

ACUMULACIÓN DE IONES Y SOLUTOS ORGÁNICOS EN DOS GENOTIPOS DE CAÑA DE AZÚCAR, ESTRESADOS CON SALES SIMPLES O SUPLEMENTADAS CON CALCIO

Marina García¹ y Ernesto Medina²

RESUMEN

Se evaluaron dos genotipos de caña de azúcar que difieren en tolerancia salina ('PR692176', tolerante y 'V78-1', sensible), a fin de definir el papel de la exclusión de Na^+ y/o de Cl^- , de la selectividad K/Na, y de la acumulación de solutos orgánicos en su tolerancia salina diferencial. Las plantas crecieron en condiciones controladas durante cuatro meses y en los dos últimos meses se sometieron a estrés con sales simples de sodio, con o sin suplementación adicional de calcio. Se determinó la concentración de Na^+ , K^+ , Cl^- , azúcares solubles y prolina en raíces y en hojas con edad distinta. En las plantas estresadas la concentración foliar de K^+ se redujo y la de Na^+ y/o Cl^- se incrementó, pero los dos últimos iones se acumularon preferentemente en las hojas más maduras y en la vaina foliar. La concentración foliar de Na^+ en las plantas estresadas con NaCl, fue mayor que en las estresadas con Na_2SO_4 . La suplementación con calcio incrementó la concentración de K^+ y redujo la de Na^+ y/o de Cl^- . El contenido de azúcares no reductores y de prolina se incrementó con la salinidad en ambos genotipos. Bajo estrés salino PR692176 mantuvo menor concentración foliar de Na^+ y de Cl^- , mayor relación K/Na en las hojas, y acumuló mayor contenido de azúcares no reductores que V78-1. Estos resultados indican que la tolerancia salina en caña de azúcar está relacionada con una mejor capacidad de exclusión, y una mayor habilidad para acumular azúcares no reductores para ajuste osmótico.

Palabras clave adicionales: Salinidad, NaCl, prolina, azúcares reductores y no reductores.

ABSTRACT

Ion and organic solute accumulation in two sugarcane genotypes, salt stressed with or without calcium supply

Two sugar cane genotypes differing in salt tolerance ('PR692176', salt tolerant and 'V78-1', salt sensitive) were evaluated to know the role of the Na^+ and/or Cl^- exclusion, the K/Na selectivity, and the accumulation of organic solutes in their differential salt tolerance. The plants grew four months under controlled conditions, and during the last two months, they were subjected to salt stress using simple sodium salts, with or without additional calcium supply. The concentration of Na^+ , K^+ , Cl^- , soluble sugars and proline was determined in roots and in leaves differing in age. In the salt stressed plants, the foliar concentration of K^+ was reduced, and Na^+ y/o Cl^- was increased, but the last two ions were accumulated mainly in the oldest leaves and the sheath. The foliar concentration of Na^+ in NaCl-treated plants was higher than in Na_2SO_4 -treated plants. Calcium supply to simple salts increased the concentrations of K^+ and decreased Na^+ y/o Cl^- contents. The non-reducing sugars and proline contents were increased with salinity stress in both genotypes. Under saline stress, PR692176 showed a lower foliar concentration of Na^+ and Cl^- , and higher K/Na ratio in leaves, in addition to a higher content of non-reducing sugars, than V78-1. These results indicate that salt tolerance in sugar cane is related to a better exclusion capacity and a higher ability to accumulate non-reducing sugar for osmotic adjustment.

Additional key words: Salinity, NaCl, proline, reducing and non reducing sugars

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el área agrícola salinizada crece constantemente en asociación con la difusión de la agricultura irrigada (Flowers y Yeo, 1995), afectando la productividad de los cultivos. En la mayoría de las plantas cultivadas, la

sensibilidad a condiciones salinas está asociada con la incapacidad para prevenir y/o tolerar elevadas concentraciones de sales en el vástago y en vista de ello, se considera que la capacidad de exclusión de sales es uno de los principales mecanismos de tolerancia (Greenway y Muns, 1980; Lee et al., 2003; Poustini y Siosemardeh,

Recibido: Marzo 24, 2008

Aceptado: Diciembre 22, 2008

¹ Instituto de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay. Venezuela

² Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas. e-mail: garciam@agr.ucv.ve

2004). La capacidad de las raíces para reducir la absorción de sales, y/o para retenerlas localmente, puede ser crucial para prevenir que cantidades potencialmente tóxicas alcancen las porciones más jóvenes del vástago (Greenway y Munns 1980; Munns 2005).

También se han vinculado con la tolerancia a sales, la capacidad de compartimentación de iones tóxicos en hojas maduras o en porciones de éstas menos sensibles (Greenway y Munns, 1980; Wyn y Gorham, 2002; Munns et al., 2006), así como el mantenimiento de una alta selectividad en la absorción y transporte de K^+ , en presencia de Na^+ (Greenway y Munns, 1980; Gorham, 1990; Rodríguez-Navarro y Rubio, 2006). Además, existen evidencias experimentales de que la adición de calcio suplementario en plantas bajo estrés salino puede reducir marcadamente la absorción de Na^+ y/o Cl^- , e incrementar la de K^+ y Ca^{+2} , ayudando así a contrarrestar el efecto adverso provocado por la salinidad sobre el crecimiento de las plantas (Rengel, 1992). Otro aspecto importante para las plantas expuestas a sales es la capacidad de ajuste osmótico a fin de garantizar el flujo de agua hacia el interior de las células (Munns, 1988). Los iones inorgánicos más importantes para el ajuste osmótico son K^+ , Na^+ y Cl^- , pero también algunos solutos orgánicos son importantes, entre éstos los que más se asocian con la tolerancia a la salinidad son los azúcares solubles (Reddy et al., 1997; Dubey y Singh, 1999; Abdel, 2007) y la prolina (Kuznetsov y Schevyakova, 1999; Abdel 2007). Por lo común, los niveles de estos solutos incrementan cuando la planta está sometida a estrés por salinidad (Rhodes et al., 2002).

La caña de azúcar es una especie moderadamente sensible a las sales (Maas, 1990). En Venezuela, una buena parte de las áreas cañameleras han sido señaladas como salinas o en proceso de salinización (Pla, 1985; Zérega et al., 1991; Hernández et al., 2000). Varios autores han señalado diferencias en el grado de sensibilidad a las sales en distintos genotipos de caña de azúcar (Zérega et al., 1995; Wahid et al., 1997; Wahid, 2004). Sin embargo, existe poca información en torno a los mecanismos fisiológicos que determinan ese comportamiento diferencial.

Con base en los señalamientos anteriores se condujo la presente investigación, en la cual se estudió en dos genotipos de caña de azúcar con

tolerancia salina diferencial, cultivadas bajo condiciones controladas, el patrón de acumulación de Na^+ , K^+ , Cl^- , azúcares solubles y prolina, en raíces y en hojas de edad diferente. El objetivo fue determinar el papel de la capacidad de exclusión Na^+ y/o Cl^- , de la compartimentación de éstos entre y dentro de las hojas, de la selectividad hacia el K^+ , en presencia de Na^+ , y de la acumulación de solutos orgánicos para ajuste osmótico, en la sensibilidad diferencial a la salinidad en este cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron vitroplantas de los genotipos de caña de azúcar PR692176, considerado como tolerante a sales (Zérega et al., 1991; Hernández et al., 2000; García y Medina, 2003) y 'V78-1' reportado como sensible (Hernández et al., 2000). Las vitroplantas se sembraron en germinadores con vermiculita y arena y luego se trasladaron a una cámara de crecimiento donde se aclimatizaron por un mes; durante esta etapa la cámara de crecimiento se ajustó con un fotoperíodo de 12 horas, una densidad de flujo fotónico de $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y temperatura de $26/22^\circ\text{C}$ día/noche. El riego se efectuó a diario con una solución nutritiva Hoagland modificada que ha sido utilizada previamente para este cultivo (Kumar et al., 1994), con la siguiente composición iónica ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$): K^+ (6,0); Ca^{+2} (2,5); Mg^{+2} (2,0); NH_4^+ (6,0); NO_3^- (15,0); $H_2PO_4^-$ (2,0); SO_4^{-2} (2,0); BO_3^{-3} ($2,5\times 10^{-2}$); Mn^{+2} ($2,0\times 10^{-3}$); Zn^{+2} ($2,0\times 10^{-3}$); Cu^{+2} ($5,0\times 10^{-4}$); MoO_4^{-2} ($5,0\times 10^{-4}$) y Cl^- ($4,0\times 10^{-3}$). Un mes después de la siembra, plantas de similar tamaño se transplantaron a potes de plástico oscuro de 8 L conteniendo arena previamente desinfectada (una planta/pote) y en la cámara de crecimiento se reajustó la densidad de flujo fotónico a $640 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y la temperatura a $30/26^\circ\text{C}$ día/noche. Un mes después del transplante se inició la salinización aplicando NaCl ($100 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$) o Na_2SO_4 ($50 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$) a la solución base de riego; en otros dos tratamientos esas sales fueron suplementadas con $CaCl_2$ ($10 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$). El riego con cada una de estas soluciones constituyó un tratamiento de salinidad y paralelamente se mantuvo un tratamiento testigo, en el que las plantas se regaron con solución nutritiva sin aporte adicional de sales. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado en

un arreglo de tratamientos factorial 2 x 5: dos genotipos y cinco tipos de solución de riego (cuatro tipos de solución salina y un tratamiento testigo), para un total de diez tratamientos con seis repeticiones cada uno.

La determinación del contenido de solutos inorgánicos y orgánicos se realizó 60 días después de iniciados los tratamientos de estrés salino, en tres plantas seleccionadas al azar por tratamiento, en las cuales se tomaron muestras de raíces, y en el tallo primario se muestreó el tercio medio (sin incluir nervadura central) de la hoja TVD (expandida) y de la ubicada inmediatamente por encima de ésta (aún en expansión), la cual se refiere en este estudio como hoja TVD-1. Una vez seleccionadas las muestras, éstas se congelaron y posteriormente se secaron por liofilización. El material seco de cada tejido se molió finamente y se usó para la determinación de la concentración de Na^+ , K^+ , y Cl^- , así como de azúcares solubles y prolina. La determinación de iones inorgánicos se realizó sobre extractos acuosos; para ello se pesaron 120 mg del tejido molido, se colocaron en un tubo de ensayo con 30 mL de agua desionizada y éstos se agitaron vigorosamente, luego se llevaron a un baño de María a 90 °C por 1 hora; transcurrido este tiempo, los tubos se agitaron nuevamente y luego se obtuvo el filtrado, usando papel Whatman No. 1. La determinación del contenido de Na^+ y de K^+ se realizó por espectroscopía de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP) usando un espectrómetro Perkin-Elmer Optima 3300DV. Para estimar el contenido de Cl^- , se usó un electrodo específico Orion 9417BNC. Los datos obtenidos se usaron para calcular la concentración de cada uno de estos iones por unidad de peso seco de tejido, así como la relación molar K/Na.

Para la estimación de azúcares solubles, se prepararon extractos utilizando 20 mg del material seco, los cuales se homogeneizaron en 10 ml de etanol 80 %, se calentaron en baño de María, luego se obtuvo el sobrenadante y sobre éste se estimó el contenido de azúcares solubles totales mediante el método de Dubois et al. (1956) y de azúcares reductores, mediante el método cuprimétrico de Robyt y Whelan (1968). El contenido de azúcares no reductores, se calculó por diferencia entre estos valores. Para la

determinación del contenido de prolina, del material liofilizado se homogeneizaron 100 mg en 10 mL de ácido sulfosalicílico al 3 % (p/v) y sobre el extracto obtenido se determinó la concentración de este aminoácido siguiendo la metodología propuesta por Bates et al. (1973). Todas las determinaciones de solutos orgánicos se realizaron por triplicado.

Para la evaluación estadística de los resultados se efectuó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan, utilizando el programa SAS versión 8.1.

RESULTADOS

Acumulación de Na^+ , K^+ y Cl^-

El estrés por sales provocó un aumento significativo en la concentración de Na^+ en todos los órganos evaluados (Cuadro 1). En los tratamientos sin adición de calcio, el incremento del sodio fue mayor en presencia de NaCl que de Na_2SO_4 para la raíz de los dos genotipos estudiados, observándose un comportamiento similar en la hoja TVD y TVD-1 en el caso de PR692176, mientras que en V78-1 la acumulación de Na^+ en las láminas fue significativamente mayor en las plantas tratadas con Na_2SO_4 , en tanto que en las vainas acumularon más Na^+ cuando se aplicó NaCl . La adición de calcio suplementario a las sales simples, no tuvo efecto estadísticamente significativo sobre la acumulación de Na^+ en el caso de las raíces en ninguno de los dos genotipos, pero en las hojas sí indujo en ambos una reducción en el contenido de este ión, tanto en la lámina como en la vaina foliar.

En todos los tratamientos de salinidad probados la acumulación de Na^+ fue mayor en las raíces que en las láminas, aunque la máxima concentración de este ión se observó en las vainas foliares. Asimismo, se notó un descenso en la concentración de Na^+ entre la hoja TVD y la TVD-1, en las dos porciones de la hoja. Tanto en las raíces como en las hojas se encontraron diferencias significativas entre los dos genotipos en cuanto a la acumulación de Na^+ ; en los tejidos foliares la concentración de este ión fue mayor en V78-1 que en PR692176 y lo contrario ocurrió en las raíces.

Cuadro 1. Concentración de sodio ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz y en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD) y en expansión (TVD-1), en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1
Control	42 c	39 c	17 d	15 e	18 e	18 d	16 e	15 d	16 e	17 c
Na ₂ SO ₄	895 b	846 ab	578 b	903 a	856 c	1494 b	503 b	783 a	600 c	1295 a
Na ₂ SO ₄ + Ca	870 b	750 b	476 c	634 c	584 d	1198 c	389 d	688 b	447 d	1081 b
NaCl	1020 a	869 a	655 a	726 b	1449 a	1740 a	515 a	682 b	1024 a	1361 a
NaCl + Ca	937 ab	849 ab	503 c	465 d	1022 b	1218 c	464 c	510 c	806 b	1033 b
Genotipo										
PR692176	753 a		446 b		786 b		377 b		579 b	
V78-1	671 b		549 a		1133 a		535 a		957 a	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,01$)

En cuanto al K^+ , el estrés por sales provocó en los dos genotipos una reducción en su acumulación en todos los órganos estudiados, siendo ésta mayor en las plantas tratadas con Na₂SO₄, en comparación a las estresadas con NaCl; no obstante, en la vaina foliar de la hoja TVD-1 de PR692176 y en la raíz de V78-1, la concentración de este ión para las dos sales simples probadas fue estadísticamente similar ($P \geq 0,05$) (Cuadro 2). La aplicación de calcio suplementario indujo un incremento en la concentración de este ión tanto en la raíz como en

las hojas, siendo este efecto más notable en las plantas salinizadas con NaCl que en las estresadas con Na₂SO₄. El contenido de K^+ fue menor en las raíces que en las hojas, y en estas últimas las vainas foliares acumularon mayor contenido de este ión que las láminas, notándose un gradiente creciente en la concentración de K^+ entre la hoja TVD y la TVD-1, tanto en la lámina como en la vaina foliar. La concentración de K^+ en las raíces resultó significativamente mayor en PR692176 que en V78-1, sin diferencias significativas entre estos genotipos para los tejidos restantes.

Cuadro 2. Concentración de potasio ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz y en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD) y en expansión (TVD-1), en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-
Control	421 a	318 b	786 a	892 a	1198 a	1387 a	814 bc	993 a	1423 a	1580 a
Na ₂ SO ₄	316 c	268 c	520 d	474 e	858 c	776 d	611 d	569 b	1000 b	894 d
Na ₂ SO ₄ + Ca	366 b	354 a	537 d	535 d	916 bc	797 cd	624 d	607 b	1014 b	954 cd
NaCl	385 b	275 c	658 c	653 c	935 bc	869 c	722 c	692 a	1026 b	1016 c
NaCl + Ca	394 ab	306 b	719 b	741 b	985 b	984 b	849 a	768 a	1030 b	1088 b
Genotipo										
PR692176	376 a		644		978		734		1099	
V78-1	304 b		659		962		726		1107	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,01$)

La relación K/Na se redujo drásticamente en la raíz y en las hojas de las plantas estresadas, y la suplementación de las sales simples con calcio produjo un incremento en esta relación, más notable en PR692176 que en V78-1 (Figura 1). Para los distintos tratamientos de salinidad probados, PR692176 mostró una relación K/Na más alta en la hoja TVD-1 que en la TVD, lo que

indica un mayor transporte de K^+ que de Na^+ hacia los tejidos en crecimiento activo, en el caso de ese genotipo, mientras que en V78-1 no se observó un patrón definido para esta relación respecto a los tratamientos de salinidad probados; en la hoja TVD-1 la relación K/Na fue 2,4 y 1,4 veces mayor en PR692176 que en V78-1, para las plantas tratadas con Na₂SO₄ y NaCl,

respectivamente. Este comportamiento demuestra una mayor selectividad hacia el K^+ en presencia de Na^+ en los tejidos en crecimiento activo del genotipo tolerante, efecto más notorio cuando la sal simple aplicada fue Na_2SO_4 .

En las plantas estresadas con NaCl, en ambos genotipos se produjo un aumento considerable en la concentración de Cl^- (Cuadro 3), tanto en las raíces como en las dos porciones de la hoja, y la suplementación de esta sal con calcio se tradujo en una disminución significativa en la acumulación radical y foliar de este anión, mientras que lo contrario ocurrió en las plantas estresadas con Na_2SO_4 . En los dos tipos de hojas, la acumulación de Cl^- fue mayor en la vaina foliar que en la lámina, notándose un gradiente decreciente en la

concentración de este ión entre la hoja TVD y la TVD-1. La acumulación foliar de Cl^- fue sustancialmente mayor que la encontrada en las raíces, lo que es indicativo de una tasa alta de transporte de Cl^- al vástago. Al comparar la acumulación de Na^+ (Cuadro 1) con la de Cl^- (Cuadro 3), en raíces y hojas de las plantas estresadas con NaCl, se aprecia que en los dos genotipos el contenido del Na^+ en las raíces fue mayor que el Cl^- (relación $Na/Cl > 1$), mientras que en las hojas ocurrió lo contrario (relación $Na/Cl < 1$). No se detectaron diferencias entre los genotipos en cuanto al contenido de Cl^- en la raíz y en las láminas, pero en las vainas foliares V78-1 acumuló una cantidad significativamente mayor de este ión que PR692176.

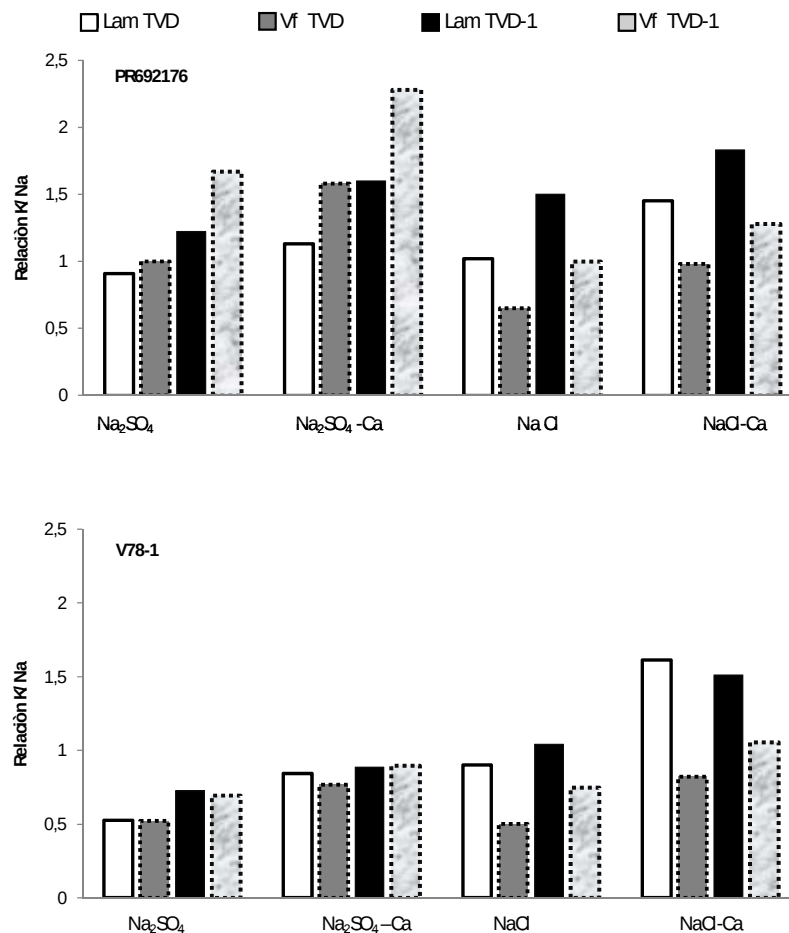


Figura 1. Relación K/N en la materia seca de la lámina (Lam) y de la vaina foliar (Vf) de las hojas TVD y TVD-1, en plantas de dos genotipos de caña de azúcar sometidas a distintos tratamientos de estrés salino durante 60 días

Cuadro 3. Concentración de cloruro ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz y en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD) y en expansión (TVD-1), en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1
Control	110 d	89 d	73 d	68 d	154 d	172 d	72 d	65 d	155 d	122 d
Na ₂ SO ₄	98 d	59 d	66 d	48 d	160 d	162 d	66 d	57 d	183 d	191 d
Na ₂ SO ₄ + Ca	354 c	240 c	167 c	268 c	547 c	797 c	162 c	256 c	488 c	758 c
NaCl	777 a	732 a	1381 a	1599 a	1926 a	2362 a	988 a	1085 a	1311 a	1632 a
NaCl + Ca	602 b	645 b	1094 b	922 b	1512 b	1676 b	830 b	815 b	854 b	967 b
Genotipo										
PR692176	388 a		556 a		860 b		424 a		598 b	
V78-1	353 a		581 a		1034 a		455 a		734 a	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,01$)

Acumulación de azúcares solubles y prolina

En los dos genotipos evaluados, la aplicación de sales al medio de crecimiento provocó una disminución en la concentración de azúcares reductores en los distintos órganos (Cuadro 4), siendo ésta similar para las dos sales simples probadas. La suplementación de las sales simples con calcio tuvo en general poco efecto sobre esta variable, exceptuando la vaina foliar de la hoja TVD-1, donde se produjo un aumento significativo en la concentración de azúcares reductores en las plantas estresadas con Na₂SO₄ de

ambos genotipos. En las plantas salinizadas, el contenido de azúcares reductores no fue marcadamente distinto entre la hoja TVD y la TVD-1, en el caso de la lámina, pero en la vaina foliar sí se notó un pronunciado gradiente en forma creciente en el contenido de azúcares reductores entre estos dos tipos de hoja, observándose en ambas el mayor valor para esta variable en la vaina foliar. No se encontraron diferencias significativas entre los dos genotipos probados en relación a la acumulación de azúcares reductores, ni en la raíz ni en las hojas.

Cuadro 4. Concentración de azúcares reductores ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz y en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD) y en expansión (TVD-1), en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1
Control	67 a	63 a	59 a	65 a	355 a	346 a	84 a	75 a	467 a	564 a
Na ₂ SO ₄	53 bc	45 cd	30 c	38 c	134 bc	140 bc	31 c	41 b	196 b	218 c
Na ₂ SO ₄ + Ca	46 c	38 d	30 c	35 c	159 b	162 b	33 c	37 b	405 a	341 b
NaCl	55 b	49 bc	35 c	39 c	124 c	116 c	38 bc	44 b	189 b	195 c
NaCl + Ca	59 b	55 b	38 b	47 b	137 bc	155 b	45 b	43 b	200 b	249 c
Genotipo										
PR692176	56 a		38 a		182 a		46 a		292 a	
V78-1	50 a		45 a		184 a		48 a		313 a	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,01$)

Contrariamente a la tendencia observada en cuanto a la acumulación de azúcares reductores, en los dos genotipos el nivel de azúcares no reductores se elevó en las plantas estresadas (Cuadro 5), siendo ese incremento en general mayor en las plantas tratadas con NaCl, respecto a las estresadas con Na₂SO₄. La suplementación de las sales simples con calcio ocasionó en general

una disminución en el contenido de azúcares no reductores en la raíz y en las hojas de ambos genotipos, siendo más notable este comportamiento en el caso de la vaina foliar que en la lámina. La concentración de azúcares no reductores en los dos tipos de hoja fue sustancialmente mayor en la vaina foliar que en la lámina, siendo el gradiente entre ambas porciones

mayor en las plantas sometidas a estrés salino. Asimismo, la concentración de azúcares no reductores entre la hoja TVD y la TVD-1 mostró en ambos genotipos un gradiente decreciente entre

las láminas y creciente entre las vainas foliares. La acumulación de azúcares no reductores fue mayor en PR692176 que en V78-1 en todos los tejidos considerados, excepto en las raíces.

Cuadro 5. Concentración de azúcares no reductores ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz, en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD), y en expansión (TVD-1) en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1
Control	18 e	22 c	204 d	138 c	238 e	197 c	137 d	115 d	287 c	292 e
Na ₂ SO ₄	53 d	74 a	311 b	243 b	593 b	470 a	234 bc	197 b	794 a	714 ab
Na ₂ SO ₄ + Ca	70 c	58 b	271 c	252 b	470 d	399 b	216 c	232 c	667 b	550 d
NaCl	114 a	80 a	410 a	382 a	711 a	465 a	398 a	331 a	829 a	786 a
NaCl + Ca	99 b	81 a	270 c	235 b	507 c	407 b	258 b	213 bc	676 b	653 c
Genotipo										
PR692176	71 a		293 a		504 a		249 a		651 a	
V78-1	63 a		250 b		388 b		218 b		599 b	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P\leq 0,01$)

En cuanto a la prolina, el estrés salino indujo en los dos genotipos un aumento en su acumulación en todos los órganos estudiados (Cuadro 6). En la hoja TVD este incremento fue mayor en presencia de NaCl que de NaSO₄, mientras que en general en los órganos restantes la diferencia en el efecto de ambas sales fue menos acentuada. La aplicación de calcio suplementario redujo significativamente la concentración de prolina, respecto a la de las plantas tratadas con la sal simple, excepto en la vaina foliar de la hoja TVD de V78-1, en la lámina de la hoja TVD-1 en

PR692176 y en la vaina foliar de la hoja TVD-1 de ambos genotipos cuando la sal simple aplicada fue Na₂SO₄. En todos los tratamientos y en los dos genotipos, la mayor concentración de prolina se detectó en las vainas foliares, siendo ésta considerablemente más elevada en la vaina foliar de la hoja TVD-1. El valor promedio de concentración de prolina resultó significativamente mayor en V78-1 que en PR692176 en las raíces y en la hoja y vaina TVD-1, mientras que en la hoja TVD no se encontraron diferencias entre las medias de los dos genotipos.

Cuadro 6. Concentración de prolina ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) en la materia seca de la raíz, en la lámina y vaina foliar de hoja expandida (TVD), y en expansión (TVD-1) en dos genotipos de caña de azúcar estresados por sales durante 60 días

Tratamiento	Raíz		Lámina TVD		Vaina foliar TVD		Lámina TVD-1		Vaina foliar TVD-1	
	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1	PR692176	V78-1
Control	0,3 c	0,7 e	3,1 d	1,8 c	4,1 c	5,6 c	1,2 b	1,0 d	5,1 d	7,9 d
Na ₂ SO ₄	4,7 a	5,6 a	6,0b c	7,0 a	12,7 ab	12,4 b	1,9 b	6,7 b	21,3 c	19,8 c
Na ₂ SO ₄ + Ca	3,3 b	4,0 d	5,1 c	5,1 b	11,2 b	11,0 b	2,3 b	5,4 c	19,3 c	19,6 c
NaCl	5,1 a	10,0 b	9,0 a	6,8 a	12,3 ab	15,8 a	4,9 a	8,1 a	34,3 a	42,0 a
NaCl + Ca	3,0 b	2,9 c	6,9 b	5,3 b	13,7 a	15,1 a	4,5 a	5,5 c	29,7 b	34,8 b
Genotipo										
PR692176	3,3 b		6,0 a		10,8 a		2,9 b		22,0 b	
V78-1	4,6 a		5,3 a		12,0 a		5,4 a		24,8 a	

Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa según la prueba de rango múltiple de Duncan ($P\leq 0,01$)

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la acumulación de

Na⁺ y Cl⁻ en las hojas fue menor en PR692176 que en V78-1. Esa acumulación diferencial de estos dos iones en las hojas sugiere que la tolerancia a

las sales en este cultivo está asociada con la capacidad de exclusión en concordancia con numerosos reportes que demuestran que en la gran mayoría de las no halófitas, la capacidad de exclusión de iones tóxicos de los tejidos del vástago, y en especial de aquellos en crecimiento activo, es un mecanismo importante de tolerancia (Greenway y Munns, 1980; Lee et al., 2003; Poustini y Siosemardeh, 2004). En el caso particular de la caña de azúcar, las evidencias en cuanto al papel de la exclusión de iones tóxicos en la tolerancia a las sales son controversiales; Syed y El-Swaify (1973) y Wahid (2004) en forma similar a lo obtenido en este estudio, encontraron una acumulación marcadamente menor de Na^+ y Cl^- en un genotipo tolerante en comparación a otro sensible a las sales. Contrariamente, Plaut et al. (2000) reportaron una mayor acumulación de esos dos iones en la lámina de la hoja TVD de un genotipo tolerante a las sales, respecto a otro más sensible.

En PR692176, la concentración de Na^+ en la lámina de las hojas TVD y TVD-1 fue similar en las plantas tratadas con las dos sales simples, mientras que en V78-1, la acumulación de este ión fue mayor en las plantas estresadas con Na_2SO_4 ; sin embargo, en ambos genotipos el crecimiento ha sido significativamente más afectado en presencia de NaCl (García, 2004), lo que reafirma que el Cl^- es más tóxico para este cultivo que el Na^+ . La mayor sensibilidad al Cl^- , podría deberse a una absorción descontrolada de este ión en las raíces, así como a la incapacidad de éstas para evitar su transporte masivo a las hojas, donde se acumula en concentraciones mayores que el Na^+ (relación $\text{Na}/\text{Cl} < 1$). Es de hacer notar que en las plantas estresadas con NaCl , en ambos genotipos, la acumulación de Na^+ en la vaina foliar de los dos tipos de hoja estudiados, fue considerablemente mayor respecto a la observada en las plantas tratadas con Na_2SO_4 , lo que coincide con hallazgos previos en este cultivo (Syed y El-Swaify, 1973). En el caso particular de las cítricas, se ha demostrado que la acumulación de Cl^- en los tejidos foliares causa una mayor reducción en la tasa fotosintética y en la conductancia estomática, que la acumulación de Na^+ (Bañulus y Primo-Millo, 1992) y es probable que algo similar ocurra en la caña de azúcar.

Con base en la mayor acumulación de Na^+ en

las raíces de PR692176 que en las de V78-1, bajo condiciones de estrés salino, parece evidente que la tolerancia del primer genotipo sobre el segundo está vinculada, al menos en parte, a una mayor eficiencia en la operatividad de un mecanismo de exclusión que opera en las raíces. El papel de la retención Na^+ en este órgano en cuanto a la tolerancia a las sales ha sido demostrada en otros cultivos (Lacerda et al., 2001; Pervaiz et al., 2002; Frensch et al., 1992); sin embargo, la capacidad de retención de Na^+ por las raíces es limitada, y si ésta es excedida debido a la exposición a sales por períodos prolongados, ó por una entrada descontrolada de Na^+ a los tejidos radicales, este ión podría fluir libremente al vástago (Glenn et al., 1997). El genotipo tolerante fue más efectivo en retener Na^+ en las raíces cuando el estrés se provocó con Na_2SO_4 , que cuando éste se indujo con NaCl , lo cual puede estar asociado al mayor ingreso de Na^+ a las raíces en presencia de Cl^- como anión acompañante de la sal de sodio.

En las hojas de los dos genotipos el Na^+ y/o el Cl^- se acumularon preferentemente en las vainas foliares, lo cual es una estrategia de exclusión ya demostrada en otros cultivos del grupo de las gramíneas, que se considera importante para proteger los tejidos fotosintéticos de la lámina del efecto tóxico de las sales (Boursier y Läuchli, 1989; Fortmeier y Schubert, 1995; Schachtman et al., 1991). Así mismo, la distribución de iones dentro de las hojas individuales mostró ser altamente dependiente de la edad de éstas. Tanto el Na^+ como el Cl^- , se acumularon preferentemente en la hoja TVD (hoja expandida) y los niveles de ambos iones decrecieron hacia la hoja TVD-1 (hoja aún en expansión). Lo contrario ocurrió en el caso del K^+ , lo cual coincide con lo reportado por Plaut et al. (2000) y Kumar et al. (1994), en cuanto al patrón de distribución de estos iones en hojas de genotipos de caña de azúcar sometidos a estrés por sales. Esa acumulación preferencial de iones tóxicos en hojas maduras parece ser común en las no halófitas, considerándose un mecanismo para proteger los tejidos en crecimiento activo del efecto nocivo de las sales (Greenway y Munns, 1980; Munns et al., 2006).

Los niveles de K^+ se redujeron en los distintos órganos de las plantas salinizadas, especialmente en aquellas tratadas con las sales simples, siendo esa reducción más acentuada en la lámina foliar de

las plantas tratadas con Na_2SO_4 , en relación a las tratadas con NaCl , lo cual coincide con lo reportado por Syed y El-Swaify (1973) en genotipos de caña de azúcar estresados con esas dos sales. En PR692176, la reducción en el contenido de K^+ por el estrés salino fue menos marcada que en V78-1 y la relación K/Na en las hojas mostró valores mayores en las plantas estresadas, sugiriendo que la habilidad del primer genotipo para mantener la absorción y transporte de este ión hacia las hojas en condiciones salinas, puede ser un factor importante en su mayor tolerancia, lo que confirma la existencia de una vinculación entre la selectividad K/Na y la tolerancia a sales (Greenway y Munns, 1980; Gorham, 1990; Rodríguez-Navarro y Rubio, 2006).

La aplicación de calcio suplementario a las sales simples no afectó el contenido de Na^+ de las raíces, pero redujo la concentración de este ión en las hojas. En cuanto al Cl^- , esa suplementación disminuyó su concentración en las plantas tratadas con NaCl . Esas observaciones coinciden con evidencias previas, según las cuales la suplementación con calcio frecuentemente reduce la absorción de Na^+ (Alberico y Cramer, 1993; Rengel, 1992) y en ocasiones también la de Cl^- (Dubey, 1997). Adicionalmente, los niveles de K^+ en los distintos tejidos se incrementaron con esa suplementación. A pesar de esos efectos favorables el crecimiento de estos dos genotipos no mejoró sensiblemente cuando las sales simples fueron suplementadas con CaCl_2 (García, 2004), lo cual puede estar vinculado al marcado efecto tóxico provocado por el Cl^- , probablemente debido a la incapacidad para compartimentarlo adecuadamente a nivel de tejido y/o de célula. En cítricas, un grupo muy sensible al Cl^- (Douglas y Walker, 1984), se ha observado que el crecimiento de plantas estresadas por salinidad no mejora cuando la suplementación con calcio incluye al Cl^- como anión acompañante (Zekri y Parsons, 1990).

El estrés salino indujo un incremento en el contenido de azúcares no reductores en los distintos tejidos, siendo ese efecto más marcado en las plantas tratadas con NaCl mientras que la concentración de azúcares reductores más bien disminuyó en respuesta a la salinización, lo cual coincide con lo observado por Morant-Avice et al. (1998) en genotipos del orden Triticales. En general, muchas no halófitas responden al estrés

salino incrementando la concentración de azúcares solubles en sus tejidos (Reddy et al., 1997), ya que éstos junto a otros solutos orgánicos contribuyen al ajuste osmótico y además permiten a la planta mantener suficientes reservas para sostener el metabolismo (Dubey y Singh, 1999). En ambos genotipos y en los dos tipos de hoja estudiados, la acumulación de azúcares solubles fue mayor en la vaina foliar que en la lámina, observándose la mayor concentración de éstos en la vaina foliar de la hoja en expansión (TVD-1), lo cual se corresponde con lo reportado por Kumar et al. (1994) en caña de azúcar y podría explicarse en base a la alta demanda de fotoasimilados que involucra los procesos de crecimiento de los tejidos en expansión (Pérez-Alfocea et al., 1996). La concentración de azúcares no reductores fue mayor en el genotipo tolerante en todos los tejidos, excepto en las raíces. También Wahid (2004) encontró en plantas de caña de azúcar salinizadas, un mayor incremento en el contenido de azúcares solubles en un genotipo tolerante, respecto a uno sensible, lo que sugiere que estos solutos juegan un papel importante en el ajuste osmótico y en la tolerancia a sales en este cultivo.

La acumulación de prolina incrementó en todos los tejidos estudiados, en respuesta al estrés por sales y los máximos contenidos de prolina se observaron en las plantas tratadas con NaCl , en las que a su vez se detectaron los niveles más altos de Na^+ y Cl^- en las hojas. Esto confirma la existencia de una asociación entre el aumento en la acumulación de este aminoácido y los niveles de esos iones en los tejidos. El efecto de las sales sobre el contenido de prolina varió con la edad foliar, observándose un incremento en la concentración de este aminoácido entre la hoja TVD y la TVD-1, lo que coincide con el patrón de acumulación reportado por García y Medina (2003) para los mismos genotipos usados en este estudio bajo estrés por NaCl . En forma similar Soliman y Doss (1992) trabajando con genotipos de tomate sometidos a estrés por sales, encontraron que el contenido de prolina fue mayor en hojas jóvenes y decreció con el incremento en la edad foliar. El aumento en la acumulación de prolina en respuesta al incremento de los niveles Na^+ y Cl^- en las hojas se ha reportado en algunas especies cultivadas, entre ellas en tomate (Soliman y Doss, 1992; Pérez-Alfocea et al., 1996), frijol mungo (Abdel, 2007) y caña de azúcar (García y

Medina, 2003; Wahid, 2004; García, 2004). La mayor acumulación de prolina en la hoja TVD-1 correspondió al genotipo sensible; sin embargo, en otro estudio (García, 2004) se encontró que la presencia de mayores niveles de este aminoácido en los tejidos foliares en expansión no se reflejó en una menor reducción en el crecimiento de este genotipo, lo que indica que la acumulación de este aminoácido en caña de azúcar es más bien un sensor del daño por el efecto tóxico de las sales, más que un mecanismo de tolerancia a éstas; un hallazgo similar ha sido reportado por Wahid (2004) en un genotipo sensible de caña de azúcar.

CONCLUSIONES

La tolerancia diferencial a sales en caña de azúcar está asociada con la capacidad de exclusión iónica tóxica de las hojas, en especial de aquellas en crecimiento activo, y dentro de éstas la compartimentación de sales en la vaina foliar también demostró ser importante. El genotipo PR692176 mostró mejor capacidad para retener Na^+ en las raíces, previniendo así su incremento descontrolado en las hojas, pero este mecanismo no parece operar en el caso del Cl^- , anión que se acumuló en concentraciones mayores que el Na^+ en las hojas. La suplementación de las sales simples con calcio se tradujo en una menor acumulación de Na^+ (plantas estresadas con Na_2SO_4), o de Na^+ y Cl^- (plantas estresadas con NaCl) en las hojas; sin embargo, el efecto altamente tóxico del Cl^- , anión acompañante en la sal de calcio utilizada podría enmascarar el efecto favorable de esa suplementación. El marcado incremento en la concentración de azúcares no reductores y de prolina en respuesta al estrés salino evidencia el papel de estos solutos en el ajuste osmótico o bien como osmoprotectores; sin embargo, de esos dos solutos sólo el primero mostró vinculación con la tolerancia a la salinidad.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento al proyecto 01.31.4692.2004. Al Ing. Luis Zérega, por sus orientaciones en cuanto a los genotipos a usar. Al Laboratorio de Metabolismo y Fisiología de

Cultivos y Malezas (Facultad de Agronomía, UCV) por el soporte brindado para la determinación de solutos orgánicos y al Prof. Aouiqw Ascanio por su apoyo en el análisis estadístico de los datos.

LITERATURA CITADA

1. Abdel, M. 2007. Physiological aspects of mungbean plant (*Vigna radiata* L. Wilezek) in response to salt stress and gibberellic acid treatment. Res. J. Agric. Biol. Sci. 3: 200-213.
2. Alberico, G. y G. Cramer. 1993. Is salt tolerance of maize related to sodium exclusion? I. Preliminary screening of seven cultivars. J. Plant Nut. 16: 2289-2303.
3. Bañulus, J. y Primo-Millo. 1992. Effects of chloride and sodium on gas exchange parameters and water relations of plants. Physiol. Plant. 86: 115-123.
4. Bates, L., R. Waldren y D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
5. Boursier, P. y A. Läuchli. 1989. Mechanism of chloride partitioning in leaves of salt-stressed *Sorghum bicolor* L. Physiol. Plant. 77: 537-544.
6. Douglas, T. y R. Walker. 1984. Phospholipid, free sterol and adenosine triphosphatase of plasma membrane-enriched preparations from roots of citrus genotypes differing in chloride exclusion ability. Physiol. Plant. 62: 51-58.
7. Dubey, R. 1997. Nitrogen metabolism in plants under salt stress. In: P. Jaiwal, R. Singh and A. Gulati (eds.). Strategies for improving salt tolerance in higher plants. Science Publishers, Inc. USA. p: 129-158.
8. Dubey, R. y A. Singh. 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolism enzymes in rice plants. Biol. Plant. 42: 233-239.
9. Dubois, M., K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for

- determination of sugars and related substances. *Ann. Chem.* 8: 350-356.
10. Flowers, T. y A. Yeo. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: Where next?. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 875-884.
 11. Fortmeier, R. y S. Schubert. 1995. Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): The role of sodium exclusion. *Plant Cell Environ.* 18: 1041-1047.
 12. Frensch, J., R. Stelzer y E. Steudle. 1992. NaCl uptake in roots of *Zea mays* seedling: Comparison of root pressure probe and EDX data. *Ann. Bot.* 70: 543-550.
 13. García, M. 2004. Crecimiento, morfoanatomía radical, acumulación de solutos orgánicos y relaciones iónicas en dos genotipos de caña de azúcar con tolerancia salina contrastante. Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 247 p.
 14. García, M. y E. Medina. 2003. Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 20: 168-179.
 15. Glenn, E., J. Brown y M. Khan. 1997. Mechanisms of salt tolerance in higher plants. *In: Mechanism of Environmental Stress Resistance in Plants*. A. Basra y R. Basra (eds.). Harwood Academic Publishers. The Netherlands. p: 83-110.
 16. Gorham, J. 1990. Salt tolerance in the Triticeae: K/Na discrimination in *Aegilops* species. *J. Exp. Bot.* 41: 615-621.
 17. Greenway, H. y R. Munns. 1980. Mechanisms of plant tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
 18. Hernández, J., L. Zérega y A. Ordosgoitti. 2000. Causa del necrosado del borde de las hojas y retraso en el crecimiento de la caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) en el Bajo Yaracuy. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17: 236-238.
 19. Kumar, S., K. Naidu y H. Sehtiya. 1994. Causes of growth reduction in elongating and expanding leaf tissue of sugarcane under saline conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 71-83.
 20. Kuznetsov, V. y N. Schevyakova. 1999. Proline under stress: biological role, metabolism and regulation. *Russian J. Plant Physiol.* 46: 274-287.
 21. Lacerda, C., J. Cambraia, M. Cano y H. Ruiz. 2001. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 13(3): 270-284.
 22. Lee, K., W. Choi, J. Ko, T. Kim y G. Gregoria. 2003. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Planta* 216: 1043-1046.
 23. Maas, E. 1990. Crop salt tolerance. *In: Agricultural Salinity Assessment and Management*. K. Tanji (ed.) ASCE. NY., USA. p: 262-304.
 24. Morant-Avice, A.E. Pradier y R. Houchi. 1998. Osmotic adjustment in triticales grown in presence of NaCl. *Biol. Plant.* 41: 227-234.
 25. Munns, R. 1988. ¿Why measure osmotic adjustment? *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 717-726.
 26. Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167: 645-663.
 27. Munns, R., R. James y A. Läuchli. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57: 1025-1043.
 28. Pérez-Alfocea, F., M. Balibrea, A. Santa Cruz y M. Estañ. 1996. Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant and Soil* 180: 251-257.
 29. Pervaiz, Z., M. Afzal, Y. Xiaoe y L. Anchen. 2002. Effect of different substrate K^+/Na^+

- ratios on yield and potassium sodium selectivity of selected wheat cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences* 1: 31-33.
30. Pla, I. 1985. Origen, distribución y diagnóstico de suelos afectados por sales en condiciones tropicales. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 14: 125-150.
31. Plaut, F., C. Meinzer y E. Federman. 2000. Leaf development, transpiration and ion uptake and distribution in sugarcane cultivars grown under salinity. *Plant Soil* 218: 59-69.
32. Poustini, K. y A. Siosemardeh. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Res.* 85: 125-133.
33. Reddy, M., U. Rao y E. Iyengar. 1997. Carbon metabolism under salt stress. *In: Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants*. P. Jaiwal, R. Singh y A. Gulati (eds.) Science Publishers, Inc. USA. p: 158-190.
34. Rengel, Z. 1992. The role of calcium in salt toxicity. *Plant Cell Environ.* 15: 625-632.
35. Rhodes, D., A. Nadolska-Orczyk y P. Rich. 2002. Salinity, osmolytes and compatible solutes. *In: Salinity-environment-plants-molecules*. A. Läuchli y U. Lüttge (eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. p: 181-204.
36. Rodríguez-Navarro, A. y F. Rubio. 2006. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. *J. Exp. Bot.* 57: 1149-1160.
37. Robyt, J. y W. Whelan. 1968. Starch and its derivatives. 4ta. ed. Chapman and Hall, London.
38. Schachtman, D., R. Munns y M. Whitecross. 1991. Variation in sodium exclusion and salt tolerance in *Triticum tauschii*. *Crop Sci.* 31: 992-997.
39. Soliman, M. y M. Doss. 1992. Salinity and mineral nutrition effects on growth and accumulation of organic and inorganic ions in two cultivated tomato varieties. *J. Plant Nut.* 15: 2789-2799.
40. Syed, M. y S. El-Swaify. 1973. Effect of saline water irrigation on N.Co.310 and H50-7209 cultivars of sugarcane. II. Chemical composition of plants. *Trop. Agri. (Trinidad)* 50: 45-51.
41. Wahid, A. 2004. Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and economic yield of sugarcane. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 133-141.
42. Wahid, A., A. Rao y E. Rasul. 1997. Identification of salt tolerance traits in sugarcane lines. *Field Crop Res.* 54: 9-17.
43. Wyn, G. y J. Gorham. 2002. Intra-and inter-cellular compartmentation of ions. *In: Salinity: environment-plants-molecules*. A. Läuchli y U. Lüttge (eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. p: 159-180.
44. Zekri, M. y L. Parsons. 1990. Calcium influences growth and leaf mineral concentration of citrus under saline conditions. *HortScience* 25: 784-786.
45. Zérega, L., T. Hernández y J. Valladares. 1991. Caracterización de suelos y aguas afectadas por sales en zonas cañameleras de Azucarera Río Turbio. *Caña de Azúcar* 9: 5-52.
46. Zérega, L., T. Hernández y J. Valladares. 1995. Efecto de 3 enmiendas sobre un suelo salino-sódico con 9 variedades de caña de azúcar. *Caña de Azúcar* 13: 51-64.