

TOLERANCIA A LA SALINIDAD DE DOS PATRONES DE AGUACATE: PAPEL DEL TRANSPORTADOR DE Na⁺ TIPO HKT1

García-Cañizares Vicente Manuel

Departamento de Mejora Genética y
Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo
Superior de Investigaciones Científicas
(CSIC-UMA)
Algarrobo-Costa, Málaga. España

Muñoz-Sánchez Desirée

Departamento de Mejora Genética y
Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo
Superior de Investigaciones Científicas
(CSIC-UMA)
Algarrobo-Costa, Málaga. España

Jaime-Fernández Emilio

Departamento de Mejora Genética y
Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo
Superior de Investigaciones Científicas
(CSIC-UMA)
Algarrobo-Costa, Málaga. España

Ramos-Martín Jose Manuel

Departamento de Mejora Genética y
Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo
Superior de Investigaciones Científicas
(CSIC-UMA)

Guirado-Sánchez

Departamento de Servicios Generales, IHSM-
La Mayora, CSIC-UMA,
Algarrobo-Costa, Málaga, España

All content in this magazine is
licensed under a Creative Com-
mons Attribution License. Attri-
bution-Non-Commercial-Non-
Derivatives 4.0 International (CC
BY-NC-ND 4.0).



Gómez-Cabrera Rafael Emilio

Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-UMA)
Algarrobo-Costa, Málaga. España

Belver, Andrés

Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Granada, España

Romero-Aranda María Remedios

Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, IHSM-La Mayora, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-UMA)
Algarrobo-Costa, Málaga. España

Resumen: Ante el actual escenario de cambio climático, la escasez de agua para riego se está convirtiendo en una importante limitación para el cultivo de aguacate en la provincia de Málaga, localizada en el sureste español. Frente a esta situación de creciente escasez de agua de buena calidad, los agricultores están empezando a usar agua de pozos que contienen una alta concentración de sales. En esta comarca aproximadamente el 80% del cultivo de aguacate, cv. Hass, está injertado sobre el patrón Topa-Topa y más recientemente están empezando a implementarse otros portainjertos de los que no existe información precisa de su tolerancia al estrés salino. Por tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido establecer las bases fisiológicas necesarias para la selección de patrones de aguacate tolerantes a salinidad. Para ello se han evaluado parámetros biométricos (número de hojas, calibre del tallo, peso seco), parámetros fisiológicos (fotosíntesis, potencial osmótico foliar) y contenido de iones salinos en savia y hojas, en dos patrones de aguacate (Topa-Topa y Maoz) sometidos a 3 niveles de salinidad en el agua de riego. Estos datos se han analizado en relación a la expresión en raíz del transportador de Na⁺ tipo HKT1. Los resultados obtenidos muestran que, a igual intensidad de estrés salino, los efectos deletéreos de la salinidad sobre el desarrollo vegetativo de Topa-Topa son significativamente superiores a los registrados en el patrón Maoz. El contenido de Na⁺ en savia y en hojas es significativamente superior en el patrón Topa-Topa donde se han registrado valores menores de expresión del transportador de Na⁺ tipo HKT1 con respecto a los registrados en el patrón Maoz.

Palabras clave: aguacate, *Persea americana*, salinidad, transportador de Na⁺ tipo HKT1.

INTRODUCCIÓN

Según recientes previsiones de la FAO, el cambio climático y la escasez de lluvias van a intensificar la actual tendencia al incremento de la salinidad en las aguas disponibles para riego, con lo cual los suelos alcanzarán rápidamente niveles de salinidad que ponen en peligro la sostenibilidad de cultivos especialmente sensibles como el aguacate. Estudios preliminares desarrollados en nuestro departamento indican un mayor desarrollo vegetativo del cultivar de aguacate Hass cuando se injerta sobre el patrón Maoz de origen antillano, que cuando se injerta sobre el patrón Topa-Topa de origen mejicano (GARCÍA-CAÑIZARES, 2021). En la provincia de Málaga, apenas se han utilizado portainjertos de origen antillano por su escasa tolerancia al frío, siendo la raza mexicana Topa-Topa el portainjerto más extendido. Dado el actual escenario de incremento de la salinidad en aguas y suelos de la comarca (MUÑOZ-SÁNCHEZ y col., 2018) es urgente identificar portainjertos que toleren estas condiciones adversas. Como paso previo, se ha desarrollado el presente trabajo, con el objetivo de establecer indicadores adecuados para la selección de patrones de aguacate más resilientes al estrés salino.

La salinidad provoca en primer lugar un estrés osmótico como consecuencia del incremento del potencial matricial que produce la acumulación de sales en el suelo. Esto induce un descenso del potencial hídrico foliar y cierre estomático con la consiguiente reducción de la fotosíntesis (ROMERO-ARANDA y col., 1998; ROMERO-ARANDA y col., 2001). En un estadio más avanzado, la salinidad altera la homeostasis Na^+/K^+ en distintos tejidos y órganos de la planta e induce toxicidad por la acumulación de estos iones, con la consiguiente pérdida de producción y calidad de la cosecha (ROMERO-ARANDA y col., 2002, REINA-SÁNCHEZ y col.,

2005; ROMERO-ARANDA y col., 2006; ROMERO-ARANDA y col., 2020). Los transportadores de Na^+ de tipo HKT1 (*High Affinity K^+ Transporter 1*) juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis Na^+/K^+ . La función principal de estos transportadores es la retirada o descarga de Na^+ desde la corriente de transpiración xilemática hacia las células parenquimáticas disminuyendo el contenido de Na^+ que llega a los tejidos fotosintéticos y a las flores (DAVENPORT y col., 2007; ROMERO-ARANDA y col., 2020, ROMERO-ARANDA y col., 2021). Dada la escasa o nula información sobre qué parámetros determinan la respuesta a la salinidad del patrón Topa-Topa, que es el que actualmente presenta una mayor difusión en la provincia de Málaga, se planteó el presente trabajo con el objetivo de generar conocimiento comparando su fisiología de la raíz y parte aérea con el patrón Maoz del que hay indicios de una mayor tolerancia al estrés salino. La finalidad última es identificar indicadores de tolerancia al estrés salino que puedan ser utilizados en un futuro para la selección en fase juvenil de patrones de aguacate tolerantes a salinidad.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Mejora Vegetal y Biotecnología del IHSM-La Mayora, en un invernadero de polietileno de 900 m², bajo condiciones naturales sin control de clima. Durante 8 meses se cultivaron plantas de un año de edad de dos patrones de aguacate: Topa-Topa y Maoz. Las plantas se cultivaron en macetas de plástico de 17 L de capacidad, sobre sustrato inerte de vermiculita. Todas las plantas recibieron el mismo volumen de solución nutritiva compuesta por: N 10 mM, K 7 mM, P 0.9 mM, Ca 5 mM, Mg 2 mM de Mg más microelementos (EDTA). Durante el periodo de ensayo, 10 plantas de

cada patrón recibieron la solución nutritiva suplementada con 0, 15 y 30 mM NaCl, siendo la conductividad eléctrica de cada uno de los tratamientos salinos de 2,9, 4,7 y 6,4 dSm⁻¹, respectivamente. Se evaluaron un total de 60 plantas, 10 repeticiones de cada tipo de patrón y tratamiento salino. Cada 2 semanas se determinó en todas las plantas el número de hojas y calibre del tallo. Periódicamente se determinó la tasa de fotosíntesis con un analizador IRGA (LI-COR, modelo 6400) y parámetros relacionados con el estado hídrico foliar (potencial osmótico con un osmómetro Advanced Instruments, modelo 2020). Al final del periodo de ensayo se tomaron muestras de savia en 6 plantas de cada patrón y tratamiento salino según se especifica en Romero-Aranda y col. (2020) y posteriormente se determinó el peso seco de raíces, tallos y hojas por separado. El análisis de la expresión del transportador de Na⁺ tipo HKT1 se llevó a cabo según el protocolo detallado en Romero-Aranda y col. (2020), realizando la transcripción inversa y qPCR, previo aislamiento del ARN total de tejidos de raíz y hoja. El contenido de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ en muestras de savia y hojas se determinó en el Servicio de Instrumentación, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, con un espectrofotómetro de plasma acoplado inductivamente (Varian ICP 720-E), tras la digestión de los tejidos en una disolución HNO₃:HClO₄ (2:1, v/v).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el transcurso del tiempo en Topa-Topa se manifestó una alta incidencia de necrosis foliar y caída de hojas, que fue mayor en los tratamientos de mayor intensidad de riego salino. En Maoz el desarrollo de necrosis foliar se presentó en el transcurso de un periodo de tiempo más largo que en Topa-Topa, siendo la superficie foliar necrosada sensiblemente inferior a la que presentaban

las hojas de Topa-Topa, además muchas de estas hojas necrosadas en Maoz no llegaban a desprenderse de la planta. Los valores de peso seco de raíces, tallos y hojas registrados al final del ensayo se presentan en la Figura 1. En este punto hay que señalar que los valores de biomasa foliar corresponden a las hojas presentes en las plantas en el momento del muestreo. Destaca que la pérdida de biomasa foliar en Topa-Topa es muy significativa, incluso en las plantas control, lo que debe relacionarse con el efecto de las condiciones climáticas dentro del invernadero. Así, durante el periodo de ensayo se registraron valores de déficit de presión de vapor superiores a 3 KPa en las horas centrales del día.

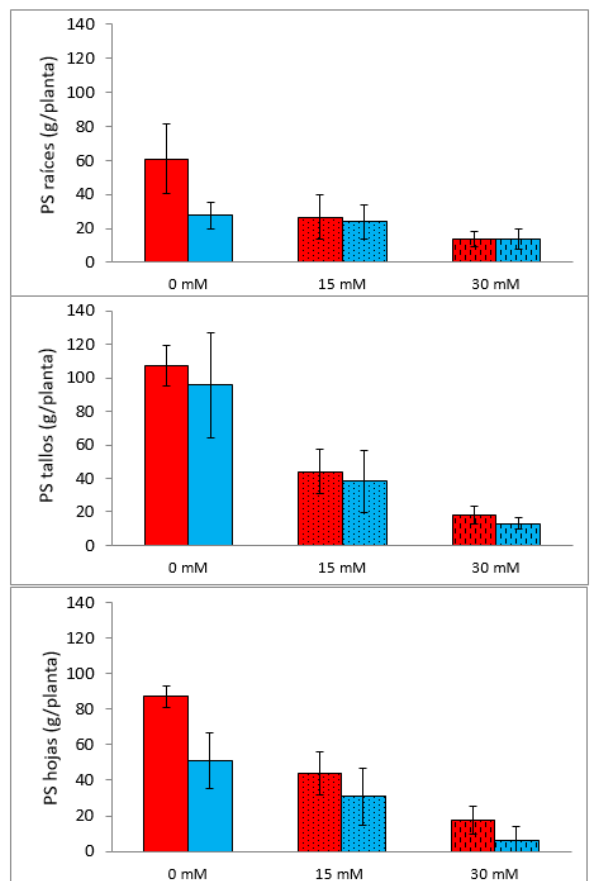


Figura 1. Peso seco (PS) de raíz, tallos y hojas registrados en plantones de aguacate cv. Maoz (barras color rojo) y Topa-Topa (barras color azul) después de 8 meses de riego con solución nutritiva suplementada con 0, 15 y 30 mM de NaCl. Los datos son media \pm DS de 10 plantas.

La salinidad indujo en las hojas una reducción del potencial osmótico que fue proporcional al incremento de la concentración de NaCl en la solución de riego (Figura 2). Los valores fueron más negativos en las hojas de Topa-Topa que en las hojas de Maoz. Esto debe relacionarse con las diferencias registradas entre estos dos patrones en el contenido foliar de Na⁺ como se presenta más adelante. En Topa-Topa, como ya se indicó anteriormente las hojas presentaban rápidamente síntomas de necrosis y se desprendían de la planta. Esto ocasionó una intensa caída de hojas en el tratamiento con 30 mM, de manera que la mayoría de las hojas presentes en la planta presentaban una gran superficie necrosada, por lo que se optó por no muestrearlas para evitar así intensificar el grado de defoliación con este tipo de muestreo destructivo.

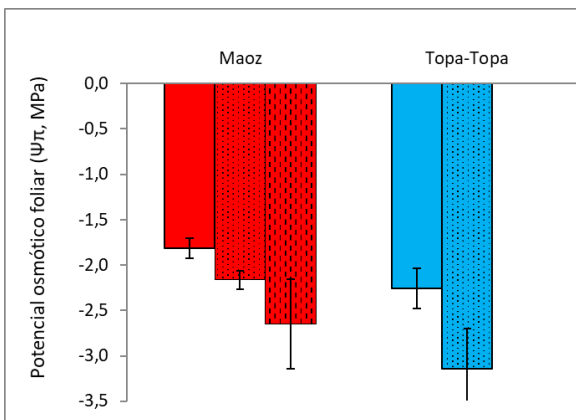


Figura 2. Potencial osmótico ($\Psi\pi$, MPa) registrado en hojas de aguacate cv. Maoz (barras color rojo) y cv. Topa-Topa (barras color azul), después de 8 meses de riego con solución nutritiva suplementada con 0 mM NaCl (barras sin grama), 15 mM NaCl (barras con puntos) y 30 mM NaCl (barras con rayas). Los datos son media \pm DS de 6 plantas.

Independientemente del patrón y/o tratamiento salino, las tasas de fotosíntesis registradas en distintas fechas a lo largo del periodo de ensayo, no presentaron diferencias significativas. La tasa de fotosíntesis se midió siempre en zonas de la hoja que no presentaba

necrosis, aun así se registró a lo largo del ensayo una amplia variación en función de la edad de la hoja y de la localización dentro de la planta, no pudiendo establecerse una relación directa con la salinidad del agua de riego. Por lo tanto, las diferencias observadas en la producción de biomasa deben relacionarse con las diferencias en la caída de hojas y la consecuente reducción de superficie foliar que indudablemente determinó la producción de materia seca de la planta entera:

La Figura 3 muestra la concentración de Cl⁻ y Na⁺ registrados en savia y en hojas. En savia el contenido de Cl⁻ y Na⁺ registrado en Topa-Topa fue muy superior al registrado en Maoz. En hoja no se registraron diferencias significativas en el contenido de Cl⁻ pero el contenido f de Na⁺ registrado en las hojas de Topa-Topa fue superior al registrado en las hojas de Maoz. De nuevo recordar que estos datos corresponden a las hojas presentes en las plantas en el momento del muestreo al final del ensayo.

La Figura 4 muestra la expresión del transportador de Na⁺ tipo HKT1 en raíz y en hoja. Los resultados indican que tanto en la raíz como en la hoja, el patrón Topa-Topa es hipoalélico (presenta menor expresión), y el patrón Maoz, es hiperalélico (presenta mayor expresión) para HKT1. Una mayor expresión de HKT1 en la raíz de Maoz implica una mayor retirada de Na⁺ de la corriente xilemática de transpiración y menos transporte de Na⁺ vía xilema hacia la parte aérea. Esto debe relacionarse con el menor contenido de Na⁺ registrado en la savia extraída de plantas de Maoz con respecto al contenido registrado en Topa-Topa. La mayor expresión de HKT en Maoz le permite a este patrón una mayor retirada de Na⁺ de la corriente xilemática de transpiración. Una mayor expresión de HKT en las hojas adultas, promueve la extracción de Na⁺ hacia las células del mesófilo foliar, donde es dirigido al interior vacuolar mediante

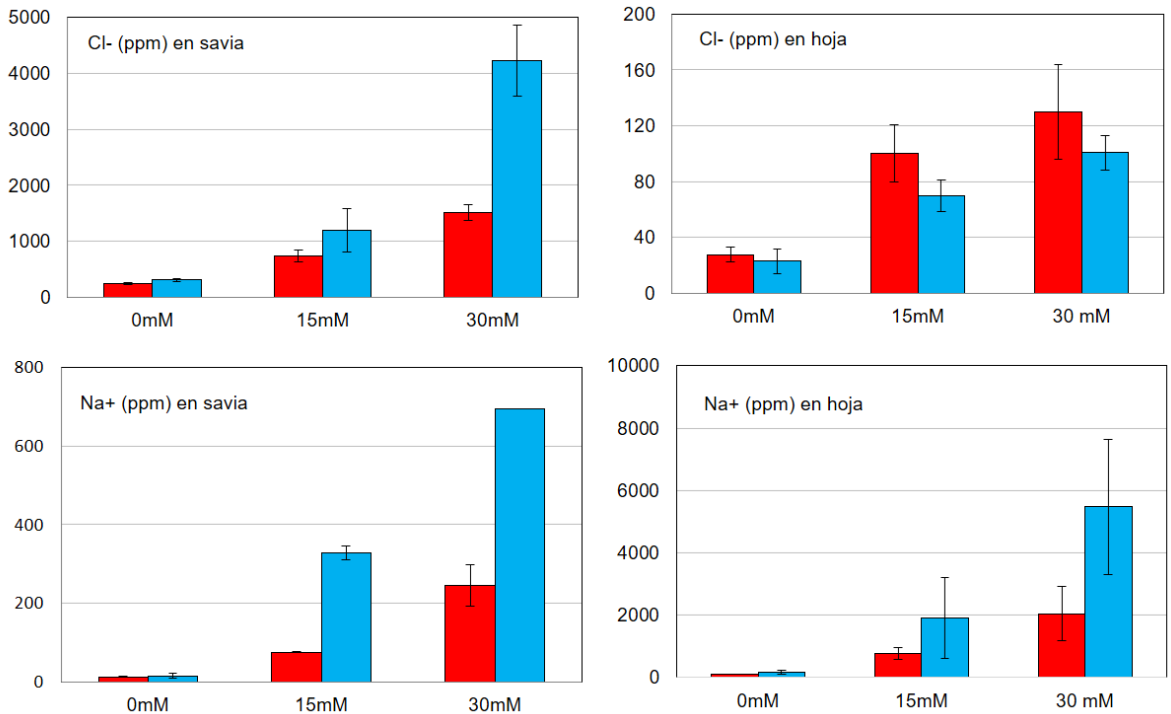


Figura 3. Concentración de Cl⁻ y Na⁺ en savia y en hojas de Topa-Topa (barras de color azul) y Maoz (barras de color rojo) después de 8 meses de riego con una solución nutritiva suplementada con 0, 15 y 30 mM de NaCl. Los datos son media \pm DS de 6 plantas.

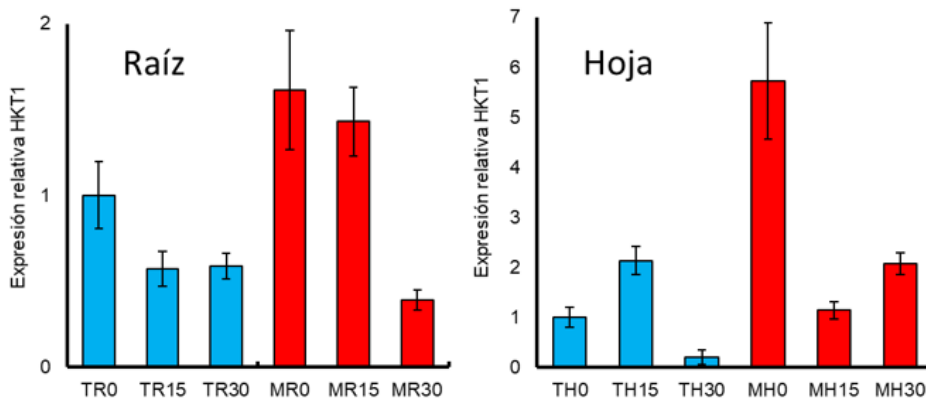


Figura 4. Expresión de HKT1 en el patrón Topa-Topa (barras color azul) en raíz (TR) y hojas (TH) y expresión de HKT1 en el patrón Maoz (barras de color rojo) en raíz (MR) y en hojas (MH) después de 8 meses de riego con una solución nutritiva suplementada con 0, 15 y 30 mM de NaCl. Los datos son media \pm DS de 3 muestras.

transportadores tipo NHX (ROMERO-ARANDA y col. 2021), reduciendo así los efectos negativos de su acumulación en el citoplasma. La compartimentalización vacuolar del Na⁺ en hojas adultas reduce el flujo masivo de Na⁺ hacia las hojas más jóvenes con menor desarrollo vacuolar y por consiguiente más sensibles a la acumulación de Na⁺ en el citoplasma.

CONCLUSIONES

1. Independientemente de la intensidad del tratamiento salino, la reducción del desarrollo vegetativo inducido por el riego salino fue superior en el patrón Topa-Topa que en el patrón Maoz.
2. Los dos patrones evaluados presentaron una diferencia muy significativa en su capacidad para limitar la entrada de Na⁺ y Cl⁻ al interior de la planta.
3. La mayor expresión del transportador de Na⁺ tipo HKT1 registrada tanto en raíz como en hojas del patrón Maoz podrían ser una de las causas que subyacen en los menores valores de Na⁺ registrados en savia y hojas de este patrón.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Gonzalo González-Gil y a Sara Sánchez-Segovia por el esmero en el cuidado y mantenimiento del cultivo de aguacate durante el periodo de ensayos.

REFERENCIAS

- DAVENPORT, R. J.; MUÑOZ-MAYOR, A.; JHA, D.; ESSAH, P. A.; RUS, A.; TESTER, M. The Na⁺ transporter AtHKT1; 1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis*. **Plant, Cell & Environment**, v.30, p.497-507, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01637.x>
- GARCÍA-CAÑIZARES, Vicente Manuel. Efecto del portainjerto sobre la tolerancia a la salinidad del aguacate cv. Hass. Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), 2021. 49p. Tesis (Master Interuniversitario en Ciencias Agroambientales y Agroalimentarias).
- MUÑOZ-SÁNCHEZ, D.; MARTÍN-ALVAREZ, M., FRÍAS-GIL, D.; LÓPEZ-DÍAZ, M.R.; BOGODIST, V.; ROMERO-ARANDA, M.R. Caracterización de aguas de riego y suelos de la comarca malagueña de la Axarquía. **Agrícola Vergel**, v.408, p.57-61, 2018.
- REINA-SÁNCHEZ, A.; ROMERO-ARANDA, R.; CUARTERO, J. Plant water uptake and water use efficiency of greenhouse tomato cultivars irrigated with saline water. **Agricultural Water Management**, v.78, p.54-66, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2005.04.021>
- ROMERO-ARANDA, R.; MOYA, J.L.; TADEO, F.R.; LEGAZ, F.; PRIMO-MILLO, E.; TALÓN, M. Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations. **Plant, Cell and Environment**, v.21, p.1243-1253, 1998. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00349.x>

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. **Plant Science**, v.160, p.265-272, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00388-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00388-5)

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Greenhouse mist improves yield of tomato plants grown under saline conditions. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.127, p.644-648, 2002. <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.4.644>

ROMERO-ARANDA, M.R.; JURADO, O.; CUARTERO, J. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. **Journal of Plant Physiology**, v.163(8), p.847-855, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.010>

ROMERO-ARANDA, M. R.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, P.; PÉREZ-TIENDA, J. R.; LÓPEZ-DÍAZ, M. R.; ESPINOSA, J.; GRANUM, E.; BELVER, A. Na⁺ transporter HKT1;2 reduces flower Na⁺ content and considerably mitigates the decline in tomato fruit yields under saline conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.154, p.341-352, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.05.012>

ROMERO-ARANDA, M. R.; ESPINOSA, J.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, P.; JAIME-FERNÁNDEZ, E.; TRAVERSO, J.A.; ASINS, M.J.; BELVER A. Role of Na⁺ transporters HKT1;1 and HKT1;2 in tomato salt tolerance. I. Function loss of *cheesmaniae* alleles in root and aerial part. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.168 p.282-293, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.10.018>