

Diferencias entre los clones *Populus deltoides* 'Australiano 129/60' y *Populus deltoides* 'Hovyú INTA' en la exclusión del sodio ante estrés salino

Sebastián Martín Bonnin¹, Javier Alejandro Alvarez²,
Laura Inés Faustino², Corina Graciano³

Palabras claves: salinidad, álamos, aclimatación.

Introducción

La forestación de pastizales en ambientes con napa cercana a la superficie y escaso drenaje, puede originar procesos de salinización a partir de los cambios que genera en el balance hídrico y la exclusión selectiva de sales que se acumulan en torno a las raíces (Jobbágy & Jackson 2004). Los clones de álamo (*Populus* spp.) disponibles para la forestación en el Delta del Río Paraná tienen diferencias importantes en las respuestas a estreses abióticos, mecanismos de aclimatación y tasas de crecimiento. La variabilidad de respuestas es posible debido a la amplia diversidad genética que presentan los álamos en general, y a las diferencias intraespecíficas reportadas para los materiales genéticos de la región en particular (Alvarez et al. 2020). Teniendo en cuenta que los procesos de salinización pueden afectar las plantaciones de la cuenca, es importante determinar qué diferencias es posible encontrar en la respuesta a la salinidad. Las principales estrategias de aclimatación asociadas a la tolerancia a estrés salino son la exclusión y/o compartimentalización del sodio (Chen & Polle 2010), que evita que se afecte la actividad metabólica en las hojas y pueda mantenerse la funcionalidad de las células. Esto fue ampliamente estudiado en *P. euphratica*, una de las especies de álamo más tolerantes a salinidad (Chen et al. 2003). Sin embargo, son escasos los reportes de este tipo de mecanismo en *P. deltoides* en general, y nulos respecto de los clones disponibles para el Delta del Río Paraná. En estudios previos en condiciones controladas hemos determinado que los clones *P. deltoides* 'Australiano 129/60' (A129) y *P. deltoides* 'Hovyú INTA' (HOV) son morfo-fisiológicamente muy diferentes bajo salinidad (Bonnin et al. 2019). Por lo tanto, esto podría ser un indicio de diferencias clonales respecto de la exclusión de sales. El objetivo del presente trabajo es

analizar la respuesta de ambos clones ante aumentos en los niveles de salinidad. La hipótesis es que el clon *P. deltoides* 'Australiano 129/60' expuesto a salinidad excluye sales y modifica menos la morfología y la fisiología que el clon *P. deltoides* 'Hovyú INTA', el cual absorbe las sales, y por tanto presenta mayor daño foliar.

Materiales y métodos

En la EEA Delta del Paraná (INTA) se instalaron 9 parcelas de 9 x 9 plantas, con un distanciamiento de 4 x 4 metros, de los clones A129 y HOV (3 parcelas monoclonales de cada clon y 3 parcelas mixtas) que fueron aleatorizadas en el campo. En las parcelas mixtas se intercalaron uno a uno los individuos de cada clon. Todas las mediciones se realizaron a los cuatro años de instalado el ensayo. Se realizó un muestreo de suelo superficial y se instaló un freatómetro en el centro de cada parcela. Se determinó la conductividad eléctrica tanto del suelo (CESuelo) como de la napa freática (CENapa). Para la CESuelo, se tomaron muestras en toda la superficie del sitio. Cada muestra fue formada por 4 submuestras obtenidas en los 4 vértices de cada parcela. A partir de los valores en cada vértice, se estimaron los datos del gradiente de CESuelo entre plantas mediante interpolación de los mismos, tanto a lo ancho como a lo largo de cada parcela. De este modo se obtuvo un dato estimado de CESuelo planta. La CENapa se midió mensualmente y se calculó su valor medio para la temporada de crecimiento 2020-2021. Se seleccionaron 5 plantas de cada clon en cada parcela para analizar el crecimiento y la respuesta a la salinidad. Fueron seleccionadas con 2 criterios: que estén distribuidas en todo el ensayo y que estén rodeadas por árboles de igual edad (no se hayan registrado fallas alrededor). Se midió la altura total (H, m) y el DAP (cm) de cada planta y se estimó el volumen individual a partir del índice volumétrico $IV = DAP^2 \times$

1 INTA Delta del Paraná. Contacto: bonnin.sebastian@inta.gob.ar.

2 INTA Delta del Paraná.

3 INFIVE (CONICET-UNLP).

H. Además, se calculó el rendimiento volumétrico por superficie ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) de las plantas a los 4 años de edad (Rend4años). En esas mismas plantas se determinó la concentración de sodio ($[\text{Na}^+]$) en raíces, ramas y hojas, expresada en mg g^{-1} y $\mu\text{mol g}^{-1}$. Las raíces fueron obtenidas en 2 sectores, a ambos lados de cada planta, a una distancia de 50 cm del fuste principal y no más de 30 cm de profundidad. Se incluyeron raíces vivas con un grosor máximo de 1 cm. Las muestras de ramas fueron obtenidas a partir de 2 ramas principales, una de la mitad inferior y otra de la mitad superior de la copa. Las hojas fueron recolectadas sobre las mismas ramas muestreadas. Todas las muestras fueron secadas en estufa a 60°C hasta peso constante. La $[\text{Na}^+]$ se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Análisis estadístico: para testear diferencias significativas en la $[\text{Na}^+]$ entre clones para cada compartimento se realizaron análisis de varianza empleando modelos mixtos con clon como variable fija y parcela como variable aleatoria. Las diferencias entre las medias se pusieron a prueba con el test LSD de Fisher ($p < 0,05$). Por otro lado, para ambos clones se realizaron análisis de regresión lineal entre el Rend4años y la CEnapa media; entre la $[\text{Na}^+]$ en raíces, ramas y hojas y la CEsuelo; entre la $[\text{Na}^+]$ en raíces y la $[\text{Na}^+]$ en ramas y hojas; y entre la $[\text{Na}^+]$ en ramas y la $[\text{Na}^+]$ en hojas. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas con un $p < 0,05$.

Resultados

La CEnapa media a lo largo de la temporada de crecimiento 2020-2021 varió entre parcelas en un rango entre 2 y 10 dS m^{-1} . La CEsuelo varió entre 0,37 y $1,35 \text{ dS m}^{-1}$ para las plantas de A129, y entre 0,37 y $1,25 \text{ dS m}^{-1}$ para las plantas de HOV. Es decir, ambos clones crecieron en un rango similar de sales en el suelo, lo que permitió que la comparación entre clones respecto de las concentraciones de sodio y otros cationes no sea alterada por las diferencias ambientales.

Los clones no tuvieron diferencias al analizar la $[\text{Na}^+]$ en raíces: el rango de variación fue de 0,01 a $118 \mu\text{mol g}^{-1}$ en el clon A129 y de 0,01 a $159 \mu\text{mol g}^{-1}$ en HOV ($F = 1,05 - p = 0,31$). Si se tienen en cuenta solo los datos obtenidos en las 3 parcelas mixtas, donde A129 y HOV compartieron condiciones de crecimiento, esta tendencia se mantiene (parcelas mixtas: $F = 0,79 - p = 0,38$). Las diferencias clonales se observaron en el análisis de las concentraciones de sodio en los compartimentos aéreos. Mientras A129 tuvo en promedio una $[\text{Na}^+]$ en ramas de $0,6 \mu\text{mol g}^{-1}$, HOV tuvo

una media de $17,4 \mu\text{mol g}^{-1}$ ($F = 27,92 - p < 0,001$). Además, se registraron grandes diferencias entre los genotipos respecto de la $[\text{Na}^+]$ en las hojas. Los valores observados en A129 variaron entre 3 y $46 \mu\text{mol g}^{-1}$, y los obtenidos en las hojas de HOV entre 5 y $292 \mu\text{mol g}^{-1}$ (media $[\text{Na}^+]$ hojas ($\mu\text{mol g}^{-1}$): A129 = 10,0; HOV = 72,0; $F = 22,98 - p < 0,0001$). También se verificó que este comportamiento diferencial se mantuvo al analizar solo las parcelas mixtas (parcelas mixtas | media $[\text{Na}^+]$ ramas ($\mu\text{mol g}^{-1}$): A129 = 1,05; HOV = 15,0; $F = 13,57 - p = 0,001$ | media $[\text{Na}^+]$ hojas ($\mu\text{mol g}^{-1}$): A129 = 12,7; HOV = 69,0; $F = 10,31 - p = 0,004$). Respecto a las regresiones ajustadas, se observó que la CEnapa media afectó de forma diferencial a los clones A129 y HOV: el Rend4años de HOV se redujo significativamente ante los aumentos en la CEnapa media. El clon A129, en cambio, mantuvo un rendimiento estable entre las parcelas más y menos salinizadas (HOV: Rend4años ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) = $73,69 - 7,23 * \text{CEnapa}$ (dS m^{-1}), $R^2 = 0,68 - p = 0,04$ | A129: $p = 0,16$). Por otro lado, en ambos clones la concentración de sodio en las raíces aumentó a medida que la CEsuelo fue mayor (Figura 1a). Sin embargo, A129 no tuvo un aumento significativo de la $[\text{Na}^+]$ en ramas y hojas con los aumentos en la CEsuelo. En cambio, HOV sufrió un claro aumento de la $[\text{Na}^+]$ en ambos órganos aéreos al incrementarse la CEsuelo. En primera instancia, acumuló más Na^+ en ramas ante mayores niveles de CEsuelo (Figura 1b), pero esta $[\text{Na}^+]$ fue igual o incluso menor que la registrada en raíces. En segundo término, se observó que la $[\text{Na}^+]$ en las hojas fue marcadamente mayor, superando incluso la registrada en raíces (Figura 1c).

Las diferencias entre A129 y HOV respecto de las estrategias de acumulación y/o exclusión del Na^+ , se volvieron a verificar al relacionar las concentraciones entre compartimentos. Mientras que la $[\text{Na}^+]$ en los compartimentos aéreos de A129 no tuvo relación con la registrada en raíces, en HOV se identificó un compromiso entre las concentraciones de los distintos compartimentos (Figura 2).

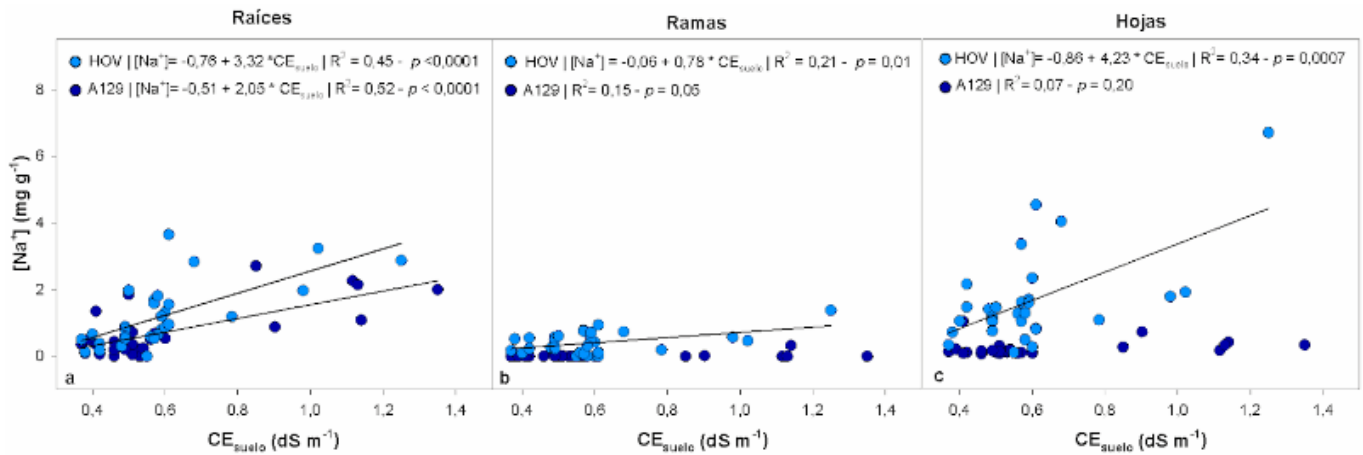


Figura 1. Regresiones lineales entre las concentraciones de Na^+ ($mg g^{-1}$) en raíces (a), ramas (b) y hojas (c) de cada clon y la CE_{suelo} ($dS m^{-1}$). Se reporta el R^2 , el valor p y, en caso de ser significativo ($p < 0,05$), el modelo de regresión para cada clon.

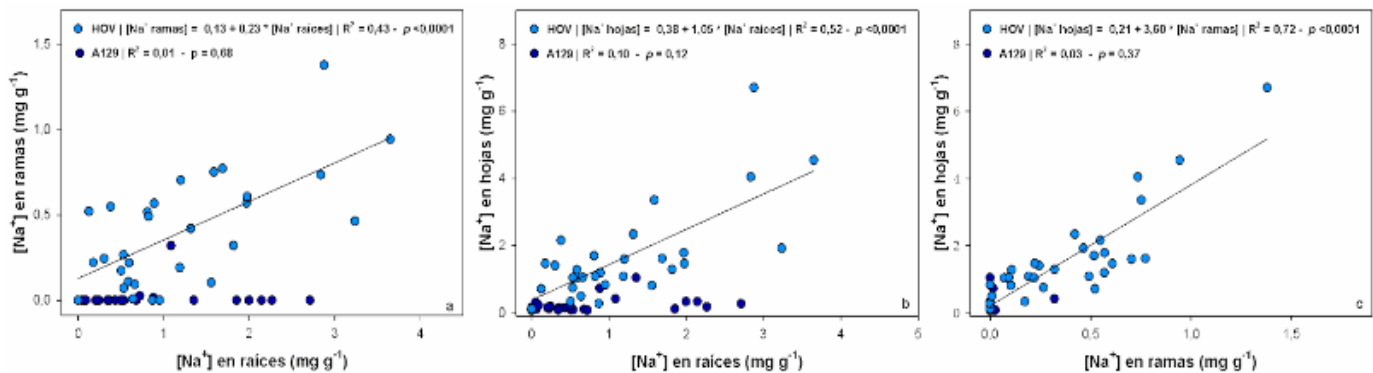


Figura 2. Regresiones lineales entre las concentraciones de Na^+ ($mg g^{-1}$) en raíces y ramas (a); las concentraciones de Na^+ ($mg g^{-1}$) en raíces y hojas (b); y las concentraciones de Na^+ ($mg g^{-1}$) en ramas y hojas (c) de cada clon. Se reporta el R^2 , el valor p y, en caso de ser significativo ($p < 0,05$), el modelo de regresión para cada clon.

Discusión y conclusiones

La salinidad resulta una limitante para el crecimiento de los álamos, pero debido a la amplia diversidad genética intra-específica en el género, es posible encontrar diferencias entre clones de una misma especie. La entrada de Na^+ a las raíces ocurre tanto en A129 como en HOV y se observa en que las concentraciones de Na^+ en raíces son similares entre clones. Sin embargo, las sustanciales diferencias encontradas en las concentraciones de Na^+ en los tejidos aéreos, evidencian que A129 posee algún mecanismo capaz de impedir que buena parte llegue a las ramas y hojas. Es probable que excluya los cationes de Na^+ hacia afuera del xilema (Chen & Polle 2010; Foster & Miklavcic 2015), sacándolos del flujo transpiratorio que llega al tejido foliar. Este mecanismo resulta clave, ya que la cantidad transportada hacia las hojas dependerá de la concentración y el flujo transpiratorio (Sharmin

et al. 2021). La compartimentalización y/o recirculación del Na^+ para evitar que se acumule en órganos claves, ha sido destacada como una estrategia fundamental en la tolerancia a salinidad en diversas especies (Zalesny et al. 2008; Yang et al. 2019; Godfrey et al. 2019; Li et al. 2017). Además, fue descrita en una de las especies de álamo más tolerantes a sales como es *P. euphratica*, en contraste con otras especies más sensibles (Chen et al. 2002). Si bien *P. deltoides* no es una especie comparable en tolerancia a salinidad con *P. euphratica*, el mecanismo detrás de las diferencias entre A129 y HOV podría ser similar al descrito anteriormente. Al respecto, existen reportes sobre especies no tolerantes de álamos que igualmente poseen genotipos con diferentes niveles de respuesta al estrés (Sixto et al. 2005). Esto permitiría que, dentro de los límites propios de la especie, haya diferencias en las estrategias de aclimatación. Si A129 tiene la capaci-

dad de impedir que buena parte del Na⁺ forme parte del flujo transpiratorio que llega a la copa, es probable que sea por una vía equivalente, mediante exclusión y acumulación en las raíces. Esta estrategia permitiría que A129 sostenga el crecimiento, aunque aumenten los niveles de salinidad. Por su parte, HOV tiene concentraciones incluso mayores en hojas que en raíces, dejando en evidencia que no posee dicha estrategia, o que al menos no es eficiente para enfrentar los niveles de salinidad encontrados en el sitio. Este constituye el primer reporte de estrategias diferenciales de exclusión del Na⁺ para clones comerciales de álamos de Argentina y aporta información valiosa para el abordaje de la salinidad en plantaciones forestales.

Bibliografía citada

- Alvarez J, Cortizo S, Gyenge J. 2020. Yield stability and phenotypic plasticity of *Populus* spp. clones growing in environmental gradients: I-yield stability under field conditions. *Forest Ecology and Management*, 463(117995), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.117995>
- Bonnin, S., Faustino, L., Alvarez, J., Graciano, C. (2019). Morphological and physiological variability between poplar clones: relationship with tolerance to soil water deficit and salinity. International Conference “adapting forest ecosystems and wood products to biotic and abiotic stress”, San Carlos de Bariloche, Argentina.
- Chen S, Li J, Fritz E, Wang S, Hüttermann A. 2002. Sodium and chloride distribution in roots and transport in three poplar genotypes under increasing NaCl stress. *Forest Ecology and Management*, 168, 217–230. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00743-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00743-5)
- Chen S, Li J, Wang S, Fritz E, Hüttermann A, Altman A. 2003. Effects of NaCl on shoot growth, transpiration, ion compartmentation, and transport in regenerated plants of *Populus euphratica* and *Populus tomentosa*. *Canadian Journal of Forest Research*, 33(6), 967–975. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/x03-066>
- Godfrey J, Ferguson L, Sanden B, Tixier A, Sperling O, Grattan S, Zwieniecki M. 2019. Sodium interception by xylem parenchyma and chloride recirculation in phloem may augment exclusion in the salt tolerant *Pistacia* genus: Context for salinity studies on tree crops. *Tree Physiology*, 39(8), 1484–1498. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpz054>
- Jobbágy E, Jackson R. 2004. Groundwater use and salinization with grassland afforestation. *Global Change Biology*, 10(8), 1299–1312. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00806.x>
- Li Z, Peng D, Zhang X, Peng Y, Chen M, Ma X, Huang L, Yan Y. 2017. Na⁺ induces the tolerance to water stress in white clover associated with osmotic adjustment and aquaporins-mediated water transport and balance in root and leaf. *Environmental and Experimental Botany*, 144, 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.09.011>
- Sharmin S, Lipka U, Polle A, Eckert C. 2021. The influence of transpiration on foliar accumulation of salt and nutrients under salinity in poplar (*Populus* × *canescens*). *PLoS ONE*, 16(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253228>
- Sixto H, Grau J, Alba N, Alía R. 2005. Response to sodium chloride in different species and clones of genus *Populus* L. *Forestry*, 78(1), 93–104. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpi009>
- Yang H, Yu Y, Wang Y, Xu X, Han Z. 2019. Distribution and re-transportation of sodium in three *Malus* species with different salt tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 136, 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.022>
- Zalesny J, Zalesny R, Wiese A, Sexton B, Hall R. 2008. Sodium and chloride accumulation in leaf, woody, and root tissue of *Populus* after irrigation with landfill leachate. *Environmental Pollution*, 155(1), 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.032>