

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

EFFECTO DEL ESTRÉS SALINO SOBRE PARÁMETROS
AGRONÓMICOS VEGETATIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN
DOS GENOTIPOS DE TOMATE: TIPO “CHERRY” (*Solanum lycopersicum*
var. cerasiforme L.) Y SILVESTRE (*Solanum chilense* L.)

VANESSA KARIN CUIHAN GÁLVEZ

SANTIAGO – CHILE
2011

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

EFECTO DEL ESTRÉS SALINO SOBRE PARÁMETROS AGRONÓMICOS
VEGETATIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN DOS GENOTIPOS DE
TOMATE: TIPO "CHERRY" (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) Y SILVESTRE
(*Solanum chilense* L.)

SALT STRESS EFFECT ON VEGETATIVE AGRONOMIC PARAMETERS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY IN TWO GENOTYPES OF TOMATO: TYPE "CHERRY"
(*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) AND WILD (*Solanum chilense* L.)

VANESSA KARIN CUIHAN GÁLVEZ

SANTIAGO – CHILE
2011

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

EFFECTO DEL ESTRÉS SALINO SOBRE PARÁMETROS AGRONÓMICOS
VEGETATIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN DOS GENOTIPOS DE
TOMATE: TIPO “CHERRY” (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) Y SILVESTRE
(*Solanum chilense* L.)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Fitotecnia

VANESSA KARIN CUIHAN GÁLVEZ

PROFESOR GUÍA	Calificaciones
Sr. Ricardo Pertuzé Concha Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6.7
PROFESOR EVALUADORES	
Sr. Herman Silva Robledo Ingeniero Agrónomo, Dr.	5.5
Sr. Ricardo Marchant Silva Ingeniero Agrónomo, M. S.	6.5
COLABORADOR	
Sr. Juan Pablo Martínez Castillo Ingeniero Agrónomo, Dr.	

Santiago, Chile.
2011

“Tú deber es descubrir tu mundo
y después entrégate con todo tu corazón.”

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que me gustaría agradecer su apoyo, compañía, amistad, ánimo y fuerza dados a lo largo de mi vida, porque me han enseñado que lo que me proponga lo puedo lograr y que solo depende de mí. Algunas están conmigo y otras forman parte de mis recuerdos y de mi corazón. Sin importar en donde estén quiero darles muchas gracias por todo lo que me han entregado.

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres por el cariño, comprensión, apoyo y confianza que me han dado siempre, en especial en este proceso que está concluyendo. Sin ustedes no podría estar donde estoy.

A mi familia en general, por ayudarme cuando los necesité, a mi hermano por estar siempre conmigo y a ti Seba por la compañía, amistad y amor que me has entregado.

A mis compañeros de universidad con los que compartí 5 años y que pasaron a ser parte fundamental en esto, gracias por los buenos momentos compartidos, por la complicidad, por su compañía y por la ayuda brindada.

A mi profesor guía Ricardo Pertuzé por sus aportes, comentarios y ayuda prestada para la elaboración de esta memoria, gracias por su paciencia, preocupación y buena disposición.

Agradecer al Instituto de Investigación Agropecuaria, La Cruz, que me abrió sus puertas y presto la ayuda necesaria para la realización de ésta investigación. En especial Juan Pablo Martínez quien me apoyo con sus comentarios y conocimientos.

Por último al Proyecto Fondecyt que me permitió llevar a cabo las investigaciones necesarias para la realización de ésta memoria.

Muchas Gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Materiales	6
Ubicación del ensayo	6
Material vegetal	6
Metodología	7
Tratamientos y diseño del ensayo	7
Procedimiento	7
Salinidad	8
Evaluaciones del crecimiento vegetativo	8
Evaluaciones del potencial hídrico y contenido de agua	9
Evaluación de la actividad enzimática	10
Análisis Estadístico	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
Antecedentes de concentraciones salinas	12
Crecimiento vegetativo	12
Potencial hídrico y contenido de agua	20
Actividad enzimática	22
Análisis global	26
CONCLUSIONES	27
BIBLIOGRAFÍA	28
ANEXO	32
APÉNDICE	34

RESUMEN

La salinidad en el suelo es un problema para la agricultura, que puede afectar el rendimiento y la calidad de los cultivos. El objetivo de este estudio fue comparar el efecto del estrés salino en parámetros agronómicos vegetativos y la actividad enzimática antioxidante de genotipos de un tomate “Cherry” cultivado (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) y un tomate silvestre (*Solanum chilense* L.). El experimento se realizó en invernaderos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, Santiago. El estrés salino se comenzó a aplicar a los 10 días del trasplante mediante la adición de diferentes concentraciones de NaCl a la solución nutritiva: 0 mM, 40 mM, 80 mM y 160 mM de NaCl, durante 40 días. Se establecieron 8 tratamientos con un diseño en bloques completos al azar y con un arreglo factorial 2x4, (2 genotipos y 4 concentraciones salinas), utilizando 5 repeticiones para cada tratamiento constituidas por 4 plantas. Se realizaron mediciones del peso seco y fresco, tasa media de crecimiento relativo (TCR) de la parte aérea, área foliar, número de hojas, longitud y diámetro del tallo, potencial hídrico foliar, xilemático y osmótico, contenido de agua y actividad enzimática. El peso fresco y seco de la parte aérea fue reducido por la salinidad. Además, se observó en ambos genotipos una disminución de la TCR, del área foliar, del número de hojas, de la longitud, y del diámetro del tallo en relación al tratamiento control. Tanto los potenciales (Ψ_w , Ψ_x y Ψ_s), como el contenido de agua de la planta disminuyeron con la salinidad, especialmente en la especie silvestre. Finalmente, se observó un aumento de la actividad específica de las enzimas presentes en las hojas del genotipo silvestre, lo que explicaría los mecanismos de detoxificación de radicales libres que utilizan estas plantas. En general ambos genotipos disminuyeron su crecimiento, sin embargo el genotipo nativo mostró mayor adaptación al déficit hídrico y tolerancia al estrés oxidativo causados por la salinidad.

Palabras claves: *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon chilense*, enzimas detoxificadoras.

ABSTRACT

Salinity is a problem for agriculture, which affect the yield and crop quality. The aim of this study was to compare the effect of salt stress on vegetative agronomic parameters and antioxidant activity of a cultivated Cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) and a wild tomato (*Solanum chilense* L.) genotype. The experiment was conducted in greenhouses of the College of Agricultural Sciences of the University of Chile. Salt stress was applied 10 days after transplanting by adding different NaCl concentrations to the nutrient solution: 0 mM, 40 mM, 80 mM and 160 mM NaCl for 40 days. Eight treatments were set up with a randomized complete block design with a 2x4 factorial arrangement (2 genotypes and 4 salt concentrations), using 5 replicates for each treatment consisting of 4 plants each. Dry and fresh weight, shoot mean relative growth rate (RGR), leaf area, leaf number, stem length and diameter, water and osmotic potential, water content and enzymatic activity were measured. Fresh and dry weights of aerial parts were reduced by increasing salinity. It was also observed that relative to the control treatment, in both genotypes RGR, leaf area, leaf number, stem length and diameter decreased. Both, plant potential and water content decreased with increasing salinity, especially in the wild species. Finally, an increase in specific enzymes activity was observed in the leaves of the wild genotype, which may explain the free radicals detoxification mechanisms that these plants use. In general, both genotypes reduced their growth, but the native genotype showed better adaptation to water stress and tolerance to oxidative stress caused by salinity.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon chilense*, detoxifying enzymes.

INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo ha sido uno de los problemas más importantes para la agricultura, el que se ha agravado por prácticas agrícolas como el riego. Hoy en día, aproximadamente el 20% de las tierras cultivadas del mundo y casi la mitad de todas las tierras de regadío se ven afectadas por la salinidad (Zhu, 2001). Los cultivos de hortalizas, legumbres y frutales son especialmente sensibles a la salinidad (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

El tomate es una especie de la familia de las solanáceas, y ha sido utilizado como planta modelo para la maduración del fruto, respuesta a enfermedades, genética y estudios de secuencia del genoma, dado que su genética es más conocida que la de otros cultivos de dicotiledóneas (Mueller *et al.*, 2005; Cuartero *et al.*, 2006).

Cuando el tomate se cultiva en suelos salinos no se encuentra exento a una disminución de rendimientos, ya que es una especie glicófita, “moderadamente sensible” a la salinidad, lo que significa que tolera una conductividad eléctrica (CE) de los suelos saturados de hasta $2,5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ sin reducción de su rendimiento (Maas, 1990; Chinnusamy *et al.*, 2005). En estudios del “*Soil Improvement Committee & California Fertilizer Association*” citado por Maroto (1995), se indica que una conductividad de $4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ hace decrecer el rendimiento en un 10% sobre la productividad normal, para que disminuya en un 50% es necesario que se detecte una conductividad en el suelo de $8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ a 25°C . Nuez (1995), señala que las plantas de tomate cultivadas en suelos salinos o con aguas salinas (más de $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sales) sufren alteraciones en todo su metabolismo y lo reflejan macroscópicamente, cuando se comparan con plantas cultivadas sin estrés salino, producen menor sistema radicular, hojas adultas abarquilladas, hojas jóvenes más pequeñas, de color verde más intenso y enrolladas sobre sí mismas, racimos con menor número de flores y frutos más pequeños. La tolerancia a la salinidad está relacionada con características varietales y puede ser un carácter heredable (Rush y Epstein citados por Maroto, 1995). El estudio de la tolerancia a la salinidad es complejo y el intento de solucionar o al menos mitigar los efectos perjudiciales de las sales, va de la mano con el estudio de los procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares del metabolismo de las plantas, así como de los diferentes mecanismos que las plantas ponen en marcha para responder frente al estrés (Parra, 2002; citado por Dell’Amico y Parra, 2005).

Azcón-Bieto y Talón (2008) establecieron que el efecto de la salinidad en los cultivos se debe a dos tipos de estrés: el primer tipo corresponde al estrés hídrico, al reducirse la absorción de agua por el efecto osmótico, y el segundo tipo es la toxicidad iónica relacionada con la excesiva absorción de sodio, que desencadena un desequilibrio iónico en la planta. En el segundo tipo de estrés, el Na puede desplazar al Ca de las membranas celulares, modificando la absorción de nutrientes como K. Sin embargo, se ha observado

que existe un aporte suplementario de Ca, el proceso de captación de K funciona bien, en detrimento del Na, que compite con el K por medio de un mecanismo de baja afinidad.

En plantas de tomate la salinidad produce efectos positivos y negativos, sean estas cultivadas o silvestres. La mayoría de los efectos son negativos, y se hacen sentir desde los primeros estados fenológicos de la planta. La germinación se reduce y se prolonga el tiempo de este evento, el crecimiento de las raíces disminuye y por tanto cae la capacidad de absorción de agua y nutrientes, en la parte aérea el número de frutos y su peso también son alterados (Goykovic y Saavedra, 2007). Siendo según Nuez (1995), la fase de crecimiento inicial (vegetativo) más sensible a las sales que las fases de crecimiento y desarrollo (reproductivo) posteriores. Los efectos positivos de la salinidad en las plantas de tomates cultivadas son el mejoramiento de la calidad organoléptica y biológica de los frutos, por cuanto estos presentan un mayor contenido de sólidos solubles, acidez y pigmentos carotenoides (Goykovic y Saavedra, 2007).

Para conseguir la adaptación a las condiciones salinas, se deben activar múltiples mecanismos: debe aumentarse la capacidad de obtener y/o retener agua, y debe restituirse la homeostasis iónica. Estos mecanismos de adaptación se reflejan macroscópicamente como un menor crecimiento, modificación de la relación aérea/radical, limitación de la expansión foliar, y son consecuencia de cambios bioquímicos (síntesis de ácido abscísico y solutos osmoprotectores) y fisiológicos (alteración de la permeabilidad de las membranas a los iones y al agua, cierre estomático, disminución de transpiración y fotosíntesis, etc.). Esta respuesta adaptativa está gobernada por señales moleculares que regulan la relación con el medio externo (por ejemplo, cambios en la actividad de canales y transportadores de membranas) y por la activación y transcripción de genes entre cuyos efectos está la modificación de rutas biosintéticas que resultan en un ajuste osmótico y en la protección de las estructuras celulares (Leidi y Pardo, 2002).

Otra consecuencia del estrés salino en las plantas es la generación excesiva de especies reactivas del oxígeno (EROs intermedios), como el superóxido, radical hidroxilo y H_2O_2 (Mittler, 2002 y Chookhampaeng *et al.* 2008). Las especies reactivas del oxígeno (EROs) son altamente reactivas y pueden alterar el metabolismo celular normal mediante el daño oxidativo a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Alscher *et al.*, 1997 y Imlay, 2003). Para mitigar el daño oxidativo iniciado por EROs, las plantas han desarrollado un complejo sistema enzimático de defensa, como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa (GR) que expulsan EROs y son componentes esenciales del sistema antioxidante de defensa de la planta (Noctor y Foyer, 1998 y Harinasut *et al.*, 2003).

Se ha detectado variabilidad en la respuesta a salinidad en las especies silvestres de tomate, siendo algunas más tolerantes que otras, de modo que éstas pueden utilizarse como fuente de genes para su mejoramiento (Goykovic y Saavedra, 2007).

Tapia (2002), señala que el tomate silvestre *Solanum chilense* es una especie cuyo hábitat natural es el desierto de Atacama, sitio en el cual está expuesta a severas condiciones de sequía y salinidad. La alta plasticidad fenotípica que posee esta especie le permite adecuarse a las restricciones impuestas por el medio. Esto la convierte en un interesante modelo para el estudio de los mecanismos de tolerancia al estrés salino que operan en especies glicófitas.

Considerando los antecedentes mencionados se ha planteado la siguiente hipótesis: El estrés salino en tomates bajo condiciones de maceta en invernadero causa una disminución del crecimiento vegetativo y un incremento de la actividad enzimática en tomate tipo “Cherry” (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) comparado con un genotipo de tomate silvestre (*Solanum chilense* L.).

Para demostrar la hipótesis se plantea como objetivo comparar el efecto del estrés salino en parámetros agronómicos vegetativos y en la actividad enzimática de genotipos de un tomate “Cherry” cultivado (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) y un tomate silvestre (*Solanum chilense*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Ubicación del ensayo

El ensayo se realizó en un invernadero ubicado en dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, Santiago (33°40' latitud Sur y 70°38' longitud Oeste, 604 m altitud).

Material vegetal y condiciones del cultivo

Se pusieron a prueba dos genotipos de tomate, uno silvestre (*Solanum chilense* L.) y un cultivar comercial tipo "Cherry" (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) (Figura 1). El genotipo silvestre fue elegido por su buena adaptación a climas secos y hábitat desérticos en el norte de Chile, los cuales están asociados a una alta salinidad. El cultivar tipo "Cherry" a su vez se puso a prueba por sus propiedades sensoriales y texturales descritas en la literatura y su importancia económica como hortaliza para la exportación.



Figura 1. Genotipos de tomate. **A.** Tomate silvestre (*Solanum chilense* L.). **B.** Tomate cultivado tipo "Cherry" (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.).

Metodología

Tratamientos y diseño del ensayo

Se establecieron 8 tratamientos con un diseño en bloques completos al azar y con un arreglo factorial 2 x 4, donde se consideraron 2 genotipos y 4 concentraciones salinas. Se utilizaron 5 repeticiones para cada tratamiento, siendo cada una de ellas una unidad experimental constituida por 4 plantas. La unidad muestral varió dependiendo del parámetro analizado, 2 plantas se utilizaron para realizar evaluaciones destructivas al término del proceso.

Los factores considerados comprenden los siguientes niveles:

Genotipos:

I: Tomate silvestre *Solanum chilense* L.

II: Tomate cultivado tipo “Cherry” *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.

Concentraciones salinas:

Concentración A: 0 mmol L⁻¹ de NaCl

Concentración B: 40 mmol L⁻¹ de NaCl

Concentración C: 80 mmol L⁻¹ de NaCl

Concentración D: 160 mmol L⁻¹ de NaCl

Procedimiento

Se trabajó con plantas de tomate, obtenidas de la plantinera “Tomaval”, ubicada en La Cruz, V Región. El trasplante se realizó el 29 de enero de 2010, cuando las plantas presentaban de 2 a 3 hojas verdaderas. Los tomates fueron establecidos en macetas de 19 cm de diámetro x 15 cm de altura (2,5 L), sobre un sustrato comercial “Tierra de Hojas Gaspar” reforzada y desinfectada, con una conductividad eléctrica de 1,5 dS·m⁻¹. Estos genotipos fueron cultivados en un invernadero, mostrándose la distribución de los tratamientos en el Anexo I.

El estrés salino se comenzó a aplicar 10 días después del trasplante (08 de febrero de 2010), luego de ocurrida la aclimatación de las plantas. Las concentraciones de NaCl se adicionaron a la solución nutritiva (Anexo II), en las cantidades señaladas junto con el riego, esto es: 0 g L⁻¹ de NaCl en la concentración A, 2,34 g L⁻¹ de NaCl en la B, 4,68 g L⁻¹ de NaCl en la C y 9,35 g L⁻¹ de NaCl en la D. El riego se realizó tres veces en la

semana dependiendo de los requerimientos del cultivo, en volúmenes que se calcularon según la capacidad de infiltración del sustrato (500 ml de solución por maceta).

El periodo experimental tuvo una duración de 40 días (20 de marzo de 2010).

Salinidad

Conductividad eléctrica (CE) (dS m^{-1}). Se obtuvo midiendo la CE presente en la solución nutritiva semanalmente, con un conductivímetro Hanna modelo HI 98130.

Evaluaciones del Crecimiento Vegetativo

Peso Fresco (PF) (g). Se obtuvo el peso fresco de tallos, hojas, flores y peso total de una planta de cada unidad experimental. Para esto se utilizó una balanza digital.

Peso Seco (PS) (g). Se obtuvo al deshidratar las muestras utilizadas para el peso fresco (tallos, hojas y flores), en una estufa a 80°C por 48 h hasta alcanzar peso constante, posteriormente fueron pesadas en una balanza. El peso seco total de la planta se obtuvo mediante la suma del peso de los órganos vegetales (tallos, hojas y flores).

Tasa media de crecimiento relativo (TCR) de la parte aérea (g g d^{-1}). Se calculó como: $\text{TCR} = (\ln\text{PSf} - \ln\text{PSi}) / \text{Dt}$ donde $\ln\text{PSf}$ y $\ln\text{PSi}$ son el logaritmo natural del peso seco final e inicial respectivamente, y Dt es el tiempo transcurrido entre las dos mediciones (Martínez *et al.*, 2003). El tiempo inicial fue considerado al momento del inicio de la aplicación de los tratamientos (08 de febrero de 2010) y para ello se midió la materia seca aérea de una planta puesta en una estufa de secado hasta peso seco constante. El momento final fue considerado 40 días después del inicio de las aplicaciones (20 de marzo de 2010). Para esta medición se utilizaron dos plantas de cada tratamiento especialmente destinadas para esta medición.

Área Foliar (cm^2). Ésta medición se realizó al final del período, para esto se utilizó una planta de cada unidad experimental y se midió mediante la utilización de un medidor de área foliar Lycor CI-203.

Las evaluaciones de desarrollo de hojas, longitud del eje principal y diámetro basal del tallo se realizaron semanalmente utilizando 4 plantas en cada unidad experimental.

Número de hojas. Se registró la fecha de la expansión de las hojas en el eje principal, para esto se consideró una hoja cuando ésta se encontraba completamente expandida.

Longitud del eje principal (cm). Para esta evaluación se midió la distancia existente entre el punto de inserción de la primera hoja verdadera y la inserción de la última hoja expandida, utilizando una huincha métrica.

Diámetro basal del tallo (mm). Las mediciones del diámetro basal del tallo se realizaron en la base la inserción de la primera hoja verdadera. Para esto se utilizó un pie de metro.

Evaluaciones del Potencial hídrico y Contenido de agua

Para las mediciones de potencial hídrico y potencial xilemático se utilizó una cámara de presión (Scholander), facilitada por Juan Pablo Martínez (INIA – La Cruz). Las mediciones se realizaron entre las 11:00-14:00 h al término del periodo experimental.

Potencial hídrico foliar (Ψ_w) (bar). Para ésta medición se ocupó una planta por unidad experimental y se colectó la hoja completa ubicada bajo el primer racimo floral (séptima hoja compuesta).

Potencial xilemático (Ψ_x) (bar). Para ésta medición se utilizó una planta por unidad experimental y se sacó la hoja completa ubicada bajo el primer racimo floral (séptima hoja compuesta), la que se tapó el día anterior a la medición a las 17:00 h con una bolsa de papel aluminio.

Potencial osmótico (Ψ_s) (bar). Para ésta medición se ocuparon los folíolos de una planta por unidad experimental. Se cuantificó usando un osmómetro de presión de vapor, los valores obtenidos fueron convertidos a partir de mosmol kg⁻¹ en MPa mediante la fórmula: Ψ_s (MPa) = -c (mosmol kg⁻¹ x 2,58 x 10⁻³) y a partir de esta transformada en bar (MPa*10) a 37 °C. Esta medición se realizó al término del periodo experimental.

Contenido relativo de agua (CRA). El contenido relativo de agua fue calculado como: $CRA = [(PF-PS)/(PT-PS)] *100$, donde PF es el peso fresco, PT es el peso turgente medido después de 24 horas de saturación en agua destilada, y PS es el peso seco

determinado después de 48 horas en una estufa a 65°C. Los PF, PT y PS fueron medidos a partir del foliolo apical obtenido de una planta por unidad experimental.

Contenido de agua - base peso fresco (CAPF). El contenido de agua fue calculado con la siguiente fórmula: $CAPF = [(PF-PS)/PF]*100$, donde PF es el peso fresco, y PS es el peso seco determinado después de 48 horas en una estufa a 65°C. Los PF y PS fueron medidos a partir del foliolo apical obtenido de una planta por unidad experimental.

Contenido de agua - base peso seco (CAPS). El contenido de agua fue calculado con la siguiente fórmula: $CAPS = (PF-PS)/PS$, donde PF es el peso fresco, y PS es el peso seco determinado después de 48 horas en una estufa a 65°C. Los PF y PS fueron medidos a partir del foliolo apical obtenido de una planta por unidad experimental.

Evaluación de la actividad enzimática

Para la obtención del extracto enzimático se colectaron los folíolos de las plantas de tomate y se pusieron en sobres de papel aluminio, posteriormente estos fueron congelados en N₂ líquido y guardados a -80° C. Se procedió a homogenizar las muestras congeladas en un mortero frío, usando una solución de extracción buffer compuesta por: 1.500 µL de fosfato de potasio (pH 7) y 1% de PVP (polivinilpirrolidona). El extracto centrifugado a 15.000 rpm por 20 minutos y el sobrenadante se utilizó para las determinaciones enzimáticas, mediante espectrofotometría, usando un espectrofotómetro.

Ascorbato Peroxidasa (APX) (nmol min⁻¹mg⁻¹). La actividad enzimática se determinó midiendo la tasa de descenso de la absorbancia de ascorbato (ASA) a 290 nm.

Para ello se preparó una mezcla de reacción que contiene 50 mM de buffer fosfato de potasio (pH 7), 0,1 mM de EDTA y 0,5mM de ascorbato. Se tomaron 600 µL de esta mezcla de reacción y 20 µL del extracto enzimático. La reacción es iniciada por la adición de 3 µL de 9,8 mM H₂O₂ y el cambio de absorbancia fue seguido por 30 segundos (Rao *et al.*, 1996).

Catalasa (CAT) (umol min⁻¹mg⁻¹). Se midió siguiendo el consumo de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a una absorbancia de 240 nm.

Se preparó una mezcla de reacción con 50 mM de buffer fosfato de potasio (pH 7), 24 mM de H₂O₂ y 20 µL del extracto enzimático a un volumen final de 600 µL. La reacción es seguida por 60 segundos después de la adición del extracto (Nakano and Asada, 1981 y Rao *et al.*, 1997).

Dehidroascorbato Reductasa (DR) ($\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$). La actividad enzimática se calculó en base a la tasa de formación de ascorbato a partir de la reacción de la dehidroascorbato (DHA) con la glutatión reducida a una absorbancia de 265 nm.

Se preparó una mezcla de 10 mL compuesta por 100 mM de buffer fosfato de potasio (pH 7), 1 mM de EDTA, 1 mM de glutatión reducido y 0,5 mM de dehidroascorbato. De esta mezcla se tomaron 500 μL los que se hicieron reaccionar con 50 μL del extracto enzimático, el cambio de absorbancia fue seguido por 300 segundos (Nakano and Asada, 1981).

Glutatión Reductasa (GR) ($\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$). La actividad enzimática se determinó por la tasa de aumento de la oxidación NADPH al reaccionar con la glutatión oxidada (GSH ox), a 340 nm de absorbancia.

Para ello se preparó una mezcla de reacción compuesta por 100 mM de buffer fosfato de potasio (pH 7), 1 mM de EDTA, 150 μM de NADPH y 500 μM de glutatión oxidada, de la cual se tomaron 500 μL que se hicieron reaccionar con 50 μL del extracto enzimático. El cambio de absorbancia fue seguido por 300 segundos (Rao *et al.*, 1996).

Superóxido Dismutasa (SOD) ($\text{USOD } \mu\text{g}^{-1}$). La actividad de ésta enzima se basó en la capacidad de inhibición de la reducción fotoquímica del nitroblue tetrazolium (NBT).

Se emplearon 3 mL de una mezcla de reacción que contiene 50 mM de fosfato de potasio (pH 7,8), 100 mM EDTA, 13 mM de metionina y 75 μM nitro blue tetrazolium. De esta mezcla se tomaron 970 μL y se hicieron reaccionar con 20 μL del extracto enzimático y 2 μM rivoftabina la que se agregó de las últimas. Se utilizaron dos tubos para realizar la reacción, uno colocado a 30 cm bajo una luz blanca de dos tubos fluorescentes de 15 W y el otro en oscuridad. La reacción es comenzada con el encendido de la lámpara y es mantenida por 20 min antes de detener la reacción. La absorbancia se midió a 560 nm. Una reacción no irradiada es usada como blanco de absorbancia cero, según el método de Giannopolitis and Ries (1977) y Beyer and Fridovitch (1987), con algunas modificaciones de Yu *et al.* (1998).

Las determinaciones de la actividad enzimática se llevaron a cabo en el INIA de La Cruz.

En todos los análisis enzimáticos la concentración de proteína total fue medida por el método dye-binding, tomando muestras del extracto (Bradford, 1976).

Análisis Estadístico

Los resultados de las variables analizadas fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) para determinar diferencias significativas. Al no existir interacción, se analizaron los efectos de los factores principales (genotipo y concentración salina), en el caso de encontrarse interacción entre los factores, se analizaron todas las combinaciones de estos. En aquellas variables donde se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) se realizó la prueba de rango múltiple de Tukey al 5% para separar las medias de los factores o las combinaciones de estos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dos genotipos de tomate, un tomate silvestre *Solanum chilense* (*Sch*) y un tomate cultivado tipo “Cherry” *Solanum lycopersicum* (*Sl*) fueron sometidos a estrés salino, llevándose a cabo mediciones para analizar las posibles diferencias existentes entre ellos.

Antecedentes de Concentraciones Salinas

A modo de antecedente, en éste ensayo se midió semanalmente la conductividad eléctrica (CE) de las soluciones nutritivas que contenían cada una de las cuatro concentraciones salinas aplicadas junto con el riego y al agua de riego. Los resultados se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Conductividad eléctrica (CE) promedio durante el periodo experimental presente en las cuatro concentraciones salinas aplicadas y en el agua de riego.

Concentraciones Salinas	Conductividad Eléctrica (CE)
----mM----	----dS/m----
0	3,39
40	7,27
80	11,85
160	18,58
Agua de Riego	0,80

Crecimiento vegetativo

Peso fresco (PF). Los valores del PF presentaron interacción entre los genotipos y las concentraciones salinas (Apéndice I). En las plantas de *Solanum chilense* no se encontraron diferencias significativas para el PF tanto de tallos, hojas, flores y total de las plantas entre las concentraciones salinas. Sin embargo, en *Solanum lycopersicum* se observaron diferencias significativas, mostrando una reducción del PF con el incremento de la salinidad (Figura 1).

El peso fresco total de las plantas “Cherry”, fue significativamente superior que el de las plantas silvestres, con valores promedio de 74,04 g y 11,38 g respectivamente. No obstante, en ambos genotipos se observó una reducción del PF (tallos, hojas, flores y total) por efecto de la salinidad. Respuestas similares fueron observadas por Hajer *et al.* (2006) y Chookhampaeng *et al.* (2008), quienes señalan que el peso fresco de las plantas de tomate, en general, se reduce debido a la subida del nivel de salinización. Este último autor, además señala que tratamientos de 50 y 100 mM disminuye el PF de la planta en un 22,6% y 23,1%, respectivamente.

Peso Seco (PS). En el caso del PS se observó la existencia de interacción entre los factores (Apéndice I), obteniéndose valores significativamente mayores en *Solanum lycopersicum* (8,23 g) que en *Solanum chilense* (1,00 g) ante la salinidad. Al analizar las distintas concentraciones de sal en cada especie se observó que el tomate “Cherry” presentó diferencias significativas, observándose que las plantas sometidas a concentraciones de 0 y 40 mM presentaron PS totales altos (11,59 y 10,38 g respectivamente) en comparación con las sometidas a 160 mM que presentaron un menor valor en el PS total (3,77 g), lo que indicaría que la salinidad reduce el PS de los tomates. En plantas de tomate silvestre no existieron diferencias significativas entre las concentraciones salinas aplicadas, sin embargo hubo una reducción del PS total con el aumento de la sal (Figura 1). Resultados similares fueron encontrados en tallos, hojas y flores de las plantas tratadas. En estudios realizados con plantas de tomate tratadas con concentraciones de 80 mM de NaCl, se presentó una reducción de un 55% en el PS de éstas (Romero- Aranda *et al.*, 2006). Por otra parte se indica que el peso seco de tallos y brotes de plantas tratadas con alta salinidad mostrarían una reducción respecto del tratamiento control (Hajer *et al.*, 2006 y Chookhampaeng *et al.*, 2008).

En estudios realizados por Hajer *et al.* (2006), los resultados de estrés salino muestran un claro retraso en el crecimiento de las plantas, que se traduce en una considerable disminución del peso fresco y seco de hojas y tallos. Por el contrario, Li y Stanghellini (2001), señalan que el peso seco no es, o sólo es marginalmente afectado por la CE y que todo el peso fresco se ve afectado, ya que el crecimiento de las hojas puede ser inhibido bajo estrés hídrico moderado, sin inhibición significativa de la fotosíntesis de la hoja y por lo tanto, con poco o ningún efecto sobre la tasa de producción de biomasa.

Tasa media de crecimiento relativo (TCR). El efecto del NaCl en la TCR aéreo de la planta mostró una interacción entre genotipos y concentraciones salinas (Apéndice I). Al hacer el análisis de las diferentes concentraciones salinas para el genotipo “Cherry” no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con 0, 40 y 80 mM (0,12; 0,12 y 0,11 respectivamente), sin embargo, hubo una reducción de la TCR a medida que aumentó el NaCl, las plantas “Cherry” tratadas con 160 mM presentaron una menor tasa de crecimiento (0,09) con la salinidad. En el genotipo silvestre al igual que en el “Cherry”

no existieron diferencias significativas entre las concentraciones salinas 0, 40 y 80 mM, sin embargo, en el tomate nativo hubo una pequeña reducción en las plantas tratadas con 40 mM que en las con 80 mM (0,106 y 0,108 respectivamente). En cuanto a las plantas silvestres tratadas con 160 mM se observaron los valores más bajos (0,078) de ésta tasa, como se muestra en la Figura 1. Morales *et al.* (2002), al analizar el comportamiento de la TCR de tres variedades de tomate cultivado, encontraron que la tasa era afectada de manera significativa cuando las plantas se sometían a concentraciones de 150 mM de NaCl en el medio. Al comparar el tomate cultivado (como control) con una especie silvestre (*S. pennellii*), Frary *et al.* (2010), se encontró que *S. pennellii* crece más lentamente. Cuando las plantas están expuestas al estrés salino en experimentos de laboratorio, presentan un descenso rápido y temporal en la tasa de crecimiento, ya que la salinidad reduce la capacidad de las plantas de absorber agua, y esto da lugar rápidamente a una reducción en la tasa de crecimiento, junto con una serie de cambios metabólicos (Munns, 2002). Este crecimiento más lento según Zhu (2001), es una característica adaptativa para la supervivencia de plantas bajo estrés, ya que permite que las plantas dependan de los recursos múltiples que poseen para combatir las condiciones extremas.

Maas and Hoffmann, (1977), señalan que el efecto más común de la salinidad es un retraso en el crecimiento de las plantas, a medida que aumenta la concentración de sal por encima del umbral, tanto la tasa de crecimiento como el tamaño final de la mayoría de las especies vegetales disminuyen progresivamente. Sin embargo, no todas las partes de la planta son afectadas de igual manera. La primera fase de respuesta de crecimiento se debe al efecto osmótico de la sal en la solución suelo, y produce un conjunto de efectos idénticos a los del estrés hídrico causado por la sequía. Más tarde, puede haber un efecto adicional sobre el crecimiento, si las cantidades excesivas de sal entran en la planta, eventualmente se elevará a niveles tóxicos en las hojas más viejas, provocando la senescencia prematura. Esto reducirá la cantidad de asimilados que la planta puede producir, y una reducción en los asimilados transportados a los tejidos pudiendo limitar el crecimiento (Munns, 2002).

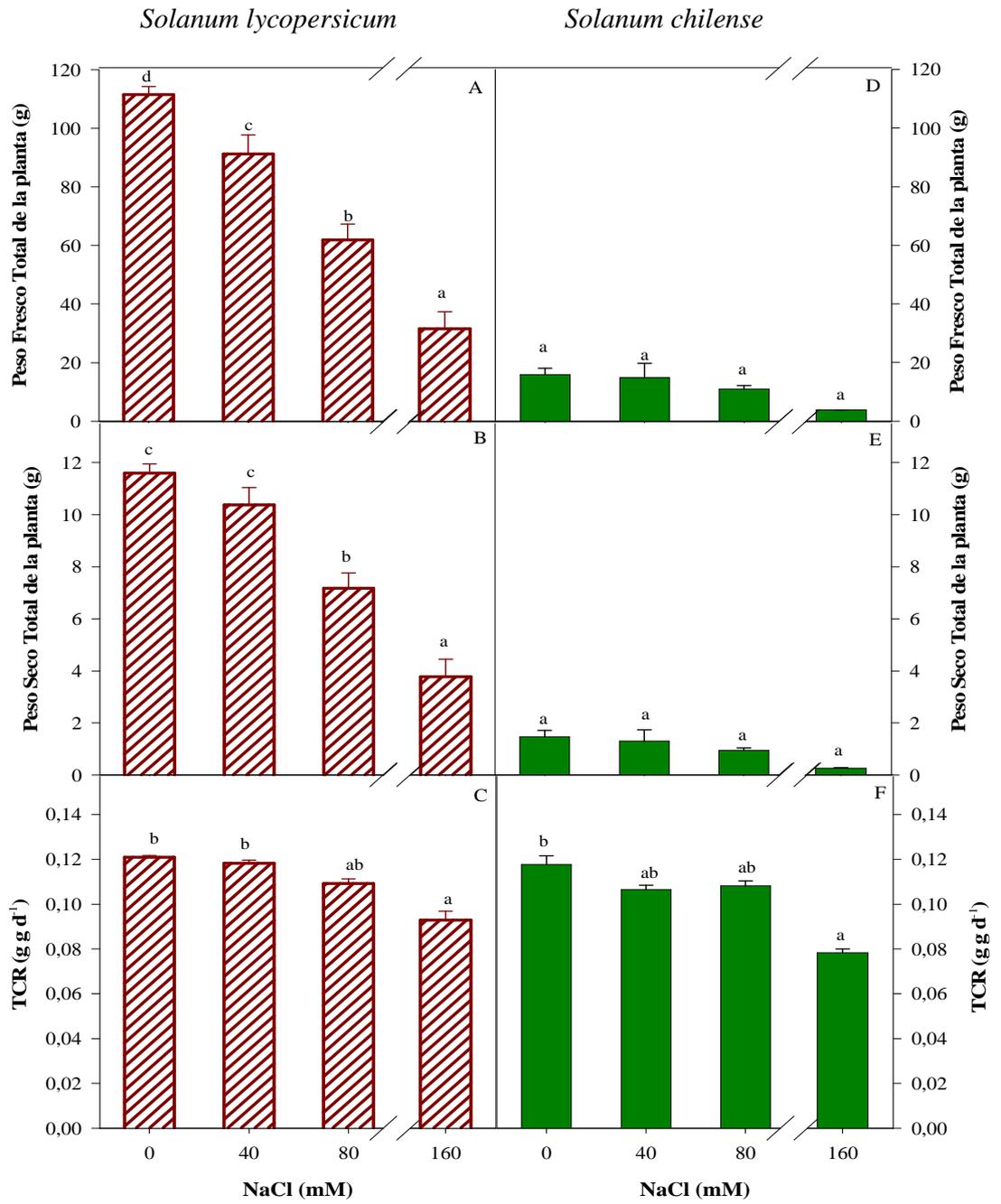


Figura 1. Peso Fresco Total (PFT) de plantas de tomate “Cherry” y silvestres (A y D, respectivamente), Peso Seco Total (PST) de plantas de tomate “Cherry” y silvestres (B y E, respectivamente) y Tasa media de crecimiento relativo (TCR) de las plantas de tomate “Cherry” y silvestres (C y F, respectivamente). Se presentó interacción entre genotipos y concentraciones salinas en estos tres parámetros. Las letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre las distintas concentraciones salinas dentro de cada especie según Tukey. Barras representan el error estándar.

Área Foliar (AF). En el área foliar no se presentó interacción entre los factores y se observó un área foliar significativamente mayor en los tomates del tipo “Cherry” respecto de los nativos para cualquier concentración salina. En cuanto a ésta última también reveló diferencias significativas, encontrándose una reducción significativa en el área foliar de las plantas sometidas a 160 mM de NaCl respecto del control, es decir, las plantas de tomate reducen su área foliar por efecto de la salinidad (Figura 2). Li and Stanghellini (2001) observaron que el efecto más evidente del estrés salino en plantas tomate cultivado era una reducción de la expansión de las hojas, lo que se tradujo en una reducción del área foliar de un 8% por cada $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ a partir de 6,5. Resultados similares fueron obtenidos por Romero-Aranda *et al.* (2006) quienes observaron una reducción en el área foliar total de un 58%, en plantas tratadas con salinidad. Otros autores señalan que el estrés salino además de causar una reducción en el área foliar total, también reduce el tamaño de las hojas y la longitud máxima de éstas (Beatriz and Bernstein, 2001, Carneiro *et al.*, 2004 y Najla *et al.*, 2008). Una de las primeras respuestas de la planta al estrés salino es una reducción en la tasa de crecimiento de las hojas con reducciones asociadas al área foliar disponible para la fotosíntesis (Yokaş *et al.*, 2008). La reducción de la tasa de crecimiento de las hojas estaría relacionada con una reducción en la turgencia de las células, con las propiedades reológicas de la pared celular y con una reducción de la tasa fotosintética (Cuartero and Fernández-Muñoz, 1999).

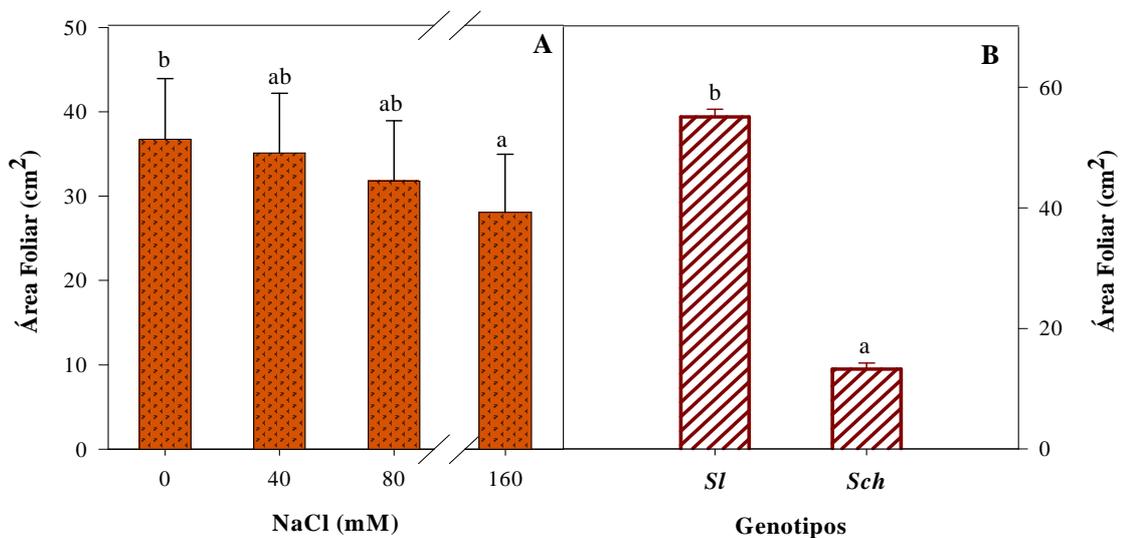


Figura 2. Área foliar de *Solanum lycopersicum* (*Sl*) y *S. chilense* (*Sch*) bajo cuatro concentraciones salinas. A. Área foliar medida en las concentraciones salinas y B. Área foliar de plantas *Sl* y *Sch*. Las letras minúsculas distintas entre concentraciones o genotipos indican diferencias significativas según Tukey ($P \leq 0,05$). Barras representan el error estándar.

Los siguientes parámetros vegetativos: Desarrollo de Hojas, Longitud del eje principal y Diámetro del tallo se midieron en cinco fechas diferentes; a los 8, 16, 23, 29 y 36 días de estrés salino (Figura 4), obteniéndose los siguientes resultados:

Número de Hojas. A los 8 días de haber comenzado las concentraciones salinas, se observaron diferencias significativas entre genotipos, pero no entre las concentraciones salinas. En el resto de las mediciones realizadas se observaron diferencias significativas entre las especies y entre las concentraciones salinas. El número de hojas por planta no mostró interacción entre los factores en ninguna de las fechas analizadas (Figura 3). En la última fecha de medición del número de hojas se observa que, *S. lycopersicum* fue significativamente mayor que *S. chilense*, con valores promedio de 11,75 y 8,12 hojas por planta respectivamente. En cuanto a las concentraciones salinas las plantas de tomate que no fueron sometidas a salinidad presentaron el mayor número de hojas (11,05 hojas), en cambio las que estuvieron bajo 160 mM presentaron una reducción de estas (8,83 hojas). Lo que indicaría que la cantidad de hojas en las plantas de tomate estaría inversamente relacionada con la salinidad. La disminución en el conjunto de hojas como consecuencia del incremento de la salinidad es una respuesta variable que depende de la especie o genotipo de que se trate como también de los niveles de sales a los que son expuestas las plantas (Romero-Aranda *et al.*, 2001). Los resultados encontrados por Frary *et al.*, (2010) señalan que tanto en *S. pennellii* como en el tomate cultivado el número de hojas disminuye, sin embargo, sólo el cambio en la especie silvestre es estadísticamente significativo.

Najla *et al.* (2009), encontró que la disminución en el crecimiento de folíolos y en el número de folíolos por hoja está asociado con una menor tasa de crecimiento y un más largo período de crecimiento en las plantas estresadas por la salinidad. Además las plantas sometidas a estrés presentan un acortamiento de los entrenudos (Carneiro *et al.*, 2004).

Longitud del eje principal. En todas las fechas de medición la longitud del eje principal mostró interacción entre genotipos y concentraciones salinas (Figura 3). Al analizar la última fecha de medición para las distintas concentraciones en cada genotipo, se pudo ver que las plantas de tomate del tipo “Cherry” sometidos a 0 y 40 mM de NaCl presentaron un mayor crecimiento con valores de 61,85 cm y 57,08 cm respectivamente, en comparación a las plantas sometidas a 160 mM las cuales mostraron un crecimiento

significativamente menor con un valor promedio de 31,98 cm. Las plantas de tomate nativo tratadas con 0, 40 y 80 mM no presentaron diferencias significativas entre sí (19,18; 16,93 y 13,80 cm respectivamente) para el largo del eje principal, sin embargo, las plantas silvestres expuestas a la mayor concentración salina presentaron un crecimiento significativamente inferior (6,81 cm) que los demás tratamientos. Los tomates “Cherry” alcanzaron significativamente mayor longitud que los nativos. Estudios realizados por Romero-Aranda *et al.* (2001), Carneiro *et al.* (2004), Hajer *et al.* (2006) y Najla *et al.* (2009) encontraron una reducción en la altura de las plantas tratadas con salinidad, mostrando una reducción de hasta un 20% en comparación con las plantas testigo. Concentraciones de 50 y 100 mM de NaCl reducen en un 25,1% y 30,9% en la altura de la planta, respectivamente (Chookhampaeng *et al.*, 2008).

Diámetro del tallo. En la primera fecha de medición se observaron diferencias significativas entre los genotipos, pero no entre las concentraciones salinas. Sin embargo, en las fechas restantes este parámetro mostró interacción de factores, observándose diferencias significativas entre genotipos y entre concentraciones salinas (Figura 3). En la última fecha las plantas *S. lycopersicum* tratadas con 0, 40 y 80 mM de NaCl no presentaron diferencias significativas entre sí para el diámetro, con valores promedios de 8,41; 7,98 y 7,06 mm, sin embargo, los tomates sometidos a la mayor salinidad presentaron una reducción significativa su diámetro, con un valor promedio de 5,66 mm. Las plantas de tomate *S. chilense* no mostraron diferencias significativas entre las concentraciones salinas. En general, de acuerdo a varios autores, las plantas de tomate sometidas a altas concentraciones de sal muestran una reducción significativa en el diámetro del tallo (Carneiro *et al.*, 2004 y Chookhampaeng *et al.*, 2008), debido a que las plantas expuestas a estrés salino muestran contracciones del tallo y menores tasas de crecimiento de éste en comparación con las plantas control (Goldhamer and Fereres, 2001). Sin embargo, en estudios realizados por Frary *et al.* (2010), se encontró que el diámetro del tallo no cambió de manera significativa con la salinidad.

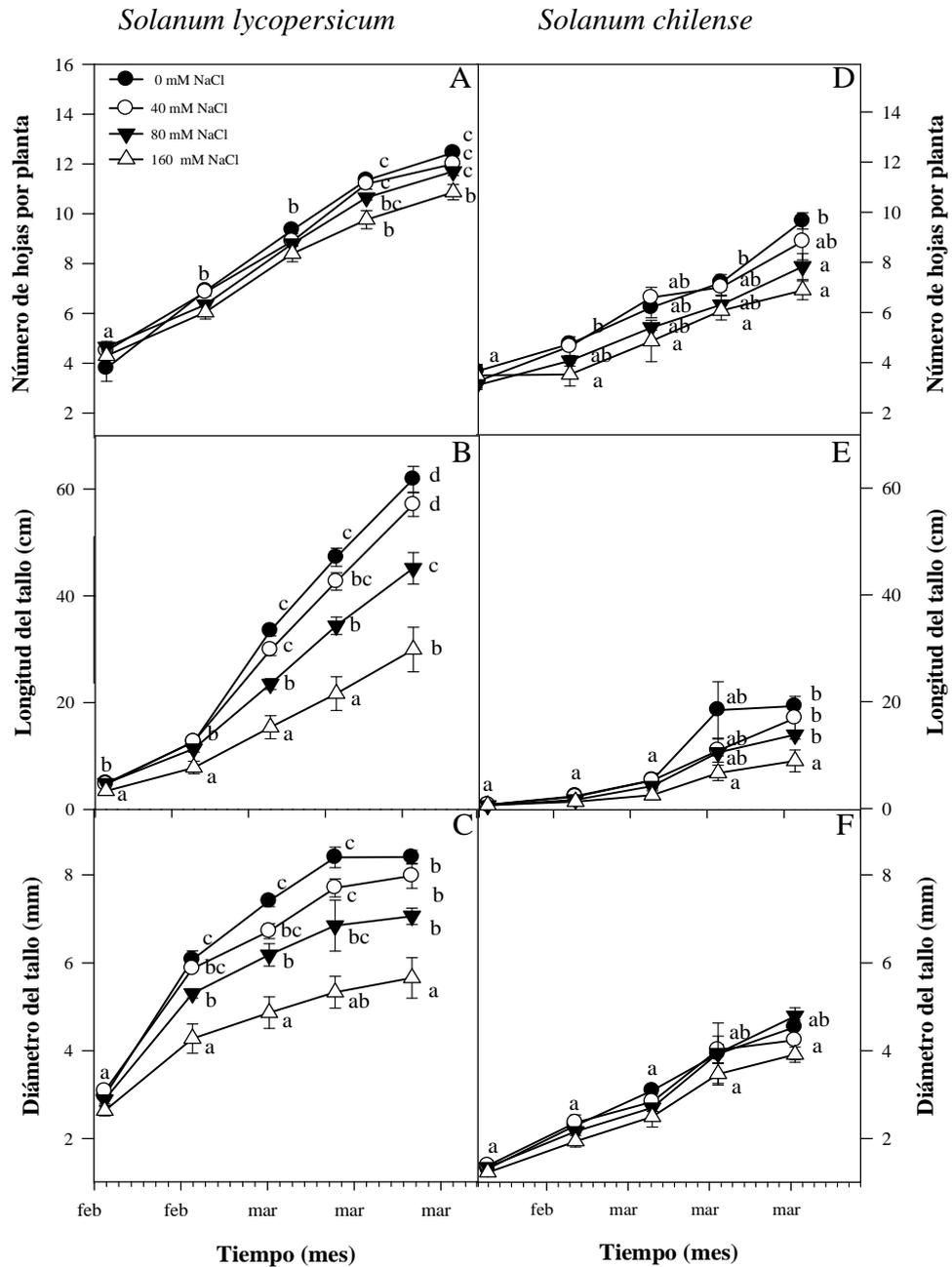


Figura 3. Número de hojas, longitud del tallo y diámetro presentes en dos genotipos de tomate sometidos a cuatro condiciones salinas (A, B, C, D, E y F respectivamente), en cinco fechas diferentes. En cada genotipo las letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre concentraciones salinas para cada fecha según Tukey ($p \leq 0,05$). Hubo interacción entre factores. Barras representan el error estándar.

Potencial hídrico y Contenido de agua

A continuación se analizan los resultados de los parámetros hídricos. Tanto el Potencial hídrico foliar (Ψ_w), el Potencial xilemático (Ψ_x), el Potencial osmótico (Ψ_s), el Contenido relativo de agua (CRA), como el Contenido de agua en base al peso fresco (CAPF), no presentaron interacción entre genotipos y concentraciones salinas, por lo cual en cada caso los factores se analizan en forma independiente. Solo en el Contenido de agua en base al peso seco (CAPS) se observó interacción entre genotipos y concentraciones salinas, comparándose las concentraciones dentro de cada especie y también comparando las especies para cada concentración.

Potencial hídrico foliar (Ψ_w). En éste parámetro no se observaron diferencias significativas entre las especies, ni entre las concentraciones salinas (Apéndice II). El genotipo silvestre mostró un Ψ_w de -2,74 bares, en tanto el valor para el genotipo “Cherry” fue de -2,13 bares.

Potencial xilemático (Ψ_x). No se mostraron diferencias significativas entre las especies, ni entre las concentraciones salinas (Apéndice II). *S. chilense* presentó un Ψ_x de -1,98 bares en comparación con *S. lycopersicum* que mostró valor de -1,55 bares.

Potencial osmótico (Ψ_s). No mostró diferencias significativas entre las especies (Apéndice II), pero si entre las concentraciones salinas, encontrándose una disminución significativa en el Ψ_s de las plantas sometidas a 160 mM, con un valor promedio de -1,18 bares, con respecto a las plantas de los otros tratamientos (0, 40 y 80 mM) que alcanzaron valores de -0,30; -0,63 y -0,86 bares respectivamente.

Morales *et al.* (2002) y Dell’Amico y Parra (2005), señalan que la adición de NaCl al medio provoca alteraciones en el crecimiento de las plantas; observándose que las variables del estado hídrico, como contenido relativo de agua y potenciales hídrico foliar y osmótico se ven afectados negativamente por la salinidad, siendo esta depresión más pronunciada en unas variedades que en otras. Estudios realizados por Morales *et al.* (2003), muestran que tanto en los tomates cultivados como en las especies silvestres (*L. chessmanii*), el Ψ_w y el Ψ_s descienden al someterse las plantas al tratamiento salino, sin embargo, el potencial hídrico foliar desciende de manera significativa con el incremento del NaCl en el medio, mientras que el potencial osmótico se mantiene inalterado. Cuando disminuye la intensidad del flujo de agua desde la raíz a la parte aérea, por un menor movimiento del agua en la planta, produce una menor hidratación de la parte aérea, provocando una depresión en los potenciales hídrico y osmótico. (Morales *et al.*, 2002). Esta disminución indica la existencia de señales hidráulicas capaces de ser transmitidas con gran rapidez desde las raíces hasta la parte aérea de las plantas (Morales *et al.*, 2003).

Para adaptarse a las condiciones desfavorables, que provoca la salinidad, las plantas muestran la capacidad de ajustarse osmóticamente. Esto se atribuye a la alta absorción de Na^+ y K^+ que en primera instancia realizan las plantas y que conlleva a una disminución importante del potencial osmótico, sin que se produzcan grandes pérdidas de turgencia (Morales *et al.*, 2002).

Contenido relativo de agua (CRA). No mostró interacción entre factores, ni diferencias significativas entre las especies ni entre las concentraciones salinas (Apéndice II). El CRA de la especie silvestre fue mayor al del tomate tipo “Cherry”, con valores promedio de 116,5 y 114,0 respectivamente.

Contenido de agua en base al peso fresco (CAPF). No mostró interacción entre genotipos y concentraciones salinas (Apéndice II). El CAPF mostró diferencias significativas entre los genotipos, alcanzando los tomates silvestres valores mayores (92,72), con respecto a las plantas de tomate “Cherry” (89,41). No se observaron diferencias significativas por efecto de la salinidad.

Contenido de agua en base al peso seco (CAPS). Se observó interacción entre genotipos y concentraciones salinas. Los tomates nativos sometido a 40 mM de NaCl presentaron el mayor CAPS, con valores promedio de 12,9; mientras que los demás tratamientos de 0, 80 y 160 mM arrojaron valores promedio de 9,89; 10,60 y 8,93 respectivamente. Mientras que en los genotipos “Cherry” no se mostraron diferencias entre las concentraciones salinas aplicadas y presentaron CAPS significativamente inferiores que los nativos (Cuadro 22).

Estudios realizados por Morales *et al.* (2002) en tomate muestran un rápido decrecimiento del CRA al someter las plantas a estrés salino (150 mM). Resultados similares fueron obtenidos por Yocaş *et al.* (2008), quienes encontraron que el tratamiento salino indujo una reducción en el contenido relativo de agua de la hoja. La disminución del CRA indicaría una pérdida de turgencia que da lugar a una escasa disponibilidad de agua para el proceso de expansión celular.

Cuadro 2. Contenido de agua en base al -peso seco (CAPS) de dos genotipos de tomate *S. lycopersicum* (*Sl*) y *S. chilense* (*Sch*) sometidos a cuatro concentraciones salinas.

Conc. Salinas	CAPS		
	<i>Sl</i>	<i>Sch</i>	Promedio
0	8,52 ± 0,37 a A	12,17 ± 1,42 ab B	10,35 ± 0,83
40	8,31 ± 0,73 a A	17,50 ± 2,49 b B	12,90 ± 1,96
80	9,04 ± 0,35 a A	12,17 ± 1,30 ab B	10,60 ± 0,82
160	8,36 ± 0,50 a A	9,50 ± 1,80 a B	8,93 ± 0,90

Promedio	8,56 ± 0,24	12,84 ± 1,10
-----------------	--------------------	---------------------

ANDEVA ($P \leq 0,05$) mostró interacción entre factores. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre los genotipos. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre concentraciones salinas según Tukey.

Actividad enzimática

Se midió la actividad de las enzimas detoxificadoras: **Ascorbato peroxidasa (APX)**, **Catalasa (CAT)**, **Glutación reductasa (GR)**, **Dehidroascorbato reductasa (DR)** y **Superóxido dismutasa (SOD)**, presentes en las hojas de tomate *Solanum lycopersicum* y *Solanum chilense* sometidas a cuatro concentraciones salinas, obteniéndose los siguientes resultados:

La actividad de las enzimas: APX, CAT y GR mostró diferencias significativas entre las especies (Apéndice III), encontrándose una mayor actividad enzimática en el genotipo silvestre en relación al “Cherry”. No hubo diferencias significativas de la actividad enzimática de éstas por efecto del incremento de las concentraciones salinas. La enzima DR en cambio, no presentó diferencias significativa en la actividad específica por efecto del genotipo ni diferencias significativas por efecto de la salinidad (Cuadro 3).

Ascorbato peroxidasa (APX). Esta enzima mostró una mayor actividad enzimática en las plantas de tomate nativo, en comparación con los tomates tipo “Cherry” con valores de -100,2 y -147,8 $\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$, respectivamente. En cuanto a las concentraciones salinas aplicadas, la actividad de ésta enzima aumentó con 40 y 80 mM, alcanzando valores promedio de -111,6 y -112,6 $\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ respectivamente, con respecto al tratamiento control que alcanzó un valor de -126,68 $\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$, mientras que con 160 mM decayó considerablemente (-141,48 $\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$) (Cuadro 3). En investigaciones realizadas por Harinasut *et al.* (2003) y Chookhampaeng *et al.* (2008) se demostró que la actividad de APX, era afectada por la salinidad. Mittova *et al.* (2002) determinaron que la actividad de esta enzima aumenta en plantas de tomate *Solanum pennellii*, en condiciones de estrés salino. Resultados similares se encontraron en maíz (Azevedo *et al.*, 2006), *Salicornia brachiata* (Parida and Jha, 2010) y mora (Harinasut *et al.*, 2003). Esta enzima tendría un papel clave en la detoxificación de H_2O_2 en condiciones de salinidad, ya que impide la acumulación en exceso de H_2O_2 en las células a través de la vía de ascorbato-glutación (Parida and Jha, 2010), lo que la convertiría en parte del sistema de defensa de la planta.

Catalasa (CAT). Las plantas silvestres presentaron una mayor actividad de la CAT, que las “Cherry”, con valores promedio de -1,73 y -2,65 $\text{umol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$, respectivamente. La actividad de esta enzima aumentó en las plantas sometidas a 40 y 80 mM de NaCl, alcanzando valores promedio de -1,92 y -1,93 $\text{umol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ respectivamente, disminuyendo considerablemente con la concentración más alta a -2,75 $\text{umol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$, lo que indicaría que la actividad de CAT disminuye con la salinidad (Cuadro 3). Según Chookhampaeng *et al.* (2008), establecen que en situaciones de estrés salino elevado la CAT se inhibe, quedando las células de la hoja protegida contra el daño oxidativo en gran medida solo por APX, SOD y peroxidasa. Resultados similares fueron obtenidos en maíz (Azevedo *et al.*, 2006) y en *Salicornia brachiata* (Parida and Jha, 2010).

Glutación reductasa (GR). La actividad de GR, al igual que en las enzimas anteriores fue mayor en los tomates nativos que en los “Cherry” (-11,4 y -15,9 nmol min⁻¹mg⁻¹ respectivamente). En cuanto a las concentraciones de sal, la actividad de GR presentó un aumento no significativo con 40 mM (-12,09 nmol min⁻¹mg⁻¹) como se muestra en el cuadro 3. A diferencia de los resultados anteriores, Harinasut *et al.* (2003), Azevedo *et al.* (2006) y Parida and Jha (2010), encontraron que la actividad de GR en las hojas de las plantas estresadas con la sal es mayor que en los controles. Al igual que APX, la enzima GR es esencial para mantener el estado redox del ascorbato y el glutatión, jugando un papel importante en el control del contenido de H₂O₂ endógeno. Tanto APX como GR son enzimas clave del ciclo ascorbato-glutatión, lo que puede ser según Harinasut *et al.* (2003) un mecanismo potencial de adaptación a la salinidad.

Dehidroascorbato reductasa (DR). En la actividad de ésta enzima no se presentaron diferencias significativas entre genotipos, sin embargo las plantas de tomate “Cherry” mostraron una mayor actividad que los tomates silvestres (90,3 y 74,8 nmol min⁻¹mg⁻¹ respectivamente). Al analizar las concentraciones de sal, se observa un aumento no significativo en las plantas tratadas con 80 mM (90,8 nmol min⁻¹mg⁻¹) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Actividad específica de enzimas detoxificadoras presentes en hojas de dos genotipos de tomate bajo cuatro concentraciones salinas.

Factores	Actividad Enzimática			
	APX -- nmol min ⁻¹ mg ⁻¹ --	CAT -- umol min ⁻¹ mg ⁻¹ --	DR -- nmol min ⁻¹ mg ⁻¹ --	GR -- nmol min ⁻¹ mg ⁻¹ --
Genotipos				
<i>Sl</i>	-147,81± 10,5 A	-2,65± 0,3 A	90,26± 13,9 A	-15,99± 0,8 A
<i>Sch</i>	-100,20± 7,8 B	-1,73± 0,2 B	74,76± 9,2 A	-11,40± 0,2 B
Concent. salinas				
0	-126,68± 13,5	-2,26± 0,3	64,83± 14,3	-13,85± 1,5
40	-111,60± 17,1	-1,92± 0,3	86,16± 14,3	-12,09± 1,3
80	-112,63± 11,6	-1,93± 0,4	90,79± 16,5	-14,40± 1,3
160	-141,48± 17,4	-2,75± 0,5	88,24± 21,9	-14,04± 1,0

ANDEVA (P≤0,05) no detectaron interacciones entre factores. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre los genotipos según Tukey. No se presentaron diferencias significativas entre las concentraciones salinas. Donde, AP: ascorbato peroxidasa; CAT: catalasa; DR: dehidroascorbato reductasa y GR: glutatión reductasa.

Superóxido dismutasa (SOD). En el caso de SOD se detectó una interacción entre genotipo y salinidad, que se basa en la respuesta del genotipo silvestre (*Sch*) a la concentración salina de 160 mM alcanzando un valor de 1,14 USOD μg^{-1} , siendo este muy superior al resto de los tratamientos los cuales no presentaron diferencias significativas como se aprecia en la Figura 4. *Solanum chilense* (*Sch*) mostró valores significativamente superiores en la actividad específica de esta enzima que *S. lycopersicum* (*Sl*) con el aumento de las concentraciones salinas, lo que indicaría que los tomates silvestres presentan una mayor actividad de la enzima SOD bajo condiciones de salinidad. Harinasut *et al.* (2003) y Chookhampaeng *et al.* (2008) señalan que la actividad de la enzima antioxidante SOD, es afectada por la salinidad. Siendo la actividad de esta enzima mayor en plantas de tomate *Solanum pennellii*, en condiciones de estrés salino (Mittova *et al.*, 2002). Resultados similares se encontraron en maíz (Azevedo Neto *et al.*, 2006), *Salicornia brachiata* (Parida and Jha, 2010) y mora (Harinasut *et al.*, 2003). La enzima superóxido dismutasa desempeña un papel central al dismutar los radicales superóxido en H_2O_2 y O_2^- , generados por el metabolismo oxidativo, por lo que en los genotipos tolerantes a la salinidad aumentaría la actividad enzimática, debido a una mejor capacidad de captación de radicales O_2^- (Azevedo *et al.*, 2006).

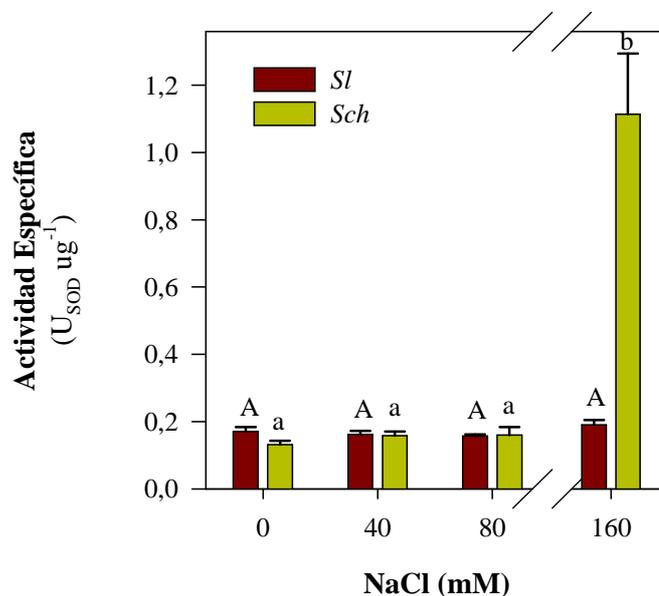


Figura 4. Actividad específica de la enzima superóxido dismutasa (SOD) medida en plantas de tomate “Cherry” (*Sl*) y silvestre (*Sch*) sometidas a cuatro concentraciones salinas. Se presentó interacción entre los genotipos y las concentraciones. Por lo anterior las letras

mayúsculas indican diferencias significativas entre las concentraciones salinas en el genotipo “Cherry” y las letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre las concentraciones salinas en el genotipo silvestre según Tukey ($P \leq 0,05$). Barras representan el error estándar.

La actividad enzimática presente en las hojas de tomate sometidas a cuatro concentraciones salinas mostró una mayor actividad de las enzimas APX, CAT, GR y SOD en los tomates silvestres en comparación al tomate “Cherry”, siendo la enzima SOD la que presentó la mayor actividad en las plantas de tomate silvestre sometidas a altas concentraciones salinas, lo que indicaría que el tomate silvestre posee una mayor capacidad antioxidante del tipo enzimático en relación al tomate “Cherry”. Mittova *et al.* (2002), señalan que el nivel de enzimas antioxidantes aumentaría cuando las plantas están expuestas a la salinidad, siendo este incremento una característica de la respuesta de las especies de tomate resistentes a la salinidad. En estudios realizados por Frary *et al.* (2010), se encontró que el tomate cultivado alcanzó niveles más altos de antioxidantes (con excepción de SOD) que la especie silvestre (*S. pennellii*), sin embargo, bajo estrés salino, las especies silvestres mostraron una mayor inducción de todos los antioxidantes (APX, CAT y SOD), excepto de peroxidasa. La tolerancia a la sal de *S. pennellii*, en comparación con el tomate cultivado, según Mittova *et al.* (2002) y Frary *et al.* (2010), sería resultado de una mayor protección de los daños causados por EROs, gracias a los niveles más altos de antioxidantes enzimáticos y a una mayor inducción de estas enzimas bajo estrés salino.

Análisis Global

Los parámetros de crecimiento vegetativo: Peso fresco, Peso seco, Tasa media de crecimiento relativo, Área foliar, Desarrollo de hojas, Longitud y Diámetro del tallo en general mostraron un mayor crecimiento vegetativo en las plantas del genotipo “Cherry” que en los tomates del genotipo nativo para los tratamientos salinos utilizados. En cuanto a las concentraciones salinas se observó una disminución del crecimiento en las plantas de ambos genotipos tratadas con la mayor salinidad, lo que indicaría que las plantas son afectadas en su crecimiento vegetativo al estar expuestas a un estrés salino. Hajer *et al.* (2006) y Chookhampaeng *et al.* (2008), señalan que tanto el peso fresco como el peso seco de las plantas de tomate, habitualmente se reduce debido a la subida del nivel de salinización. A su vez Maas and Hoffmann (1977), señalan que el efecto más común de la salinidad es un retraso en el crecimiento de las plantas, a medida que aumenta la concentración de sal por encima del umbral, tanto la tasa de crecimiento como el tamaño final de la mayoría de las especies vegetales disminuyen progresivamente.

En los parámetros hídricos: Potencial hídrico foliar, Potencial xilemático y potencial osmótico se observaron menores potenciales en *Solanum chilense* que en *S. lycopersicum*, lo que indicaría que los tomates nativos son capaces de ajustar su potencial de mejor manera frente a condiciones adversas que los tomates “Cherry”. Además la salinidad afectó los potenciales de las plantas, originando una disminución de estos. En cuanto al Contenido relativo de agua, Contenido de agua en base al peso fresco y el Contenido de agua en base al peso seco se observó un mayor valor en los tomates silvestres que en los “Cherry”, así mismo en la mayoría de los casos se redujo la cantidad de agua en las plantas con la salinidad. Morales *et al.* (2002) y Dell’Amico y Parra (2005), encontraron que las variables del estado hídrico, como contenido relativo de agua y potenciales hídrico foliar y osmótico se ven afectados negativamente por la salinidad.

La actividad enzimática presente en APX, CAT, GR y SOD fue mayor en los tomates silvestres, presentando SOD la mayor actividad en las plantas nativas sometidas a altas concentraciones salinas. Mittova *et al.* (2002), señalan que el nivel de enzimas antioxidantes aumentaría cuando las plantas están expuestas a la salinidad, siendo este incremento una característica de la respuesta de las especies de tomate resistentes a la salinidad. En las otras enzimas la actividad aumentó con concentraciones intermedias de

sal, decayendo al ser sometidas las plantas a alta salinidad. En cuanto a DR a diferencia de las demás enzimas la mayor actividad se observó en las plantas “Cherry”.

CONCLUSIONES

En el estado vegetativo, tanto las plantas de *Solanum chilense* como las de *Solanum lycopersicum*, disminuyen su tasa de crecimiento al ser expuestas a altas concentraciones de salinidad. Sin embargo *S. lycopersicum* alcanza un mayor crecimiento vegetativo.

Solanum chilense presenta una mayor adaptación a condiciones de estrés salino, siendo capaces de ajustar su potencial de mejor manera que *S. lycopersicum*.

La tolerancia al estrés oxidativo se manifiesta con una actividad enzimática más elevada en el tomate silvestre en comparación al tomate “Cherry” bajo condiciones de salinidad, lo que indicaría que el genotipo silvestre posee una mayor capacidad enzimática antioxidante.

Los caracteres relacionados con la tolerancia al estrés oxidativo en *S. chilense* podrían ser interesantes para ser incorporados en el tomate cultivado (*S. lycopersicum*) a través de programas de mejoramiento genético.

BIBLIOGRAFÍA

ALSCHER, R., J. DONAHUE and C. CRAMER. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Plant Physiology*. 100: 224–233.

AZCÓN-BIETO, J. y M. TALÓN. 2008. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2º Ed. Interamericana McGraw-Hill, Madrid. 651 p.

AZEVEDO, A., J. PRISCO, J. ENÉAS-FILHO, C. DE ABREU and E. GOMES-FILHO. 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*. 56(1): 87-94.

BEATRIZ, N. and BERNSTEIN, N. 2001. Salinity-induced inhibition of leaf elongation in maize is not mediated by changes in cell wall acidification capacity. *Plant Physiology*. 125: 1419- 1428.

BEYER, W. and I. FRIDOVITCH. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*. 161: 559–566.

BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248–254.

CARNEIRO, P., P. FERNÁNDES, H. GHEYI, F. SOARES and S. VIANA. 2004. Salt tolerance of precocious-dwarf cashew rootstocks– physiological and growth indexes. *Scientia Agrícola, Piracicaba*. 61(1): 9-16.

CHINNUSAMY, V., A. JAGENDORF and J. ZHU. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. 45: 437- 448.

CHOOKHAMPAENG, S., W. PATTANAGUL and P. THEERAKULPISUT. 2008. Effect of salinity on growth, activity of antioxidant enzymes and sucrose content in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) at the reproductive stage. *ScienceAsia*. 34: 69-75.

CUARTERO, J., M. BOLARIN, M. ASINS and V. MORENO. 2006. Increasing salt tolerance in the tomato. *Journal of Experimental Botany* 57: 1045-1058.

CUARTERO, J. and R. FERNÁNDEZ-MUÑOZ. 1999. Tomato and salinity. *Scientia Horticulturae*. 78: 83-125.

- DELL' AMICO, J. y M. PARRA. 2005. Efectos del estrés por NaCl en el contenido de cloruros, el potencial osmótico real y el crecimiento de dos cultivares de tomate cubanos. *Cultivos Tropicales*. 26 (2): 39-44.
- FRARY, A., D. GOL, D. KELES, B. OKMEN, H. PINAR, H. SIGVA, A. YEMENICIOGLU and S. DOGANLAR. 2010. Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology*. 10:58.
- GIANNOPOLITIS, C. and S. RIES. 1977. Superoxide dismutase occurrence in higher plants. *Plant Physiology*. 59: 309-314.
- GOLDHAMER, D. and E. FERERES. 2001. Irrigation scheduling protocols using continuously recorded trunk diameter measurements. *Irrigation Science*. 20:115-125.
- GOYKOVIC, V. y G. SAAVEDRA. 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *IDESIA*. 25 (3): 47-58.
- HAJER, A., A. MALIBARI, H. AL-ZAHRANI and O. ALMAGHRABI. 2006. Responses of three tomato cultivars to sea water salinity 1. Effect of salinity on the seedling growth. *African Journal of Biotechnology* 5: 855-861.
- HARINASUT, P., D. POONSOPA, K. ROENGMONGKOL and R. CHAROENSATAPORN. 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in Mulberry cultivar. *ScienceAsia*. 29:109-113.
- IMLAY, J. 2003. Pathways of oxidative damage. *Annual Review of Microbiology*. 57: 395-418.
- LEIDI, E. y J. PARDO. 2002. [On - line]. Tolerancia de los Cultivos al Estrés Salino: Qué Hay de Nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias agrarias*. Disponible en WWW: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Investigacion/revista/rev2/5.htm>. Leído: 01 de octubre de 2009.
- LI, Y. and C. STANGHELLINI. 2001. Analysis of the effect of EC and potential transpiration on vegetative growth of tomato. *Scientia Horticulturae*. 89: 9-21.
- MAAS, E. and G. HOFFMANN. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division. ASCE*. 103: 115-134.
- MAAS, E. 1990. Crop salt tolerance. *Agricultural Salinity Assessment and Management* K.K.Tanji (ed.), ASCE Manuals and Reports on Engineering Practice. 71: 262-303.

MAROTO, J. 1995. Horticultura Herbácea Especial. Ed. Mundi Prens (4^a ed.). Madrid, España. 611p.

MARTÍNEZ, J., J. LEDENT, M. BAJJI, J. KINET and S. LUTTS. 2003. Effect of water stress on growth, Na⁺ and K⁺ accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplex halimus* L. *Plant Growth Regulation*. 41: 63-73.

MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 7: 405- 410.

MITTOVA, V., M. TAL, M. VOLOKITA and M. GUY. 2002. Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. *Physiol Plant*. 115: 393-400.

MORALES, D., P. RODRÍGUEZ, M. SÁNCHEZ-BLANCO y A. TORRECILLAS. 2002. Respuesta a la salinidad de tres variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Cultivos Tropicales*. 23 (3): 71-76.

MORALES, D., P. RODRÍGUEZ, J. DELL'AMICO, M. SÁNCHEZ-BLANCO y A. TORRECILLAS. 2003. Efecto de la salinidad en la conductividad hidráulica de las raíces y las relaciones hídricas en hojas de dos especies de tomate (*L. esculentum* y *L. chessmanii*). *Cultivos Tropicales*. 24(1): 41-45.

MUELLER, L., S. TANKSLEY, J. GIOVANNONI, J. VAN ECK, S. STACK, D. CHOI, B. KIM, M. CHEN, Z. CHENG, C. LI, H. LING, Y. XUE, G. SEYMOUR, G. BISHOP, G. BRYAN, R. SHARMA, J. KHURANA, A. TYAGI; D. CHATTOPADHYAY, N. SINGH, W. STIEKEMA, P. LINDHOUT, T. JESSE, R. LANKHORST, M. BOUZAYEN, D. SHIBATA, S. TABATA, A. GRANELL, M. BOTELLA, G. GIULIANO, L. FRUSCIANTE, M. CAUSSE and D. ZAMIR. 2005. The tomato sequencing project, the first cornerstone of the international Solanaceae project (SOL). *Comparative and Functional Genomics*. 6:153-158.

MUNNS, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25: 239-250.

NAJLA, S., G. VERCAMBRE, L. PAGÈS, D. GRASSELLY, H. GAUTIER and M. GÉNARD. 2008. Effect of Salinity on Tomato Plant Architecture. *Acta Horticultural*. 801: 1183-1190.

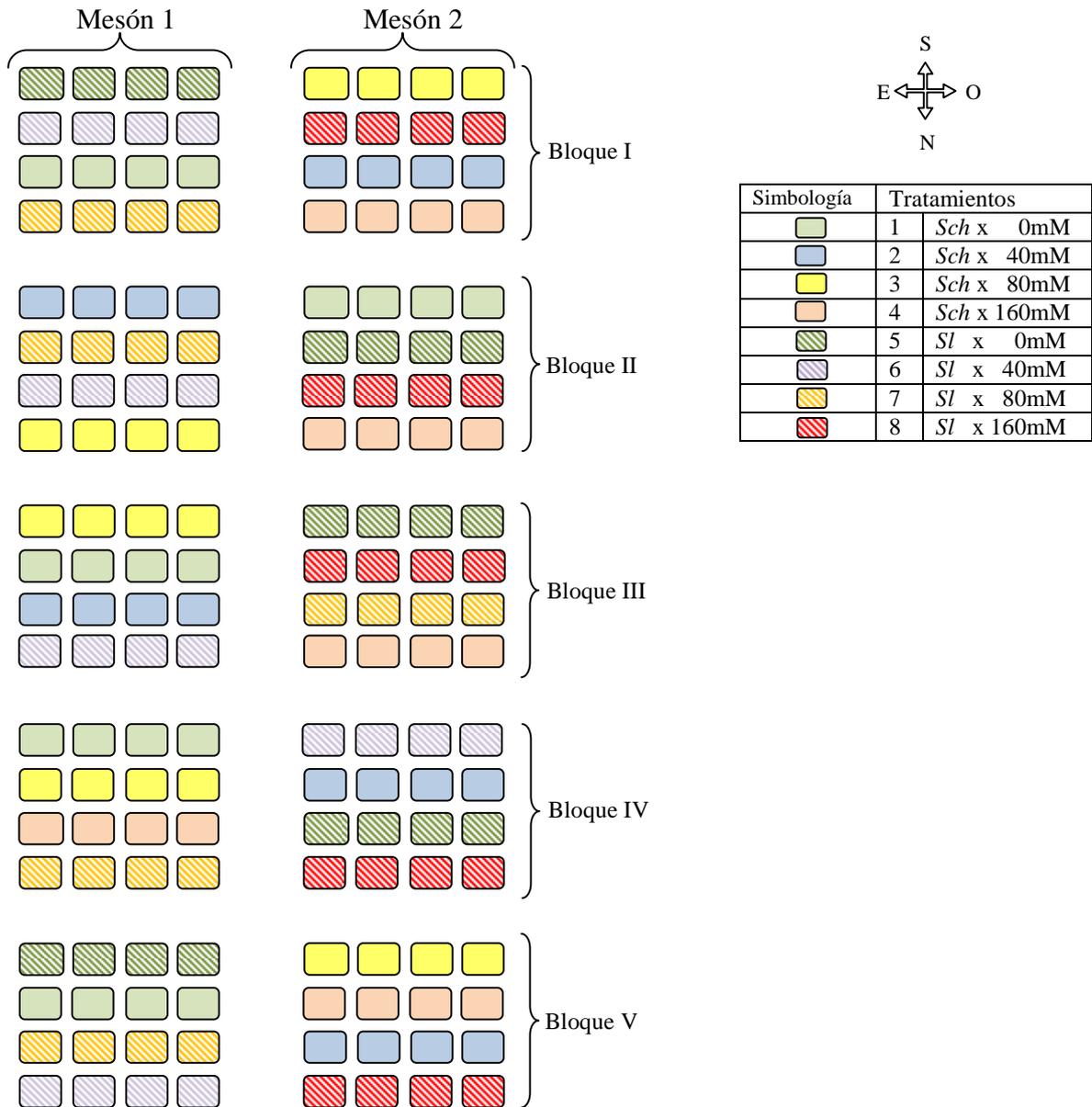
- NAJLA, S., G. VERCAMBRE, L. PAGÈS, D. GRASSELLY, H. GAUTIER and M. GÉNARD. 2009. Tomato plant architecture as affected by salinity: Descriptive analysis and integration in a 3-D simulation model. *Botany*. 87 (10): 893-904.
- NAKANO, Y. and K. ASADA. 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867–880.
- NOCTOR, G. and C. FOYER. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249–279.
- NUEZ, F. 1995. *El Cultivo del Tomate*. Ed. Mundi-Prensa . España. 793p.
- PARIDA, A. and B. JHA. 2010. Antioxidative Defense Potential to Salinity in the Euhalophyte *Salicornia brachiata*. *J. Plant Growth Regul.* 29: 137-148.
- RAO, M., G. PALIYATH and D. ORMROD. 1996. Ultraviolet-B radiation and ozone-induced biochemical changes in the antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*. 110: 125–136.
- RAO, M., G. PALIYATH, D. ORMROD, D. MURR and C. WATKINS. 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes: salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂. *Plant Physiology*. 115: 137–149.
- ROMERO-ARANDA, R., O. JURADO and J. CUARTERO. 2006. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of Plant Physiology* 163: 1207-1342. Abstract.
- ROMERO-ARANDA, R., T. SORIA and J. CUARTERO. 2001. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*. 160: 265-272.
- TAPIA, G. 2002. (Resumen) Estudio de los procesos fotosintéticos del metabolismo de azúcares y la expresión génica durante la aclimatación a estrés salino y sequía en *Lycopersicon chilense*. Universidad de Talca. Disponible en WWW: http://dspace.otalca.cl/retrieve/9823/tapia_san+martin.pdf . Leído: 25 de septiembre de 2009.
- YOKAŞ, I., A. TUNA, B. BÜRÜN, H. ALTUNLU, F. ALTAN and C. KAYA. 2008. Responses of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt forms and rates. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 32: 319-329.

YU, Q., L. OSBORNE and Z. RENGEL. 1998. Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. *Journal of Plant Nutrition*. 21: 1427–1437.

ZHU, J. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*. 6 (2):66-71.

ANEXO

Anexo I: Tratamientos y su distribución en el invernadero.



Anexo II: Fertilizantes de la solución nutritiva utilizada para el riego de tomates.

Fertilizantes			
	Nombre	Fórmula química	Cantidad
Macronutrientes			----g----
	Nitrato de potasio	KNO_3	250,0
	Fosfato de amonio monobásico	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	57,5
	Sulfato de magnesio	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	318,0
	Fosfato diácido de potasio	KH_2PO_4	86,4
	Nitrato de calcio	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times \text{H}_2\text{O}$	590,0
Micronutrientes			---mg---
	Cloruro de potasio	KCl	693,75
	Sulfato de manganeso	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	75,50
	Ácido bórico	H_3BO_3	309,00
	Sulfato de zinc	$\text{ZnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	143,50
	Sulfato de cobre	$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	31,00
	Molibdato de amonio	$(\text{NH}_4)_5\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$	15,00
	Quelatos de Fe		935,00

APÉNDICE

ANOVA	Parámetros crecimiento vegetativo						
	PFT	PST	TCR	AF	NH	L	D
Genotipo	***	***	***	***	***	***	***
Concent. salina	***	***	***	**	***	***	***
Genotipo x Conc. Salina	***	***	*	ns	ns	***	**

Apéndice I: Resultados ANOVA de Parámetros de crecimiento vegetativo en dos genotipos de tomate (*S. lycopersicum* y *S. chilense*) bajo cuatro concentraciones salinas.

PFT: peso fresco total de la planta, PST: peso seco total de la planta, TCR: tasa media de crecimiento relativo, AF: área foliar, NH: número de hojas, L: longitud del tallo, D: diámetro del tallo. Los valores representan la media \pm error. Niveles de significancia (*, **, *** $p \leq 0,05$; 0,01; 0,001) de los factores y sus interacciones.

Apéndice II: Resultados ANOVA de Parámetros hídricos en dos genotipos de tomate (*S. lycopersicum* y *S. chilense*) bajo cuatro concentraciones salinas.

ANOVA	Parámetros hídricos					
	Ψ_w	Ψ_x	Ψ_s	CRA	CAPF	CAPS
Genotipo	ns	ns	ns	ns	**	***
Concent. salina	ns	ns	***	ns	ns	*
Genotipo x Conc. Salina	ns	ns	ns	ns	ns	*

Ψ_w : potencial hídrico foliar, Ψ_x : potencial xilemático, Ψ_s : potencial osmótico, CRA: contenido relativo de agua, CAPF: contenido de agua- base peso fresco, CAPS: contenido de agua – base peso seco. Los valores representan la media \pm error. Niveles de significancia (*, **, *** $p \leq 0,05$; 0,01; 0,001) de los factores y sus interacciones

Apéndice III: Resultados del ANOVA de la Actividad enzimática en dos genotipos de tomate (*S. lycopersicum* y *S. chilense*) bajo cuatro concentraciones salinas.

ANOVA	Actividad Enzimática				
	APX	CAT	DR	GR	SOD
Genotipos	***	*	ns	***	***
Concent. salinas	ns	ns	ns	ns	***
Genotipos x Conc. Salinas	ns	ns	ns	ns	***

AP: ascorbato peroxidasa; CAT: catalasa; DR: dehidroascorbato reductasa y GR: glutatión reductasa, SOD: superóxido dismutasa. Los valores representan la media \pm error. Niveles de significancia (*, **, *** $p \leq 0,05$; 0,01; 0,001) de los factores y sus interacciones.