

CAMBIOS ANATÓMICOS INDUCIDOS POR LA SALINIDAD EN RAÍCES DE DOS GENOTIPOS DE CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM* SP., POACEAE)

Salt-induced changes in roots of two sugar cane (*Saccharum* sp., Poaceae)
genotypes

Marina GARCÍA¹, Ernesto MEDINA² y Damelis JÁUREGUI¹

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía,
Instituto de Botánica Agrícola, Maracay, estado Aragua
gamarinave@yahoo.com

²Instituto Venezolano de Investigaciones
Científicas, Centro de Ecología, Caracas

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue detectar características estructurales de la raíz asociadas con tolerancia salina en dos genotipos de caña de azúcar. Plantas de 'PR692176' (genotipo tolerante) y 'V78-1' (genotipo sensible) fueron estresadas con NaCl o Na₂SO₄. Se fijaron y seccionaron segmentos a 10 y 50 mm del ápice radical, los cuales se estudiaron por microscopía óptica y de fluorescencia. Los cambios más evidentes fueron: iniciación precoz de raíces laterales, diferenciación temprana y desarrollo más conspicuo de la banda de Caspary en exodermis y endodermis, y deposición de suberina en células del parénquima cortical. En 'PR692176' se observó mayor número de vacuolas por célula en el parénquima que en 'V78-1', lo que indica mejor capacidad para retener sales en las raíces del genotipo tolerante.

Palabras clave: Anatomía radical, caña de azúcar, NaCl, Na₂SO₄, tolerancia a sales

ABSTRACT

This study intends to identify root structural features associated with salinity tolerance in two genotypes of sugar cane. Plants of 'PR692176' (salt tolerant) and 'V78-1' (salt sensitive) were stressed with NaCl or Na₂SO₄. Roots segments located at 10 and 50 mm from root tip were fixed and then cross sections of roots were studied using optic microscopy. The major roots changes were: lateral root initiation closer to the root tip, premature differentiation and a prominent development of endodermal and exodermal Casparian strips, and deposition of suberin in the cell walls of cortex parenchyma cells. In addition, the roots of salt-stressed plants in 'PR692176' showed a higher number of cell in the parenchyma than 'V78-1', suggesting a better compartmentation capacity in the former genotype.

Key words: NaCl, Na₂SO₄, root anatomy, salt tolerance, sugar cane

INTRODUCCIÓN

La salinidad del sustrato de crecimiento puede inducir cambios anatómicos para ayudar a contrarrestar el estrés salino (Poljakoff-Mayber 1975). Los efectos de la salinidad sobre la estructura y ultraestructura celular han sido relati-

vamente poco investigados (Poljakoff-Mayber 1975; Yeo *et al.* 1977; Reinhardt & Rost 1995a), a pesar de la importancia que tiene la combinación de los estudios morfoanatómicos y fisiológicos para una mejor comprensión de la respuesta de la planta ante la salinidad del substrato donde crece (Poljakoff-Mayber 1975).

Los cambios estructurales más notorios inducidos por salinidad parecen ocurrir en las raíces. En vista de que este órgano es el que se expone directamente al exceso de sales, algunos autores han destacado la importancia de su estudio bajo condiciones de salinidad (Solomón *et al.* 1986; Reinhardt & Rost 1995a; González *et al.* 1997). La tolerancia a condiciones salinas parece estar influenciada por la capacidad de las raíces para impedir que cantidades potencialmente tóxicas de sales lleguen al vástago (Serrato Valenti *et al.* 1992; Zidan *et al.* 1992; Marschner 1995), bien por retención o mediante una reducción en la absorción (Kramer *et al.* 1977).

En virtud de la importancia del ápice radical en los procesos de absorción iónica, esta región de la raíz ha sido la más estudiada en plantas sometidas a estrés por sales (Huang & Van Steveninck 1990). Las principales diferencias estructurales entre raíces de plantas adaptadas a vivir en ambientes salinos y las glicófitas están vinculadas con la relación ancho de la banda de Caspary/ancho de las paredes radiales de la endodermis, número de estratos de la corteza y área superficial de los elementos del metaxilema en sección transversal (Epstein 1972; Poljakoff-Mayber 1975; Schreiber *et al.* 1999; Enstone *et al.* 2003; Peng *et al.* 2004).

Asimismo, se ha observado en las raíces de cultivos sometidos a estrés por sales: la presencia de una exodermis con paredes suberizadas debajo de la rizodermis; incremento en el espesor de la corteza y diámetro de la estela (Poljakoff-Mayber 1975); aumento en el grado de vacuolización de los tejidos de la corteza y de la estela (Huang & Van Steveninck 1988, 1990; Reinhardt & Rost 1995a; Sánchez-Aguayo & González 1992) y mayor grado de suberización y lignificación de éstos (Wilson & Peterson 1983; Walker *et al.* 1984; Clarkson *et al.* 1987; Reinhardt & Rost 1995b; Taleisnik *et al.* 1999); variación en el número y diámetro de los vasos del metaxilema (Poljakoff-Mayber 1975; Huang & Redmann 1995); aumento en el número de capas y en la actividad del periciclo con la consecuente proliferación de raíces laterales (Solomon *et al.* 1986; Reinhardt & Rost 1995a) y diferenciación de células parenquimáticas ubicadas alrededor de los vasos del metaxilema como células de transferencia (Kramer *et al.* 1977).

En este trabajo se estudió la anatomía radical en dos genotipos de caña de azúcar con sensibilidad distinta ante las sales y se determinaron los cambios provocados por dos tipos de sales sobre los diferentes tejidos, con el fin de evaluar la posible existencia de características estructurales en la raíz que puedan ser vinculadas con la tolerancia diferencial a la salinidad de este cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron *in vitro* plantas de los genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.):

‘PR692176’, considerado como tolerante a sales (Zérega *et al.* 1991; Villafañe 1996; Hernández *et al.* 2000; García & Medina 2003; García & Jáuregui 2008) y ‘V78-1’ reportado como sensible (Hernández *et al.* 2000; García & Jáuregui 2008). El material genético fue suministrado por el Banco de Germoplasma de caña de azúcar del INIA, Yaritagua, estado Yaracuy. Las *in vitro* plantas se sembraron en germinadores con vermiculita y arena y luego se colocaron en una cámara de crecimiento donde se aclimataron por un mes; durante esta etapa la cámara de crecimiento se ajustó con un fotoperíodo de 12 h, una densidad de flujo fotónico de $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una temperatura de $26^\circ\text{C}/22^\circ\text{C}$ día/noche. El riego se efectuó con una solución nutritiva Hoagland modificada utilizada previamente para este cultivo (Kumar *et al.* 1994). Un mes después de la siembra, se transplantaron plantas lo más homogéneas posibles a potes de plástico oscuro con arena previamente desinfectada (una planta/pote) y en la cámara de crecimiento se reajustó la densidad de flujo fotónico a $639 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y la temperatura a $30^\circ\text{C}/26^\circ\text{C}$ día/noche. Un mes después del trasplante se inició la salinización en cada genotipo, aplicando NaCl (100 mol m^{-3}) o Na_2SO_4 (50 mol m^{-3}) a la solución base de riego. Paralelamente se mantuvo un tratamiento control 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 2×3 (dos genotipos y tres tipos de solución de riego), incluyendo la del tratamiento control con seis repeticiones por tratamiento.

Sesenta días después de iniciado el período de salinización, se seleccionaron aleatoriamente tres plantas por tratamiento y en cada una de éstas, se muestreó un mínimo de 4 a 6 raíces absorbentes. En cada raíz, se separaron segmentos de 10 mm aproximadamente a 10 y 50 mm del ápice radical. Estos segmentos fueron utilizados para los estudios anatómicos por microscopía óptica y de fluorescencia.

Para el estudio por microscopía óptica, los segmentos de raíces fueron fijados en una mezcla de glutaraldehído 2,4% y paraformaldehído 0,3% en buffer fosfato 0,02 M (pH 7,2). En el caso de las raíces de los tratamientos con sales, se añadió sacarosa (100 mol m^{-3}) a la solución fijadora, para evitar que los tejidos sufrieran cambios por efecto osmótico durante el proceso de fijación. Las muestras se deshidrataron en una serie creciente de etanol; luego se infiltraron gradualmente en glicol metacrilato (JB-4) y finalmente se incluyeron en resina pura, todo ello siguiendo el procedimiento descrito por Ruzin (1999). Se hicieron cortes transversales de $4 \mu\text{m}$ de espesor, usando un ultramicrotomo. Las secciones obtenidas se tiñeron con una mezcla toluidina-fucsina básica (v/v) 0,5% en solución acuosa y finalmente se montaron en láminas permanentes. Las láminas preparadas se analizaron bajo un microscopio óptico marca Leitz. Para el estudio de algunas secciones, se utilizó también luz polarizada. Asimismo, se tomaron imágenes digitales de los detalles estructurales, usando para ello el programa Spot Camera (Diagnostic Instruments Inc.). Se realizaron las siguientes medidas anatómicas con la ayuda de un microscopio calibrado: espesor de la corteza, diámetro de la estela, densidad y diámetro de los vasos amplios del metaxilema. Las dos prime-

ras medidas se usaron para calcular la relación espesor de la corteza/diámetro de la estela. De cada variable anatómica cuantitativa, se efectuaron 30 medidas en cortes provenientes de al menos tres raíces. Dichas medidas se tomaron en la zona más cercana al ápice radical. Para estas variables cuantitativas se efectuó un análisis de varianza y en el caso de aquellas que resultaron significativas se realizó una comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan; estos análisis se realizaron con la ayuda de los programas Statistix versión 1.0 y SAS versión 8.1.

Para el estudio por microscopía de fluorescencia, parte del material muestreado se fijó en FAA (formalina-ácido acético-etanol 70%). Las muestras fijadas se deshidrataron en una serie creciente de alcohol butílico terciario, se incluyeron en parafina y se seccionaron transversalmente a 12 μm de espesor con un micrótopo de rotación. Las láminas se desparafinaron, posteriormente las secciones se tiñeron con soluciones acuosas de berberina (0,1%) y azul de anilina (0,5%) y el montaje se realizó en una solución preparada con una mezcla (v/v) de glicerina y cloruro férrico 0,1% (Brundrett *et al.* 1988); este procedimiento permite la detección de suberina, lignina y calosa. Las láminas se observaron en un microscopio Nikon, equipado con iluminación ultravioleta. Se tomaron imágenes digitales de los detalles que se consideraron de interés con la ayuda del programa Spot Camera.

RESULTADOS

Anatomía radical en plantas control

En la sección transversal de la raíz a 10 mm del ápice radical, se observó una epidermis constituida por una capa de células en ambos genotipos, pero se detectaron diferencias en cuanto al tamaño y forma de las células que conforman este tejido. En 'PR692176' las células fueron de menor tamaño y exhibieron formas muy variadas, con predominio de células papilosas y/o en forma de copa (Fig. 1a, b); en 'V78-1', en cambio, las células resultaron más grandes y la forma predominante fue la cuadrangular, siendo escasas las células en forma de copa, mientras que las papilosas no se observaron (Fig. 1c). En algunas zonas de la epidermis de ambos genotipos se detectó una cutícula recubriendo la superficie de la pared tangencial externa (Fig. 1d). Por debajo de la epidermis se distinguió la exodermis, conformada por una capa de células (Fig. 1b, c) en cuyas paredes no se detectó deposición de suberina (Fig. 2a, b). La corteza central estuvo delimitada externamente por 1-2 estratos de células más pequeñas que las epidérmicas y las exodérmicas, con un ligero grado de lignificación, especialmente en 'PR692176', y debajo de éstos se contabilizaron 9 a 11 capas de células parenquimáticas con numerosos espacios intercelulares (Fig. 1a, e).

La endodermis estuvo constituida por un estrato de células en cuyas paredes radiales se observó una banda de Caspary punteada, de aproximadamente 1 μm de espesor en ambos genotipos (Fig. 2c). El cilindro central se presentó delimitado externamente por el periciclo uniestratificado con células de paredes ligeramente

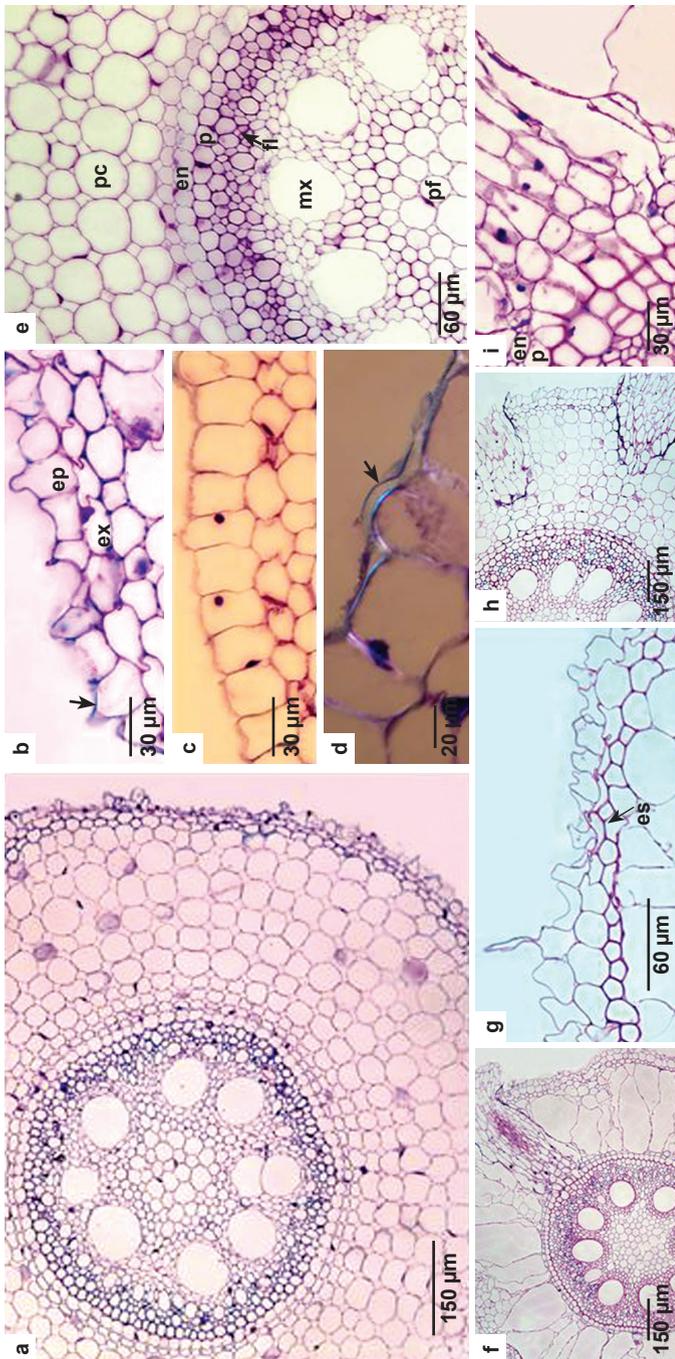


Fig. 1. Secciones transversales de la raíz en plantas control de dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.). **a-e.** A 10 mm del ápice. **a.** Vista general en 'PR692176'. **b-c.** Epidermis y parte de la corteza en 'PR692176' y 'V78-1', respectivamente. **d.** Epidermis bajo luz polarizada en 'V78-1'. **e.** Parte de la corteza y de la estela en 'V78-1'. **f-i.** A 50 mm del ápice. **f.** Vista general en formación a partir del periciclo en 'PR692176'. **g.** Epidermis y parte externa de la corteza en 'V78-1'. **h.** Vista general en 'V78-1'. **i.** Endodermis y raíz lateral en formación a partir del periciclo en 'PR692176'. **j.** Epidermis; **ex** = exodermis; **es** = esclerenquima; **pc** = parénquima cortical; **en** = endodermis; **p** = periciclo; **fl** = floema; **mx** = metaxilema; **pf** = parénquima fundamental.

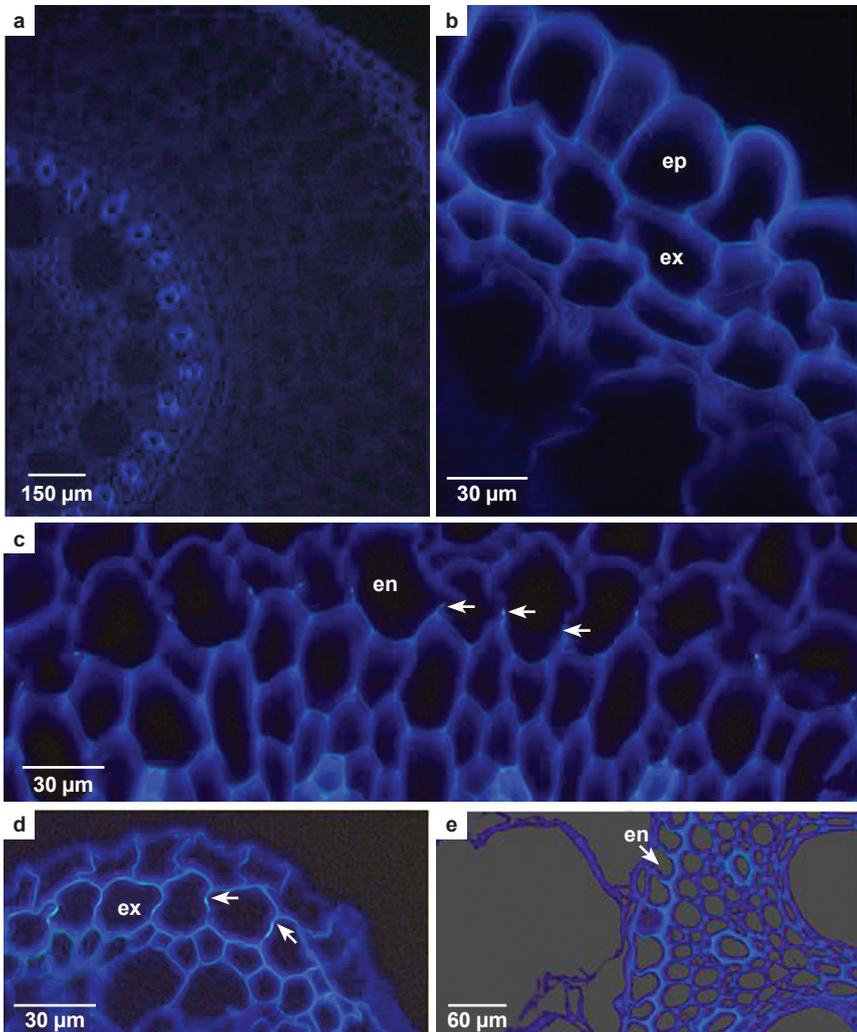


Fig. 2. Secciones transversales de la raíz bajo el microscopio de epifluorescencia en plantas control de dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.). **a-c.** A 10 mm del ápice. **a.** Vista general en 'V78-1'. **b.** Epidermis y exodermis en 'V78-1'. **c.** Endodermis y parte de la estela en 'PR692176', nótese la fluorescencia de la banda de Caspary (indicada con flechas) en las paredes radiales de la endodermis. **d-e.** A 50 mm del ápice. **d.** Fluorescencia de la banda de Caspary (indicada con flechas) en las paredes radiales de la exodermis en 'PR692176'. **e.** Fluorescencia en la endodermis en 'V78-1'. ep = epidermis; ex = exodermis; en = endodermis.

lignificadas. El tejido vascular estuvo representado por numerosas arcos de xilema dispuestas radialmente, alternando con cordones de floema. La región central de la estela se observó ocupada por parénquima (Fig. 1e). Los genotipos estudiados mostraron diferencias, tanto en el número de vasos amplios del metaxilema, como en su diámetro. Se detectaron en promedio 9 y 12 vasos de metaxilema en 'PR692176' y 'V78-1' respectivamente, pero al estimar el número de éstos por unidad de área de estela, la densidad de vasos fue mayor en el primer genotipo (40 vasos mm^{-2}), en comparación al segundo (31 vasos mm^{-2}). El diámetro promedio de estos vasos fue ligeramente mayor en 'PR692176' (94 μm) que en 'V78-1' (90 μm).

A 50 mm del ápice radical se observaron pelos radicales en algunas zonas de la epidermis (Fig. 1g). En cuanto a la exodermis, no se notaron cambios respecto a la zona más apical cuando las células se estudiaron con el microscopio de luz, pero en el microscopio de fluorescencia se detectó la presencia de una banda de Caspary conspicua en las paredes radiales de este tejido (Fig. 2d). Debajo de la exodermis se observaron 1 a 2 estratos de células, de paredes más lignificadas respecto a la zona más apical, que a este nivel de la raíz constituye un anillo esclerenquimático, con un grado de lignificación ligeramente mayor en 'PR692176', en comparación con 'V78-1' (Fig. 1g). En la corteza central, gran parte de las células del parénquima aparecen desintegradas, dando lugar a la formación de cavidades aeríferas grandes, que se extienden desde el anillo esclerenquimático hasta la endodermis y están separadas entre sí por franjas de células parenquimáticas que permanecen intactas y/o por finas lamelas constituidas por restos de paredes de las células desintegradas (Fig. 1f); sin embargo, en 'V78-1' fue común observar la persistencia de franjas amplias de parénquima en la corteza de esta región de la raíz (Fig. 1h). En la endodermis se detectó deposición de lamelas de suberina sobre la superficie interna de las paredes radiales y en la tangencial interna de las células de este tejido (Fig. 2e); en 'V78-1' se notó un incipiente grado de lignificación en la pared tangencial interna, más acentuado en 'PR692176'. En la estela se observó la formación de raíces laterales a partir del periciclo (Fig. 1i) y mayor grado de lignificación, tanto de este último tejido como del xilema, respecto a la zona anterior.

Anatomía radical en plantas estresadas

La aplicación de Na_2SO_4 al medio de crecimiento provocó algunos cambios estructurales en las raíces de los dos genotipos. La presencia de cutícula se apreció en una mayor proporción de células de la epidermis (Fig. 3a). Las células exodérmicas alcanzaron mayor tamaño que las epidérmicas y en las mismas se observaron varias vacuolas, en especial en 'PR692176' (Fig. 3a). Adicionalmente, la banda de Caspary de la exodermis se distinguió claramente a 10 mm del ápice (Fig. 4a) y a 50 mm se observó un desarrollo masivo de la misma (Fig. 4b), en contraste con las plantas control. En la corteza central de la región más cercana al ápice, el número de estratos de parénquima en general no varió, pero las células de ese tejido resultaron de mayor tamaño y en muchas de ellas se observaron varias vacuolas de diferentes tamaños (Fig. 3b), siendo esta tendencia mucho más

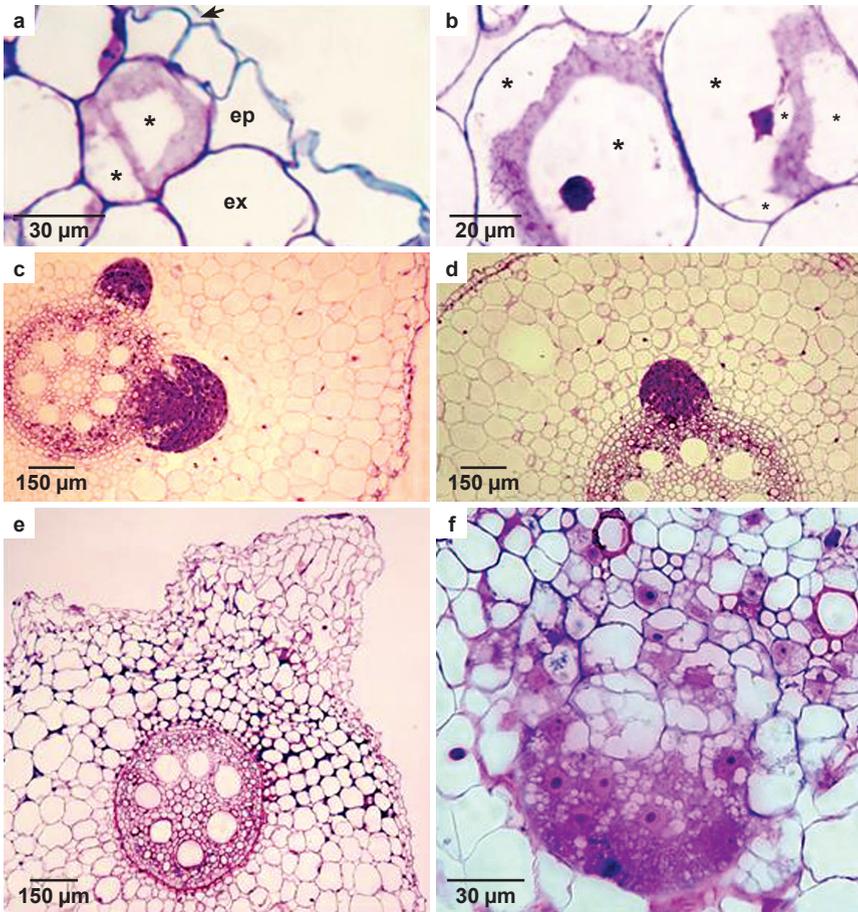


Fig. 3. Secciones transversales de la raíz a 10 mm del ápice en plantas de dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) tratadas con Na_2SO_4 o NaCl . **a.** Epidermis (cutícula indicada con flecha) y exodermis, resaltando células con varias vacuolas (indicadas con asterisco) en 'PR692176' tratadas con Na_2SO_4 . **b.** Parénquima cortical de 'PR692176', tratada con Na_2SO_4 , nótese células con varias vacuolas (indicadas con asterisco). **c-d.** Vistas generales en 'PR692176' y 'V78-1' tratadas con Na_2SO_4 , respectivamente, nótese raíces laterales en formación. **e.** Vista general en 'PR692176', tratada con NaCl . **f.** Raíces laterales en formación en 'PR692176', tratada con Na_2SO_4 . ep = epidermis; ex = exodermis.

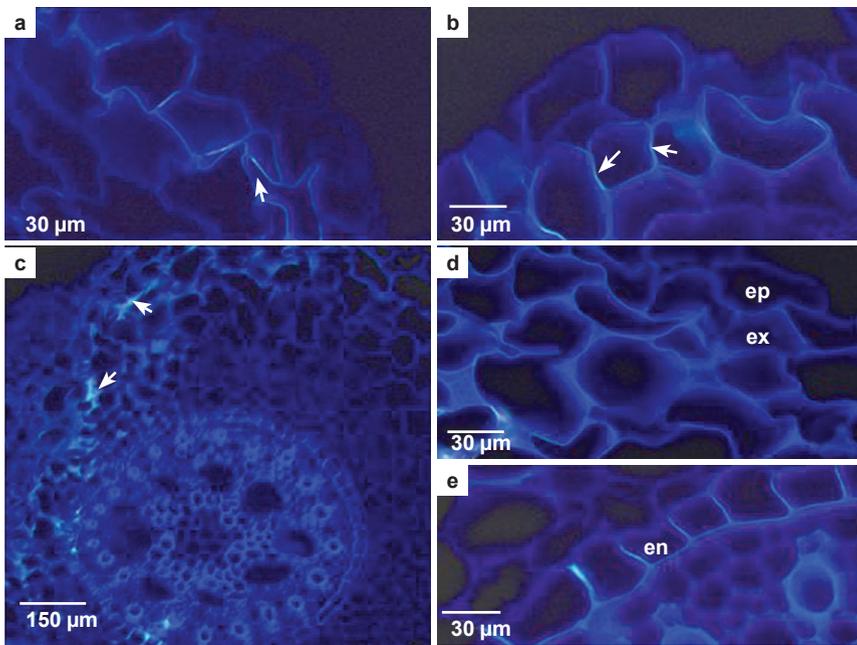


Fig. 4. Secciones transversales de la raíz bajo microscopio de epifluorescencia en plantas de dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) tratadas con Na_2SO_4 y NaCl . **a-b.** Fluorescencia de la banda de Caspary (indicada con flechas) en la exodermis de 'PR692176', a 10 y 50 mm del ápice, en plantas tratadas con Na_2SO_4 . **c-e.** Plantas tratadas con NaCl a 10 mm del ápice. **c.** Vista general de la raíz en plantas de 'V78-1' a 10 mm del ápice. **d.** Epidermis, exodermis y parénquima en 'V78-1'. **e.** Endodermis y parte de la estela en 'V78-1'. ep = epidermis; ex = exodermis; en = endodermis.

frecuente en 'PR692176' que en 'V78-1'. Asimismo, en todas las zonas estudiadas se notó deposición de suberina y/o de lignina en las paredes de las células del parénquima cortical. En cuanto a la endodermis no se detectaron diferencias respecto a las plantas control. Otro cambio estructural observado en las plantas tratadas con Na_2SO_4 fue la iniciación de raíces laterales a partir de los 10 mm del ápice radical (Fig. 3c, d); sin embargo, muchos de los primordios radicales iniciados no emergieron a la superficie de la raíz. En las células meristemáticas de las raíces laterales en formación se apreció mayor número de vacuolas que el observado en las raíces de las plantas control, particularmente en 'PR692176' (Fig. 3f), donde la cantidad de vacuolas presentes en esas células fue considerablemente mayor que el observado en 'V78-1'.

En las plantas estresadas con NaCl , el estrés también provocó cambios anatómicos, algunos de ellos similares a los provocados por el Na_2SO_4 . A 10 mm del

ápice, en ambos genotipos se observó la formación de salientes en la raíz (Fig. 3e), así como una acentuada proliferación de raíces laterales bastante cortas, de las cuales algunas emergieron a la superficie, mientras que otras permanecieron dentro de la corteza. En los salientes, las células del parénquima cortical adoptaron forma alargada y se dispusieron radialmente (Fig. 3e), observándose una acentuada deposición de suberina y/o de lignina en las paredes de muchas de ellas, especialmente en las regiones de la pared ubicadas frente a los espacios intercelulares (Fig. 3e, 4c). La banda de Caspary de la exodermis no se apreció en la región más próxima al ápice (Fig. 4d), pero a 50 mm de éste su desarrollo fue mayor que en las plantas control; adicionalmente, en algunas células se observó deposición de suberina en la pared tangencial externa y/o a todo lo ancho de las paredes radiales de las células exodérmicas. En muchas células epidérmicas de las regiones más maduras de la raíz también se notó un alto grado de suberización de las paredes celulares. En cuanto a la endodermis, a 10 mm del ápice la banda de Caspary se extendió a todo lo ancho de las paredes radiales, notándose un desarrollo más conspicuo que en las plantas control (Fig. 4e) y en 'PR692176' se apreció además una ligera lignificación de la pared tangencial interna de este tejido. A 50 mm del ápice, se observó mayor grado de lignificación de la pared tangencial interna de la endodermis, especialmente en 'PR692176', donde la pared engrosada ocupó gran parte de la cavidad celular. Otro rasgo distintivo observado en las raíces de las plantas de estos tratamientos fue la ausencia absoluta de cámaras aeríferas en la corteza a 50 mm del ápice. A esta distancia también se detectó una intensa deposición de suberina y en algunos casos de lignina, en las paredes de muchas de las células del parénquima cortical, especialmente en las regiones de la pared ubicadas frente a los espacios intercelulares. Asimismo, se observó la presencia de varias vacuolas pequeñas tanto en algunas células epidérmicas, como en el parénquima de la corteza y en el parénquima xilemático, siendo esta tendencia más frecuente en 'PR692176' que en 'V78-1'. En cuanto a la estela, a 50 mm del ápice se evidenció un mayor grado de lignificación del periciclo y del xilema con relación a las raíces de las plantas tratadas con Na_2SO_4 .

Efecto de la salinidad sobre variables anatómicas cuantitativas

La salinidad indujo un incremento significativo en el espesor de la corteza, el cual fue similar para las dos sales probadas (Tabla 1). Se encontraron diferencias significativas entre los dos genotipos para esta variable, correspondiendo el mayor espesor de la corteza a 'PR692176'. Por el contrario, el diámetro de la estela se redujo significativamente con la salinización y el tratamiento con NaCl afectó más esta variable que el tratamiento con Na_2SO_4 . En 'PR692176' el diámetro de la estela se redujo respecto a las plantas control, sólo en presencia de NaCl, mientras que en 'V78-1' los dos tratamientos de salinidad provocaron una disminución apreciable y similar en esta variable, con relación a las plantas no estresadas.

Tabla 1. Variables anatómicas en raíces de dos genotipos de caña de azúcar sometidos a estrés salino por 60 días.

Efecto	Espesor corteza (μm)	Diámetro estela (μm)	Relación corteza/estela	Número vasos mm^{-2} estela	Diámetro vasos (μm)
Tratamiento					
Control	446c	627a	0,73c	35d	92a
Na_2SO_4	574b	527b	1,11b	42c	88a
NaCl	575b	442c	1,33a	62a	69c
Genotipo					
'PR692176'	642a	526	1,24a	42b	81a
'V78-1'	528b	529	1,04b	52a	78b

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,01$) de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan

Como consecuencia del incremento en el espesor de la corteza y la reducción en el diámetro de la estela observado en las plantas estresadas, la relación espesor de la corteza/diámetro de la estela se incrementó significativamente en las plantas de los tratamientos salinos (Tabla 1), siendo mayor en las plantas tratadas con NaCl. Se encontraron diferencias significativas entre los genotipos para esta variable, con el mayor promedio de la misma para 'PR692176'.

El número de vasos amplios de metaxilema por mm^2 de estela se incrementó significativamente con la salinidad, siendo ese efecto más acentuado en las plantas tratadas con NaCl (Tabla 1). Para esta variable también se detectaron diferencias altamente significativas entre los dos genotipos estudiados, con el mayor promedio en 'V78-1'. Por el contrario, el diámetro de los vasos grandes del metaxilema disminuyó significativamente en las plantas estresadas con NaCl, a diferencia de las tratadas con Na_2SO_4 , el cual no difirió significativamente respecto a las plantas control. Se detectaron diferencias significativas entre los genotipos para esta variable con el mayor promedio de la misma en 'PR692176'.

DISCUSIÓN

El arreglo histológico observado en las raíces de las plantas control se corresponde en general al descrito por Dillewijn (1952) en caña de azúcar, sin embargo, se detectaron algunas diferencias estructurales entre los dos genotipos estudiados, lo que podría tener importancia desde el punto de vista adaptativo.

Las formas celulares predominantes en la epidermis de 'PR692176' proveen una mayor superficie de pared expuesta a la solución que rodea las raíces, lo cual podría conferir ventajas a este genotipo en cuanto a la capacidad para obtener agua y nutrientes por unidad de longitud de la raíz, aspecto de relevancia cuando las

plantas crecen en condiciones de bajo potencial hídrico en el sustrato (Kramer 1969, 1983). La presencia de cutícula en ciertas regiones de la epidermis en la zona más próxima al ápice fue común en los dos genotipos, rasgo que ya se ha reportado en raíces de otras especies (Moreshet *et al.* 1996). El papel que cumple esta capa en la permeabilidad de las raíces al agua no es claro; se ha indicado que la cutícula contiene muchos poros, y que por lo tanto no representa una barrera importante para la entrada de agua y solutos a la raíz (Kramer 1983); contrariamente, otros autores sostienen que su presencia sobre la superficie de las células radicales puede incrementar la resistencia al flujo de agua hacia el interior de la misma (Moreshet *et al.* 1996).

En la mayoría de las plantas se asume que debe existir banda de Caspary en la exodermis de la raíz (Peterson 1989); no obstante, su presencia se ha demostrado en pocos cultivos, entre ellos maíz y cebolla (Peterson & Perumalla 1984; Perumalla & Peterson 1986), constituyendo el presente estudio el primer reporte sobre la existencia de una banda de Caspary en la exodermis de raíces de caña de azúcar. Se ha indicado que la banda de Caspary de la exodermis usualmente es más masiva que la de la endodermis (Peterson 1989) y por lo común madura más tardíamente. Por ello con frecuencia no se detecta en las regiones más cercanas al ápice (Perumalla & Peterson 1986), lo cual se corresponde con lo observado en este estudio, ya que la banda de Caspary de la exodermis se detectó a partir de los 50 mm del ápice y se notó más conspicua que la de la endodermis. La existencia de una exodermis con banda de Caspary se considera un carácter de gran importancia en lo que respecta a la restricción del movimiento de iones a través del apoplasto de la corteza (Clarkson 1996; Enstone *et al.* 2003), aspecto relevante cuando las plantas crecen en ambientes salinos.

El estudio de la endodermis a 10 y 50 mm del ápice radical permitió observar dos de los tres estados de desarrollo que caracterizan la ontogenia de este tejido (Sanderson 1983). A 10 mm del ápice, la banda de Caspary se apreció en forma de puntos en las paredes radiales, lo que se corresponde con el estado I en su desarrollo; a 50 mm del ápice, se notó la deposición de lamelas de suberina en toda la pared radial y en la superficie interna de las paredes de este tejido, lo que representa el estado II (estado secundario) en su ontogenia. Cabe destacar que a 50 mm del ápice radical no se observaron células de paso en la endodermis, lo cual es común en raíces de muchas gramíneas (Clarkson 1996).

La presencia de pelos radicales y de raíces laterales se detectó a los 50 mm del ápice radical, lo que hace suponer que las partes más maduras de las raíces de caña de azúcar podrían absorber agua más rápidamente que las porciones apicales más jóvenes, tal como se ha observado en raíces de maíz (Wang *et al.* 1991). En 'V78-1' se notó la persistencia de células parenquimáticas vivas en la corteza central a 50 mm del ápice, lo cual podría influenciar el movimiento radial del agua y de los solutos disueltos en ella hacia la estela, ya que se ha comprobado que la presencia de tejidos vivos en la corteza contribuye a incrementar significativamente la resistencia al flujo radial del agua (Peterson & Steudle 1993).

Otra diferencia observada entre los dos genotipos se refiere al número y diámetro de los vasos amplios del metaxilema. Tanto Dillewijn (1952) como Metcalfe (1960), reportaron ocho vasos amplios de metaxilema en las raíces absorbentes de caña de azúcar; sin embargo, en este estudio esta característica varió de acuerdo al genotipo. El número absoluto de vasos grandes de metaxilema fue mayor en 'V78-1', en comparación con 'PR692176', pero al expresar éstos por unidad de área de estela, ocurrió lo contrario. Se ha comprobado que las raíces con mayor densidad de vasos tienen mejor capacidad para el transporte de agua y minerales a largas distancias (Luxova 1989). Para la caña de azúcar, se ha indicado que los genotipos con mayor número de vasos xilemáticos por mm² de estela en raíces y tallos son más tolerantes a estrés hídrico (Rao 1950, citado por Dillewijn 1952). El diámetro de los vasos del metaxilema fue ligeramente mayor en 'PR692176', en comparación con 'V78-1', lo cual representa una ventaja para el primer genotipo desde el punto de vista de la conducción axial de agua hacia el vástago, ya que se sabe que el flujo es directamente proporcional al radio de los vasos, y por lo tanto, los vasos de mayor diámetro proveen mayor conductancia axial del agua (McCully & Canny 1988).

Los dos genotipos también se diferenciaron en el grado de lignificación de las células del anillo esclerenquimático de la corteza, de la endodermis, del periciclo y del xilema a 50 mm del ápice radical, el cual fue notablemente mayor en 'PR692176'. Es probable que ese mayor grado de lignificación juegue un papel importante en la respuesta de ese genotipo a condiciones de estrés hídrico, ya que esa característica se ha indicado como típica en plantas que crecen en sustratos con bajo potencial hídrico (Serrato Valenti *et al.* 1992). Asimismo, se ha sugerido que mayor grado de engrosamiento en las paredes de las células exodérmicas y en los tejidos de la estela, así como de los estratos celulares adyacentes a esos tejidos, podría jugar un papel preventivo contra la desecación de la corteza y de la estela (Baruch & Mérida 1995).

Las diferencias estructurales entre las raíces de los dos genotipos estudiados, en cuanto a la forma celular predominante en la epidermis, densidad y diámetro de vasos amplios de metaxilema, así como el grado de lignificación en la exodermis y tejidos de la estela, podrían contribuir a explicar parcialmente la mayor tolerancia a sequía de 'PR692176', en comparación con 'V78-1' (Zérega 1995). Las raíces de las plantas control de 'PR692176' mostraron características anatómicas relacionadas con mayor eficiencia en la absorción y conducción de agua hacia la parte aérea, entre las que resaltan: células epidérmicas con mayor superficie expuesta, mayor densidad de elementos amplios del metaxilema por unidad de área de estela y mayor diámetro de éstos. Esas características sugieren que la tolerancia de este genotipo a la salinidad podría estar en parte asociada con mejor capacidad para enfrentar el efecto de estrés hídrico inducido por la salinidad.

Los resultados demuestran que la aplicación de sales al medio de crecimiento provocó cambios en el patrón histológico de las raíces, observándose los más extremos en las raíces de las plantas estresadas con NaCl. La plasticidad en los

caracteres estructurales de las raíces es importante para la supervivencia de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico y por salinidad (Stasovski & Peterson 1991; Wraith & Wriath 1998). Algunos de los cambios anatómicos observados en las raíces de las plantas de caña de azúcar sometidas a estrés salino, pueden estar vinculados con la restricción en la absorción de sales y/o con la capacidad de acumulación de éstas en las raíces.

El aumento en el grado de vacuolación de la epidermis, exodermis, parénquima cortical y del parénquima que bordea los elementos conductores del metaxilema en las plantas estresadas contribuye a incrementar la capacidad de compartimentación de sales en vacuolas, facilitando así el ajuste osmótico, al tiempo que el citoplasma es protegido del efecto tóxico de las sales (Huang & Van Steveninck 1990; Reinhardt & Rost 1995a). El aumento en la succulencia radical fue independiente del anión acompañante en la sal de sodio, lo que contrasta con el supuesto de que el Cl^- promueve la succulencia, mientras que el SO_4^{2-} induce el efecto contrario (Waisel 1972; Hayward *et al.* 1946, citado por Kramer 1983). En algunos primordios radicales en las plantas salinizadas se observó la presencia de muchas vacuolas pequeñas en las células meristemáticas, siendo el número de éstas mucho mayor en 'PR692176', en comparación con V78-1. Sánchez-Aguayo & González (1992) también observaron un aumento en el número de vacuolas y una reducción en el tamaño de éstas en ápices radicales de plántulas de tomate sometidas a estrés por salinidad. Las vacuolas pequeñas brindan mayor superficie de membrana por unidad de volumen, en comparación con las vacuolas grandes, lo que podría favorecer la tasa de transporte de sales a través del tonoplasto y la capacidad de almacenarlas en las vacuolas, en plantas sometidas a estrés salino (Solomon *et al.* 1986; Koyro 2002). La tendencia hacia mayor succulencia en las raíces de las plantas salinizadas de 'PR692176' podría significar mayor capacidad de retención de sales en este órgano, para el caso particular de ese genotipo.

Otra modificación anatómica causada por la salinidad fue la disminución del número y tamaño de las cámaras aeríferas de la corteza central a 50 mm del ápice, siendo este comportamiento más acentuado en las plantas estresadas con NaCl. Samarajeewa *et al.* (1999), trabajando con plantas de arroz sometidas a estrés con NaCl, notaron una disminución en la formación de aerénquima en la corteza central, que atribuyeron a un retraso en la muerte de las células de la corteza a causa del estrés salino. La presencia de tejidos vivos en la corteza puede aumentar significativamente la resistencia al flujo radial del agua (Peterson & Steudle 1993) y probablemente este es uno de los factores que promueve la extensiva formación de salientes y/o de raíces laterales en las plantas estresadas con NaCl; además, la persistencia de células parenquimáticas vivas en la corteza central puede proveer un lugar para la retención local de las sales, disminuyendo así su ascenso al vástago.

El tratamiento con sales promovió la maduración precoz de los tejidos radicales, lo cual se ha señalado como un comportamiento común en plantas sometidas a estrés salino (Solomon *et al.* 1986; Reinhardt & Rost 1995b). En plantas de guisante (Solomon *et al.* 1986) y de algodón (Reinhardt & Rost 1995a) some-

tidas a estrés salino, también se ha observado una estimulación en la iniciación de raíces laterales más cerca del ápice radical, debido fundamentalmente a un incremento en la actividad mitótica del periciclo; no obstante, la salinidad detiene el desarrollo de estas raíces, por lo que se observa gran cantidad de primordios radicales iniciados pero que no se alargan, lo cual aceleraría la formación de un sistema radical profuso, una vez que éste encuentre condiciones más favorables para su desarrollo (Waisel & Breckle 1987).

La diferenciación de la banda de Caspary de la exodermis en plantas estresadas con Na_2SO_4 se aceleró notoriamente y fue más conspicua en comparación a la observada en las raíces de las plantas control. La maduración temprana de la banda de Caspary de la exodermis puede tener implicaciones importantes en el bloqueo de la entrada de sales a la corteza radical, ya que el libre transporte de éstas a través del apoplasto estaría limitado a la epidermis. Asimismo, la suberización de este tejido puede obligar a que los solutos sean absorbidos a través de la membrana plasmática de las células exodérmicas (Epstein 1972; Gorham *et al.* 1985; Peterson & Enstone 1996). Comúnmente, la banda de Caspary de la exodermis madura a mayor distancia del ápice que la de la endodermis, pero se ha demostrado que cuando la tasa de crecimiento de las raíces declina, ésta se diferencia más cerca del ápice radical (Peterson & Perumalla 1984; Perumalla & Peterson 1986; Peterson 1989). Evidencias experimentales han indicado que tanto el estrés por sequía como por salinidad, promueven la maduración temprana de la exodermis y contribuyen a incrementar el grado de suberización de este tejido (Taleisnik *et al.* 1999), lo cual coincide con lo observado en este estudio. En plantas de algodón, Reinhardt & Rost (1995b) encontraron que condiciones de alta salinidad indujeron la formación de una exodermis con banda de Caspary y deposición de suberina en sus paredes en la zona más cercana a la base de la raíz, lo cual no se observó en plantas control. En raíces de cebolla se han obtenido evidencias de que la banda de Caspary de la exodermis bloquea la entrada de iones SO_4^{2-} al parénquima cortical (Peterson 1987). También Walker *et al.* (1984) han reportado suberización y lignificación de las paredes radiales de las células de la exodermis, en respuesta al estrés salino y aunque estos autores no observaron la formación de bandas de Caspary en este tejido, señalan que la deposición de suberina y lignina en el mismo puede cumplir una función similar. Adicionalmente, el engrosamiento de las paredes celulares de la exodermis podría contrarrestar la pérdida de agua de la raíz, en las condiciones de bajo potencial hídrico que impone el estrés por sales (Taleisnik *et al.* 1999).

En el tratamiento con NaCl no se evidenció maduración temprana de la banda de Caspary de la exodermis, pero a 50 mm del ápice radical ésta mostró un desarrollo más conspicuo, en comparación al de las plantas control, y además se observó una intensa suberización en la pared tangencial externa de las células de ese tejido, así como en muchas de las células epidérmicas, lo cual se ha indicado como típico de raíces que crecen muy lentamente (Clarkson *et al.* 1987). En plantas de cítricos sometidas a estrés por sales, Walker *et al.* (1984) observaron

intensa suberización en las células de la exodermis, que asociaron con menor tasa de extensión de los ápices radicales. La intensa acumulación de suberina en las paredes de las células del parénquima cortical podría ser el factor que determinó la ausencia de diferenciación precoz de la banda de Caspary de la exodermis, ya que la suberina es una sustancia hidrofóbica (Dickison 2000) y su deposición en las paredes celulares constituye una barrera importante para el movimiento del agua y los solutos hacia la estela. La contribución de la deposición de lamelas de suberina en las paredes celulares para restringir la absorción de agua y solutos es controvertida; algunos autores señalan que éstas tienen canales hidrofílicos que no restringen el movimiento del agua (Clarkson *et al.* 1987), mientras que otros sostienen que el incremento en la suberización de las raíces reduce su permeabilidad (Kramer 1983; Peterson 1988; Peterson & Enstone 1996).

La ontogenia prematura de la endodermis sólo se produjo en las raíces de las plantas tratadas con NaCl, observándose este tejido a 10 mm del ápice en el estado II de desarrollo, mientras que a 50 mm del ápice sus células se apreciaron en el estado III de su ontogenia, con un fuerte engrosamiento de la pared tangencial interna, especialmente en el genotipo tolerante. Se sabe que en condiciones salinas una cantidad importante de sales puede ingresar al xilema a través del apoplasto, en la porción ubicada entre el ápice radical y el sitio donde se inicia la maduración de la endodermis (Gorham *et al.* 1985; El-Saidi 1997; Enstone *et al.* 2003); se considera que la diferenciación temprana de este tejido evita el excesivo ingreso de sales a la estela vía apoplasto (Glenn *et al.* 1997). En correspondencia a lo observado en este estudio, en otros cultivos también se ha reportado la maduración precoz de la endodermis en plantas sometidas a estrés por sales, de modo que el estado II de su desarrollo se produce mucho más cerca del ápice radical (Walker *et al.* 1984; Reinhard & Rost 1995b). Existen evidencias experimentales de que la ontogenia de la endodermis está fuertemente influenciada por la tasa de crecimiento de las raíces, de modo que en aquellas que crecen lentamente, el desarrollo del estado II ocurre más cerca del ápice radical (Peterson 1989). Cabe indicar que cuando el tratamiento salino incluyó al ión Cl⁻, la banda de Caspary de la endodermis tuvo un desarrollo más conspicuo y ocupó todo el ancho de las paredes radiales, lo cual posiblemente reduce el ingreso excesivo de ese ión a la estela.

Se ha demostrado que el patrón de absorción de agua muestra una marcada dependencia con el desarrollo de la endodermis y se considera que tanto la deposición de lamelas de suberina en la exodermis y/o en la endodermis, como el engrosamiento secundario de las paredes de la endodermis, provocan un marcado descenso en el flujo de agua hacia la estela (Sanderson 1983; Clarkson *et al.* 1987; Peyrano *et al.* 1997).

En los tejidos de la estela, particularmente en el periciclo y el xilema, se observó mayor grado de lignificación en la zona más cercana al ápice, especialmente en las raíces de las plantas tratadas con NaCl. La lignificación temprana del xilema se ha considerado común en plantas creciendo en condiciones de salinidad (Solomon *et al.* 1986) y se supone que facilita el transporte de agua en plantas cre-

ciendo en ambientes con bajo potencial hídrico (Serrato Valenti *et al.* 1992).

La reducción en el diámetro de la estela observado en las plantas estresadas se debió a una disminución tanto en el número absoluto de vasos de metaxilema, como en el diámetro de éstos, lo cual coincide con lo reportado por Serrato Valenti *et al.* (1992) quienes, trabajando con plantas del género *Prosopis* estresadas con NaCl, observaron un comportamiento semejante el cual atribuyeron a una reducción en el tamaño del sistema vascular de la raíz. La reducción en el número de vasos, como en el diámetro de éstos, se han considerado respuestas para enfrentar el efecto de estrés hídrico provocado por las sales, ya que ambas características incrementan la resistencia al transporte hidráulico hacia las hojas, ayudando así a disminuir la pérdida global de agua por la planta (Gadallah & Ramadan 1997). Además, los vasos de mayor diámetro tienen mayor conductividad hidráulica en comparación a los más pequeños (Luxova 1989), pero son más vulnerables a la formación de burbujas (cavitación), fenómeno que reduce drásticamente la conductancia hidráulica del xilema (Moreshet *et al.* 1996).

En conclusión, 'PR692176' muestra rasgos estructurales que podrían contribuir a explicar su mayor tolerancia a la salinidad y también a la sequía, entre ellos: mayor número de vacuolas por célula en el parénquima, forma de las células epidérmicas, densidad y diámetro de los vasos amplios del metaxilema, así como el grado de lignificación de la exodermis y tejidos de la estela.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento otorgado para esta investigación a través del Proyecto N° 01.31.4692.2004. También a la Dra. Judith Thomas por sus valiosas orientaciones y por el apoyo brindado en el suministro de insumos y por facilitar el espacio usado para la realización del ensayo en las instalaciones del Phytotron de la Universidad del Estado de Carolina del Norte (NCSU- USA). Asimismo, a la Ing. Agr. Rosalba Tovar, del Central El Palmar, por su cooperación en el suministro de las *vitro* plantas usadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Baruch, Z. & T. Mérida. 1995. Effects of drought and flooding on root anatomy in four tropical forage grasses. *Int. J. Plant Sci.* 156: 514-521.
- Brundrett, M., D. Enstone & C. Peterson. 1988. A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin and callose in plant tissue. *Protoplasma* 146: 133-142.
- Clarkson, D. 1996. Root structure and sites of ion uptake. In: Waisel, Y., A. Eshel & U. Kalkafi (eds.). *Plant roots: the hidden half*, pp. 483-510. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Clarkson, D., A. Robards, J. Stephens & M. Stark. 1987. Suberin lamellae in the hypo-

- dermis of maize (*Zea mays*) roots; development and factors affecting the permeability of hypodermal layers. *Pl. Cell Environm.* 10: 83-93.
- Dickison, W. 2000. *Integrative plant anatomy*. Academic Press, Massachusetts.
- Dillewijn, C. 1952. *Botany of sugarcane*. Chronica Botanica Co. Waltham, Mass.
- El-Saidi, M. 1997. Salinity and its effect on growth, yield and some physiological processes of crop plants. In: Jaiwal, P., R. Singh & A. Gulati (eds.). *Strategies for improving salt tolerance in higher plants*, pp. 111-127. Science Publishers, Inc. USA.
- Enstone, D.E., C. Peterson & M. Fengsham. 2003. Root endodermis and exodermis, structure, function and responses to the environment. *J. Pl. Growth Regulat.* 21: 335-351.
- Epstein, E. 1972. *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. John Wiley & Sons, Inc. NY, London.
- Gadallah, M. & T. Ramadan. 1997. Effects of zinc and salinity on growth and anatomical structure of *Carthamus tinctorius* L. *Biol. Plant.* 39: 411-418.
- García, M. & E. Medina. 2003. Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio. *Revista Fac. Agron. Univ. Zulia* 20: 168-179.
- García, M. & D. Jáuregui. 2008. Efecto de la salinización con NaCl o Na₂SO₄ sobre la anatomía foliar en dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) con tolerancia salina diferencial. *Ernstia* 18: 89-105.
- Glenn, E., J. Brown & M. Khan. 1997. Mechanisms of salt tolerance in higher plants. In: Basra, A. & R. Basra (eds.). *Mechanism of environmental stress resistance in plants*, pp. 83-110. Harwood Academic Publishers. The Netherlands.
- González, H., J. Roberts, W. Jordan & M. Drew. 1997. Growth, water relations, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedling during salt stress. *Pl. Physiol.* 113: 881-893.
- Gorham, J., R. Wyn Jones & E. McDonell. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant Soil* 89: 15-40.
- Hernández, J., L. Zérega & A. Ordosgoitti. 2000. Causa del necrosado del borde de las hojas y retraso en el crecimiento de la caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) en el Bajo Yaracuy. *Revista Fac. Agron. Univ. Zulia* 17: 236-238.
- Huang, Ch. & R. Van Steveninck. 1988. Effect of moderate salinity on patterns of potassium, sodium and chloride accumulation in cells near the root tip of barley: role of differentiating metaxylem vessels. *Physiol. Pl.* 73: 525-533.
- Huang, Ch. & R. Van Steveninck. 1990. Salinity induced structural changes in meristematic cells of barley roots. *New Phytol.* 115: 17-22.
- Huang, J. & R. Redmann. 1995. Responses of growth, morphology and anatomy to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. *Canad. J. Bot.* 73: 1859-1866.

- Koyro, H. 2002. Ultrastructural effects of salinity in higher plants. In: Läuchli, A. & U. Lüttge (eds.). *Salinity–environment–plants–molecules*, pp. 139-157. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Kramer, P. 1969. *Plant and soil water relations: a modern synthesis*. McGraw-Hill Inc. NY London.
- Kramer, P. 1983. *Water relations of plants*. Academic Press Inc. NY, London.
- Kramer, D., A. Läuchli, A. Yeo & J. Gullasch. 1977. Transfer cells in roots of *Phaseolus coccineus*: ultrastructure and possible function in exclusion of sodium from the shoot. *Ann. Bot.* 41: 1031-1040.
- Kumar, S., K. Naidu & H. Sehtiya. 1994. Causes of growth reduction in elongating and expanding leaf tissue of sugarcane under saline conditions. *Austral. J. Pl. Physiol.* 21: 71-83.
- Luxova, M. 1989. The vascular system in the roots of barley and its hydraulic aspects. In: Loughman, B., O. Gasparíková & J. Kolek (eds.). *Structural and functional aspects of transport in roots*, pp.15-20. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Second edition. Academic Press. London.
- McCully, M. & M. Canny. 1988. Pathways and processes of water and nutrient movement in roots. *Plant Soil* 111: 159-170.
- Metcalfe, C. 1960. *Anatomy of the monocotyledons. I. Gramineae*. Oxford Clarendon Press. USA.
- Moreshet, S., B. Huang & M. Huck. 1996. Water permeability of roots. In: Waisel, Y., A. Eshel & U. Kalkafi (eds.). *Plant roots: the hidden half*, pp. 659-679. Marcel Dekker Inc. USA.
- Peng, Y, Y. Zhu, Y. Mao, S. Wang, W. Su & Z. Tang. 2004. Alkali grass resists salt stress through high K^+ and an endodermis barrier to Na^+ . *J. Exp. Bot.* 55: 939-949.
- Perumalla, C. & A. Peterson. 1986. Deposition of Casparian bands and suberin lamellae in the exodermis and endodermis of young corn and onion roots. *Canad. J. Bot.* 64: 1873-1878.
- Peterson, C. 1987. The exodermal Casparian band of onion roots blocks the apoplastic movement of sulphate ions. *J. Exp. Bot.* 38: 2068-2081.
- Peterson, C. 1988. Exodermal Casparian bands: their significance for ion uptake by roots. *Physiol. Pl.* 72: 204-208.
- Peterson, C. 1989. Significance of the exodermis in root function. In: Loughman, B., O. Gasparíková & J. Kolek (eds.). *Structural and functional aspects of transport in roots*, pp. 35-40. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Peterson, C. & D. Enstone. 1996. Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiol. Pl.* 97: 592-598.
- Peterson, C. & J. Perumalla. 1984. Development of the hypodermal Casparian band in corn and onion roots. *J. Exp. Bot.* 35: 51-57.

- Peterson, C. & E. Steudle. 1993. Lateral hydraulic conductivity of early metaxylem vessels in *Zea mays* L. roots. *Planta* 189: 288-297.
- Peyrano, G., E. Taleisnik, M. Quiroga, S. Forchetti & H. Tigier. 1997. Salinity effects on hydraulic conductance, lignin content and peroxidase activity in tomato roots. *Pl. Physiol. Biochem.* 35: 387-393.
- Poljakoff-Mayber, A. 1975. Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. In: Poljakoff-Mayber, A. & J. Gale (eds.). *Plant in saline environments*, pp. 97-117. Springer Verlag, New York.
- Reddy, M., U. Rao & E. Iyengar. 1997. Carbon metabolism under salt stress. In: Jaiwal, P., R. Singh & A. Gulati (eds.). *Strategies for improving salt tolerance in higher plants*, pp. 158-190. Science Publishers, Inc. USA.
- Reinhardt, D. & T. Rost. 1995a. Developmental changes of cotton root primary tissues induced by salinity. *Int. J. Plant Sci.* 156: 505-513.
- Reinhardt, D. & T. Rost. 1995b. Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots. *Environm. Exp. Bot.* 35: 563-574.
- Ruzin, S. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, Inc. New York.
- Samarajeewa, P., R. Barrero, C. Umeda-Hara, M. Hawai & H. Uchimiya. 1999. Cortical cell death, cell proliferation, macromolecular movements and *rTip1* expression pattern in roots of rice (*Oryza sativa* L.) under NaCl stress. *Planta* 207: 354-361.
- Sánchez-Aguayo, I. & L. González. 1992. Quantitative determination of changes induced by NaCl in vacuoles and cellular size of *Lycopersicon esculentum* root cells. *Pl. Cell Environm.* 15: 867-870.
- Sanderson, J. 1983. Water uptake by different regions of the barley root: pathways of radial flow in relation to development of the endodermis. *J. Exp. Bot.* 34: 240-253.
- Schreiber, L., H. Hartmann, M. Shrabs & J. Zeier. 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *J. Exp. Bot.* 50: 1267-1280.
- Serrato Valenti, G., L. Melone, O. Orsi & F. Riveros. 1992. Anatomical changes in *Prosopis cineraria* (L.) druce seedlings growing at different levels of NaCl salinity. *Ann. Bot.* 70: 399-404.
- Solomon, M., E. Gedalovich, A. Mayer & A. Poljakoff-Mayber. 1986. Changes induced by salinity to the anatomy and morphology of excised pea roots in culture. *Ann. Bot.* 57: 811-818.
- Stasovski, E. & C. Peterson. 1991. The effects of drought and subsequent rehydration on the structure and vitality of *Zea mays* roots. *Canad. J. Bot.* 69: 1170-1178.
- Taleisnik, E., G. Peyrano, A. Cordoba & C. Arias. 1999. Water retention capacity in roots segments differing in the degree of exodermis development. *Ann. Bot.* 83: 19-27.

- Villafañe, R. 1996. Tolerancia a la salinidad y al sodio de seis variedades de caña de azúcar en Venezuela. *Agron. Trop.* 85-99.
- Waisel, Y. 1972. *Biology of halophytes*. Academic Press, Inc. NY, London.
- Waisel, Y. & S. Breckle. 1987. Differences in responses of radish roots to salinity. *Plant Soil* 110: 191-194.
- Walker, R., M. Sedgley, M. Blesing & T. Douglas. 1984. Anatomy, ultrastructure and assimilate concentrations of roots of citrus genotypes differing in ability for salt exclusion. *J. Exp. Bot.* 35: 1481-1494.
- Wang, X., M. Canny & M. McCully. 1991. The water status of the roots of soil-grown maize in relation to the maturity of their xylem. *Physiol. Pl.* 82: 157-162.
- Wilson, C. & C. Peterson. 1983. Chemical composition of the epidermal, hypodermal, endodermal and intervening cortical cell walls of various plants roots. *Ann. Bot.* 51: 759-769.
- Wraith, J. & Ch. Wright. 1998. Soil water and root growth. *HortScience* 33: 951-959.
- Yeo, A., D. Kramer & A. Läuchli. 1977. Ion distribution in salt-stressed mature *Zea mays* roots in relation to ultrastructure and retention of sodium. *J. Exp. Bot.* 28: 17-29.
- Zérega, L. 1995. Comportamiento varietal de la caña de azúcar ante condiciones estresantes del suelo, las principales enfermedades y épocas de siembra y cosecha. *Fundazúcar* 13: 9-11.
- Zérega, L., T. Hernández & J. Valladares. 1991. Evaluación de 14 variedades de caña de azúcar en dos suelos afectados por sales, bajo condiciones de umbráculo. *Caña de Azúcar* 9: 81-98.
- Zidan, I., A. Shaviv, I. Ravina & P. Neumann. 1992. Does salinity inhibit maize leaf growth by reducing tissue concentrations of essential mineral nutrients? *J. Pl. Nutr.* 15: 1407-1419.

