron diferencias significativas en la interacción sistema\*sistema (0.044).

No se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos a 45 días en ambos sistemas (Fig. 15B). La actividad máxima se registró en el grupo control A-T. ( $3.19 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ,  $P= 0.000$ ) en el sistema arena. En el sistema raíz flotante a H-50 se observó mayor actividad ( $4.43 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $p= 0.014$ ).

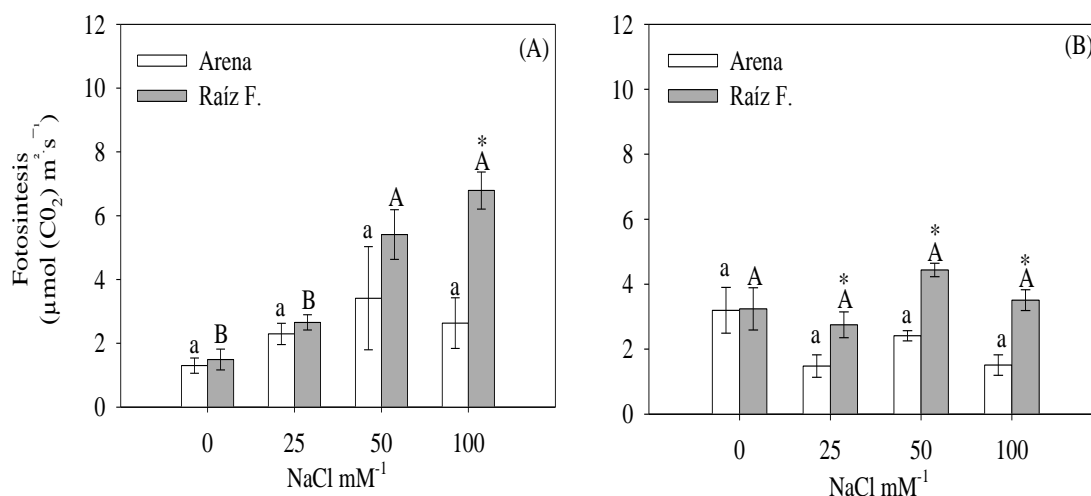


Figura 15. Actividad fotosintética en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $P < 0.05$ ).

### 7.2.2 Conductividad estomática

La conductividad estomática es una medida que consiste en el paso de  $\text{CO}_2$  a través de poros estomáticos. Los resultados obtenidos a 15 días de evaluación, no presentaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos 25, 50 y 100 con respecto al control (0.21  $\text{g (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$ ,  $p = 0.010$ ) en el sistema arena. En el sistema raíz flotante se observó (Fig. 16A) diferencias respecto al control H-T (0.31  $\text{g (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$ ) y H-25 (0.33  $\text{g (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$ ), a concentraciones 100 mM (0.16  $\text{g (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$ ). Se observó diferencias significativas en la interacción sistema\*sistema ( $p = 0.027$ ). No se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a 45 entre tratamientos con respecto al control, en el sistema arena ( $p = 0.012$ ) y raíz flotante ( $p = 0.004$ ) (Fig. 16B)

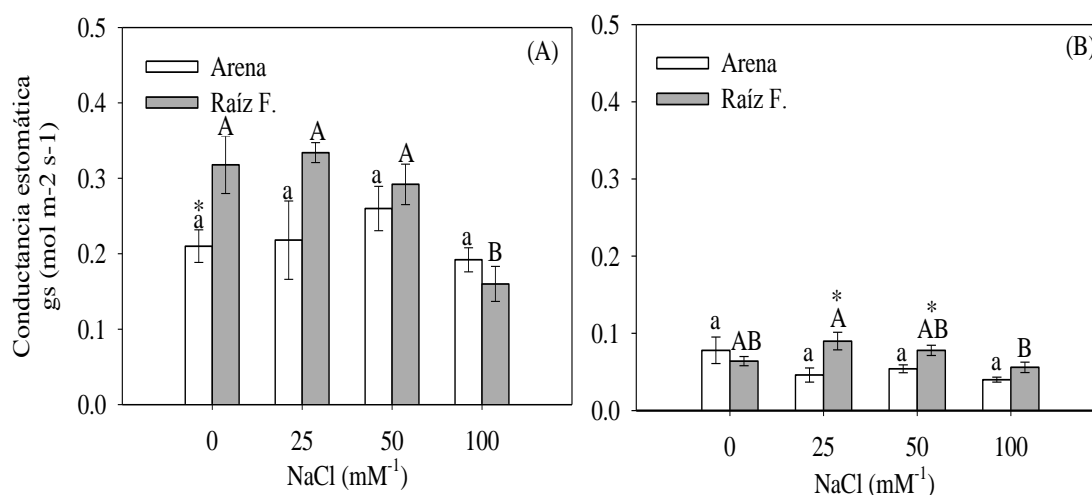


Figura 16. Conductividad estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) en albahaca (*O. basilicum*) bajo salinidad. A) 15 días. B) 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

### 7.2.3 Transpiración

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), en el tratamiento A-50 ( $2.63 \text{ mmol [H}_2\text{O] m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ,  $p = 0.000$ ) y A-100 ( $2.49 \text{ mmol [H}_2\text{O] m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ,  $p = 0.000$ ) con respecto al control A-T ( $1.59 \text{ mmol [H}_2\text{O] m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ,  $p = 0.000$ ) en el sistema arena a 15 días (Fig. 17A). Se observaron diferencias significativas a H-100 mM ( $2.51 \text{ mmol [H}_2\text{O] m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ,  $p = 0.032$ ) respecto a control ( $3.32 \text{ mmol [H}_2\text{O] m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ,  $p = 0.032$ ). No se presentaron diferencias significativas en los sistemas arena ( $p = 0.000$ ) y raíz flotante ( $p = 0.231$ ) a 45 días (Fig. 17B). Se presentaron diferencias significativas en la interacción sistema\*salinidad ( $p = 0.023$ ).

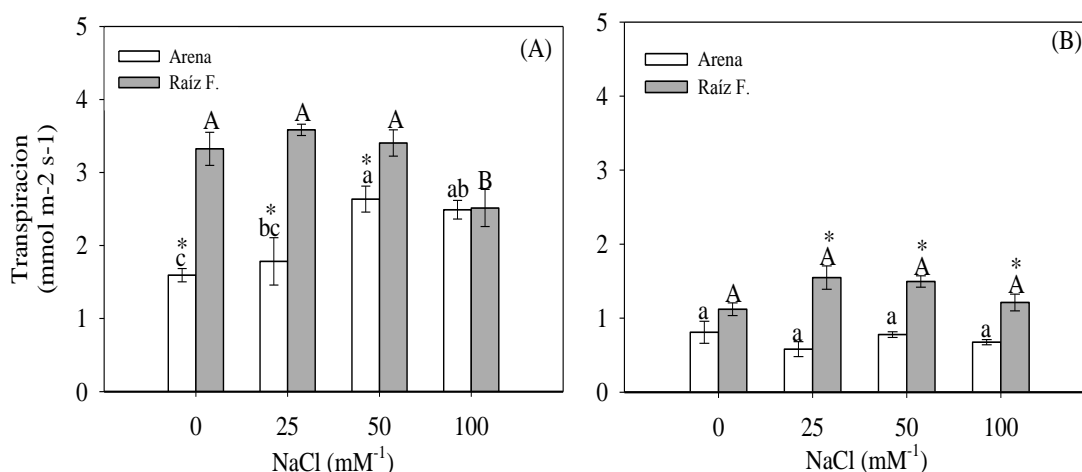


Figura 17. Tasa de transpiración bajo tratamientos salinos. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

### 7.2.4 Cantidad relativa de clorofila (SPAD)

Se observaron diferencias significativas en los tratamientos 25 y 100 mM ( $22.06$ ,  $P = 0.000$  y  $21.74$ ,  $p = 0.000$ ) con respecto al control ( $25.92$ ,  $p = 0.000$ ) en el sistema arena (Fig. 18A). Se observaron diferencias significativas a 100 mM ( $29.68$ ,  $p = 0.464$ ) respecto al control. Se observaron diferencias significativas en la interacción sistema\*salinidad ( $p = 0.000$ ). No se observaron diferencias

significativas en el sistema arena ( $p= 0.814$ ) a 45 días (Fig. 18B). El sistema raíz flotante presentó diferencias significativas a 25 (23.76,  $p= 0.060$ ), 50 (23.24,  $p= 0.060$ ) y 100 mM (23.18,  $p= 0.060$ ) con respecto al control H-T (18.72,  $P= 0.060$ ). En plantas control del sistema flotante se observó menor pigmentación de tejido foliar. Se presentaron diferencias significativas en la interacción sistema\*salinidad ( $p= 0.014$ ).

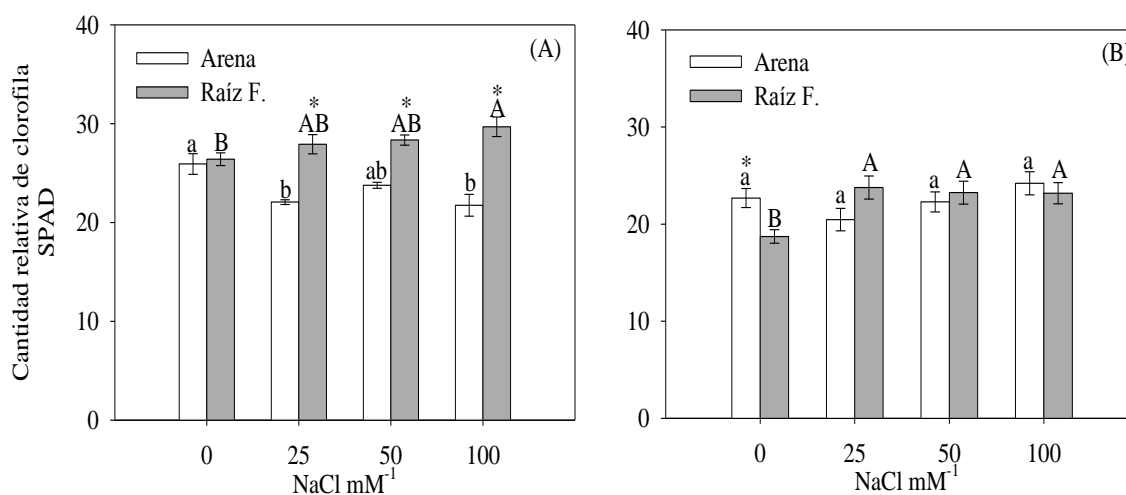


Figura 18. Contenido relativo de clorofila de (*O. basilicum*) en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  el error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $p < 0.05$ ).

### 7.2.5 Potencial hídrico

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento H-100 (-2.6 Mpa,  $p = 0.000$ ) respecto al control H-T (-1.6 Mpa,  $p = 0.000$ ) en el sistema raíz flotante. En el sistema arena, el efecto de los tratamientos se observó a A-100 (-2.1 Mpa,  $p = 0.002$ ), presentando diferencias significativas con respecto al control A-T (-1.2 Mpa,  $p = 0.002$ ). Se observó mayor potencial (Mpa) negativo en el sistema raíz flotante que el sistema arena (Fig. 19A).

Se observaron diferencias significativas a 45 días bajo tratamientos salinos, en el sistema arena a 50 mM (-1.63 Mpa,  $p = 0.001$ ) con respecto al control (-2.20 Mpa,  $p = 0.001$ ). Se observó saturación (agua) en una réplica del tratamiento a 50 mM al momento de realizar el muestreo; se presenciaron mayores niveles de humedad en el sustrato, debido a condiciones climáticas externas (lluvia). En el sistema raíz flotante, se observaron diferencias significativas a 100 mM (-2.11 Mpa,  $p = 0.020$ ) con respecto al control H-T (-1.55 Mpa,  $p = 0.020$ ) (Fig. 19B). Se observaron diferencias significativas en la interacción sistema\*salinidad ( $P = 0.000$ ).

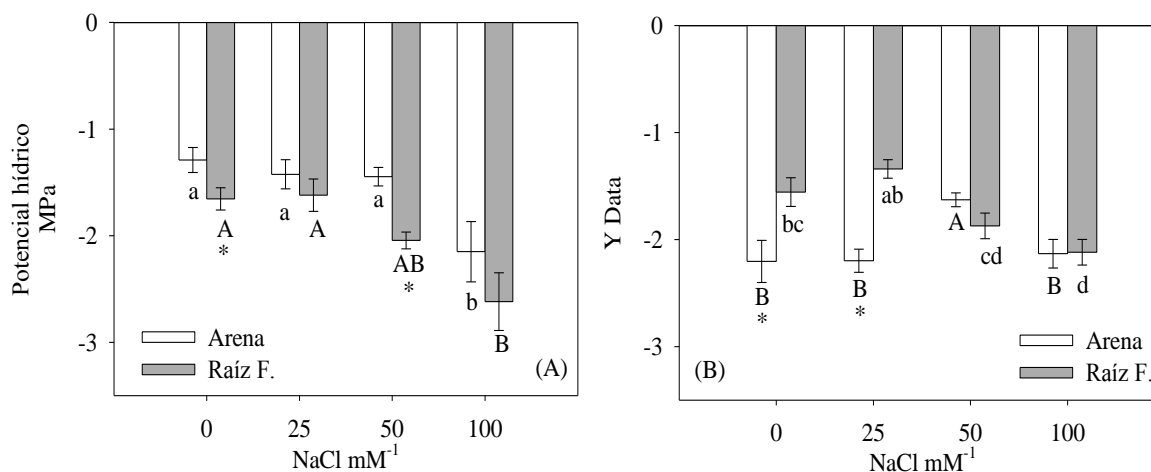


Figura 19. Potencial hídrico (Mpa) de (*O. basilicum*) en sistemas hidropónicos bajo estrés salino. A) Actividad registrada a 15 días. B) Actividad registrada 45 días. Las barras en columna representan la media  $\pm$  el error estándar ( $n=5$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HDS ( $p < 0.05$ ).



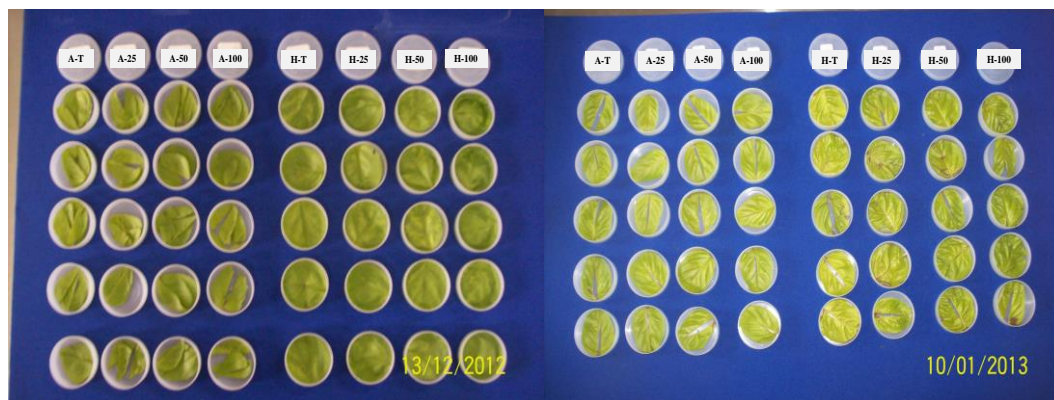


Figura 20. Muestras de tejido vegetal utilizadas en las mediciones del potencial hídrico (Mpa) de (*O. basilicum*) (izquierda) muestras de tejido 15 días (derecha) muestras de tejido 45 días.

### 7.3. Microscopia electrónica

#### 7.3.1 Apariencia de la epidermis abaxial en el sistema arena.

Se observa en la (Fig. 21) la anatomía foliar de albahaca del sistema arena, obtenida a 45 días de exposición a tratamientos de NaCl (0, 25,50 y 100 mM). La microscopia electrónica de barrido revelo una apertura del estoma en el control (A-T) y un mejor ordenamiento de las células de la epidermis en los tratamientos (A-50 y A-100).

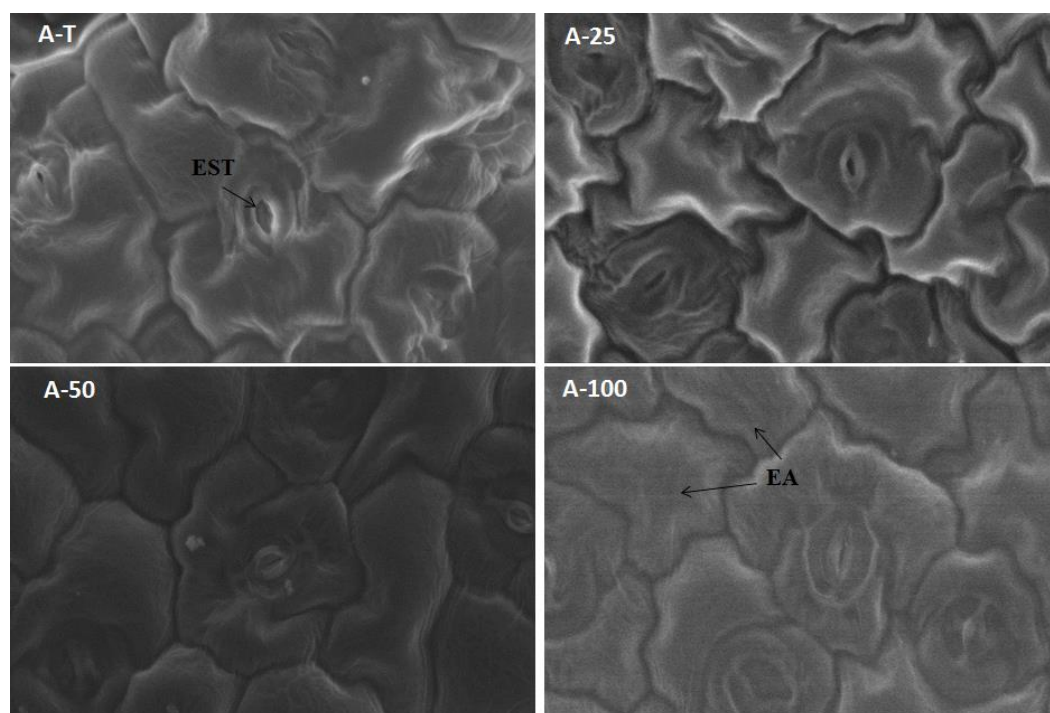


Figura 21. Fotomicrografía electrónica al microscopio de barrido a 1000x mostrando la epidermis abaxial foliar de albahaca en sistema arena, bajo tratamientos salinos. Se observan estomas (Est) y epidermis abaxial (Ea).

### 7.3.2 Apariencia de la epidermis abaxial en el sistema raíz flotante.

Se observa en la (Fig. 22) un ordenamiento de las células en el control (H-T) a diferencia de los tratamientos salinos (H-25, H-50 y H-100), donde se aprecian las células de la epidermis de manera irregular. Así mismo se observó un tricoma colapsado en el tratamiento (H-25).

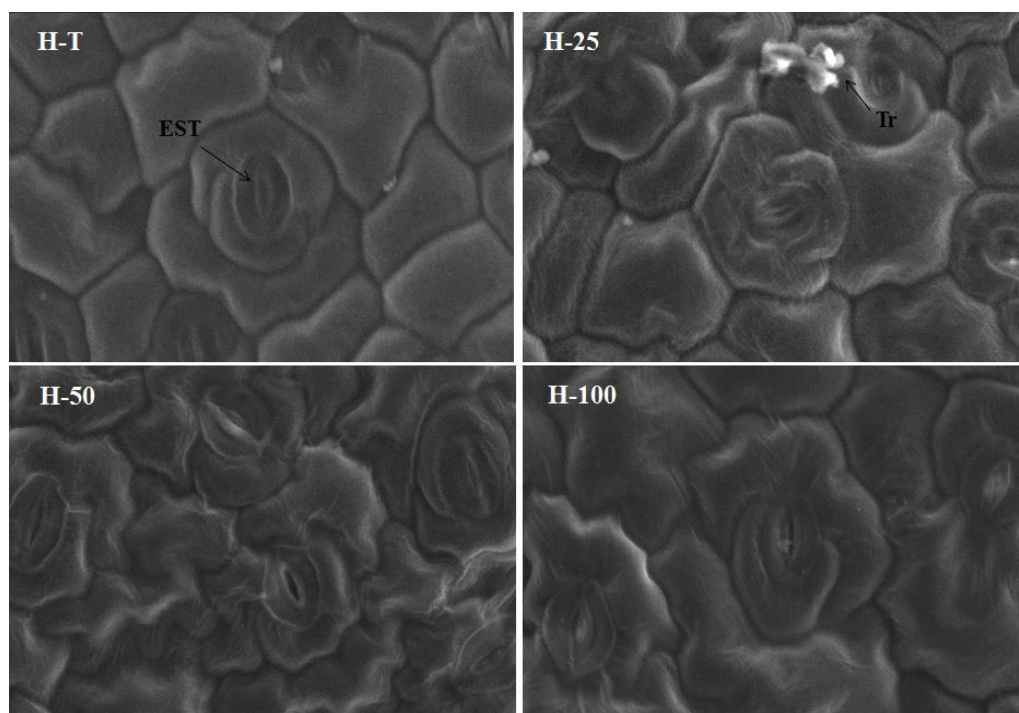


Figura 22. Fotomicrografía electrónica al microscopio de barrido a 1000x mostrando la epidermis abaxial foliar de albahaca en sistema raíz flotante, bajo tratamientos salinos. Se observan estomas (Est) y tricomas (Tr).

## 7.4. Contenido mineral de hoja, tallo y raíz en albahaca a 45 días

### 7.4.1. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en hojas

Plantas de albahaca sometida a los tratamientos 0, 25, 50 y 100 mM de NaCl a 45 días bajo dos sistemas de producción hidropónica: arena y raíz flotante, presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la concentración de cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y anión  $\text{Mn}^{2+}$ , en los diferentes órganos (*hoja, tallo y raíz*). El efecto del Na en hojas (Fig. 23A) se observó a partir 50 mM ( $4.45 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ) en sistema raíz flotante y ( $1.32 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.00$ ) en

arena, respecto al control. A 100 mM la concentración de  $\text{Na}^+$  en el tejido foliar se duplicó en el sistema arena ( $3.50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) y en el sistema raíz flotante el efecto fue superior ( $152.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) (Fig. 29B).

El contenido de  $\text{K}^+$  en hojas (Fig. 23B) decreció significativamente. Se observó menor contenido de  $\text{K}^+$  en arena a 50mM ( $20.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) y ( $18.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) en raíz flotante con respecto a ambos controles. Sin embargo, se observó un incremento a 100 mM en el contenido de  $\text{K}^+$  en el sistema raíz flotante ( $26.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). Se presentó una relación positiva  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ( $r= 0.74$ ,  $p= 0.005$ ). En el sistema arena el control presentó mayor contenido de  $\text{K}^+$  ( $33.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) (Fig. 23B).

El contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  en raíz flotante decreció significativamente a 100 mM ( $9.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) respecto al control (H-T<sup>-1</sup>  $16.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). Se observó a 50 mM  $19.36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) la mayor concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y una relación negativa  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  ( $r= -0.86$ ,  $p= 0.000$ ). (Fig 23C). El sistema arena presentó diferencias significativas a 25, 50 y 100 mM respecto al control ( $23.13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.00$ ). En A-25 y A-50 se observó menor concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $21.59 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco), y a 100 mM este incrementó ( $22.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco).

El contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  en hojas del sistema arena resultó mayor a 100 mM ( $10.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) en comparación al control ( $9.99 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco). Se presentó en el sistema arena una correlación  $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$  de ( $r= 0.74$ ,  $p= 0.005$ ). Por el contrario en el sistema raíz flotante el control presentó mayor concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  ( $5.61 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). En ambos sistemas se observó bajo los tratamientos 25 y 50 mM menor concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en hojas.

Los niveles de  $\text{Mn}^{2+}$  en el sistema arena a 100 mM fue superior ( $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ), respecto al control ( $0.12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). Se observó una correlación de ( $r= 0.82$ ,  $p= 0.001$ ), este incremento coincide con la actividad enzimática 100 mM de SOD como cofactor de la enzima en el sistema

arena (Fig. 26B). Por su parte en el sistema raíz flotante se observó una tendencia significativa a medida que incremento la concentración de NaCl en el medio ( $p=0.000$ ). A 100 mM presentó ( $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). Se observó unacorrelación  $\text{Na}^+/\text{Mn}^{2+}$  ( $r= 0.75$ ,  $p= 0.004$ )

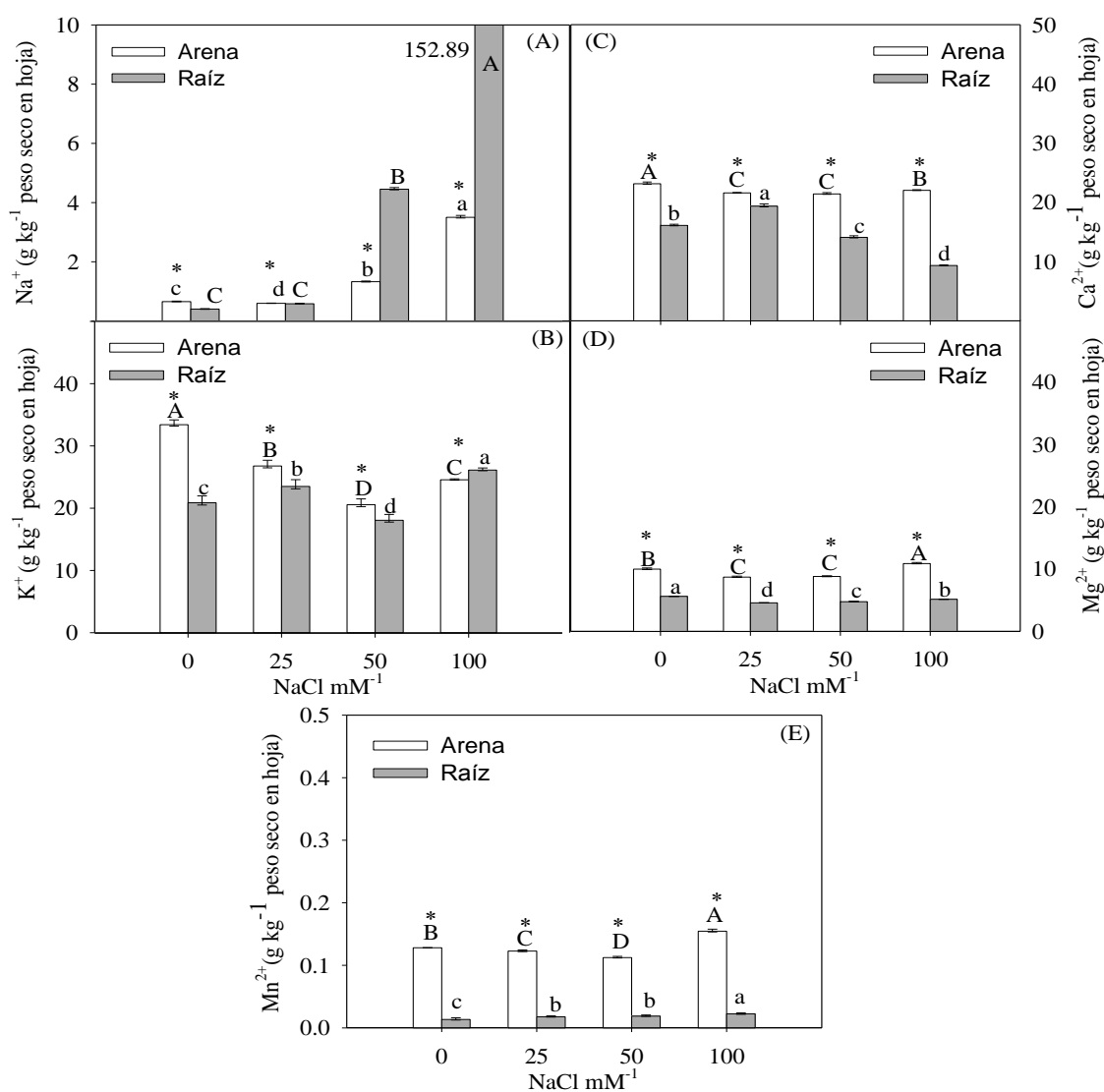


Figura 23. Contenido mineral de tejido foliar en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.

#### 7.4.2. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en tallo.

El contenido de  $\text{Na}^+$  en tallo presento diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el sistema raíz flotante a partir de 25 mM (Fig. 24A). La máxima concentración se presentó a 100 mM ( $316.62 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.00$ ), respecto al control ( $30.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco). El sistema arena presentó diferencias significativas entre tratamientos, la mayor concentración fue a 100 mM ( $175.57 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.00$ ), por el contrario la menor concentración de  $\text{Na}^+$  se presentó a 50 mM ( $4.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco  $p = 0.00$ ).

El contenido de  $\text{K}^+$  en tallo presentó diferencias significativas en el sistema arena, a 25 mM se observó mayor presencia de  $\text{K}^+$  ( $34.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ) (Fig. 24B). La menor concentración de  $\text{K}^+$  se observó a 100 mM ( $18.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco), esta disminución de  $\text{K}^+$  se correlaciono con la presencia de  $\text{Na}^+$  ( $r = -0.98$ ,  $p = 0.000$ ) (Fig. 24A). En el sistema raíz flotante se observaron diferencias significativas en la concentración de  $\text{K}^+$  a 25mM ( $27.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ), el efecto antagónico de  $\text{Na}^+$  se observó a 100 mM ( $5.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ), así mismo se presentó una correlación  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ( $r = -0.85$ ,  $p = 0.000$ ).

Por su parte el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  en tallo presento un comportamiento similar a  $\text{K}^+$ , donde se observó la mayor concentración a 25 mM ( $10.13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ) en el sistema arena y ( $8.98 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ) en sistema raíz flotante (Fig. 24C). Se observó una correlación  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  en el sistema arena ( $r = 0.97$ ,  $p = 0.000$ ) y ( $r = -0.82$ ,  $P = 0.001$ ) en raíz flotante.

A su vez el contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  decreció a partir de 50mM, respecto al control en el sistema arena. La mayor concentración se observó a 25mM ( $7.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ). Se presentó una correlación  $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$  ( $r = -0.87$ ,  $p = 0.000$ ). En el sistema raíz flotante a 25mM incremento significativamente, respecto a control. Se observó mayor contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  a 25 mM ( $3.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ) (Fig. 24D). Se observaron diferencias significativas a 50 y 100mM con respecto al control ( $2.39 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ). La mayor concentración se observó en el control del sistema arena ( $0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p = 0.000$ ). Se

observaron diferencias significativas respecto al control a 25, 50 y 100 mM. En el sistema raíz flotante se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, respecto al control ( $0.003 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Se observó una correlación  $\text{Na}^+ / \text{Mn}^{2+}$  ( $r = 0.87$ ,  $p = 0.000$ ).

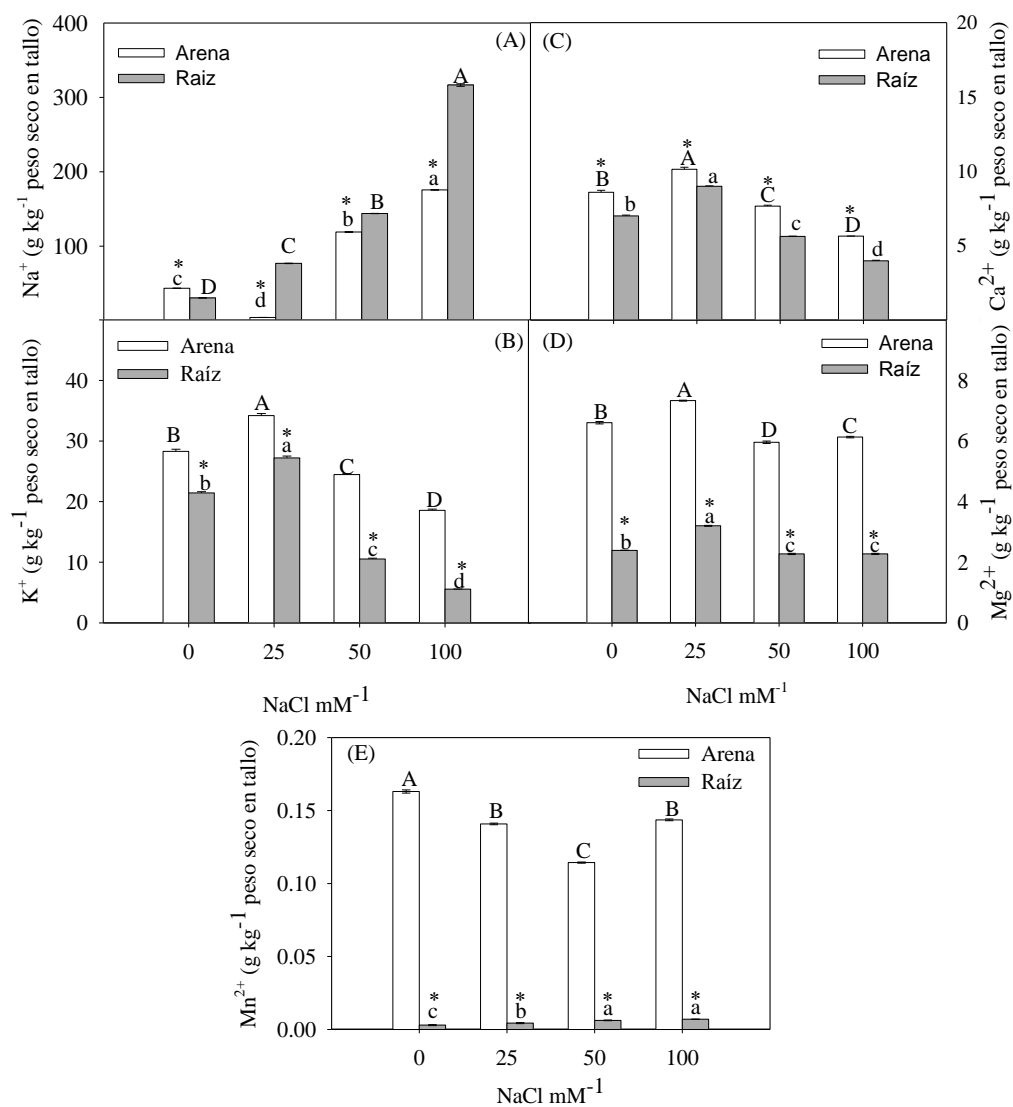


Figura 24. Contenido mineral de tallo en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.

#### 7.4.3. Contenido mineral sodio, potasio, calcio, magnesio y manganeso en raíz.

Se observaron diferencias significativas en la concentración de  $\text{Na}^+$  en raíz, a H-100 en el sistema raíz flotante ( $409.30 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ) (Fig. 25A). Así mismo H-25 y H-50 presentaron diferencias significativas al control ( $57.02 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco). Por su parte el sistema arena presentó una tendencia similar al sistema flotante, donde la mayor concentración se observó a A-100 ( $190.53 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ).

Los niveles de  $\text{K}^+$  en arena decrecieron a mayor presencia de  $\text{Na}^+$ , observando diferencias significativas entre tratamientos. Se observó una correlación  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  ( $r= -0.99$ ,  $p= 0.000$ ). El sistema raíz flotante presentó una tendencia significativa a partir de 50mM de NaCl. Se observó un efecto antagónico de la relación  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  ( $r = -0.98$ ,  $p= 0.000$ ). Así mismo, el sistema flotante presentó mayor contenido de  $\text{K}^+$  que el sistema arena en los tratamientos H-T, H-25 y H-50 (Fig. 25B).

Se observaron diferencias significativas en el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  a A-25 y A-50 ( $4.05 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.00$ ) respecto al control ( $5.03 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.00$ ) (Fig. 25C) en el sistema arena. Respecto al sistema raíz flotante se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo H-25, la mayor concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $5.45 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p=0.00$ ) en referencia al control ( $3.78 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.00$ ). Se presentó una correlación  $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$  ( $r= -0.71$ ,  $p= 0.009$ ).

Por su parte el contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  en raíz flotante fue superior en el control ( $14.74 \text{ g} \bullet \text{kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ), observando diferencias significativas respecto a los tratamientos H-25, H-50 y H-100. Se observó una correlación  $\text{Na}^+ / \text{Mg}^{2+}$  ( $r= -0.88$ ,  $p= 0.000$ ). En el sistema arena se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 25D). El mayor contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  se observó a A-25 ( $16.13 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ), respecto al control ( $15.10 \text{ g kg}^{-1}$  peso seco), se presentó una correlación antagónica con  $\text{Na}^+$  ( $r= -0.69$ ,  $p= 0.012$ ).



El contenido de  $Mn^{2+}$  en raíz, fue superior en el sistema arena (Fig. 25E). Se observaron diferencias significativas a A-25 y A-100 respecto al control (0.09 g  $kg^{-1}$  peso seco,  $p= 0.000$ ). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el sistema raíz flotante respecto al control (Fig. 25E). Se presentó una correlación con  $Na^+ /Mn^{2+}$  ( $r= 0.64$ ,  $p= 0.025$ ).

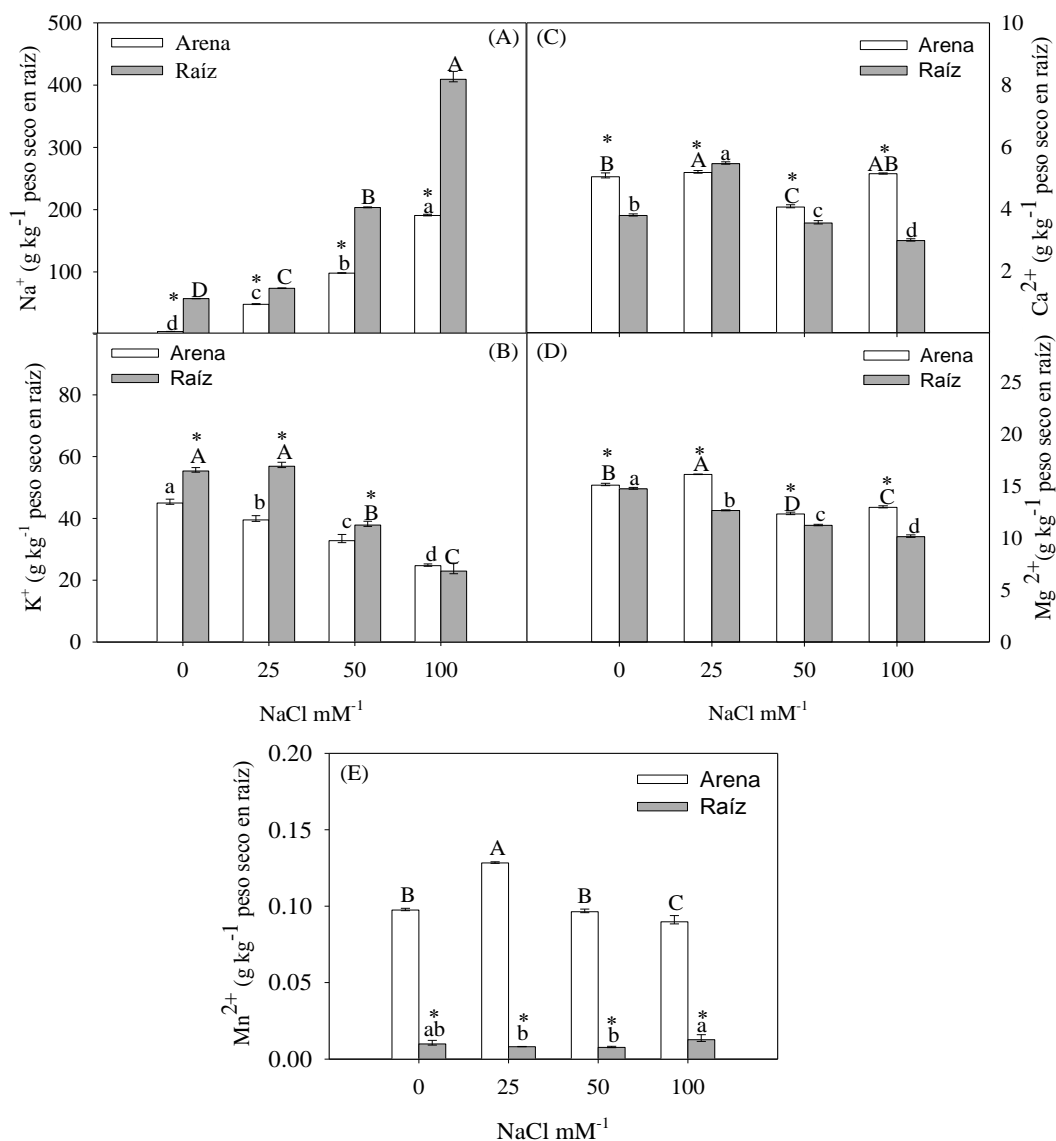


Figura 25. Contenido mineral de raíz en albahaca bajo tratamientos salinos en sistemas hidropónicos. A) Sodio, B) Potasio, C) Calcio, D) Magnesio y E) Manganeso.

## **7.5 Actividad de las enzimas antioxidantes en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) bajo estrés por NaCl en sistemas hidropónico basado en arena y raíz flotante.**

### *7.5.1. Actividad enzimática total de superóxido dismutasa (SOD)*

No se observaron diferencias significativas en la actividad de la SOD ( $p < 0.05$ ), en los tratamientos salinos en el sistema arena y raíz flotante a 15 días (Fig. 26A). La mayor actividad de SOD total se registró en el sistema arena 100 mM (498.67 U SOD  $g^{-1}$  tejido fresco,  $p = 0.074$ ). Se observó una tendencia al incremento de la actividad de la SOD total en hojas del sistema arena en respuesta de los tratamientos salinos, a partir de A-25, siendo esta concentración la actividad más baja (298.11 U SOD  $g^{-1}$  tejido fresco). En el sistema raíz flotante se observó una tendencia similar, la menor actividad de SOD total se observó a 25mM (233.19 U SOD  $g^{-1}$  tejido fresco).

No se observaron diferencias significativas en el sistema arena entre tratamientos a 45 días. En el tratamiento A-100 se registró mayor actividad (607.62 U SOD  $g^{-1}$  tejido fresco,  $p = 0.000$ ). En el sistema flotante, la actividad enzimática de SOD en albahaca (*O. basilicum*) fue menor con el incremento en la concentración de sales en el medio, registrándose la máxima actividad bajo condiciones control H-T (322.87 U SOD  $g^{-1}$  tejido fresco,  $P = 0.445$ ). Este nivel de incremento SOD en el control puede ser asociado a una baja cantidad relativa de clorofila (Fig. 18B), resultando un estrés por temperatura.

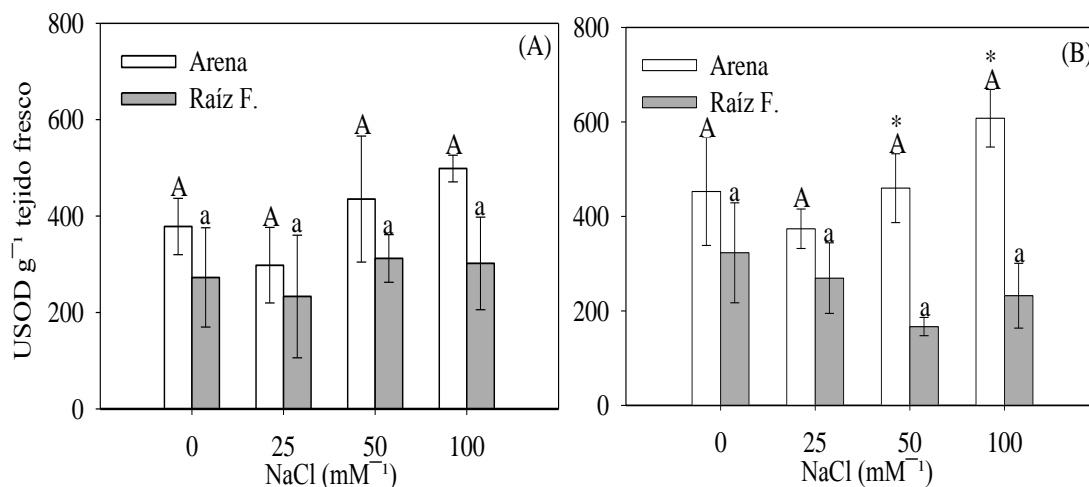


Figura 26. Actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD unidades gramo<sup>-1</sup> de tejido fresco). A) A 15 días y. B) a 45 días de tratamiento. Tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM (*O. basilicum*) cultivar Nuffar.

#### 7.5.2. Actividad enzimática de catalasa (CAT)

No se observaron diferencias significativas en la actividad de catalasa (U CAT g<sup>-1</sup> tejido fresco) en hojas entre tratamientos en el sistema arena A-T, A-25, A-50 y A-100 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 27A). Sin embargo, la actividad máxima se registró a A-50 (160.74 U CAT g<sup>-1</sup> tejido fresco,  $P = 0.000$ ), posteriormente decrece a A-100 (75.38 U CAT g<sup>-1</sup> tejido fresco,  $P = 0.00$ ). En el sistema raíz flotante se observaron diferencias significativas a H-100 respecto al control.

Se observó un incremento de CAT (642.97 U CAT g<sup>-1</sup> tejido fresco,  $p = 0.000$ ). Se observaron diferencias significativas en la interacción sistemas\*salinidad ( $p = 0.000$ ). En la actividad de CAT no se observaron diferencias significativas a 45 días en tratamientos y sistemas ( $p < 0.05$ ) Fig. 27B. La actividad de CAT en los tratamientos (0, 25 y 100 mM) en el sistema arena incrementó en relación a la registrada a 15 días ( $p = 0.014$ ). En el sistema raíz flotante se observó un decremento en la actividad de CAT en comparación con el cultivo a 15 días ( $p = 0.304$ ) (Fig. 27A).

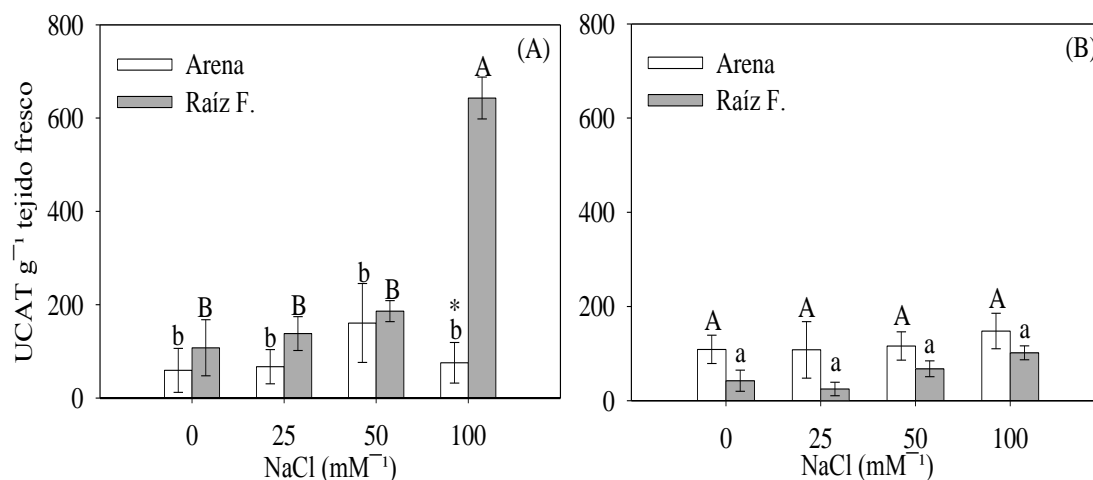


Figura. 27. Actividad enzimática Catalasa. A) Actividad 15 días. B) Actividad 45 días. Tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM (*O. basilicum*) cultivar Nuffar.

### 7.5.3. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX)

No se observaron diferencias significativas en la actividad de APX entre tratamientos en el sistema arena a 15 días ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, se observó un decremento (NS) en la actividad APX a medida que incrementó la concentración salina ( $p = 0.002$ ) (Fig. 28A). La mayor actividad de APX se observó bajo condiciones control (A-T) ( $0.14 \text{ U APX g}^{-1}$  tejido fresco,  $p = 0.002$ ), seguido de las concentraciones 25, 50 y 100 mM (Fig. 28A). La actividad de APX en el sistema raíz flotante fue mayor que en el sistema arena ( $p = 0.004$ ) (Fig. 28A).

Se observaron diferencias significativas entre el control (H-T) y H-50 siendo esta última la actividad más baja ( $0.02 \text{ U APX g}^{-1}$  tejido fresco); en el tratamiento a 100 mM la actividad de APX incrementó a  $0.14 \text{ U APX g}^{-1}$  tejido fresco,  $p = 0.004$ . Las plantas de albahaca sometidas a tratamiento salino a 45 días (Fig. 28B) presentaron un comportamiento similar observado a 15 días. La actividad APX en ambos sistemas decreció comparada con el control (A-T y H-T). Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sistemas a concentraciones de 25 mM.

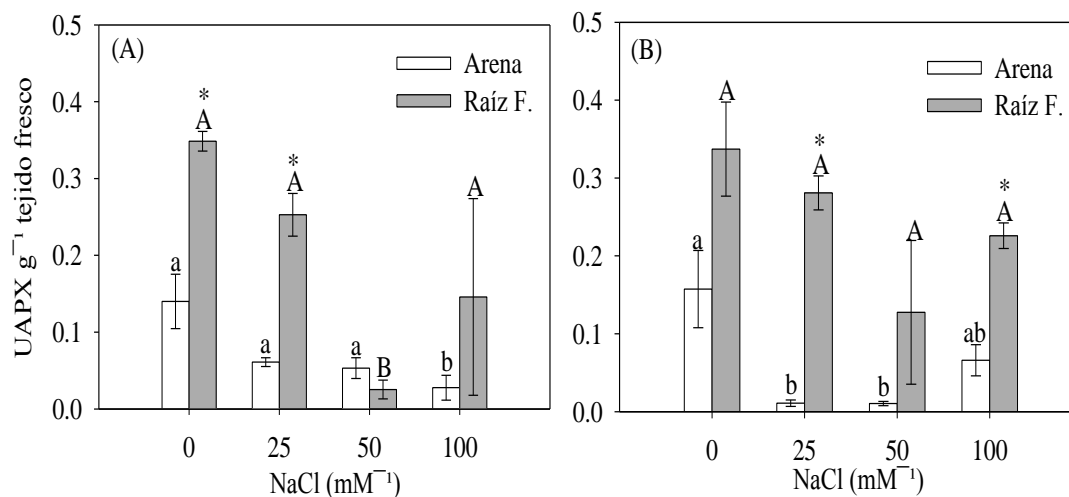


Figura 28. Actividad enzimática de ascorbato peroxidasa. (APX, unidades por gramo<sup>-1</sup> de tejido fresco) en albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar a A) 15 días y B) 45 días de tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM.

#### 7.5.4. Peroxidación de lípidos (TBARS)

Se observaron diferencias en el daño oxidativo a lípidos (cuantificado como niveles de TBARS) a 15 días bajo los tratamientos de A-25 y A-50 con respecto al control ( $p=0.003$ ) (Fig. 29A). Sin embargo, a (A-100) los niveles de TBARS (2.16 nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco) fueron mayores ( $p<0.05$ ) que bajo condiciones control (0.58 nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco,  $p=0.003$ ) en el sistema arena. No obstante, los niveles de TBARS en el sistema raíz flotante a 15 días no presentaron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre tratamientos ( $p=0.006$ ).

Los niveles de TBARS (nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco) a 45 días (Fig. 29B) en el sistema raíz flotante aumentaron con la concentración de NaCl. Se observaron diferencias significativas a H-100 (45.85 nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco) con respecto al control (12.24 nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco) ( $p=0.000$ ). No se observaron diferencias significativas en los tratamientos H-25 y H-50 ( $p>0.05$ ). En el sistema arena se observaron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) en los niveles de TBARS (5.84 nmoles g<sup>-1</sup> tejido fresco) a A-100 con respecto al control. ( $p=0.000$ ) (Fig. 29B).

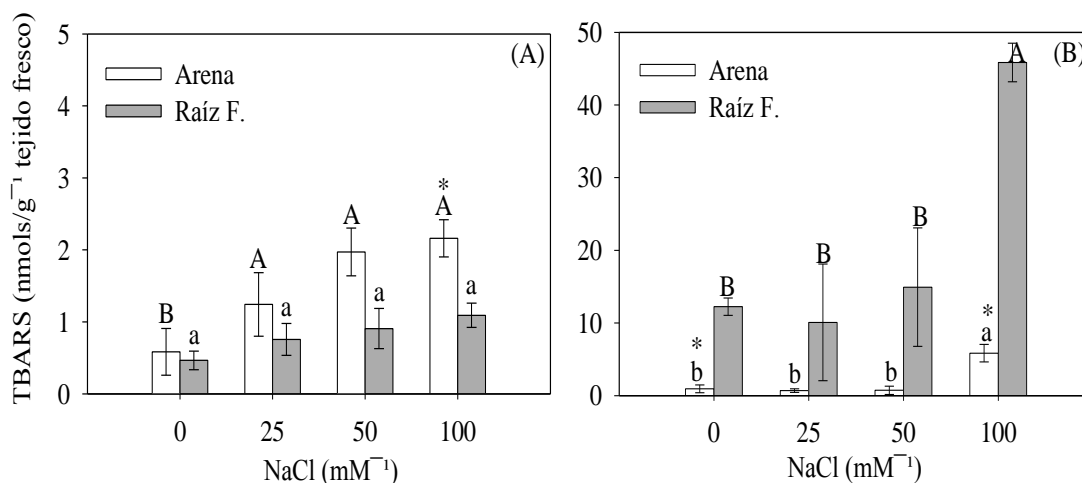


Figura 29. Nivel de peroxidación de lípidos (cuantificación como el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS, nmols gramo<sup>-1</sup> de tejido fresco en hojas de albahaca (*O. basilicum*) cultivar Nuffar. A 15 días, y B 45 días de tratamientos: Control, 25 mM, 50 mM y 100 mM. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Letras diferentes denotan diferencias entre tratamientos,  $p < 0.05$ .

#### 7.5.5. Análisis componentes principales

Se realizó el análisis de componentes principales (PCA) para obtener la respuesta general del comportamiento de albahaca (*O. basilicum*) a los tratamientos salinos y sistemas hidropónicos.

El primer análisis considero los sistemas hidropónicos como grupos (Arena y raíz flotante) sin minerales (15 días). Cabe mencionar que los datos de contenido mineral se excluyen a 15 días, ya que solo fueron medidos en la etapa final (45 días) del experimento. A partir del análisis de correlaciones, se concluye que los dos sistemas estudiados, tienen un efecto diferenciado fundamentalmente en las variables tasa relativa de crecimiento (TRC), peso fresco de hoja (PFH), tasa de asimilación neta (TAN), peso fresco y seco de tallo (PFT y PST) y superóxido dismutasa (SOD), siendo el sistema hidropónico de raíz flotante el de mejores resultados en dichas variables.

El segundo análisis considera tratamientos salinos como grupos (sin minerales). A partir del análisis factorial discriminante se concluye que los cuatro tratamientos (0, 25, 50 y 100 mM de NaCl) estudiados, tienen un efecto diferenciado principalmente en las variables APX, PH y TAN, observándose que no existe una diferenciación bien definida en cuanto a que tratamiento salino fue el que mostró los mejores resultados.

Análisis de componentes principales sistemas hidropónicos como grupos (con minerales). Como resultado del análisis factorial discriminante se concluye que los dos sistemas estudiados, tienen un efecto diferenciado principalmente en las variables peso fresco de hoja (PFH), peso seco de hoja (PSH), tasa relativa de crecimiento (TRC), manganeso en tallo (MnTI), manganeso en raíz (MnR) y magnesio en hoja (MgH) no existiendo una definición clara en cuanto al sistema hidropónico mejor en estas variables.

## 8- DISCUSIÓN

### 8.1 Efecto del NaCl sobre las variables morfométricas en sistemas hidropónicos arena y raíz flotante.

La tolerancia de las plantas a la salinidad depende de la concentración, etapa fisiológica, tiempo de exposición y especie (Tarchoune *et al.*, 2011; Munns, 2003). La tolerancia ha sido evaluada como el porcentaje de producción de biomasa en condiciones salinas, respecto al control (Munns, 2003). La variación en tolerancia a la salinidad en especies dicotiledóneas resulta ser mayor que en monocotiledóneas (Munns y Tester, 2008). La albahaca es una especie dicotiledónea, glicofita de acuerdo a la clasificación de (Mass y Hoffman, 1977). El cultivo albahaca variedad Nuffar, no presentó diferencias significativas entre tratamientos salinos a 15 días, en las variables morfométricas: hoja, tallo, raíz (peso fresco y peso seco) y área foliar en ambos sistemas de producción: arena y raíz flotante (Tabla II). Los resultados son consistentes con el estudio realizado por Tarchoune *et al.* (2011) quienes reportan que las plantas de albahaca (*O. basilicum*) expuestas a NaCl a 15 días no presentaron síntomas de desorden de crecimiento en peso fresco, seco y área foliar. Por lo tanto la especie albahaca en etapa de plántula posee la capacidad para tolerar concentraciones a 100 mM sin afectar su biomasa. Este comportamiento de albahaca a un efecto corto (15 días) puede estar asociado a una mayor actividad fotosintética (Fig. 15A). Esto sugiere una redistribución de la materia y energía, lo que permite a los cloroplastos adaptarse al estrés. Este tipo de ajuste son reversibles y van ligados a una interacción entre el complejo antena y la conversión de energía, así como el transporte de electrones del complejo tilacoidal y ciclo de Calvin para optimizar la tasa fotosintética bajo cambios ambientales (Pessarakli, 1999).

Por otra parte las plantas de albahaca en el sistema raíz flotante expuestas a un efecto largo (45 días) bajo salinidad, presentaron un incremento significativo de biomasa fresca a 50 mM en hoja (25%), tallo (22%), raíz (27%) y área foliar (29%) respecto al control (Tabla III). De acuerdo al coeficiente de correlación, se



observó una relación entre el ion magnesio ( $Mg^{2+}$ ) y peso fresco  $r = -0.86$  ( $p = 0.000$ ) y seco  $r = -0.90$  ( $p = 0.000$ ) en hoja; peso fresco  $r = -0.89$  ( $p = 0.000$ ) y seco  $r = -0.86$  ( $p = 0.000$ ) en tallo; peso fresco  $r = -0.87$  ( $p = 0.000$ ) y seco  $r = -0.90$  ( $p = 0.000$ ) en raíz. Así mismo se obtuvo una correlación positiva y significativa entre el Manganeseo ( $Mn^{2+}$ ) y el peso fresco de la hoja  $r = 0.68$  ( $p = 0.013$ ). Ello sugiere que la relación entre las variables de peso fresco en hoja, tallo y raíz con el  $Mg^{2+}$  aumenta la biomasa. La intervención del  $Mg^{2+}$  y  $Mn^{2+}$  en los procesos metabólicos radica en la activación de numerosas enzimas, entre ellas la ribulosa-1,5-bifosfato (RuBP) carboxilasa, enzima implicada en el proceso fotosintético y la asimilación de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (Marschner, 1986). Por su parte las plantas de albahaca en el sistema arena presentaron menor biomasa a 45 días en hoja, tallo, raíz y área foliar respecto a las plantas del sistema raíz flotante, atribuyendo esta diferencia al sustrato (Tabla III). Desde el punto de vista químico la arena es un sustrato inerte con baja capacidad de intercambio catiónico (CIC) y carbonatos, por lo tanto el pH puede aumentar dificultando la absorción mineral e induciendo un desarrollo foliar deficiente (Abad *et al.*, 2004). En un estudio realizado por Gil y Miranda (2007) donde evaluaron el efecto de cinco sustratos (turba, suelo, convencional, arena, turba+cascarilla) en (*Carica papaya* L.), observaron que el menor rendimiento se presentó en sustrato arena. Cuando una variedad se cultiva en distintas condiciones (nutrición mineral, temperatura, régimen de riego) en suelos salinizados pueden dar rendimientos superiores, dependiendo de las condiciones donde se encuentre el cultivo (Lesmes *et al.*, 2007). Bajo este esquema un sistema de producción raíz flotante permite a las raíces estar permanentemente en contacto con la solución acuosa. Por lo tanto, el desempeño de un gran número de funciones en beneficio de las plantas, depende de la disponibilidad de agua Salisbury y Ross (2000) y la ausencia de esta misma limita el crecimiento (Méndez *et al.*, 2007). Uno de los primeros efectos fisiológicos que induce el estrés salino en las plantas es la reducción del crecimiento (Nuñez *et al.*, 2007). Por lo anterior, se calcularon las tasas de crecimiento (TRC, TAN y IAF). La variable (TRC) en el sistema arena presentó un comportamiento no significativo de

los tratamientos respecto al control a 15 días y decreció aproximadamente 24% TRC a 45 días, sin diferencias significativas entre tratamientos. La TRC es un parámetro sensible a las condiciones donde se desarrolla el cultivo (Miranda y Gil, 2007). En un estudio realizado por Velasco *et al.* (2004) indicó que la capacidad de retención en arena fue 23.98%. El análisis de PCA indicó diferencias entre los sistemas hidropónicos en la TRC, siendo el sistema raíz flotante el de mayor respuesta. Por su parte las plantas de albahaca en el sistema raíz flotante presentaron mayor ganancia de biomasa aproximadamente 21% a 15 días y 15% a 45 días en comparación a plantas control (Fig. 12B). La cantidad de compuestos de carbono destinada a los procesos respiratorios tiene un gran impacto sobre la producción neta de biomasa, y puede desempeñar un papel importante desde el punto de vista económico en la producción vegetal (Azcon y Talón, 2000).

Respecto a la tasa de asimilación neta (TAN), las plantas cultivadas a 15 días en el sistema arena, fue menor 7.5% en comparación al control del sistema raíz flotante y esta variable mantuvo una asimilación constante de  $\text{CO}_2$  en el sistema arena hasta 45 días (Fig. 13). A mayores valores de TAN mejor eficiencia fotosintética promedio por cobertura vegetal (Barraza *et al.* 2004). Estas afirmaciones son consistentes con las plantas de albahaca cultivadas en el sistema raíz flotante, donde los valores de TAN fueron superiores, observando una mayor eficiencia 50 % a 25 mM respecto al control (Fig. 13). Esta eficiencia puede estar relacionada a una correlación con  $\text{Mg}^{2+}$   $r = -0.91$  ( $p = 0.000$ ) observada a 45 días. Por lo tanto, las plantas en el sistema raíz flotante presentaron un porcentaje 4.3% IAF mayor en comparación al sistema arena a 15 días. Sin embargo, la diferencia de sistemas se observó en mayor medida a 45 días presentando un porcentaje aproximadamente del 23% respecto al sistema arena en plantas control (Fig. 14). El índice de área foliar (IAF) es un parámetro que indica el desarrollo del cultivo, el uso de agua y la productividad, en un área de suelo (Maddoni *et al.*, 2000). Por ello se ha mencionado que la respuesta más sensible al estrés hídrico es el

crecimiento celular, bajo esta condición las hojas presentan menor área foliar fotosintéticamente activa Parra *et al.*, (1999), principalmente en el sistema arena.

### 8.2 Evaluación de la respuesta fisiológica bajo estrés por NaCl en el sistema arena y raíz flotante.

Menciona Heidari (2012) que la fotosíntesis es afectada por la salinidad, sin embargo, el estrés salino a hasta 100 mM no afectó la actividad fotosintética en hojas de albahaca en el sistema raíz flotante, incluso aumento a 15 días (Fig. 15). La capacidad fotosintética es una característica intrínseca de cada especie y depende de las variaciones en los factores ambientales a las que están expuestas (Larcher, 2004). Los resultados indican un mayor porcentaje de actividad fotosintética 33 y 44% a 50 y 100 mM respectivamente al control del sistema flotante. La mayor actividad se observó a 100 mM ( $6.79 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) encontrando diferencias significativas. Esto puede deberse a la alta correlación positiva y significativa observada entre la conductividad estomática y la tasa de transpiración  $r=0.94$  ( $p=0.000$ ), permitiendo mayor captación de  $\text{CO}_2$  y formación de biomasa fresca al sistema radicular, donde se correlaciona positivamente con la conductividad estomática  $r= 0.70$  ( $p= 0.011$ ) y la tasa de transpiración  $r= 0.74$  ( $p= 0.006$ ) como estrategia para mitigar el estrés salino a un efecto corto (15 días).

Por su parte en el sistema arena a 15 días no se observaron diferencias significativas en la actividad fotosintética. La mayor actividad se observó a 50 mM ( $3.41 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  comparada con el control ( $1.3 \mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ). Se observó una correlación positiva entre la conductividad estomática con el SPAD  $r= 0.61$  ( $p= 0.032$ ) y la tasa de transpiración  $r= 0.93$  ( $p= 0.000$ ). En un estudio realizado por Guo *et al.* (2014) en plantas de lino, el estrés salino incrementó la clorofila a y b, observando diferencias significativas a partir de 30 mM respecto al control. El incremento de la fotosíntesis bajo salinidad puede ser atribuido a un incremento en el contenido de clorofila (Fig.18A) o puede atribuirse a la acumulación de NaCl en los cloroplastos, reportado en plantas tolerantes a salinidad (Jamil y Rha, 2009). La fluorescencia de la clorofila provee información

acerca de la utilización de absorción de energía, disipación de excesos de energía y transporte de electrones en el fotosistema II (Maxwell y Jonhson, 2000). El rendimiento de la fluorescencia de clorofila es alto cuando menos energía se emite en forma de calor (Fig. 18 A). En un estudio realizado por Bernstein *et al.* (2009) en plantas de albahaca cultivar Perrie, observaron que la clorofila a y b no fue afectada por la salinidad en hojas jóvenes y maduras. Se ha reportado que en plantas tolerantes a salinidad, la concentración de clorofila no es afectada e incluso incrementa con la salinidad (Brugnoli y Bjorkman, 1992; Qui y Lu, 2003).

Un efecto prolongado de salinidad (45 días) sobre albahaca en ambos sistemas disminuyó la actividad fotosintética, esto puede deberse al descenso en la conductividad estomática y tasa de transpiración (Figs 16B y 17B). Se observó de manera particular en el sistema raíz flotante una correlación positiva y significativa entre la conductividad estomática y la tasa de transpiración  $r = 0.96$  ( $p = 0.000$ ). Esto coincide con lo mencionado por Flexas *et al.* (2007) donde el efecto del NaCl sobre el proceso de fotosíntesis puede ser directo a través de una disminución de la asimilación de CO<sub>2</sub> ó resultado de una disminución en la tasa de transpiración y conductividad estomática (Tarchoune *et al.*, 2011). Se observó una correlación entre la tasa de transpiración y Na<sup>+</sup> en hoja  $r = -0.60$  ( $p = 0.036$ ) en el sistema flotante. La regulación en la tasa de transpiración ha sido un rol importante en controlar las acumulaciones de iones en los puntos de crecimiento, debido a que el transporte de sales ocurre por flujo transpiratorio (Passioura y Munns, 2000). Una baja tasa de transpiración ha sido correlacionada con la tolerancia a salinidad (Maggio *et al.*, 2006). La reducción de la apertura estomática en albahaca puede prevenir la pérdida de agua por transpiración a una mayor exposición de salinidad, por lo tanto, la disminución de la conductividad estomática (75%) y consecuentemente la tasa de transpiración (52%) a 100 mM pudiese ser un mecanismo en albahaca para evitar el exceso de sales en lugar de solo una pérdida de agua por transpiración y absorción de CO<sub>2</sub>.

Se ha mencionado que generalmente la salinidad reduce el crecimiento en dos fases: presión osmótica y toxicidad iónica (Munns y Tester, 2008). El potencial hídrico de albahaca a 15 días en ambos sistemas decreció a 100 mM (Fig. 19A). Sin embargo, esta reducción de potencial hídrico en arena 30% y en raíz flotante 32% respecto al control no fue lo suficiente para disminuir el crecimiento en albahaca (Tabla II). Por lo tanto, este comportamiento puede asumirse como un indicador en la capacidad de ajuste osmótico en albahaca. Las células de las plantas pueden resistir el estrés salino y el déficit hídrico, manteniendo suficiente turgor para permitir el crecimiento, transporte, acumulación y compartimentación de los iones inorgánicos y orgánicos (Morales *et al.*, 2004; Chen y Liang, 2010). La segunda fase (45 días) de la respuesta de la planta a la salinidad se inicia cuando iones específicos  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  se acumulan por largos periodos en las hojas (Munns y Tester, 2008). En plantas de albahaca del sistema arena el potencial hídrico fue más negativo (Fig. 19B). Se observó una correlación negativa y significativa del potencial hídrico con  $\text{K}^+$   $r = -0.71$  ( $p = 0.008$ ). Debido a ello, la reducción del crecimiento de albahaca a 100 mM en el sistema arena puede ser atribuido a la precipitación de iones  $\text{K}^+$  (22%) y a una acumulación de  $\text{Na}^+$  (29%), respecto al control, indicando un antagonismo el cual determina un efecto iónico (Munns, 2002). La disminución del potencial hídrico es altamente correlacionada con el incremento de la salinidad en el medio (Mezniet *et al.*, 2010). Esto fue observado en plantas de alfalfa, donde el potencial hídrico foliar de 3 variedades estudiadas (Gabès, Hunterfield y Hyb.555) decreció significativamente al incrementar la salinidad  $10\text{g/L}^{-1}$  (100 mM) en el medio. La acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en la planta, órgano o tejido específico de la célula, puede ser un indicador de la tolerancia a la salinidad y nivel de estrés (Bernstein *et al.*, 2009).

Las plantas de albahaca en el sistema raíz flotante a 45 días redujeron el potencial hídrico en un (20%) a 100 mM, respecto al control, observando una correlación negativa con  $\text{Na}^+$   $r = -0.61$  ( $p = 0.034$ ). Sin embargo, el comportamiento de iones  $\text{K}^+$  incremento (15%) y  $\text{Na}^+$  (75%) a 100 mM respecto al control,

observando una correlación positiva  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$   $r= 0.74$  ( $p=0.005$ ). Menciona Yeo (1983) que un mayor crecimiento en sustratos salinos requiere de un incremento de solutos osmóticamente activos en el tejido. La síntesis de solutos orgánicos, así como la absorción  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  pueden ser incrementadas (Marschner, 1986). El  $\text{K}^+$  favorece el potencial osmótico de las células y tejidos en plantas glicofitas, activación de enzimas, movimiento estomático y estimula la fijación de  $\text{CO}_2$  (Marschner, 1986).

### 8.3 Contenido mineral de hoja, tallo y raíz en albahaca a 45 días

En la literatura se ha reportado por varios autores (Munns *et al.*, 2006; Blumwald, 2000; Tester y Davenport, 2003) que el estrés salino ejerce una presión osmótica en la solución del suelo mayor a una presión osmótica en las células de las plantas. Bajo estas condiciones las plantas pierden la habilidad para absorber agua y minerales, particularmente  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  (Glenn *et al.*, 1997). Las plantas de albahaca expuesta a salinidad durante 45 días indican que la presencia de  $\text{Na}^+$  fue superior en raíz, seguido de tallo y hoja (Figs 23, 24 y 25). Resultados similares obtuvieron Tarchoune *et al.* (2011) donde las plantas de albahaca cv Genoves, la concentración de  $\text{Na}^+$  fue mayor en raíz y tallo que en hojas. En ambos sistemas de producción hidropónica las plantas de albahaca excluyeron en mayor cantidad el  $\text{Na}^+$  en hoja. Ciertos mecanismos de retraslacion de  $\text{Na}^+$  de los meristemos a las raíces acoplado a una estrategia de desalinización de la savia del xilema a lo largo del tallo fueron mencionados por (Attia *et al.*, 2009). El secuestro de iones de  $\text{Na}^+$  dentro de la vacuola es un mecanismo eficiente para reducir la concentración de  $\text{Na}^+$  en el citosol. Por consiguiente, la disminución de iones  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  (Figs 23, 24 y 25), ha sido bien establecido bajo salinidad (Munns y Tester, 2008). Sin embargo, albahaca exhibe una fuerte selectividad por  $\text{K}^+$  (Tarchoune *et al.*, 2011). En el caso particular del sistema raíz flotante fue observado un incremento de  $\text{K}^+$  (15%) respecto al control a 100 mM y una relación  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  ( $r= 0.74$ ) en hojas (Figs 23B). El análisis de PCA presento diferencias entre sistemas hidropónicos con minerales en las variables peso fresco y seco en hoja (Tabla III). El

crecimiento de albahaca bajo salinidad puede ser atribuido a una correcta compartimentalización de  $\text{Na}^+$ . Las células acumulan más  $\text{K}^+$  durante el estrés salino (Obata *et al.*, 2007). La acumulación de iones principalmente  $\text{K}^+$  en el citosol y  $\text{Na}^+$  en la vacuola son encontrados en cultivares y especies tolerantes a salinidad (Gorham *et al.*, 1985). Por lo tanto la relación  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en brotes es crucial en la tolerancia en plantas glicofitas (Yamaguchi y Blumwald, 2005). Resultados reportados por Shabala *et al.* (2010) demostraron usando cultivo de cebada a diferentes niveles de salinidad, la tolerancia no es necesariamente asociada a la acumulación de  $\text{Na}^+$  en la sabia xilema, sino también al incremento de  $\text{K}^+$  en el xilema. En relación al  $\text{Ca}^{2+}$  menciona Cramer y Lauchli (1986) que al incrementar el NaCl en solución hidropónica se reduce la actividad de este elemento. El comportamiento de este catión a 100 mM en plantas de albahaca (hoja) decreció en raíz flotante 13.5% y presentó una correlación negativa Na/Ca  $r = -0.86$  ( $p = 0.000$ ), mientras en el sistema arena disminuyó el  $\text{Ca}^{2+}$  2.1%.

#### *8.4 Actividad de las enzimas antioxidantes en albahaca (O. basilicum) bajo estrés por NaCl en sistemas hidropónico basado en arena y raíz flotante.*

Existe escasa información en la literatura acerca de la respuesta enzimática del cultivo albahaca cultivar Nuffar bajo salinidad en sistemas de producción hidropónica arena y raíz flotante. La tolerancia a la salinidad resulta de una gran eficiencia en la respuesta de enzimas antioxidantes a la generación de radicales libres de oxígeno (ROS) (Parida y Das, 2005). Menciona Azooz *et al.* (2009) en ambientes desfavorables las plantas incrementan la producción de oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ), radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ). La generación de las ROS en plantas estresadas es inducida principalmente en las vías alternativas fotosíntesis, fotorrespiración y respiración (Rich y Bonner, 1978). Por lo tanto puede resultar en la peroxidación de lípidos de la membrana, oxidación de proteínas y disrupción del fotosistema II (Zhu, 2001). Para proteger las células de las ROS, menciona Blokhina *et al.*, (2003) que el tejido de las plantas contiene una maquinaria enzimática superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y no enzimática glutatión

reducido (GSH), ácido ascórbico (AA), carotenoides y tocoferoles (Mittler *et al.*, 2004). Resultados evaluados a 15 días indican que el comportamiento de la actividad enzimática SOD en plantas de albahaca (hoja) incremento (15%) en sistema arena y (3.6%) en sistema raíz flotante a 100 mM sin diferencias significativas, respecto al control. Así mismo, el comportamiento de SOD en albahaca a un mayor tiempo de exposición (45 días) de NaCl en ambos sistemas no presento diferencias significativas. Sin embargo, la actividad SOD fue 19% mayor en plantas del sistema arena y 11% en plantas del sistema flotante respecto al control a 100 mM (Fig. 26B). Resultados reportados por Costa *et al.* (2005) en Sorgo (*Sorghum bicolor*) bajo 75 mM NaCl la actividad SOD incremento 49% en genotipos sensibles y 38.2% en tolerantes. Por su parte Ramírez *et al.* (2008) en chile ancho (*C. annuum*) reportaron que la actividad enzimática SOD incremento aproximadamente 43% a 4.0 ds.m<sup>-1</sup> (25 mM) en comparación al control, determinando esta concentración como el umbral de tolerancia en Chile ancho cv. Caballero. Nuestros resultados en cuanto a la actividad SOD indican que albahaca posee la capacidad enzimática para dismutar radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) a 100 mM. Sin embargo, la actividad SOD fue superior aproximadamente (38%) y (46%) a 15 y 45 días en plantas del sistema arena a 100 mM (Figs. 26A y B). El análisis de PCA presento diferencias en SOD, siendo el sistema hidropónico de raíz flotante el de mejores resultados.

La cantidad relativa de clorofila (SPAD) indica que arena a 15 días fue 20% menor al sistema raíz flotante a 100 mM y a 45 días aumento 12.5% en raíz flotante y 5% en arena respecto al control. (Figs. 18A y B). Por lo tanto, el déficit de electrones en la clorofila debe ser compensada por los electrones derivada de la oxidación del agua (Heldt, 2005). En base a lo anterior es posible que en el sistema arena la reposición de electrones por parte del agua en plantas de albahaca sea menor y se derive un estado triplete de la clorofila (3Cl\*) (Fig. 19 A y B). Menciona Gill y Tuteja (2010) que los cloroplastos son la mayor fuente de las ROS. A consecuencia, es posible que se produzca una reducción de la ferredoxina



y los electrones sean transferidos del fotosistema P700 al oxígeno para dar paso a la formación del radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) proceso conocido como la reacción de Mehler (Heldt, 2005; Abogadallah, 2010). Por lo tanto, la participación de las CAT y APX es fundamental para la detoxificación del  $H_2O_2$  y prevenir mayores niveles de radicales hidroxilo ( $\cdot OH$ ). Bajo condiciones de estrés severo, las CAT actúan en la remoción del  $H_2O_2$  (mM) en lugar de la APX ( $\mu M$ ) la cual protege las enzimas del estroma y el aparato fotosintético en la membrana tilacoidal de un daño oxidativo (Vazet *al.*, 2014). La actividad de CAT a 15 días fue 67.3% superior en el sistema raíz flotante en comparación al control, presentando diferencias significativas a 100 mM. Se observó una correlación positiva y significativa entre la actividad CAT y fotosíntesis  $r = 0.71$  ( $p = 0.009$ ). Esto puede estar relacionado, a su vez con la correlación negativa y significativa con el potencial hídrico  $r = -0.77$  ( $p = 0.003$ ) (Fig. 19A), donde en suelos salinos disminuye (Fenner y Thompaon, 2005). Por otra parte, el incremento de CAT en plantas de albahaca del sistema raíz flotante puede ser atribuido a un mecanismo de adaptación o ajuste en la conductividad estomática (Fig. 16A) y tasa de transpiración (Fig. 17A) a 100 mM para disminuir excesos de NaCl en el tejido foliar y evitar peroxidación de lípidos (Fig. 29A). Sin embargo, a 45 días la actividad de CAT disminuyó, sin diferencias significativas, observando una correlación positiva entre la actividad CAT y  $Na^+$   $r = 0.65$  ( $p = 0.021$ ), así mismo una correlación con potencial hídrico  $r = -0.62$  ( $P = 0.029$ ). Esto puede indicar una inhibición de la actividad CAT por presencia de  $Na^+$  cuando es expuesta a un periodo largo de salinidad. Este comportamiento fue reportado por Campos, (2012) en (*Jatropha curcas* L.), donde la actividad CAT disminuyó 27% a  $3.5 ds.m^{-1}$  en comparación al tratamiento control. Sin embargo, Weisany *et al.* (2012) en plantas de soybean (*Glicine max* L.) encontraron en CAT un incremento de 547% a 99 mM en comparación al control. Por su parte las plantas de albahaca en el sistema arena el incremento de CAT a 100 mM fue 2% a 15 días y 4.8% a 45 días respecto al control sin diferencias significativas. Observando que los niveles de actividad en catalasa fueron constantes hasta 45 días, reflejando este comportamiento en la biomasa (Tabla II y III). Por otra parte,

La actividad de la APX en plantas de albahaca del sistema raíz flotante disminuyó 40% a 15 días y 8% a 45 días en sistema raíz flotante a 100 mM respecto al control (Fig 28 A y B). Por su parte la actividad de APX disminuyó 24% en sistema arena a 15 días, presentando una correlación positiva y significativa con el potencial hídrico  $r = 0.66$  ( $p = 0.018$ ). A 45 se observó un decremento similar del 20% en sistema arena respecto al control, observando una correlación positiva y significativa con la tasa fotosintética  $r = 0.76$  ( $p = 0.004$ ). Resultados opuestos obtuvo Tarchoune *et al.*, (2012) en albahaca (*O. basilicum*) cultivar fine verde, donde la actividad de APX incremento 55% a 50 mM L<sup>-1</sup> NaCl en comparación al control. En plantas de Pea (*Pisum sativum*) cv. Puget, Gómez *et al.* (2004) observaron que la actividad de APX en la membrana tilacoidal decreció 53% a partir de 70 mM NaCl. El APX depende de la reducción de ascorbato por la glutatión, ferredoxina reducida y NADPH (Halliwell y Gutteridge, 1999). Por lo tanto es dependiente de la disponibilidad ácido ascórbico reducido y en algunos casos del glutatión reducido (Polle, 2001). Ello sugiere que el comportamiento de la APX en este estudio puede ser atribuido a la transferencia de electrones cíclica en la fase luminosa, en la cual no hay producción neta de NADPH, Heldt(2005) debido a que estos antioxidantes son mantenidos en su estado reducido por un set de enzimas capaces de usar NADPH (Smirnff, 2005).

El índice de peroxidación de lípidos (TBARS) se ha utilizado como un marcador del grado de estrés oxidativo a nivel de la membrana celular (Ramírez *et al.*, 2008). Los niveles de TBARS a 15 días en plantas de albahaca del sistema arena presentaron diferencias respecto al control, 14%, 28% y 38% a partir de 25, 50 y 100 mM. Se observó una correlación negativa entre el potencial hídrico y daño a lípidos  $r = -0.74$  ( $p = 0.006$ ). Por su parte en plantas de albahaca del sistema raíz flotante no presentaron diferencias al control (Fig. 29A), así mismo se observó una correlación negativa entre el potencial hídrico y la peroxidación de lípidos  $r = -0.63$  ( $p = 0.026$ ), lo cual sugiere que el efecto de la salinidad a un periodo corto (15 días) se asocia a un efecto osmótico, siendo superior en sistema arena (Fig. 29A).

Esto indica que en los tejidos foliares se produjo mayor EROs en el sistema arena que el sistema raíz flotante, observando un decremento de moléculas de clorofila (Fig. 18A), debido a una menor reposición de electrones por parte de la fotólisis del agua, lo cual está asociado a una mayor actividad de la enzima SOD (Fig. 26A) y consecuentemente la generación de  $H_2O_2$ , donde la participación de CAT y APX no fue suficiente para evitar peroxidación de lípidos (Fig. 29A), resultando en menor crecimiento en el sistema arena (Tabla. I). Resultados similares al sistema raíz flotante reportaron Tarchoune *et al.* (2012) donde los niveles de TBARS no presentaron diferencias significativas a 50 mM a 15 días. Por su parte Aktas (2012) en plantas de Chile (*C. annuum*), menciona que el daño a lípidos fue 31% en genotipos sensibles y 18% en genotipos tolerantes a 75 mM. En el caso particular del sistema raíz flotante se observó una correlación positiva entre la actividad SOD y peroxidación de lípidos  $r = 0.65$  ( $p = 0.022$ ). Ello sugiere lo descrito anteriormente donde la reposición de electrones en un sistema raíz flotante puede ser mayor el cual indica menor degradación de pigmentos fotosintéticos (Figura. 18A), debido a que las raíces están permanentemente en contacto con la solución nutritiva, favoreciendo un mejor ajuste osmótico a 15 días.

El estrés abiótico provoca un incremento en la producción de EROs y suele ser severo a mayor presión ejercida por el estrés, a consecuencia de éste provoca un daño oxidativo. En nuestros resultados a 45 días se observó un incremento de los niveles de peroxidación de lípidos en el sistema raíz flotante de 66.7% a 100 mM respecto al control (Fig. 29B) presentando una correlación positiva con  $Na^+$   $r = 0.86$  ( $p = 0.000$ ). Se ha mencionado que el estrés salino causa mayor producción de EROs y estas a su vez pueden afectar la integridad de las membranas e inducir pérdida de iones (Caverzan *et al.*, 2012). Por consiguiente, esto puede estar asociado a una pérdida de  $Ca^{2+}$  (Fig. 23C), donde se observó una correlación negativa  $r = -0.79$  ( $p = 0.002$ ). Se ha mencionado que la deficiencia de  $Ca^{2+}$  interfiere con procesos fotosintéticos, resultando un descenso de la carboxilación y capacidad fotosintética (Demarty *et al.*, 1984). Por otra parte, el  $Ca^{2+}$  regula la

apertura estomática. Por lo tanto, este nivel de peroxidación de lípidos puede estar relacionado a una fotorrespiración, donde se observó una correlación negativa en la conductividad estomática  $r = -0.79$  ( $p = 0.002$ ) (Fig. 16B) y tasa de transpiración  $r = -0.72$  ( $p = 0.007$ ) (Fig. 17B), procesos relacionados al flujo de  $\text{CO}_2$ . Menciona Smirnoff, (2005) que en plantas C3 el déficit de  $\text{CO}_2$  activa la vía de fotorrespiración, donde se genera  $\text{H}_2\text{O}_2$  por la oxidación del glicolato oxidasa en los peroxisomas. Por lo tanto la participación de la enzima CAT es importante para controlar los niveles de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y convertir esta reacción en oxígeno y agua. Sin embargo se observó que la actividad de CAT disminuyó (Fig. 27B) cuando fue expuesta a mayor periodo de estrés. El decremento de CAT puede estar asociado a un incremento de  $\text{H}_2\text{O}_2$  que a su vez inactiva las enzimas (Causinet *et al.*, 2009). Por otra parte también puede ser atribuido a la etapa fenológica (floración), momento en la cual se tomó la muestra. La peroxidación de lípidos es un proceso metabólico normal asociado con los procesos de desarrollo de las plantas, incluyendo la etapa juvenil, la producción de compuestos volátiles, y la senescencia. (Anderson, 1995). Respecto al sistema arena, el daño a lípidos incremento 9.8% a 100 mM comparado al control (Fig. 29B) y presenta una relación con  $\text{Na}^+$   $r = 0.87$  ( $p = 0.000$ ). Este comportamiento puede estar asociado a un notable descenso de la conductividad estomática (Fig. 16B) y tasa de transpiración (Fig. 17B).

La participación del sistema antioxidante es vital en contra de las EROs. Cuando la actividad de las enzimas SOD y CAT es baja, el radical superóxido y  $\text{H}_2\text{O}_2$  puede incrementar y producir radical hidroxilo, el cual afecta a biomoléculas (Esfandiari *et al.*, 2007). Por lo tanto, aunque la actividad enzimática incremento en SOD y CAT, la participación de las enzimas probablemente no fue suficiente para eliminar el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y evitar daño a lípidos a 100 mM, lo cual indica que albahaca posee como umbral de tolerancia al estrés salino en ambos sistemas de producción hidropónica hasta 50 mM, sin afectar su biomasa (Tabla II).

Para futuras investigaciones se recomienda evaluar otras enzimas participes de la cadena del flujo de electrones para tener una mayor comprensión de la respuesta de los cultivos bajo estrés salino en sistemas de producción hidropónica.

## 9- CONCLUSIONES

- La planta de albahaca cv Nuffar es una especie tolerante a salinidad lo cual permite utilizar aguas salobres hasta 50 mM sin afectar su crecimiento.
- El uso de sistema hidropónico de raíz flotante permite una mayor homeostasis que el sistema arena en albahaca, debido al flujo constante de agua y minerales.
- Las plantas de albahaca tienen la capacidad de compartimentalizar el sodio dentro de la vacuola, disminuyendo la concentración de  $\text{Na}^+$  en hojas.
- Los resultados presentan un sistema antioxidante SOD, CAT y APX eficiente para contrarrestar los radicales libres de oxígeno, adaptándose a corto y largo plazo a concentraciones a 50 mM como umbral de tolerancia para evitar daño oxidativo.
- Se requiere mayor investigación en emplear aguas salobres en modelos de producción hidropónica hasta la etapa de producción comercial y evaluar el sistema antioxidante como indicadores de tolerancia al estrés salino.
- Finalmente, los sistemas hidropónicos son modelos interesantes que deben emplearse para evaluar la respuesta fisiológica, bioquímica y molecular de especies bajo salinidad.

## 10- LITERATURA CITADA

Abad, M., P. Noguera, C. Carrión. 2004. Los sustratos en los cultivos sin suelo. En: Urrestarazu, M. (3ª ed). Tratado de Cultivo Sin Suelo. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 113-158p.

Abogadallah, G. M. 2010. Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signal Behav.* 5(4): 369-374.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121-126.

Aktas, H., K. Abak, and S. Eker. 2012. Antioxidative responses of salt tolerant and salt sensitive pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes grown under salt stress. *J Horti Sci Biotech.* 87(4): 360.

Anderson, J. A. 1995. Lipid peroxidation and plant tissue disorders: Introduction to the workshop. *Hort. Sci.* 30 (2):196–197.

Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Plant Biol.* 55: 373-399.

Aymen, E. M. and Cherif, H. 2013. Influence of seed priming on emergence and growth of coriander (*Coriandrum sativum* L.) seedlings grown under salt stress. *Acta Agric Slove.* 101(1): 41-47.

Azcón. B. J. y Talón, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mcgraw-hill Interamericana. Primera edición España, Barcelona. 522p.

Azooz, M. M., A. M. Ismail, and Elhamd, M. A. 2009. Growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities as a selection criterion for the salt tolerance of maize cultivars grown under salinity stress. *Int. J. Agric. Biol.* 11. 21-26.

Bafeel, S. O. and Ibrahim, M. M. 2008. Antioxidants and accumulation of alpha-tocopherol induce chilling tolerance in *Medicago sativa*. In: Mohammad Pessaraki. Third edition. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC press. USA, FL. 97-99P.

Bailey, S. J. and Mittler, R. 2006. The roles of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiol.* 141: 131.

Barraza, F., Fischer, G. y Cardona, C. 2004. Estudio del proceso de crecimiento del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el valle del Sinú medio, Colombia. *Agron. Colomb.* 22(1): 81-90.

- Benavides-Mendoza, A., H. Ramirez, V. Robledo-Torres, L.O. Fuentes-Lara. 2009. Antioxidantes en las plantas: Algunos factores ambientales y edáficos que la modifican. En: Benavides-Mendoza, A.(ed). Sociedad Mexicana de las Ciencias del Suelo, A. C.Temas Modernos de Nutrición Vegetal. Edición. Saltillo, Coahuila.13-26p.
- Benzarti, M., Rejeb, K. B., Debez, A., Messedi, D. and Abdelly, C. 2012. Photosynthetic activity and leaf antioxidative responses of *Atriplex portulacoides* subjected to extreme salinity. *Acta Physiol Plant*, 34(5): 1679-1688.
- Bernstein, N., Kravchik, M. and Dudai, N. 2010. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) in relation to alterations of morphological development. *Ann Appl Biol*.156(2):167-177.
- Bhandal, I. S.,Malik,C. P. 1998. Potassium estimation, uptake and its role in the physiology and metabolism of flowering plantas. *Internat. Rev. Cytol*. 110:205-254.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Ann. Bot*. 91: 179–194.
- Blumwald, E. 2000. Sodium transport and sat tolerance in plants. *Curr Opin Cell Biol* 12(4): 431-434.
- Brugnoli, E., Bjorkman, O. 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*.187: 335–347.
- Cadenas, E., and Sies, H. 1985. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. *Adv Enzyme Regul*. 23: 217-237.
- Campos, M. L. D. O., Hsie, B. S. D., Granja, J. A. D. A., Correia, R. M., Almeida-Cortez, J. S. D., and Pompelli, M. F. 2012. Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L. under salt stress. *Braz J Plant Physiol* 24(1): 55-67.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., and Margis-Pinheiro, M. 2012. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genet Mol Biol*. 35(4): 1011-1019.
- Causin, H. F., Roberts, I. N., Criado, M. V., Gallego, S. M., Pena, L. B., Ríos, M. D. C.,Barneix, A. J. 2009. Changes in hydrogen peroxide homeostasis and cytokinin levels contribute to the regulation of shade-induced senescence in wheat leaves. *Plant Sci*. 177(6): 698-704.



Chen, W. Z. Hou, L. Wu, Y. Liang, C. Wei. 2010. Effects of salinity and nitrogen on cotton growth in arid environment. *Plant and Soil*. 326 (1-2): 61-73.

Colville and Smirnoff, 2008. Antioxidant status, peroxidase activity, and PR protein transcript levels in ascorbate-deficient *Arabidopsis thaliana* vtc mutants. In: Mohammad Pessarakli. Third edition. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC press. USA, FL. 97-99p.

Costa, P. H. A. D., Neto, A. D. D. A., Bezerra, M. A., Prisco, J. T. and Gomes-Filho, E. 2005. Antioxidant-enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Braz J Plant Physiol*. 17(4): 353-362.

Cramer, G. R., Alberico, G. J. and Schmidt, C. 1994. Salt tolerance is not associated with sodium accumulation of two maize hybrids. *Aust. J. Plant Physiol*. 21. 675-692.

Cramer, G.R. and Läuchli, A. 1986. Ion activities in solution in relation to Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> interactions at the plasmalemma. *J. Exp. Bot.* 37(3): 321-330.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. Van., Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life*. 57. 779-795.

Delauney, A. and Verma, D. P. S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J*. 4. 215-223.

Demarty, m., Morvan, Cc. and Thellier, M. 1984. Calcium and the cell wall. *Plant Cell Environ*. 7(6): 441-448.

Dhindsa, R.S. and Mathowe, W. 1981. Drought tolerance in two mosses, correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation, *J Exp Bot*. 2. 79-91.

Dracup, M. 1991. Increasing salt tolerance of plants through cell culture requires greater understanding of tolerance mechanisms. *Aust. J Plant Physiol*. 18.1-15

Dubey, R.S. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: Mohammad Pessarakli. Handbook of photosynthesis. New York: Marcel Dekker. 859-875p

Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. and Esfandiari, M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 35(1): 48-56.

Evans, G. C. 1972. The quantitative analysis of plant growth. Studies in ecology. Blackwell Scientific Publication. Berkley and Los Angeles California. Primera Edición. Londres. 734p.

FAO. 2008. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>: In Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Physiol.* 59. 651-81.

Fenech, L. L. 1998. Efecto de los ácidos húmicos en la germinación, generación de plántulas y parámetros fisiotécnicos de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en condiciones salinas. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S. México, 2008.

Fenner, M. and K. Thompson. 2005. The Ecology of Seeds. Cambridge University Press. 250p.

Fergani, E. E. 1997. Response of antioxidant enzymes of polyphenol oxidase from glandular trichomes of to excess copper in tomato (*Lycopersicon Salanum berthaultii*. *Plant Physiol.*, 100: 677-684. *Esculantum*, Mill). *Plant Sci.*, 127: 129-137.

Fernández, M. A. 2010. Agricultura en el desierto, Sitio web “una práctica esencial para paliar el cambio climático y posibilitar el desarrollo de países desfavorecidos”, entrada del 8 de abril de 2010, consultado el 22/05/12. URL: [http://www.consumer.es/web/es/medio\\_ambiente/naturaleza/2010/04/08/192242.php](http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/naturaleza/2010/04/08/192242.php)

Flexas, J., Ortuño, M. F., Ribas-Carbo, M., Díaz-Espejo, A., Florez-Sarasa, I.D., Medrano, H. 2007. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub> in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* 175. 501–511.

Foolad, M. R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int J Plant Genom.* 52p

Foyer, C. H., Theodoulou, F. L., Delrot, S. 2001. The functions of intercellular and intracellular glutathione transport systems. In: Mohammad Pessarakli. Third edition. *Handbook of Plant and Crop Stress*. CRC press. USA, FL. 97-99p.

Gil, A. I., Miranda, D. 2007. Efecto de cinco sustratos sobre índices de crecimiento de plantas de papaya (*Carica papaya* L.) bajo invernadero. 1(2): 142-153.

Gill, S. S., Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.

Gorham, J., Wyn Jones, R. G., McDonnell, E. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant and Soil* 89:15–40.

Guo, J. X. Liu, X. Li, S. Chen, Z. Jin, and G. Liu, 2006. Overexpression of VTE1 from *Arabidopsis* resulting in high vitamin E accumulation and salt stress tolerance increase in tobacco plant. In: Mohammad Pessaraki. Third edition. *Handbook of Plant and Crop Stress*. CRC press. USA, FL. 97-99p.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press. Third edition. Oxford New York. 936p.

Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., Bohnert, H. J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:463–99.

Heidari, M. 2012. Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. *Afr J Biotechnol.* 11(2): 379-384.

Heldt, H.W. 2005. *Plant biochemistry*. 3rd ed. London, U.K. Elsevier Academic Press. 104 p.

Herrera, A. L. 1999. Nutrient Solution Management in the Hydroponic Production of Tomato, *Latinoamericana.* 17(3): 221-229.

Hunt, R. 1990. *Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners*. Unwin Hyman, Londres. 112p.

Jacoby, B. 1994. Mechanisms involved in salt tolerance by plants. In: *Handbook of plant and Crop Stress*. Mohammad. Pessaraki (ed). Marcel Dekker, New York. 97-145p.

Jamil, M., and Rha, E. S. 2009. Effect of Different Water Table Treatments on Cabbage in Saline Saemangeum Soil. In: Ashraf, M., Ozturk, M., Athar, Habib-ur-Rehman (eds.) *Salinity and Water Stress*. Springer Netherlands. 244p.

Kähkönen-Marja, Anu I., Copia, Heikki J., Vuorela, Jussi- Pekka. R., Kalevi Piha-laja, Tutti S., Kujala and Marina, Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954 -3962.

Kavi Kishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., SriLaxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Sreenath Rao, K. J., Reddy, P., Theriappan and N. Screenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and

transport in higher plants: its implications in plants growth and abiotic stress tolerance. *Curr Sci.* 88 (3): 424-438.

Larcher, W. 2004. *Ecofisiología vegetal*. Sao Carlos: RiMa. Pp. 531.

Larrinaga-Mayoral, J.A. 2001. Efecto de NaCl sobre la fisiología, crecimiento y producción en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S.Mexico.

Lebsky, V. Poghosyan, A. Silva-Rosales, L. 2010. Application of scanning electron microscopy for diagnosing polytoplasmas in single and mixed (*virus-phytoplasma*) infection in papaya. *Julius Kuhn Archiv*, 427:70-78.

Lesmes, R. Molano, A. Miranda, D. y Chaves, B. 2007. Evaluación de la concentración de NaCl en el agua de riego sobre el crecimiento de lechuga "Batavia" (*Lactuca sativa* L.). 1(2): 222-235.

Li, F. R., Vallabhaneni, J., Yu, T., Rocheford, and Wurtzel, E. T. 2008. The maize phytoene synthase gene family: Overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis, and thermal stress-tolerance. En: Mohammad Pessaraki. Third edition. *Handbook of Plant and Crop Stress*. CRC press. USA, FL, 97-99p.

Logan, B. A., Kornyejev, D., Hardison, J., and Holaday, A. S. 2006. The role of antioxidant enzymes in photoprotection. *Photosyn Res.* 88(2):119-132.

Maas, E.V. and Hoffman, G.L, 1977. Crops tolerance current assessment, *J. Irrig. Drainage Riv.* ASCE 103 (R2), 103-115.

Maddoni, G. A. E., Otegui, and G. Cirilo. 2001. Plant population density, row spacing and irbid effects on maize canopo architecture and light attenuation", *Field Crop Res.* 71:183-193.

Maggio, A., Zhu, J.K., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. 2006. Osmogenetics: Aristotle to *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18: 1542–1557.

Manchanda, G., Garg, N. 2008. Salinity and its effect on the functional biology of legumes. *Acta Physiol Plant.* 30: 595-618.

Maxwell, K. and Johonson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51: 659-668.

- Mehr, Z. S. and Bahabadi, S. E. 2013. Physiological and antioxidant responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to salinity. *Int J Agric Crop Sci.*5(4):344-348.
- Méndez, N. J. R, L. Lara, J. A. Gil, M. 2007. Efecto del riego por goteo en el crecimiento inicial de tres cultivares de algodón (*Gossypium hirsutum* L.). *Idesia.* 25(2): 7-15.
- Minero, A. A. 2004. Mercados nichos: hierbas finas. *Productores de Hortalizas* 13(10):24–31.
- Miranda, D., Gil, A. I. 2007. Efecto de cinco sustratos sobre índices de crecimiento de plantas de papaya (*Carica papaya* L.) bajo invernadero. *Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas.*1(2): 142-153.
- Mittler, R. S., Vanderauwera, M., Gollery, Van., Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9:490-498.
- Morales, D., Rodríguez, P., Sánchez-Blanco, M. de J., Torrecillas, A. 2004. Efecto del estrés por NaCl en el crecimiento y las relaciones hídricas de diferentes variedades de arroz (*Oryza sativa* L.). *Cultivos Tropicales* 25(4):11-16.
- Moschou, P. N., Paschalidis, K. A., Delis, J. D., Andriopoulou, A. H., Lagiotis, G. D., Yakoumakis-Angelakis, K. A. 2008. Spermidine exodus and oxidation in the apoplast induced by abiotic stress is responsible for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signatures that direct tolerance responses in tobacco. *Plant Cell* 20: 1708-1724.
- Munns R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167:645–663.
- Munns R., James, R.A., Laüchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J Exp Bot* 57(5):1025-1043.
- Munns, R. and James, R. A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study of with tetraploid wheat. *Plant and Soil.* 253(1): 201-218.
- Munns, R. y Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol.* 59: 651-81.
- Murillo- Amador, B., Rueda- Puente, E.O., Ruiz-Espinoza, F.H., Garcia-Hernandez, J.L., Beltrán-Morales, F.A. 2010. *Agricultura Orgánica. Temas de actualidad.* Editorial Plaza y Valdés. México, D.F. 389 p.
- Nakano, Y. Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*22: 867-880.

Núñez, M., Mazorra, L. M., Martínez, L., González, M. C., Robaina, C. 2007. Análogos de brasinoesteroides revierten parcialmente el impacto del estrés salino en el crecimiento inicial de las plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza Sativa* L.). *Cultivos Tropicales*. 28(2):95-99.

Paoletti, F., Aldinucci, D., Mocali, A., Capparini, A. 1986. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. *Anal. Biochem.* 154: 536-541.

Parida, A. K., A. B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.

Parra, Q. R. A., J. L. Rodríguez, O. V. A., González, H. 1999. Transpiración, potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo déficit hídrico. *TERRA Latinoam.* 17:125-130.

Passioura, J. B., R. Munns, 2000. Rapid environmental changes that affect leaf water status induce transient surges or pauses in leaf expansion rate. *Aust J Plant Physiol.* 27(10): 941-948.

Persky, A. M., Green, P. S., Stublely, L., Howell, C. O., Zaulyanov, L., Brazeau, G. A., Simpkins, J. W. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med.* 223(1): 59-66.

Pessarakli, Mohammad. 2011. *Handbook of Plant and Crop Stress*. CRC press. FL, Third edition. USA. P 1194.

Polle, A. 2001. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. *Plant Physiol.* 126(1): 445-462.

Qu, C. P., Xu, Z. R., Liu, G. J., Liu, C., Li, Y., Wei, Z. G., Liu, G. F. 2010. Differential expression of copper-zinc superoxide dismutase gene of *Polygonum sibiricum* leaves, stems and underground stems, subjected to high-salt stress. *INT J MOL SCI.* 11(12): 5234-5245.

Qui, N. Lu, C. 2003. Enhanced tolerance of photosynthesis against high temperature damage in salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica* plants. *Plant Cell Environ.* 26:1137-1145.

Radford, P.J. 1967. Growth analysis formulae. Their use and abuse. *Crop Sci.* 7: 171-175.

Ramírez-Serrano, R. 2008. Estudio de la maduración postcosecha en frutos de chile ancho (*capsicum annumm* L.) bajo condiciones de estrés salino. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S. México.

Resh, M. H. 1992. Cultivos hidropónicos. Mundi-Prensa.Tercera Edición. España, Madrid. 369p.

Rich, P. R., Bonner, W. D. Jr. 1978. The sites of superoxide anion generation in higher plant mitochondria. Arch Biochem Biophys 188: 206-213.

Rodríguez, J. L., Valdés, O., Alemán, A., Rodríguez, J. L. y Alemán, O. V. A. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco hierbas aromáticas. Instituto de investigación para la industria alimenticia. Ciencia y tecnología de alimentos. 16(1):30-36p.

Sairam, R. K. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Curr Sci.86(3): 407-421.

Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 2000. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica, México. Pp 758.

Scandalios, J. G. 1993. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. Plant Physiol. 101(1): 7-12.

Shabala, S., Cui, T.A., Pang, J., Percey, W., Chen, Z., Conn, S., Eing, C., Wegner, L.H. 2010. Xylem ionic relations and salinity tolerance in barley. Plant J. 61:839–853.

Shannon, M. C. and C. L. Noble. 1990. Genetic approaches for developing economic salt tolerant crops. In: Mohammad Pessaraki. Third edition.Handbook of Plant and Crop Stress.CRC press.USA, FL. 824p.

Sies, H. 1991. Oxidative stress: from basic research to clinical application.Am J Med. 91(3): S31-S38.

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2011 [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350) [Consulta: martes 18 de junio de 2013].

Smirnoff, 2004. Ascorbate biosynthesis: A diversity of pathways. In Vitamin C: Its Functions and Biochemistry in Animals and Plants, eds. In: Mohammad Pessaraki. Third edition.Handbook of Plant and Crop Stress.CRC press.USA, FL. 97-98p.

Smirnoff, N. 2005. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Blackwell. Primera Edición. Garsington Road, Oxford. 293p.

Szalbocs, I. 1994. Soils and salinization. In: Handbook of Plant Crop Stress. New York: Mohammad Pessaraki. Third edition. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC press. USA, FL. 1254p.

Tarchoune, I., Degl'Innocenti, E., Kaddour, R., Guidi, L., Lachaâl, M., Navari-Izzo, F. y Ouerghi, Z. 2011. Effects of NaCl or Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> salinity on plant growth, ion content and photosynthetic activity in *Ocimum basilicum* L. Acta Physiol Plant 34(2): 607-615.

Tarchoune, I., Sgherri, C., Izzo, R., Lachaâl, M., Navari-Izzo, F. and Ouerghi, Z. 2012. Changes in the antioxidative systems of *Ocimum basilicum* L. (cv. Fine) under different sodium salts. Acta Physiol Plant. 34(5):1873-1881.

Tester, M., Davenport, R. 2003. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. Ann Bot. 91(5): 503-527.

Vaz Ribeiro, Márcia., Deune, Sidnei., Carvalho Benitez, Letícia., Milech Einhardt., Andersom, Peters, José A., Bolacel Braga, Eugenia, J. 2014. Betacyanin and antioxidant system in tolerance to salt stress in *Alternanthera philoxeroides*. Agrociencia. 48(2):199-210p.

Velasco-Hernández, E., Miranda-Velázquez, I., Nieto-Ángel, R., Villegas-Rodríguez, H. 2004. Evaluación de sustratos y variedades en la producción protegida de jitomate. Revista Chapingo serie horticultura. 10(2): 239-246.

Wayne, W.D. 2002. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta edición. Limusa Wiley. 915p.

Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A., and Ghassemi-Golezani, K. 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). POJ. 5(2):60-67.

Yamaguchi, T. Blumwald, E. 2005. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. Trends Plant Sci. 10:615-620.

Yeo, A. R. 1983. Salinity resistance: Physiologies and prices. In: Mohammad Pessaraki. Third edition. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC press. USA, FL. 824p.



Young, A. J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. In: Mohammad Pessarakli. Third edition. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC press. USA, FL. 97-99p.

Zhu, J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annu Rev Plant Biol. 53:247-73.