



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

Respuesta bioquímica a estrés salino e hídrico de *Solanum
lycopersicum* var. *cerasiforme* y su pariente silvestre *S.
pimpinellifolium*, en interacción con microbiota de suelo
local

Trabajo Fin de Grado

Grado en Biotecnología

AUTOR/A: Ortega González, Nuria

Tutor/a: Ruiz González, Mario Javier

Cotutor/a: Vicente Meana, Óscar

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

RESUMEN

Los efectos del cambio climático son cada vez más patentes y drásticos en todas las regiones del mundo. Su impacto reduce el rendimiento de los cultivos poniendo en riesgo la seguridad alimentaria y la economía de muchos agricultores. Es crítico desarrollar alternativas sostenibles para crear resiliencia frente a los efectos del cambio climático.

Entre estas alternativas, cada vez se valora más el uso de microorganismos como bioestimulantes que mejoran las respuestas de las plantas a condiciones de estrés abiótico. El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un cultivo de relevancia mundial con amplia diversidad geográfica, cultivado y consumido en un gran rango de países más allá de su origen andino.

Como todos los cultivos, está amenazado por las condiciones climáticas cambiantes (p.e. salinización de suelos y sequías). Así, caracterizar la tolerancia al estrés abiótico del material fitogenético, es un paso previo al desarrollo de variedades más resistentes. Dentro del grupo *Lycopersicon*, dos especies tienen gran importancia para la mejora de *S. lycopersicum*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* y *S. pimpinellifolium*, pariente silvestre de la anterior.

En este trabajo hemos evaluado la tolerancia al estrés hídrico y salino en una accesión de *cerasiforme* y dos de *S. pimpinellifolium*. Además, hemos explorado el resultado de la interacción de microorganismos locales del suelo (Parque Natural de L'Albufera, Valencia) sobre los parámetros agrobiomorfológicos y bioquímicos de las plantas (pigmentos fotosintéticos, osmolitos y concentración de iones).

PALABRAS CLAVE

Estrés abiótico | Interacciones bióticas | Transporte de iones | Microorganismos | Osmolitos | Pigmentos fotosintéticos | *Solanum* sp.

ABSTRACT

The effects of climate change are increasingly evident and drastic in all regions of the world. Its impact reduces crop yields, putting the food security and economy of many farmers at risk. It is critical to develop sustainable alternatives to create resilience against the effects of climate change.

Among these alternatives, the use of microorganisms as biostimulants that improve plant responses to abiotic stress conditions is increasingly valued. The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a crop of global relevance with wide geographical diversity, cultivated and consumed in a wide range of countries beyond its Andean origin. Like all crops, it is threatened by changing climate conditions (e.g., soil salinization and droughts). Thus, characterizing the tolerance to abiotic stress of phylogenetic material is a prior step to the development of more resistant varieties. Within the Lycopersicon group, two species are of great importance for the improvement of *S. lycopersicum*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* and *S. pimpinellifolium*, a wild relative of the former.

In this work we have evaluated the tolerance to water and saline stress in one accession of *cerasiforme* and two of *S. pimpinellifolium*. Furthermore, we have explored the result of the interaction of local soil microorganisms (La Albufera Natural Park, Valencia) on the agrobiomorphological and biochemical parameters of the plants (photosynthetic pigments, osmolytes and ion concentration).

KEYWORDS

Abiotic stress | Biotic interactions | Ion transport | Microorganisms | Osmolytes | Photosynthetic pigments | *Solanum* sp.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Mario X. Ruiz-González, así como a todos mis compañeros de laboratorio de la sección de estrés abiótico del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), por darme la oportunidad de realizar este Trabajo de Fin de Grado y hacer toda esta labor más amena. Agradezco especialmente al doctorando Adrián Sapiña Solano, por introducirme de lleno en la dinámica del laboratorio y quitarme el miedo que supone empezar de cero en un sitio nuevo.

De manera más general, también me gustaría agradecer a todas las personas, ya sea amigos, familia y profesores, que he conocido en esta época y han formado parte de mi vida durante estos cuatro años; disfrutando en los buenos momentos y, sobre todo, soportándome y apoyándome en los malos. En concreto, agradecer a mis compañeros de carrera Lara, Joan y Jorge; y a mi compañero de piso Pablo; por haber vivido esta experiencia a mi lado. A pesar de los ocasionales malos tragos que nos ha dado la carrera, me alegro de haber hecho esas sesiones de estudio en la biblioteca que parecían no tener fin con vosotros, para más tarde pasar las noches en casa de Raquel o hablando de cualquier cosa en el sofá antes de dormir y notar que hay vida más allá de los estudios. Espero que en esta vida vosotros sigáis formando parte de ella.

Finalmente, a mis padres, por haberme dejado experimentar esta época universitaria fuera de casa con todo lo que esto conlleva y apoyado en todo momento. Nada de esto habría sido posible sin vuestro apoyo incondicional.

INDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Efecto del estrés abiótico en las plantas	1
1.2.	Componentes principales del estrés abiótico	1
1.2.1.	El estrés salino	1
1.2.2.	Mecanismos de defensa ante el estrés salino	2
1.2.3.	El estrés hídrico	2
1.2.4.	Mecanismos de defensa ante el estrés hídrico.....	3
1.3.	Uso de microorganismos como bioestimulantes	3
1.4.	Retos en la agricultura. El caso de la Comunitat Valenciana.....	4
1.5.	Sistema de estudio	5
1.5.1.	El caso de L'Albufera	5
1.5.2.	El tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>). Especies de estudio.....	6
2.	OBJETIVOS.....	6
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	7
3.1.	Cultivo de las plantas	7
3.2.	Análisis bioquímico	8
3.2.1.	Pigmentos fotosintéticos.....	8
3.2.2.	Osmolitos.....	8
3.2.3.	Marcador de estrés oxidativo: MDA.....	9
3.2.4.	Contenido en iones	9
3.2.5.	Análisis estadístico.....	9
4.	RESULTADOS	10
4.1.	Efectos principales de los factores sobre los parámetros bioquímicos	10
4.1.1.	Pigmentos fotosintéticos.....	10
4.1.2.	Osmolitos.....	11
4.1.3.	Contenido en iones	12
4.2.	Efecto de la interacción microbiota del suelo y tratamiento para cada variedad	15
4.2.1.	Pigmentos fotosintéticos.....	15
4.2.2.	Osmolitos.....	16
4.2.3.	Contenido en iones	17
5.	DISCUSIÓN	19
5.1.	Análisis de efecto general.....	19
5.1.1.	Efecto del suelo sobre la especie.....	20
5.1.2.	Efecto del tratamiento sobre la especie	21
5.1.3.	Efecto del suelo sobre el tratamiento	21
5.2.	Análisis bioquímico.....	22
5.2.1.	Pigmentos fotosintéticos.....	22
5.2.2.	Osmolitos.....	22

5.2.3. Contenido en iones	23
6. CONCLUSIONES.....	24
7. BIBLIOGRAFÍA	26

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Efecto del estrés abiótico en las plantas

Las plantas, al igual que todos los organismos, están sometidos a estreses abióticos y bióticos, los cuales son responsables de distintos eventos evolutivos tales como la selección, deriva, competencia, depredación, mutualismo, etc., que pueden conllevar la supervivencia o la extinción de diferentes especies (Ruiz-González & Vicente, 2022).

Los principales estreses que sufren las plantas se clasifican en: abióticos, provocados por la interacción de la planta con los componentes inertes de su medio; y bióticos, consecuencia de la interacción de la planta con otros seres vivos. Ambos tipos pueden ser factores limitantes de la producción en cultivos y poblaciones naturales. Además, cada vez su impacto es más relevante a consecuencia del cambio climático, ya que este último incentiva la aparición de eventos extremos como inundaciones, sequías y olas de calor, entre otros (Zaidi *et al.*, 2014).

Según Zaidi *et al.* (2014), la sequía, inundaciones y salinidad del suelo son la mayor causa de pérdida de cultivos a lo largo del mundo. Afectan tanto a la productividad como al crecimiento de las plantas. Concretamente, el estrés salino tiene efectos muy drásticos en la agricultura.

1.2. Componentes principales del estrés abiótico

1.2.1. El estrés salino

Munns & Tester (2008) definen la salinidad como una condición del suelo caracterizada por una concentración de sales solubles (ECe) igual o superior a 4 dS/m, la cual genera una presión osmótica de aproximadamente 0,2 MPa. La sal soluble más común es el cloruro de sodio (NaCl), viéndose la mayoría de los cultivos afectados cuando su concentración sobrepasa el valor de 40 mM. Los iones Na^+ y Cl^- son tóxicos en altas concentraciones y son los responsables de las respuestas al estrés salino que se pueden observar.

El ion Na^+ entra en las raíces de dos maneras: de manera pasiva a través de canales iónicos no selectivos independientes o poco dependientes de voltaje o mediante otros transportadores, ya sean específicos de ion o de la familia High Affinity K^+ Transporter; abreviado como KHT (Assaha *et al.*, 2017).

Según Tester & Davenport (2003), la toxicidad metabólica de Na^+ se debe principalmente a su capacidad de competir con el ion K^+ por sitios de unión específicos para varias funciones celulares esenciales, induciendo la senescencia en zonas jóvenes e inhibiendo funciones tales como la fotosíntesis y otras actividades enzimáticas. De manera pasiva, también interfiere en la absorción de otros nutrientes debido a la ocupación de Na^+ en los canales de transporte, que a su vez provoca la interrupción del crecimiento de las raíces por un aumento de la presión osmótica, lo que impide la movilización de otros iones o nutrientes (Ruiz-González & Vicente, 2022).

El ion Cl^- se considera un micronutriente en plantas superiores, así como un macronutriente beneficioso con un papel importante en procesos tales como la fotosíntesis, osmorregulación, regulación de la turgencia y elongación del tallo. Se transporta junto con el agua hacia la raíz y a partir de ahí se mueve siguiendo su gradiente químico a través de los plasmodesmos de las células vegetales hasta llegar al xilema de la raíz. Es aquí donde el xilema se carga tanto de Cl^- como de

otros aniones y sustancias de interés y es arrastrado hacia los órganos aéreos en la corriente de transpiración. La carga y descarga del xilema es, por lo tanto, el factor limitante que regula la concentración de Cl^- en la planta (Geilfus, 2018). A pesar de que el mecanismo concreto de la toxicidad del Cl^- se ha estudiado muy poco, se tiene la hipótesis de que elevados niveles de Cl^- impiden el crecimiento y causan toxicidad debido a una competencia tanto con los nitratos como con los fosfatos. El exceso de Cl^- viene acompañado con una disminución en la absorción de los elementos P y N, provocando una absorción pasiva en las raíces que rápidamente produce una acumulación en tejidos aéreos. Esta perturbación en la homeostasis del cloro en los cloroplastos obstaculiza el proceso de la fotosíntesis y da lugar a un aumento explosivo de especies tóxicas como las especies reactivas del oxígeno, a partir de ahora abreviadas como ROS (Geilfus, 2018).

1.2.2. Mecanismos de defensa ante el estrés salino

La respuesta de la planta al estrés salino ocurre en dos fases. La primera fase es a nivel osmótica y empieza inmediatamente después de que la concentración de sal en las raíces sobrepase el umbral propio de la especie (40 mM en la mayoría de las plantas), provocando una caída importante de la longitud del tallo debido al aumento de la presión osmótica externa. La segunda fase es específica del ion, y se debe a la acumulación del ion específico en las hojas, provocando su desecación. Para la mayoría de las plantas gramíneas, este ion es el Na^+ (Munns & Tester, 2008).

Muchas de las especies vegetales de un gran interés agroalimentario para el ser humano, como el arroz (*Oryza sativa*), el trigo (*Triticum* spp.) y la cebada (*Hordeum vulgare*) son particularmente sensibles a este tipo de estrés; aunque las plantas tienen un alto grado de tolerancia ante la salinidad debido a la variedad de mecanismos que presentan para retener los iones Na^+ y Cl^- (Munns & Tester, 2008).

Las plantas resisten al estrés salino por medio de tres mecanismos principales: mediante la exclusión de iones, la tolerancia osmótica y la tolerancia tisular (Ruiz-González & Vicente, 2022).

La primera estrategia consiste en el transporte de Na^+ y Cl^- a través de las raíces para evitar la acumulación excesiva causante de la toxicidad. Tester & Davenport (2014) identificaron varias familias de genes involucradas en este proceso tales como las correspondientes a KHT, Na^+/H^+ Salt Overly Sensitive Pathway (SOS) antiporte, Superóxido Dismutasa 2 (SOD_2) y ATPasas ENA Na^+ . Estos iones pueden ser almacenados en vacuolas o expulsados al suelo.

La tolerancia tisular se logra mediante diferentes bombas de protones o transportadores como los antiporte Na^+/H^+ NHX / nhaA o la pirofosfatasa vacuolar de H^+ ; o mediante la acumulación de solutos compatibles, entre los que se encuentran: trehalosa-6-fosfato sintasa (TPS), trehalosa-6-fosfato fosfatasa (TPP), manitol-1-fosfato deshidrogenasa (mt1D), L-myo-Inositol-1-fosfato sintasa (MIP), betaína aldehído deshidrogenasa (BADH), colina oxidasa/deshidrogenasa (codA/beta), $\Delta 1$ -pirrolina-5-carboxilato sintasa (P5CS) o myo-inositol O-metiltransferasa. (Tester & Davenport, 2014.)

La tolerancia osmótica se basa en la degradación de las ROS catalizado por enzimas antioxidantes como la ascorbato peroxidasa (APX), glutatión S-transferasa (GST), superóxido dismutasa monodeshidroascorbato reductasa (MDR) o catalasa. (Tester & Davenport, 2014).

Es importante resaltar que estos mecanismos no son mutuamente excluyentes y que las plantas pueden hacer uso de más de uno de éstos en función de las circunstancias e intensidad del estrés, debido a que la tolerancia hacia la salinidad es un carácter multigénico (Tester & Davenport, 2014).

1.2.3. El estrés hídrico

Cabe destacar que, además, este efecto se suele ver influenciado por el otro tipo de estrés abiótico: el **estrés hídrico**. Este último está principalmente provocado por eventos climáticos tales como las sequías, cuya gravedad y frecuencia han ido aumentando en los últimos años. El estrés

hídrico afecta al potencial químico entre la planta y el agua, de tal manera que interfiere con el funcionamiento habitual de las especies afectadas.

En una planta, el contenido en agua depende de varios factores tales como el potencial hídrico de las hojas, la resistencia de los estomas, la tasa de transpiración, la temperatura de las hojas y el efecto del dosel arbóreo (Farooq *et al.*, 2009).

Por tanto, el estrés hídrico es un estrés multidimensional que afecta a la planta en todos sus niveles de organización, desde los compartimentos celulares hasta los orgánulos o incluso a la planta en general. Éste es capaz de modificar características fisiológicas y morfológicas como el crecimiento de la planta, el peso fresco, el contenido del agua, la disponibilidad de nutrientes del suelo, las actividades químicas, los niveles de clorofila y la acumulación de compuestos químicos perjudiciales como el etileno o las ROS (Vurukonda *et al.*, 2016).

1.2.4. Mecanismos de defensa ante el estrés hídrico

Las plantas tienen un mecanismo complejo para tolerar el estrés hídrico, el cual implica a varios procesos fisiológicos y bioquímicos en todos los niveles de organización de la planta. Estos mecanismos también dependen de la etapa de desarrollo de la planta, de la severidad del estrés y de la propia especie afectada (Farooq *et al.*, 2009). Al igual que el estrés salino, el carácter de la tolerancia hacia la sequía es multigénico, por lo que las plantas pueden poseer y hacer uso de más de uno de estos mecanismos.

Estos mecanismos incluyen: aumento de la resistencia estomática para reducir la pérdida de agua, un mayor desarrollo del sistema radicular, la acumulación de osmolitos como la prolina, la eliminación de las ROS mediante sistemas enzimáticos (sistema Superóxido Dismutasa SOD) y no enzimáticos, el ajuste del contenido osmótico, y la síntesis de osmoprotectores y fitohormonas como el ácido 3-indolacético (IAA), giberelinas, etileno, ácido abscísico, ácido salicílico y citoquininas (Farooq *et al.*, 2009; Vurukonda *et al.*, 2016).

Otro componente esencial ante la respuesta al estrés hídrico se da a nivel de expresión génica, mediante la expresión de proteínas como las acuaporinas o proteínas involucradas en mecanismos de estrés, así como un aumento en la cantidad de canales receptores de mensajeros secundarios como el Ca^{2+} (Farooq *et al.*, 2009).

1.3. Uso de microorganismos como bioestimulantes

La necesidad de utilizar variedades resistentes ante los efectos del cambio climático, así como la creciente demanda de usos sostenibles del medio para tratar de reducir el uso de agroquímicos que aceleran estos efectos lleva a los expertos en el campo a la búsqueda de soluciones que no sean perjudiciales para el medio ambiente y evitar acelerar aún más los efectos provocados por el cambio climático. Entre estas alternativas, se encuentra el uso de microorganismos.

El uso de microorganismos como bioestimulantes no es algo novedoso, ya que sus efectos en la estimulación del crecimiento de la planta, absorción de nutrientes y control de plagas son ya conocidos. Las interacciones producidas entre los microorganismos, las raíces, el suelo y el agua en la rizosfera suelen tener un carácter dinámico y ser complejas. Esto hace que induzcan cambios en las propiedades fisicoquímicas y estructurales del suelo, como la formación de micro- y macroagregados que estabilizan a la micorriza (Grover *et al.*, 2011).

Estas interacciones, descritas por Wang *et al.* (2024), consisten principalmente en: la secreción de enzimas que participan en la descomposición de la materia orgánica del suelo (*Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*), la asimilación de nutrientes como potasio (*Bacillus mucilaginous* Krass), fósforo

(géneros *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* y *B. subtilis*) y nitrógeno (simbiosis producido por el género *Rhizobium*); la ocupación de un lecho biológico que dificulta la entrada de patógenos, microorganismos y plantas que un impacto perjudicial en el ecosistema del suelo (*B. subtilis*); la producción de fitohormonas como el IAA, giberelinas y citoquininas (género *Streptomyces*); y la mejora de la textura del suelo mediante la formación de agregados (*Pseudomonas aeruginosa*, *B. subtilis*, *Chromobacterium violaceum*).

Experimentos anteriores han demostrado que la introducción de estos organismos, habitualmente abreviados como PGPB (plant growth promoting bacteria), mejoran el crecimiento y tolerancia de varias especies en condiciones de salinidad y sequía, entre las que se encuentra el tomate (Mayak *et al.*, 2004b; Aroca, 2012a). A pesar de esto, su papel en la regulación del estrés hídrico y salino no se ha estudiado en profundidad. Hay varias hipótesis que ofrecen una explicación para el mecanismo de tolerancia de las plantas a la sequía inducida por rizobacterias (también PGPB), en las que se incluyen: la producción de fitohormonas como ácido abscísico (ABA), ácido giberélico, citoquininas y ácido indol-3-acético (AIA); producción de ACC deaminasa para reducir el nivel de etileno en las raíces; tolerancia sistémica inducida por compuestos bacterianos; producción de exopolisacáridos (EPS) por bacterias del género *Pseudomonas* (Vurukonda *et al.*, 2016). Dependiendo de la zona de cultivo y de la genética del cultivo (interacción genotipo-ambiente y genotipo-genotipo), la microbiota tendrá unas propiedades distintas que la pueden hacer interesante a la hora de introducirlas en especies vegetales para adquirir diversos tipos de resistencia.

1.4. Retos en la agricultura. El caso de la Comunitat Valenciana

Debido tanto al impacto del estrés salino como del estrés hídrico en el sector agrícola y las consecuencias que esto supone en la obtención de cultivos para alimentos, combustible y otros usos derivados del sector secundario, hay un gran interés por el desarrollo de estrategias para soportar el estrés abiótico y, por tanto, mantener la producción en un nivel estable.

El rápido cambio de la composición de los suelos dedicados a la agricultura, así como las nuevas demandas de sostenibilidad promocionadas por organismos internacionales como la ONU limitan la posibilidad del uso de pesticidas o fertilizantes para paliar estas condiciones. Estudios anteriores han comprobado el impacto de químicos como los pesticidas en la agricultura, el medio ambiente y en la salud humana, así como la capacidad de ciertos fertilizantes de provocar que las plantas carezcan de una disponibilidad completa en la materia orgánica del suelo tras su uso (Aktar *et al.*, 2009; Khammanee *et al.*, 2020; Dhaliwal *et al.*, 2023). A pesar de las prohibiciones realizadas en los últimos años, se han hallado trazas de estos químicos en plantaciones tales como el arroz, por lo que su impacto total aún está por determinar (Khammanee *et al.*, 2020).

Las técnicas de biorremediación actuales consisten en el lavado de suelos contaminados, extracción de vapores, intercambio iónico, fitorremediación, biorremediación y restauración ecológica. No obstante, estos métodos están asociados a un alto coste y a efectos secundarios tales como la erosión o la pérdida de fertilidad del suelo (Ji & Sang, 2022). En muchas ocasiones, esta práctica no es rentable.

Esta problemática afecta a todas las regiones del planeta donde la agricultura aporta una contribución significativa a la economía y al desarrollo de la zona. Una de estas zonas es la Comunitat Valenciana, de ahora en adelante abreviada como CV.

En la CV, las tierras de regadío destinadas a la agricultura ocupan un total de 307.269 hectáreas, superando por séptimo año consecutivo a la superficie de secano (282.921 hectáreas) y son principalmente dedicadas al cultivo de cítricos, barbecho y frutas frescas no cítricas (GVA, 2023). La superficie de regadío con respecto al total de las tierras de cultivo ha pasado del 38,1 % en 1985 al 52,1 % en 2022 debido a un aumento de las exportaciones al extranjero, así como de la demanda por el producto. Según este informe técnico de la GVA, se estimó que los cultivos de regadío suponen una contribución de un 7,88 % del valor actualizado penalizado del producto bruto (VAP pb) y un 9,3 % del empleo de la CV, datos bastante notables en comparación con la aportación del sector primario a la comunidad autónoma (1,57 % del VAB pb y el 1,63 % del empleo).

El regadío, por tanto, es una actividad importante para el conjunto de la economía valenciana que no viene exenta de su impacto ambiental, debido a que la mayoría de estas zonas son de riego intensivo por el irregular patrón de precipitaciones de la zona. Según la AEMET, el año 2023, ha sido particularmente caluroso y seco para la CV, a pesar de que sólo en el mes de septiembre se superó la precipitación acumulada (86.2 L/m²) en un 49 % más que la del promedio climático mensual del periodo 1991-2020 (57.9 L/m²). La temperatura media ha sido 1,4 °C superior al promedio climático habitual y la precipitación ha sido 33 % más inferior. A esto se le suma el récord en noches tórridas (valores superiores a los 25 °C) en València y Castelló de la Plana (Marzal M., 2024).

Estos datos convierten al año 2023 en la CV como el año más seco de los últimos 40 años, desde 1983, y el octavo más seco desde 1950, además de ser el más cálido registrado hasta ahora por el hombre.

La situación climática en la CV es urgente, y, debido a esto, el uso de tierras originalmente no dedicadas al cultivo que requieran de menos recursos se postula como una línea de investigación relevante para el futuro del sector primario de la región. En este contexto, explorar la posible interacción sinérgica entre cultivos y especies de microorganismos locales adaptados a entornos salinos o expuestos a la desecación podría aportar soluciones novedosas para mitigar el efecto del estrés abiótico en cultivos.

1.5. Sistema de estudio

1.5.1. El caso de L'Albufera

El Parque Natural de L'Albufera de València tiene una extensión de 21.000 hectáreas (ha) y provee de muchos servicios ecosistémicos ya que es considerado un sumidero de carbono con la capacidad de almacenar grandes cantidades de materia orgánica, además de un lugar de ocio.

Debido al gran contraste entre las diferentes zonas de L'Albufera, no todas estas contienen la misma cantidad de parámetros fisicoquímicos (pH, humedad, drenaje) ni de materia orgánica. Los suelos pertenecientes al cordón dunar suelen tener los menores porcentajes de materia orgánica, mientras que en la zona de horizontes orgánicos donde se suele cultivar arroz, ésta suele ascender a más de la mitad de la composición del suelo (Bustamante, 2021).

En el caso de las dunas, estas tierras están expuestas habitualmente a estrés salino en forma del contacto con el mar y de estrés hídrico debido a que, como el resto del parque, también sufren de sequías y precipitaciones irregulares. Es razonable asumir que los microorganismos hallados en esta particular zona tengan un carácter halófito y que, por lo tanto, puedan ser una alternativa válida para explorar su interacción con cultivos de interés agrícola para tratar de fomentar resiliencia en los cultivos frente al cambio climático.

1.5.2. El tomate (*Solanum lycopersicum*). Especies de estudio

El cultivo en el que se quiere comprobar la eficacia de estos microorganismos locales es en la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*), concretamente en las especies de *S. lycopersicum cerasiforme* y *S. pimpinellifolium*. Estas especies se caracterizan por tener un tamaño de fruto menor que el tomate habitual.

El tomate es una planta herbácea perenne de corte arbustivo capaz de desarrollarse en un amplio rango de terrenos, temperaturas y condiciones ambientales. Las condiciones óptimas de cultivo se dan en un suelo ligero y bien drenado con un pH de 5 a 7, pero es capaz de crecer y adaptarse a muchos climas distintos. Se considera un cultivo moderadamente sensible a la salinidad del suelo, teniendo su periodo más sensible durante la germinación y el desarrollo temprano de las plantas. El cultivo empieza a mostrar una pérdida del rendimiento del 10 % cuando la ECe es de 2,5 mmhos/cm, llegando a un 50 % de pérdida con 7,6 mmhos/cm y finalmente obteniendo una pérdida completa cuando ECe es igual a 12,5 mmhos/cm. Para evitar el estrés salino, con frecuencia se practica la lixiviación necesaria de sales durante el riego previo o mediante riego excesivo durante la aplicación de riego inicial. (FAO, 2024).

Según FAOSTAT (2024), el tomate fue la hortaliza más cultivada en el año 2021/2022 a nivel mundial, con 182.554.453,81 toneladas (t) a lo largo del mundo, siendo China el principal productor con 67.373.661,1 t seguido de la India, Turquía, EE. UU. e Italia. España se encuentra en el séptimo lugar mundial con 4.203.160 de t producidas, siendo este cultivo el quinto más producido en el país.

S. pimpinellifolium es una especie nativa de la región andina de Ecuador y de Perú, caracterizada por el tamaño reducido de sus frutos comestibles, dentro del grupo *Lycopersicum*, donde también se encuentra la especie comercial de tomate, *S. lycopersium*. Antes de ser llevado a Europa en el s. XV, ya había sido domesticada anteriormente en México, por lo que no se tienen registros de cuando comenzó este proceso. A pesar de que se cultiva para consumo en varias zonas, *S. pimpinellifolium* se considera una especie silvestre en comparación a *S. lycopersicum*. Dentro de ésta última especie, la variedad *cerasiforme* es habitualmente conocida como el tomate ‘Cherry’ y fue popularizada en los Estados Unidos a partir del siglo XX (Bai & Lindhout, 2007).

Estas dos especies tienen un interés intrínseco dentro del campo agroalimentario debido a que muchas veces se usa *S. pimpinellifolium* como fuente de genes de resistencia provenientes de las variedades silvestres para la mejora agronómica de *S. lycopersicum*, debido a que las variedades cultivadas tienen una menor variedad genética en comparación con las especies salvajes (Bai & Lindhout, 2007).

En este Trabajo de Fin de Grado, se investiga el efecto de la interacción entre microorganismos locales adaptados a condiciones de estrés salino e hídrico de las dunas costeras del parque natural L’Albufera y tres variedades de *Solanum* sp. como posible solución para mitigar las consecuencias del estrés abiótico en cultivos de la huerta valenciana.

2. OBJETIVOS

El **objetivo** de este trabajo consiste en evaluar la respuesta de dos especies de *Solanum* a estrés salino e hídrico en interacción con microorganismos de las dunas de L’Albufera. Este trabajo se relaciona con los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2: Hambre cero, 13: Acción por el clima y 15: Vida de ecosistemas terrestres (ver Anexo 1).

Para ello, se plantaron 30 plantas por cada una de las tres variedades de tomate utilizadas, *S. cerasiforme* y 2 especies de *S. pimpinellifolium*. 15 plantas de cada variedad fueron plantadas en suelo natural con tierra del cordón dunar y la otra mitad en suelo control. Estas plantas fueron sometidas a un tratamiento control, de estrés salino y de estrés hídrico en dos momentos temporales distintos, recogiendo cortes de la parte aérea (tallo+hoja) y terrestre (raíz) de la planta al final del tiempo determinado. En base a estas muestras se midió su peso seco (DW) y se analizó la respuesta bioquímica mediante la cuantificación de diversos marcadores de estrés abiótico de distinta naturaleza: pigmentos fotosintéticos (clorofilas, carotenoides), osmolitos (prolina, azúcares totales), malondialdehído (MDA) e iones.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Cultivo de las plantas

Las semillas de las dos variedades de *S. pimpinellifolium* (ECU 1385 y T11, respectivamente) y la variedad *cerasiforme* de *S. lycopersicum* (LA 2251) se obtuvieron del banco de germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV).

Las semillas se germinaron en placas de Petri en presencia de humedad en la cámara de crecimiento del COMAV. Durante la germinación hubo luz fluorescente y se mantuvieron en condiciones controladas con un fotoperiodo de 14h luz/10h oscuridad a 25°C.

Tras dos semanas en la cámara, se trasplantaron a macetas individuales de plástico de 1,6 L en invernadero. Las tres variedades fueron sembradas en sustrato con arena de dunas de L'Albufera estéril y sin esterilizar, mezclada con sustrato comercial (Humin substrate N3) en proporción 60/40.

Tras un periodo de aclimatación de aproximadamente tres semanas con riego de las plantas hasta alcanzar la saturación una semana antes, se iniciaron los tratamientos de estrés separando las plantas control y las plantas en sustrato dunar no estéril en los diferentes grupos: C, 200 mM NaCl y WS. Estos tratamientos se realizaron dos días a la semana (lunes y jueves) y tuvieron una duración de tres semanas hasta la realización del primer corte.

Las plantas control fueron regadas habitualmente dos veces por semana con 1.5 L de agua del grifo. El tratamiento salino se realizó regando a las plantas con soluciones acuosas de NaCl de 200 mM en vez de agua. Antes de cada aplicación del tratamiento, las bandejas se lavaron con agua desionizada. El tratamiento WS consistió en una falta de riego durante toda la duración del experimento, por lo que, a diferencia del resto, estas plantas no se regaron.

Después del último día del tratamiento, se realizaron varios cortes de las distintas partes a analizar de las plantas y se midió su peso seco (DW) usando una báscula milimétrica.

Las plantas cultivadas se asignaron aleatoriamente a dos grupos de estudio: fenología y bioquímica. Todas las plantas del segundo grupo se sacrificaron cuando mostraron signos de marchitez por efecto de los tratamientos para realizar los análisis bioquímicos. Debido a un error inesperado, el grupo de plantas control de *S. pimpinellifolium* ECU 1385 sometidas al estrés hídrico no fue sacrificado, por lo que los posteriores análisis no presentarán este subgrupo.

3.2. Análisis bioquímico

Para determinar la respuesta de las plantas de *Solanum* al estrés, se analizaron: pigmentos fotosintéticos como las clorofilas a y b y los carotenoides, osmolitos (prolina y azúcares solubles), marcadores de estrés oxidativo (MDA) y el contenido en iones (Na^+ , Cl^- , K^+ y Ca^{2+}).

3.2.1. Pigmentos fotosintéticos

El contenido en **clorofilas y carotenoides** totales se obtuvo mediante el procedimiento descrito por Lichtenthaler & Wellburn (1983). Se mezcló 1 mL de acetona al 80% (v/v) con extractos vegetales frescos previamente molidos de pesos oscilando entre 0,05 y 0,1 g y se dejaron en agitación toda la noche en condiciones de oscuridad. Tras una centrifugación a 13.400 rcf durante 15 minutos a 4 °C, el sobrenadante se diluyó 10 veces con la acetona al 80 % previamente utilizada y se midió su absorbancia a 470, 646 y 663 nm.

Las concentraciones de cada uno de los pigmentos fotosintéticos se calcularon mediante las ecuaciones empíricas descritas por Lichtenthaler & Wellburn (1983):

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 12,21 \times \text{ABS}_{663} - 2,81 \times \text{ABS}_{646} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 20,13 \times \text{ABS}_{646} - 5,03 \times \text{ABS}_{663} \quad (2)$$

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g mL}^{-1}) = \frac{1.000 \times \text{ABS}_{470} - 3,27 \times [\text{Clorofila a}] - 104 \times [\text{Clorofila b}]}{227} \quad (3)$$

Para realizar el análisis estadístico, los contenidos de pigmentos fotosintéticos se expresaron en mg g^{-1} DW.

3.2.2. Osmolitos

Se analizó la concentración de dos osmolitos: la **prolina** y los **azúcares solubles totales (TSS)**.

Para medir el contenido de **prolina** de las distintas muestras se realizó el método de ninhidrina-ácido acético siguiendo el protocolo hecho por Bates *et al.* (1973) y actualizado por Vicente *et al.* (2004). Los extractos se prepararon triturando entre 0,05-0,1 g de material fresco de la hoja y mezclándolos con 1mL de ácido sulfosalicílico al 3% (p/v). Estos extractos se centrifugaron posteriormente a una temperatura de 22 °C durante 15 minutos y a 16.100 rcf. Se recogieron 500 μL del sobrenadante y se mezcló con ninhidrina ácida y ácido acético glacial en la misma cantidad para mantener un ratio 1:1:1. Las muestras se calentaron en un baño de agua a 95 °C durante una hora, se enfriaron en hielo durante 10 min y se extrajeron con tolueno. La absorbancia de la fase orgánica se midió a 520 nm, utilizando tolueno como blanco. Para poder estandarizar los resultados se hizo uso de una curva estándar, midiendo las absorbancias de concentraciones de prolina previamente conocidas. El contenido de prolina foliar se expresó en $\mu\text{mol/g}$ DW.

Los **TSS** se cuantificaron según el protocolo descrito por Dubois *et al.* (1956). Se trituró 0,05 - 0,1 g de material fresco y los TSS se extrajeron añadiendo 2mL de metanol al 80 % (v/v). Las muestras se dejaron en agitador durante 24 h y se realizó una centrifugación a 15.700 rcf durante 15 min. 50 μL de sobrenadante se diluyeron posteriormente en agua milliQ hasta llegar a los 500 μL y se mezclaron con 95 % de ácido sulfúrico y 5 % de fenol.

Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a 490 nm. Las concentraciones de TSS se expresaron en mg equivalentes de glucosa (mg eq. Glc /g DW), utilizado como estándar una curva de calibración preparada a la par que las muestras a analizar con concentraciones de glucosa conocidas.

3.2.3. Marcador de estrés oxidativo: MDA

Utilizando los mismos extractos de metanol al 80% utilizados en el protocolo de TSS, se determinó la concentración de malondialdehído (MDA) según el método de Hodges *et al.* (1999) con las modificaciones añadidas por Taulavuori *et al.* (2001).

Se realizaron dos extractos de metanol por planta; en uno de ellos se añadió ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,5 % preparado en ácido tricloroacético (TCA) al 20 % mientras que en el otro sólo se añadió TCA al 20 %. Estas muestras fueron incubadas a 95 °C durante 15 minutos y para detener la reacción se realizó un choque térmico, enfriándolas en hielo por 5 minutos. Una vez las muestras se enfriaron, se centrifugaron a 13.400 rcf durante 10 min a 4 °C y se midió la absorbancia del sobrenadante resultante a las longitudes de onda de 440, 532 y 600 nm. En este caso, se usaron como blanco las muestras que sólo obtenían TCA.

La concentración de MDA se obtuvo mediante las ecuaciones empíricas descritas por Taulavuori *et al.* (2001):

$$A = ABS_{532+TBA} - ABS_{600+TBA} \quad (4)$$

$$B = (ABS_{440+TBA} - ABS_{600+TBA}) \times 0,0571 \quad (5)$$

$$MDA \text{ (nmol mL}^{-1}\text{)} = \left(\frac{A-B}{1,57 \times 10^5} \right) \times 10^6 \quad (6)$$

Para facilitar el posterior análisis, el contenido de MDA se expresó como nmol g⁻¹ DW.

3.2.4. Contenido en iones

El contenido en iones sodio (Na⁺), cloruro (Cl⁻), potasio (K⁺) y calcio (Ca²⁺) se midió tanto en hojas como en raíces según los pasos indicados por Weimberg (1987).

Se trituraron entre 0,05 y 0,1 g de extracto vegetal seco y se incubaron a 95°C durante una hora tras añadirles 2 mL de agua MiliQ. Posteriormente se dejaron en agitación en condiciones de oscuridad durante 24h. Tras una agitación por vórtex al día siguiente, las muestras se centrifugaron 10 minutos a 13.400 rcf a temperatura ambiente. Se diluyó el sobrenadante 15 veces añadiendo 642 µL de sobrenadante en 9mL de agua MiliQ en un tubo Falcon.

Se cuantificó la concentración de los iones de sodio, potasio y calcio utilizando un fotómetro de llama PFP7 (Jenway Inc., Burlington, VT, EE. UU.). Los iones cloruro, sin embargo, se midieron con un analizador de cloruro MKII 926 (Sherwood, Inc., Cambridge, Reino Unido). Los valores resultantes se expresaron en µmol / g DW.

3.2.5. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante tests no paramétricos de Krustal-Wallis y comparaciones post hoc par a par corregidas por Bonferroni con el programa informático SPSS Statistics v29, (IBM). La representación gráfica de estos datos se realizó en Microsoft Excel 2021.

4. RESULTADOS

4.1. Efectos principales de los factores sobre los parámetros bioquímicos

Se ha encontrado un efecto general de la especie para clorofila *a*, carotenoides y cloro en raíz y hojas (Tabla 1, Figuras 1 y 3). El suelo también tuvo efectos generales significativos en la concentración de carotenoides y potasio en raíz (Tabla 1, Figuras 1 y 4). Los diversos tratamientos de estrés abiótico afectaron a la clorofila *b*, prolina, y contenido en todos los iones del estudio, exceptuando el potasio en las hojas. (Tabla 1, Figuras 1 - 4).

	N	ESPECIE (gl = 2)		SUELO (gl = 1)		TRATAMIENTO (gl = 2)	
		χ^2	<i>p</i> valor	χ^2	<i>p</i> valor	χ^2	<i>p</i> valor
Clorofila <i>a</i>	88	10,517	0,005	1,177	0,278	3,297	0,192
Clorofila <i>b</i>	88	0,757	0,685	2,361	0,124	8,575	0,014
Carotenoides	88	8,115	0,017	6,585	0,010	1,553	0,460
Prolina	81	2,116	0,347	0,645	0,422	33,013	< 0,001
Glucosa	82	0,167	0,920	0,006	0,941	8,050	0,018
MDA	77	4,628	0,099	2,247	0,134	5,590	0,061
Na ⁺ en raíz	88	3,493	0,174	0,463	0,496	48,692	< 0,001
Na ⁺ en hoja	87	4,303	0,116	0,849	0,357	40,398	< 0,001
Cl ⁻ en raíz	86	8,625	0,013	1,724	0,189	44,256	< 0,001
Cl ⁻ en hoja	86	7,725	0,021	2,170	0,141	22,917	< 0,001
K ⁺ en raíz	86	5,594	0,061	10,384	0,001	9,276	0,010
K ⁺ en hoja	87	1,877	0,391	0,363	0,547	5,184	0,075
Ca ²⁺ en raíz	87	3,048	0,218	0,110	0,740	20,512	< 0,001
Ca ²⁺ en hoja	86	3,039	0,219	2,157	0,142	20,354	< 0,001

Tabla 1: Análisis de Kruskal-Wallis del efecto de los factores de estudio en las variables bioquímicas. Especies hace referencia a las tres variedades de *Solanum* sp. involucradas en el estudio (*S. pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251, *S. pimpinellifolium* T11). Suelo hace referencia al tipo de suelo en el que se han plantado (Costero y Estéril). Tratamiento hace referencia a los tres tratamientos a los que han sido sometidas las plantas de estudio: control (C), estrés salino (200 mM) y estrés hídrico (WS). Se expresan los valores de χ^2 y *p* de las diferentes variables en función de los tres factores de estudio (Especie, Suelo, Tratamiento). Los valores de *p* menores que el umbral de significancia (*p* = 0,05) son considerados estadísticamente significativos y están resaltados en negrita.

4.1.1. Pigmentos fotosintéticos

La variedad de *S. lycopersicum* LA 2251 produjo concentraciones más bajas de clorofila *a*, comparada con las dos de *S. pimpinellifolium* y de carotenoides comparada con *S. pimpinellifolium* T11 (Figuras 1A, D). Las plantas sometidas a estrés hídrico exhibieron concentraciones más altas de clorofila *b*, comparadas con las sometidas a estrés salino o plantas control (Figura 1F). Las plantas cultivadas en sustrato dunar produjeron concentraciones más altas de carotenoides que aquellas cultivadas con sustrato de la duna esterilizado (Figura 1E).

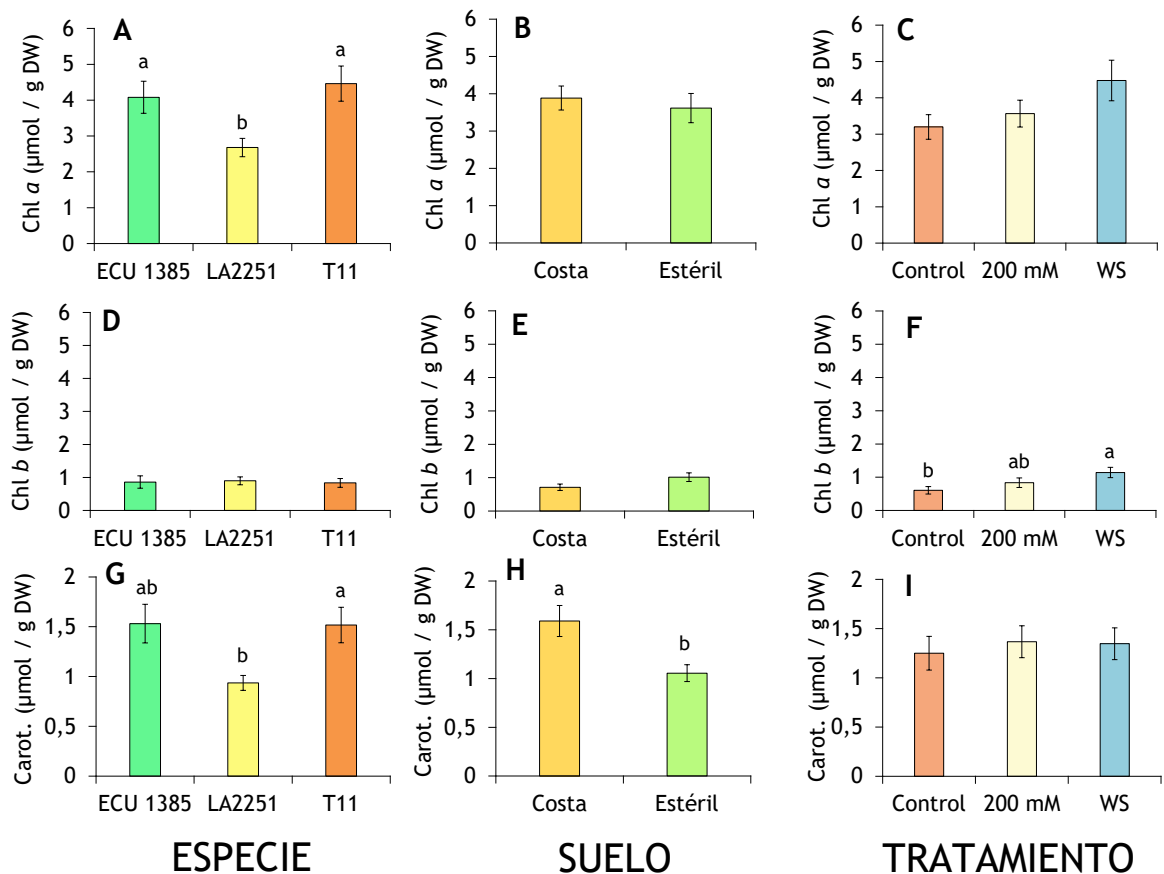


Figura 1: Análisis de efecto general de la concentración de pigmentos fotosintéticos de las tres variedades de *Solanum sp* estudiadas. Se muestra el contenido en clorofilas *a* (A-C), *b* (D-F) y carotenoides (G-I) de las especies *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA2251 y *S. pimpinellifolium* T11 tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200 mM) y estrés hídrico (falta de riego). Los valores representados corresponden a las medias \pm SE (n promedio = 88) en función de la especie (A, D), el suelo (B, E) y el tratamiento (C, F). Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni, excepto para el factor suelo que denotan diferencias según la χ^2 de Kruskal-Wallis. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

4.1.2. Osmolitos

Los niveles de prolina (Pro) y de azúcares solubles (TSS) en la parte aérea de las plantas aumentaron de manera similar ante el estrés hídrico y salino. Se observaron diferencias significativas entre los niveles de prolina de las variedades del tratamiento control y las variedades introducidas en tratamientos de estrés salino e hídrico. (Figura 2C). En cuanto a los niveles de TSS, las plantas sometidas a estrés hídrico mostraron un mayor aumento de la concentración de estos osmolitos en comparación con las plantas del tratamiento control (Figura 2F).

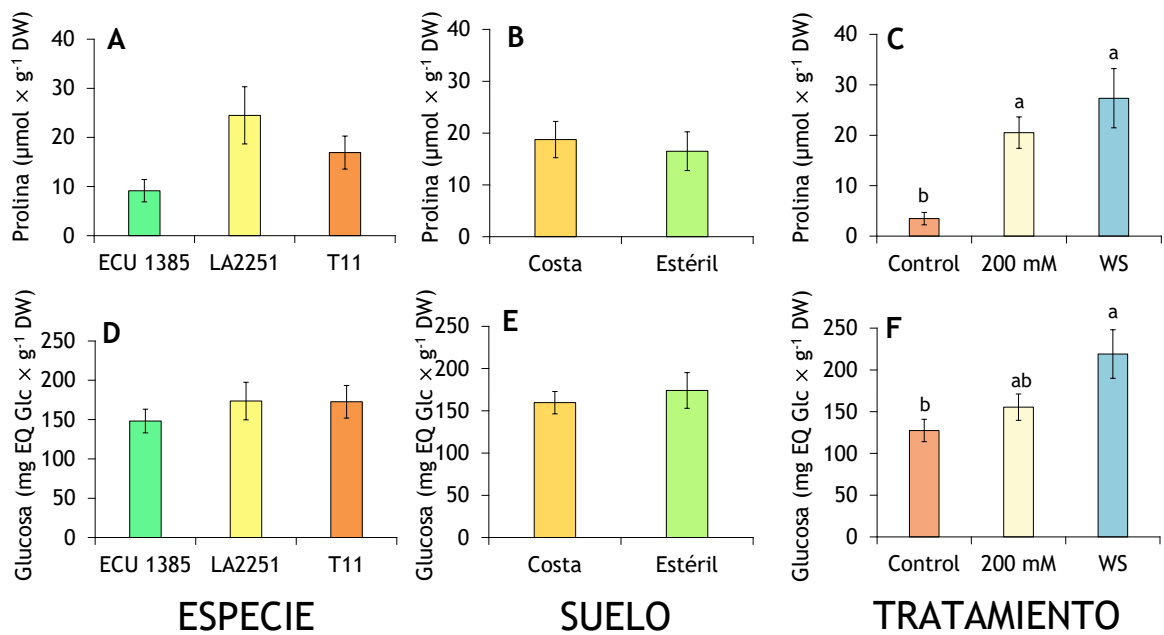


Figura 2: Análisis de efecto general de la concentración de los osmolitos prolina (A-C) y azúcares (D-F) de las tres variedades de *Solanum* sp estudiadas. Se muestra el contenido de los respectivos osmolitos en las especies *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 y *S. pimpinellifolium* T11 tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200mM) y estrés hídrico (falta de riego). Los valores representados corresponden a las medias \pm SE (n promedio = 88) en función de la especie (A, D), el suelo (B, E) y el tratamiento (C, F). Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni, excepto para el factor suelo que denotan diferencias según la χ^2 de Kruskal-Wallis. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

4.1.3. Contenido en iones

En lo referente al contenido en iones, se observan diferencias significativas en los niveles del ion Na^+ en tanto la raíz como la hoja en todos los tratamientos del estudio (Figura 3C). Los valores más altos de este se dieron en las plantas del grupo del estrés salino, seguido del tratamiento hídrico. Las plantas pertenecientes al grupo control tuvieron los valores más bajos de este ion.

En el caso del Cl^- , se observó que la concentración de este anión en la raíz de las plantas de la variedad *cerasiforme* LA 2251 de *S. lycopersicum* era mayor en comparación con la variedad de *S. pimpinellifolium* T11. No obstante, los niveles de Cl^- foliares fueron menores en LA 2251 en contraste con la otra variedad de *S. pimpinellifolium* estudiada, ECU 1385. (Figura 3D). Contemplando la Figura 3F, se observa que los tratamientos tuvieron un efecto similar a los niveles de Na^+ (ver Figura 3C). A nivel terrestre, la concentración de Cl^- tuvo diferencias significativas entre todos los tratamientos realizados, siendo más elevada en las plantas sometidas al estrés salino, luego en las del grupo del estrés hídrico y por último, las del grupo control. A nivel aéreo, se observaron diferencias significativas entre las plantas del grupo de estrés salino y el resto de los tratamientos.

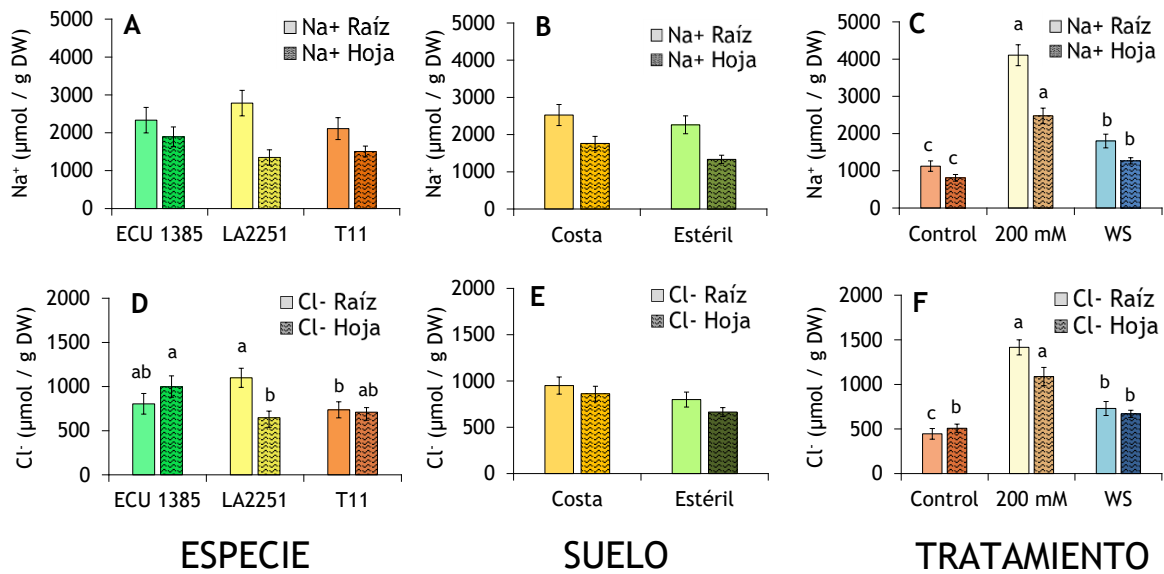


Figura 3: Análisis de efecto general de la concentración de los iones Na⁺ (A-C) y Cl⁻ (D-F) de las tres variedades de *Solanum* sp estudiadas en raíz y hoja. Se muestra el contenido de los respectivos iones en las especies *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA2251 y *S. pimpinellifolium* T11 tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200 mM) y estrés hídrico (falta de riego). Los valores representados corresponden a las medias \pm SE (n promedio = 88) en función de la especie (A, D), el suelo (B, E) y el tratamiento (C, F). Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni, excepto para el factor suelo que denotan diferencias según la χ^2 de Krustal-Wallis. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

El contenido en iones K⁺ a nivel de raíz varió en todos los factores de estudio. Se encontraron diferencias significativas entre el contenido de K⁺ de las variedades ECU 1385 y LA 2251, teniendo esta última los valores más elevados (Figura 4A). Las plantas cultivadas en suelo costero expresaron mayores concentraciones de K⁺ radicular en comparación con las cultivadas en suelo estéril (Figura 4B). Finalmente, el efecto del tratamiento también es notable. Las plantas del estrés hídrico mostraron los mayores valores de K⁺ en la raíz en contraste con los valores de las plantas del tratamiento control (Figura 4C).

Las plantas del grupo de estrés salino tuvieron los valores más elevados de Ca²⁺ en tanto raíz como hoja en comparación con el resto de los grupos de tratamiento (Figura 4D).

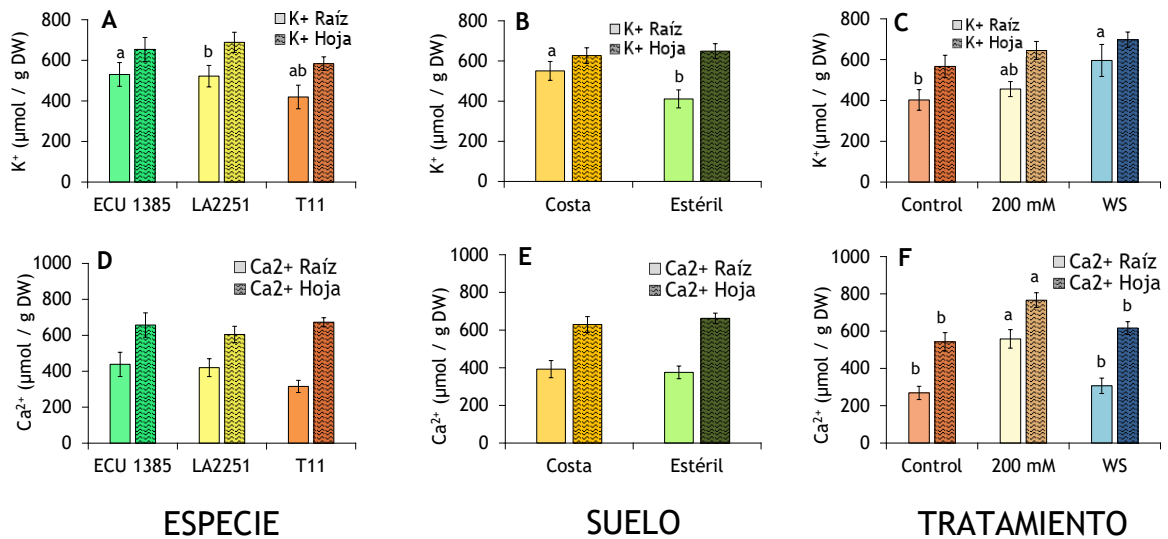


Figura 4: Análisis de efecto general de la concentración de los iones K⁺ (A-C) y Ca²⁺ (D-F) de las tres variedades de *Solanum* sp estudiadas en raíz y hoja. Se muestra el contenido de los respectivos iones en las especies *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 y *S. pimpinellifolium* T11 tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200 mM) y estrés hídrico (falta de riego). Los valores representados corresponden a las medias \pm SE (n promedio = 88) en función de la especie (A, D), el suelo (B, E) y el tratamiento (C, F). Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni, excepto para el factor suelo que denotan diferencias según la χ^2 de Kruskal-Wallis. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

4.2. Efecto de la interacción microbiota del suelo y tratamiento para cada variedad

Todas las variedades de tomate han sido afectadas por las diversas interacciones entre el suelo y el tratamiento en distintas maneras. Para la variedad de *S. pimpinellifolium* ECU 1385, se ha observado un efecto de la interacción entre el suelo y el tratamiento en los niveles de prolina, Na⁺ en raíz y hoja, Cl⁻ en raíz y hoja, y Ca²⁺ en raíz. Exceptuando los niveles de Ca²⁺ en hoja, estas mismas variables también han sido afectadas para la variedad *cerasiforme* LA 2251 de *S. lycopersicum* (Tabla 2; Figuras 6-8).

La interacción entre el suelo y los tratamientos tuvieron un efecto sobre los niveles de clorofila *b*, prolina, Na⁺ en raíz y hoja, Cl⁻ en raíz, K⁺ en hoja y Ca²⁺ en raíz en la variedad de *S. pimpinellifolium* T11. (Tabla 2; Figuras 5-8).

	ECU 1385 (gl = 4)			LA 2251 (gl = 5)			T11 (gl = 5)		
	N	χ^2	<i>p</i> valor	N	χ^2	<i>p</i> valor	N	χ^2	<i>p</i> valor
Clorofila <i>a</i>	24	5,561	0,234	30	5,145	0,398	34	6,231	0,284
Clorofila <i>b</i>	24	6,948	0,139	30	4,386	0,495	34	14,497	0,013
Carotenoides	24	6,073	0,194	30	7,781	0,169	34	5,337	0,376
Prolina	20	10,529	0,032	28	14,701	0,012	33	21,438	0,001
Glucosa	21	5,451	0,244	29	10,716	0,057	32	6,203	0,287
MDA	20	9,246	0,055	27	6,663	0,247	30	5,959	0,310
Na ⁺ en raíz	23	13,907	0,008	30	16,726	0,005	35	20,995	0,001
Na ⁺ en hoja	23	16,761	0,002	29	12,934	0,024	35	26,228	< 0,001
Cl ⁻ en raíz	23	14,714	0,005	29	19,756	0,001	34	18,779	0,002
Cl ⁻ en hoja	23	16,092	0,003	29	11,847	0,037	34	9,935	0,077
K ⁺ en raíz	23	5,333	0,255	28	13,313	0,021	35	7,123	0,212
K ⁺ en hoja	24	6,480	0,166	29	9,347	0,096	34	19,088	0,002
Ca ²⁺ en raíz	23	7,507	0,111	30	6,120	0,295	34	8,783	0,118
Ca ²⁺ en hoja	23	10,248	0,036	29	8,811	0,117	34	12,525	0,028

Tabla 2: Análisis de Krustal-Wallis del efecto de la interacción del suelo y el tratamiento en las variables bioquímicas para cada variedad. ECU 1385, LA 2251 y T11 hacen referencia a las tres variedades de *Solanum* sp. involucradas en el estudio (*S. pimpinellifolium* ECU 1385, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251, *S. pimpinellifolium* T11). Se expresan los valores de χ^2 y *p* de las diferentes variables en función de las tres especies de estudio (ECU 1385, LA 2251 y T11). Los valores de *p* menores que el umbral de significancia (*p* = 0,05) son considerados estadísticamente significativos y están resaltados en negrita.

4.2.1. Pigmentos fotosintéticos

En la Figura 5 se observan los niveles de pigmentos fotosintéticos obtenidos para las tres especies de tomate tanto en suelo costero como en suelo estéril. El pigmento mayoritario en las tres

especies es la clorofila *a*, cuyos valores medios oscilan entre los 6 mg/g DW, seguido de los carotenoides y finalmente, la clorofila *b*.

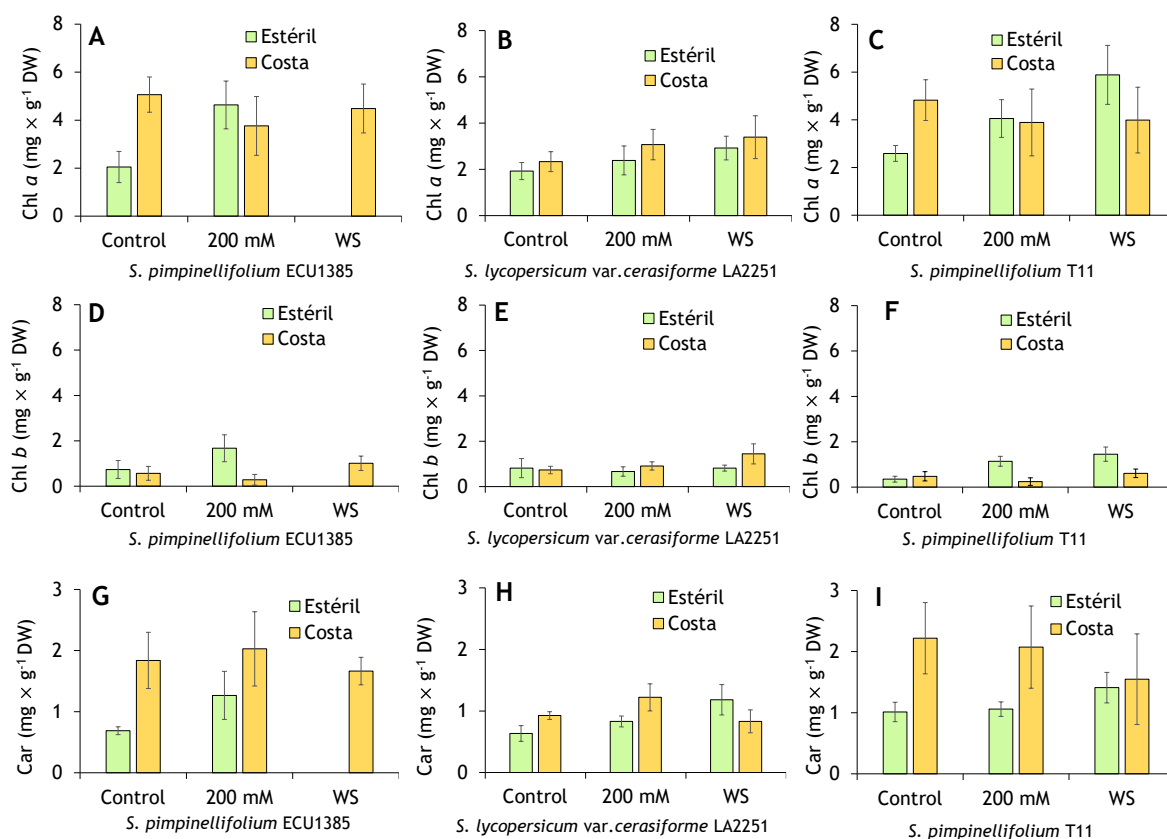


Figura 5: Concentración de pigmentos fotosintéticos de las tres variedades de *Solanum* sp estudiadas en función del suelo y tratamiento. Los resultados corresponden a las medias \pm SE ($n = 5$) de la concentración de clorofila *a* (A-C), clorofila *b* (D-F) y carotenoides (G-I) de las variedades *S. pimpinellifolium* ECU 1385 (A, D, G), *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 (B, E, H) y *S. pimpinellifolium* T11 (C, F, I) tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con solución 200 mM NaCl) y estrés hídrico (falta de riego). Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

4.2.2. Osmolitos

En general, se han obtenido valores ascendentes de concentraciones de prolina y TSS (representados mayoritariamente por glucosa) entre los tratamientos de control, estrés salino e hídrico, siendo este último el que tiene los mayores valores de prolina. Se han observado diferencias significativas en los niveles de prolina entre las plantas de esta variedad sometidas a estrés hídrico y las plantas control, ambas plantadas en suelo costero. Este primer grupo tiene los niveles más altos de prolina de todas las plantas, llegando a los 60 mol g⁻¹ DW. Las plantas sometidas a estrés hídrico en suelo costero tienen un nivel significativamente más alto de prolina en comparación con las plantas en estrés hídrico y cultivadas suelo estéril (Figura 6C).

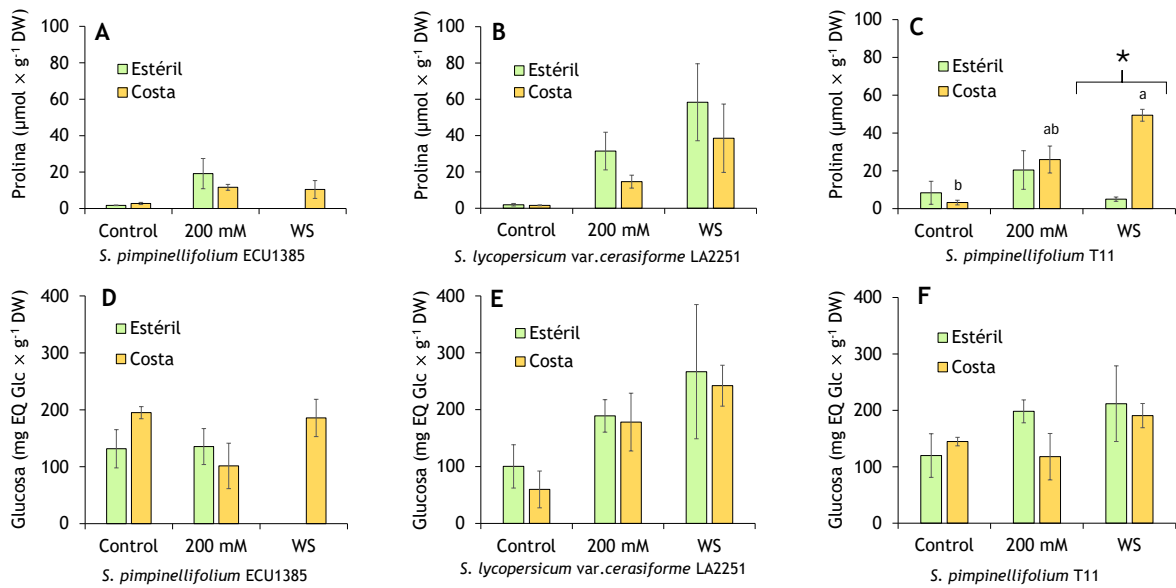


Figura 6: Concentración de los osmolitos prolina (Pro) y glucosa de las tres variedades de *Solanum* sp estudiadas en función del suelo y tratamiento. Los resultados corresponden a las medias \pm SE ($n = 5$) de la concentración de prolina (A-C) y glucosa (D-F) de las variedades *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385 (A, D), *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 (B, E) y *S. pimpinellifolium* T11 (C, F) tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200 mM) y estrés hídrico (falta de riego). * indica diferencias significativas entre suelos dentro de cada tratamiento. Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni entre tratamientos para plantas en sustrato estéril y letras griegas en sustrato no estéril. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

4.2.3. Contenido en iones

El contenido en iones fue medido tanto en raíz como en hoja. Se midieron los iones Na^+ , Cl^- , K^+ y Ca^{2+} .

Los valores de Na^+ y Cl^- se encuentran en la Figura 7. La variedad ECU 1385 (Figuras 7A, 7D) presenta un mayor contenido de Na^+ en raíz en las plantas cultivadas en suelo estéril en el tratamiento de estrés salino. El contenido de Na^+ foliar en las plantas cultivadas en suelo costero y sometidas al tratamiento salino aumentó con respecto a las plantas control cultivadas en el mismo suelo (ver Figura 7A). En cuanto el nivel de Cl^- en la raíz, los valores tienen una tendencia similar a la Figura 7A, las plantas cultivadas en suelo estéril y tratadas en condiciones de estrés salino tienen valores superiores a las plantas control en suelo estéril (ver Figura 7D).

La variedad comercial LA 2251 (Figuras 7B, 7E) sólo ha mostrado valores significativos en el contenido de estos iones en raíces. Al igual que ECU 1385, la concentración de Na^+ (Figura 7B) y de Cl^- (Figura 7E) en la raíz es superior en las plantas en suelo estéril y tratadas con el estrés salino en comparación con las plantas en suelo y tratamiento control.

Para T11 (Figuras 7C, 7F), se observaron variaciones significativas en el contenido en Na^+ . Una vez más, las concentraciones de este ion a nivel de raíz fueron superiores en las plantas del grupo de estrés salino en suelo estéril con respecto a las plantas plantadas en el mismo suelo, pero tratadas con

el tratamiento control. El contenido de Na^+ en la hoja varió significativamente entre las plantas del tratamiento salino y control en tanto suelo estéril como suelo costero (Figura 7C).

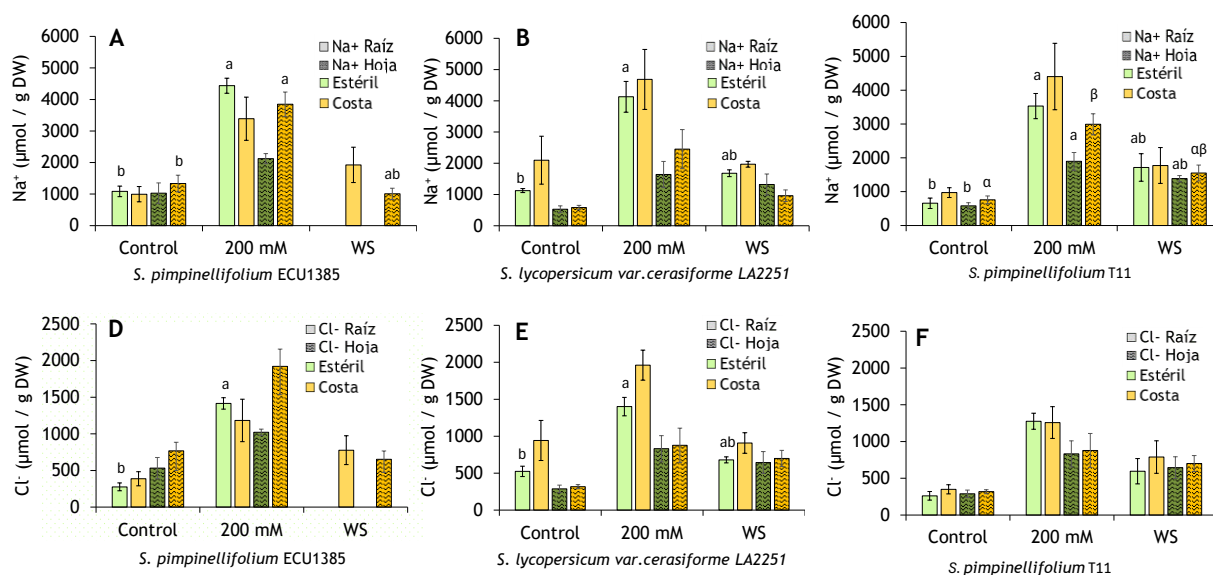


Figura 7: Concentración de los iones Na^+ y Cl^- de las tres variedades de *Solanum sp* estudiadas en raíz y hoja. Los resultados corresponden a las medias \pm SE ($n = 5$) de la concentración de Na^+ (A-C) y Cl^- (D-F) de las variedades *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385 (A, D), *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 (B, E) y *Solanum pimpinellifolium* T11 (C, F) tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200mM) y estrés hídrico (falta de riego). Las concentraciones se midieron tanto muestras de raíz como en hoja, indicadas en la leyenda. Las letras en minúscula y mayúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni entre tratamientos para plantas en sustrato estéril y letras griegas en sustrato no estéril. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

Los iones K^+ y Ca^{2+} se encuentran en la Figura 8. Para estos iones, sólo se encontraron diferencias significativas en la concentración de K^+ en las hojas para la variedad T11 (Figura 8C). Este ion se halló en mayor cantidad en las plantas sometidas a estrés hídrico y cultivadas en suelo control con respecto a las plantas en estrés salino cultivadas en el mismo suelo.

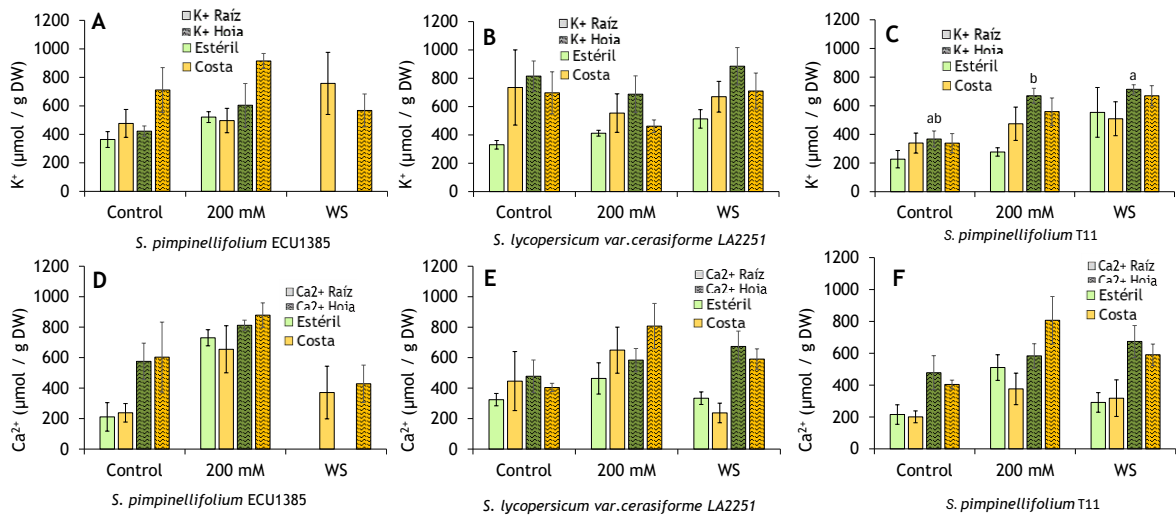


Figura 8: Concentración de los iones K^+ y Ca^{2+} de las tres variedades de *Solanum sp* estudiadas en raíz y hoja. Los resultados corresponden a las medias \pm SE ($n = 5$) de la concentración de K^+ (A-C) y Ca^{2+} (D-F) de las variedades *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385 (A, D), *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA 2251 (B, E) y *S. pimpinellifolium* T11 (C, F) tras las tres semanas de tratamiento control, estrés salino (riego con agua salina en concentración 200mM) y estrés hídrico (falta de riego). Las concentraciones se midieron tanto muestras de raíz como en hoja, indicadas en la leyenda. Las letras en minúscula indican diferencias significativas según análisis post hoc de comparaciones par a par corregidas según Bonferroni entre tratamientos para plantas en sustrato estéril y letras griegas en sustrato no estéril. La ausencia de letras implica que no hay diferencias significativas.

5. DISCUSIÓN

Entre las diferentes estrategias para abordar el estrés abiótico en las plantas de tomate, el uso de sustratos alternativos es una opción cada vez más presente debido a la situación climática. Se sabe que el tomate tiene un alto rango de tolerancia ante el estrés abiótico, por lo que el estudio de la respuesta de sus distintas variedades es imprescindible si se quiere llegar a obtener un perfil completo de los mecanismos de esta planta, ya sea para su introducción en programas de mejora o para el desarrollo de nuevos métodos de agricultura sostenible.

Se han llevado a cabo varios análisis bioquímicos en tres variedades de tomate: dos de ellas pertenecen a la especie salvaje *S. pimpinellifolium*, ECU1385 y T11, mientras que la otra se corresponde a la variedad cultivada de *S. lycopersium cerasiforme* abreviada como LA 2251.

5.1. Análisis de efecto general

A nivel de especie, se observaron diferencias significativas en el contenido de pigmentos fotosintéticos, concretamente en la Chl *a* y carotenoides. Las variedades ECU 1385 y T11, correspondientes a la especie silvestre *S. pimpinellifolium*, presentan por regla general un mayor contenido en estos pigmentos independientemente del suelo plantado y del tratamiento. Además, las dos variedades de *S. pimpinellifolium* exhiben una menor concentración de Cl^- a nivel radicular que LA211. Sin embargo, la especie que más Cl^- acumula en la hoja es la variedad silvestre ECU 1385.

Esta tendencia también se observa en los niveles de Na^+ foliares, aunque no sea estadísticamente significativa. **La variedad comercial es, por tanto, más susceptible a la acumulación de Na^+ y Cl^- en raíces, mientras que ECU 1385 acumula estos iones en las hojas.**

El aumento en la concentración de carotenoides también es notable a nivel de suelo. Las plantas cultivadas en suelo costero presentan mayor concentración de este pigmento que las cultivadas en el suelo control. Otra característica significativa reside en el nivel de acumulación de K^+ en la raíz, donde se ha observado que las plantas crecidas en suelo dunar, independientemente de su especie o del tratamiento, presentan un mayor contenido de este ion en la parte terrestre de la planta.

Comparando entre los distintos tratamientos, se observa un aumento de Chl *b*, Pro, y TSS en los cuales se sigue la misma tendencia de resultados: los niveles más elevados corresponden al tratamiento de estrés hídrico, seguido del tratamiento de estrés salino y, por último, el tratamiento control. Estos resultados concuerdan con la bibliografía consultada en mayor parte, siendo Chl *b* la excepción (ya que su contenido aumenta en estrés hídrico, luego en salino).

Consecuentemente, los niveles de iones son notablemente elevados en las plantas sometidas al tratamiento salino, siendo este el caso en todas las categorías del análisis excepto en la acumulación de K^+ en las hojas. En la mayoría de los casos, las plantas control y las de estrés hídrico presentan niveles similares de iones en las distintas categorías, siendo ocasionalmente más elevados en las plantas sometidas a estrés hídrico.

Independientemente del resto de factores y de las interacciones entre ellos, se pueden observar diferencias notables de base entre los distintos factores del estudio, lo que nos permite deducir que:

Las variedades de *S. pimpinellifolium*, ECU 1385 y T11, parecen adaptarse mejor al estrés abiótico que la comercial, y esto lo consiguen mediante mecanismos que podrían involucrar el aumento en pigmentos y una menor toma de Cl^- a nivel de raíz.

El **suelo costero** proporciona a las especies cultivadas con una **mayor capacidad de retención o biosíntesis de carotenos**, debido a que el contenido de éstos aumenta en las plantas inoculadas. Además de esto, también **fomenta la captación de K^+ en la parte terrestre de la planta.**

A continuación, se discutirán los resultados significativos surgidos de las distintas interacciones entre la especie, la presencia o ausencia de suelo dunar y el tratamiento seguido durante las tres semanas del estudio.

5.1.1. Efecto del suelo sobre la especie

Las distintas especies de tomate han tenido distintos resultados según fueron o no cultivadas en suelo dunar.

La interacción de las distintas especies de tomate con **suelo dunar** ha resultado en unos **mayores niveles de retención de pigmentos fotosintéticos** como la Chl *a* y los carotenoides, destacando el segundo caso. El suelo proveniente del control dunar de L'Albufera parece inducir una **respuesta** en las plantas **basada en el aumento de pigmentos fotosintéticos.**

Las variedades de *S. pimpinellifolium* han mostrado los **valores más elevados de pigmento**, en especial ECU 1385.

También merece la pena observar los resultados obtenidos en el contenido en iones. Las plantas de la variedad silvestre ECU 1385 que han sido inoculadas en suelo costero presentan unos menores valores de Cl^- a nivel radicular y una mayor retención de K^+ en tanto raíces como hojas. Esta observación ha sido la excepción al resto de variedades del estudio, las cuales han obtenido un menor contenido en Cl^- y un mayor contenido de K^+ foliar en el suelo control. Los niveles de K^+ en raíz aumentaron para el resto de las variedades, pero en menor medida que como sucedió en ECU 1385.

En base a estos resultados, se puede proponer que **la variedad más influenciada por el efecto del suelo costero ha sido ECU 1385**, la cual ha mostrado un **aumento** considerable en la **concentración de pigmentos fotosintéticos e iones K^+** y un **descenso** en iones Cl^- en raíz.

5.1.2. Efecto del tratamiento sobre la especie

Las especies estudiadas han reaccionado de manera diferente a los tratamientos.

En general, **las variedades silvestres tienen un rango de respuesta similar entre ellas a lo largo de los tratamientos**, diferenciándose principalmente en la concentración de los diferentes iones en el tratamiento salino por los motivos que se han expuesto anteriormente. ECU 1385 expresa mayor cantidad de Cl^- , Ca^{2+} y K^+ foliar en tratamiento salino que T11, así como un elevado valor de la concentración de Ca^{2+} en la raíz. T11, a su vez, expresa un mayor contenido en Pro, especialmente en estrés hídrico.

El rango de las variedades silvestres es a su vez, inferior al que presenta la variedad comercial. LA 2251 presenta un aumento considerable en el nivel de Pro conforme el estrés se vuelve más severo. Sus valores también son mayores a lo largo de todos los tratamientos en comparación con ECU1385 y T11 en, Na^+ , Cl^- y Ca^{2+} en la zona terrestre, teniendo una media similar a ECU 1385 para los valores de K^+ en hoja. Los valores medios entre tratamientos fluctúan considerablemente más en LA 2251 que en el resto de las variedades.

Por tanto, **la variedad que más afectada se ha visto por los tratamientos de estrés ha sido LA 2251**, la variedad comercial de la planta de tomate Cherry. Esta variedad a su vez parece tener un **mecanismo de defensa basado en la acumulación de K^+ en la hoja y de Ca^{2+} en la raíz**.

5.1.3. Efecto del suelo sobre el tratamiento

A lo largo de los distintos tratamientos, **las plantas de suelo dunar han respondido de distinta manera a las plantadas en suelo estéril.**

En lo referente al contenido en pigmentos, las plantas crecidas en suelo costero han mostrado un mayor contenido en Chl *a* en los tres tratamientos en comparación a las variantes plantadas en el suelo control. Chl *b* ha permanecido relativamente estable en los tres tratamientos con suelo dunar, variando su concentración proporcionalmente a la gravedad del estrés en las plantas en suelo estéril. En cuanto a los carotenoides, los niveles medios han sido superiores en las plantas inoculadas y en ambos casos han aumentado en los distintos tratamientos: las plantas en suelo costero han expresado mayor cantidad de carotenoides en estrés salino mientras que las plantas en suelo control lo han hecho como respuesta al estrés hídrico.

Las plantas cultivadas con suelo dunar han expresado mayor cantidad de osmolitos (Pro y TSS) entre tratamientos, esta vez siendo el tratamiento de estrés hídrico el que ha provocado mayor respuesta en comparación con las plantas en suelo control, las cuales expresaron mayor Pro y TSS en estrés salino. El suelo costero proporciona a las plantas en condiciones de salinidad un mayor contenido de Na^+ y Cl^- foliar y K^+ radicular, siendo las plantas plantadas en suelo estéril las que tienen mayores niveles de Na^+ y Cl^- a nivel de raíz, K^+ a nivel de hoja y Ca^{2+} (en raíz y en hoja). En el resto de los tratamientos, tanto las plantas en suelo costero como las de suelo control tienen niveles similares de iones en las distintas partes de la planta.

De estos resultados se observa que **el suelo costero de L'Albufera estimula la acumulación de pigmentos e iones Na^+ y Cl^- en hoja y K^+ en raíz en estrés salino y osmolitos en estrés hídrico.**

5.2. Análisis bioquímico

5.2.1. Pigmentos fotosintéticos

En condiciones de estrés abiótico, es habitual observar un descenso en el contenido de pigmentos como las clorofilas *a* (Chl *a*) y *b* (Chl *b*) y los carotenoides. Esto se debe a que en condiciones de estrés la planta reduce su actividad enzimática, lo que en muchas ocasiones implica un impedimento de la biosíntesis de Chl o, incluso, la propia degradación de este componente (Li *et al.*, 2024).

Sin embargo, Deltoro *et al.* (1998) comprobaron que varios compuestos, entre los que se incluyen los carotenoides, poseen capacidad para capturar dióxigeno (O_2) y radicales peróxido de origen lipídico. Según Laloi & Havaux (2015), el dióxigeno es el principal ROS producido en los cloroplastos bajo estrés, y es el que causa un papel importante en la destrucción de la parte aérea de la planta.

Como tendencia general en los resultados obtenidos en la Figura 5, se puede observar que las plantas inoculadas en **suelo costero** presentan una **mayor cantidad de pigmentos fotosintéticos**, destacando el caso de los carotenoides, los cuales muestran un aumento significativo en las variedades ECU 1385 y T11. El suelo dunar podría estar provocando una mayor retención de carotenoides en las variedades de *Pimpinellifolium*, dotando así a las plantas de mayor capacidad fotosintética para hacer frente al estrés hídrico y salino.

Todas las variedades **tienden a expresar un aumento en el contenido de pigmentos entre el control y los tratamientos de estrés**, lo que podría indicar un posible mecanismo de regulación del estrés basado en el aumento de pigmentos. Sin embargo, **la variedad comercial LA 2251 expresa menor cantidad de pigmentos en general** y no parece verse tan beneficiada por el suelo costero como el resto de las especies del estudio.

5.2.2. Osmolitos

La prolina y los azúcares solubles totales (TSS) son osmolitos comunes en las plantas. En concreto, la prolina resulta muy relevante en este estudio debido a que es el marcador del estrés más habitual en el tomate. De la Torre-González *et al.* (2018) comprobaron que los niveles de Pro aumentaron considerablemente en las variedades comerciales de tomate involucradas en su estudio como respuesta al estrés abiótico y que esas variedades fueron las más tolerantes ante este.

La prolina mejora la actividad antioxidante, siendo un potente desoxigenador de las ROS. Además, también estabiliza tanto la estructura de las biomoléculas como de las estructuras celulares en condiciones de estrés salino (Hayat *et al.*, 2012; Bartels & Sunkar, 2005).

Debido al rol de la prolina en la resistencia de las plantas al estrés abiótico, se ha observado un **aumento en las concentraciones de prolina conforme ha aumentado la severidad del estrés** en contraste a los valores del tratamiento control (Figura 6A-C). LA 2251 ha sido la variedad con mayores valores de prolina, por lo que parece resistir de manera menos eficiente el estrés hídrico que sus contrapartes salvajes, tanto en suelo natural como en suelo estéril.

El efecto del suelo inoculado parece reducir los niveles de prolina en todos los tratamientos y especies **excepto en la variedad T11**, mostrando su eficacia a la hora de paliar los efectos de tanto el estrés hídrico como el estrés salino.

En cuanto a T11, el aumento en los niveles de Pro en suelo costero podría deberse a un mecanismo de defensa específico de esta variedad en concreto ante el estrés abiótico. A falta de información concreta sobre esta variedad, **el suelo costero parece estimular el efecto de prolina como osmorregulador en T11, al contrario que en las especies anteriores.**

En cuanto a los TSS, por regla general suelen **aumentar ante estreses abióticos como el estrés hídrico y el salino**. Sin embargo, estos cambios no siguen un modelo estático y fluctúan dependiendo del genotipo de la planta y del tipo de estrés (Rosa *et al.*, 2009). Adicionalmente, este grupo de osmolitos engloba muchos compuestos glucídicos con diversas interacciones entre ellos y con otros metabolitos. Los compuestos mayoritarios como la glucosa y la sacarosa intervienen en procesos en su mayoría anabólicos (producción de energía, biosíntesis de polímeros, generación de metabolitos) pero el efecto de otros componentes como las fitohormonas vegetales y las interacciones que se pueden dar en el medio con el resto de TSS dan lugar a interacciones que hay que tener en cuenta a la hora de evaluar sus niveles en general (Sami *et al.*, 2016). En los resultados obtenidos en los apartados D, E y F de la Figura 6 se observan una vez más unos valores menores en las variedades de la especie salvaje en condiciones de estrés en comparación con LA 2251, indicando la mejor resistencia de T11 y ECU 1385 ante el estrés abiótico.

Por lo general, **el contenido en TSS parece disminuir cuando las plantas han sido cultivadas en suelo costero en los tratamientos de estrés hídrico y salino**. Una vez más, se pone en evidencia el posible papel que el suelo costero puede tener en la mayor tolerancia de la planta ante el estrés, teniendo como consecuencia una menor biosíntesis de osmorreguladores.

5.2.3. Contenido en iones

Para este estudio se determinaron los niveles de Na^+ y Cl^- , así como los niveles de K^+ y Ca^{2+} en las especies de estudio. Los dos primeros iones son los componentes principales de la sal común. El ion Na^+ es un competidor directo del ion K^+ e interfiere en su transporte, por lo que, si este ion está en exceso, conllevará unos bajos niveles de K^+ . El Ca^{2+} es capaz de inhibir ciertos canales que transportan el Na^+ . Esta característica lo hace un regulador útil de la toma excesiva de Na^+ en ciertas plantas (Amtmann & Sanders, 1998).

Los niveles de Na^+ y Cl^- en la parte aérea (hoja) y terrestre (raíz) de las especies se observan en la Figura 7. En los tres casos, destacan los elevados niveles del ion Na^+ en comparación con el Cl^- , así como la mayor concentración en las raíces, siendo generalmente inferior en las hojas. En

consecuencia, es posible inferir que estas variedades de tomate tienen un mecanismo de resistencia a la sal basado en la retención del cloro.

Por regla general, los valores de estos iones son inferiores en suelo estéril, por lo que el suelo costero está ejerciendo un efecto que favorece la entrada de sal a la planta. Sin embargo, en el caso de **ECU 1385**, los niveles de tanto Cl^- como Na^+ en la raíz muestran la tendencia contraria, por lo que el suelo costero podría ayudar a esa variedad en concreto a resistir la entrada de sal a nivel de transporte radicular, teniendo como consecuencia un **aumento en la concentración de iones en hojas. T11 es la variedad que mejor resiste este estrés, siendo la variedad comercial la más susceptible.**

Observando la Figura 8, los niveles de K^+ son considerablemente menores en contraste con el ion competidor (Na^+), y su concentración aumenta en las variedades salvajes del tomate (ECU 1385, T11) tanto en estrés salino como en estrés hídrico. El mayor aumento de su cantidad parece darse en las hojas, por lo que explica las menores cantidades de Na^+ en esa parte de la planta. **Estas tres variedades de tomate, por tanto, impiden la entrada de Na^+ a la hoja mediante el aumento de la concentración de K^+ en las partes foliares.** Para el caso de este ion, **el suelo costero parece favorecer su asimilación** principalmente a nivel de raíz, siendo **ECU 1385 una vez más la variedad en la que éste parece tener un efecto más beneficioso** ya que también se observan concentraciones superiores de K^+ en tanto raíz como hoja.

Con respecto al contenido de Ca^{2+} representado en la Figura 8, su concentración parece estar en mayor cantidad en las hojas, contribuyendo así a la resistencia hacia el Na^+ . El suelo costero una vez más contribuye a la mayor asimilación de calcio en ECU 1385 y esta vez también en LA 2251 en condiciones de estrés salino. Según la bibliografía consultada, esto apoya la hipótesis de que, **en tomate, también se libera Ca^{2+} a nivel foliar como mecanismo ante un aumento repentino de la concentración de Na^+ .**

6. CONCLUSIONES

En este Trabajo de Fin de Grado se ha realizado un primer análisis de respuesta bioquímica ante el estrés abiótico de las especies de tomate *Solanum pimpinellifolium* ECU 1385, T11 y *Solanum lycopersicum* LA 2251 en interacción con especies de microorganismos locales provenientes de suelo dunar de L'Albufera.

Los resultados obtenidos nos han permitido obtener una serie de conclusiones importantes a la hora de continuar investigando en esta área. Estas son:

1. Las variedades estudiadas no reaccionan igual ante el estrés abiótico:
 - a. **La variedad comercial (LA 2251) ha resultado ser más susceptible** a los estreses inducidos. Su **mecanismo** consiste en un **aumento del nivel de marcadores como la prolina**, a la vez que el contenido de iones **Ca^{2+} en la raíz y de K^+ en la hoja.**

- b. **Las variedades silvestres han respondido de manera similar** en la mayoría de los análisis bioquímicos. Estas variedades parecen actuar ante el estrés mediante una **mayor expresión de carotenoides**.
 - c. Exceptuando el contenido en iones, el cual siempre se verá afectado principalmente por el tratamiento salino, **las tres variedades han mostrado una respuesta más extrema ante el déficit hídrico**.
 - d. Las **diferencias entre una variedad y el resto pueden deberse a mecanismos de defensa específicos** de éstas, los cuales no están presentes en el resto de variedades de estudio. Por ejemplo, T11 ha expresado mayores niveles de Pro en presencia de suelo costero, ECU 1385 ha acumulado iones principalmente en hojas.
2. El suelo tiene un efecto significativo sobre algunas de las especies y los tratamientos:
- a. A **nivel general**, el suelo costero del control dunar estimula la **acumulación de pigmentos**, destacando los carotenoides.
 - b. En condiciones de **estrés salino**, el suelo estimula la **retención de K⁺ en la raíz**.
3. La especie más beneficiada por crecer en suelo dunar es la variedad de *S. pimpinellifolium* ECU 1385.
- a. A nivel de iones, ECU 1385 ha **expresado mayores valores de Cl⁻, Ca²⁺ y K⁺ en las hojas y Ca²⁺ y K⁺ en la raíz**. Tanto Ca²⁺ como K⁺ con iones que compiten con el Na⁺, por lo que su aumento se traducirá en mayor resistencia al estrés salino.
 - b. Fue la única variedad que expresó **menores niveles de Na⁺ y Cl⁻ en raíz en todos los tratamientos**, a diferencia del resto. Ya que se regó con la misma concentración en todas las plantas, se puede asumir que esta variedad tiene un mecanismo potenciado por el suelo que impide la entrada de los iones en el área terrestre.
 - c. Es la variedad que expresó **los mayores niveles de carotenoides y Chl a en condiciones de estrés**, pigmentos fotosintéticos que parece potenciar el suelo costero en base a los resultados obtenidos.

Para poder dilucidar con mayor claridad los mecanismos que realizan estas plantas frente al estrés abiótico, así como obtener resultados más concluyentes sobre el efecto del suelo inoculado, se deben realizar mayor cantidad de análisis bioquímicos (glicina-betaína, enzimas antioxidantes, flavonoides etc.), aumentando el número de muestras y añadiendo todos los grupos de estudio involucrados.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agencia Estatal de Meteorología (2023). Visitado el 22/04/2024. https://www.aemet.es/documentos/es/serviciosclimaticos/vigilancia_clima/resumenes_climat/ccaa/comunitat-valenciana/avance_climat_val_sep_2023.pdf

Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1-12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>

Amtmann, A., & Sanders, D. (1998). Mechanisms of Na⁺ Uptake by Plant Cells. *Advances in botanical research* (pp. 75-112). [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(08\)60310-9](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(08)60310-9)

Aroca, R. (2012a). Plant Responses to Drought Stress. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0>

Assaha, D. V. M., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R., & Yaish, M. W. (2017). The Role of Na⁺ and K⁺ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes. *Frontiers In Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00509>

Bai, Y., & Lindhout, P. (2007). Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? *Annals Of Botany*, 100(5), 1085-1094. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm150>

Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(1), 23-58. <https://doi.org/10.1080/07352680590910410>

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant And Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>

Bustamante Albert, J. (2021). *Evaluación de las propiedades físico-químicas de suelos hídricos mediterráneos: El caso de L'Albufera de Valencia*. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/174265>

Confederación Hidrográfica del Júcar. *L'Albufera*. <https://www.chj.es/es-es/medioambiente/albufera/Paginas/PresentacionAlbufera.aspx>. Visitado el 07/06/2024.

Conselleria de Agricultura, Ganadería y Pesca de la GVA. (2023). *El regadío en la C. Valenciana*. <https://portalagrari.gva.es/documents/366567370/374417960/Informe+web+Agua+y+regad%C3%A0Do+julio+2023.pdf/9331f9db-ee0a-70ac-8303-a133c06bc727?t=1690546143097>

De la Torre-González, A., Montesinos-Pereira, D., Blasco, B., & Ruiz, J. (2018). Influence of the proline metabolism and glycine betaine on tolerance to salt stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) commercial genotypes. *Journal Of Plant Physiology*, 231, 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.013>

Deltoro, V. I., Calatayud, A., Gimeno, C., Abadía, A., & Barreno, E. (1998). Changes in chlorophyll a fluorescence, photosynthetic CO₂ assimilation and xanthophyll cycle interconversions during

dehydration in desiccation-tolerant and intolerant liverworts. *Planta*, 207(2), 224-228. <https://doi.org/10.1007/s004250050476>

Dhaliwal, S. S., Sharma, V., Verma, V., Kaur, M., Singh, P., Gaber, A., Laing, A. M., & Hossain, A. (2023). Impact of manures and fertilizers on yield and soil properties in a rice-wheat cropping system. *PloS One*, 18(11), e0292602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292602>

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>

FAOSTAT (2023). Base de datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma. [Recuperado de <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>]. (Última actualización: 23/12/2023). Visitado el 28/05/2024.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. En *Springer eBooks* (pp. 153-188). https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_12

Geilfus, C. (2018). Chloride: from Nutrient to Toxicant. *Plant & Cell Physiology/Plant And Cell Physiology*, 59(5), 877-886. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy071>

Grover, M., Ali, S. Z., Sandhya, V., Rasul, A., & Venkateswarlu, B. (2011). Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal Of Microbiology & Biotechnology*, 27(5), 1231-1240. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0572-7>

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior*, 7(11), 1456-1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>

Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207(4), 604-611. <https://doi.org/10.1007/s004250050524>

Khammanee, N., Qiu, Y., Kungskulniti, N., Bignert, A., Meng, Y., Zhu, Z., & Tefferá, Z. L. (2020). Presence and Health Risks of Obsolete and Emerging Pesticides in Paddy Rice and Soil from Thailand and China. *International Journal Of Environmental Research And Public Health/International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 17(11), 3786. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113786>

Ji, M., & Sang, W. (2022). The remediation potential of biochar derived from different biomass for typical pollution in agricultural soil. En *Elsevier eBooks* (pp. 71-83). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-85343-9.00017-3>

Laloi, C., & Havaux, M. (2015). Key players of singlet oxygen-induced cell death in plants. *Frontiers In Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00039>

- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Li, X., Zhang, W., Niu, D., & Liu, X. (2024). Effects of Abiotic Stress on Chlorophyll Metabolism. *Plant Science*, 112030. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112030>
- Marzal, M. (3 de enero de 2024). El tiempo este año deja 'seca' a la C. Valenciana con temperaturas extremas. *Levante*. <https://www.levante-emv.com/comunitat-valenciana/2024/01/03/ano-extremadamente-calido-seco-comunitat-96490329.html>. Visitado el 05/06/2024.
- Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B. R. (2004b). Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science*, 166(2), 525-530. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review Of Plant Biology*, 59(1), 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). *Tomato*. <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/tomato/en/>. Visitado el 09/06/2024.
- Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J. A., Hilal, M., & Prado, F. E. (2009). Soluble sugars--metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants. *Plant signaling & behavior*, 4(5), 388–393. <https://doi.org/10.4161/psb.4.5.8294>
- Roy, S. J., Negrão, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion In Biotechnology*, 26, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>
- Ruiz-González, M. & Vicente, O. (2022). The Microbially Extended Phenotype of Plants, a Keystone against Abiotic Stress. *The EuroBiotech Journal*, 6(4) 174-182. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2022-0017>
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., & Hayat, S. (2016). Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology And Biochemistry*, 109, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
- Taulavuori, E., Hellström, E. K., Taulavuori, K., & Laine, K. (2001). Comparison of two methods used to analyse lipid peroxidation from *Vaccinium myrtillus* (L.) during snow removal, reacclimation and cold acclimation. *Journal of experimental botany*, 52(365), 2375–2380. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.365.2375>
- Tester, M. (2003). Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants. *Annals Of Botany*, 91(5), 503-527. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg058>
- Vicente, O., Boscaiu, M., Naranjo, M. Á., Estrelles, E., Bellés, J. M., & Soriano, P. (2004). Responses to salt stress in the halophyte *Plantago crassifolia* (Plantaginaceae). *Journal Of Arid Environments*, 58(4), 463-481. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2003.12.003>.

Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & SkZ, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184, 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>

Wang, X., Chi, Y., & Song, S. (2024). Important soil microbiota's effects on plants and soils: a comprehensive 30-year systematic literature review. *Frontiers In Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1347745>

Weimberg, R. (1987). Solute adjustments in leaves of two species of wheat at two different stages of growth in response to salinity. *Physiologia Plantarum*, 70(3), 381-388. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1987.tb02832.x>

Zaidi, N. W., Dar, M. H., Singh, S., & Singh, U. (2014). Trichoderma Species as Abiotic Stress Relievers in Plants. En *Elsevier eBooks* (pp. 515-525). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59576-8.00038-2>