

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



SELECCIÓN DE DIFERENTES ACCESIONES DE PIMIENTO FRENTE AL ESTRÉS SALINO PARA SER UTILIZADAS COMO PORTA-INJERTOS

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

ALUMNO: ENRIQUE ARIAS GIMÉNEZ

TUTOR: ALBERTO SAN BAUTISTA PRIMO

COTUTORES: ANGELES CALATAYUD CHOVER

DIRECTORA EXPERIMENTAL: COSUELO PENELLÁ CASAÑ

Curso Académico: 2014-2015

VALENCIA, 7 DE JUNIO 2015

RESUMEN:

La salinidad es un problema medioambiental que limita la producción de los cultivos. Una solución ecológica y respetuosa con el medio ambiente es el injerto. Se trata de unir un patrón resistente a determinados problemas como fisiopatías o estreses ambientales (en este caso el estrés salino) con una variedad susceptible a esos problemas pero que tenga otras características deseadas. En nuestro estudio, investigamos 8 accesiones del género *Capsicum annum* L. para ver su comportamiento frente a una salinidad con una CE de 7 dS m⁻¹. Con el objetivo de evaluar la respuesta de los diferentes genotipos frente al estrés salino, en este trabajo se estudiaron distintos parámetros fotosintéticos: tasa de fotosíntesis neta (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y concentración subestomática de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$); así como parámetros hídricos: potencial hídrico (Ψ_H , Mpa), potencial osmótico (Ψ_O , Mpa) y potencial de presión (Ψ_P , Mpa). Los resultados obtenidos en este TFG demuestran que el genotipo tiene una mayor influencia estadística sobre todos los parámetros fotosintéticos que sobre el tratamiento salino, indicando que influye más la accesión que el tratamiento salino en sí, de modo que el proceso de selección se está realizando correctamente. Los resultados obtenidos mostraron que no hubieron diferencias significativas en los genotipos A33, A35 y A36 entre el tratamiento control y salino para los parámetros de fotosíntesis neta (A_N) y conductancia estomática (g_s). La tasa de fotosíntesis neta podría ser un parámetro útil para la selección de las diferentes accesiones tolerantes a la sal, y podría estar relacionada con la producción de la planta, en términos de rendimiento y calidad de la fruta en condiciones de salinidad.

Palabras clave: Pimiento, genotipo, salinidad, porta-injerto, fotosíntesis neta, conductancia estomática, potencial hídrico, potencial osmótico.

ABSTRACT:

Salinity is an environmental problem that restricts the crop production. Grafted is a respectful and green solution for the environment. It consists of attaching a tolerant rootstock to certain problems as diseases or environmental stresses (in this case the salt stress) with a scion susceptible to those problems, but with desired characteristics. In our study we researched 8 genotypes of the genus *Capsicum annum* L. to see the way they behave versus salinity with an EC of 7dS/m^{-1} . In order to evaluate the responses of different genotypes against salinity stress, in this work different photosynthetic parameters were studied: net photosynthetic rate (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance to water vapour (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiration (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and substomatal CO_2 concentration (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (air)); as well as hydric relations : water potential (Ψ_w , Mpa), osmotic potential (Ψ_s , Mpa) and pressure potential (Ψ_p , Mpa). The results of this final project prove that the genotype has higher statistic influence on all the photosynthetic parameters than the salinity conditions *per-se*, indicating that genotype factor has more influence than the saline treatment. This result indicates that the selection process is being correctly done. There weren't significant differences in the genotypes A33, A35 y A36 between the control and saline treatments conditions in terms of net photosynthetic parameters (A_N) and stomatal conductance (g_s). Our results indicate net photosynthesis could be a useful parameter in order to select genotypes tolerant to salt stress, and moreover these genotypes could be used as rootstocks better production, in terms of yield and quality of the fruit under salinity conditions in grafted plants

Key words: Pepper, genotype, salinity, rootstock, net photosynthetic rate, stomatal conductance, water potential, osmotic potential.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Alberto por darme la oportunidad de hacer un trabajo tan interesante.

A mis cotutoras "Chelo", Ángeles y Lidia por su ayuda y paciencia.

A mi familia y amigos por ser como son y estar siempre ahí.

Muchas gracias por todo.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Importancia del cultivo del pimiento.....	1
1.2. Influencia de la salinidad en los cultivos	3
1.3. Efectos de la salinidad en las plantas.....	5
1.4. El injerto	8
2. Objetivos.....	11
3. Material y métodos.....	12
3.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento:	12
3.2 Determinación de intercambio de gas de la hoja:	14
3.3 Medida del potencial hídrico	14
3.4 Medida del potencial osmótico.....	16
3.5 Estimación del potencial de presión	16
3.6 Análisis de datos	16
4. Resultados.....	18
4.1 Parámetros de fotosíntesis	18
4.2 Relaciones hídricas	21
5. Discusión	24
6. Conclusiones.....	27
7. Bibliografía	28
8. Anejos	33
8.1 Parámetros de fotosíntesis	33
8.2 Relaciones hídricas	51

Índice de figuras

Figura 1.1. Gráfico porcentual de superficies cultivadas de pimiento por Comunidades Autónomas españolas (MAGRAMA, 2013).....	3
Figura 1.2. Gráfico porcentual de producción de pimiento por Comunidades Autónomas españolas (MAGRAMA, 2013).....	3
Figura 4.1. Influencia del tratamiento de salinidad en la fotosíntesis neta (A_N) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$).....	19
Figura 4.2. Influencia del tratamiento de salinidad en la conductancia estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).....	20
Figura 4.3. Influencia del tratamiento de salinidad en el carbono interno (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$).....	21
Figura 4.4. Influencia del tratamiento de salinidad en la transpiración (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$).....	21
Figura 4.5. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial hídrico (Ψ_H) (Mpa).....	23
Figura 4.6. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial osmótico (Ψ_o) (Mpa).....	23
Figura 4.7. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial de presión (Ψ_p) (Mpa).....	24

Índice de fotografías

Fotografía 3.1. Plantas en condiciones de invernadero bajo tratamiento salino.....	13
Fotografía 3.2. Determinación de los parámetros fotosintéticos con un LI-6400.....	14
Fotografía 3.3. La presión hídrica se midió con una cámara Scholander.....	15
Fotografía 3.4. Una hoja de cada planta se embolsó durante una hora para evitar que recibiera luz.....	15
Fotografía 3.5. Osmómetro "Vapro Pressure Osmometer 5520".....	16

Índice de tablas

Tabla 1.1. Datos de los mayores países productores a nivel mundial, según datos de la FAO (2015).....	1
Tabla 1.2. Datos de los países que consiguen mayores rendimientos, según datos de la FAO (2015).....	2
Tabla 2.1. Códigos, accesiones y especies de los diferentes genotipos estudiados.....	12
Tabla 4.1: Resultados del análisis de la varianza (porcentaje de la suma de cuadrados) para los parámetros de la fotosíntesis en función de los factores genotipo y tratamiento salino.....	18
Tabla 4.2: Resultados del análisis de la varianza (porcentaje de la suma de cuadrados) para las relaciones hídricas en función de los factores genotipo y tratamiento salino.....	22

1. Introducción

1.1. Importancia del cultivo del pimiento

El pimiento es uno de los cultivos de mayor impacto económico y social en el mundo. En España es una de las hortalizas más importantes, siendo uno de los mayores productores a nivel internacional.

La producción mundial de pimientos en 2013 alcanzó los 31,13 millones de toneladas (FAO, 2015).

El mayor productor es China con 15,82 millones de toneladas, más de la mitad de la producción mundial. El siguiente país que más produce es México con 2,29 millones de toneladas, seguido de Turquía con 2,16 millones de toneladas. Nuestro país ocupa la quinta posición con casi un millón de toneladas (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Datos de los mayores países productores a nivel mundial, según datos de la FAO (2015).

Posición	Región	Producción (t)
1	China	15.800.000
2	México	2.294.400
3	Turquía	2.159.348
4	Indonesia	1.726.382
5	España	999.600
6	USA	889.269
7	Egipto	665.442
8	Nigeria	510.000
9	Argelia	482.471
10	Etiopía	400.000

Los datos de producción no van asociados a los datos de rendimiento, así, en el 2013, los países con mayores rendimientos en el cultivo de pimientos fueron Holanda, Reino Unido y Bélgica (Tabla 1.2). Esto se debe a las condiciones de cultivo mediante la utilización de invernaderos altamente tecnificados que permiten la producción a lo largo de todo el año. Estos tres países están también en la lista de los diez países que más rendimiento obtienen.

Tabla 1.2. Datos de los países que consiguen mayores rendimientos, según datos de la FAO (2015).

Posición	Región	Rendimiento (kg/m ²)
1	Holanda	27,08
2	Reino Unido	25,54
3	Bélgica	22,7
4	Finlandia	12,26
5	Alemania	11,74
6	Austria	10,67
7	Uzbekistán	8,57
8	Kuwait	7,81
9	Chipre	6,54
10	Chile	6,09

En España la superficie total del cultivo de pimientos fue 18,108 hectáreas (MAGRMA 2013), siendo el 98% de esa superficie de regadío, mientras que el resto fueron de cultivo en secano. Dentro de la superficie de regadío, 11.805 hectáreas se cultivaron en ambiente protegido y 6.082 al aire libre.

La mayor superficie de cultivo corresponde a Andalucía con 11.113 hectáreas, seguida de Castilla la Mancha con 1.315 hectáreas y la Región de Murcia con 1.233 hectáreas. En cuarta posición se encuentra Galicia (1.188 hectáreas), después Navarra (729 hectáreas) y la Comunidad Valenciana (666 hectáreas) ocupando la sexta posición (Figura 1.1).

Con respecto a la producción, en España se recolectaron un total de 1.016.811 toneladas de pimiento. Andalucía es la comunidad que más producción obtuvo en el año 2013, con 662.304 toneladas; tras ella la Región de Murcia, cuya producción fue de 107.250 y Galicia con 67.275 toneladas. La Comunidad Valenciana se encuentra en quinta posición con 47.190 toneladas, tras Castilla la Mancha con 54.210 (Figura 1.2).

Las exportaciones de pimiento a lo largo del año 2014, según datos de la FAO, alcanzaron las 669.317 toneladas. La provincia que más exportó fue Almería con 466.014 toneladas, seguida de Murcia con 87.547 y de Alicante con 45.093 toneladas. Ha sido Almería en 2014 la provincia que más ha recaudado con las exportaciones con 527.995 millones de euros seguida de Murcia con 90.810 y de Alicante con 59.914 millones de euros.

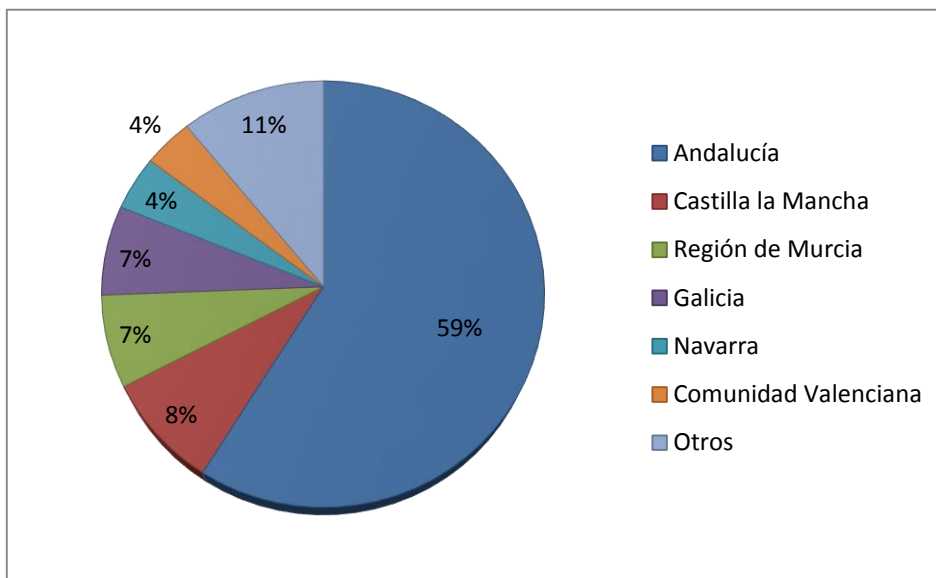


Figura 1.1. Gráfico porcentual de superficies cultivadas de pimiento por Comunidades Autónomas españolas (MAGRAMA, 2013).

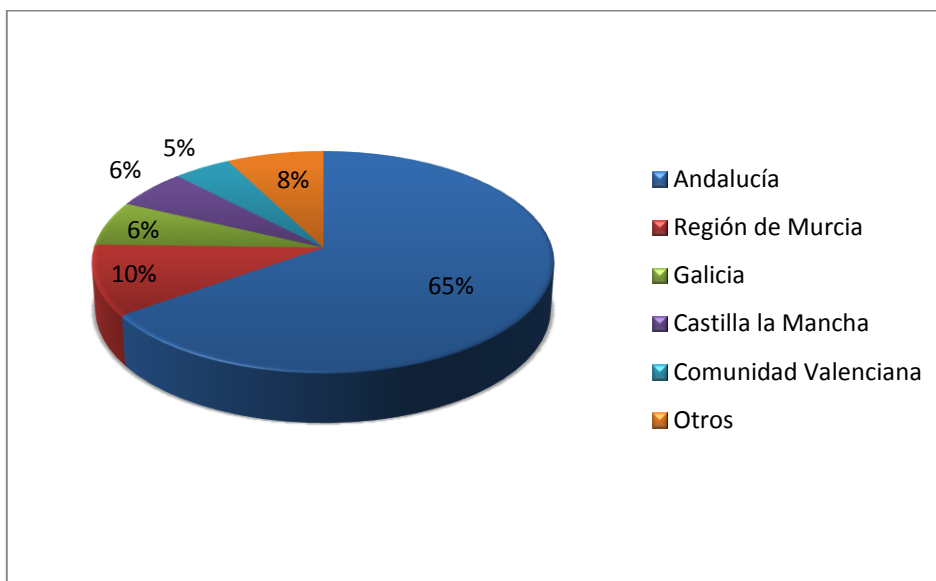


Figura 1.2. Gráfico porcentual de producción de pimiento por Comunidades Autónomas españolas (MAGRAMA, 2013).

1.2. Influencia de la salinidad en los cultivos

Un suelo salino es aquel que contiene sales solubles en tal cantidad que alteran desfavorablemente la producción de los cultivos.

Se caracterizan por tener una conductividad eléctrica del extracto de saturación mayor a 4 dS m^{-1} un porcentaje de sodio intercambiable menor del 15% y un pH menor de 8.5 (Urbano, 2002).

Según la FAO (2008) más de 800 millones de hectáreas de tierras en todo el mundo están afectadas por la salinidad, es decir, un 6% de este. Además, de 230 millones de hectáreas de tierras de regadío, 45 millones de hectáreas (en torno al 20%) están afectadas por la salinidad. En los países del sur y este del Mediterráneo se señalan problemas gravísimos de salinización provocada por la aridez. La superficie de los suelos de los países mediterráneos afectados por la sal asciende actualmente a unos 16 millones de hectáreas de regadío, es decir, el 25 por ciento de todas las tierras de regadío.

La salinización de los suelos se puede dar principalmente por dos motivos.

En primer lugar una baja permeabilidad del suelo (puede ser debida a una deficiente textura o estructura, o a la presencia de capas compactas e impermeables), actúa sobre la salinidad de un suelo, puesto que ocasiona un inadecuado drenaje. Y un drenaje deficiente favorece una capa freática elevada y/o una permeabilidad del suelo reducida; así, el movimiento ascendente del agua por capilaridad, unido a una mayor evaporación del agua superficial, puede producir una mayor concentración de sales en la solución del suelo (López Ritas *et al.*, 1990).

La segunda causa principal de la salinidad es el factor humano. La explotación excesiva de la tierra mediante el cultivo, la gran densidad de pastoreo, el exceso de fertilización, el desaprovechamiento del agua de riego y la destrucción de la vegetación leñosa contribuyen al avance de la desertificación. Además, la gran demanda de agua producida por la intensificación dio paso a la utilización de aguas de pozos con mayor salinidad e incluso al agotamiento de acuíferos que supone la intrusión de agua marina y, por tanto, mayor salinización (FAO 1996).

Los suelos agrícolas de todo el mundo varían no sólo en el grado de salinidad, sino también en la composición de sales en el suelo. Los cationes dominantes en suelos salinos son el sodio (Na^+), el calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), mientras que los aniones dominantes son cloruro (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}) y bicarbonato (HCO_3^-). Las proporciones de estos iones es dependiente de las zonas y está asociado a las características geoquímicas de la zona (Läuchli y Grattan, 2007).

Los suelos salinos se dan en los climas áridos o semiáridos como en zonas del mediterráneo. En estas condiciones de clima se produce una baja precipitación y, por tanto, un menor lavado de sales. Además, la elevada evaporación que tiene lugar en estas condiciones favorece la concentración de sales en el suelo y en el agua (Domínguez, 1996).

La salinidad en el suelo afecta a la absorción de agua por la planta, así, para un mismo valor de potencial mátrico, a medida que la salinidad del suelo aumenta, el potencial hídrico del mismo disminuye; y por tanto, la planta tendrá mayor dificultad para absorber agua. En consecuencia, si se prolonga en el tiempo esta situación, sobre todo durante determinados periodos críticos del cultivo, el rendimiento final puede verse afectado notablemente.

La salinidad se puede reducir mediante prácticas de riego más frecuentes, con lo que se consigue aumentar el potencial mátrico, de manera que para un mismo potencial osmótico se estará incrementando el potencial hídrico del suelo y, por tanto, las plantas sufrirán un menor estrés hídrico. Emplear agua adicional para lixiviar ayuda a eliminar el exceso de sales por percolación. Sustituir los cultivos sensibles a la sal por otros más tolerantes, no obstante, ese cultivo puede no tener interés por problemas de mercado, particularidades climáticas o necesidades nutricionales de la población, por lo que resulta más importante disponer de variedades tolerantes en los principales cultivos. Cambiar el método de riego para garantizar un mejor lavado de sales, ya que producen menos estrés salino los riegos por aspersión y de alta frecuencia que los riegos superficiales. Distribuir los abonos y enmiendas uniformemente y en las cantidades recomendadas. Labores de subsolado para romper las capas que dificulten el drenaje. Nivelar el suelo para evitar la acumulación de sales en zonas más elevadas del mismo.

1.3. Efectos de la salinidad en las plantas

El efecto de la salinidad sobre el crecimiento de las plantas tiene lugar con una primera fase en la que la reducción del crecimiento es rápida, debido a la acumulación de sal en el entorno de las raíces. La presencia de sal en el suelo reduce la capacidad de la planta de extraer agua, lo que implica un crecimiento más lento de hojas y en menor medida de raíces, principalmente regulada por el ácido abscísico (ABA). Es esencialmente un estrés hídrico o estrés osmótico. La reducción del crecimiento es presumiblemente regulada por señales hormonales procedentes de las raíces. Antes de que las sales se acumulen en los tejidos en crecimiento, las células se alargan rápidamente pudiendo acomodar la sal que llega a través

del xilema en sus vacuolas en expansión. De modo que la sal tomada por la planta no inhibe directamente el crecimiento de hojas nuevas (Munns, 1993).

La acumulación de la sal produce un efecto osmótico en los tejidos de las plantas y se distingue porque los solutos disueltos en la zona radicular generan un bajo potencial osmótico que baja el potencial hídrico del agua del suelo y causa una disminución de la capacidad para absorber agua y nutrientes del medio debido a la presencia de las sales (Fernández-Ballester et al., 1997). El balance general del agua en la planta en dichas condiciones se ve afectado, ya que para mantener el flujo de agua suelo-planta-atmósfera, la planta necesita disminuir el potencial hídrico para mantener un gradiente óptimo de potencial hídrico entre el suelo y las hojas, mediante la síntesis de osmolitos (Blum *et. al*, 1996).

Es en la segunda fase en la que se produce una reducción directa del crecimiento, aunque tarda en desarrollarse. Esta segunda fase se conoce como efecto iónico. Es debida a la acumulación de niveles excesivos de sales, principalmente Na^+ o Cl^- (o ambos), en los diferentes órganos de la planta por medio de la transpiración, que supera la capacidad de las células para compartimentar estos iones en la vacuola, y que provoca la senescencia prematura de hojas viejas (pues son estas las que más transpiran). A su vez se inhibirá el crecimiento de las hojas más jóvenes mediante la reducción del suministro de hidratos de carbono a las células en crecimiento (Munns ,1993; Munns, 2002; Munns y Tester, 2008.).

La velocidad a la que mueren las hojas viejas es crucial para determinar la supervivencia de la planta. Si las hojas nuevas se producen continuamente a una velocidad mayor que aquella a la que las hojas viejas mueren, entonces la planta tiene suficiente superficie fotosintética para producir flores y semillas, aunque en números reducidos. Sin embargo, si las hojas viejas mueren más rápido que se desarrollan otras nuevas, entonces la proporción de hojas afectadas comienza a aumentar, y el número de hojas verdes y sanas finalmente disminuyen. El problema de las plantas anuales, como el pimiento, es que deben iniciar el proceso de formación de flores y semillas lo antes posible mientras la superficie foliar todavía sea adecuada para suministrar los fotoasimilados necesarios (Munns *et al.*, 2006).

El estrés osmótico tiene un mayor efecto sobre las tasas de crecimiento que el estrés iónico. El impacto producido por el estrés iónico en el crecimiento se desarrolla mucho más tarde, y con menos efecto que el estrés osmótico, especialmente en niveles bajos a moderados de salinidad (Munns y Tester, 2008).

Munns (2002) y Munns y Tester (2008) llevaron a cabo varios estudios en los que determinaron los efectos producidos por las sales en las plantas en función del tiempo: en los primeros segundos o minutos, las células perdieron agua y su volumen se redujo. En las horas siguientes, las células recuperaron su volumen inicial por cambios en las relaciones hídricas pero las tasas de elongación celular se redujeron, lo que lleva a tasas del crecimiento de hojas y raíces más bajas. Pasados los días, los cambios en la elongación y división celular originaron la aparición más lenta de la hoja y el tamaño final más pequeño, y el crecimiento de la hoja generalmente estuvo más afectado que el de la raíz. En las plantas con tasas altas de absorción de sal, la hoja más vieja puede comenzar a mostrar síntomas de lesión. Después de semanas, era evidente que los brotes laterales se inhibieron, y en las plantas con altas tasas de absorción de sal algunas hojas habían muerto. Finalmente, después de meses, las diferencias entre las plantas con altas y bajas tasas de absorción de sal fueron muy aparentes, con una gran cantidad de lesiones y la muerte total de las hojas en algunos casos si el nivel de salinidad fue lo suficientemente alto.

La fotosíntesis, junto con el crecimiento celular, es uno de los procesos primarios afectados por la salinidad (Munns *et al.*, 2006). Es por esta alta sensibilidad a los estreses ambientales por lo que la fotosíntesis es un gran indicador de los efectos que produce el estrés salino (Massacci *et al.*, 2008).

La cantidad de clorofila es un indicador del proceso de fotosíntesis. Así, el hecho de que el contenido de clorofila en mg/l disminuya al aumentar la salinidad demuestra que la fotosíntesis es inhibida por el incremento de la salinidad del cultivo (Cowan *et al.*, 1992).

En ambientes salinos, las plantas rápidamente inducirán un cierre de estomas para limitar la pérdida de agua por transpiración. El cierre estomático dificulta la entrada de CO₂ por lo que la tasa fotosintética se ve comprometida (Rahnama *et al.*, 2010).

Las tasas de fotosíntesis (por unidad de área foliar) en algunas plantas tratadas con sal a menudo no sufren cambios, a pesar de que la conductancia estomática se reduce (James *et al.*, 2002). Esto se explica porque las hojas son más gruesas y pequeñas por lo que la clorofila por unidad de área es mayor en solución salina que en condiciones no salinas y por lo tanto la densidad de cloroplastos es mayor (Munns *et al.*, 2006). Sin embargo, al ser menor el área foliar debido a la reducción del crecimiento en condiciones salinas, la fotosíntesis finalmente será menor (Munns y Tester, 2008).

A alta salinidad, las sales se pueden acumular en las hojas a niveles tóxicos. Estas pueden congregarse en el apoplasto y deshidratar la célula, en el citoplasma e inhibir la actividad de las enzimas implicadas en el metabolismo de hidratos de carbono, o en el cloroplasto y ejercer un efecto deletéreo directo sobre los procesos fotosintéticos (Munns y Passioura, 1984; Flowers y Yeo, 1986; Munns y Tester, 2008).

Como consecuencia del estrés provocado por las sales, los pimientos tienen mayor susceptibilidad a presentar Blossom-End Rot (BER) o necrosis apical de los frutos. Los estreses abióticos como la sequía, altas temperaturas, intensidades elevadas de luz así como el estrés salino desempeñan un papel fundamental en la causa del BER. Los estreses causan la pérdida de iones (incluyendo calcio), especialmente en las zonas sensibles (extremidades y tejido placentario de frutos en desarrollo). Esto suele dar problemas metabólicos y finalmente la muerte celular en los extremos de frutos en desarrollo con crecimiento rápido (Ho and White, 2005). Saure (2014) sostiene que un periodo de crecimiento vegetativo exuberante podría aumentar la sensibilidad de las plantas a este desorden fisiológico, y además que los estreses severos causan una mayor incidencia de BER en las plantas sensibles. Este crecimiento tan rápido produce altos niveles de ácido giberélico (GA) que restringen las concentraciones de calcio en el extremo de las frutas provocando una permeabilidad en las membranas celulares para que los frutos puedan expandirse rápidamente. Como los estreses reducen los contenidos de calcio, la posibilidad de causar muerte celular y BER son mucho más probables.

1.4. El injerto

Injertar es la operación de unir íntimamente o insertar una parte de la planta en otra, de manera que queden unidas y continúen su crecimiento como una única planta (Pina y Errea, 2005).

La parte superior de la nueva planta recibe el nombre de vástago, parte aérea o simplemente variedad, y la que va a formar la raíz, se llama patrón, pie o porta-injerto (Pascual *et al.*, 2007).

El uso de patrones en los cultivos agrícolas se intensificó a partir del año 1997, cuando en la reunión de Montreal se fijó fecha para dejar de usar definitivamente el Bromuro de metilo como desinfectante del suelo. Tras la prohibición del Bromuro de metilo, la técnica del injerto con un patrón robusto tiene como propósito inicial, evitar o reducir la incidencia de

enfermedades transmitidas por el suelo (Echevarría, 2007; Miguel, 2009). De modo que el uso del injerto en plantas hortícolas es relativamente corto.

El injerto es usado para dar resistencia a las plantas frente a enfermedades del suelo (Ioannou, 2001; Bletsos *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2008) y tolerancia frente a estreses abióticos como salinidad, suelos húmedos y altas y bajas temperaturas (Ahn *et al.*, 1999; Rivero *et al.*, 2003a,b; Estañ *et al.*, 2005; Venema *et al.*, 2008; Abdelmageed y Gruda, 2009), para mejorar la eficiencia en la asimilación de agua y nutrientes (Santa-Cruz *et al.*, 2002), para alargar la época de producción (Lee, 1994) y para mejorar la calidad del fruto (Fernández-García *et al.*, 2004a,b; Colla *et al.*, 2006).

En este estudio el objetivo del injerto será el de aprovechar las características del patrón, en este caso, para obtener una mayor resistencia a la salinidad. Pero son muchas otras las aplicaciones de los injertos: perpetuar clones que no se pueden multiplicar con facilidad por otros métodos asexuales, cambiar de cultivar en plantas ya establecidas, obtener formas especiales de crecimiento de las plantas, reparar partes dañadas de árboles y estudios de virosis (Pascual *et al.*, 2007).

Se han realizado varios estudios en estas especies para dilucidar los mecanismos implicados en el aumento de la tolerancia a la salinidad de las plantas injertadas. Este aumento de la tolerancia de las plantas injertadas se asocia generalmente con su capacidad para excluir o retener y / o acumular iones tóxicos, Na^+ y Cl^- en las raíces de los porta-injertos, limitando así su transporte a las hojas en lugar de a través de la síntesis de osmolitos o de la inducción de sistemas antioxidantes (Estañ *et al.*, 2005; Huang, 2013). Otros autores han indicado que la influencia de los porta-injertos sobre la tolerancia a la sal de la púa se debe a un control más eficaz de las funciones de los estomas (cambios en la regulación de los estomas y las relaciones de agua), que indican que la incisión del injerto puede alterar la señalización hormonal entre raíces y brotes (Aloni *et al.*, 2010). En otros casos, el incremento en la tolerancia ha sido explicado por el re-establecimiento de la homeostasis iónica (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2008).

Los tipos de injerto más utilizados en plantas hortícolas como el pimiento son el de púa y el de aproximación, aunque es este último el más utilizado (Pascual *et al.*, 2007).

Esta técnica hasta el momento no ha sido tan explotada como en otros cultivos hortícolas como el tomate o el melón, existiendo un gran desconocimiento. Esto es debido a que por un lado el pimiento da problemas de incompatibilidad (sólo se puede injertar sobre

porta-injertos del género *Capsicum*), y por otro lado, la oferta comercial de los patrones es muy limitada.

2. Objetivos

Por todos los problemas planteados, el objetivo general de este trabajo es seleccionar accesiones de pimiento tolerantes a la salinidad que puedan ser susceptibles de emplearse como porta-injertos. Las accesiones empleadas en este TFG son genotipos del género *Capsicum annum* L. ('Numex X' (A31), 'Numex sandía tipo 2' (A32), 'Numex conquistador tipo 2' (A33), 'BGV-11814' (Castellano de 4 cascos (A34)), 'BGV-4349' (morro de vaca (A35)), 'SIURIYA 600' (A36), 'KAPIYA UV' (A37) y 'PETIT MARSELLAIS' (A38)).

La selección de las accesiones tolerantes se realizará atendiendo a parámetros fisiológicos como: fotosíntesis (tasa neta de fijación de CO₂ (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y concentración subestomática de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (aire)), potencial hídrico (Ψ_H), potencial osmótico (Ψ_O) y potencial de presión (Ψ_p).

3. Material y métodos

3.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento:

Las accesiones 'Numex X' (A31), 'Numex sandía tipo 2' (A32), 'Numex conquistador tipo 2' (A33), 'BGV-11814' (Castellano de 4 cascós (A34)), 'BGV-4349' (morro de vaca (A35)), 'SIURIYA 600' (A36), 'KAPIYA UV' (A37) y 'PETIT MARSELLAIS' (A38) se utilizaron en este estudio (Tabla 2.1). Se le asignó un código numérico a cada cultivar que se indica entre paréntesis. Todos los genotipos utilizados para el presente estudio pertenecen al banco de germoplasma de la Universitat Politècnica de Valencia.

Las semillas fueron sembradas en perlita humedecida a 28 °C en los invernaderos del IVIA el día 6 de Febrero de 2015. Las plántulas se trasplantaron a macetas de 15 L que contenían fibra de coco en un invernadero climatizado de polietileno el día 10 de Abril de 2015 en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (Valencia, España). Las plantas fueron regadas con la solución nutritiva de Hoagland No.2 (Maynard y Hochmuth, 1997).

Tabla 1.1. Códigos, accesiones y especies de los diferentes genotipos estudiados.

Código identificador	Accesión	Especie
A31	'Numex X'	<i>Capsicum annum</i> L.
A32	'Numex sandía tipo 2'	<i>Capsicum annum</i> L.
A33	'Numex conquistador tipo 2'	<i>Capsicum annum</i> L.
A34	'BGV-11814'	<i>Capsicum annum</i> L.
A35	'BGV-4349'	<i>Capsicum annum</i> L.
A36	'SIURIYA 600'	<i>Capsicum annum</i> L.
A37	'KAPIYA UV'	<i>Capsicum annum</i> L.
A38	'PETIT MARSELLAIS'	<i>Capsicum annum</i> L.

Después de 27 días en las macetas, las plantas se dividieron en dos grupos para tratamientos de control y salinidad. El tratamiento de salinidad se inició el día 24 de Mayo añadiendo NaCl (60 mM) a la solución nutritiva para llegar a una CE de 7 dS m⁻¹. La CE de la solución nutritiva en el tratamiento de control fue de 1'2 dS m⁻¹. El riego por goteo se suministró basado en estimaciones de la evapotranspiración del cultivo semanal (ET_c). La solución salina se dejó drenar libremente en las macetas y el drenaje osciló entre el 10% y el 20%, dependiendo de la radiación solar.

En cada tratamiento se usaron cuatro plantas por cultivar. Las plantas se cultivaron durante 5 meses y se mantuvieron libres de insectos y enfermedades utilizando procedimientos de gestión estándar en el invernadero. (Foto. 3.1)

Fotografía 3.1. Plantas en condiciones de invernadero bajo tratamiento salino.



Los datos ambientales en el invernadero fueron: temperatura de 21-23 °C, humedad relativa 65-70% y radiación solar $800-1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de 09 a.m. a 11 a.m. (GMT) en días soleados.

Las medidas fisiológicas que a continuación se detallan se realizaron después de 1 mes de tratamiento salino en hojas completamente desarrolladas desde la tercera-cuarta fila desde el ápice. Los parámetros fotosintéticos determinados fueron la tasa neta de fijación de CO_2 (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la transpiración (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y la concentración subestomática de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (aire)). Las relaciones hídricas determinadas fueron el potencial hídrico (Ψ_H) y el potencial osmótico (Ψ_O).

3.2 Determinación de intercambio de gas de la hoja:

La tasa neta de fijación de CO₂ (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la transpiración (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y la concentración subestomática de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (aire)) se midieron a saturación de luz ($1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) con un LI-6400 (LI-COR, Nebraska, EE.UU; Foto. 3.2). La concentración de CO₂ era de 400 ppm y la velocidad de flujo de aire $500 \mu\text{mol s}^{-1}$. Se midieron $n=4$ plantas por tratamiento y accesión.

Fotografía 3.2. Determinación de los parámetros fotosintéticos con un LI-6400.



3.3 Medida del potencial hídrico

Se realizó una medición del potencial hídrico (Ψ_H) 1 mes después de añadir NaCl al agua de riego. Se determinó con una cámara de presión (cámara Scholander) (Foto. 3.3), siguiendo las instrucciones de Scholander *et al.*, (1964). Esta cámara opera mediante succión al vacío y produce la presión negativa necesaria para extraer agua de una rama o peciolo de la planta. Se incubaron las hojas en oscuridad mediante una bolsa (Foto. 3.4), posteriormente se cortaron la hojas por el peciolo que fue insertado en una goma y colocado en la cámara de presión. Lentamente se fue introduciendo presión a la cámara mediante un tanque de N₂, hasta observar la emergencia de savia a través del peciolo. La presión a la cual se logra esto corresponde al potencial hídrico de la hoja.

Fotografía 3.3. La presión hídrica se midió con una cámara Scholander.



Fotografía 3.4. Una hoja de cada planta se embolsó durante una hora para evitar que recibiera luz.



3.4 Medida del potencial osmótico

El potencial osmótico de la savia de la hoja (Ψ_o en MPa) se midió usando el osmómetro "Vapro Pressure Osmometer 5520" (Foto. 3.5). Dos determinaciones independientes se realizaron en cada combinación de duplicados y vegetal, obtenido a partir de 4 plantas por tratamiento y combinación.

Fotografía 3.5. Osmómetro "Vapro Pressure Osmometer 5520".



Las hojas se enrollaron y se metieron en micro tubos Eppendorf, congeladas a -80°C , y posteriormente se centrifugaron para conseguir extraer la savia necesaria. Se sacó $10\ \mu\text{l}$ de savia con una micro pipeta y se colocaron en el osmómetro (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010). El contenido de osmolitos (mmol kg^{-1}) se convirtió a MPa utilizando la ecuación de Van't Hoff.

3.5 Estimación del potencial de presión

Para calcular el potencial de presión (Ψ_p) se ha utilizado la fórmula del potencial hídrico ($\Psi_H = \Psi_o + \Psi_p$) despejando la Ψ_p de la misma.

3.6 Análisis de datos

La influencia de los factores analizados en el ANOVA se consideró estadísticamente significativa (e.s.) cuando la probabilidad del test F-Snedecor fue inferior a 0,05. Los datos obtenidos para cada uno de los experimentos se trataron mediante un análisis de la varianza y comparación múltiple de medias mediante el test LSD ($p \leq 0,05$), con el fin de determinar que

variables presentaron medias significativamente diferentes. Se utilizó para ello el programa Statgraphics Centurión.

4. Resultados

4.1 Parámetros de fotosíntesis

Para los parámetros de fotosíntesis estudiados en este experimento, se ha constatado una influencia e.s. ($p \leq 0,01$) del genotipo en la fotosíntesis neta (A_N) y conductancia estomática (g_s) así como una e.s. ($p \leq 0,05$) del genotipo en la concentración subestomática de CO_2 (C_i). También se ha observado una influencia e.s. ($p \leq 0,01$) del tratamiento en la fotosíntesis neta (A_N), y en la conductancia estomática y una e.s. ($p \leq 0,05$) del tratamiento en el Carbono interno (C_i).

El factor genotipo alcanzó una variabilidad respecto el total de entre el 15,59 y el 56,76% para todos los parámetros fotosintéticos (Tabla 4.1), mientras que el factor tratamiento salino obtuvo una variabilidad entre el 9,06 y el 20,95% (Tabla 4.1). Además la interacción genotipo x tratamiento salino fue e.s. ($p \leq 0,05$) en la fotosíntesis neta (A_N) y en la concentración subestomática de CO_2 (C_i) y la variabilidad explicada osciló entre 5,29 y 17,03%.

Tabla 4.1: Resultados del análisis de la varianza (porcentaje de la suma de cuadrados) para los parámetros de la fotosíntesis en función de los factores genotipo y tratamiento salino.

	A_N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Factor				
Genotipo (G)	56,76**	32,5**	18,63*	15,59 ^{ns}
Tratamiento (T)	20,95**	13,22**	12,64*	9,06*
Interacción				
G x T	5,29*	9,45 ^{ns}	17,03*	12,28 ^{ns}
Residual	15,14	44,19	51,69	63,06

Letras diferentes en una columna indican diferencias e.s. con una $p \leq 0,05$.

Ns: no significativo; *: significativo $p \leq 0,05$; **: significativo $p \leq 0,01$.

Dado que aparecen interacciones entre el genotipo y el tratamiento salino (G x T) e.s. y que el objetivo del trabajo es seleccionar unas accesiones que puedan utilizarse como patrones de pimiento, se realiza un análisis de la varianza simple para cada genotipo con el propósito de estudiar la influencia estadística del tratamiento de salinidad

Fotosíntesis neta

Para el parámetro de fotosíntesis neta (A_N) estudiado no se han detectado diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos de salinidad y control en los genotipos A33, A35 y A36, mientras que en los genotipos A31, A32, A34, A37 y A38 se han observado diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre estos tratamientos, encontrándose los valores más elevados de fotosíntesis neta en las plantas control (Fig. 4.1). Los valores de A_N oscilaron entre 13,1 y 19,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, alcanzándose los valores más elevados en los genotipos A32, A33 y A34.

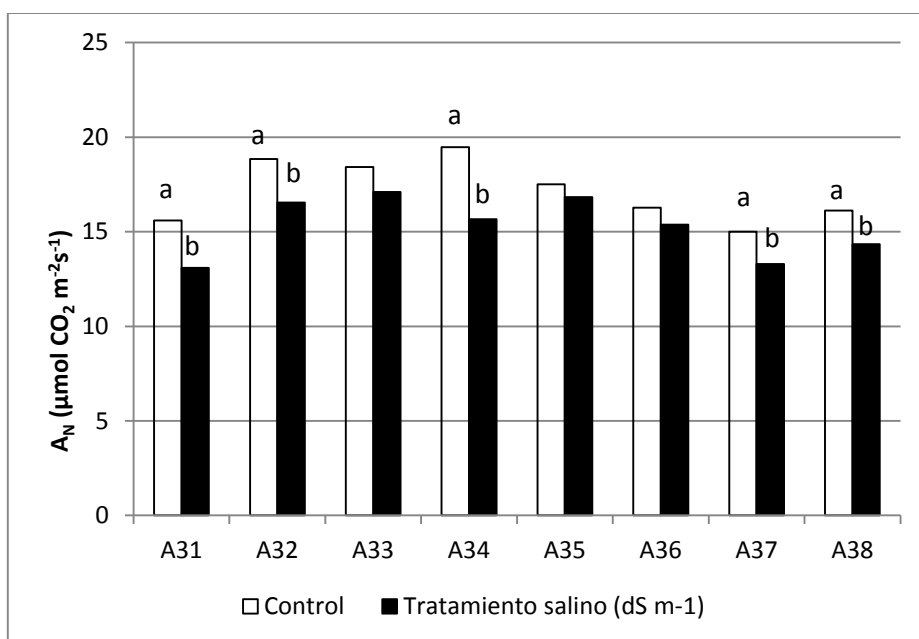


Figura 4.1. Influencia del tratamiento de salinidad en la fotosíntesis neta (A_N) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Letras diferentes indica diferencias e.s. con $p \leq 0,05$ para cada genotipo.

Conductancia estomática

Del estudio de la conductancia estomática (g_s) se destacó una influencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos salinidad y control en los genotipos A31, A34, A37 y A38 (Fig. 4.2). En cambio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) en los genotipos A32, A33 y A35, siendo los valores más elevados de conductancia estomática los de las plantas control a excepción del genotipo A32 cuya conductancia fue mayor en el tratamiento salino. Los valores de g_s variaron de 0,15 a 0,34, alcanzándose los valores más elevados en los genotipos A32, A33 y A34.

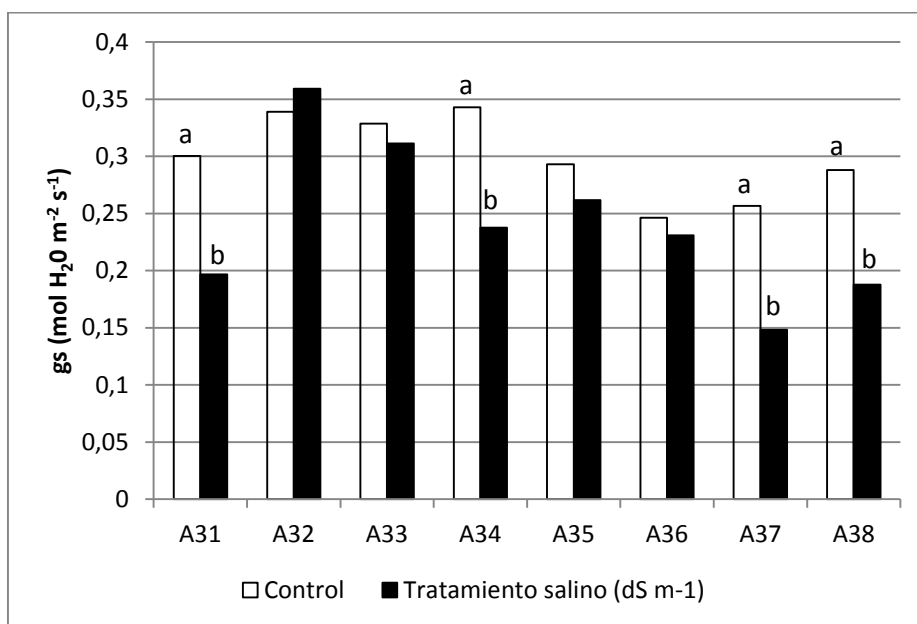


Figura 4.2. Influencia del tratamiento de salinidad en la conductancia estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Letras diferentes indica diferencias e.s. con $p \leq 0,05$ para cada genotipo.

Carbono interno

Los resultados obtenidos del análisis del Carbono interno (C_i) indicaron una influencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en el genotipo A31 entre los tratamientos de salinidad y control, mientras que en el resto de genotipos (A32, A33, A34, A35, A36, A37 y A38) no han aparecido diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$). Los valores más elevados de la concentración subestomática de CO_2 fueron los de las plantas control a excepción de las accesiones A32 y A33 cuyo carbono interno fue superior bajo tratamiento salino. Los valores de g_s oscilaron entre 205,7 y 291,2 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$, consiguiendo los genotipos A31 y A32 los valores más elevados (Fig. 4.3).

Transpiración

En ningún genotipo aparecieron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre el tratamiento control y salino en lo que respecta al parámetro de transpiración (E). Nuevamente los valores más altos de transpiración correspondieron a las plantas control salvo en la accesión A32 cuyo su valor más alto se alcanzó en las plantas con estrés salino (Fig. 4.4). Los valores de E oscilaron entre 4,6 y 8,1 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obteniendo los valores más elevados los genotipos A32 y A34.

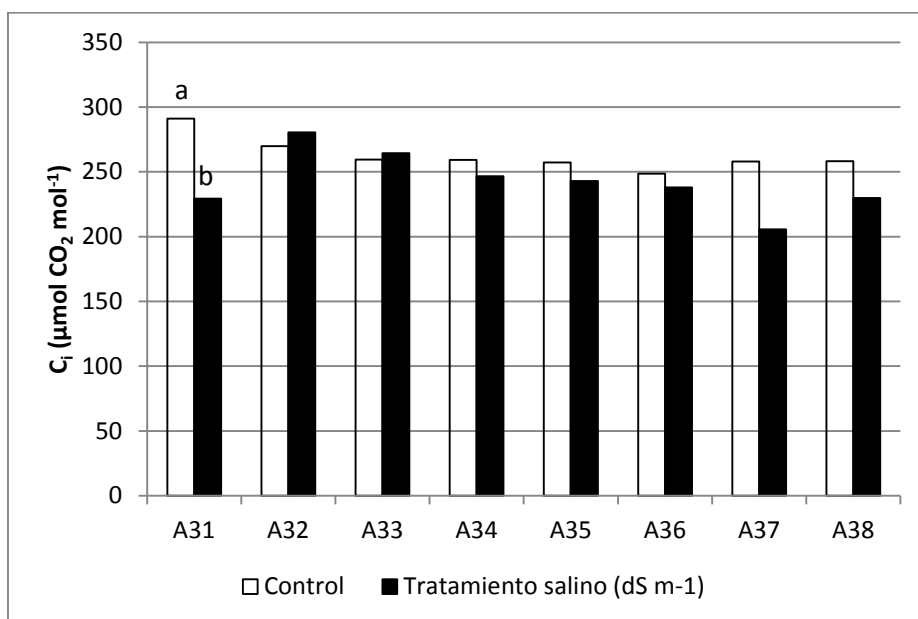


Figura 4.3. Influencia del tratamiento de salinidad en el carbono interno (C_i) (μmol CO₂ mol⁻¹). Letras diferentes indica diferencias e.s. con p≤0,05 para cada genotipo.

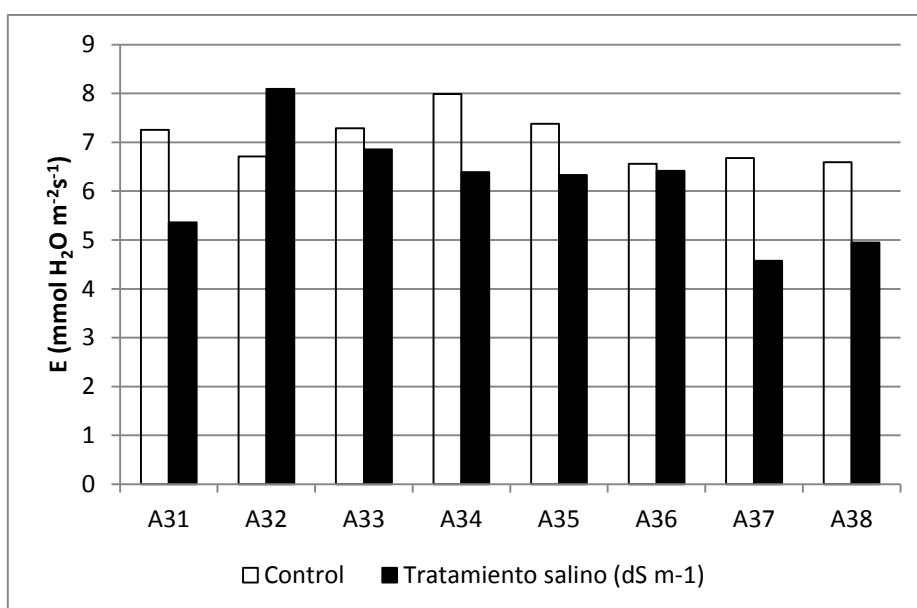


Figura 4.4. Influencia del tratamiento de salinidad en la transpiración (E) (mmol H₂O m⁻²s⁻¹). Letras diferentes indica diferencias e.s. con p≤0,05 para cada genotipo.

4.2 Relaciones hídricas

Para los parámetros de potencial estudiados en este experimento, se ha constatado una influencia e.s. (p≤0,01) del genotipo en el potencial osmótico (Ψ_o). También se ha

observado una influencia e.s. del tratamiento ($p \leq 0,01$) en el potencial hídrico (Ψ_H) y en el osmótico (Ψ_O).

El factor genotipo alcanzó una variabilidad respecto el total de entre 8,71 y el 17,47% para todos los parámetros de potencial (Tabla 4.2), mientras que el factor tratamiento salino obtuvo una variabilidad de entre 3,27 y el 70,83% (Tabla 4.2). Además la interacción genotipo x tratamiento salino fue e.s. ($p \leq 0,05$) en el potencial osmótico (Ψ_O) y la variabilidad explicada osciló entre 5,86 y 13,32%.

Tabla 4.2: Resultados del análisis de la varianza (porcentaje de la suma de cuadrados) para las relaciones hídricas en función de los factores genotipo y tratamiento salino.

	Ψ_H (MPa)	Ψ_O (MPa)	Ψ_P (MPa)
Factor			
Genotipo (G)	12,71 ^{ns}	8,71**	17,47 ^{ns}
Tratamiento (T)	31,58**	70,83**	3,27 ^{ns}
Interacción			
G x T	7,08 ^{ns}	5,86*	13,32 ^{ns}
Residual	44,16	14,60	65,91

Letras diferentes en una columna indican diferencias e.s. con una $p \leq 0,05$.

Ns: no significativo; *: significativo $p \leq 0,05$; **: significativo $p \leq 0,01$.

Puesto que hay interacciones entre el genotipo y el tratamiento salino (G x T) e.s. y que se pretende seleccionar ciertas accesiones para poder usarse como porta-injertos, se realiza un análisis de la varianza simple para cada uno de los genotipos para estudiar la influencia estadística del tratamiento de salinidad.

Potencial hídrico

Para el parámetro de potencial hídrico (Ψ_H) estudiado se advirtió una influencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre el control y el tratamiento de salinidad en los genotipos A31, A32, A33, A34, A35, A36 y A38 (Fig. 4.5) ; en cambio, en la accesión A37 no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre estos tratamientos. Los valores más elevados de potencial hídrico se encontraron en las plantas bajo la influencia de la salinidad. Los valores de Ψ_H fluctuaron entre -0,07 y -0,64 MPa, logrando el valor más negativo el genotipo A32.

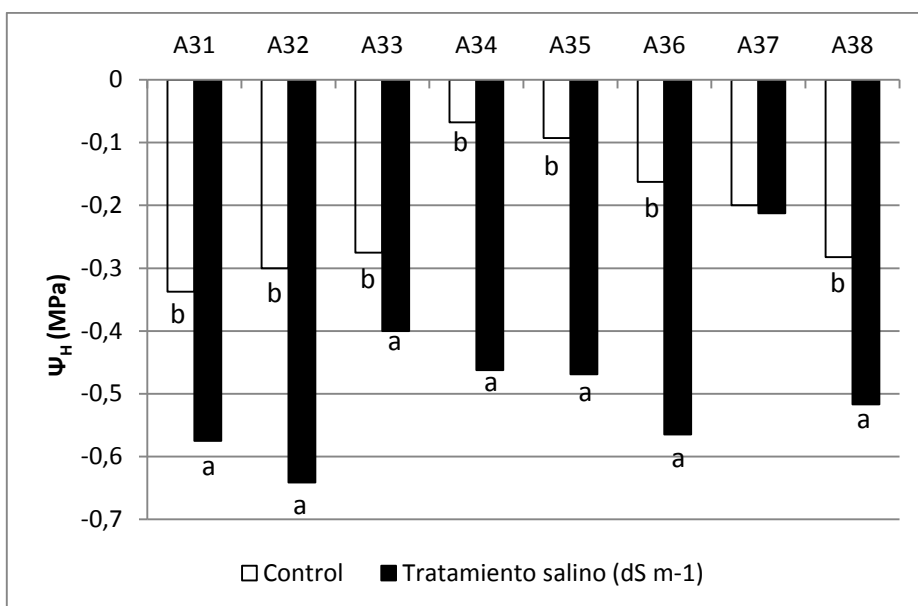


Figura 4.5. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial hídrico (Ψ_H) (Mpa). Letras diferentes indica diferencias e.s. con $p \leq 0,05$ para cada genotipo.

Potencial osmótico

En el parámetro de potencial osmótico (Ψ_o) estudiado se halló una influencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en todos los genotipos (A31, A32, A33, A34, A35, A36, A37, y A38) entre las plantas control y las estresadas por la salinidad, encontrándose los valores más negativos de potencial osmótico en las plantas con estrés salino. Los valores de Ψ_o oscilaron entre -0,77 y -1,37 MPa, alcanzándose los valores más altos en los genotipos A32, A36, A37 y A38 (Fig. 4.6).

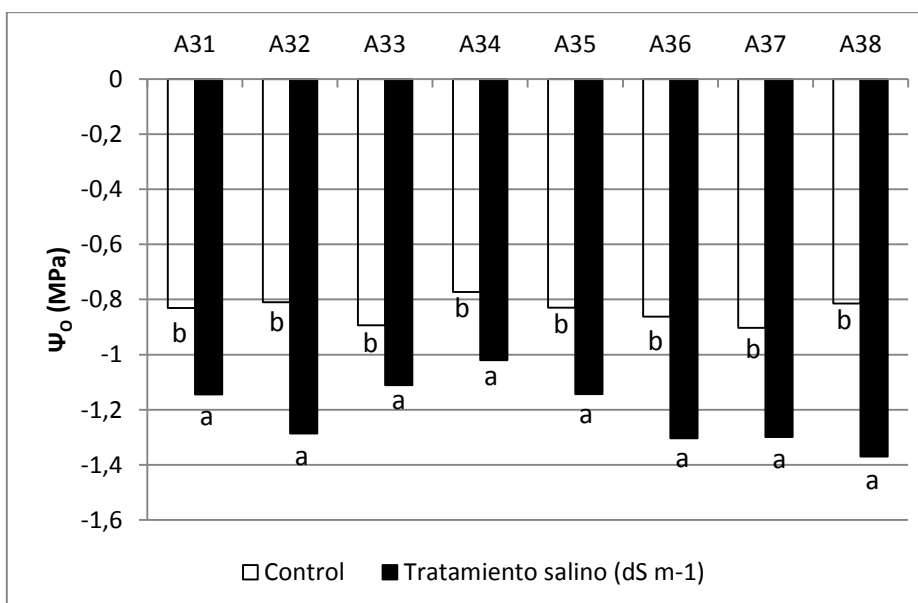


Figura 4.6. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial osmótico (Ψ_o) (Mpa). Letras diferentes indica diferencias e.s. con $p \leq 0,05$ para cada genotipo.

Potencial de presión

Para el parámetro de potencial de presión (Ψ_p) analizado se detectó una influencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en los genotipos A37 y A38 entre los tratamientos de salinidad y control (Fig. 4.7); mientras que en los genotipos A31, A32, A33, A34, A35 y A36 no se han observado diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre dichos tratamientos. Los valores más elevados de potencial de presión fueron los de las plantas con solución salina exceptuando las accesiones A34 y A35. Los valores de Ψ_p tuvieron un mínimo y un máximo de -0,49 y -1,09 MPa respectivamente, alcanzándose los valores más elevados en el genotipo A37.

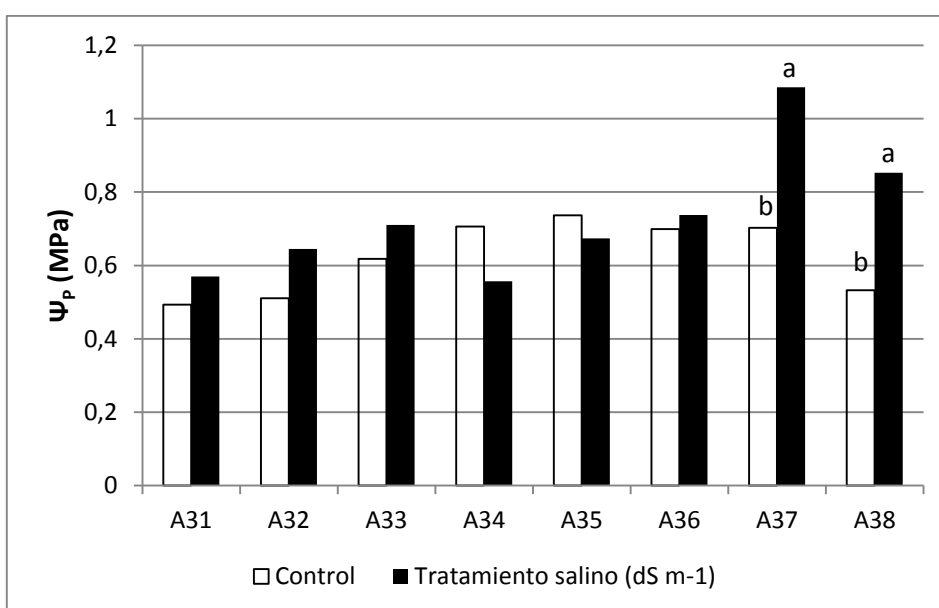


Figura 4.7. Influencia del tratamiento de salinidad en el potencial de presión (Ψ_p) (Mpa). Letras diferentes indica diferencias e.s. con $p \leq 0,05$ para cada genotipo.

5. Discusión

La productividad de los cultivos agrícolas está limitada por el estrés salino en muchas áreas del mundo. El pimiento, es una especie sensible al contenido de iones salinos tanto en el agua como en el suelo (Maas, 1986). La selección de pimientos tolerantes a condiciones salinas se ha desarrollado principalmente en genotipos con bajo valor comercial (Aktas *et al.*, 2006; Niu *et al.*, 2010). Una nueva perspectiva para el cultivo del pimiento en suelo salino es la utilización de la técnica del injerto. La selección de un patrón robusto y tolerante frente a la salinidad permitiría de una manera sostenible su cultivo y el empleo de la variedad deseada. Varios autores (Colla *et al.*, 2010) han demostrado el aumento del crecimiento y rendimiento de fruta en plantas injertadas en condiciones de salinidad, principalmente en el tomate (Santa-Cruz *et al.*, 2002; Estañ *et al.*, 2005), sandía (Goreta *et al.*, 2008; Yetisir y Uygur, 2010) o berenjenas (Liu *et al.*, 2007; Wei *et al.*, 2007), pero existen pocos estudios sobre el efecto de injerto en plantas de pimiento bajo condiciones de salinidad. El pimiento se clasifica como moderadamente sensible al estrés salino, pero su respuesta depende del cultivar (Navarro *et al.*, 2002; Niu *et al.*, 2010). Con el objetivo de encontrar accesiones de pimiento resistentes a la salinidad hemos testado 8 genotipos de pimiento cultivados bajo condiciones de salinidad en un invernadero en condiciones climáticas controladas en el área mediterránea. La selección de rasgos de tolerancia específicos bajo ambiente controlado en invernadero a menudo es necesaria para reducir la complejidad de las interacciones entre los efectos genéticos y ambientales sobre las plantas.

Los resultados obtenidos en este TFG demuestran que el genotipo tiene una mayor influencia estadística sobre todos los parámetros fotosintéticos que sobre el tratamiento salino, indicando que influye más la accesión que el tratamiento salino en sí, de modo que el proceso de selección se está realizando correctamente.

La fotosíntesis es un proceso metabólico sensible a la salinidad (Munns *et al.*, 2006; Massacci *et al.* 2008). Los datos de fotosíntesis neta mostraron diferencias significativas en los genotipos A31, A32, A34, A37 y A38 ya que su fotosíntesis neta disminuyó considerablemente. En cambio los genotipos A33, A35 y A36 no tuvieron diferencias significativas de modo que las tasas de fotosíntesis neta de estas accesiones cultivadas bajo estrés salino no variaron significativamente de las plantas control. La salinidad inhibe o disminuye el proceso de la fotosíntesis neta, ya sea debido a la limitación de la difusión en el suministro de CO₂ resultante

de un cierre parcial y / o restricción de la conductancia del mesófilo, o al alterar las reacciones de fijación de CO₂ (Niu *et al.*, 2010). En términos de fotosíntesis neta los genotipos A33, A35 y A36 podrían pues seleccionarse como porta-injertos de pimiento tolerantes a condiciones estresantes de salinidad.

Uno de los parámetros de intercambio gaseoso más sensibles a la salinidad es la Conductancia estomática (g_s), debido a que ante un estrés las plantas cierran estomas para regular la fotosíntesis (Rahnama *et al.*, 2010). En nuestros datos, excepto en el genotipo A32, el resto de genotipos con diferencias significativas en A_N tuvieron diferencias significativas en la conductancia estomática. La fotosíntesis neta y la conductancia estomática son procesos co-dependientes ya que una de las primeras respuestas al estrés salino es una disminución de la apertura de los estomas (Munns y Tester, 2008; Chaves *et al.* 2009) que puede estar correlacionado con una disminución de la fotosíntesis neta por menor entrada de CO₂ a la cavidad subestomática. La no relación encontrada en la accesión A32 probablemente sea porque las medidas de intercambio gaseoso corresponden a un estado temprano de tratamiento salino (un mes después).

En el genotipo A31 la concentración de Carbono interno (C_i) tuvo diferencias significativas entre el tratamiento salino y el control, presentando una disminución. El cierre estomático observado en estos genotipos y la disminución de C_i indican que pueden existir niveles bajos de CO₂ en la cavidad subestomática.

No se observaron cambios en la tasa de transpiración (E), indicando que el cierre estomático producido por la aplicación de la sal no afectó aún en este estado inicial a la pérdida de agua por transpiración.

El tratamiento salino tiene una mayor influencia estadística sobre el potencial hídrico y osmótico que sobre el genotipo pues el efecto salino sobre el potencial hídrico y osmótico de la planta actúa directamente sobre las raíces.

La aplicación del estrés salino demostró que tanto el potencial hídrico como el osmótico fueron más negativos en todas las plantas y esto se debe a que disminuyen el potencial hídrico de la célula para poder captar agua del suelo y mantener unas mínimas condiciones hídricas para el funcionamiento metabólico. La disminución del potencial hídrico se consigue aumentando la síntesis de osmolitos.

El potencial de presión tuvo diferencias significativas en las accesiones A37 y A38 debidas al potencial hídrico y no al osmótico.

En términos generales, nuestros resultados indican que los genotipos tolerantes seleccionados (A33, A35 y A36) podrían inducir una mejor respuesta agronómica en la planta y demuestran su capacidad para ser usados como porta-injertos. De acuerdo con los resultados obtenidos por Penella *et al.* (2013) en procesos de selección similares al desarrollado por este TFG, las accesiones seleccionadas por estos autores, atendiendo al parámetro de la tasa de fotosíntesis neta, tuvieron un mejor comportamiento agronómico que las plantas no injertadas, alcanzando mayores rendimientos comerciales. Por tanto, para continuar con este experimento sería conveniente validar el rendimiento comercial y la calidad de la producción de diferentes variedades comerciales de pimiento injertadas sobre estas accesiones en condiciones de estrés salino.

Por todo ello, la tasa de fotosíntesis neta (A_N) podría ser un parámetro útil para la selección de genotipos de pimiento tolerantes a la sal, y además cabe esperar que estas accesiones confieran a la planta un aumento de la producción, en términos cuantitativos y cualitativos, de rendimiento y calidad de la fruta, respectivamente. El uso de porta-injertos tolerantes a la sal puede ser una estrategia válida y sostenible para mejorar la tolerancia a la sal de las plantas de pimiento, a pesar de que el nivel de mejora agronómica puede estar condicionado por la sensibilidad varietal a este estrés.

6. Conclusiones

Del trabajo realizado se obtienen las siguientes conclusiones:

- El genotipo tiene una mayor influencia sobre todos los parámetros fotosintéticos que sobre el tratamiento salino.

- Los datos de fotosíntesis neta no mostraron diferencias significativas en las accesiones A33, A35 y A36.

- Tampoco mostraron diferencias significativas en la conductancia estomática los genotipos A32, A33, A35 y A36.

- En el genotipo A31 la concentración de Carbono interno (C_i) tuvo diferencias significativas entre el tratamiento salino y el control, siendo menor en las plantas estresadas.

- El tratamiento salino tiene una mayor influencia sobre el potencial hídrico y osmótico que sobre el genotipo.

- El potencial de presión no tuvo diferencias significativas en las accesiones A31, A32, A33, A34, A35 y A36 debidas al potencial hídrico y no al osmótico.

- La tasa de fotosíntesis neta A_N podría ser un buen indicador de la tolerancia de las plantas a la sal y está relacionada con la producción y calidad de los frutos. De acuerdo con los resultados obtenidos las accesiones A33, A35 y A36 podrían considerarse como genotipos válidos para ser incluidos en programas de mejora para la obtención de porta-injertos comerciales de pimiento.

7. Bibliografía

Blum, A., Munns, R., Passioura, J.B., Turner, N.C., Sharp, R.E. y Boyer, J.S. *et al.* 1996. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: How to interpret osmotic relations? *Plant Physiol.*, 110, 1051–1053.

Aktas, H., Abak, K. y Cakmak, I. 2006. Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci. Hortic.*, 110, 260-266.

Aloni, B., Cohen, R., Karni, L., Aktas, H y Edelstein, M. 2010. Hormonal signaling in rootstock-scion interactions. *Sci. Hortic.*, 127, 119–126.

Bletsos, F., Thanassoulopoulos, C. y Roupakias, D. 2003. Effect of grafting on growth, yield, and Verticillium wilt of eggplant. *Hortscience*, 38, 183–186.

Colla, G., Roupael, Y., Cardarelli, M., Massa, D., Salerno, A. y Rea, E. 2006. Yield, fruit quality and mineral composition of grafted melon plants grown under saline conditions. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 81, 146–152.

Cowan A. K., Rose P. D. y Horne L. G. 1992. *Dunaliella salina*: a model system for studying the response of plant cell to stress. *J. of Experimental Botany*, 43, 1535- 1547.

Davis, A.R., Perkins-Veazie, P., Sakata, Y., López-Galarza, S., Maroto, J.V., Lee, S.G., Huh, Y.C., Sun, Z., Miguel, A., King, S.R., Cohen, R. y Lee, J.M. 2008. Cucurbit grafting. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 27, 50–74.

De Miguel, A. 2009. Evolución del injerto de hortalizas en España. *Horticultura Internacional*, 10, 72.

Domínguez, A. 1990. El abonado de los cultivos. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 184 pp.

Estañ, M. T., Martínez-Rodríguez, M. M., Pérez-Alfocea, F., Flowers, T. J. y Bolarin, M. C. 2005. Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *J. Exp. Bot.*, 56, 703-712.

Echevarría, P. H. 2007. Situación del injerto en horticultura en España: especies, zonas de producción de planta, porta-injertos. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros.* 199, 12-25.

FAO 1996. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. http://www.fao.org/waicent/ois/press_ne/pressspa/H9F.HTM. Fecha de consulta: 11/04/2015.

FAO 2008. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Global Network on Integrated Soil Management for Sustainable Use of Salt-affected Soils, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Fecha de consulta: 11/04/2015.

FAO 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries_by_commodity/S, file://FAO%20Press%20Releases%20\(Spanish\).html](http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries_by_commodity/S,file://FAO%20Press%20Releases%20(Spanish).html). Fecha de consulta: 03/05/2015.

FAO 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. http://www.fao.org/waicent/ois/press_ne/pressspa/H9F.HTM. Fecha de consulta: 06/04/2015.

Fernández-Ballester, G., Cerda, A., y Martínez, V. 1997. Role of calcium in short-term responses of vean plants to osmotic or saline shocks. *Journal of Plant Physiology*. 151, 741-747.

Fernández-García, N., Carvajal, M. y Olmos, E. 2004a. Graft union formation in tomato plants. Peroxidase and catalase involvement. *Ann. Bot.*, 93, 53–60.

Fernández-García, N., Martínez, V., Cerdá, A. y Carvajal, M. 2004b. Fruit quality of grafted tomato plants grown under saline conditions. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 79, 995–1001.

García-Sánchez F., Syvertsen J. P., Gimeno V., Botia P. y Pérez-Pérez J.G. 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstocks seedling with different water-use efficiency. *Physiol. Plant.*, 130, 532–42.

Goreta, S., Bucevic-Popovic, V., Selak, G. V., Pavela-Vanric, M. y Perica, S. 2008. Vegetative growth, superoxide dismutase activity and ion concentration of salt-stressed watermelon as influenced by rootstock. *J. Agri. Sci.*, 146, 695-704.

Ho, L.C. y White, P. J. 2005. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Annals of Botany*, 95, 571-581.

-Ioannou, N. 2001. Integrating soil solarization with grafting on resistant rootstocks for management of soil-borne pathogens of eggplant. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 76, 396–401.

- Läuchli, A., y Grattan, S. R. 2007. "Plant growth and development under salinity stress." *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*. Springer Netherlands, 1-32.
- Lee, J. M. 1994. Cultivation of grafted vegetables. I. Current status, grafting methods and benefits. *Hortic. Sci.*, 29, 235–239.
- Liu, Z. I., Zhu, Y. L., Wei, G. P., Yang, L. F., Zhang, G. W. y Hu, C. M. 2007. Metabolism of ascorbic acid and glutathione in leaves of grafted eggplant seedling under NaCl stress. *Acta Bot. Boreal Occident Sin.*, 27, 1795-1800.
- López Ritas, J.. y López Melida, J. 1990. El diagnóstico de suelos y plantas. Métodos de campo y de laboratorio. Ed. Mundi-Prensa. MADrid. 183-201 pp.
- Martínez-Rodríguez, M. M., Estañ M. T., Moyano, E., Garcia-Abellan, J. O., Flores, F. B., Campos, J.F., *et al.* 2008. The effectiveness of grafting to improve salt tolerance in tomato when an excluder genotype is used as scion, *Environ. Exp. Bot.*, 63, 392–401.
- Maas, E.V. 1986. Salt tolerance of plants. *Applied Agricultural Research*, 1, 12- 26.
- MAGRAMA 2014. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama .gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2014/default.aspx?parte=3&capitulo=13&grupo=6&seccion=28>. Fecha de consulta 28/03/2015.
- Massacci, A., Nabiev, S. M., Pietrosanti, L., Nematov, S. K., Chernikova ,T. N., Thor, K., Leipner, J. 2008. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, 189-195.
- Maynard, D. N. y Hochmuth, G. J. 1997. *Knott's Handbook for Vegetable Growers*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 78 p.
- Munns, R. y Passioura, J. B. 1984. Effect of prolonged exposure to NaCl on the osmotic pressure of leaf xylem sap from intact, transpiring barley plants. *Functional Plant Biology*, 11(6), 497-507.
- Munns, R. y Termaat, A. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 143–160.

Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*, 16, 15–24.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 239–250.

Munns, R., James, R. A. y Laüchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.*, 57, 1025–1043.

Munns, R. y Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 59, 651–681.

Navarro, J. M., Garrido, C., Carvajal, M. y Martínez, V. 2002. Yield and fruit quality of pepper plants under sulphate and chloride salinity. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 77, 52-57.

Niu, G., Rodriguez, D. S., Crosby, K., Leskovar, D. y Jifon, J. 2010. Rapid screening for relative salt tolerance among Chile pepper genotypes. *HortSci.*, 45, 1192-1195.

Penella, C., Nebauer, S., López-Galarza, S., San Bautista, A., Gorbe, E. y Calatayud, A. 2013. Evaluation of salt stress tolerance of pepper genotypes to be used as rootstocks. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11, 1101-1107

Pascual, B., Pascual, N. y San Bautista, A. 2007. Propagación vegetal. El injerto. Ed. UPV. Valencia 33, 41pp.

Pina, A. y Errea, P. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. *Scientia Horticulturae*, 106, 1-11.

Rahnama, A., Poustini, K., Tavakkol-Afshari, R., y Tavakoli, A. 2010. Growth and stomatal responses of bread wheat genotypes in tolerance to salt stress. *Int. J. Biol. Life Sci.*, 6, 216-221.

Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Forner, J. B. y Forner-Giner, M. A. 2010. Citrus rootstock responses to water stress. *Sci Hortic*, 126, 95-102.

Santa-Cruz, A., Martínez-Rodríguez, M. M., Pérez-Alfocea, F., Romero-Aranda, R. y Bolarin, M. C. 2002. The rootstocks effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype. *Plant Sci.*, 162, 825-831.

Saure, M. 2014. Why calcium deficiency is not the cause of blossom-end rot in tomato and pepper fruit – a reappraisal. *Scientia Horticulturae*, 174, 151- 154.

Scholander, P. F., Hammel, H. T., Hemmingsen, E. A. y Bradstreet, E. D. 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 52, 119–125.

Urbano, P. 2002. Fitotecnia. Ingeniería de la producción vegetal. Ed. Mundi-Prensa. Madrid 528 pp.

Venema, J. H., Dijk, B. E., Bax, J. M., van Hasselt, P. R. y Elzenga, J. T. M. 2008. Grafting tomato (*Solanum lycopersicum*) onto the rootstock of a high-altitude accession of *Solanum habrochaites* improves suboptimal-temperature tolerance. Environ. Exp. Bot., 63, 359–367.

Y. He, Z. Zhu, J. Yang, X. Ni y B. Zhu 2009. Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity, Environ. Exp. Bot., 66, 270–278.

Y. Huang, Z. Bie, P. Liu, M. Niu, A. Zhen, Z. Liu, *et al.* 2013. Reciprocal grafting between cucumber and pumpkin demonstrates the roles of the rootstock in the determination of cucumber salt tolerance and sodium accumulation, Sci. Hortic., 149, 47–54.

Yeo, A. R. y Flowers, T. J. 1986. Ion transport in *Suaeda maritima*: its relation to growth and implications for the pathway of radial transport of ions across the root. Journal of Experimental Botany, 37, 143–159..

Yetisir, H. y Uygur, U. 2010. Responses of grafted watermelon onto different gourd species to salinity stress. J. Plant Nutr., 33, 315-327.

Wei, G. P., Zhu, Y. L., Liu, Z. L., Yang, L. F. y Zhang, G. W. 2007. Growth and ionic distribution of grafted eggplant seedling with NaCl stress. Acta Bot. Boreal Occident Sin., 27, 1172-1178.