

EFFECTO DE LA SALINIZACIÓN CON NaCl o Na₂SO₄ SOBRE LA ANATOMÍA FOLIAR EN DOS GENOTIPOS DE CAÑA DE AZÚCAR (SACCHARUM SPP.) CON TOLERANCIA SALINA DIFERENCIAL

Marina García y Damelis Jáuregui

Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Botánica Agrícola. Maracay - estado Aragua. Apartado Postal 4579. Venezuela.
E-mail: garciam@agr.ucv.ve

COMPENDIO

Se estudió la anatomía foliar en dos genotipos de caña de azúcar que difieren en tolerancia salina: 'PR692176' (tolerante) y 'V78-1' (sensible), con el objetivo de detectar caracteres estructurales que puedan estar vinculados con la sensibilidad diferencial a las sales en este cultivo. Las plantas crecieron en un substrato artificial irrigado con solución nutritiva y a partir de los dos meses de edad se sometieron a salinización con NaCl o Na₂SO₄ por 60 días. El estudio anatómico se realizó sobre porciones del tercio medio de la lámina de la hoja más recientemente expandida, las cuales se fijaron y se procesaron mediante técnicas convencionales para su estudio bajo microscopía óptica. La respuesta de los genotipos ante la salinización con NaCl fue distinta; en PR692176 esa sal provocó un aumento en el grado de succulencia, no así en V78-1, mientras que el Na₂SO₄ indujo una fuerte reducción en el tamaño de las células epidérmicas y del mesofilo en ambos genotipos. PR692176 mostró los valores más altos de espesor de cutícula, densidad de estomas y de micropelos, así como una menor distancia intervenal, respecto a V78-1, lo cual puede representar una ventaja para el primer genotipo en cuanto a su capacidad para enfrentar el efecto de estrés hídrico provocado por la sales, contribuyendo así a explicar su mayor tolerancia a la salinidad.

ABSTRACT

The foliar anatomy in two genotypes of sugarcane with different salt tolerance PR692176 (salt tolerant) and V78-1 (salt sensitive) was studied with the objective

to determine structural characters related with the differential response. The plants were grown on an artificial substrate irrigated with nutritive solution and after two months were treated with NaCl or Na₂SO₄ for sixty days. This investigation was performed with portions of the middle third of blade of the most recently expanded leaf blade, which were fixed and were processed in the usual way for optical microscope study. The response of the genotypes was different in the treatment with NaCl in PR692176 this salt caused increment in succulence, but not in V78-1, while Na₂SO₄ induced a great reduction in the size of the epidermal cells and the mesophyll in both genotypes. PR692176 showed the highest values of cuticle thickness, stomatal density and microhair density, as wells as a lower mean interveinal distance in relation to V78-1 this may represent a benefit for first genotype in relation to its capacity to deal with the effect of hidric stress caused by salts, contributing to explain its tolerance to salinity.

PALABRAS CLAVE

Anatomía, hoja, **Saccharum**, sales.

KEY WORDS

Anatomy, leaf, **Saccharum**, salt.

INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los principales factores abióticos que limitan la productividad agrícola debido a que la inmensa mayoría de las plantas cultivadas son sensibles a esta condición (Maas 1990). El efecto más común sobre las plantas es la reducción del desarrollo debido a una disminución del potencial osmótico del medio de crecimiento y, en consecuencia, de su potencial hídrico; la toxicidad iónica normalmente asociada con la absorción excesiva de Na⁺ y de Cl⁻ y un desequilibrio nutricional debido a la interferencia de los iones salinos con la absorción de los nutrientes esenciales que requiere la planta (Greenway y Munns 1980, Lacerda 2005). Adicionalmente, la combinación de los efectos antes indicados, a menudo genera un desequilibrio metabólico que provoca daños oxidativos (Azevedo-Neto *et al.* 2005).

Las plantas disponen de una variedad de mecanismos de respuesta a los efectos adversos de la salinidad, los cuales operan a nivel de todos los órganos y de los tejidos y células (Willadino y Camara 2005). Algunas estrategias incluyen

cambios anatómicos que pueden ser de importancia, bien para mejorar la eficiencia en el uso de agua y reducir el impacto del déficit hídrico provocado por la salinidad, o bien para reducir el efecto tóxico de las sales. La hoja tradicionalmente se ha considerado un órgano de gran importancia en lo que respecta a la regulación de los niveles de sales en el vástago; no obstante, son escasos los trabajos relacionados con las modificaciones histológicas de los tejidos de este órgano, en los cultivos sometidos a tratamientos con salinidad.

Una de las características foliares que se ha vinculado con la tolerancia a sales en las glicófitas es la succulencia (Poljakoff-Mayber 1975, Gorham *et al.* 1985, Hagemeyer 1997, Glenn *et al.* 1997); se ha indicado que el incremento de la relación vacuola/citoplasma de las células del mesofilo permite diluir las sales acumuladas e incrementar la capacidad de las células para absorberlas de la solución del apoplasto (Gorham *et al.* 1985). Otro rasgo que se considera importante en condiciones salinas es el incremento en el grosor de la cutícula y la deposición de ceras en la misma, debido a su efecto en prevenir el sobrecalentamiento de la hoja, contribuyendo así a reducir la transpiración y consecuentemente el impacto del estrés hídrico impuesto por las sales (Gorham *et al.* 1985).

García (2004) estudió la anatomía radical en dos genotipos de caña de azúcar con sensibilidad diferencial ante las sales (PR692176, ‘tolerante’ y V78-1, ‘sensible’) y encontró que en ambos se produjeron cambios dirigidos a prevenir la entrada masiva de sales a la estela y/o a mejorar la capacidad de retención de éstas en la raíz, siendo este último más notable en la variedad tolerante. Con base en esos resultados, en la presente investigación se estudió la anatomía foliar en los genotipos de caña de azúcar antes indicados con el objetivo de determinar si existen caracteres en este órgano vinculados con la sensibilidad diferencial a la salinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se condujo en un cobertizo ubicado en el Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Central de Venezuela, en Maracay. Se usaron dos genotipos de caña de azúcar que según reportes previos (García y Medina 2003, García 2004) muestran sensibilidad diferencial ante las sales: ‘PR692176’ (tolerante a sales) y ‘V78-1’ (sensible a sales). Se sembraron esquejes desinfectados con una yema, obtenidos en los semilleros básicos de Fundacaña (Chivacoa – estado Yaracuy); la siembra se efectuó en semilleros y las plantas permanecieron en éstos por un mes, transplantándose

posteriormente a bolsas de 8 kg de capacidad (García y Medina 2003). El riego se efectuó una vez al día, utilizando para ello una solución nutritiva Hoagland modificada, previamente usada en caña de azúcar (Kumar *et al.* 1994).

Un mes después del trasplante, se iniciaron los tratamientos salinos para lo cual se añadió a la solución nutritiva base NaCl (100 mol m^{-3}) o Na_2SO_4 (50 mol 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.

Luego de 60 días de iniciados los tratamientos de estrés salino, se seleccionaron aleatoriamente tres plantas de cada uno y se muestrearon segmentos de aproximadamente dos cm^2 de la lámina de la hoja más recientemente expandida, conocida como hoja TVD (hoja más joven con labio visible). Las muestras se fijaron en una mezcla de glutaraldehído al 2,4% y paraformaldehído al 0,30% en buffer fosfato 0,02 M (pH 7,2). En el caso 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. Las muestras se deshidrataron en una serie creciente de etanol; luego se infiltraron gradualmente en glicol metacrilato (JB-4) y se incluyeron en resina pura, siguiendo el procedimiento descrito por Ruzin (1999). Se realizaron secciones transversales de 4 μm de espesor, usando un ultramicrotomo, las mismas se tiñeron, usando una mezcla toluidina-fucsina básica (v/v) al 0,5 % en solución acuosa y finalmente se montaron en forma de láminas permanentes.

Para el estudio de la lámina en vista frontal, segmentos foliares se sometieron a la acción de ácido fluorhídrico al 5% por 24 horas, luego se lavaron varias veces con agua destilada y se colocaron en hipoclorito de sodio comercial al 2,25% hasta lograr la separación de las epidermis, las cuales se tiñeron con azul de toluidina acuosa al 1% y se montaron en glicerina 50%.

Las preparaciones se estudiaron bajo un microscopio óptico marca Leitz^{MR}, y se tomaron imágenes digitales con la ayuda de una cámara adaptada al mismo; adicionalmente, se determinaron las siguientes medidas anatómicas: grosor de cutícula (más pared tangencial externa) adaxial y abaxial; espesor de ambas epidermis (sin incluir células buliformes), del mesofilo y de la hoja; distancia intervenal (tomada desde la pared externa de la vaina vascular de un haz hasta la del próximo); densidad y longitud de estomas y densidad de micropelos. De cada una de estas variables se efectuaron 30 medidas u observaciones, en

diferentes preparaciones microscópicas y posteriormente, se calculó el promedio y la desviación estándar.

RESULTADOS

En general, las plantas control de los dos genotipos mostraron una conformación anatómica similar en cuanto a los tejidos presentes y a su disposición en la lámina foliar, coincidiendo en forma general con las descripciones realizadas para especies diferentes de **Saccharum** (Van Dillewijn 1952, Metcalfe 1960 y Colbert y Evert 1982); no obstante, se observaron diferencias en algunas variables anatómicas cuantitativas.

En las plantas control, las células de ambas epidermis se apreciaron mayormente subesféricas en sección transversal (Figs. 1A y 1D) y en especial en la adaxial, el grosor de la cutícula más pared tangencial externa, resultó ligeramente mayor en PR692176 que en V78-1 (Tabla I).

En las epidermis de ambos genotipos se observaron aguijones (Figs. 2C, 2D, 2E y 2F), en mayor densidad aunque no cuantificada en la abaxial y ubicados mayormente sobre zonas costales; dichos aguijones son medianos con ápice corto y paredes engrosadas. La morfología de los micropelos fue semejante en los dos genotipos y se caracterizan por presentar una célula distal caediza, ligeramente más larga que la basal, de pared más delgada y con contenido menos denso (Figs. 2A y 2D); se detectaron diferencias en los valores de la densidad de estas estructuras a nivel de la superficie abaxial, donde el número de tricomas por mm^2 fue seis veces mayor en PR692176 que en V78-1 (Tabla II).

Las hojas son anfiestomáticas con aparatos estomáticos ovoides, tipo domo bajo y triangulares (Fig. 2), distribuidos en dos filas por zona intercostal y separados entre ellos por una célula elongada y entre filas por células elongadas con paredes moderada e irregularmente onduladas y medianamente gruesas, en las cuales se intercalan células cortas, silicificadas, altas y estrechas o cuadradas, de contornos lisos (Fig. 2D). La densidad de estomas fue mayor en la epidermis abaxial que en la adaxial, pero la mayor longitud de estas estructuras epidérmicas se registro en la última, para ambos genotipos (Tabla II); en ambas epidermis PR692176 mostró el más alto número de estomas por mm^2 siendo éstos más pequeños, en comparación con V78-1, pero la diferencia entre ambos genotipos fue mayor en la epidermis abaxial, donde el primer genotipo tuvo una densidad estomática un 37,5% superior que el segundo.

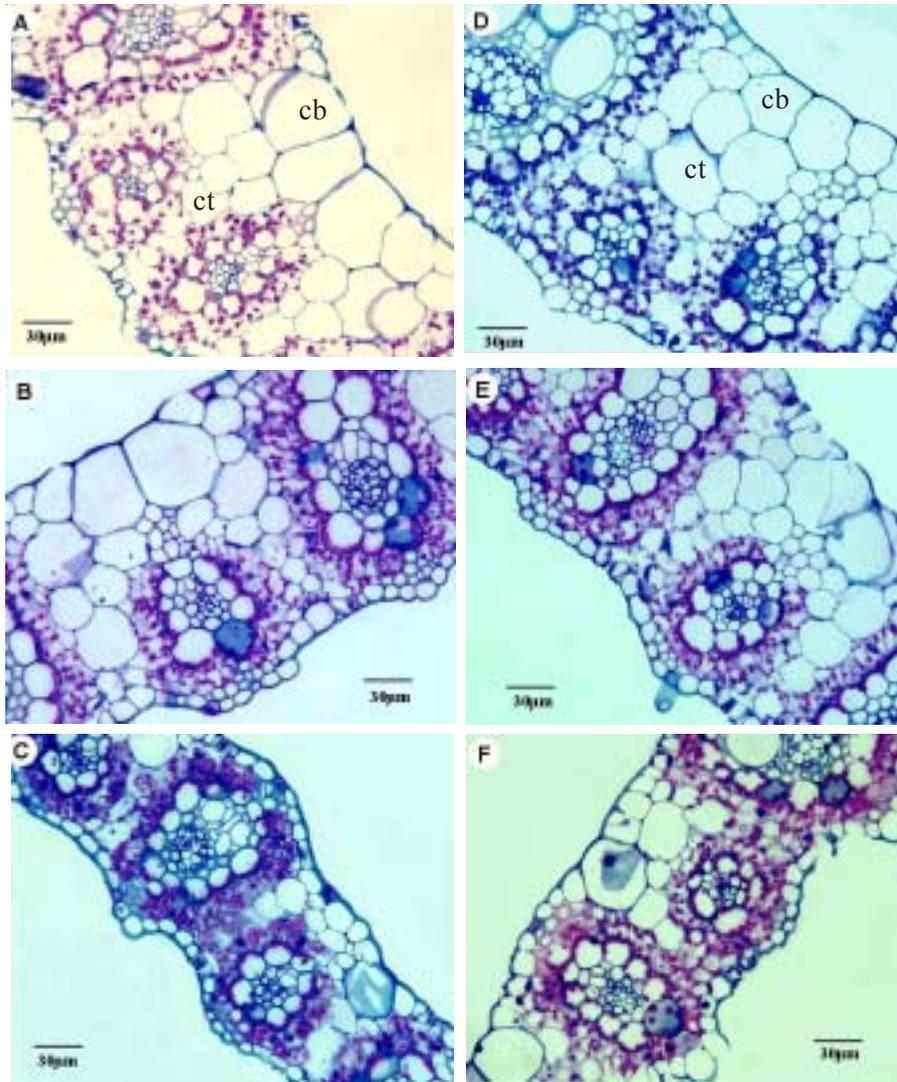


Fig. 1. Secciones transversales de la lámina foliar de los genotipos de caña de azúcar (**Saccharum** spp.), sometidos a estrés salino durante 60 días. A y D hojas de plantas testigo (sin aplicación de sales) de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. B y E hojas estresadas con NaCl, de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. C y F. hojas estresadas con Na₂SO₄, de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. cb: células buliformes, ct: células translúcidas

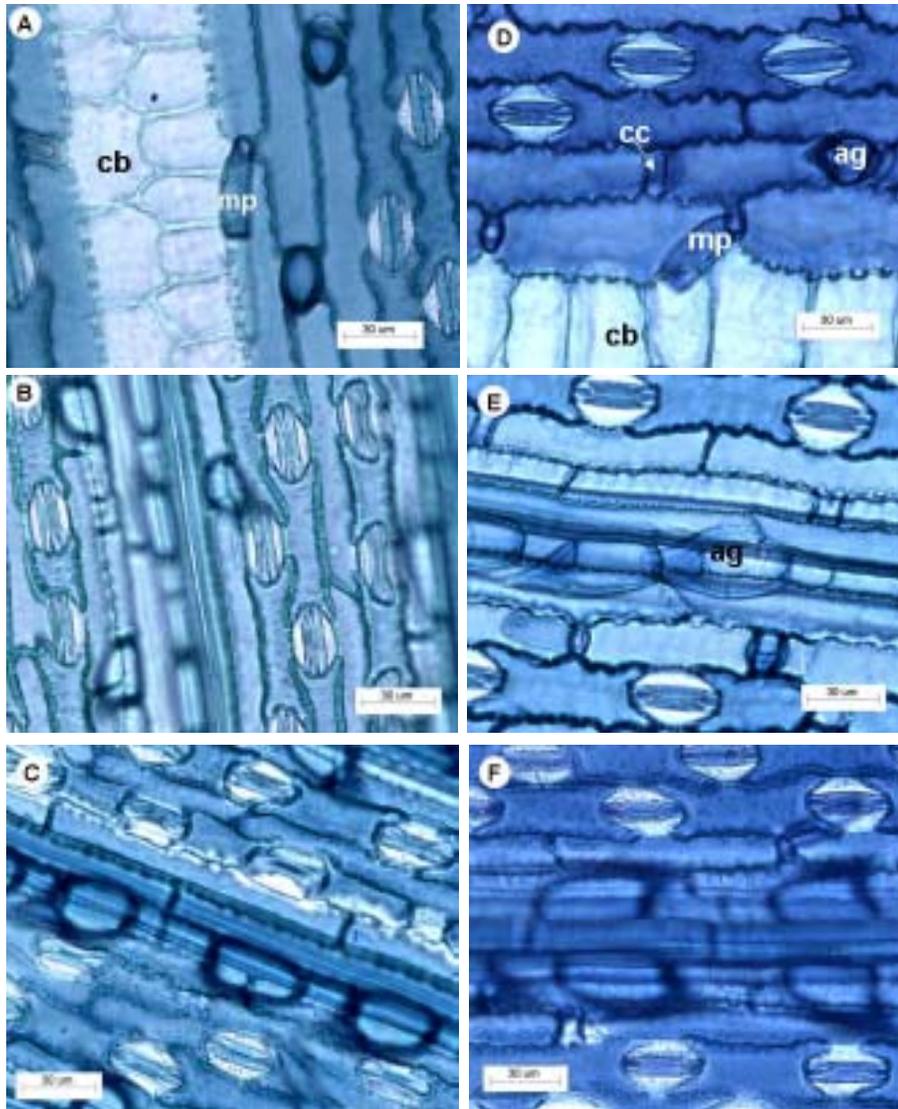


Fig. 2. Vistas frontales de las epidermis adaxial y abaxial de los genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) A y D. Epidermis adaxial de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. B y E. Epidermis abaxial de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. C y F. Epidermis abaxial en hojas estresadas con Na_2SO_4 de los genotipos PR692176 y V78-1, respectivamente. ag: agujón, cb: células buliformes, cc: células cortas, mp: micropelo.

El arreglo de las células buliformes fue semejante en las dos variedades (Figs. 1A, 1D, 2A y 2D) y en ambos casos estuvieron asociadas con células parenquimáticas translucidas que forman una o dos columnas, uniseriadas a cada lado de un haz de tercer orden; no obstante, en PR692176 frecuentemente se presentaron en mayor número y alcanzaron la epidermis abaxial (Fig. 1A), mientras que en V78-1, lo más común fue que se presentaran en menor número pero de mayor tamaño y que llegaran sólo hasta la mitad del mesofilo (Fig. 1D).

El sistema vascular está constituido por haces de tres órdenes diferentes (Fig. 1D), dispuestos en forma alterna, los de primer y segundo orden se ubican en la parte media de la lámina, mientras que los de tercer orden se localizan preferentemente debajo de grupos de células buliformes (Figs. 1A y 1D). Los haces de primer orden definen contornos ligeramente triangulares, los de segundo orden son elípticos y los de tercer orden circulares (Figs. 1A y 1D). En los tres tipos se distinguen claramente xilema y floema, aún cuando más abundante en los de primer orden con elementos metaxilemáticos evidentes.

Los haces están rodeados por una vaina continua de células parenquimáticas, de tamaños diferentes y con cloroplastos dispuestos periféricamente. Cada haz a su vez tiene células clorofilianas arregladas radialmente y tanto hacia el lado adaxial como abaxial son visibles grupos de células esclerenquimáticas, con una disminución progresiva de acuerdo al orden del haz, es decir más células en aquellos de primer orden y menos en los de tercer orden.

El mesofilo de estas hojas está integrado por parénquima de células translúcidas y clorofilianas en un arreglo Kranz típico. Sin embargo, las variedades mostraron variación en cuanto a la distancia intervenal, la cual fue aproximadamente 9 μm menor en PR692176, respecto a V78-1 (Tabla I), lo que se refleja en un mayor volumen de tejido parenquimático (ya sea por mayor número de células o mayor volumen de cada una), así los haces están más próximos en PR692176 que en V78-1.

El espesor de la hoja fue 22,1% mayor en V78-1 que en PR692176, lo que se debe fundamentalmente a un mayor grosor del mesofilo en el primer genotipo, respecto al segundo, ya que el espesor del tejido epidérmico no mostró diferencias notables entre ambos (Tabla I).

Los cambios más evidentes al aplicar los tratamientos salinos se observaron en algunas de las variables cuantitativas. En las plantas estresadas con NaCl, el grosor de la cutícula y de ambas epidermis mostraron valores similares a los de

Tabla I. Valores promedio para las variables medidas en la sección transversal de la lámina foliar, en dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) sometidos a estrés salino durante 60 días.

Genotipo/Tratamiento	Grosor cutícula Adaxial	Grosor cutícula Abaxial (μm)	Grosor epidermis Adaxial	Grosor epidermis Abaxial (μm)	Espesor mesofilo (μm)	Grosor hoja (μm)	Distancia intervenal (μm)
PR692176							
Control	5,7 \pm 0,6	4,7 \pm 0,9	19,4 \pm 2,6	14,7 \pm 2,3	140,3 \pm 12,3	179,0 \pm 10,9	36,0 \pm 3,2
NaCl	5,1 \pm 0,7	5,0 \pm 0,9	21,2 \pm 3,6	16,8 \pm 3,7	153,2 \pm 18,7	191,1 \pm 20,4	55,6 \pm 9,2
Na ₂ SO ₄	5,4 \pm 0,5	4,7 \pm 0,7	10,9 \pm 1,8	10,6 \pm 1,6	92,5 \pm 10,1	114,0 \pm 10,0	33,7 \pm 3,1
V78-1							
Control	4,6 \pm 0,5	4,2 \pm 0,7	29,6 \pm 3,2	17,5 \pm 3	193 \pm 8	230 \pm 10	45 \pm 5
NaCl	4,3 \pm 0,4	3,9 \pm 0,8	19 \pm 3	18 \pm 3	148 \pm 22	184 \pm 23	55 \pm 5
Na ₂ SO ₄	4,4 \pm 0,7	4,1 \pm 0,4	13 \pm 2	13 \pm 2	124 \pm 5	150 \pm 6	38 \pm 5

Tabla II. Densidad y longitud de estomas y densidad de micropelos en la epidermis adaxial y abaxial de la hoja en dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) sometidos a estrés salino durante 60 días.

Genotipo/ Tratamiento	Densidad estomas (No. mm ⁻²)		Longitud estomas (µm)		Densidad micropelos (No. mm ⁻²)	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
PR692176						
Control	129,22±22,9	270,2±24,8	35,5±0,9	32,4±1,1	6,8±1,4	31,2±4,5
NaCl	135,1±25,7	286,3±25,2	34,9±0,9	31,9±1,3	5,2±1,1	26,2±4,4
Na ₂ SO ₄	189,4±28,7	328,9±25,2	31,9±1,2	30,4±1,0	9,3±1,9	27,0±4,9
V78-1						
Control	116,0±21,6	168,9±26,1	39,5±1,2	38,2±1,4	4,3±1,1	5,16±0,9
NaCl	146,8±24,1	196,8±32,2	33,6±1,1	32,9±1,8	6,9±1,4	9,3±1,8
Na ₂ SO ₄	152,7±22,4	230,5±34,1	33,9±1,4	31,1±0,9	9,5±0,9	6,22±1,3

las plantas testigo (Tabla I). El espesor a nivel de las células buliformes no se midió, pero se apreció un aumento visible en su tamaño respecto al testigo, en sección transversal de la hoja en los dos genotipos (Figs. 1B y 1E). En cuanto a los estomas, su densidad se incrementó respecto a las plantas testigo, 4,4 y 21% en la epidermis adaxial y 5,6 y 14,2% en la abaxial, en PR692176 y V78-1 respectivamente; en tanto que el tamaño de los estomas se redujo levemente en el primer genotipo y fue notablemente mayor en el segundo (Tabla II). Los genotipos no mostraron diferencias en la densidad de micropelos en relación a las plantas no estresadas (Tabla II).

En relación al mesofilo, en las plantas tratadas con esta sal se observó un incremento de 8,4% en PR692176 y una reducción de 23,7% en V78-1, lo cual se reflejó en un ligero aumento en el espesor de la hoja del primer genotipo (Fig. 1B), respecto a las plantas control, mientras que el efecto contrario se notó en V78-1 (Fig. 1E). La distancia intervenal se incrementó casi 20 μm en PR692176 y casi 10 μm en V78-1, respecto a las plantas testigo, de manera que en ambos genotipos el valor de esta variable resultó similar.

En las plantas estresadas con Na_2SO_4 , el espesor de la cutícula adaxial y abaxial fue similar al de las plantas control, pero el espesor de las epidermis, del mesofilo y de la hoja, se redujo considerablemente en los dos genotipos, respecto a las plantas control (Tabla I). Se observaron hojas más compactas y con tendencia a un mayor desarrollo de tejido esclerenquimático en posición subepidérmica a nivel de los haces conductores, en las plantas de los dos genotipos estresadas con esta sal (Figs. 1C y 1F). La distancia intervenal se redujo ligeramente en PR692176 y en mayor proporción en V78-1, en comparación con las plantas no estresadas. Respecto a los estomas, la densidad estomática se incrementó en 31,8% y 24,03% en la epidermis adaxial y en 17,8 y 26,7 % en la abaxial en PR692176 (Fig. 2C) y V78-1 (Fig. 2F) respectivamente, en comparación a las plantas control, mientras que el tamaño estomático se redujo en ambas epidermis y la magnitud de esa disminución fue mayor en V78-1 (Tabla II). La densidad de micropelos en ambos genotipos y en las dos epidermis, no mostró cambios apreciables respecto a las plantas testigo.

DISCUSIÓN

Se determinaron diferencias entre los genotipos investigados, en especial en lo que respecta a algunos rasgos anatómicos cuantitativos, que podrían ser de importancia en cuanto a su comportamiento ante el estrés salino. Las plantas testigo de PR692176 se distinguen de las de V78-1 por presentar una cutícula

ligeramente más gruesa y la mayor densidad de micropelos y de estomas y estos últimos más pequeños en la epidermis abaxial. Las cutículas más gruesas brindan una mejor protección contra el calentamiento excesivo de la hoja, contribuyendo así a reducir la transpiración (Wilkinson 1979, Dietz y Hartung 1996). Por otra parte, el acortamiento de la distancia entre los haces vasculares, es un indicio de una mejor vascularización de este órgano, ya que se genera una red de venas más densa (Fahn y Cutler 1992), característica de gran importancia bajo condiciones de disponibilidad hídrica restringida. Una mayor densidad de estomas de menor tamaño, se relaciona con un incremento en la resistencia difusiva de la lámina, que conduce a una reducción en la transpiración foliar (Roth 1990), siendo por ello comúnmente asociada con especies adaptadas a crecer en ambientes secos (Fahn y Cutler 1992, García y Lapp 2001, 2004). PR692176 se destacó por su mayor densidad de micropelos en la epidermis abaxial que V78-1. La pubescencia disminuye la absorción de energía radiante o permite una mejor disipación de ésta una vez absorbida, contribuyendo así a regular la temperatura foliar y a reducir la pérdida de agua por transpiración (Johnson 1975, Ehleringer y Mooney 1978, Fahn y Cutler 1992). Por otra parte, los micropelos en **Saccharum** pudiesen tener alguna función secretora de sales (Glenn *et al.* 1997), lo cual se ha señalado como uno de los mecanismos más eficientes para manejar el exceso de las mismas (Fahn y Cutler 1992, Hagemeyer 1997). Estas características constituyen una ventaja para PR692176, en relación a V78-1 y pueden ayudar a explicar su mayor capacidad para tolerar condiciones de sequía (Zérega 1995) y en parte, también su mejor comportamiento ante la salinidad (García y Medina 2003, García 2004). Cabe indicar que en el caso particular de la caña de azúcar, la tolerancia a sequía ha resultado estrechamente relacionada con la tolerancia al estrés por salinidad (Syed y El-Swaify 1972, Wahid *et al.* 1997, Wahid 2004).

Uno de los efectos más notables provocados por el NaCl fue el aumento en el tamaño de las células buliformes y de las células incoloras en el mesofilo en PR692176, y en menor magnitud en V78-1, lo que se reflejó en un aumento en el grosor del mesofilo y de la hoja en el primer genotipo; lo contrario ocurrió en V78-1, en el cual estos valores se redujeron. Este comportamiento reflejó un incremento en el grado de succulencia de este órgano, en el caso particular de PR692176. La salinización con Na₂SO₄, por el contrario, tuvo en los dos genotipos un efecto depresor sobre el espesor de las ambas epidermis, del mesofilo y consecuentemente de la lámina foliar; esta sal indujo la formación de hojas más compactas y con mayor desarrollo de esclerenquima, todo lo cual indicó que el Na₂SO₄ provocó deshidratación de los tejidos foliares, rasgos

típicamente asociados con el xeromorfismo (Fahn y Cutler 1992). Este comportamiento coincide con señalamientos según los cuales la succulencia está relacionada con la composición de la solución salina. Evidencias obtenidas en otras glicófitas, han demostrado que la salinización con NaCl provoca succulencia en los tejidos foliares (Longstreth y Nobel 1979, Poljakoff-Mayber 1975, Serrato Valenti *et al.* 1991, Bray y Reid 2002).

En genotipos de cítricos se ha reportado que tanto el NaCl como el CaCl_2 provocan succulencia foliar, estando ese incremento en el volumen celular positivamente correlacionado con el contenido de Cl⁻ en las hojas (Romero-Aranda *et al.* 1998). Respecto al efecto de la salinización con Na_2SO_4 sobre la anatomía foliar se conoce menos, debido a que la sal más ampliamente usada para provocar estrés es el NaCl. Hayward y Long (1941) fueron de los primeros en estudiar el efecto de la salinización con NaCl y Na_2SO_4 sobre la histología de la hoja en plantas de tomate y encontraron que con ambas sales el grosor de la lámina se incrementó más o menos en la misma proporción; por el contrario, Strogonov (1962) citado por Poljakoff-Mayber (1975) señaló que el Na_2SO_4 causó haloxeromorfismo marcado en hojas de algodón, lo que coincide con lo reportado por Degano (1999) en **Tessaria absinthioides** y con lo observado en este estudio.

El estrés salino provocó un acortamiento en la distancia intervenal en las plantas tratadas con Na_2SO_4 , lo cual puede explicarse como una estrategia para compensar la deshidratación de los tejidos foliares provocada por la primera sal. Por el contrario, en las plantas estresadas con NaCl la distancia intervenal se incrementó, más en PR692176 que en V78-1, lo que puede vincularse con el incremento en el grado de succulencia ocurrido en el primer genotipo.

En cuanto a los estomas, ambas sales provocaron un incremento en la densidad estomática y una reducción en la longitud de éstos en las dos epidermis, siendo este efecto, en general, más notable en las plantas estresadas con Na_2SO_4 y en el genotipo sensible. Este comportamiento se ha explicado como una respuesta para enfrentar el efecto de estrés hídrico provocado por la salinidad (Longstreth y Nobel 1979) y su efecto más acentuado en V78-1 podría relacionarse con la mayor sensibilidad a la sequía que exhibe este genotipo (Zérega 1995). Es de hacer notar que el comportamiento de la densidad y el tamaño estomático en otras glicófitas sometidas a estrés salino es variable, en **Kandelia candel** L., Hwang y Chen (1995) encontraron una disminución en la densidad de estomas al incrementar la concentración de NaCl. Por el contrario, en caraota (Bray y Reid 2002) y en tomate (Salas *et al.* 2001) reportaron un incremento en la

densidad de estomas y una disminución en su longitud sólo en la epidermis abaxial, mientras que en **Hibiscus cannabinus** (Curtis y Läuchli 1987), señalaron resultados similares a los encontrados en este estudio, el incremento se observó en ambas epidermis. Por otra parte, las sales no influenciaron el desarrollo de micropelos en los genotipos, pero es conveniente profundizar los estudios de esta variable, en lo referente a sus capacidades para secretar sales.

En la raíz de los genotipos estudiados tanto el NaCl como el Na₂SO₄ causaron un aumento más o menos similar en el grado de succulencia de este órgano, lo cual evidencia que el efecto de estas dos sales en provocar succulencia varía dependiendo del órgano considerado. Por otra parte, el crecimiento de los genotipos fue más deprimido en presencia de NaCl que de Na₂SO₄ (García 2004), lo que indica que el efecto beneficioso de la primera sal en promover succulencia, no contrarresta el efecto tóxico del Cl⁻ para este cultivo (Bernstein *et al.* 1966, Syed y El-Swaify 1972, García 2004).

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación, a través del Proyecto N° PI 01-00-6736-2007. Al Sr. Héctor Verde, por su dedicación durante la consecución del ensayo. Al Ing° Agr° Fernando Gil y a la TSU Georgina Peña de Fundacaña, por el suministro del material vegetal utilizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azevedo-Neto A., J. Prisco, J. Enéas-Filho, J. Medeiros and E. Gomes-Filho. 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. *J. Plant. Physiol.* 162: 1114-1122.
- Bernstein, L., E. Francois and R. Clark. 1966. Salt tolerance of N.Co. varieties of sugarcane. I. Sprouting, growth and yield. *Agron. J.* 58: 489-493.
- Bray, S. and D. Reid. 2002. The effect of salinity and CO₂ enrichment on the growth and anatomy of the second trifoliate leaf of **Phaseolus vulgaris**. *Can. J. Bot.* 80: 349-359.
- Colbert, J. and R. Evert. 1982. Leaf vasculature in sugarcane (**Saccharum officinarum** L.). *Planta.* 156: 136-151.

- Curtis, P. and A. Läuchli. 1987. The effect of moderate salt stress on leaf anatomy in **Hibiscus cannabinus** (Kenaf) and its relation to leaf area. *Amer. J. Bot.* 74: 538-542.
- Degano, C. 1999. Respuestas morfológicas y anatómicas de **Tessaria absinthioides** (Hook. et. Arn.) DC. a la salinidad. *Revta brasil. Bot. São Paulo* 22: 357-363.
- Dietz, K. and W. Hartung. 1996. The leaf epidermis: its ecophysiological significance. *Progress in Botany* 57: 32-53.
- Ehleringer, J. and H. Mooney. 1978. Leaf hairs: Effects on physiological activity and adaptative value to a desert shrub. *Oecología* 37: 183-200.
- Fahn D. and D. Cutler. 1992. Xerophytes. *Encyclopedia of plant anatomy XIII*. Gebrüder Borntraeger. Berlin. 177 p.
- García, M. 2004. Crecimiento, morfoanatomía radical, acumulación de solutos orgánicos y relaciones iónicas en dos genotipos de caña de azúcar (**Saccharum** spp.) con tolerancia salina contrastante. Trabajo de Grado para optar al Título de Doctor en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 246 p.
- 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.
- García, M. y M. Lapp. 2001. Morfoanatomía foliar en tres biotipos de **Pithecellobium unguis-cati** (L.) Bentham creciendo en distintas comunidades vegetales. *Phyton* 2001: 147-158.
- García, M. y M. Lapp. 2004. Anatomía foliar en especímenes de **Oyedaea verbesinoides** DC. (Asteraceae) creciendo en tres ambientes distintos. *Ernstia* 15: 129-143.
- Glenn, E., J. Brown and M. Khan. 1997. Mechanisms of salt tolerance in higher plants. In: Basra A. and R. Basra (Eds.). *Mechanisms of environmental stress resistance in plants*. 83-110. Harwood Academia Publishers. The Netherlands. 240 p.
- Gorham, J., R. Wyn Jones and E. McDonnell. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant Soil* 89: 15-40.

- Greenway, H. and R. Munns. 1980. Mechanisms of plant tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
- Hagemeyer, J. 1997. Salinization – a problem of global scale. In: M. Prasad (Ed.). *Plant ecophysiology*. 173-205. John Willey & Sons, Inc. NY, USA.
- Hayward, H. and E. Long. 1941. Anatomical and physiological response of the tomato to varying concentrations of sodium chloride, sodium sulphate and nutrient solution. *Bot. Gaz.* 102: 437-462.
- Hwang, Y. and S. Chen. 1995. Anatomical responses in ***Kandelia candel*** (L.) Druce seedlings growing in the presence of different concentrations of NaCl. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36: 181-188.
- Johnson, H. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Bot. Rev.* 41: 233-257.
- Kumar, S., K. Naiudu and H. Sehtiya. 1994. Causes of growth reduction in elongating and expanding leaf tissue of sugarcane under saline conditions. *Aut. J. Plant Physiol.* 21: 71-83.
- Lacerda, C. 2005. Interação salinidade x nutrição mineral. En: Custodio R., E. Araújo, L. Gomes e U. Cavalcante (Eds.). *Estresses ambientais: Danos e benefícios em plantas*. p. 127-137. MXM Gráfica e editora. 499 p.
- Longstreth, D. and P. Nobel. 1979. Salinity effects on leaf anatomy. *Plant Physiol.* 63: 700-703.
- Maas, E. 1990. Crop salt tolerance. In: K. Tanji (Ed.) *Agricultural salinity assessment and management*. 262-304. ASCE. NY., USA.
- Metcalf, C. 1960. *Anatomy of the monocotyledons. I. Gramineae*. Oxford at the Clarendon Press. 731 p.
- Poljakoff-Mayber, A. 1975. Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. A. Poljakoff-Mayber and J. Gale (Eds). In: *Plant in saline environments*. p: 97-117. Springer Verlag. NY. USA. 213 p.
- Romero-Aranda, R., J. Moya, F. Tadeo, F. Legaz, E. Primo-Millo and M.

- Talón. 1998. Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations. *Plant Cell Environ.* 21: 1243-1253.
- Roth, I. 1990. Leaf structure of a Venezuelan cloud forest in relation to the microclimate. Gebruder Borntraeger, Berlin, Germany. 244 p.
- Ruzin, S. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press, Inc. NY, USA. 322 p.
- Salas, J., M. Sanabria y R. Pire. 2001. Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (***Lycopersicon esculentum*** Mill.) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro* 13: 99-104.
- Serrato Valenti, G., M. Ferro, D. Ferraro and F. Riveros. 1991. Anatomical changes in ***Prosopis tamarugo*** Phil, seedlings growing at different levels of NaCl salinity. *Ann. Bot.* 68: 47-53.
- Syed, M. and S. El-Swaify. 1972. Effect of saline water irrigation on N.Co.310. 422 p.
- Van Dillewijn, C. 1952. Botany of sugarcane. The Chronica Botánica Co.
- Wahid, A. 2004. Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and economic yield of sugar cane. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 46: 135-142.
- Wahid, A., A. Rao y E. Rasul. 1997. Identification of salt tolerance traits in sugarcane lines. *Field Crop Res.* 54: 9-17.
- Wilkinson, H. 1979. The plant surface (mainly leaf). Metcalfe C. y L. Chalk (Eds). In: *Anatomy of the dicotyledons.* 97-165. Clarendon Pres. Oxford. 297 p.
- Willadino, L. e T. Cámara. 2005. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. En: Custodio R., E. Araújo, L. Gomez e U. Cavalcante (Eds.). *Estresses ambientais: Danos e beneficios em plantas.* 127-137. MXM Gráfica e editora. Recife – Brasil. 499 p.
- 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. Boletín No.* 13: 9-11.