



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



Centro Interdisciplinario de Investigación para
el Desarrollo Integral Regional
CIDIR MICHOACÁN

**CAMBIOS ESTRUCTURALES Y FITOQUÍMICOS EN PLANTAS
CRECIENDO EN SUELOS SALINOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

“MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE”

PRESENTA:

KARLA YADIRA BARRIGA NITO

DIRECTORES:

DRA. DIOSELINA ÁLVAREZ BERNAL

DRA. MONSERRAT VÁZQUEZ SÁNCHEZ

Jiquilpan, Michoacán, México. Diciembre de 2019



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14-BIS

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 19 del mes de Noviembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

"Cambios estructurales y fitoquímicos en plantas creciendo en suelos salinos".

Presentada por el alumno:

Barriga	Nito	Karla Yadira
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre
		Con registro:
		B 1 7 1 1 2 7

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable

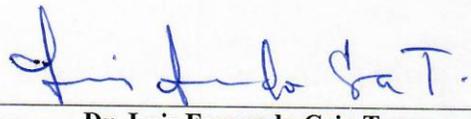
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA
Directores de tesis


Dra. Dioselina Álvarez Bernal


Dra. Monserrat Vázquez Sánchez


Dr. José Roberto Medina Medrano


Dr. Luis Fernando Ceja Torres


M. en C. Ernesto Oregel Zamudio



SECRETARÍA DE
 EDUCACIÓN PÚBLICA
 Instituto Politécnico Nacional
 CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE
 INVESTIGACIÓN PARA EL
 DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
 CIIDIR - IPN - U. MICH.


Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 5 del mes de diciembre del año 2019, la que suscribe **Karla Yadira Barriga Nito** alumna del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable, con número de registro **B171127**, adscrita al **CIIDIR IPN Unidad Michoacán**, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. **Dioselina Álvarez Bernal** y la Dra. **Monserrat Vázquez Sánchez** y cede los derechos del trabajo titulado “**Cambios estructurales y fitoquímicos en plantas creciendo en suelos salinos**”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones karlaybarriganito@gmail.com, dalvarezb@ipn.mx y monsevaz.sanchez@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Karla Yadira Barriga Nito

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Dra. Monserrat Vázquez Sánchez, gracias por su apoyo, su paciencia y el dedicarle el tiempo necesario para que todo el proceso fuera de crecimiento y mejora, gracias por ser una persona fundamental para lograr la finalización de este proyecto.

Dra. Dioselina Álvarez Bernal, gracias por su apoyo en todo momento, por siempre prestar atención a todas las necesidades que se presentaban durante el proyecto, por su paciencia y escucharme cuando tenía algún problema, estoy muy agradecida por su ayuda para que este proyecto llegara a su culminación satisfactoriamente.

Agradezco enormemente a mis padres María Teresa Nito Mendoza y Flavio Martín Barriga Flores, por siempre apoyarme en cada momento, por darme fuerza y valor, ya que fueron fundamentales para cursar el posgrado.

Agradezco con todo mi corazón a mi hermano Abraham Misael Barriga Nito por es uno de mis mas grande ejemplos de vida, gracias por darme siempre fuerza, apoyo y por confiar siempre en mí, siempre has sido mi mayor motivación para hacer cualquier cosa en mi vida y siendo tú el que me aconsejo realizar el posgrado, lo cual ha sido hasta el momento la experiencia más importante en mi vida.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Instituto Politécnico Nacional (IPN), por brindándome las herramientas formativas y el apoyo económico para el desarrollo de este proyecto.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2 JUSTIFICACIÓN.....	3
3 HIPÓTESIS.....	3
4 OBJETIVOS.....	3
4.1 General.....	3
4.2 Específicos.....	3
5. MARCO TEÓRICO.....	4
5.1 Estrés en plantas.....	4
5.2 Tipos de estrés de acuerdo con la intensidad del factor estresante.....	5
5.3 Mecanismos de respuesta al estrés abiótico.....	5
5.4 Fases de respuesta al estrés.....	6
5.5 Tolerancia y plasticidad.....	7
5.6 Mecanismo de tolerancia	8
5.7 Adaptaciones.....	10
5.7.1 Adaptaciones estructurales y metabólicas.....	11
5.7.2 Adaptaciones bioquímicas.....	12
5.8 Tipos de estrés abióticos más comunes.....	13

5.8.1 Estrés hídrico.....	13
5.8.2 Estrés por temperaturas extremas.....	14
5.8.3 Estrés salino.....	15
5.9 Suelos.....	16
5.9.1 Suelos salinos.....	18
5.10 Tolerancia a la salinidad.....	19
5.11 Plantas tolerantes a la salinidad.....	20
5.12 Adaptaciones estructurales y fitoquímicas de las plantas en suelos salinos.....	21
6 MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
6.1 Zona de estudio.....	26
6.2 Colecta de material vegetal y suelo para el experimento en invernadero	26
6.3 Colecta de material vegetal y suelo en campo	26
6.4 Montaje del experimento en el invernadero.....	27
6.5 Descripción de los cambios morfológicos y anatómicos.....	27
6.6 Colecta y procesamiento de material vegetal.....	27
6.7 Fitoquímica.....	29
6.7.1 Secado.....	29
6.7.2 Molienda.....	29
6.7.3 Preparación de extractos.....	29
6.7.4 Cuantificación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu).....	29
6.7.5 Cuantificación de flavonoides totales.....	30

6.7.6 Cuantificación de taninos condensados.....	30
6.7.7 Análisis de la capacidad antioxidante total.....	31
6.7.8. Determinación de la capacidad bloqueadora del radical libre DPPH	31
6.7.9 Determinación de la capacidad bloqueadora del radical libre ABTS	32
6.8 Análisis estadísticos.....	32
6.9 Diseño experimental.....	33
7 RESULTADOS.....	34
7.1 Caracterización de suelos.....	34
7.1.1 Caracterización inicial y final de suelos para suelos salinos, utilizados en invernadero para el crecimiento de <i>Bacopa monnieri</i>	34
7.1.2 Caracterización inicial y final de los suelos utilizados en invernadero para el crecimiento de <i>F. trinervia</i>	36
7.1.3 Caracterización de suelos obtenidos en campo.....	37
7.2 Caracteres funcionales de la planta a nivel morfológico	38
7.2.1 Atributos morfológicos de <i>Bacopa monnieri</i>	38
7.2.2 Atributos morfológicos de <i>Flaveria trinervia</i>	39
7.3 Caracteres funcionales de la planta a nivel anatómico	40
7.3.1 Descripción de los atributos anatómicos de <i>B. monnieri</i> en invernadero.....	40
7.3.1.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz	40
7.3.1.2 Descripción y medición de los tejidos del Tallo.....	43
7.3.1.3 Descripción y medición de los tejidos de la Hoja.....	45

7.3.2 Descripción de los atributos anatómicos de <i>B. monnieri</i> en condiciones de campo.....	48
7.3.2.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz.....	48
7.3.2.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo.....	51
7.3.2.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja.....	53
7.4.3 Descripción de los atributos anatómicos de <i>F. trinervia</i> individuos de invernadero.....	56
7.4.3.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz.....	56
7.4.3.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo.....	59
7.4.3.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja.....	61
7.4.5 Descripción de los atributos anatómicos de <i>F. trinervia</i> en condiciones de campo.....	65
7.4.5.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz.....	65
7.4.5.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo.....	68
7.4.5.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja.....	70
7.4 Caracteres funcionales de la planta a nivel fitoquímico.....	73
7.4.1 Resultados de contenido fenólico total, contenido de flavonoides totales, contenido de taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS.....	73
8 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	77
8.1 Caracterización de los suelos de invernadero y campo.....	77
8.2 Modificaciones morfo-anatómicas y fitoquímicas de las plantas creciendo en suelos con conductividades eléctricas contrastantes en invernadero y campo.....	79

8.2.1. <i>Bacopa monnieri</i> invernadero.....	79
8.2.2 <i>Bacopa monnieri</i> en condiciones de campo.....	82
8.2.3 <i>Flaveria trinervia</i> en invernadero.....	87
8.2.4 <i>Flaveria trinervia</i> en condiciones de campo.....	90
8.3 Modificaciones fitoquímicas de las plantas creciendo en suelos con conductividades eléctricas contrastantes en invernadero y campo.....	93
8.3.1 <i>Bacopa monnieri</i> y <i>Flaveria trinervia</i> invernadero.....	93
8.3.2 <i>B. monnieri</i> en condiciones de campo.....	96
8.3.2 <i>F. trinervia</i> en condiciones de campo.....	99
9. CONCLUSIÓN.....	102
11. RECOMENDACIONES SUGERIDAS.....	103
10. BIBLIOGRAFÍA.....	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Triangulo textural.....	17
Figura 2.	Tejidos de la raíz de <i>B. monnieri</i> en invernadero.....	42
Figura 3.	Tejidos del tallo de <i>B. monnieri</i> en invernadero.....	44
Figura 4.	Tejido de hoja de <i>B. monnieri</i> en tratamientos de invernadero...	46
Figura 5.	Tejido de raíz de <i>Bacopa monnieri</i> obtenida en campo.....	50
Figura 6.	Tejido de tallo de <i>B. monnieri</i> en sitios de campo.....	52
Figura 7.	Tejidos de hojas de <i>B. monnieri</i> en sitios de campo.....	54
Figura 8.	Tejidos de raíz de <i>F. trinervia</i> en invernadero.....	58
Figura 9.	Tejidos de tallo de <i>F. trinervia</i> en tratamientos de invernadero...	60
Figura 10.	Tejidos de hoja de <i>F. trinervia</i> en tratamientos de invernadero...	63
Figura 11.	Tejidos de raíz de <i>F. trinervia</i> en sitios de campo.....	67
Figura 12.	Tejidos de tallo de <i>F. trinervia</i> en sitios de campo.....	69
Figura 13.	Tejidos de hoja de <i>F. trinervia</i> en sitios de campo.....	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Diseño experimental para ambas especies.....	33
Cuadro 2.	Caracterización inicial y final de clase textural, porcentaje de materia orgánica y salinidad de los suelos de invernadero para ambas plantas	34
Cuadro 3.	Comparación de los resultado de caracterización inicial y final de suelos en invernadero para <i>B. monnieri</i> para cada tratamiento	35
Cuadro 4.	Resultado de la caracterización final de suelos en invernadero para <i>F. trinervia</i> para ambos tratamientos	36
Cuadro 5.	Caracterización de C.I.C, clase textural, porcentaje de materia orgánica y tipo de salinidad de los suelos de los sitios de campo para ambas plantas.....	37
Cuadro 6.	Resultados de la caracterización de suelo de campo para ambas especies.....	37
Cuadro 7.	Resultados de las mediciones morfológicas de los individuos de <i>B. monnieri</i> obtenidos de invernadero.....	39
Cuadro 8.	Resultado de las mediciones morfológicas de los individuos de <i>B. monnieri</i> en campo	39
Cuadro 9.	Resultados de las mediciones morfológicas de los individuos de <i>F. trinervia</i> en invernadero.	39
Cuadro 10.	Resultados de las modificaciones morfológicas de <i>F. trinervia</i> de cada sitio de campo	40
Cuadro 11.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de <i>B. monnieri</i> de invernadero.....	46
Cuadro 12.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de hoja de <i>B. monnieri</i> en invernadero.....	47
Cuadro 13.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de <i>B. monnieri</i> en campo.....	54

Cuadro 14.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de hoja de <i>B. monnieri</i> en campo..	55
Cuadro 15.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de <i>F. trinervia</i> en invernadero..	63
Cuadro 16.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de <i>Flaveria trinervia</i> de invernadero.....	63
Cuadro 17.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de <i>F. trinervia</i> colectados en campo.....	71
Cuadro 18.	Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de <i>F. trinervia</i> colectados en campo.....	72
Cuadro 19.	Contenido fenólico total, concentración de flavonoides y taninos de <i>B. monnieri</i> en invernadero.....	74
Cuadro 20.	Contenido fenólico total, concentración de flavonoides y taninos de <i>B. monnieri</i> en campo.....	74
Cuadro 21.	Contenido fenólico total, concentración de flavonoides y taninos de <i>F. trinervia</i> en invernadero.	75
Cuadro 22.	Contenido fenólico total, concentración de flavonoides y taninos de <i>F. trinervia</i> en campo.....	75

RESUMEN

En plantas halófitas facultativas como *Bacopa monnieri* y *Flaveria trinervia* que crecen en “Los Negritos” Michoacán, se desconoce el tipo de modificaciones morfo-anatómicas que desarrollan para poder sobrevivir en suelos salinos, así como si este tipo de estrés favorece o no la producción de metabolitos secundarios. El objetivo general de esta investigación fue evaluar las modificaciones morfo-anatómicas y fitoquímicas de *B. monnieri* y *F. trinervia* creciendo bajo estrés salino. La metodología que se siguió para la caracterización de suelo se realizó con forme a la NOM-021-SEMARNAT-2000; para las modificaciones morfológicas se realizaron mediciones de longitud de raíz, tallo y área foliar; para las modificaciones anatómicas se realizó el procesamiento de material vegetal con la microtecnia convencional; y para las determinaciones fitoquímicas se realizó la preparación de los extractos, cuantificación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu), cuantificación de flavonoides totales, cuantificación de taninos condensados, capacidad antioxidante total, inhibición de los radicales libres DPPH Y ABTS. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza (ANOVA), prueba de Tukey $\alpha < 0.05$ para las muestras de campo y T student ($p < 0.05$), utilizando el software estadístico SPSS IBM versión 24. *B. monnieri* del tratamiento B , mostró menor tamaño en los tejidos de raíz, tallo y hoja, pero mayor densidad de estomas y glándulas en hoja, también mayor concentración de compuesto fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados con mayor capacidad antioxidante total y la concentración media inhibitoria de los radicales libres DPPH y ABTS con el extracto metanólico al 80%; en campo, los del sitio 1 presentaron mayor tamaño en tejidos de la hoja y raíz, y los del sitio 2 mayor tamaño en los tejidos del tallo, en el caso de los compuestos fitoquímicos el sitio 1 con el extracto etanólico al 80% presentó mayor concentración de flavonoides totales con mayor capacidad antioxidante que los otros sitios, y el sitio 3 con el extracto etanólico al 80% presentó mayor concentración de compuestos fenólicos totales y taninos condensados con mayor porcentaje de inhibición de los radicales libres DPPH y ABTS. En el caso de *F. trinervia* del tratamiento B mayor tamaño en tejidos de raíz, hoja y tallo, también presentó mayor concentración de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados con mayor capacidad antioxidante y la concentración media

inhibitoria de los radicales libres en el extracto con metanol al 80%, los individuos del tratamiento A presentaron mayor índice estomático en el haz vascular, densidad estomática y tricomas; en campo, los del sitio 1 y 3 presentan mayor tamaño en tejidos de raíz y tallo, y los del sitio 2 mayor tamaño en tejidos de la hoja, en el caso de la concentración de compuestos fenólicos, el sitio 1 presentó mayor concentración de compuesto fenólicos totales y taninos condensados con mayor capacidad antioxidante y la concentración media inhibitoria de radicales libres DPPH y ABTS, el sitio 3 presentó mayor concentración de flavonoides totales con una inhibición del radical DPPH similar a la del sitio 1. En conclusión, en el caso de *B. monnieri* cuando está expuesta a estrés salino disminuye el tamaño de sus tejidos en toda la planta y no acumula los iones tóxicos en forma de cristales; *F. trinervia* aumenta el tamaño de los tejidos en toda la planta y acumula los iones tóxicos en forma de cristales tanto en el córtex y xilema, y transporta estos cristales por la vía apoplástica en el floema. En ambas plantas se observa un incremento de compuestos fenólicos cuando creció bajo estrés salino siendo una respuesta positiva para minimizar los efectos dañinos de los iones tóxicos.

ABSTRAC

In facultative halophyte plants such as *Bacopa monnieri* and *Flaveria trinervia* that grow in “Los Negritos” Michoacán, the type of morpho-anatomical modifications they develop to survive in saline soils is unknown, as well as whether or not this type of stress favors the production of secondary metabolites. The general objective of this research was to evaluate the morpho-anatomical and phytochemical modifications of *B. monnieri* and *F. trinervia* growing under saline stress. The methodology that was followed for soil characterization was carried out in accordance with NOM-021-SEMARNAT-2000; for morphological modifications, measurements of root length, stem and leaf area were made; for the anatomical modifications the processing of plant material was carried out with conventional microtechnics; and for phytochemical determinations, the preparation of the extracts, quantification of total phenols (Folin-Ciocalteu), quantification of total flavonoids, quantification of condensed tannins, total antioxidant capacity, inhibition of DPPH and ABTS free radicals was performed. For the statistical analysis, an analysis of variance (ANOVA), Tukey test $\alpha < 0.05$ for the field samples and T student ($p < 0.05$) was performed, using the statistical software SPSS IBM version 24. *B. monnieri* of treatment B, showed smaller size in root, stem and leaf tissues, but higher stomatal and leaf gland density, also greater concentration of total phenolic compounds, total flavonoids and condensed tannins with greater total antioxidant capacity and the average free radical inhibitory concentration DPPH and ABTS with 80% methanolic extract; in the field, those of site 1 presented larger size in leaf and root tissues, and those of site 2 larger size in stem tissues, in the case of phytochemicals, site 1 with 80% ethanolic extract presented greater concentration of total flavonoids with greater antioxidant capacity than the other sites, and site 3 with 80% ethanolic extract had a higher concentration of total phenolic compounds and condensed tannins with a higher percentage of DPPH and ABTS free radical. In the case of *F. trinervia* of treatment B larger in root, leaf and stem tissues, it also had a higher concentration of total phenolic compounds, total flavonoids and condensed tannins with greater antioxidant capacity and the average inhibitory concentration of

free radicals in the extract with 80% methanol, the individuals in treatment A had a higher stomatic index in the vascular bundle, stomatic density and trichomes; in the field, those of site 1 and 3 have a larger size in root and stem tissues, and those of site 2 are larger in leaf tissues, in the case of the concentration of phenolic compounds, site 1 presented a higher concentration of compound total phenolics and condensed tannins with greater antioxidant capacity and the average inhibitory concentration of DPPH and ABTS free radicals, site 3 had a higher concentration of total flavonoids with a DPPH radical inhibition similar to that of site 1. In conclusion, in the case of *B. monnieri* when exposed to saline stress decreases the size of its tissues throughout the plant and does not accumulate toxic ions in the form of crystals; *F. trinervia* increases the size of tissues throughout the plant and accumulates toxic ions in the form of crystals in both the cortex and xylem, and transports these crystals by the apoplastic pathway in the phloem. In both plants an increase of phenolic compounds is observed when it grew under saline stress being a positive response to minimize the harmful effects of toxic ions.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas desarrollan mecanismos de defensa que les permiten adaptarse al medio donde crecen, sin embargo, si uno de los factores físicos del medio donde se desarrolla se modifica, se produce estrés de tipo abiótico, entre los cuales se encuentra la salinidad, la sequía y las temperaturas extremas (Martínez *et al.*, 2011). La presencia de salinidad en los suelos provoca que la productividad de los cultivos disminuya drásticamente. En los 90's entre el 25-50% de las zonas de riego estaban salinizadas a nivel mundial (Lamz y González, 2013); pero aun así algunas plantas se modifican de manera estructural y fitoquímica para poder resistir la presencia de sales, por ejemplo: en la piña (*Ananas comosus* L.), se observaron modificación en la densidad estomática de las láminas foliares, en la densidad tricomática, en las raíces y en la exodermis (Quintana *et al.*, 2012). En plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) se observó aumento de tamaño en la raíz, tallo y hojas, (Villa *et al.*, 2006). En las plantas de papaya (*Carica papaya* L.) se presentó una respuesta morfogénica para contrarrestar la toxicidad (Parés *et al.*, 2008). En la caña de azúcar (*Saccharum* sp.) se observan cambios en el patrón histológico de las raíces, ajuste osmótico y la protección del citoplasma (García *et al.*, 2011); estos cambios estructurales son producto de la producción de hormonas vegetales que desencadenan una serie de modificaciones estructurales, entre estas se encontraron: auxinas, giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), citoquininas (CK), ácido salicílico (SA), etileno (ET), jasmonatos (JA), brasinoesteroides (BR), hormonas peptídicas y las estrigolactonas (Bari y Jones, 2009); dentro de las sustancias químicas que produce la planta como mecanismos de defensa también se encontraron los metabolitos secundarios como los polifenoles (Martínez *et al.*, 2000).

Las plantas medicinales, importantes dentro de la herbolaria mexicana, son capaces de vivir en suelos salinos, lo cual las coloca dentro del 1% del grupo de plantas halófitas a nivel mundial (Flowers *et al.*, 2010); dos de estas plantas son *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. y *Flaveria trinervia* (Spreng.) C. Mohr. *B. monnieri* es una planta suculenta que en la medicina tradicional se utiliza para mejorar la memoria, como antiinflamatorio, analgésico, antipirético, sedante y antiepiléptico (Russo y Borrelli,

2003), existen distintos estudios que han comprobado su efecto neuroprotector (Uabundit *et al.*, 2010). *F. trinervia* es comúnmente conocida como “hierba del burro” o “hierba de la barranca”, esta planta se utiliza en infusiones para malestares estomacales y reacciones inflamatorias (Heinrich *et al.*, 1998), pero en estudios recientes se ha descubierto que sus metabolitos secundarios tienen un efecto moderado sobre *Giardia lamblia* (Tapia *et al.*, 2003); también presenta efecto antimicrobiano (Osuna *et al.*, 2005); entre otros. Ambas plantas tienen importancia medicinal gracias a los metabolitos secundarios que producen. Ramakrishna y Aswathanarayana (2011), mencionan que los metabolitos secundarios únicamente son generados por las plantas en presencia de estrés, si las plantas no se encuentran en medios estresantes estas no modificarán su bioquímica, por lo tanto, las plantas no contendrán los metabolitos secundarios, los cuales además provocan las modificaciones estructurales necesarias para que las plantas puedan sobrevivir al factor estresante.

Existen diversos estudios de las modificaciones estructurales y fitoquímicas que sufren las plantas cultivadas para poder sobrevivir a los factores estresantes, pero no hay información suficiente sobre las modificaciones estructurales y fitoquímicas que sufren las plantas silvestres utilizadas tradicionalmente como medicinales, teniendo en cuenta que los productos de dichas plantas tienen efectos benéficos en la salud humana y que se han utilizados por siglos, pero también algunas de estas plantas son halófitas, las cuales benefician al suelo a través de la biorremediación, absorbiendo y almacenando iones tóxicos en sus tejidos; por esta razón es importante investigar las modificaciones de dichas plantas, utilizando como modelos a *B. monnieri* y a *F. trinervia*, las cuales crecen en ambientes salinos, y suponemos que estas plantas cuentan con los mecanismos de respuesta hacia ese factor estresante, por lo tanto se podrán observar modificaciones sin llegar a causarles la muerte, y se determinaría bajo que conductividad eléctrica del suelo, estas plantas producen modificaciones estructurales significativas y a que conductividad eléctrica producen mayor cantidad de fitoquímicos.

2. JUSTIFICACIÓN

Se desconocen los mecanismos que las plantas silvestres desarrollan para poder sobrevivir a ambientes extremos. Por lo que, en la presente investigación, se documentará si existen modificaciones estructurales y fitoquímicas que utilicen las plantas silvestres utilizadas como modelo para sobrevivir al estrés salino.

3. HIPÓTESIS

Bacopa monnieri y *Flaveria trinervia* creciendo en suelos con conductividad eléctrica elevada presentan modificaciones morfológicas, anatómicas y fitoquímicas, como respuesta al estrés.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Estudiar las modificaciones morfo-anatómicas y fitoquímicas de *Bacopa monnieri* y *Flaveria trinervia* creciendo bajo estrés salino.

4.2 Específicos:

- Caracterización de suelos salinos para determinar los tratamientos utilizados en invernadero y selección de sitios en campo.
- Describir y comparar las modificaciones morfo-anatómicas de las plantas creciendo en suelos con conductividades eléctricas contrastantes en invernadero y campo.
- Evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos etanólicos y metanólicos de *B. monnieri* y *F. trinervia* de invernadero y campo.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Estrés en plantas

El estrés se puede definir como una amenaza a la homeostasis de una planta por la alteración de alguno o algunos de los factores que están presentes en el medio en el que se desarrolla, causando modificaciones en determinados procesos estructurales o bioquímicos (Basurto et al., 2008), las plantas desarrollan diferentes mecanismos de respuesta hacia un mismo factor estresante, pasando por desestabilización, normalización y resistencia mejorada, pero si sobrepasan los niveles de tolerancia, esto provocará que la planta muera (Lichtenthaler, 1995). El estrés también puede ser provocado por una limitación o un exceso de los factores presentes y necesarios para el desarrollo de las plantas, o bien por variaciones impredecibles en el metabolismo normal, causando daños, enfermedades o cambios fisiológicos anormales (Abdul et al., 2009).

Todos los organismos, al igual que las plantas, tienen la capacidad de autorregularse, manteniendo en estado óptimo todas sus funciones; esto es a lo que se le conoce como homeostasis (Aréchiga, 2000), ya que, si se presenta una ligera modificación de alguno de los factores, la planta se autorregulará para volver a mantener todas sus funciones óptimas y sobrevivir (Antonovics y Levin, 1980). Una de las funciones principales de las plantas es la reproducción, ya que gracias a esta se perpetua la especie, pero cuando las plantas están estresadas en muchos casos no logran llegar a la etapa reproductiva, ya que el medio donde se desarrollan les impide expresar su potencial genético completo para la reproducción (Boyer, 1982).

El estrés es provocado por factores bióticos y abióticos. El estrés biótico es causado por la acción de organismos como: plantas, animales, insectos, bacterias, hongos, virus, nematodos, entre otros (Benavides, 2002). Los factores abióticos que causan estrés son: exceso o déficit de agua, exceso de sales en el suelo, temperaturas extremas, contaminantes medioambientales, déficit o exceso de luz, deficiencia de minerales, compactación del suelo, viento excesivo, lesiones y condiciones

ambientales adversas (Ávila, 2008), este tipo de estrés causa grandes pérdidas de producción agrícola en todo el mundo, principalmente el estrés causado por la sequía, la salinidad y la temperatura, pero no siempre se encuentra solo un tipo de estrés afectando a las plantas o a los cultivos, por lo general se encuentran los dos tipos de estrés; aún no se conocen precisamente los mecanismos moleculares que emplean las plantas para poder adaptarse a la combinación de dos distintos tipos de estrés (Mittler, 2006).

5.2. Tipos de estrés de acuerdo con la intensidad del factor estresante

La intensidad y duración del factor estresante, sobre la planta, es lo que determinará si la planta logra adaptarse o morir. Existen dos tipos de estrés determinados por el nivel de tolerancia (Ortiz, 2017). El eu-estrés: es un tipo de estrés suave, estimulante y benéfico para la planta, el cual se presenta como un cambio en el entorno natural y la interacción de la planta con este, es un estrés de baja intensidad o de poca duración (Maia y Mendes, 2003), que beneficia a la planta para poder comenzar su proceso reproductivo y producir fitoquímicos necesarios. El dis-estrés: es un tipo de estrés que afecta negativamente a las plantas, es de alta intensidad o de larga duración, es dañino para la planta, provoca disminución del crecimiento e incluso la muerte, si la planta logra sobrevivir se produce un endurecimiento y se establece un nuevo patrón fisiológico (Zlatev y Cebola, 2012).

5.3. Mecanismos de respuesta al estrés abiótico

Las plantas son organismos que han evolucionado para poder resistir los distintos factores estresantes que se presentan en su entorno utilizando mecanismos para mantener la homeostasis de las células, así como la expresión génica de defensa de plantas en las membranas celulares que por la acción de los ácidos grasos presentes se generan barreras para reducir el impacto del factor estresante (Upchurch, 2008), entre otros. El primer paso antes de los mecanismos de respuesta es la detección del agente estresante y la conversión de esta señal en una respuesta específica mediante osmosensores, hormonas vegetales y segundos mensajeros (Vinocur y Altaman,

2005). El segundo paso es la transcripción, en la cual se hacen presentes los genes específicos para la expresión y regulación de las modificaciones necesarias para resistir al factor estresante. El tercer paso es la regulación post-transcripcional, el cual es un proceso regulado desde el ARN mensajero hasta la obtención de proteínas. Los mecanismos de respuesta al estrés hídrico se dan después de una producción rápida de ABA (Abscisic acid) que genera una serie de respuestas fisiológicas como lo es el cierre de estomas para evitar la pérdida de agua, transporte de iones por la membrana celular y protección de la fotosíntesis, ya que al cerrar los estomas la cantidad de CO₂ disminuye afectando la fotosíntesis (Osakabe *et al.*, 2014). Los mecanismos de respuesta al estrés salino son: ajuste osmótico, restricción de la difusión de CO₂ al cloroplasto para regular la fotosíntesis, selectividad de la membrana a iones tóxicos, detoxificación de sales y acumulación de sales en los tejidos (Chaves *et al.*, 2009). Las plantas son sensibles tanto a bajas como a altas temperaturas, los mecanismos de respuesta al estrés por temperatura son: estimulación de la glicolisis, reducción del tamaño de las células, cierre de estomas, aumento del tamaño de estomas, tricomas y vasos del xilema (Chaves y Gutiérrez, 2017). Después de los mecanismos de respuesta al estrés se genera de nuevo la homeostasis dando por resultado la tolerancia o resistencia al factor estresante.

5.4. Fases de respuesta al estrés

Durante el proceso de respuesta al estrés el catabolismo es mayor que el anabolismo, esto provoca que las estructuras y las funciones de la planta se desestabilicen (Ariza, 2012). Las plantas responden al estrés mediante un proceso que consta de:

Fase de alarma: en esta fase se produce una desestabilización de las condiciones estructurales y funcionales necesarias para el desarrollo normal de las actividades vitales de la planta. En esta fase el catabolismo predomina sobre el anabolismo. Si la intensidad del factor estresante se mantiene, se comienzan procesos de reparación, como síntesis de proteínas o síntesis de nuevas sustancias protectoras, conocidas como metabolitos secundarios (Lambers *et al.*, 2008), los cuales son muy importantes para la industria farmacéutica, cosmética, alimenticia y agroquímica. En la industria farmacéutica se utilizan como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos,

antioxidantes, antitumorales inmunoestimulantes, entre otros, por esta razón, algunas plantas son estresadas para poder obtener dichos metabolitos (Pérez y Jiménez, 2011).

Fase de aclimatación: cuando hay un estrés constante, se generan modificaciones en el fenotipo de la planta trayendo mejoras en el rendimiento fisiológico de la planta dando una gran resistencia y recuperando los valores metabólicos afectados (Wilson y Franklin, 2002), gracias a esto se mejora la estabilidad obteniendo la normalización del metabolismo. Esta máxima resistencia puede mantenerse aún después de que el estímulo estresante haya cesado, cabe mencionar que este proceso en general tiene un periodo de duración corto (Montes *et al.*, 2016), pero que se puede repetir constantemente dependiendo de las condiciones del medio de desarrollo.

Fase de adaptación: en esta fase todas las modificaciones fisiológicas y bioquímicas son transmitidas a las siguientes generaciones para que estas soporten el bajo rendimiento (Blanco *et al.*, 2009), de esta manera las modificaciones beneficiosas son las que se transmiten para poder sobrevivir a la selección natural, ya que dicha selección natural generará que las plantas maximicen sus funciones a un menor costo metabólico (Boege *et al.*, 2011).

5.5 Tolerancia y plasticidad

La tolerancia es la capacidad que tienen las plantas para sobrevivir y disminuir los efectos negativos provocados por las condiciones ambientales adversas en las que se desarrolla dicha planta, esta capacidad se manifiesta por la interacción entre el genotipo y el entorno (Hall, 2002), a través de modificaciones necesarias para sobrevivir a la selección natural, estas modificaciones son parte del proceso evolutivo de cada planta que se pueden dar en periodos de tiempo cortos (Microevolución) o en periodos de tiempo largos y que afectan a más especies de plantas (Macroevolución) (González y Zapata, 2008).

Las plantas al ser organismos sésiles deben adaptarse al medio donde viven, desarrollando la capacidad de modificar su fenotipo de formas diferentes con un solo genotipo y estas modificaciones se mantienen heredándose de generación en

generación (Jong y Leyser, 2012), dichas modificaciones se conocen como plasticidad; la cual es una manera en que las características tanto fisiológicas como fitoquímicas se modifican para poder sobrevivir a los cambios ambientales, manteniendo las modificaciones útiles y eliminando las nocivas (Nicotra *et al.*, 2010). Existen diferentes tipos de plasticidad entre los cuales se encuentra la adaptativa y no adaptativa; la adaptativa es la capacidad que tiene un genotipo para poder expresar el fenotipo adecuado que hará que la planta sobreviva y la no adaptativa que es la respuesta de la planta al agente estresante, pero sin mejoramiento en las modificaciones fisiológicas (Fitzpatrick, 2012). Dentro de la plasticidad adaptativa se encuentra la plasticidad fenotípica que es cuando un mismo genotipo produce diferentes fenotipos en respuesta a diferentes factores estresantes, modificando la morfología y fisiología de la planta (Ghalambor *et al.*, 2007), que a su vez conduce a la plasticidad fisiológica y morfológica, este tipo de plasticidad le permite a la planta modificarse morfológica y fisiológicamente en diferentes condiciones ambientales (Luis *et al.*, 2008), cada tipo de modificación será de acuerdo a los agentes estresantes presentes en el medio donde se desarrolla, mostrando diferencias entre medios salinos, medios con alta y baja cantidad de agua o temperatura. La plasticidad es un mecanismo que no es detectado en cultivos, ya que esta es obtenida de manera evolutiva y en presencia de estrés; las plantas presentes en un cultivo tienen controlados todos los factores causantes de estrés, generando que estas no tengan la necesidad de desarrollar modificaciones en su fenotipo (Connor *et al.*, 2011), este factor es muy importante porque mientras mayor sea la supervivencia, es decir, mientras la planta tenga mayor necesidad de sobrevivir, la producción será menor, por esta razón se cuidan todos los factores que intervienen en la producción agrícola (Leitch y Leitch, 2008), generando que las plantas sean más susceptibles a los diferentes estreses abióticos y no podrán evolucionar como una planta silvestre.

5.6. Mecanismos de tolerancia

Existen diversos mecanismos de tolerancia a los estreses abióticos, pero los mecanismos estructurales más significativos son los siguientes:

Ajuste osmótico: es el proceso que se manifiesta en presencia de estrés hídrico y salino, es necesario para asegurar la disponibilidad de agua y disminuir la toxicidad de iones para la planta (Bernstein, 2016), en este proceso se disminuye el potencial osmótico, mediante el cual se eleva la concentración de los solutos orgánicos en el interior de las células como: la sacarosa, polioles, compuestos metilados, glicina betaína, prolina, glutamato, entre otros; esto para poder extraer el agua del suelo y evitar la toxicidad de los iones (Chen y Jiang, 2013). Con este mecanismo la planta mantiene la fotosíntesis (ya que las altas concentraciones de sales inhiben la fotosíntesis), la respiración celular y el uso eficiente del agua. Este mecanismo también ayuda a mantener la turgencia celular generando alargamiento de las células, mayor área foliar, un sistema radicular más grande y menor resistencia estomática (Argente *et al.*, 2013).

Eliminación de sales y sustancias tóxicas: las plantas superiores cuentan con células especializadas para secretar sustancias tóxicas llamadas idioblastos que están presentes en las hojas (Barlow y Lück, 2008); la excreción de las sustancias tóxicas se presenta en la superficie de los brotes y en los tejidos muertos que contienen la sal. Algunas plantas también hacen una selección de los minerales, evitando la absorción de sodio (Maldonado, 2012).

Suculencia: se presenta en estrés hídrico, estrés salino y estrés por altas o bajas temperaturas; la suculencia es un mecanismo en el cual la planta desarrolla tallos y hojas gruesos para poder almacenar agua, de esta manera se asegura la fotosíntesis y los tejidos activos (Eggl y Nyffeler, 2009). En las hojas suculentas se encuentra una venación tridimensional en la que se transporta el agua y iones como el sodio, estos iones se concentran principalmente en la savia del xilema (Ogburn y Edwards, 2013), provocando un mecanismo homeostático por el cual la célula evita el efecto perjudicial de las concentraciones de iones tóxicos, ya que el volumen de almacenamiento de las células incrementa con la absorción de sal (a lo que se le conoce como tejido parenquimático que está formado por células con grandes vacuolas), la concentración de agua se mantiene dentro de las células, de esta manera disminuyen los efectos perjudiciales (Jennings, 1968).

Modificación en la densidad estomática: los estomas o células oclusivas junto con las células anexas se le conoce como aparato estomático, en el cual se hace el intercambio gaseoso con el medio ambiente mediante poros llamados ostios, siendo los estomas los encargados del cierre de los poros para evitar la pérdida excesiva de agua, los estomas se encuentran en mayor cantidad en la cara inferior de las hojas o envés (Valla, 2005). Este mecanismo de tolerancia se activa cuando la planta sufre estrés salino, estrés por altas o bajas temperaturas, estrés por diferentes altitudes, entre otros. La densidad estomática puede disminuir o aumentar, la densidad estomática aumenta cuando la planta requiere una mayor cantidad de oxígeno principalmente a bajas temperaturas y en mayores altitudes (Molina, 2008); la densidad estomática será menor cuando la planta requiera retener agua por ejemplo en estrés salino, en estrés por déficit de agua o a altas temperaturas, afectando principalmente la fotosíntesis (Barbieri *et al.*, 2012).

5.7. Adaptaciones

Para que las plantas puedan sobrevivir al estrés, éstas utilizan mecanismos de adaptación, en los cuales se producen modificaciones anatómicas, estructurales, bioquímicas y fisiológicas para lograr una estabilidad en la energía de la planta (Villagra *et al.* 2011). Las adaptaciones son muy importantes porque de esta manera las plantas silvestres se han domesticado, colocándolas en ambientes exóticos, en grandes densidades que no están presentes en ambientes naturales y cuidando todo el entorno que la rodea; ésta es la base de la agricultura, ya que desde hace miles de años se ha buscado tener alimento y lograr la mejora de las plantas, adaptándolas a ambientes más diversos (Kassam *et al.*, 2013), esto es posible por la “resistencia” o “tolerancia” que tienen las plantas al estrés abiótico, gracias a esto ahora se tienen los distintos alimentos vegetales que son la base de la alimentación humana y que en su mayoría son cultivos exóticos, es decir introducidos a un ambiente completamente distinto al que se desarrollan naturalmente (Cuartero *et al.*, 2008). Aun así, existen condiciones ambientales que no son propicias para el desarrollo de las plantas necesarias en la alimentación humana, únicamente crecen en ellas, plantas con una gran capacidad de adaptación o bien no crece ninguna, ya que la planta no resiste el

factor estresante. Estas condiciones ambientales pueden ser naturales o bien creadas por el hombre (Basurto *et al.*, 2008). Las plantas se adaptan de formas diferentes, estas formas se pueden clasificar en: adaptaciones estructurales y adaptaciones bioquímicas.

5.7.1. Adaptaciones estructurales y metabólicas

Son las modificaciones fisiológicas que sufren las plantas en respuesta al estrés, estos cambios se dan gracias a la expresión de genes, estos activan una secuencia de respuestas de estrés, como: la señalización, el control transcripcional, protección de membranas y proteínas, eliminación de radicales libres y compuestos tóxicos (Leimu y Fischer, 2008). Estos mecanismos de defensa generan que la planta modifique sus estructuras, para poder resistir al factor estresante, como son las vacuolas, las paredes de las hojas, los tallos y las raíces (Wang *et al.*, 2003).

Las modificaciones dependerán del tipo de estrés al que se someta la planta. En el caso de las plantas que sufren estrés salino, se han observado ajustes en las células para poder captar agua, ya que las altas concentraciones de sales generan que el agua se quede retenida en el suelo (Munns y Teaster, 2018), teniendo en cuenta que el agua siempre fluirá hacia los sitios con altas concentraciones de sal (dando un estrés hídrico fisiológico (Upadhyaya *et al.*, 2008), lo cual ocasiona que la planta haga un ajuste osmótico que trae por consecuencia que: la tasa de crecimiento se reduzca, las hojas sean más pequeñas, las raíces disminuyan su longitud y biomasa, y la tasa de maduración varíe (Ciríaco *et al.*, 2008). Se presentan también otras modificaciones como: cambio en el color de las hojas por la presencia de iones tóxicos, necrosis en las hojas por la concentración de Na y Cl, y necrosis en los tallos por la acumulación de sales. Es importante mencionar que las sales también provocan efectos tóxicos a las proteínas del citoplasma y de las membranas celulares (Shannon y Grieve, 1999)

5.7.2. Adaptaciones bioquímicas

Las plantas utilizan mecanismos de adaptación a nivel metabólico, en el cual se modifican ciertas características bioquímicas intracelulares para vivir bajo estrés abiótico (Rosalba *et al.*, 2014), cabe mencionar que primero surgen las adaptaciones bioquímicas o metabólicas para que se pueda dar una respuesta fisiológica. Las fitohormonas son sustancias químicas necesarias para que se lleven a cabo todos los procesos metabólicos necesarios en la planta como el crecimiento, la homeostasis, la fotosíntesis, etc. pero estas hormonas vegetales también cumplen funciones de defensa ante agentes estresantes; las hormonas que se han identificado son: auxinas, giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), citoquininas (CK), ácido salicílico (SA), etileno (ET), jasmonatos (JA), brasinoesteroides (BR), hormonas peptídicas y las estrigolactonas (Bari y Jones, 2009); cada una de estas hormonas en conjunto o bien individualmente son las responsables de provocar modificaciones necesarias ante el estrés. Las adaptaciones bioquímicas son específicas a cada tipo de estrés, por ejemplo, ante el estrés salino, la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, la obtención de energía, el metabolismo de lípidos y la presión osmótica se modifican (Parvaiz y Satyawati, 2008) mediante la interacción de hormonas como: ABA, que es la hormona que más rápido se sintetiza ante estrés abiótico, ésta regular el estado y la distribución del agua en la planta, al igual que cierra la estomas para evitar la pérdida de agua; las citoquininas controlan la adaptación fisiológica de la planta ante el estrés salino; las giberelinas ayudan a hacer más eficiente la fotosíntesis (ya que esta se ve afectada por la cantidad de sal en el medio), interviene en el aumento del área foliar, mejora la captación de luz solar y mejora la absorción de nutrientes; el ácido salicílico aumenta la concentración de pigmentos en los cloroplastos para mejorar la fotosíntesis, ayuda a la absorción y transporte de iones benéficos, interviene en la capacidad estomática y transpiración (Peleg y Blumwald, 2011); El ácido jasmónico se sintetiza en los peroxisomas y cloroplastos de las hojas y raíces, este compuesto interviene en el crecimiento de la raíz primaria, modifica la concentración de hormonas necesarias para la tolerancia la estrés salino y mitiga la inhibición de la fijación de CO₂ y la producción de proteínas causada por la salinidad; el etileno es una hormona gaseosa

involucrada en promover o detener el crecimiento de la planta, durante el estrés salino esta hormona ayuda a que la planta tenga un crecimiento relativamente normal y pueda sobrevivir mejor (Fahad *et al.*, 2015); estas sólo son algunas de las hormonas más importantes que intervienen en distintas funciones metabólicas. Así como existen este tipo de interacciones hormonales ante el estrés salino, también se presentan interacciones específicas ante los demás estreses abióticos.

5.8. Tipos de estrés abióticos más comunes

Como se ha mencionado anteriormente, existen diversos factores abióticos que generan estrés en las plantas, pero los que más se presentan y tiene mayor repercusión en las plantas o cultivos, son: el estrés hídrico, salino y por temperaturas extremas (Levitus *et al.*, 2010).

5.8.1. Estrés hídrico

El agua es una de las sustancias más importantes para que una planta pueda vivir, si existe una alteración en la concentración de agua diferente a los niveles óptimos, se genera estrés hídrico. El estrés hídrico puede estar dado por el exceso o déficit de agua, provocando diferentes mecanismos de respuesta (García *et al.*, 2010). El déficit hídrico provoca reducción en la cantidad de agua dentro de la planta, disminución de la turgencia celular, disminución del potencial hídrico, cierre estomático, disminución del crecimiento y elongación celular, cesamiento de la fotosíntesis, interrupción de las reacciones metabólicas y la muerte celular (Shao *et al.*, 2008), todo esto provoca que el rendimiento de los cultivos disminuya, aunque en muchas ocasiones las plantas se inducen a estrés hídrico para que al modificarse puedan resistir una menor cantidad de agua en la cual se mantenga la capacidad de transportar el agua a todas las partes de la planta con potenciales negativos, y así minimizar los riegos (Choat *et al.*, 2010). Las respuestas estructurales al déficit hídrico son: protección de fotosíntesis, activación de fitohormonas, cierre de estomas para evitar la pérdida de agua, cambios en la fluidez y composición de las membranas celulares y acumulación de osmolitos para mantener la homeostasis dentro de las células (Osakabe *et al.*, 2014). El estrés por anegamiento (inundación) genera condiciones de hipoxia o anoxia, que es poca

cantidad de oxígeno en el suelo o la ausencia total de este, causando que se detenga la respiración a través de la raíz, disminuyendo la energía gracias a la ausencia del ciclo de Krebs por no presentar el último aceptor de electrones (O_2) en el transporte de electrones (Arslan, 2012), es muy importante que se lleve a cabo la respiración celular, ya que gracias a esta se produce la fotosíntesis en la cual se obtienen las moléculas energéticas necesarias para las funciones metabólicas de la planta. El mecanismo de respuesta en general para este tipo de estrés es el cierre estomático, reducción de la conductancia estomática, reducción del contenido de clorofila, senescencia de la hoja y área foliar (Jackson *et al.*, 2009).

5.8.2. Estrés por temperaturas extremas

En los cambios climáticos actuales, se están presentando altas temperaturas perjudiciales para el desarrollo de las plantas de cultivos lo cual podría ocasionar una pérdida masiva de cultivos (Bita y Gerats, 2013). Este tipo de estrés es ocasionado por el aumento o disminución de la temperatura de acuerdo con el nivel óptimo, es importante mencionar que las reacciones bioquímicas presentes en el metabolismo celular de cualquier ser vivo como lo son las plantas, requieren una temperatura óptima para que las reacciones puedan ocurrir, por lo tanto si la temperatura es diferente a la óptima, se observarán problemas en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). El estrés por bajas temperaturas se presenta cuando existe una temperatura de enfriamiento o una de congelación que puede variar de los 15 °C a los 0 °C, cuando se presentan temperaturas de congelación se comienzan a formar cristales dentro de las células así como en el xilema, ocasionando que se rompan las membranas celulares y los tejidos ocasionando muerte en estos, o bien se presenten problemas en la división celular, en el transporte de agua, fotosíntesis y en los mecanismos de defensa (Sakai y Lancher, 1987). El estrés por altas temperaturas ocurre cuando la temperatura es mayor a los 40 °C, afectando el funcionamiento de ciertas enzimas, disminuyendo los procesos fotosintéticos, el cierre de estomas, disminución en la fijación del CO_2 , deformación en las estructuras reproductivas, problemas en el endospermo, marchites en las hojas, pérdida de

turgencia en las células, atraso en la floración (Morales *et al.*, 2006). Este tipo de estrés por lo general va acompañado de estrés por sequía.

5.8.3. Estrés salino

El estrés salino es causado por la presencia dañina de sales en el suelo, lo cual impide que las plantas puedan desarrollarse de forma natural en su medio ambiente, los suelos afectados por salinidad se caracterizan por una conductividad eléctrica que excede los 4 dS/cm (Taleisnik y López, 2011), este tipo de problemas se presentan principalmente en regiones áridas o semiáridas que son el 40% de los suelos a nivel mundial o en suelos donde se utiliza la agricultura intensiva con el uso excesivo de fertilizantes y agua contaminada con sales; el exceso de salinidad en el suelo provoca que la planta deba modificarse para resistir, pero no únicamente de forma fisiológica si no también bioquímicamente (Amira y Qados, 2010). Los iones presentes en los suelos salinos son Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^{+1} , Cl^{+1} y SO_4^{-2} , estos iones provocan una baja disponibilidad de agua ya que aumenta la presión osmótica en el suelo, también generan una alteración en el equilibrio de los nutrientes esenciales y son tóxicos para la planta; a causa de esto la planta utiliza mecanismos de respuesta al estrés como el ajuste osmótico en el cual la planta absorbe iones inorgánicos y componentes orgánicos para lograr extraer el agua del suelo al igual que nutrimentos (Siddiqui *et al.*, 2009); otros problemas que presentan las plantas bajo estrés salino es la reducción en el crecimiento, en el área foliar y en la producción; deshidratación celular, pérdida de turgencia, necrosis de tejidos, aumento en la tasa de respiración, desestabilidad en la membrana celular, disminución de la fotosíntesis, cierre estomático para impedir la pérdida de agua, reducción en la fijación de CO_2 , reducción de pigmentos fotosintéticos, cambios en la densidad de la raíz, crecimiento y turgencia; las plantas jóvenes se ven más afectadas por la salinidad llegando hasta la muerte; las plantas adultas en presencia de estrés prolongado, se observa estrés iónico, envejecimiento prematuro en las hojas y reducción de la tasa fotosintética (Adnan *et al.*, 2011). Para evitar que las plantas desarrollen todos estos problemas, debe eliminarse el exceso de sales de la rizosfera (área del suelo cercana a los pelos radiculares de la raíz), existen diferentes métodos para la eliminación de las sales, tales como: raspado,

enjuague, lixiviación y biorremediación con la utilización de plantas halófitas (Jouyban, 2012).

5.9. Suelos

El suelo se puede definir de acuerdo a la función que este tenga en dentro de las labores humanas, pero en general el suelo es toda la materia granular que cubre la superficie de la tierra sin tomar en cuenta la que está cubierta por agua, en general los suelos se formaron de la segregación de las rocas por acción de microorganismo, del agua, del viento y del sol, estos factores pueden cambiar las características químicas de la roca o bien simplemente fragmentarla; los elementos que forman al suelo son: oxígeno, silicio, aluminio, hierro, calcio, potasio, sodio y magnesio (Powrie, 2014). El suelo está formado por diferentes partículas entre las cuales se encuentran las arcillas, los limos y las arenas, estas se diferencian entre sí por el tamaño (arena gruesa 2.0-0.2 mm, arena fina 0.2-.02 mm, el limo 0.02-.002 mm y la arcilla menor a 0.002 mm) y composición, el contenido y la proporción de dichas partículas determinan la textura del suelo, la partícula más importante para determinar el tipo de suelo son las arcillas (Hernández *et al.*, 2006). A continuación, se muestran los tipos de texturas que hay dependiendo su composición.

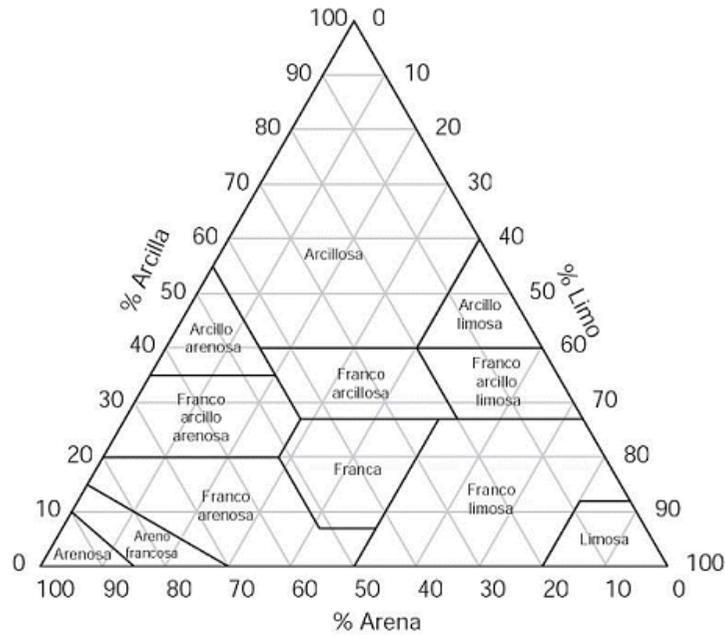


Figura 1. Triángulo textural (Molina, 2017).

Es muy importante conocer el tipo de textura del suelo, ya que de esto dependerá la disponibilidad de nutrientes y de agua para la planta. El contenido y tipo de arcillas determinan la conductividad eléctrica del suelo, la capacidad de intercambio catiónico, la retención de materia orgánica y el pH (Oades, 1988).

Las características más importantes del suelo son: la capacidad de intercambio catiónico (CIC) que es la capacidad que tiene un suelo para retener cationes, esta característica está dada por la presencia de cargas negativas en la periferia de las arcillas, la CIC puede variar dependiendo del tipo de arcilla y las sustancias húmicas (también de carga negativa), esta característica asegura a los cationes en el suelo y de esta manera no se pierden por lixiviación o evaporación (Kloster, 2017). El pH determina la disponibilidad de los nutrientes para las plantas, en los pH alcalinos mayores a 8 hay deficiencia de fósforo, hierro, manganeso, cobre y zinc, y presencia de boro, azufre y potasio; en los suelos con pH ácido, menores a 5, hay deficiencia de fósforo, potasio, azufre, calcio, magnesio y molibdeno, y hay presencia de hierro, manganeso, boro, cobre y zinc. El pH recomendable es entre 6.5-7.5 es en donde se encuentran todos los minerales disponibles para las plantas (Moir y Moot, 2010). La conductividad eléctrica es la capacidad de conducir la electricidad en solución, la

conductividad eléctrica está determinada por la cantidad de sales solubles en el suelo, la presencia de dichas sales cuando la conductividad es mayor a 4 dS/cm, son perjudiciales para la planta ya que modifican la presión osmótica del suelo y limitan la disponibilidad de ciertos elementos como el Ca^{+2} y el Mg^{+2} , y si la conductividad es muy baja se presentan deficiencias de minerales para las plantas (Heil y Schmidhalter, 2012).

5.9.1. Suelos salinos

El 15% de los suelos a nivel mundial presentan degradación química y física, un tipo de degradación física es la salinización de suelos. La salinización se produce por una acumulación de sales solubles en los horizontes A y B, esta acumulación se puede dar de forma natural o por la intervención humana. Un suelo se considera salino cuando la conductividad eléctrica es mayor a 4 dS/cm (Rengasamy, 2006) y las sales que se encuentran en mayor cantidad son Na_2SO_4 , MgSO_4 , CaSO_4 y NaHCO_3 (Richards, 1969). La cantidad excesiva de sales en los suelos trae por consecuencia la baja o nula producción de algunos cultivos, la pérdida de micro y macrofauna en el suelo, baja disponibilidad de nutrientes, alta presión osmótica y desertificación, provocando que únicamente puedan vivir en este tipo de suelos plantas resistentes a la salinidad (halófitas) (Zúñiga *et al.*, 2011).

La clasificación de los suelos salinos se basa en el pH, la conductividad eléctrica y porcentaje de sodio intercambiable. La formación de los suelos salinos depende de la topografía y el drenaje ya que de esto dependerá el grado de salinización de los suelos. Dentro de los suelos salinos, se encuentran 3 tipos: suelos salinos, suelos sódicos y suelos salinos-sódicos (Landon, 1984). Los suelos salinos son suelos con una gran cantidad de sales solubles, pero con pH menor a 8.5, en estos la cantidad de sodio no es dañina para las plantas, este tipo de suelos tienen una presión osmótica mayor a 1.5 bar; la formación de este tipo de suelos se puede dar por la meteorización de minerales que están presentes de manera natural, los cationes presentes son el Na^+ , el Ca^+ y el Mg^+ (Fassbender y Bornemisza, 1994). Los suelos sódicos se dan por un proceso de degradación de suelo llamado sodificación, este proceso se genera

principalmente por la intervención humana, aunque también existe una teoría que indica que el conjunto de factores ambientales y microbiológicos produjeron este tipo de suelos en ciertas regiones; estos suelos presentan un pH mayor a 8.5 con más del 15% de sodio intercambiable y con una conductividad eléctrica menor a 4 dS/cm (Guerrero *et al.*, 2007). Los suelos salino-sódicos causan los mismos daños a la planta que los suelos salinos, estos suelos en general presentan un pH menor a 8.5, una conductividad eléctrica mayor a 4 dS/cm y un porcentaje de sodio intercambiable menor al 15% (Manzano *et al.*, 2014).

5.10 Tolerancia a la salinidad

La presencia de sodio y sales en los suelos es un problema a nivel mundial que afecta la producción de los cultivos, ya que vuelve a los suelos infértiles e improductivos. Se estima que 20 millones de ha se ven afectadas en el mundo, principalmente en las zonas áridas y semiáridas (Manzano *et al.*, 2014). El ensalitramiento causado por el mal drenaje, la sodificación y salinización, es el mayor causante de degradación del suelo, siendo el principal factor limitante en las zonas agrícolas de temporal y distritos de riego, en México del 12-21% de los distritos de riego se ven afectados por la salinidad (Pulido y González, 2009). En Michoacán en el área de la ciénaga Chapala, y específicamente en la zona de “Los Negritos” (Municipio, Villamar) se presentan suelos salinos con conductividades eléctricas desde 1.5 hasta 40 dS/cm, esto debido a que es una zona geotérmica, lo que ocasiona disminución en la productividad de los cultivos por ejemplo en el trigo; esto ocasiona pérdidas económicas significativas para los productores (Anaya, 2015).

Las plantas halófitas que crecen en suelos salinos desarrollan mecanismos de defensa volviéndolas tolerantes a la salinidad, por ejemplo: las plantas han desarrollado sensores de medio hiperosmótico y sensores de sodio en la cutícula de la raíz, expresión de genes que influyen en el nivel de tolerancia a la salinidad, expresión de genes que intervienen en la absorción de iones tóxicos, modificación de la cromatina que presentará un fenotipo específico para el factor estresante, también hay acumulación de osmolitos orgánicos, como prolina, glicina, alcoholes de azúcar,

poliaminas y proteínas (Deinlein *et al.*, 2014), almacenamiento de iones en la célula y en toda la planta, síntesis de solutos compatibles para la extracción de agua, cambios en la fotosíntesis, modificación de la estructura de la membrana, producción de enzimas antioxidantes, y producción de vegetales. Los mecanismos de tolerancia antes mencionados se pueden clasificar en mecanismos de alta complejidad o de baja complejidad; los mecanismos de alta complejidad son los que la planta utiliza para proteger los procesos principales como: la fotosíntesis, la respiración, el uso del agua, protección del citoesqueleto, las interacciones entre la pared celular y la membrana plasmática, los cromosomas y los cambios en la estructura de la cromatina. Los mecanismos de baja complejidad son los que producen cambios en la bioquímica de la planta (Kumar y Bandhu *et al.*, 2005). La tolerancia al estrés es parte de la evolución de las plantas, ya que gracias a esto las plantas han logrado sobrevivir a través de los años, aportándoles características que las hacen cada vez más resistentes al medio ambiente; el problema está en las plantas de cultivo, ya que estas no han logrado desarrollar mecanismos de defensa al estrés abiótico porque se evita cualquier modificación, ya que esto implicaría deficiencias en la producción (Rabe, 2015).

5.11 Plantas tolerantes a la salinidad

Las plantas se pueden clasificar de acuerdo a la tolerancia que presentan a las concentraciones elevadas de sal, a estas plantas se les conoce como halófitas. Las halófitas son plantas altamente resistentes a la salinidad, únicamente el 1% de las especies que se conocen en el planeta son halófitas (Flowers *et al.*, 2010), estas plantas se pueden definir como: especies vegetales con alta capacidad para desarrollarse en una concentración elevada de sal, baja cantidad de nutrientes y alta luminosidad, presente en el ambiente natural. Las halófitas desarrollan modificaciones como succulencia, disminución del índice estomático y acumulación de solutos orgánicos en el citoplasma (Olivera *et al.*, 2015). Entre estas plantas se encuentran las halófitas estrictas, las cuales únicamente se desarrollan en ambientes salinos salados, y las halófitas facultativas, que pueden desarrollarse en ambientes salinos salados o bien ambientes de poca salinidad. Existen las plantas glicófitas, las cuales son plantas moderadamente tolerantes a la salinidad (Flowers y Colmer, 2008). Las

halófitas se pueden clasificar de acuerdo a los mecanismos que utilizan para controlar los niveles tóxicos de salinidad, entre estas encontramos los siguientes ejemplos:

Euhalófitas: son las plantas más tolerantes a la salinidad, estas acumulan hasta el 50% de las sales en sus tejidos, sin necesidad de tener glándulas de almacenamiento de sal (Tai *et al.*, 2017).

Crinohalófitas: son plantas que tienen glándulas y pelos excretoras en el envés de las hojas, con las cuales eliminan las concentraciones de sal (Kosyk *et al.*, 2009).

Glicohalófitas: son plantas que hacen una adsorción selectiva de sales, es decir, únicamente permiten la entrada de sales que son menos tóxicas para la planta, gracias a la presencia de cerebrósidos en la membrana celular (Nesterova *et al.*, 2017).

Locahalófitas: estas plantas acumulan las sales en estructuras especializadas, de esta manera controlan la forma en que se distribuyen en los tejidos (Maldonado, 2012). Estas plantas utilizan dos tipos de estructuras, en las partes viejas, utilizan vejigas o tricomas acumulándose principalmente sodio; en las partes nuevas el almacenamiento se presenta en las vacuolas. Gracias a la presencia de estas, el sodio se mantiene lejos de los cloroplastos sin afectar la fotosíntesis (Bronwyn *et al.*, 2007).

5.12 Adaptaciones estructurales y fitoquímicas de las plantas en suelos salinos

Las plantas siempre están bien adaptadas al medio donde viven, pero cuando hay un cambio en él, se produce un estrés abiótico, un tipo de estrés abiótico es el estrés salino. El estrés salino es provocado por el exceso de sales en el suelo, éstas producen una conductividad eléctrica de 4 o más dS m^{-1} , un pH aproximado de 7- 8 y menos del 15% de sodio intercambiable, que provoca cambios en el desarrollo y crecimiento de las plantas (Martínez *et al.*, 2011). La alta concentración de sal en los suelos es producto de una acumulación paulatina de sales solubles arrastradas por el riego, trayendo por consecuencia la reducción del potencial productivo de muchos cultivos (Leidi y Pardo, 2002). Cada planta presenta diferente nivel de tolerancia a la salinidad, lo cual depende de cómo éstas controlan la absorción y el transporte del

sodio y el cloro. Las plantas que presentan una alta proporción entre potasio y sodio en sus hojas presentan una buena tolerancia a la salinidad (Villa *et al.*, 2006).

Las plantas en suelos salinos son afectadas de dos formas diferentes, una forma es por la disminución del potencial osmótico y la otra forma por el efecto tóxico de las sales (Salas *et al.*, 2001), por lo tanto, las plantas hacen uso de mecanismos para diluirlas o eliminarlas a través de glándulas o tricomas secretores, o bien se modifican de manera morfo-anatómica para hacer uso eficiente del agua y aumentar la tolerancia al estrés; estas modificaciones se pueden encontrar como: cambios en la densidad e índice estomático, cambios en la pared celular, cambios del grosor de la cutícula o la succulencia (Quintana *et al.*, 2012). Cuando se producen estos mecanismos de adaptación de las plantas, se comienzan a acumular solutos orgánicos e inorgánicos que reducen el potencial osmótico celular, para recuperar la turgencia y así poder reestablecer el crecimiento de la planta (Leidi y Pardo, 2012).

En los suelos salinos los elementos dominantes son el cloro y el sodio (Villa, 2006). Las cantidades excesivas de estos iones provocan diversos efectos negativos en las plantas, por ejemplo, el sodio provoca deterioro en la selectividad de la membrana celular, acumulación tóxica en las raíces y tallos, inhibición del crecimiento, disminución del contenido de agua en la planta y reducción de la disponibilidad de nutrientes. El cloro provoca quemaduras en las hojas, disminuye la fotosíntesis e inhibe la absorción de nitratos (Martínez *et al.*, 2011).

Existen investigaciones donde se muestran los cambios morfo-anatómicos que presentan las plantas para sobrevivir en un medio salino. La piña *Ananas comosus* bajo estrés salino, mostró aumento en la densidad estomática de las láminas foliares, en la densidad tricomática de las superficies adaxiales y abaxiales; en las raíces se observó una disminución del grosor de la rizodermis y un incremento de la exodermis (Quintana *et al.*, 2012). Salas (2001) menciona que en plantas de tomate *Lycopersicon esculentum* P. Mill. sometidas a estrés salino presentaron una disminución en la densidad estomática, a medida que se incrementó la concentración de sales, en la superficie adaxial y en la superficie abaxial aumentó, los resultados se interpretaron como una forma en que las plantas evitan el estrés salino. En plantas de Chile

Capsicum annuum en ambientes salinos presentaron aumento de tamaño en la raíz, tallo y hojas, aumento en la tasa de absorción del sodio y cloro, concentración de iones en todas las partes de la planta, obteniendo el nivel más alto de tolerancia hasta el final del desarrollo (Villa *et al.*, 2006). En las plantas de *Carica papaya* L. se observó una respuesta morfogenética para contrarrestar la toxicidad de las sales disminuyendo el tamaño de los estomas, la densidad estomática y aumentando el grosor de la lámina foliar (Parés *et al.*, 2008). En la caña de azúcar *Saccharum* sp. se observan cambios en el patrón histológico de las raíces; plasticidad en caracteres estructurales de las raíces, aumento en el grado de vacuolación de la epidermis, exodermis, parénquima cortical y del parénquima que bordea los elementos conductores del metaxilema, este cambio facilita el ajuste osmótico y la protección del citoplasma al efecto tóxico de las sales; aumento en la succulencia radical, que podría significar mayor capacidad de retención de sales en este órgano; y la disminución del número y tamaño de las cámaras aeríferas de la corteza central a 50 mm del ápice. Por lo tanto los cambios estructurales más notorios inducidos por salinidad parecen ocurrir en las raíces, porque este órgano es el que se expone directamente al exceso de sales (García *et al.*, 2011). Los cambios morfológicos en el sistema radicular reflejan el ajuste necesario para recuperar el balance hídrico de la planta (Leidi y Pardo, 2002).

En plantas que no son susceptibles a altas concentraciones de sales se observan cambios diferentes en su estructura como en plántulas de *Prosopis strombulifera* (Lam.) Benth., en donde las raíces mostraron suberización precoz de las células endodérmicas y actividad temprana del periciclo; el diámetro del tallo se redujo y se produjo menos lignificación tisular; en los tallos y en los foliolos se produjeron taninos. Estas modificaciones anatómicas se han relacionado con adaptaciones metabólicas que permiten la supervivencia en alta salinidad (Reinoso *et al.*, 2004).

Las plantas además de sufrir cambios morfo-anatómicos también presentan modificaciones en la producción de metabolitos secundarios, conocidos también como productos naturales, estos son sintetizados en pequeñas cantidades por las plantas, pero no todas las plantas los producen. Entre los metabolitos secundarios se encuentran: terpenos, compuestos fenólicos, glucósidos y alcaloides (Martínez *et al.*,

2000). La concentración de productos secundarios como aceites esenciales, alcaloides, y compuestos fenólicos en plantas son fuertemente dependientes de las condiciones de crecimiento, principalmente estrés.

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas. Se han clasificado en tres diferentes grupos dependiendo de su estructura química básica, polifenoles, ácidos fenólicos y flavonoides. En las plantas los compuestos fenólicos son secretados como mecanismo de defensa para protección contra patógenos o para ayudar al crecimiento y a la reproducción. En cuanto a su capacidad antioxidante son benéficos para la salud humana ya que tienen un papel protector en enfermedades cardiovasculares, en el cáncer y en el envejecimiento (Martínez *et al*, 2000). Las frutas como la *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (Myrtaceae), *Passiflora tripartita* Breiter (Passifloraceae), *Prunus cerasus* L. (Rosaceae) y *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae), tienen una gran capacidad antioxidante por su alta concentración de grupos fenólicos (Muñoz *et al.*, 2007). Estos metabolitos son muy importantes en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Algunas de las modificaciones que se han reportado en plantas sometidas a estrés salino son en la producción de aceites esenciales de algunas plantas medicinales como *Trachyspermum ammi*, *P. Mentha piperita* (menta) *pennyroyal*, menta de manzana y *Thymus maroccanus* (albahaca e hinojo) en donde se observaron rendimientos bajos así como efectos negativos en la producción; en otras plantas medicinales como *Matricaria recutita*, *P. Satureja hortensis* L., *Salvia officinalis*, hojas de *Coriandrum sativum* y *Salvia officinalis*, se observó una mayor cantidad de aceites esenciales; también se ha encontrado un aumento en la producción de alcaloides, tanto en la raíz como en los brotes; mayor producción de compuestos fenólicos; mayor contenido de cardenólidos en raíces y hojas; e inhibición en la producción de pigmentos fotosintéticos (carotenos y clorofilas) (Said y Omer, 2011). Ruiz *et al.*, (2007) mencionan que, bajo estrés salino, *Lotus creticus* mostró un alto contenido de taninos en hojas y un contenido elevado de antocianinas en el tallo. Los metabolitos secundarios como taninos y antocianinas de las especies del género

Lotus tienen propiedades medicinales para el ganado ya que los taninos dan protección contra el 'meteorismo', control sobre los parásitos internos; y las antocianinas están involucradas en la síntesis de taninos, también es el pigmento más importante de las plantas, es precursor de la lignina e intervienen en la tolerancia a estrés salino. El frijol negro *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés salino moderado mostró disminución de clorofila, aumento de alcaloides, flavonoides y disminución de fenoles, demostrando que los alcaloides y flavonoides tienen un papel protector ante el estrés oxidativo, los cuales mejoran los mecanismos de defensa al estrés salino (Campos *et al.*, 2011). De acuerdo con Martínez *et al.* (2011), el efecto de la salinidad en la concentración de pigmentos genera destrucción de los cloroplastos provocando la disminución principalmente de clorofilas.

Con base en lo anterior, es evidente que las altas concentraciones de sal afectan negativamente el crecimiento de las plantas, las cuales responden con alguna estrategia para contrarrestar los efectos de la concentración de éstas en sus tejidos, como, por ejemplo, cambios en su anatomía y morfología en el estado vegetativo y reproductivo y cambios en la concentración de metabolitos secundarios, los cuales han sido poco estudiados en especies nativas.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. Zona de estudio

El suelo y las especies que se estudiaron fueron colectados en el noroeste del Estado de Michoacán, en la zona geotérmica de “Los Negritos”, que se localiza al noroeste del Estado en el municipio de Villamar, en las coordenadas 20°03’ de latitud norte y 102°36’ de longitud oeste, a una altura de 1540 msnm.

6.2. Colecta de material vegetal y suelo para el experimento en invernadero

En la región de “Los Negritos”, se colectaron semillas de *F. trinervia* y esquejes en el caso de *B. monnieri*, que posteriormente fueron trasplantados. La decisión de usar esquejes de *B. monnieri* se debió a que no se encontraron frutos en el campo. Su reproducción es principalmente vegetativa. También se obtuvieron muestras de suelo de tres sitios diferentes basados en resultados previamente obtenido por Lastiri, *com. pers.* Se tomaron aproximadamente 50 K de suelo el cual se transportó a las instalaciones del terreno experimental del CIIDIR-IPN. Las muestras se homogenizaron y de ahí se tomó una muestra de aproximadamente 1 K de suelo en una bolsa Ziploc® para llevar a cabo la caracterización en el laboratorio. Se obtuvieron los parámetros de: textura, conductividad eléctrica (CE), pH, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico (CIC), cationes solubles, aniones solubles, porcentaje de sodio intercambiable (P.S.I.), relación de sodio intercambiable (R.A.S.), materia orgánica y tipo de suelo, siguiendo la NOM-021-SEMARNAT-2000. Con los resultados obtenidos, se seleccionaron dos muestras contrastantes para montar el experimento en el invernadero.

6.3. Colecta de material vegetal y suelo en campo

Se seleccionaron 3 sitios en la misma zona, de los cuales se colectaron muestras de suelo y material vegetal. El sitio 1 pertenece a las orillas de los cráteres de suelo hirviendo, de los cuales se colectó muestra de suelo, muestra de planta completa de *B. monnieri* y, raíz, tallo, ápice y hoja de *F. trinervia*. El sitio 2 pertenece a la orilla del

lago “La Alberca”, en donde se colectaron muestras de suelo y de las dos especies vegetales. El sitio 3 se encuentra a la orilla de una huerta de jitomates, de este sitio se obtuvo únicamente suelo y *F. trinervia*. El sitio 3 se encuentra en un arroyo seco del cual únicamente se colectó suelo y *B. monnieri*.

6.4. Montaje del experimento en el invernadero

Se seleccionaron dos suelos con C.E. contrastante para montar el experimento, un suelo no salino con una C.E. de 2.20 dS/m, denominado tratamiento A y un suelo salino con C.E. de 13.24 dS/m denominado tratamiento B. Se utilizaron esquejes de *B. monnieri* los cuales se colocaron en dos charolas rectangulares para favorecer la forma en la que crece la planta en condiciones naturales. Las charolas no tenían orificios para no perder sales por filtración. Las semillas de *F. trinervia* se sembraron en cuatro bolsas sin orificios para cada tipo de suelo dando un total de ocho bolsas. Las plantas se dejaron crecer hasta alcanzar la edad reproductiva, 119 días después de ser plantadas.

6.5. Descripción de los cambios morfológicos y anatómicos

Raíz: Se midió la longitud total de la raíz principal con un flexómetro (STANLEY, modelo 33-215, México) de la raíz principal y se contó el número de raíces secundarias en tres individuos por tratamiento.

Tallo: Se obtuvo la longitud total de la planta.

Hoja: Se determinó el área foliar utilizando el software ImageJ (versión 1.45, Rasband, 2007).

6.6. Colecta y procesamiento de material vegetal

Se tomaron muestras de raíces, tallos y hojas y se fijaron en FAA (Formaldehído-Alcohol-Ácido acético glacial) de cada uno de los tratamientos y se mantuvieron en el laboratorio hasta iniciar el procesamiento. Los materiales fijados se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de fijador, y posteriormente, fueron deshidratados en

una serie graduada de etanol. Después, se utilizó xileno como fluido de transición antes de la inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes transversales de 10 µm de espesor utilizando un micrótopo rotatorio (LEICA, modelo RM2125, Alemania). La tinción se realizó con safranina O, y verde rápido FCF (Johansen, 1940) y fueron montadas en resina sintética para hacer las observaciones con microscopio óptico (Olympus, modelo Bx-50, México) adaptado a un analizador de imágenes Media Cybernetics versión 6.3.

Se describieron los tejidos dérmico, fundamental y vascular. Los tejidos que se describen son: cutícula, epidermis: número de capas, área de las células, descripción del aparato estomático, glándulas e inclusiones minerales en caso de encontrarlas; haz vascular de la vena media; número de capas de células del mesófilo, córtex, endodermis, tejido vascular: ancho de floema y xilema, y diámetro tangencial y radial de los vasos de xilema. Las descripciones de cada uno de los tejidos mencionado se realizarán con un microscopio óptico (Olympus, modelo Bx-50, México) adaptado a un analizador de imágenes Media Cybernetics versión 6.3.

Se obtuvo la densidad estomática y el índice estomático utilizando la técnica de impresión de estomas utilizando pegamento Kola-Loka[®] en diez observaciones por muestra para cada tratamiento en un microscopio (Olympus, modelo Bx-50, México) adaptado a un analizador de imágenes Media Cybernetics versión 6.3. Para calcular la densidad estomática se utilizó el número de estomas observado por área y con esta información se calculará el índice estomático utilizando la siguiente ecuación:

$$IE = [NE/(CE + NE)] \times 100$$

en donde NE es el número de estomas, y CE es el número de células epidérmicas (Wilkinson, 1979).

Para determinar el área foliar se colectaron 6 hojas por tratamiento y sitio, se tomaron fotos con una cámara profesional Coolpix P900, para poder medir el área foliar de las hojas se utilizó el programa ImageJ versión 1.51, midiendo el área de cada hoja de cada tratamiento (Guerrero *et al.*, 2012).

6.7 Fitoquímica

6.7.1. Secado

Los tejidos se colocaron en una bolsa de papel estraza y se pusieron a secar en una estufa (Terlab, modelo: TE-M20D, México) durante 72 h a 50 °C.

6.7.2. Molienda

Se tomaron los tejidos previamente secados, se molieron en un mortero de porcelana hasta obtener el tamaño de partícula de 250 µm, después se tamizaron con un tamiz no. 60. Se almacenaron en bolsas Ziploc® y se mantuvieron en un lugar oscuro y seco.

6.7.3. Preparación de los extractos

La extracción se realizó tomando 3 g del tejido previamente secado y tamizado, se agregó 1 g de muestra en un tubo Falcon de 50 mL y se agregaron 20 mL de etanol o metanol al 80% haciéndolo por triplicado. Los tubos se cubrieron con papel aluminio para protegerlos de la luz, después se dejaron en agitación por 24 h a 100 rpm en un agitador orbital (Sea Star, modelo: HD4010A, USA). Pasadas las 24 h se centrifugaron las muestras por 10 min a 4800 rpm (Thermo Fisher, modelo: 75007210), se recuperó el sobrenadante y al sedimento obtenido se le agregaron otros 20 mL de etanol o metano al 80%, se dejaron en agitación por 3 h a 100 rpm y se centrifugaron a 4800 rpm. Se recuperó el sobrenadante y los 40 mL obtenidos se filtraron y almacenaron en tubos Falcon cubiertos con aluminio para evitar el paso de la luz (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2018).

6.7.4. Cuantificación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu)

Con la utilización de la metodología de Folin-Ciocalteu, se determinó la concentración de fenoles totales realizando una curva estándar de ácido gálico con una concentración de 0.5 mg/ mL y la ecuación de la curva utilizada fue $y=0.00003x-$

0.0084, para ello a 250 μL de la solución se agregaron 2.5 mL de agua destilada, 125 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N y se agitan durante 5 min. Después de añadieron 375 μL de una solución de Na_2CO_3 al 20% y se dejó reposar en la oscuridad por 2 h a temperatura ambiente. La lectura se realizó en un espectrofotómetro UV visible (Biotek, Power Wave HT, USA) a 760 nm. Para la determinación de los compuestos fenólicos en el extracto se toman 250 μL del mismo para su análisis expresando el resultado como miligramos equivalentes (mg E) de ácido gálico (AG) por gramo (g) de muestra seca (MS), (mg E AG/g MS) (Singleton *et al.*, 1999).

6.7.5. Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides se estimó utilizando el método AlCl_3 (Lamaison y Carnet, 1990), a 100 μL de cada extracto, se le añadió 100 μL $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ etanólico al 2%. La absorbancia se midió en el espectrofotómetro (Biotek, Power Wave HT, USA) 10 min después a 430 nm. Para estimar la concentración de flavonoides, se realizó una curva estándar de catequina con una concentración de 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ tratada en las mismas condiciones, la ecuación de la curva obtenida fue $y = 0.00002x + 0.0003$. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina (C) por gramo de muestra seca (mg EC/ g MS).

6.7.6. Cuantificación de taninos condensados

La determinación de taninos condensados o procianidinas fue determinada mediante el método descrito por Seabra *et al.* (2012). A 250 μL de cada muestra se le agregaron 250 μL de vainillina al 1% (p/v, disuelta en metanol) seguido de 250 μL de ácido sulfúrico al 25% (v/v, disuelto en metanol) y se incubó a una temperatura de 30 °C por 15 min en un termoblock (Thermo Scientific, modelo 88870006, Inglaterra). Para estimar la concentración de taninos condensados se realizó una curva de calibración de catequina entre 10 y 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ con una ecuación de curva de $y = 0.0001x + 0.0099$. La absorbancia a la que se leyeron las muestras fue a 500 nm (Biotek, Power Wave HT, USA), y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra seca (mg EC/g MS).

6.7.7. Análisis de la capacidad antioxidante total

Para determinar la capacidad antioxidante total se utilizaron 50 µL de cada extracto combinado con 500 µL de una solución preparada con ácido sulfúrico 0.6 M, fosfato de sodio 28 mM, y molibdato de amonio 4 mM, aforándose con agua destilada. Las muestras se incubaron en un termoblock (Thermo Scientific, modelo 88870006, Inglaterra) a 95 °C durante 90 min. Después se enfriaron a temperatura ambiente, se midió la absorbancia (Biotek, Power Wave HT) de cada una contra un blanco formado por todos los componentes de la mezcla de reacción a 695 nm, agregando etanol o metanol al 80% dependiendo de la muestra en lugar de la muestra. La capacidad antioxidante de las muestras se expresó en mg equivalentes de ácido ascórbico por mL de extracto (mg EAA/mL), calculados a partir de una curva de calibración (Prieto *et al.*, 1999).

6.7.8. Determinación de la capacidad bloqueadora del radical libre DPPH

La capacidad antioxidante se determinó utilizando el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Primero se preparó una solución de DPPH• (62 µg/mL en etanol). Para determinar la capacidad bloqueadora, 900 µL de reactivo de DPPH• se mezcló con 100 µL de extracto y después se incubaron a temperatura ambiente por 10 min, se midió la absorbancia en el espectrofotómetro (Biotek, Power Wave HT, USA) a 523 nm (Barriada *et al.*, 2014). Se utilizó como blanco etanol absoluto. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la fórmula:

$$\text{Actividad bloqueadora del radical DPPH (\%)} = [(A \text{ blanco} - A \text{ muestra}) / A \text{ blanco}] \times 100$$

A blanco: es la absorbancia del blanco (DPPH• más 100 µL de etanol).

A muestra: es la absorbancia de la muestra (DPPH• más 100 µL de muestra).

La concentración inhibitoria media (CI₅₀), representa la concentración de antioxidante que se requiere para obtener un 50 % de capacidad inhibitoria.

6.7.9 Determinación de la capacidad bloqueadora del radical libre ABTS

En el ensayo del ABTS (2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]) el radical catiónico ABTS^{•+} se generó a partir de la reacción de oxidación con 1 mL de ABTS^{•+} (7 mM) y 17.6 µL de solución de persulfato de potasio (140 mM/L), la mezcla se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente por 16 h. La solución de ABTS^{•+} se diluyó con etanol absoluto para obtener la absorbancia a valores de 0.700±0.01 a 734 nm en el espectrofotómetro (Biotek, Power Wave HT, USA). Cuando se formó el radical, se colocó una alícuota del extracto (500 µL) se mezcló con 500 µL de solución de ABTS^{•+}, la absorbancia se registró después de 6 min en el espectrofotómetro (Biotek, Power Wave HT, USA) a 734 nm. El blanco se preparó de la misma manera, sustituyendo el extracto por un volumen igual de metanol 80% (v/v) (Lee *et al.*, 2015). El porcentaje de actividad se calculó con la fórmula:

$$\text{Efecto Bloqueador ABTS (\%)} = [A \text{ control} - A \text{ muestra} / A \text{ control}] \times 100$$

A control: es la absorbancia del blanco (ABTS^{•+}, más 500 µL de etanol).

A muestra: es la absorbancia de la muestra (ABTS^{•+}, más 500 µL de muestra).

La concentración de extracto que proporcionó una inhibición del 50 % del radical ABTS^{•+} (IC₅₀) se calculó a partir de un gráfico construido con los valores del porcentaje de inhibición contra la concentración de extracto.

6.8 Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey para la comparación de medias $\alpha=0.05$ en las muestras de campo y en el caso de las muestras de invernadero se utilizó una prueba T student para la comparación de medias $p=0.05$. Todos los análisis estadísticos se realizan en el software SPSS IBM versión 24.

6.9 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar. Del experimento en invernadero se tomaron 3 muestras de 1 K de suelo, 3 individuos y 5 g de hojas secas para realizar los extractos etanólicos y metanólicos al 80%, todo esto por cada tratamiento. En campo, se colectaron 3 muestras de 1 K de suelo, 3 individuos y 5 g de hoja seca para realizar los extractos etanólicos y metanólicos al 80%, todo esto por cada sitio. Realizando el muestreo por triplicado tanto en campo como en invernadero, dando un total de muestras de ambas plantas de 30 muestras de suelo, 30 individuos y 60 g de hoja seca, todas por triplicado (Cuadro1).

Cuadro 1. Numero de muestras de suelo y planta para los diversos análisis.

Lugar	Suelo	Morfo-anatomía	Fitoquímica
<i>Flaveria trinervia</i>	15 muestras	15 individuos	5g etanol 80% 5g metanol 80%
<i>Bacopa monnieri</i>	15 muestras	15 individuos	5g etanol 80% 5g metanol 80%
Total	30 muestras	30 individuos	30g etanol 80% 30g metanol 80%

7. RESULTADOS

7.1. Caracterización de suelos

7.1.1. Caracterización inicial y final de suelos para suelos salinos, utilizados en invernadero para el crecimiento de *Bacopa monnieri*

Los resultados de las características de los suelos se presentan en el cuadro 2. En donde se muestra que el suelo del tratamiento A es un suelo clasificado como normal y el suelo del tratamiento B es un suelo salino-sódico, de acuerdo con la NOM 021, por otro lado, en el cuadro 3, la cantidad de aniones y cationes en el suelo salino sódico se aprecia un mayor de cantidad, en comparación con el suelo normal. A pesar de que el suelo salino-sódico tiene una conductividad eléctrica de 13.2 dS/m, su pH se clasifica como medianamente alcalino, esto responde a la gran cantidad de sulfatos que ayudan a acidificar el suelo.

Cuadro 2. Caracterización inicial y final de clase textural, porcentaje de materia orgánica y salinidad de los suelos de invernadero para ambas plantas.

Suelo	Tratamiento	C.I.C	Clase Textural	% M.O.	Tipo de suelo salino
<i>B. monnieri</i> Final	A inicial	31.58±0.15	Arcilla	3.79±0.27	Normal
	A final	31.89±0.29	Arcilla	3.88±0.08	Normal
	B inicial	43.18±0.15	Arcilla	2.72±0.37	Salino-sódico
	B final	50.63±0.44	Arcilla	3.76±0.17	Salino-sódico
<i>F. trinervia</i> Final	A inicial	31.58±0.15	Arcilla	3.79±0.27	Normal
	A final	30.85±0.29	Arcilla	4.19±0.13	Normal
	B inicial	43.18±0.15	Arcilla	2.72±0.37	Salino-sódico
	B final	47.12±1.03	Arcilla	3.43±0.09	Salino-sódico

Se presenta la media de 3 repeticiones ± la desviación estándar de cada tratamiento. C.I.C= capacidad de intercambio catiónico, % M.O.= porcentaje de materia orgánica.

Después de 5 meses de crecimiento de los esquejes de *B. monnieri* en ambos tratamientos, las plantas se retiraron y se realizó una caracterización final de los suelos para poder determinar los cambios ocurridos en estos. Los resultados encontrados son los siguientes (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de los resultado de caracterización inicial y final de suelos en invernadero para *B. monnieri* para cada tratamiento

Característica	Inicial	Final
	Tratamiento A	Tratamiento A
Conductividad eléctrica (dS/m)	2.20±0.15 ^a	1.08±0.18^b
pH	6.89±0.33 ^a	8.79±0.35 ^a
Carbonatos (mmol ₍₋₎ /LCO ₃ ⁻²)	0 ^b	55.27±3.72^a
Bicarbonatos (mmol/L ₍₋₎ H ₃)	9.44±0.16 ^b	88.17±1.86^a
Cloruros (mmol/L ₍₋₎ Cl)	2.97±0.05 ^a	0.96±0.03^b
Sulfatos (mmol ₍₋₎ /LSO ₄ ⁻²)	55.83±2.05 ^a	3.5±0.09 ^b
Mg extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	8.51±0.63 ^a	4.92±0.02 ^b
Calcio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	35.96±0.99 ^a	9.83±0.18 ^b
Sodio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	7.68±0.46 ^a	3.29±0.16 ^b
Potasio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	2.03±0.15 ^a	2.55±0.28 ^a
Magnesio soluble (mmol/L)	2.80±0.25 ^b	8.34±0.13^a
Calcio soluble (mmol/L)	21.57±0.63 ^a	3.18±0.09 ^b
Sodio soluble (mmol/L)	6.15±0.12 ^b	9.80±0.46^a
Potasio soluble (mmol/L)	1.99±0.01 ^a	2.02±0.05 ^a
C.I.C. (Cmol ₍₊₎ /Kg)	31.58±0.15 ^a	31.89±0.29 ^a
P.S.I. (%)	14.96±0.10 ^a	10.32±0.41^b
R.A.S.	1.76±0.004 ^b	4.08±0.15^a
Materia orgánica (%)	3.79±0.27 ^a	3.88±0.08 ^a
Característica	Tratamiento B	Tratamiento B
Conductividad eléctrica (dS/m)	13.24±0.24 ^a	10.01±0.22^b
pH	7.57±0.33 ^a	8.42±0.05 ^a
Carbonatos (mmol ₍₋₎ /LCO ₃ ⁻²)	0 ^b	27.90±2.23^a
Bicarbonatos (mmol/L ₍₋₎ H ₃)	9.1±0.14 ^b	46.85±0.74^a
Cloruros (mmol/L ₍₋₎ Cl)	27.88±0.16 ^a	17.44±0.08^b
Sulfatos (mmol ₍₋₎ /LSO ₄ ⁻²)	116.99±0.98 ^a	102.17±1.2^b
Mg extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	63.01±0.97 ^a	11.28±0.02 ^b
Calcio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	74.87±0.68 ^a	41.37±0.47 ^b
Sodio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	8.14±0.26 ^b	17.23±0.63^a
Potasio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	6.07±0.06 ^a	5.21±0.16 ^b
Magnesio soluble (mmol/L)	68.99±0.05 ^a	9.85±0.1 ^b
Calcio soluble (mmol/L)	34.94±0.12 ^a	25.68±0.73 ^b
Sodio soluble (mmol/L)	307.55±0.7 ^a	125.32±17 ^b
Potasio soluble (mmol/L)	2.46±0.19 ^a	3.18±0.05 ^a
C.I.C. (Cmol ₍₊₎ /Kg)	43.18±0.15 ^b	50.64±0.44^a
P.S.I. (%)	23.70±1.82 ^b	34.03±1.54^a
R.A.S.	42.66±0.13 ^a	29.71±3.75 ^b
Materia orgánica (%)	2.72±0.37 ^a	3.76±0.17 ^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de t student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. C.I.C.: capacidad de intercambio catiónico, P.S.I. porcentaje de sodio intercambiable, R.A.S. relación adsorción de Sodio.

7.1.2. Caracterización inicial y final de los suelos utilizados en invernadero para el crecimiento de *F. trinervia*

Después de que las plantas de *F. trinervia* florecieron, aproximadamente después de 5 meses de haber sembrado las semillas, se retiró el material vegetal de los suelos y se realizó una caracterización final de estos con la intención de conocer que cambió en el suelo después del crecimiento de las plantas. Los resultados son los siguientes (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultado de la caracterización final de suelos en invernadero para *F. trinervia* para ambos tratamientos.

Característica	Inicial	Final
	Tratamiento A	Tratamiento A
Conductividad eléctrica (dS/m)	2.20±0.15 ^a	1.06±0.09^b
pH	6.89±0.33 ^b	7.56±0.34^a
carbonatos (mmol ₍₋₎ /LCO ₃ ²⁻)	0 ^b	41.06±1.49^a
bicarbonatos (mmol/L ₍₋₎ H ₃)	9.44±0.16 ^b	56.59±1.86^a
cloruros (mmol/L ₍₋₎ Cl)	2.97±0.05 ^a	1.46±0.08^b
sulfatos (mmol ₍₋₎ /LSO ₄ ²⁻)	55.83±2.05 ^a	6.9±0.97 ^b
Mg extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	8.51±0.63 ^a	2.52±0.20 ^b
Calcio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	35.96±0.99 ^a	17.30±2.06 ^b
Sodio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	7.68±0.46 ^a	1.58±0.09 ^b
Potasio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	2.03±0.15 ^a	1.95±0.32 ^a
Magnesio soluble (mmol/L)	2.80±0.25 ^a	2.43±0.33 ^a
Calcio soluble (mmol/L)	21.57±0.63 ^a	4.83±0.28 ^b
Sodio soluble (mmol/L)	6.15±0.12 ^a	7.01±0.22 ^a
Potasio soluble (mmol/L)	1.99±0.01 ^a	2.05±0.39 ^a
C.I.C. (Cmol ₍₊₎ /Kg)	31.58±0.15 ^a	30.86±0.29 ^a
P.S.I. (%)	14.96±0.10 ^a	5.11±0.26^b
R.A.S.	1.76±0.004 ^b	3.83±0.26^a
Materia orgánica (%)	3.79±0.27 ^a	4.20±0.13 ^a
Característica	Tratamiento B	Tratamiento B
Conductividad eléctrica (dS/m)	13.24±0.24 ^a	12.37±0.32 ^a
pH	7.57±0.33 ^a	8.47±0.007 ^a
carbonatos (mmol ₍₋₎ /LCO ₃ ²⁻)	0 ^b	46.32±1.49^a
bicarbonatos (mmol/L ₍₋₎ H ₃)	9.1±0.14 ^b	50.01±2.23^a
cloruros (mmol/L ₍₋₎ Cl)	27.88±0.16 ^a	23.92±2.47^b
sulfatos (mmol ₍₋₎ /LSO ₄ ²⁻)	116.99±0.98 ^b	113.1±2.4^a
Mg extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	63.01±0.97 ^a	14.35±0.91 ^a
Calcio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	74.87±0.68 ^a	51.02±1.22 ^b
Sodio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	8.14±0.26 ^b	21.62±3.16^a
Potasio extractable (Cmol ₍₊₎ /Kg)	6.07±0.06 ^a	4.91±0.28 ^a
Magnesio soluble (mmol/L)	68.99±0.05 ^a	17.91±0.38 ^b
Calcio soluble (mmol/L)	34.94±0.12 ^a	26.25±1.06 ^b

Sodio soluble (mmol/L)	307.55±0.7 ^a	207.9±13.1^b
Potasio soluble (mmol/L)	2.46±0.19 ^a	3.08±0.20 ^a
C.I.C. (Cmol ₍₊₎ /Kg)	43.18±0.15 ^b	47.12±1.03^a
P.S.I. (%)	23.70±1.82 ^b	45.83±5.70^a
R.A.S.	42.66±0.13 ^a	44.22±2.08 ^a
Materia orgánica (%)	2.72±0.37 ^a	3.43±0.09 ^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. C.I.C.: capacidad de intercambio catiónico, P.S.I. porcentaje de sodio intercambiable, R.A.S. relación adsorción de Sodio.

7.1.3. Caracterización de suelos obtenidos en campo

Los suelos colectados en los sitios de campo para ambas plantas de acuerdo a la NOM 021 se clasifican como salino-sódico, excepto el suelo del sitio 3 de *B. monnieri*. Todos los suelos presentaron una textura arcillosa mientras que el del sitio 2 de *F. trinervia* presentó una textura franco-arcillosa. En el caso de *F. trinervia* en sus 3 sitios se clasificaron como salino-sódico a pesar de que el suelo del sitio 3 presentó una conductividad baja, pero aun así según, la NOM 21, los suelos con una C.E. mayor a 2 dS/m se consideran suelos salinos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Caracterización de C.I.C, clase textural, porcentaje de materia orgánica y tipo de salinidad de los suelos de los sitios de campo para ambas plantas.

Especie vegetal	Sitio	C.I.C.	Clase textural	% M.O.	Tipo de suelo salino
<i>B. monnieri</i>	1	53.78±0.43	Arcillosa	5.23±0.74	Salino-sódico
	2	28.03±1.20	Arcillosa	5.38±0.15	Salino-sódico
	3	38.31±2.04	Arcillosa	6.27±0.23	Normal
<i>F. trinervia</i>	1	47.43±1.29	Arcillosa	7.13±0.63	Salino-sódico
	2	28.72±0.24	Franco-arcillosa	7.71±0.14	Salino-sódico
	3	46.81±0.36	Arcillosa	3.38±0.21	Salino-sódico

Se presenta la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar de cada tratamiento. C.I.C.= capacidad de intercambio catiónico, % M.O.= porcentaje de materia orgánica.

Los resultados de la caracterización del suelo en los tres sitios se muestran en el siguiente cuadro (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados de la caracterización de suelo de campo para ambas especies.

Características	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
	<i>B. monnieri</i>	<i>B. monnieri</i>	<i>B. monnieri</i>
Conductividad eléctrica (dS/m)	17.30±0.1^a	4.33±0.2 ^b	2.03±0.7 ^c
pH	7.34±0.2 ^b	8.18±0.1 ^b	8.79±0.1^a
carbonatos (mmol ₍₋₎ /LCO ₃ ²⁻)	0 ^b	0 ^b	43.9±3^a

bicarbonatos (mmol/L(-)H ₃)	24.57±1.52 ^b	33.34±3.03 ^b	121.6±6^a
cloruros (mmol/L(-)Cl)	65.49±3.53^a	23.26±0.94 ^b	3.15±1.2 ^c
sulfatos (mmol(-)/LSO ₄ ²⁻)	156.21±9.8^a	16.13±1.22 ^b	7.98±0.5 ^b
Mg extractable (Cmol(+)/Kg)	8.29±1.46 ^b	0.91±0.91 ^c	12.9±1.4^a
Calcio extractable (Cmol(+)/Kg)	19.32±1.08 ^b	15.19±0.26 ^c	32.39±1.8^a
Sodio extractable (Cmol(+)/Kg)	39.41±1.24^a	15.08±1.27 ^b	3.87±0.62 ^c
Potasio extractable (Cmol(+)/Kg)	15.50±0.87^a	3.70±0.18 ^b	4.78±0.71 ^b
Magnesio soluble (mmol/L)	31.93±1.68^a	0.77±0.05 ^c	5.46±1.4 ^b
Calcio soluble (mmol/L)	33.53±3.03^a	2.13±0.19 ^b	4.59±1.40 ^b
Sodio soluble (mmol/L)	93.10±3.76^a	37.70±1.03 ^b	14.86±1.9 ^c
Potasio soluble (mmol/L)	4.77±0.76^a	2.96±0.05 ^b	1.70±0.34 ^c
C.I.C. (Cmol(+)/Kg)	53.78±0.43^a	28.03±1.20 ^c	38.32±2.1 ^b
P.S.I. (%)	68.32±6.82^a	53.93±6.00 ^b	10.83±1.7 ^c
R.A.S.	15.17±0.93 ^b	31.32±0.41^a	6.36±0.35 ^c
Materia orgánica (%)	5.23±0.74 ^a	5.38±0.15 ^a	6.27±0.23 ^a
Características	<i>F. trinervia</i>	<i>F. trinervia</i>	<i>F. trinervia</i>
Conductividad eléctrica (dS/m)	15.29±1.4^a	12.65±0.3 ^b	4.17±0.3 ^c
pH	7.66±0.6 ^c	8.35±0.1^a	8.34±0.9 ^b
carbonatos (mmol(-)/LCO ₃ ²⁻)	0 ^c	85.98±3^a	43.86±3 ^b
bicarbonatos (mmol/L(-)H ₃)	58.78±5.48 ^b	128.1±3.1^a	50.88±1.5 ^b
cloruros (mmol/L(-)Cl)	0.87±0.06 ^b	61.44±0.5^a	0.96±0.04 ^b
sulfatos (mmol(-)/LSO ₄ ²⁻)	64.11±2.31 ^b	82.07±1^a	42.98±0.4 ^c
Mg extractable (Cmol(+)/Kg)	8.41±0.49 ^b	0.89±0.01 ^c	16.13±0.20^a
Calcio extractable (Cmol(+)/Kg)	17.03±2.13 ^b	14.09±0.15 ^b	41.68±0.21^a
Sodio extractable (Cmol(+)/Kg)	15.12±1.14 ^b	11.54±0.48 ^b	28.40±2.70^a
Potasio extractable (Cmol(+)/Kg)	6.91±1.93^a	3.28±0.05 ^b	7.47±0.13^a
Magnesio soluble (mmol/L)	12.92±2.57^a	3.54±0.01 ^b	16.35±0.06^a
Calcio soluble (mmol/L)	18.08±1.94 ^a	15.85±0.10 ^{a^b}	14.67±0.04 ^b
Sodio soluble (mmol/L)	93.33±5.02 ^b	139.75±6.9^a	30.43±0.79 ^c
Potasio soluble (mmol/L)	3.42±0.11 ^b	6.33±0.17^a	3.42±0.11 ^b
C.I.C. (Cmol(+)/Kg)	47.43±1.29^a	28.72±0.24 ^b	46.81±0.36^a
P.S.I. (%)	31.85±1.51 ^b	40.19±1.85 ^b	58.50±6.17^a
R.A.S.	23.52±3.33 ^b	44.88±2.09^a	7.73±0.21 ^c
Materia orgánica (%)	7.13±0.63^a	7.71±0.14^a	3.38±0.21 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey, $\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. C.I.C.: capacidad de intercambio catiónico, P.S.I. porcentaje de sodio intercambiable, R.A.S. relación adsorción de Sodio.

7.2. Caracteres funcionales de la planta a nivel morfológico

7.2.1. Atributos morfológicos de *Bacopa monnieri*

Las plantas que crecieron bajo estrés salino experimentan cambios en su crecimiento como respuesta a esta condición. En el experimento montado en el invernadero, *B. monnieri*, presentó una diferencia estadísticamente significativa en su altura entre los dos tratamientos (Cuadro 7). El área foliar y la longitud de raíz no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Cuadro 7. Resultados de las mediciones morfológicas de los individuos de *B. monnieri* obtenidos de invernadero.

Parte	Tratamiento A	Tratamiento B
Altura (cm)	26.2±0.16^a	13.6±0.4 ^b
Área foliar (mm ²)	0.589±0.05 ^a	0.434±0.12 ^a
Longitud del tallo (cm)	18.5±1.04^a	5.16±0.05 ^b
Longitud de la raíz (cm)	7.7±0.60 ^a	8.43±0.06 ^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar.

En el caso de *B. monnieri* que creció en condiciones de campo las mediciones morfológicas se pueden observar en el cuadro 8, en este se aprecia que la salinidad del suelo afectó tanto la longitud del tallo como el área foliar (sitio 1), pero las plantas que crecieron en un suelo no salino o normal presentaron mayor área foliar (sitio 3), y las que crecieron bajo una salinidad moderada en un suelo húmedo, presentaron mayor longitud de tallo (sitio 2).

Cuadro 8. Resultado de las mediciones morfológicas de los individuos de *B. monnieri* en campo.

Parte	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Altura (cm)	13.66±0.76 ^a	14.83±0.57 ^a	13.5±1 ^a
Área foliar (mm ²)	0.15±0.005 ^c	0.27±0.03 ^b	0.34±0.01^a
Longitud del tallo (cm)	4±0.01 ^c	7.5±0.5^a	6.16±0.76 ^b
Longitud de la raíz (cm)	9.67±0.76^a	7.33±0.28 ^b	7.33±1.04 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar.

7.2.2 Atributos morfológicos de *Flaveria trinervia*

Los individuos de los tratamientos de invernadero de *F. trinervia* mostraron una tendencia general al aumento en altura, área foliar y longitud de la raíz en el tratamiento A, con conductividad eléctrica menor (Cuadro 9). Para todas las características medidas, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el experimento montado en el invernadero ($p < 0.05$).

Cuadro 9. Resultados de las mediciones morfológicas de los individuos de *F. trinervia* en invernadero.

Parte	Tratamiento A	Tratamiento B
Altura (cm)	58.17±2.37^a	35±1 ^b
Área foliar (mm ²)	15.54±2.15^a	10.05±1.44 ^b

Longitud del tallo (cm)	45±2^a	24±1.73 ^b
Longitud de la raíz (cm)	13.17±0.76^a	11±1 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar.

En el caso de *F. trinervia* que creció bajo condiciones de campo las mediciones morfológicas se pueden observar en el cuadro 10, en el que se observa que los individuos del sitio 3, donde hay un suelo salino-sódico con una baja C.E., presentaron mayor área foliar, pero la longitud del tallo, de la raíz y la altura es similar a las de las plantas que crecieron en el sitio 1 con un suelo salino-sódico con una alta C.E. En el sitio 2 que presentó un suelo salino con una C.E. intermedia, los individuos presentaron menor tamaño en los caracteres medidos.

Cuadro 10. Resultados de las modificaciones morfológicas de *F. trinervia* de cada sitio de campo.

Parte	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Altura (cm)	71.33±0.29^a	28.33±1.04 ^b	69.67±2.47^a
Área foliar (mm ²)	8.77±0.21 ^b	5.59±0.19 ^c	12.08±0.5^a
Longitud del tallo (cm)	54.5±1.80^a	22±1.50 ^b	53.33±1.26^a
Longitud de la raíz (cm)	16.83±1.60^a	6.33±0.58 ^b	16.33±1.53^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar.

7. 3 Caracteres funcionales de la planta a nivel anatómico

7.3.1 Descripción de los atributos anatómicos de *B. monnieri* en invernadero

7.3.1.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz

La raíz presentó una rizodermis uniseriada, formada por células alargadas sin espacios intercelulares, con cutícula delgada y rugosa (Fig. 2A, D). El córtex mostró un grosor de 311 a 399 μm (Fig. 2B, E), siendo los del tratamiento A los que presentó mayor tamaño (349.48±23.5 μm), formado por células de parénquima isodiamétricas con espacios intercelulares alargados (Fig. 2B, E). El cilindro central comenzó con la endodermis uniestratificada, formada por células de parénquima rectangulares sin espacios intercelulares (Fig. 2C, F). Debajo de la endodermis se encontró el periciclo formado por una capa de células irregulares alargadas. El tejido vascular secundario

estuvo bien diferenciado, el cámbium vascular formó un cilindro completo de 1-2 células de grosor (Fig. 2C, F). El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños con células acompañantes y parénquima floemático con presencia de algunas células dilatadas de parénquima. El xilema secundario presentó elementos de vaso lignificados con porosidad difusa, que varían de 23 a 38 en todo el xilema, los del tratamiento A son los que presentó mayor cantidad de vasos (38 ± 2) con mayor diámetro tangencial y radial (Cuadro 11). No se presentó médula.

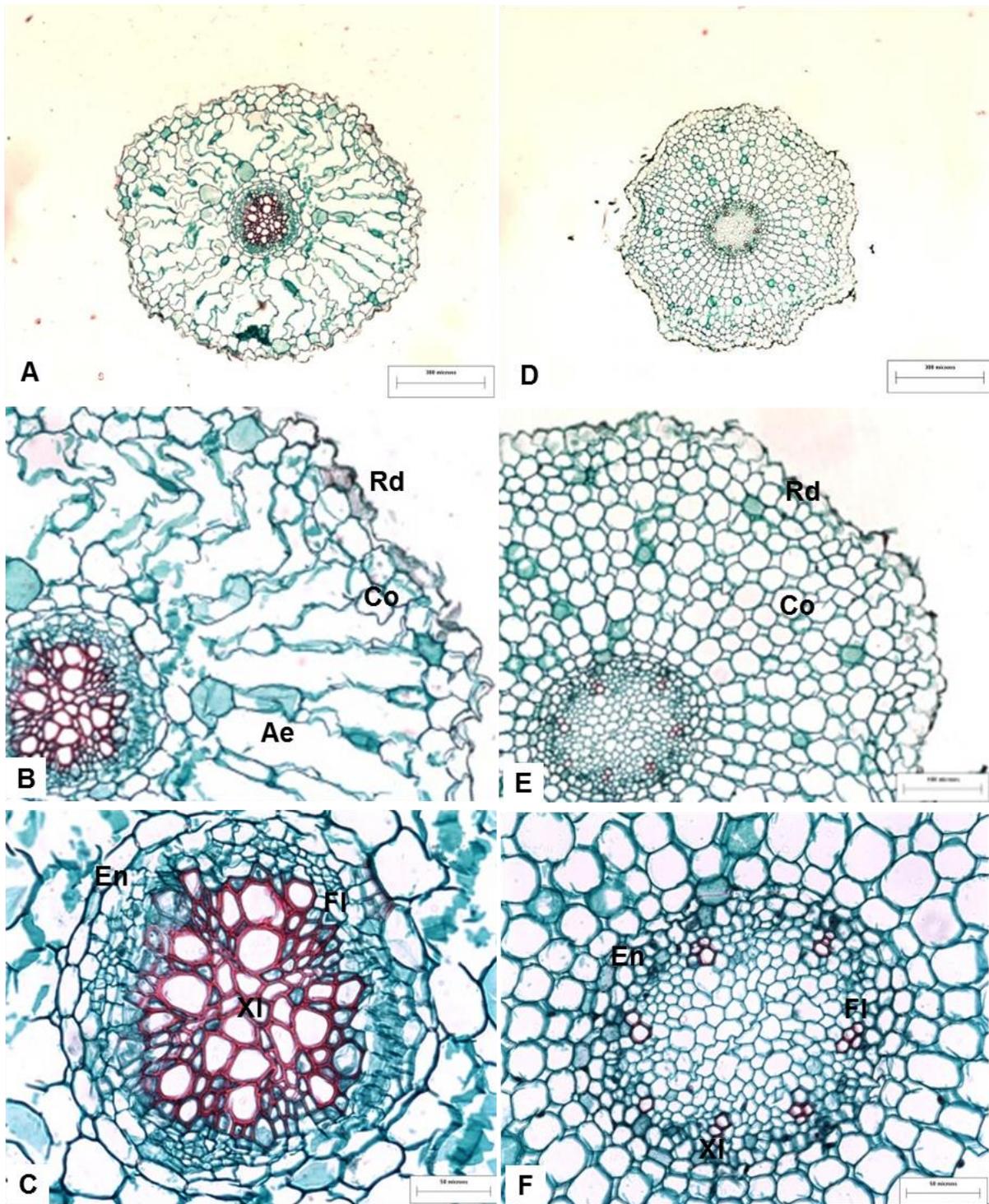


Figura 2. Tejidos de la raíz de *B. monnieri* en invernadero. A-C corresponden a los individuos del tratamiento A. D-F corresponden a los tejidos del tratamiento B. Rd= rizodermis, Co= córtex, Ae= aerénquima, En= endodermis, Fl=floema, Xl= xilema.

7.3.1.2 Descripción y medición de los tejidos del Tallo

El tallo presentó una epidermis simple con cutícula delgada y rugosa, en la epidermis se apreció la presencia de glándulas excretoras y estomas (Fig. 3D, H), los individuos del tratamiento A presentaron mayor diámetro de tallo (Fig. 3A, E). El córtex de 1.41 mm a 1.60 mm, presentaron de 3-4 estratos de aerénquima, en el cual el área de los espacios intercelulares menores varió de 0.0044 mm² a 0.018 mm², siendo los individuos del tratamiento A (2.20 dS/m) los que presentaron mayor área (Fig. 3B). Después del córtex continúa la endodermis, formada por una capa de células de parénquima alargadas tangencialmente en las que se apreció la banda de Caspary, después está el periciclo de 1-2 células irregulares y pequeñas (Fig. 3C, G). El tejido vascular secundario estuvo bien definido, el floema conductor consiste en tubos cribosos pequeños con células acompañantes. El xilema secundario presentó elementos de vaso lignificados en hileras radiales de 2-3, que variaron de 66 a 113 en total, con parénquima radial mono y biseriado, los individuos del tratamiento A son los que presentaron mayor número de elementos de vaso y mayor diámetro tangencial (Cuadro 11). La médula fue parenquimatosa con células de diámetro amplio y espacios intercelulares.

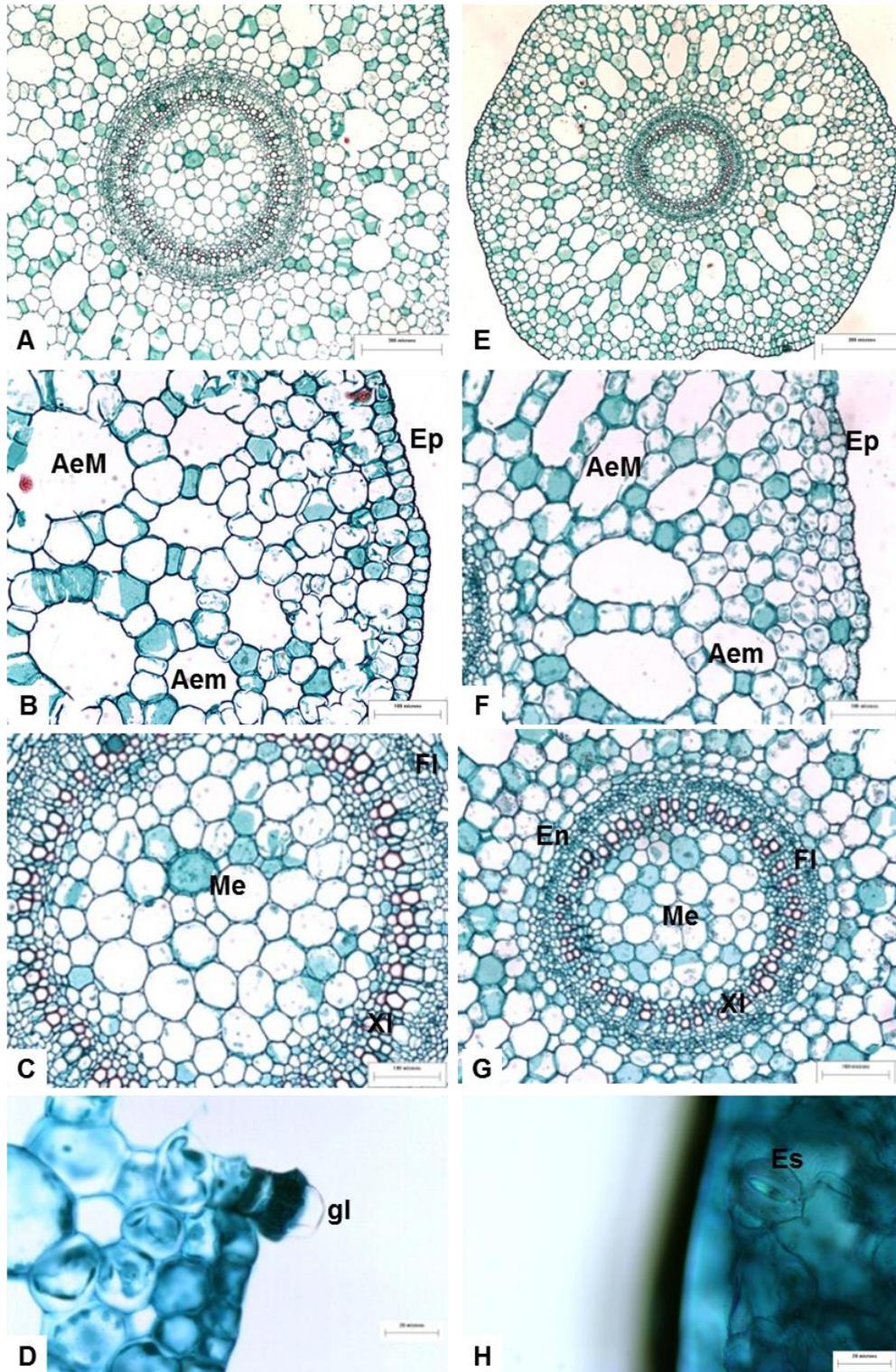


Figura 3. Tejidos del tallo de *B. monnieri* en invernadero. A-D corresponden a los individuos del tratamiento A. E-H corresponde a los tejidos de los individuos del tratamiento B. Ep= epidermis, Es= estoma, AeM= aerénquima mayor, Aem= aerénquima menor, En= endodermis, Fl=floema, Xl= xilema, Me= médula, gl= glándula.

7.3.1.3 Descripción y medición de los tejidos de la Hoja

En corte paradermal, se observó que en ambas superficies las células epidérmicas fueron tetragonales alargadas con paredes anticlinales onduladas, a veces en la cara adaxial estaban más onduladas y alargadas que en la cara abaxial en los del tratamiento B no se observó diferencia (Fig. 4G), las células con mayor área en ambas caras estuvieron presentes en los individuos del tratamiento A (Fig. 4A,C,D), y estrías en la pared periclinal externa en todos los individuos, los estomas en su mayoría son anisocíticos, encontrando también estomas tetracíticos en ambas caras, el mayor índice estomático y mayor cantidad de estomas por mm^2 se presentó en el tratamiento B (Cuadro 12). Se observaron glándulas excretoras inmersas en la epidermis, compuestas por una célula en la base en posición paradermal y sobre ella se localizan 8 células secretoras, alargadas en posición transversal, rodeadas por una cutícula gruesa, dentro de estas células se observaron 2 vacuolas y paredes laberínticas lignificadas, en el tratamiento B se observó mayor cantidad de glándulas por mm^2 en ambas caras (Fig. 4B, H). En corte transversal, la epidermis es uniseriada, las células en forma de cúpula en su pared periclinal y la anticlinal hundida, presentaron cutícula gruesa y rugosa. Los estomas y las glándulas estaban ligeramente hundidos con respecto a las otras células epidérmicas, siendo los estomas presentes en la cara abaxial del tratamiento A los que presentaron mayor diámetro tangencial y radial (Cuadro 11). El mesófilo fue homogéneo con solo parénquima esponjoso y varía de 117 a 118 μm de espesor (Cuadro 12), el parénquima esponjoso se observó colapsado (Fig. 4F, I). Los haces vasculares de la lámina fueron colaterales, presentaron una vaina de células de parénquima que contienen cloroplastos y son típicas de la anatomía Kranz (Fig. 4K).

La vena media no estaba prominente en ninguna de las dos caras. El tejido vascular formó un arco abierto de xilema y el floema forma un anillo al rededor del xilema. Los elementos del floema se presentaron en grupos separado por parénquima radial, en el xilema los elementos de vasos se arreglaron en hileras radiales, los del tratamiento A encontraron con una mayor área de floema, xilema, mayor número de vasos y estos con mayor diámetro tanto tangencial como radial (Fig. 4E, J).

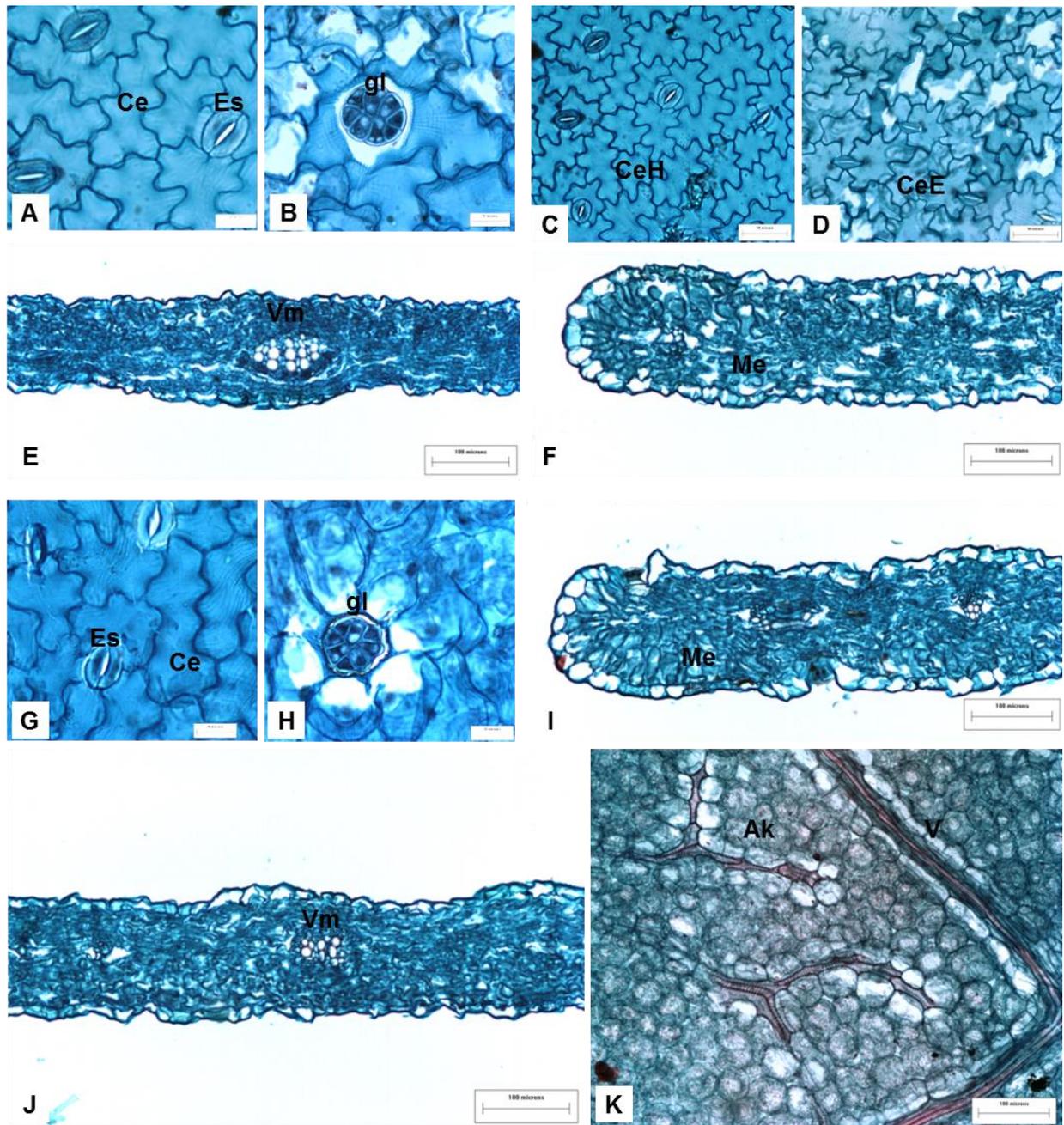


Figura 4. Tejido de hoja de *B. monnieri* en tratamientos de invernadero. A-F corresponden a los individuos del tratamiento A. G-K corresponden a los individuos del tratamiento B. Ce= célula epidérmica, Es= estoma, gl= glándula, CeH= célula epidérmica del haz, CeE= célula epidérmica del envés, Vm= vena media, Me= mesofilo esponjoso, Ak= anatomía tipo Kranz en corte paradermal, V= vena.

En el cuadro 11 y 12 se observó de manera general que los tejidos vasculares tanto de raíz, tallo y hoja presentan mayor tamaño los individuos del tratamiento A en comparación de los individuos del tratamiento B, observando un aumento de estos tejidos cuando el suelo es salino que cuando no lo es.

Cuadro 11. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de *B. monnieri* de invernadero

Raíz-Tejido	Invernadero	
	T. A	T. B
Diámetro de la raíz (mm)	0.98±0.1 ^a	0.77±0.07 ^a
Ancho de epidermis y córtex (µm)	399.48±23.5^a	311.68±14.1 ^b
Ancho de tejido vascular (µm)	146.55±5.2 ^a	57.66±13.4 ^b
No. de vasos	38±2^a	23±2.8 ^b
Diámetro tangencial de los vasos (µm)	16.86±0.9^a	8.61±0.7 ^b
Diámetro radial de los vasos (µm)	19.72±2.03^a	10.75±0.1 ^b
Tallo-Tejido	T.A	T.B
Diámetro de tallo (mm)	2.36±0.04^a	1.82±0.3 ^b
Ancho de epidermis y córtex (mm)	1.60±0.1 ^a	1.41±0.2 ^a
Área de aerénquima mayor (mm ²)	0.021±0.0002 ^a	0.018±0.002 ^a
Área de aerénquima menor (mm ²)	0.0084±0.001^a	0.0044±0.001 ^b
Ancho de tejido vascular (µm)	165.65±21.3^a	109.88±4.4 ^b
No. Vasos de xilema	113±4.2^a	66±11.3 ^b
Diámetro tangencial vasos (µm)	22.94±0.4^a	15.13±1.7 ^b
Diámetro radial vasos (µm)	18.96±1.0 ^a	16.31±3.2 ^a
Ancho de médula (µm)	597.49±63.7^a	352.13±54.9 ^b
Hoja-Tejido	T. A	T. B
Ancho de lámina (µm)	145.3±4.2 ^a	140.9±15.1 ^a
Ancho de mesófilo (µm)	117.9±5.7 ^a	118.1±14.2 ^a
Área de floema (µm ²)	3037.84±213.6^a	2321.02±149.5 ^b
Área de xilema (µm ²)	3498.46±191.1^a	1896.22±166.8 ^b
No. Vasos/vena	17±1.4^a	10.3±0.6 ^b
Diámetro tangencial de vaso (µm)	12.8±0.7^a	8.9±0.4 ^b
Diámetro radial de vaso (µm)	12.4±0.7^a	8.6±0.6 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones ± la desviación estándar.

Cuadro 12. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de hoja de *B. monnieri* en invernadero.

Epidermis-Hoja	Invernadero	
	T.A	T.B
Á. células epidérmicas haz (μm)	3333.04±153.4^a	3068.5±84.8 ^b
Á. células epidérmicas envés (μm)	2783.6±227.8^a	1758.8±236.7 ^b
Índice estomático haz (%)	9.72±1.2 ^a	11.26±1.7 ^a
Índice estomático envés (%)	12.57±0.6 ^a	13.27±3.2 ^a
Estomas/mm ² haz	14.97±0.9 ^b	19.38±2.2^a
Estomas/mm ² envés	13.05±1.2 ^b	16.85±1.8^a
Glándulas/mm ² haz	1.28±0.2 ^b	2.89±0.3^a
Glándulas/mm ² envés	2.13±0.2 ^b	3.19±0.4^a
Área glándulas haz (μm)	1009.15±29.5 ^a	782.58±143.3 ^a
Área glándulas envés (μm)	1357.45±55.4 ^a	884.33±112.04 ^b
D. tangencial de estoma H. (μm)	20.81±1.5 ^a	20.84±0.8 ^a
D. tangencial de estoma E. (μm)	25.25±3.2^a	19.79±2.6 ^b
D. radial de estoma H. (μm)	33.57±3.1 ^a	29.71±0.9 ^a
D. radial de estoma E. (μm)	38.83±1.7^a	29.46±1.6 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. D= diámetro.

7.3.2 Descripción de los atributos anatómicos de *B. monnieri* en condiciones de campo

7.3.2.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz

La raíz presentó una rizodermis uniseriada, formada por células alargadas sin espacios intercelulares, con cutícula delgada y rugosa (Fig. 5A, C, E). El córtex tuvo un grosor de 287 a 448 μm (Cuadro 13), formado por células de parénquima redondas isodiamétricas que formaron espacios intercelulares alargados (Fig. 5A, C, E). El cilindro central se delimitó por la endodermis, que se encuentra después del córtex, esta es una capa uniestratificada, formada por células de parénquima rectangulares sin espacios intercelulares, debajo de la endodermis se encontró el periciclo formado por una capa de células irregulares alargadas (Fig. 5B, D, F). El tejido vascular secundario está bien diferenciado, el cámbium vascular formó un cilindro completo de 1-2 células de grosor. El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños con células acompañantes y parénquima floemático con presencia de algunas células

dilatadas de parénquima. El xilema secundario presentó elementos de vaso lignificados con porosidad difusa, que varían de 65 a 75 en total, los individuos del sitio 1 son los que presentaron mayor tamaño de tejido vascular (Fig. 5B), y junto con los del sitio 3 presentaron los elementos de vasos con mayor diámetro (Fig. 5F) (Cuadro 13). No hubo médula.

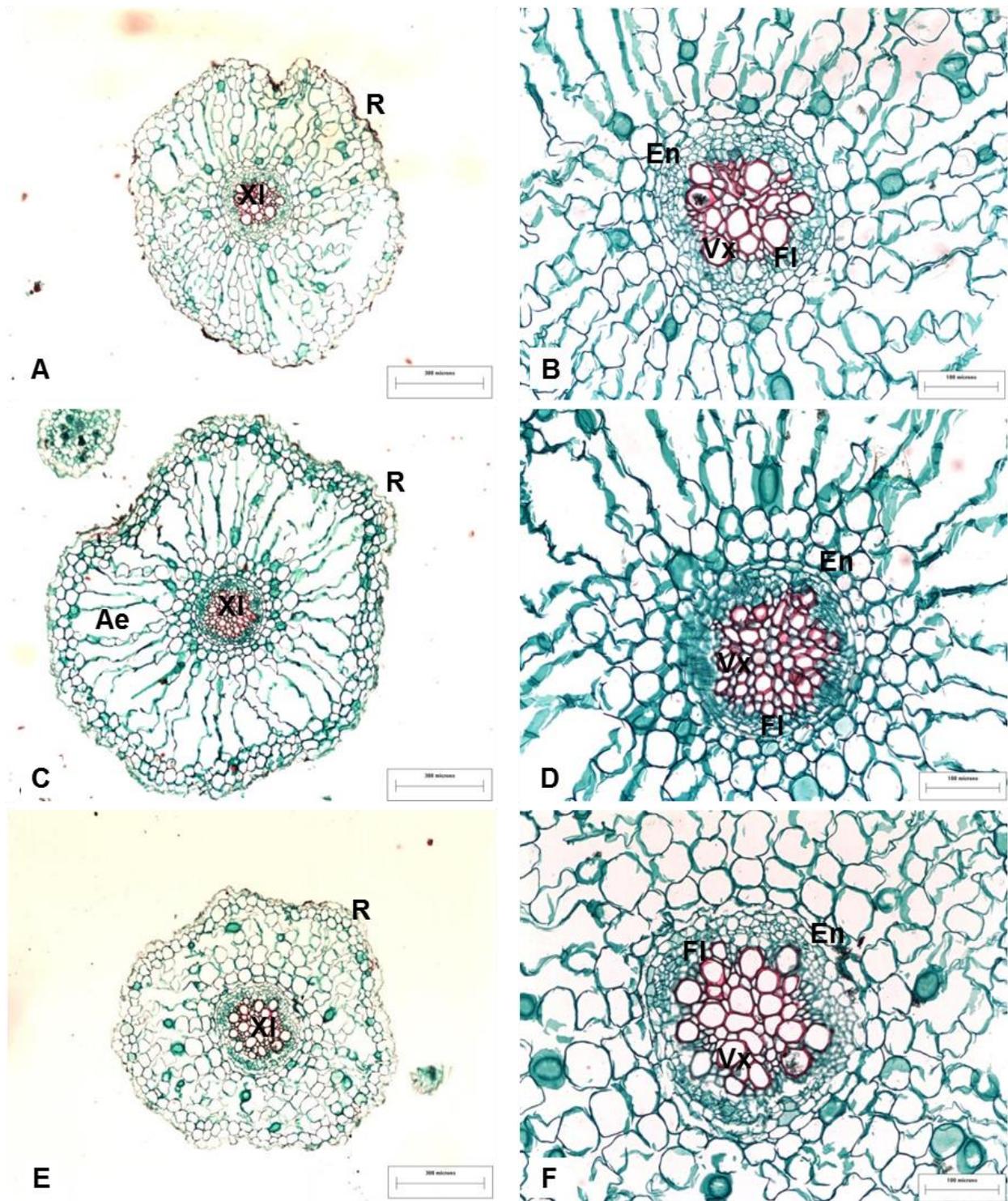


Figura 5. Tejido de raíz de *Bacopa monnieri* obtenida en campo. A-B pertenece a los individuos del sitio 1. C-D pertenece a los individuos del sitio 2. E-F pertenece a los individuos del sitio 3. R= corte transversal de raíz, Ae= aerénquima, En= endodermis, FI= floema, XI= xilema, Vx= elementos de vaso del xilema.

7.3.2.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo

El tallo presentó una epidermis simple (Fig. 6A) con cutícula delgada y rugosa, en la epidermis se apreció la presencia de glándulas excretoras, al igual que estomas (Fig. 6B, F, J). El córtex de 0.68 mm a 1.61 mm estaba formado por células de parénquima de forma isodiamétrica que forman de 3-4 estratos de aerénquima, en los cuales el área de espacios intercelulares varió de 0.034 mm a 0.0055 mm, el estrato de aerénquima en el centro del córtex presentó espacios de mayor área (0.11-0.034 mm) (Cuadro 13), los espacios de este estrato estaban formados por células de parénquima alargadas y en división lo cual indicó que es la zona en la que el tallo se engrosa, los individuos del sitio 2 son los que presentaron mayor tamaño en el aerénquima $0.34 \pm 0.004 \mu\text{m}^2$ (Fig. 6F). Después del córtex continúa la endodermis, formada por una capa de células de parénquima alargadas tangencialmente en las que se apreció la banda de Caspary, después está el periciclo de 1-2 células irregulares y de menor tamaño que la endodermis. El tejido vascular secundario estaba bien diferenciado, el cambium vascular formó un cilindro completo de 1-2 células de grosor (Fig. 6C, G, K). El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños con células acompañantes y parénquima floemático con presencia de algunas células dilatadas de parénquima. El xilema secundario presentó elementos de vaso lignificados en hileras radiales de 2-4, que variaron de 64 a 108 en total, con parénquima radial mono y biseriado, los individuos del sitio 1 y 2 son los que presentaron mayor número de elementos de vaso y los del sitio 2 son los de mayor diámetro (Cuadro 13). La médula fue parenquimatosa con células de diámetro amplio y espacios intercelulares (Fig. 6C, G, K).

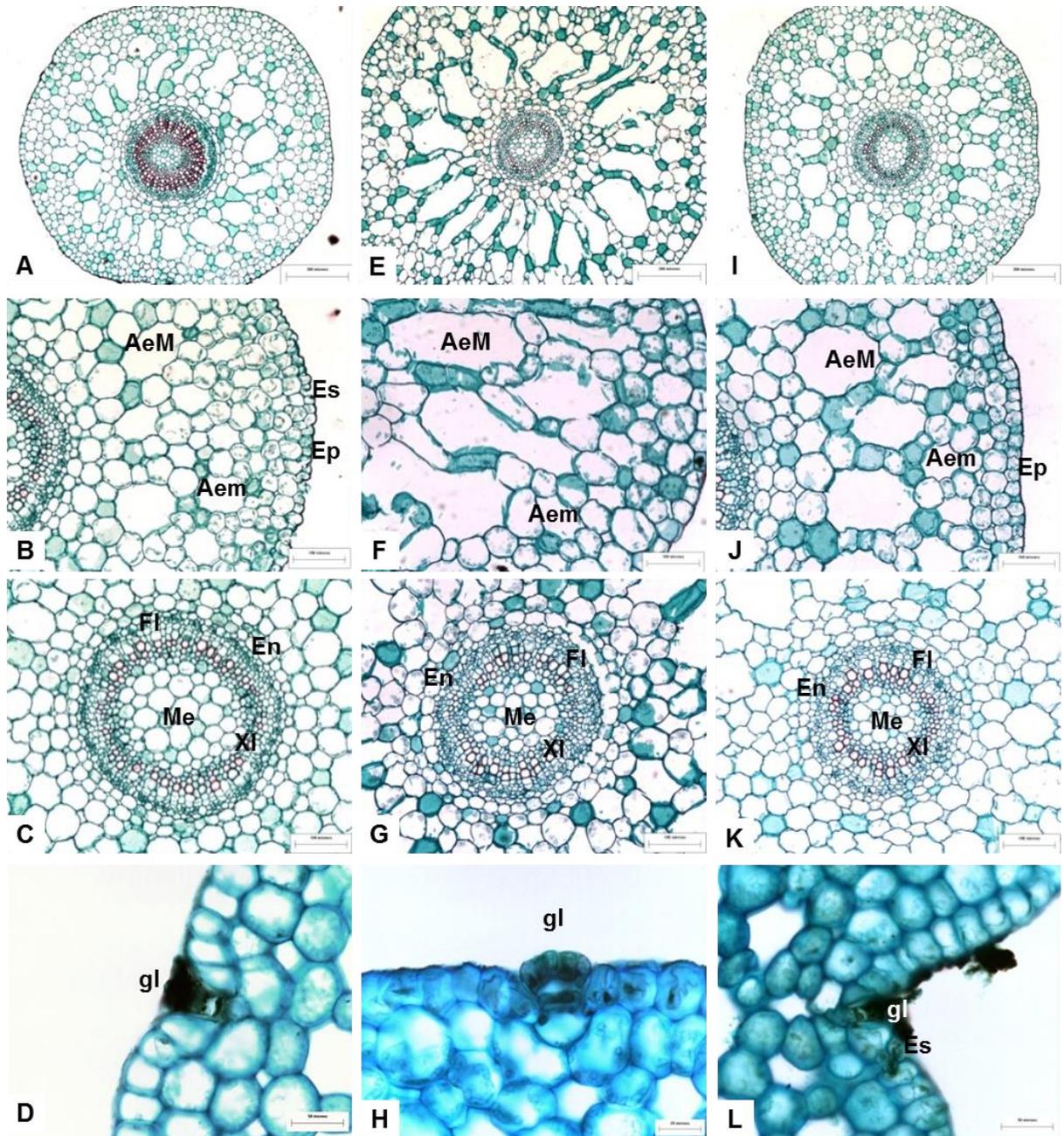


Figura 6. Tejido de tallo de *B. monnieri* en sitios de campo. A-D corresponde a los individuos del sitio 1. E-H pertenece a los individuos del sitio 2. I-L pertenece a los individuos del sitio 3. Ep= epidermis del tallo, Es= estoma, AeM= aerénquima mayor, Ae m= aerénquima menor, En= endodermis, Fl= floema, Xl= xilema, Me= médula, gl= glándula.

7.3.2.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja

En corte paradermal, se observó que en ambas superficies las células epidérmicas eran tetragonales alargadas con paredes anticlinales onduladas, a veces en la cara adaxial eran más onduladas y alargadas que en la cara abaxial y estrías en la pared periclinal externa en todos los individuos (Fig. 7A), los estomas en su mayoría fueron anisocíticos, encontrando también estomas tetracíticos en ambas caras, en mayor cantidad de estomas por mm^2 y con mayor diámetro tangencial y radial en el envés los del sitio 2 (Cuadro 26), los del sitio 1 fueron los que presentaron menor índice estomático y menor número de estomas por mm^2 en la cara abaxial (Fig. 7A), y había glándulas excretoras inmersas en la epidermis, compuestas por una célula en la base en posición paradermal y sobre ella se localizaban 8 células secretoras, alargadas en posición transversal, rodeadas por una cutícula gruesa, dentro de estas células se observaron 2 vacuolas y paredes laberínticas lignificadas (Fig. 7B, G, J). En corte transversal, la epidermis es uniseriada, las células con forma de cúpula en su pared periclinal y la anticlinal hundida, presentaron cutícula gruesa y rugosa (Fig. 7E). Los estomas y las glándulas estaban ligeramente hundidos con respecto a las otras células epidérmicas. El mesófilo era homogéneo con solo parénquima esponjoso y varió de 95 a 123 μm de espesor (Fig. 7D, H, K), el parénquima esponjoso se observó colapsado. Los haces vasculares de la lámina fueron colaterales, con una vaina de células de parénquima que contuvo cloroplastos y son típicas de la anatomía Kranz (Fig. 7C).

La vena media no fue prominente en ninguna de las dos caras. Epidermis y cutícula fueron similares a las presentes en la lámina. El tejido vascular formó un arco abierto de xilema y el floema formó un anillo al rededor del xilema. Los elementos del floema se presentaron en grupos separados por parénquima radial, en el xilema los elementos de vasos se arreglaron en hileras radiales, los del sitio 1 contó con una mayor área de xilema y los vasos presentaron un mayor diámetro tangencial y radial (Fig. 7E).

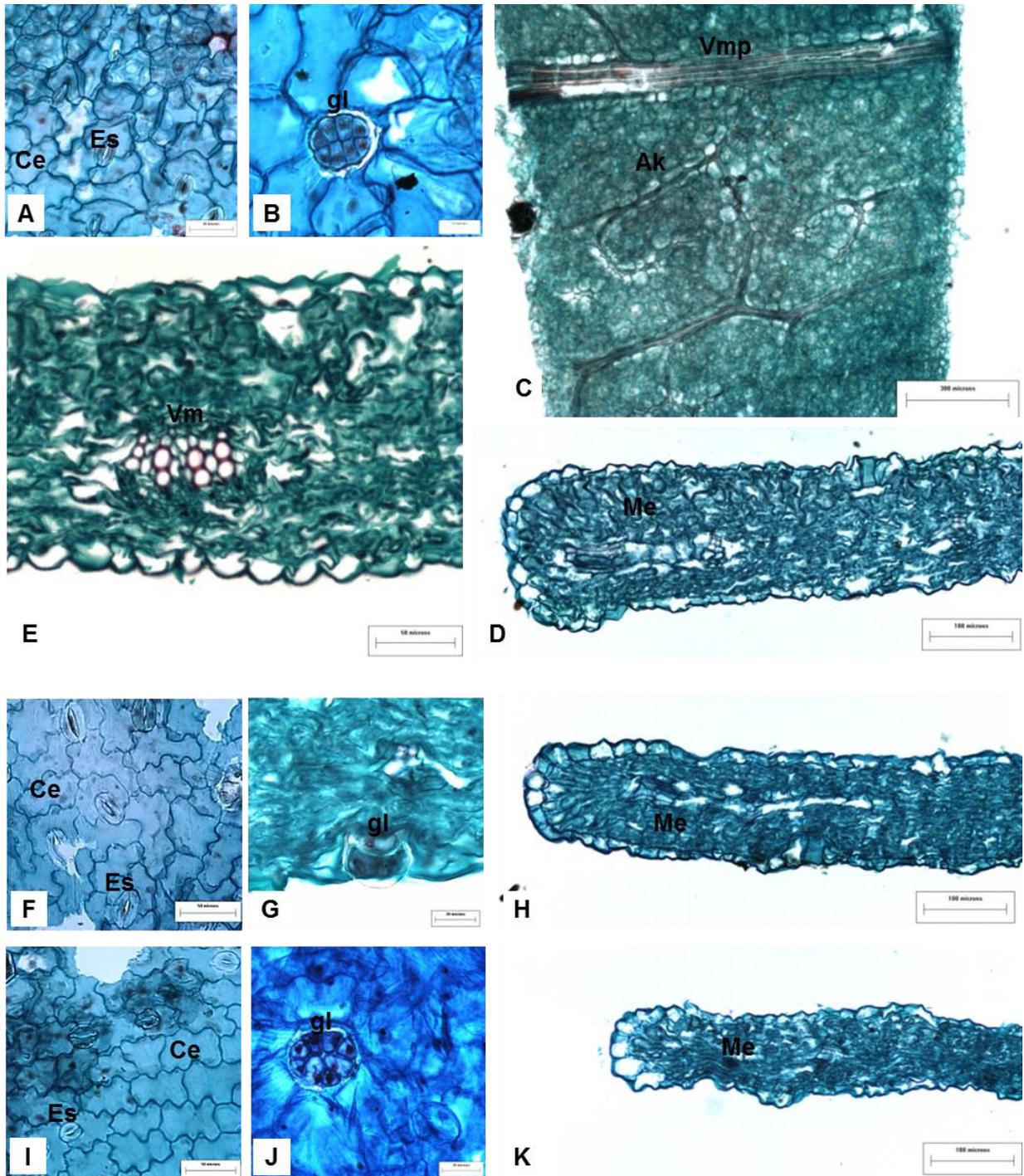


Figura 7. Tejidos de hojas de *B. monnieri* en sitios de campo. A-E pertenece a los individuos del sitio 1. F-H pertenece a los individuos del sitio 2. I-K pertenece a los individuos del sitio 3. Ce= célula epidérmica, Es= estoma, gl= glándula, Vmp= vena media en corte paradermal, Ak= anatomía tipo Kranz, Me= mesófilo esponjoso.

En el cuadro 13 y 14 se observó de manera general que los tejidos de la raíz del sitio 1 y 3 son similares y mayores que los del sitio 2, en los tejidos del tallo los del sitio 2 presentaron mayor tamaño, y en los tejidos de la hoja los del sitio 1 presentaron mayor tamaño que los del sitio 2 y 3, por lo tanto la salinidad del sitio 1 y 3 afectó de manera similar a la raíz, aunque no pasó lo mismo con los tejidos del tallo y la hoja, pero una salinidad intermedia y un suelo húmedo provocó un mayor tamaño en los tejidos del tallo.

Cuadro 13. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de *B. monnieri* en campo.

Raíz-Tallo	Campo		
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Diámetro de raíz (mm)	0.99±0.03 ^a	1.14±0.1 ^a	1.05±0.06 ^a
Ancho de epidermis y córtex (µm)	287.98±19.2 ^b	448.13±24.1^a	387.12±42.8^a
Ancho de tejido vascular (µm)	424.76±98.7^a	183.01±28.5 ^b	301.71±61.3 ^{ab}
No. de vasos	75±5 ^a	65.66±9.5 ^a	69.33±12.1 ^a
Diámetro tangencial de vaso(µm)	27.42±0.2^a	13.77±1.3 ^b	27.88±2.2^a
Diámetro radial de vaso (µm)	31.54±0.4^a	15.22±2.03 ^b	33.31±3.3^a
Tallo-Tejido	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Diámetro de tallo (mm)	0.88±0.02 ^b	1.88±0.2^a	1.03±0.3 ^b
Ancho de epidermis y córtex (mm)	0.68±0.1 ^b	1.61±0.1^a	0.72±0.1 ^b
Área de aerénquima mayor (mm ²)	0.011±0.002 ^b	0.034±0.004^a	0.015±0.005 ^b
Área de aerénquima menor (mm ²)	0.0041±0.001 ^b	0.010±0.001^a	0.0055±0.001 ^b
Ancho de tejido vascular (µm)	69.93±6.4 ^a	64.19±9.9 ^a	66.17±18.9 ^a
No. Vasos de xilema	108.33±8.5^a	96.67±6.02^a	63.67±4.7 ^b
Diámetro tangencial vasos(µm)	16.29±2.3 ^b	22.41±2.7^a	13.01±1.9 ^b
Diámetro radial vasos(µm)	16.21±2.3 ^{ab}	22.47±3.3^a	12.90±1.7 ^b
Ancho de médula (µm)	127.64±29.8 ^b	149.1±10.9 ^{ab}	200.91±28.7^a
Hoja-Tejido	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Ancho de lámina (µm)	152.7±2.1^a	152.4±4.3^a	116.99±5.7 ^b
Ancho de mesófilo (µm)	122.8±2.1^a	127.7±5.5^a	94.53±4.8 ^b
Área de floema (µm ²)	1509.52±83.1 ^a	1415.78±192 ^a	1749.6±452.9 ^a
Área de xilema (µm ²)	2253.58±92.7^a	1669.30±94.5 ^b	1848.73±299 ^{ab}
No. Vasos/vena	13±1 ^a	11.3±1.5 ^a	11.67±1.2 ^a
Diámetro tangencial de vaso(µm)	8.8±0.18^a	7.2±1.01 ^b	8.39±0.04 ^{ab}
Diámetro radial de vaso (µm)	9.9±0.13^a	9.0±0.36 ^b	8.70±0.3 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar.

Cuadro 14. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de hoja de *B. monnieri* en campo.

Epidermis- Hoja	Campo		
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Á. células epidérmicas haz (μm)	1929.44±76.5^a	1619.41±122 ^b	1748±142.8 ^{ab}
Á. células epidérmicas E. (μm)	1399.8±93.4 ^a	1472.5±83.9 ^a	1477.7±150.5 ^a
Índice estomático haz (%)	10.42±0.4 ^b	12.76±0.2^a	11.87±0.5^a
Índice estomático envés (%)	13.71±2.6 ^a	13.22±0.6 ^a	12.31±0.5 ^a
Estomas/mm ² haz	28.14±3.06 ^a	28.09±1.39 ^a	22.99±1.41 ^a
Estomas/mm ² envés	20.19±1.42 ^b	23.66±0.9^a	18.91±0.9 ^b
Glándulas/mm ² haz	5.16±0.7 ^a	4.08±1.03 ^a	4.43±0.6 ^a
Glándulas/mm ² envés	2.33±0.5 ^{ab}	2.92±0.14^a	1.96±0.1 ^b
Área glándulas haz (μm)	961.99±24.7 ^a	851.63±59.3 ^a	903.15±66.3 ^a
Área glándulas envés (μm)	925.23±39.7 ^b	892.1±12.9 ^b	1052.1±21.6^a
D. tangencial de estoma H. (μm)	20.98±1.2 ^a	23.50±1.6 ^a	23.39±1.6 ^a
D. tangencial de estoma E. (μm)	16.54±1.3 ^b	28.72±1.5^a	19.52±1.3 ^b
D. radial de estoma H. (μm)	29.42±1.1 ^a	30.14±0.9 ^a	29.91±1.2 ^a
D. radial de estoma E. (μm)	27.28±1.6 ^b	39.72±2.2^a	27.55±0.8 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. D= diámetro.

7.4.3 Descripción de los atributos anatómicos de *F. trinervia* individuos de invernadero

7.4.3.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz

La raíz presenta rizodermis que en el temprano desarrollo es remplazada por la peridermis (Fig. 8A, B). El córtex estaba formado por varias capas de células de parénquima alargadas tangencialmente con un grosor de 408 a 415 μm (Fig. 8A, D), entre las células de parénquima solamente en los del tratamiento A se encontraron grupos de esclereidas isodiamétricas, en ambos tratamientos se encontraron conductos resiníferos (Fig. 8A). El tejido vascular secundario estaba bien diferenciado, el cámbium vascular formaba un cilindro completo. El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños, de forma angulosa, con células acompañantes en sus esquinas y parénquima floemático. El floema no conductor se caracterizó por una mayor abundancia de parénquima axial y radial, algunos de los radios se dilataron y hubo abundantes canales verticales, entre las células del floema hubo presencia de

cristales en la vía apoplástica en los individuos del tratamiento B (Fig. 8E). El xilema secundario presentó porosidad difusa, el número de vasos/mm² varió de 78 a 110 (Cuadro 15), siendo los individuos del tratamiento A los que presentaron mayor cantidad de vasos por mm² (Fig. 8C), los del tratamiento B tuvieron mayor acumulación de tejido vascular y elementos de vaso con mayor diámetro tanto tangencial como radial (Cuadro 15). Los vasos se distribuyeron solitarios o en hileras radiales, no hubo presencia de médula.

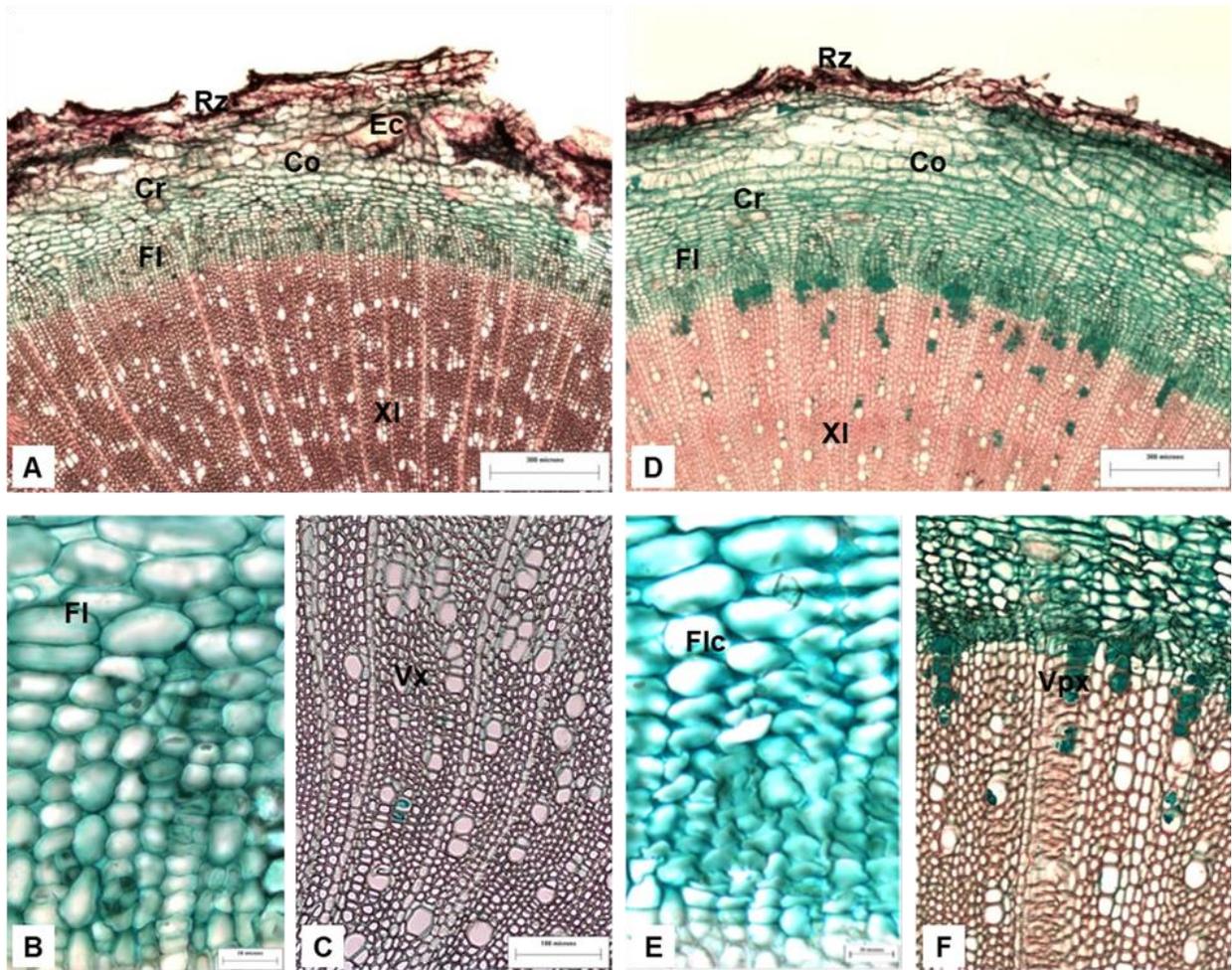


Figura 8. Tejidos de raíz de *F. trinervia* en invernadero. A-C pertenece a los individuos del tratamiento A. D-F pertenece a los individuos del tratamiento B. Rz= rizodermis, Ec= esclereidas, Co= córtex, Cr= canales resiníferos, Fl= floema, XI= xilema, Vx= elementos de vaso de xilema, Flc= Floema con cristales en la vía apoplástica, Vpx= elementos de vaso del protoxilema.

7.4.3.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo

El tallo presentó epidermis simple, con cutícula delgada y lisa, en los individuos del tratamiento A hubo presencia de peridermis en todo el tallo (Fig. 9A). El córtex generalmente estuvo formado por parénquima, con 2 estratos de células de colénquima por debajo de la epidermis en los individuos del tratamiento B (Fig. 9F), también hubo presencia de cristales en el apoplasto y dentro de las células de parénquima (Fig. 9 B, C, H). Además, tanto en los individuos del tratamiento A como en el resto tuvieron varias capas de células de parénquima, alargadas tangencialmente y, en general, se encontraron en división lo que indica que el tallo estuvo en crecimiento, ocupando un ancho de 0.69 mm a 0.89 mm (Cuadro 15), entre las células de parénquima se observaron canales resiníferos y los casquetes de fibras perivasculares, que variaron en tamaño siendo los más amplios los del tratamiento B (Cuadro 15). El tejido vascular secundario estuvo bien diferenciado, el cámbium vascular formó un cilindro completo y tuvo de 2-3 capas de células de grosor. El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños, de forma angulosa, con células acompañantes en sus esquinas y parénquima floemático. El floema no conductor se caracterizó por una mayor abundancia de parénquima axial y radial, algunos de los radios se dilataron y hay canales verticales, además algunos tubos cribosos se colapsaron, en especial los próximos a las fibras pericíclicas (Fig. 9A, F). El xilema secundario presentó porosidad difusa, el número de vasos/mm² varió de 67 a 230 (Cuadro 29), los vasos se distribuyeron solitarios o en hileras radiales. La médula fue parenquimatosa con células de diámetro amplio y espacios intercelulares; los individuos del tratamiento A presentaron esta región fistulada (Fig. 9E). Hubo acumulación de cristales en los vasos del xilema en los individuos de ambos tratamientos (Fig. 9D, C).

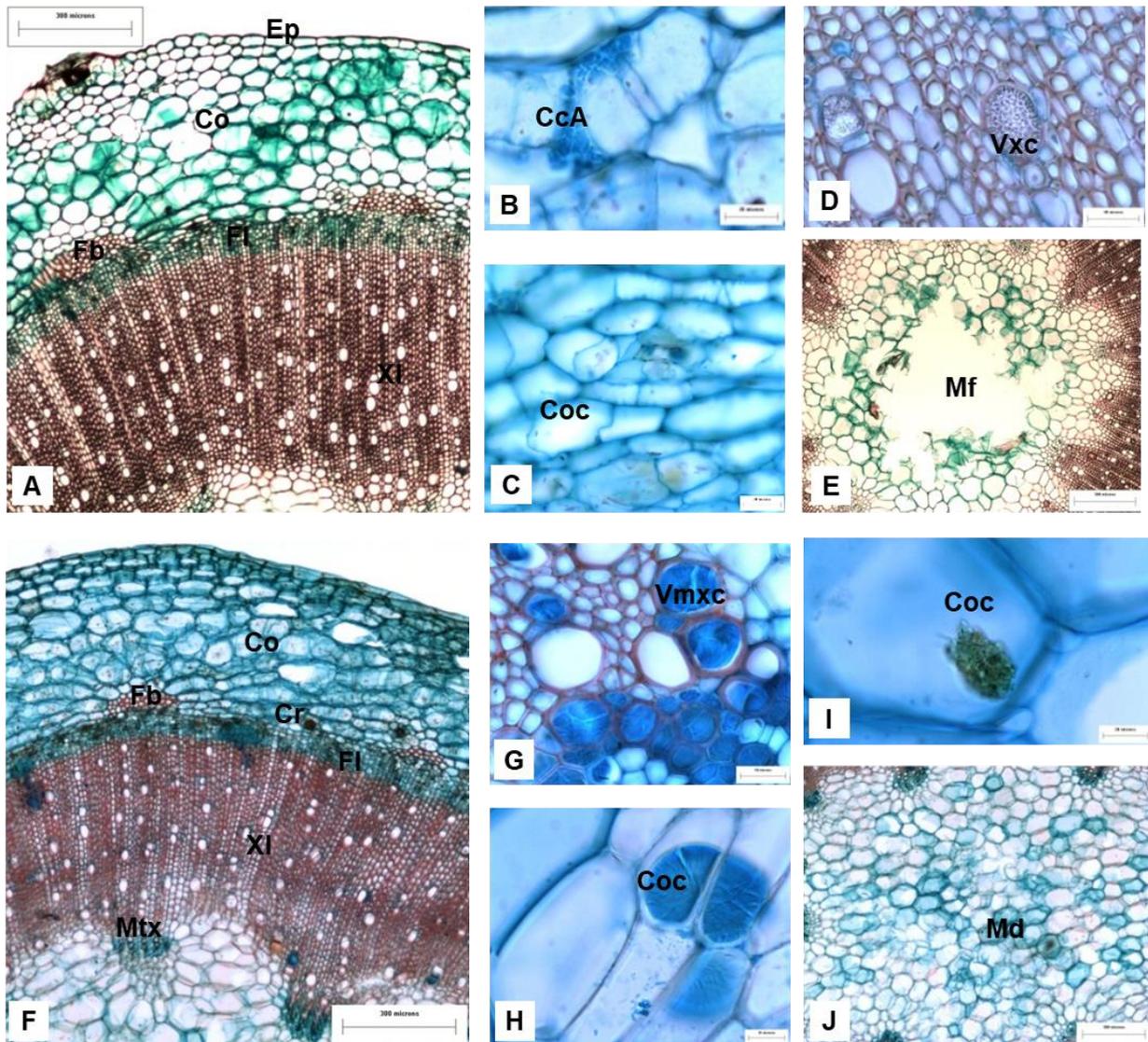


Figura 9. Tejidos de tallo de *F. trinervia* en tratamientos de invernadero. A-E pertenecen a los individuos del tratamiento A. F-J pertenecen a los individuos del tratamiento B. Ep= epidermis, Co= córtex, CcA= cristales en el córtex por la vía apoplástica, Coc= cristales en células del córtex, Vxc= elementos de vaso del xilema con cristal, Fb= fibras peri vasculares, Fl= floema, Xl= xilema, Cr= canal resinífero, Mtx= meta xilema, Vmxc= elementos de vaso en el meta xilema con cristales, Mf= médula fistulada, Md= médula.

7.4.3.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja

En ambas superficies las células epidérmicas fueron tetragonales alargadas con paredes anticlinales de contorno recto (Fig. 10A, B, H), pero a veces onduladas en la superficie abaxial (Fig. 10I), y estrías en la pared periclinal externa en todos los individuos, los estomas anisocíticos se encontraron tanto en la cara adaxial como abaxial y hubo tricomas simples pluricelulares de 9-11 células, presentando mayor cantidad de tricomas por mm^2 la cara adaxial de los individuos del tratamiento A (Cuadro 30). En el corte transversal, la epidermis fue uniseriada, las células de forma de cúpula en su pared periclinal y la anticlinal hundida, presentaron cutícula gruesa y rugosa (Fig. 10F, G). Los estomas estaban ligeramente hundidos con respecto a las otras células epidérmicas. El mesófilo fue heterogéneo y varió de 127 a 140 μm de espesor (Cuadro 29), el parénquima en empalizada fue de una célula de espesor, el parénquima esponjoso estaba cerrado de uno o dos estratos de células (Fig. 10F, G). Los haces vasculares de la lámina fueron colaterales, tenían una vaina de células de parénquima que contenían cloroplastos y son típicas de la anatomía Kranz (Fig. 10C, F, G, J).

La vena media fue, de contorno ligeramente hundido adaxialmente y redondeado muy prominente abaxialmente. Epidermis y cutícula fueron similares a las presentes en la lámina. Por debajo de la epidermis adaxial había un estrato de colénquima angular, seguido de 3 para el tratamiento A (Fig. 10D) y 5 para el tratamiento B (Fig. 10K) de células de parénquima hasta llegar al tejido vascular. El tejido vascular formó un arco abierto de xilema y floema (Fig. 10D, L). Los elementos del floema se presentaron en grupos separados por parénquima radial, en el xilema los elementos de vasos se arreglaron en hileras radiales, los del tratamiento B presentaron una mayor área de floema y xilema (Cuadro 29), también con mayor cantidad de vasos con el diámetro tangencial y radial mayor (Fig. 10L).

En ambas superficies las células epidérmicas fueron tetragonales alargadas con paredes anticlinales de contorno recto (Fig. 10A, B, H), pero a veces onduladas en la

superficie abaxial (Fig. 10I), y estrías en la pared periclinal externa en todos los individuos, los estomas anisocíticos se encontraron tanto en la cara adaxial como abaxial y hay tricomas simples pluricelulares de 9-11 células, presentando mayor cantidad de tricomas por mm² la cara adaxial de los individuos del tratamiento A (Cuadro 16). En el corte transversal, la epidermis es uniseriada, las células de forma de cúpula en su pared periclinal y la anticlinal hundida, presentaban cutícula gruesa y rugosa (Fig. 10F, G). Los estomas estaban ligeramente hundidos con respecto a las otras células epidérmicas. El mesófilo fue heterogéneo y varía de 127 a 140 μm de espesor (Cuadro 29), el parénquima en empalizada fue de una célula de espesor, el parénquima esponjoso estaba cerrado de uno o dos estratos de células (Fig. 10F, G). Los haces vasculares de la lámina fueron colaterales, tuvieron en una vaina de células de parénquima que contenían cloroplastos y son típicas de la anatomía Kranz (Fig. 10C, F, G, J).

La vena media tenía contorno ligeramente hundido adaxialmente y redondeado muy prominente abaxialmente. Epidermis y cutícula fueron similares a las presentes en la lámina. Por debajo de la epidermis adaxial había un estrato de colénquima angular, seguido de 3 para el tratamiento A (Fig. 10D) y 5 para el tratamiento B (Fig. 10K) estratos de células de parénquima hasta llegar al tejido vascular. El tejido vascular formó un arco abierto de xilema y floema (Fig. 10D, L). Los elementos del floema se presentaron en grupos separados por parénquima radial, en el xilema los elementos de vasos se arreglaron en hileras radiales, los del tratamiento B contaron con una mayor área de floema y xilema (Cuadro 15), también con mayor cantidad de vasos con el diámetro tangencial y radial mayor (Fig. 10L).

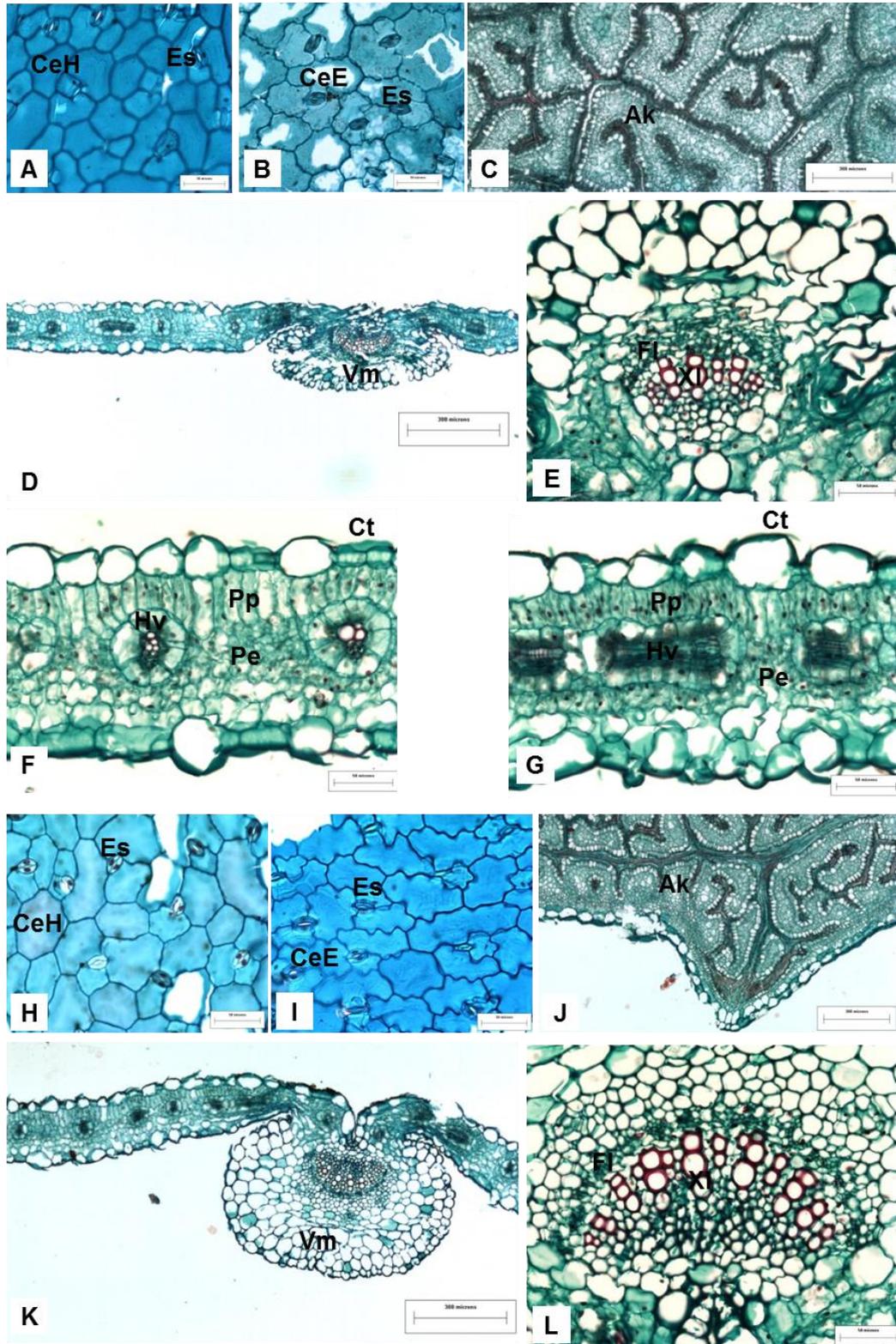


Figura 10. Tejidos de hoja de *F. trinervia* en tratamientos de invernadero. A-F pertenece a los individuos del tratamiento A. G-L pertenece a los individuos del tratamiento B. CeH= células epidérmicas en el haz, CeE= células epidérmicas en el envés, Es= estomas, Ak= anatomía tipo Kranz, Vm= vena media, Fl= floema, Xl= xilema, Pp= parénquima en empalizada, Pe= parénquima esponjoso, Ct= cutícula, Hv= haz vascular.

En el cuadro 15 y 16 se observa de manera general que los tejidos de raíz, tallo y hoja fueron de mayor tamaño cuando los individuos que crecieron en suelos no salinos (tratamiento B).

Cuadro 15. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de raíz, tallo y hoja de *F. trinervia* en invernadero.

Raíz-Tejido	Invernadero	
	T.A	T.B
Diámetro de la Raíz (mm)	4.09±0.03 ^b	4.78±0.2^a
Ancho de córtex y epidermis (µm)	408.12±23.7 ^a	415.74±2.9 ^a
Ancho de tejido vascular (mm)	3.21±0.3 ^b	3.98±0.01^a
No. Vasos/mm ²	110.33±1.5^a	78±2 ^b
Diámetro tangencial (µm)	23.17±1.8 ^b	33.36±4.1^a
Diámetro radial (µm)	26.58±1.5 ^b	38.04±2.5^a
Tallo-Tejido	T.A	T.B
Diámetro del tallo (mm)	4.69±0.3 ^a	4.52±1.1 ^a
Ancho del córtex (mm)	0.69±0.2 ^a	0.89±0.2 ^a
Número de fibras pericíclicas por casquete	31.33±3.2 ^b	43±3^a
Ancho de tejido vascular (mm)	0.94±0.2 ^a	0.59±0.2 ^a
No. Vasos/mm ²	229.54±11.9 ^b	67.09±6.7^a
Diámetro tangencial vasos (µm)	19.53±0.2 ^{ca}	18.99±0.6 ^a
Diámetro radial vasos (µm)	25.05±1.8 ^a	27.57±1.7 ^a
Ancho de médula (mm)	1.86±0.5 ^a	1.97±0.4 ^a
Hoja-Tejido	T.A	T.B
Ancho de la lámina (µm)	212.3±35.3 ^a	240.1±10.8 ^a
Ancho del mesófilo (µm)	127.4±11.2 ^a	139.7±7.7 ^a
Ancho de parénquima empalizada (µm)	36.60±4.1 ^a	36.64±0.5 ^a
Área del floema (mm ²)	0.004±0.001 ^b	0.020±0.005^a
Área del xilema (mm ²)	0.1±0.001 ^b	0.06±0.003^a
No. Vasos/vena	22±1 ^b	34.7±2.5^a
D. tangencial de vaso (µm)	9.3±0.24 ^b	14.3±2.7^a
D. radial de vaso (µm)	9.3±0.16 ^b	12.8±2.0^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones ± la desviación estándar. D= diámetro.

Cuadro 16. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de *Flaveria trinervia* de invernadero.

Tejido-Epidermis hoja	T.A	T.B
Área de células epi. del Haz (μm)	2832.4 \pm 389.1 ^b	3764.7\pm154.1^a
Área de células epi. del Envés (μm)	2313.7 \pm 208.3 ^b	3248.2\pm222.3^a
Índice estomático del Haz (%)	24.19\pm0.67^a	20.72 \pm 1.1 ^b
Índice estomático del Envés (%)	21.26 \pm 0.8 ^a	19.81 \pm 1.0 ^a
Estomas/mm ² Haz	42.70\pm3.1^a	31.73 \pm 1.6 ^b
Estomas/mm ² Env.	34.84\pm3.3^a	22.88 \pm 0.9 ^b
Tricomas/mm ² Haz	2.12\pm0.2^a	1.39 \pm 0.3 ^b
Tricomas/mm ² Env.	1.67 \pm 0.04 ^a	1.33 \pm 0.3 ^a
D. tangencial de los estoma H. (μm)	14.67 \pm 0.6 ^a	16.86 \pm 1.8 ^a
D. tangencial de los estoma E. (μm)	17.57 \pm 0.6 ^a	18.98 \pm 1.0 ^a
D. radial de los estoma H. (μm)	23.51 \pm 0.9 ^b	26.99 \pm 0.2 ^a
D. radial de los estoma E. (μm)	25.54 \pm 0.7 ^b	29.17 \pm 0.5 ^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de T student ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. D= diámetro.

7.4.5 Descripción de los atributos anatómicos de *F. trinervia* en condiciones de campo

7.4.5.1 Descripción y medición de los tejidos de la raíz

La rizodermis fue remplazada por la peridermis (Fig. 11A, D, G). El córtex estaba formado por varias capas de células de parénquima alargadas tangencialmente con un grosor de 257 a 592 μm , entre las células de parénquima se encontraron grupos de esclereidas isodiamétricas y también conductos resiníferos, los del sitio 3 son los que presentaron un córtex más grande (Cuadro 17). El tejido vascular secundario estuvo bien diferenciado, el cambium vascular formo un cilindro completo. El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños, de forma angulosa, con células acompañantes en sus esquinas y parénquima floemático. El floema no conductor se caracterizó por una mayor abundancia de parénquima axial y radial, algunos de los radios se dilataron y hay abundantes canales verticales, entre las células del floema hubo presencia de cristales en el apoplasto (Fig. 11H) y dentro de las células (Fig. 11E). El xilema secundario presentó porosidad difusa, el número de vasos/mm² varió

de 163 a 248 (Cuadro 17), siendo los individuos del sitio 2 lo que presentaron mayor cantidad de vasos por mm^2 (Fig. 11F), en el sitio 3 estaban los individuos con un mayor tejido vascular y en el sitio 1 los elementos de vaso que presentaron mayor diámetro (Fig. 11C). Los vasos se distribuyeron solitarios o en hileras radiales, no hubo presencia de médula.

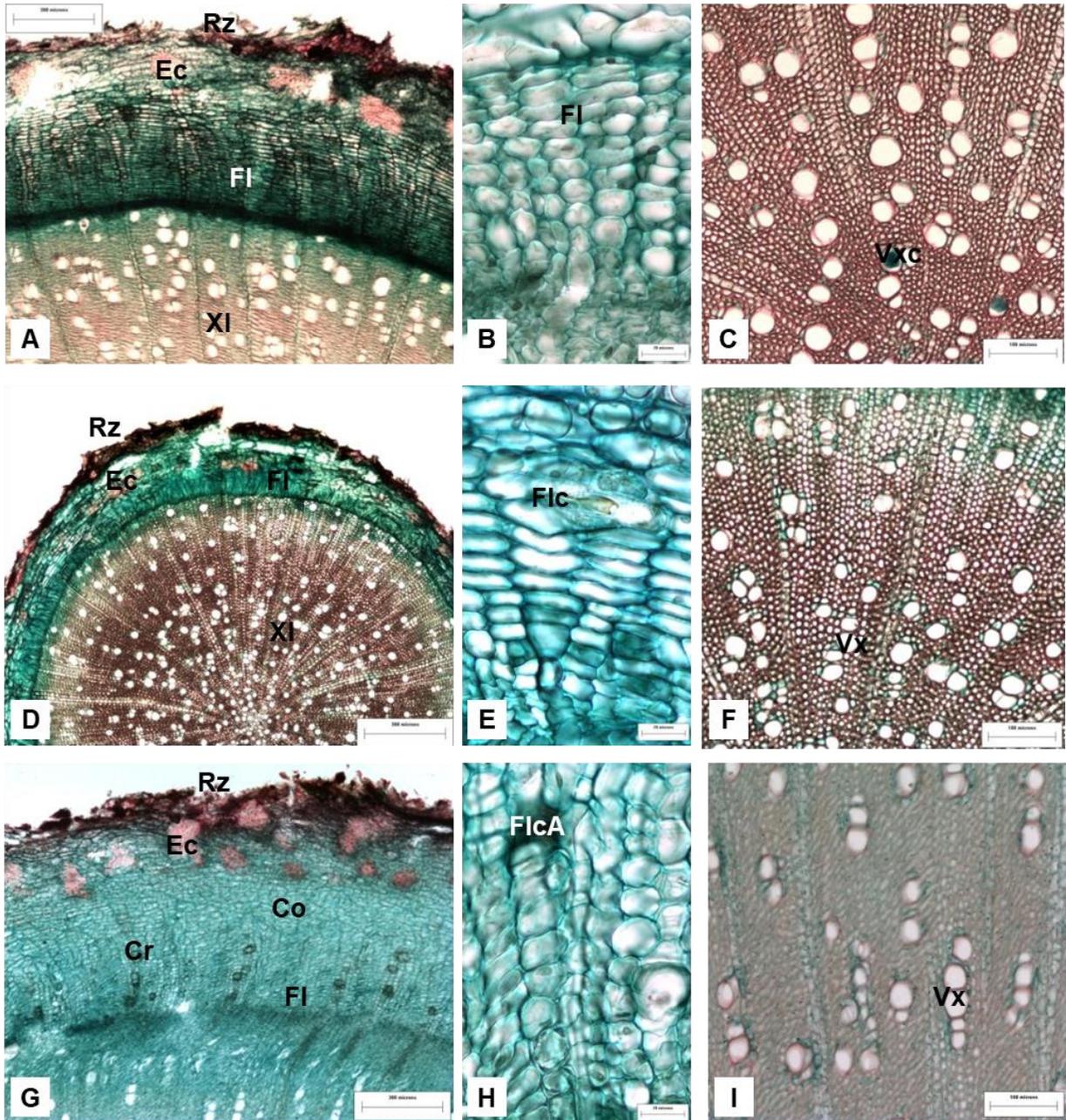


Figura 11. Tejidos de raíz de *F. trinervia* en sitios de campo. A-C pertenece a los individuos del sitio 1. D-F pertenece a los individuos del sitio 2. G-I pertenece a los individuos del sitio 3. Rz= rizodermis, Ec= esclereidas, Co= córtex, Cr= canales resiníferos, FI= floema, FIC= crsiatles en el floema, FICa= cristales en la vía apoplástica del floema, XI= xilema, Vx= elementos de vaso del xilema, Vxc= elementos de vaso del xilema con cristales.

7.4.5.2 Descripción y medición de los tejidos del tallo

El tallo presentó epidermis simple, con cutícula delgada y lisa, los individuos del sitio 1 y 3 presentaron peridermis (Fig. 12A, G) o bien en solo en algunas partes del tallo como en los individuos del sitio 2 (Fig. 12D). El córtex estaba formado por varias capas de células de parénquima, alargadas tangencialmente y, en general, se encontraron en división lo que indica que el tallo estaba en crecimiento, ocupan un ancho de 0.70 mm a 0.90 mm (Cuadro 17), entre las células de parénquima se observaron canales resiníferos y los casquetes de fibras perivasculares, que variaron en tamaño siendo los más amplios en el sitio 1 (Cuadro 17). En algunos casquetes se incorporaron esclereidas (Fig. 12A). El tejido vascular secundario estaba bien diferenciado, el cambium vascular formó un cilindro completo y tiene 2-3 capas de células de grosor (Fig. 12A, D, G). El floema conductor consistió en tubos cribosos pequeños, de forma angulosa, con células acompañantes en sus esquinas y parénquima floemático. El floema no conductor se caracterizó por una mayor abundancia de parénquima axial y radial, algunos de los radios se dilataron y con presencia de canales verticales, y algunos tubos cribosos colapsados, en especial los próximos a las fibras pericíclicas. El xilema secundario presentó porosidad difusa, el número de vasos/mm² variaron de 68 a 194 (Cuadro 17), los vasos se distribuyeron solitarios o en hileras radiales, el parénquima es paratraqueal escaso; las fibras fueron de paredes delgadas (Fig. 12B, H). La médula es parenquimatosa con células de diámetro amplio y espacios intercelulares; únicamente los individuos del sitio 2 presentaron esta región fistulada (Fig. 12F). Hubo acumulación de cristales principalmente en los vasos cercanos a cambium vascular de los individuos de los sitios 1 y 2 (Fig. 12B, E), y muy pocos cristales en los individuos del sitio 3 (Fig. 12H).

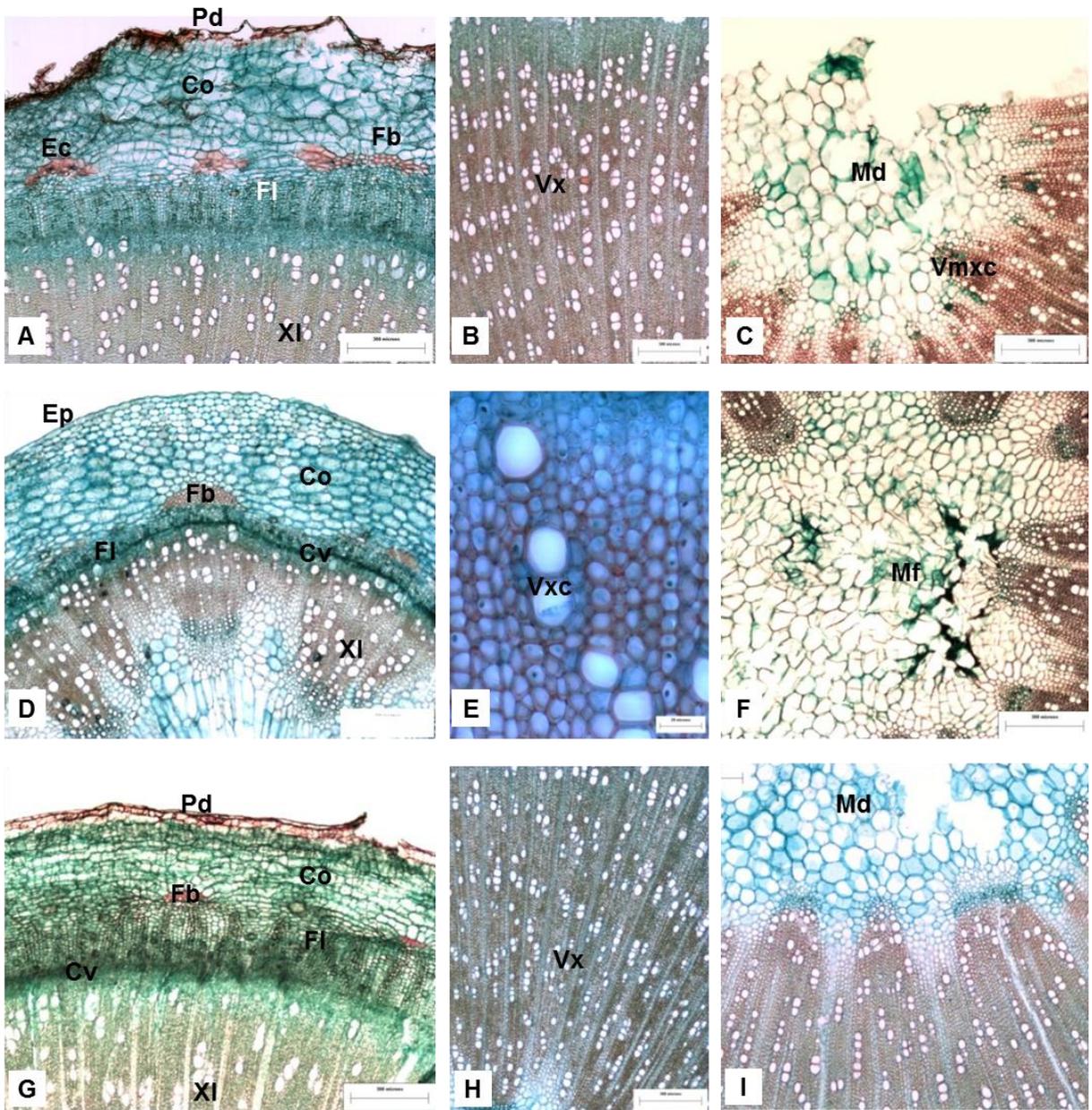


Figura 12. Tejidos de tallo de *F. trinervia* en sitios de campo. A-C pertenece a los individuos del sitio 1. D-F pertenece a los individuos del sitio 2. G-I pertenece a los individuos del sitio 3. Ep= epidermis, Pd= peridermis, Co=córtex, Fb= fibras perivasculares, Ec= esclereidas, Fl= floema, Cv= cambium vascular, XI= xilema, Vx= elementos de vaso del xilema, Vxc= elemento de vaso del xilema con cristales, Vmxc= elementos de vaso del meta xilema con cristales, Mf= médula fistulada, Md= médula.

7.4.5.3 Descripción y medición de los tejidos de la hoja

En ambas superficies las células epidérmicas fueron tetragonales alargadas y con paredes anticlinales de contorno recto (Fig.13A, B), pero a veces onduladas en la superficie abaxial (Fig. 13O), y estrías en la pared periclinal externa en todos los individuos, los estomas anisocíticos se encontraron tanto en la cara adaxial como abaxial (Fig. 13A, B, H, I, O, P) y hubo presencia de tricomas simples pluricelulares de 7-9 células (Fig. 13I, J). En el corte transversal, la epidermis fue uniseriada, las células de forma de cúpula en su pared periclinal y la anticlinal hundida, presentaron cutícula gruesa y rugosa (Fig. 13E, L, S). Los estomas estaban ligeramente hundidos con respecto a las otras células epidérmicas (Fig. 13S). El mesófilo se presentó heterogéneo y varió de 184.1 a 239 μm de espesor (Cuadro 17), el parénquima en empalizada de una célula de espesor y también tuvo diferencias en su tamaño entre sitios, siendo el más angosto en el sitio 3 (Cuadro 17) (Fig. 13S), el parénquima esponjoso estaba cerrado de uno o dos estratos de células (Fig. 13E, L, S). Los haces vasculares de la lámina fueron colaterales, tienen una vaina de células de parénquima que contenían cloroplastos y son típicas de la anatomía Kranz (Fig. 13C)

La vena media fue de contorno ligeramente hundido adaxialmente y redondeado muy prominente abaxialmente. Epidermis y cutícula fueron similares a las presentes en la lámina. Por debajo de la epidermis adaxial había un estrato de colénquima angular, seguido de 2 a 5 estratos de células de parénquima hasta llegar al tejido vascular (Fig. 13D, K, R). El tejido vascular formaba un arco abierto de xilema y floema. Los elementos del floema se presentaron en grupos separados por parénquima radial, los del sitio 2 contaron con una mayor área; en el xilema los elementos de vasos se arreglaban en hileras radiales (Fig. 13M), los del sitio 2 y 3 contaron con una mayor área de xilema, los del sitio 3 presentaron mayor número de elementos de vasos (Fig. 13T), y los elementos de vaso del sitio 2 tenían el mayor diámetro tangencial y radial (Cuadro 18).

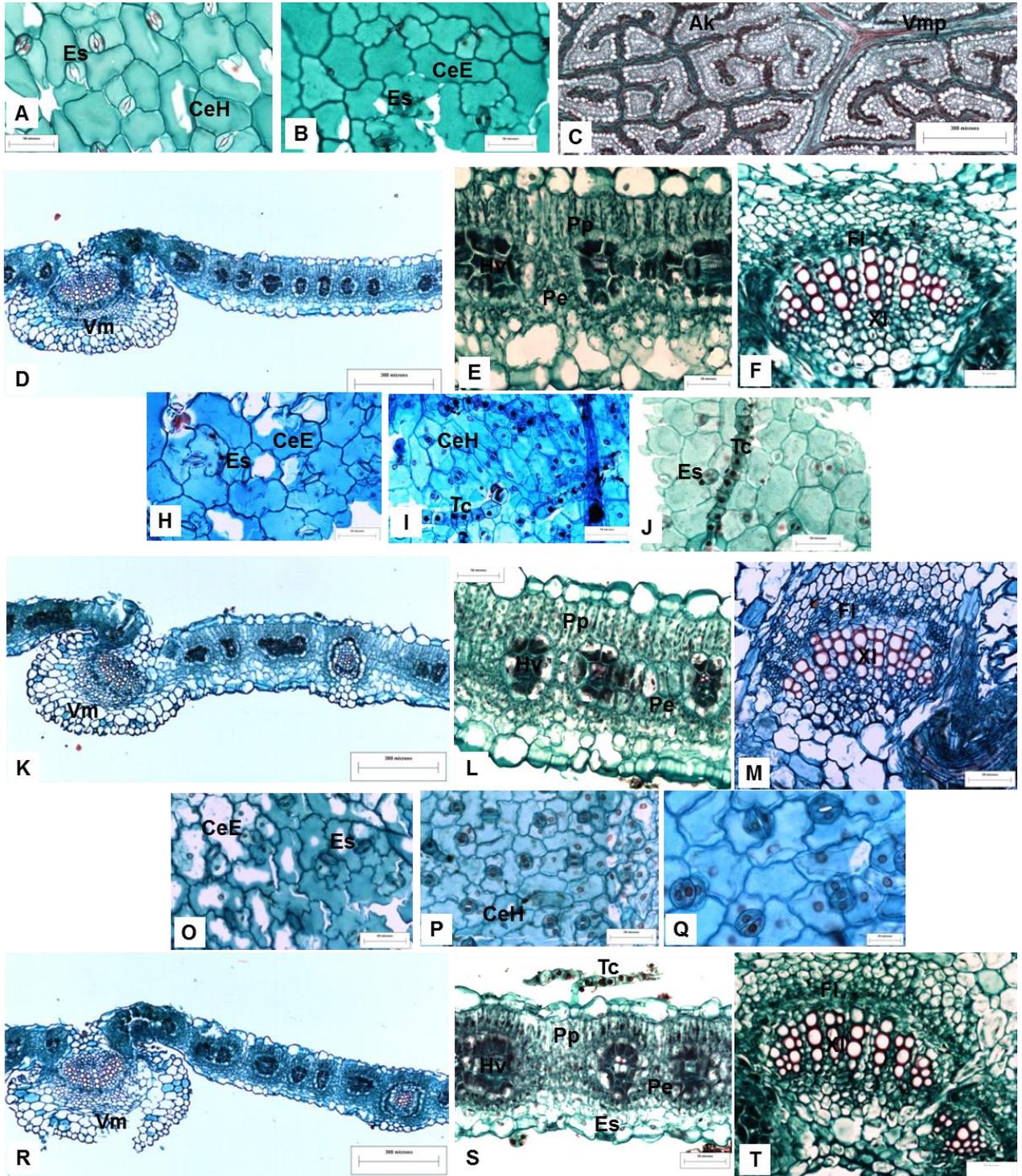


Figura 13. Tejidos de hoja de *F. trinervia* en sitios de campo. A-E pertenece al sitio 1. F-J pertenece al sitio 2. K-O pertenece al sitio 3. CeH= células epidérmicas del haz, CeE= células epidérmicas en el envés, Es= estoma, Vmp= vena media en corte paradérmica, Ak= anatomía tipo Kranz, Tc= tricoma, Vm= vena media, Fl= floema, Xl= xilema.

En el cuadro 17 y 18 se observa de manera general que los tejidos de la raíz del sitio 3 fueron de mayor tamaño que en los sitios 1 y 2, en los tejidos del tallo se apreció que los tejidos del sitio 1 y 3 presentaron tamaño similares y mayores que en el sitio 2, y en la hoja los tejidos de los individuos del sitio 2 fueron mayores a los otros sitios.

Cuadro 17. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de *F. trinervia* colectados en campo.

Raíz-Tejido	Campo		
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Diámetro de la Raíz (mm)	4.80±0.9 ^b	2.73±0.5 ^c	8.77±0.9^a
Ancho córtex y epidermis (µm)	346.41±21.9 ^b	257.87±3.2 ^c	592.76±14.9^a
Ancho de tejido vascular (mm)	3.85±0.2 ^b	2.39±0.3 ^c	8.01±0.8^a
No. Vasos/mm ²	188.17±9.9 ^b	248.69±18.5^a	163.59±7.1 ^b
Diámetro tangencial (µm)	37.85±2.1^a	21.34±1.1 ^c	29.08±1.6 ^b
Diámetro radial (µm)	46.58±2.3^a	22.99±1.8 ^c	32.59±0.6 ^b
Tallo-Tejido	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Diámetro del tallo (mm)	8.19±1.2^a	3.82±0.9 ^b	7.97±0.9^a
Ancho del córtex (mm)	0.67±0.2 ^a	0.77±0.3 ^a	0.66±0.2 ^a
Número de fibras pericíclicas por casquete	95.33±5.5^a	57.33±3.8 ^b	48.67±2.5 ^b
Ancho de tejido vascular (mm)	2.48±0.5^a	0.61±0.1 ^b	2.27±0.2^a
No. Vasos/mm ²	173.19±8.1^a	68.24±3.3 ^b	165.49±5.4^a
Diámetro tangencial vasos (µm)	28.93±2.9 ^b	25.99±3.8 ^b	45.97±4.7^a
Diámetro radial vasos (µm)	34.41±2.9 ^b	31.36±3.9 ^b	47.84±4.3^a
Ancho de médula (mm)	2.38±0.5^a	0.99±0.8 ^b	2.31±0.1 ^{ab}
Hoja-Tejido	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Ancho de la lámina (µm)	239.2±12.5^a	267.2±16.7^a	184.1±7.8 ^b
Ancho del mesófilo (µm)	189.3±7.7^a	209.2±11.5^a	128.4±1.2 ^b
Ancho de parénquima empalizada (µm)	58.2±1.4^a	49.1±2.8 ^b	21.7±2.8 ^c
Área del floema (mm ²)	0.002±0.001 ^c	0.091±0.005^a	0.015±0.003 ^b
Área del xilema (mm ²)	0.004±0.001 ^b	0.027±0.004^a	0.026±0.002^a
No. Vasos/vena	35.3±0.6 ^b	30.3±1.5 ^c	45±2.6^a
D. tangencial de vaso (µm)	11.9±0.7 ^b	16.7±0.8^a	13.6±1.0 ^b
D. radial de vaso (µm)	15.3±0.5 ^b	17.7±0.8^a	15.4±0.1 ^b

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. D= diámetro.

Cuadro 18. Valores de la media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de la epidermis de la hoja de *F. trinervia* colectados en campo.

Epidermis de hoja- Tejido	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Área de células epi. del haz (μm)	2467.3±118.5^a	2353.7±232.1^a	1640.5±205.6 ^b
Área de células epi. del envés (μm)	2274.1±35.9^a	2162.1±202.7^a	1269.9±136.9 ^b
Índice estomático del haz (%)	19.02±0.88^a	15.57±1.27 ^b	19.85±0.69^a
Índice estomático del envés (%)	14.59±0.77 ^a	13.04±0.80 ^a	15.08±1.31 ^a
Estomas/mm ² haz	34.04±1.9 ^b	28.96±1.7 ^b	47.28±3.1^a
Estomas/mm ² envés	23.60±1.3 ^b	21.10±2.2 ^b	41.59±1.8^a
Tricomas/mm ² haz	4.12±0.5 ^a	4.68±0.4 ^a	4.75±0.9 ^a
Tricomas/mm ² envés	2.87±0.8 ^b	6.62±0.8^a	1.79±0.3 ^b
D. tangencial de los estoma H. (μm)	18.05±1.3 ^a	18.90±1.6 ^a	15.90±1.4 ^a
D. tangencial de los estoma E. (μm)	17.41±1.7 ^a	19.35±1.6 ^a	18.04±1.3 ^a
D. radial de los estoma H. (μm)	25.73±0.9 ^a	25.86±1.4 ^a	22.22±2.3 ^a
D. radial de los estoma E. (μm)	25.26±0.9 ^a	25.56±2.7 ^a	23.56±1.7 ^a

Las literales diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. Epi= epidérmicas. D= diámetro

7.4 Caracteres funcionales de la planta a nivel fitoquímico

7.4.1 Resultados de contenido fenólico total, contenido de flavonoides totales, contenido de taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS

Los resultados del análisis fitoquímico con respecto al contenido fenólico total, el contenido de flavonoides, taninos condensados, la capacidad antioxidante, la inhibición del radical libre DPPH y ABTS, se muestran en el cuadro 19. El tratamiento B de *B. monnieri* extractados con metanol al 80% es en el que se encontró la mayor concentración ($p < 0.05$) de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, taninos condensados inhibición del radical DPPH y ABTS (Cuadro 19). En campo, *B. monnieri* en el sitio 3 es en el que presentó mayor concentración de compuestos fenólicos totales y taninos condensados, mientras que en el sitio 2 hubo mayor concentración de flavonoides totales que en el sitio 2 (Cuadro 20).

Cuadro 19. Resultados del contenido fenólico total, concentración de flavonoides, taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS de *B. monnieri* en invernadero.

Tratamientos	CFT (mg EAG/g MS)	CFLT (mg EC/g MS)	CTC (mg EC/g MS)	CAT (mg EAA/g MS)	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
TAE80	4.25±0.26 ^c	418.7±23 ^c	5.9±0.61 ^c	186.8±7.6 ^c	7.77±1.16 ^c	1.18±0.012 ^c
TAM80	2.89±0.21 ^d	240.9±7.6 ^d	3.8±0.23 ^d	188.4±7.2 ^c	26.83±0.68 ^d	1.02±0.008 ^b
TBE80	8.11±0.61 ^b	547.5±20 ^b	9.9±0.23 ^b	204.53±3 ^b	5.84±0.18 ^b	0.42±0.002^a
TBM80	9.89±1.08^a	610.8±12.4^a	15.2±0.4^a	239.7±3.8^a	4.90±0.21^a	0.47±0.001^a

Las literales diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. CFT= contenido fenólico total, CFLT= contenido de flavonoides totales, CTC= contenido de taninos condensados, CAT= capacidad antioxidante total, IC₅₀ = concentración media inhibitoria. TAE80: tratamiento A extractado con etanol al 80%, TAM80: tratamiento A extractado con metanol al 80%, TBE80: tratamiento B extractado con etanol al 80%, y TBM80: tratamiento b extractado con metanol al 80%.

Cuadro 20. Resultados del contenido fenólico total, concentración de flavonoides, taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS de *B. monnieri* en condiciones de campo.

sitios	CFT (mg EAG/g MS)	CFLT (mg EC/g MS)	CTC (mg EC/g MS)	CAT (mg EAA/g MS)	% máximo inhibición DPPH	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
1E80	3.70±0.3 ^b	1135.5±83^a	6.17±0.61 ^c	157.6±6^a	37.15±1^b	2.9±0.05^b
1M80	2.89±0.02 ^c	320.9±27 ^c	4.04±0.4 ^d	115.2±2 ^c	37.59±0.7^b	3.38±1 ^c
2E80	1.75±0.12 ^e	720.9±67 ^b	11.37±0.6 ^b	97.2±3.2 ^d	33.24±2 ^c	4.27±0.08 ^d
2M80	2.33±0.08 ^d	242.1±19 ^c	2.30±0.61 ^e	77.6±3.2 ^e	33.44±1.2 ^c	4.9±0.61 ^e
3E80	4.27±0.6^a	350.6±21 ^c	14.17±0.8^a	127.7±5.8^b	42.87±1.4^a	5.6±0.12 ^f
3M80	3.04±0.03 ^c	356.4±27 ^c	6.70±0.61 ^c	105.2±1 ^{cd}	41.52±0.5^a	2.6±0.8^a

Las literales diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. CFT= contenido fenólico total, CFLT= contenido de flavonoides totales, CTC= contenido de taninos condensados, CAT= capacidad antioxidante total, IC₅₀ = concentración media inhibitoria. 1E80: individuos del sitio 1 extractado con etanol al 80%, 1M80: individuos del sitio 1 extractado con metanol al 80%, 2E80: individuos del sitio 2 extractado con etanol al 80%, 2M80: individuos del sitio 2 extractado con metanol al 80%, 3E80: individuos del sitio 3 extractado con etanol al 80%, 3M80: individuos del sitio 3 extractado con metanol al 80%

F. trinervia del tratamiento B extractadas con metanol al 80% presentó un mayor contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos

condensados, y mayor inhibición del radical libre DPPH dichos resultados se muestran en el cuadro 21. Para las plantas extraídas en campo se observó diferencia significativa en los contenidos de compuesto fenólicos totales entre el sitio 1 con el sitio 2 y 3, siendo el 1 con mayor concentración, en el caso de flavonoides totales el sitio 3 presentó mayor concentración que los demás sitios, y en el caso de taninos condensados el sitio 1 y 2 no presentó diferencias significativas entre sí, (Cuadro 22).

Cuadro 21. Resultados del contenido fenólico total, concentración de flavonoides, taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS de *F. trinervia* en invernadero.

sitios	CFT (mg EAG/g MS)	CFLT (mg EC/g MS)	CTC (mg EC/g MS)	CAT (mg EAA/g MS)	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
TAE80	10.58±1.1 ^a	6770±264 ^c	14.7±0.5 ^b	305.3±2.9 ^b	2.69±0.05 ^b	0.30±0.003 ^c
TAM80	11.78±2.6 ^a	6903±305 ^c	15.5±0.5 ^{ab}	294.7±4.90 ^c	2.45±0.02 ^b	0.22±0.007 ^b
TBE80	11.94±1.5^a	8003±251 ^b	15.24±0.7 ^b	315.93±1.4^a	1.48±0.25 ^b	0.19±0.003^a
TBM80	12.60±1^a	9644±69^a	16.97±0.6^a	318.93±2.71^a	2.37±0.17^a	0.34±0.001 ^d

Las literales diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. CFT= contenido fenólico total, CFLT= contenido de flavonoides totales, CTC= contenido de taninos condensados, CAT= capacidad antioxidante total, IC₅₀ = concentración media inhibitoria. TAE80: tratamiento A extractado con etanol al 80%, TAM80: tratamiento A extractado con metanol al 80%, TBE80: tratamiento B extractado con etanol al 80%, y TBM80: tratamiento b extractado con metanol al 80%.

Cuadro 22. Resultados del contenido fenólico total, concentración de flavonoides, taninos condensados, capacidad antioxidante, inhibición del radical libre DPPH y ABTS de *F. trinervia* en campo.

sitios	CFT (mg EAG/g MS)	CFLT (mg EC/g MS)	CTC (mg EC/g MS)	CAT (mg EAA/g MS)	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
1E80	8.3±0.2^a	1804±168 ^d	20.97±1^a	260.3±26^a	8.22±0.06^a	0.47±0.04^a
1M80	7.2±0.1 ^b	2449±102 ^c	16.04±0.4 ^c	208.3±1.5 ^b	6.86±1.13^a	0.63±0.01 ^b
2E80	5.4±0.4 ^c	2916±168 ^b	19.91±0.6^a	153.3±0.6 ^c	7.69±0.09 ^a	1.01±0.01 ^e
2M80	5.8±0.3 ^c	1938±139 ^d	15.8±0.61 ^b	187.3±5.8 ^b	10.45±0.4 ^b	0.9±0.01 ^d
3E80	7.3±0.2 ^b	3738±102^a	14.6±0.61 ^b	141.3±0.6 ^c	7.587±.19^a	0.84±0.02 ^c
3M80	5.2±0.2 ^c	2293±67 ^c	10.84±0.8 ^c	155±11 ^c	7.98±0.21^a	0.84±0.01 ^c

Las literales diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) indicando la media de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. CFT= contenido fenólico

total, CFLT= contenido de flavonoides totales, CTC= contenido de taninos condensados, CAT= capacidad antioxidante total, IC_{50} = concentración media inhibitoria. 1E80: individuos del sitio 1 extractado con etanol al 80%, 1M80: individuos del sitio 1 extractado con metanol al 80%, 2E80: individuos del sitio 2 extractado con etanol al 80%, 2M80: individuos del sitio 2 extractado con metanol al 80%, 3E80: individuos del sitio 3 extractado con etanol al 80%, 3M80: individuos del sitio 3 extractado con metanol al 80%

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Caracterización de los suelos de invernadero y campo

Los Negritos en el municipio de Villamar Michoacán, es una zona geotérmica, en la cual se encuentran suelos con alta salinidad de forma natural, sin embargo, existen zonas en las cuales la salinidad se ha incrementado por prácticas agrícolas, principalmente por el uso de aguas de mala calidad, en esta zona se encuentran suelos que van de conductividades eléctricas de 2 dS/m hasta 18 dS/m (Anaya, 2015), encontrando suelos que según SEMARNAT (2010), se pueden clasificar en suelos normales, salinos, salino-sódicos y sódicos. Los suelos obtenidos de esta zona, tienen una textura arcillosa, este tipo de suelos tienden a hincharse cuando están húmedos y a cuartearse cuando están secos, lo cual provoca que el suelo este mal aireado y mal drenado; este tipo de suelos al presentar una mayor cantidad de arcillas presenta mayor retención de cationes, lo cual los hace más propensos a la alcalinidad, esto se observa en la concentración de cationes extractables, al aumentar la concentración de cationes en las arcillas aumenta la presión osmótica de este, generando estrés osmótico en las plantas que crecen en él, pero cuando este tipo de suelos no presenta altas concentraciones de cationes extractables, presentan una C.E. menor a 4 dS/m y un pH cercano a la neutralidad, es un tipo de suelo muy utilizado en la agricultura ya que retiene agua cuando hay escases de esta, retiene cationes necesarios impidiendo que se laven con riego y son más resilientes a la degradación. En este tipo de suelos es común encontrar C.I.C. mayores a 20 Cmol/Kg, ya que tienen una alta capacidad de intercambio catiónico generando que los suelos tengan una buena fertilidad (Coulombe *et al.*, 1996), pero si son mayores a 35 Cmol(+)/Kg los suelos ya presentan saturación de cationes provocando estrés osmótico; cuando este tipo de suelos presenta una alta concentración de sodio en las arcillas se presenta un P.S.I. mayor o igual a 15% y un R.A.S. mayor o igual a 12% (Carrow y Duncan, 2012). El suelo utilizado en el tratamiento A presentó características de un suelo normal o suelo utilizado para la agricultura con una C.E \leq 4 dS/m, pH 6.5-7.5, P.S.I.<15% y R.A.S.<12%, pero también se toma en cuenta el porcentaje de los cationes extractables, en el que la concentración del calcio debe ser entre el 60-80% de la

concentración total de todos los cationes, el magnesio debe estar entre 10-20 %, el potasio entre 2-6 % y el sodio entre 0-3 % (SEMARNAT, 2010) en lo cual el suelo del tratamiento A presentó un 66.57% de Ca⁺, 15.27% de Mg⁺, 3.79% de K⁺ y 14.17% de Na⁺, presentando mayor cantidad de sodio que lo indicado por SEMARNAT (2010), con esta concentración de sodio en este tipo de suelo puede crecer la caña de azúcar, el nabo, las acelgas, la col, el algodón, los guisantes, el lino y la espinaca (García y García, 2013). El tratamiento B, presentó un suelo de 13.24 dS/m de C.E., con pH, P.S.I. y R.A.S. mayores a las establecidas en SEMARNAT (2010) considerado un suelo salino-sódico, la presencia de salinidad y sodicidad en los suelos limitan la producción agrícola provocando suelos infértiles e improductivos, esto afecta a la agricultura mundial, principalmente en las regiones áridas y semiáridas (Manzano *et al.*, 2014), los suelos salino-sódicos después de ser lavados, es decir después de ser regados, cambian sus características de salino-sódico a sódico no salino, esto debido a que incrementa el sodio adsorbido en los coloides del suelo, observando un aumento en el pH por arriba de los 8.5, cuando hay presencia de carbonatos, ocurre una precipitación el calcio y el magnesio, presentando predominio del catión sodio (Pérez *et al.*, 2013), lo cual se puede observar en la caracterización final de los suelos el tratamiento B para ambas plantas, al comparar el inicial con el final, se observó un aumento en la concentración de sodio extractable, un aumento en el P.S.I., un pH cercano a 8.5 y aumento en la concentración de carbonatos. En los sitios de campo, se colectaron 3 muestras de 1 k de suelo por sitio para cada planta, en el caso de *B. monnieri* el suelo del sitio 1 presentó características de un suelo salino-sódico con una C.E. de 17.30 dS/m al igual que *F. trinervia*, pero con una C.E. de 15.29 dS/m, en este sitio hay la presencia de cráteres de lodo, en los cuales hay temperaturas arriba de los 50°C, por lo tanto se presentaron suelos con alta C.E. y altas temperaturas. El sitio 2 es en la orilla del lago “La Alberca” el suelo colectado para *B. monnieri* presentó una C.E. de 4.33 dS/m y el suelo colectado para *F. trinervia* presentó una C.E. 12.65 dS/m, ambos suelos tienen características de un suelo salino-sódico. El sitio 3 para *B. monnieri* es en un arroyo seco con un suelo con una C.E. 2.03 dS/m presentando características de un suelo no salino o normal. El sitio 3 para *F. trinervia* es en la orilla

de una huerta de jitomates, el suelo presenta una C.E. de 4.17 dS/m y las características de un suelo salino-sódico.

8.2 Modificaciones morfo-anatómicas y fitoquímicas de las plantas creciendo en suelos con conductividades eléctricas contrastantes en invernadero y campo

8.2.1. *Bacopa monnieri* invernadero

En invernadero, los individuos de *Bacopa monnieri* que crecieron en el tratamiento B (13.24 dS/m) no presentaron disminución en la longitud de la raíz como lo mencionan Jathina y Abdussalam (2019) en el que expusieron a *B. monnieri* a diferentes concentraciones de cloruro de sodio, observaron que al aumentar las concentraciones de cloruro de sodio disminuía la longitud de su raíz, tallo y área foliar; los individuos del tratamiento B únicamente presentaron disminución en la longitud y diámetro del tallo, lo cual es común en las plantas expuestas a estrés salino por desequilibrio iónico dentro de las células, ya que el sodio reemplaza al potasio en las reacciones bioquímicas en el citosol y disminuye selectividad del potasio en la membrana por que el calcio es remplazado por el sodio (Goykovic y Saavedra, 2007), esto ocurrió en las plantas de *B. monnieri*, al hacer una comparación entre la caracterización inicial y final del suelo utilizado en el tratamiento B se encontró que hay una disminución en la concentración de sodio soluble y calcio soluble, pero no de potasio soluble, indicando que la planta selecciono al ion sodio por el ion potasio, esto también ocasionó una mayor densidad estomática en las hojas de las plantas que crecieron en el tratamiento B ya que la falta de potasio en la planta generó disminución en la apertura de los estomas como lo observado por Texeira *et al.*, (1995) en plantas de *Eucalyptus spp*, en la que provocaron estrés hídrico sin potasio lo cual ocasionó disminución en el tamaño de la raíz, tallo, área foliar y densidad estomática, cuando aplicaban potasio observaron que mejoró el tamaño y turgencia de la planta a pesar de estar bajo estrés hídrico, *B. monnieri* en el tratamiento B presentó mayor densidad estomática en ambas caras de la hoja, comparado con el tratamiento A, como lo observado por Salas *et al.* (2001) en *Lycopersicon esculentum* el cual presentó mayor densidad estomática a medida de que aumentaba la concentración de sales en el medio de crecimiento,

presentando mayor densidad en la cara abaxial, pero *B. monnieri* del tratamiento B presentó una mayor densidad estomática en la cara adaxial este resultado es igual al observado en *Carica papaya* (Parés *et al.*, 2008) y en 8 genotipos de maíz (Benavides-Mendoza *et al.*, 2004) en los cuales se observó mayor densidad estomática en la cara adaxial que la abaxial; *B. monnieri* en ambos tratamientos presentó de 14.97 a 19.38 estomas por mm² lo cual, según Reyes-López *et al.*, (2015) las plantas *Vanilla insignis* Ames y *V. inodora* Schiede presentaron una densidad estomática similar a las cactáceas, estas plantas presentan fotosíntesis tipo CAM al igual que *B. monnieri*, y las plantas CAM presentan estomas pequeños hundidos, con cutículas gruesas y poca densidad estomática, lo cual limitan la pérdida de agua, por estas características *B. monnieri* al crecer en suelos salinos (tratamiento B) mantuvo su turgencia aun cuando su tamaño es menor que las que crecen en suelos no salinos (tratamiento A). A nivel anatómico, en la raíz se presentó retraso en el crecimiento secundario del tejido vascular al igual que en raíces adventicias de *Arabidopsis* en la que observaron que cuando la planta expuesta a estrés osmótico retardaba el desarrollo del tejido vascular porque se veía afectada la producción de hormonas de crecimiento por la concentración de sodio en el citosol (Galvan-Ampudia y Testerink, 2011); se observó presencia de endodermis con banda de Caspary tanto en la raíz como en el tallo, la banda de Caspary únicamente se observó en la endodermis, transportando la solución de las células epidérmicas hasta la endodermis por la vía apoplástica, la banda de Caspary en la endodermis selecciona los iones antes de pasar al tejido vascular, transportándolos por la vía del simplasto esto se observó en raíces de maíz y cebolla tanto en la hipodermis como en la endodermis (Perumalla y Peterso, 1984) . En los tejidos del tallo del tratamiento B se observó disminución en el tamaño de la epidermis con córtex lo cual se puede deber a la disminución de la turgencia provocando tejidos de menor tamaño (Goykovic y Saavedra, 2007), tejido vascular y elementos de vaso del xilema de menor tamaño comparado con el tratamiento A, lo cual difiere con Almusawi *et al.* (2017) en el que observaron que cuando *B. monnieri* *in vitro* crecía en la solución con mayor concentración de cloruro de sodio, el tamaño del tejido vascular como de los elementos de vaso de xilema en el tallo eran de mayor tamaño que los que crecían en un sustrato no salino, todo lo contrario a lo observado en los tallos de

B. monnieri en el tratamiento B lo cual se puede deber a que la disponibilidad de agua es menor y de esta manera se realiza un menor gasto energético para transportar el agua por los elementos de vaso del xilema (Moreno, 2009); el aerénquima también presentó menor tamaño comparado con los individuos del tratamiento A, lo cual muestra un resultado diferente al presentado por Gayoor et al. (1999) en el cual observaron que cuando *B. monnieri* crecía en solución de cloruro de sodio, el aerénquima presente en el tallo era de mayor tamaño que en los individuos control, pero la disminución del tamaño del aerénquima en los tejidos del tallo de *B. monnieri* del tratamiento B se puede deber a que el estrés salino provoca déficit hídrico tanto en la solución del suelo como en el citosol de las células, por lo tanto al existir menor disponibilidad de agua en el medio de crecimiento la planta no requiere gastar energía en desarrollar tejido aerenquimatoso ya que este sirve para mantener los tejidos fotosintéticos fuera del agua (Shimamura et al., 2003). En los tejidos de la hoja se obtuvo que las células epidérmicas de ambas caras son de menor tamaño que los del tratamiento A, pero presentó mayor densidad estomática al igual que lo mencionado por Jathina y Abdussalam (2019) en la que observaron que *B. monnieri* al crecer en soluciones de cloruro de sodio, presentaba mayor densidad estomática en la cara abaxial que adaxial comparado con las del tratamiento control, en el caso de las plantas del tratamiento B se observó aumento de la densidad estomática en ambas caras de la hoja, también hay presencia de glándulas excretoras de sal en las hojas esto se vio también en *B. monnieri* del tratamiento B, este tipo de modificación es lo que ayuda a la planta adaptarse al ambiente salino ya que por medio de estas glándulas se excreta las sales formando una capa blanca de cristales en el exterior de la planta (Hasanuzzaman et al., 2014); la hoja presentó únicamente tejido esponjoso, con fotosíntesis tipo CAM y anatomía tipo Kranz con anillo de vainas alrededor de los haces vasculares, estas vainas presentaron los cloroplastos con polarización centrífuga, es decir en dirección al mesófilo, estos mecanismos según Olmedilla et al., (2010) le dan a la planta la ventaja de adaptarse a ambientes salinos; en el tejido vascular los individuos del tratamiento B presentaron menor tamaño, al igual que menor cantidad de elementos de vaso de xilema y de menor diámetro como en las hojas *Cenchrus ciliaris*, bajo estrés por sequía en la cordillera de sal de Pakistán, esta

disminución en el tamaño del tejido vascular como en el tamaño de los elementos de vaso del xilema, reduce el riesgo de embolismo (elementos de vaso de xilema no conductores) y aumenta la resistencia al flujo de agua, estas modificaciones generan una buena adaptación de la planta a suelos que presentaron estrés hídrico (Nawazish *et al.*, 2006).

8.2.2 *Bacopa monnieri* en condiciones de campo

Bacopa monnieri presentó diferentes características en cada sitio de campo. En el sitio 1 hay estrés salino y por calor. *B. monnieri* presentó mayor longitud de la raíz pero menor tamaño de tallo y área foliar que en los demás sitios, esto se debe al estrés hídrico, por eso se desarrolló un mayor tamaño de raíz para mejorar el flujo de agua hacia las partes altas de esta, según Pourcel y Grotewold (2009) en este tipo de estrés no se observó un efecto negativo en el desarrollo de las raíces pero si en las demás partes de la planta como en el caso de *Opuntia robusta*, *Capsicum annum* entre otras. El menor tamaño del tallo y el área foliar se debió a una disminución en la turgencia y disminución en la actividad fotosintética, por la presencia excesiva de sales, que generó estrés osmótico, por lo tanto hubo mayor presión osmótica en el suelo, provocando que la planta utilizara una mayor cantidad de moléculas energéticas para la extracción de agua y de nutrientes del suelo, esto observado también en *Asteriscus maritimus* al estar bajo altas concentraciones de cloruro de sodio (Rodríguez *et al.*, 2005). En el caso de los tejidos, según Wahid *et al.*, (2007) las modificaciones anatómicas presentadas en plantas bajo estrés salino fueron similares a las presentadas por estrés por altas temperaturas, como en el caso de los tejidos de la raíz, en la cual *B. monnieri* del sitio 1 presentó mayor acumulación de tejido vascular lo cual se observó en plantas como *Panicum antidotale* Retz, en los ecotipos que crecen bajo estrés por sequía y salinidad en el jardín botánico de la Universidad de Agricultura en Faisalabad, esta adaptación brindaba a la planta la capacidad de aumentar la conducción del agua con baja resistencia, y la presencia de la banda de Caspary en la endodermis evita que haya un taponamiento de los elementos de vaso de xilema, ya que al ser estos de mayor diámetro, es más fácil que haya embolismo en los elementos de vaso (Nawaz *et al.*, 2013). En el caso del tallo, el sitio 1 es en el

que observó mayor acumulación de elementos de vaso de xilema pero de menor tamaño que los del sitio 2, esta modificación mejoraron el transporte del agua y nutrientes a través del tallo hacia las hojas, esta modificación es necesaria para poder transportar el agua cuando la planta esta anegada (Nawaz *et al.*, 2013), lo cual se observó en el sitio 1, ya que los cráteres de lodo hirviendo también tenían agua, que a pesar de estar formando parte del lodo, no presentó gran disponibilidad para las plantas por el tipo de textura del suelo y la cantidad de sales que lo componen. En el caso de los tejidos de las hojas, en el sitio 1 es en el que se encontró el mayor tamaño del mesófilo y ancho de la lámina foliar al igual que el sitio 2, lo que indica aumento en la succulencia del parénquima esponjoso, esto mejoró el almacenamiento del agua para contrarrestar el efecto negativo del estrés hídrico, y el aumentar el mesófilo esponjoso o clorenquima, mitigó el efecto negativo de los iones tóxicos en el déficit de la fotosíntesis mejorando la producción de moléculas energéticas como se observó en *Buddleja parviflora* que pertenece a la familia Scrophulariaceae, la cual creció bajo altas concentraciones de cloruro de sodio, disminuyendo el tamaño del mesófilo, el almacenamiento de agua y la fotosíntesis (Parida *et al.*, 2003); *B. monnieri* también presentó mayor acumulación de xilema y elementos de vaso de xilema de mayor diámetro, esta modificación en la planta tiene la finalidad de mejorar el flujo de agua en las hojas, ya que al haber estrés osmótico, hay deficiencia de agua, por lo tanto se requiere la cantidad de agua suficiente para mantener la turgencia en las hojas y conservar la fotosíntesis (Taíz y Seiger, 2006). También presentó menor porcentaje de índice estomático en el haz y en el envés no hubo diferencia significativa con los demás sitios, la disminución del índice estomático principalmente en la cara abaxial, es una manera de disminuir la transpiración en las hojas, de esta forma se evita la pérdida de agua necesaria en la hoja, ya que al haber menor concentración de potasio en la planta, hay menor regulación de la apertura y cierre de los estomas, por tal razón la disminución en el índice estomático es una modificación necesaria para sobrevivir al estrés salino y evitar la deshidratación de los tejidos fotosintéticos (Parés *et al.*, 2008); en el caso de la densidad de glándulas, se observó que este sitio presentó mayor densidad de glándulas en el envés que los individuos del sitio 3, como ya se mencionó anteriormente, estas glándulas son excretoras por esta razón es que se

presente una mayor cantidad de glándulas en plantas del sitio 1 que el sitio 3, así se regula la concentración de iones tóxicos en los tejidos fotosintéticos. El sitio 2 es a la orilla del lago “La Alberca” en el cual se observó que en una parte del ciclo de vida las plantas se encuentran anegadas; los individuos de este sitio presentaron mayor longitud del tallo en los otros sitios, lo cual mantuvo a las hojas y tejidos fotosintéticos fuera del agua para evitar que la fotosíntesis y el intercambio gaseoso se vieran afectados (Vaibhav *et al.* 2000). En los tejidos, se observó que en la raíz había mayor tamaño de epidermis y córtex comparados con los otros dos sitios, esto se debió a que hay un aumento en el tamaño del aerénquima, este aumento se debió a que el ambiente de crecimiento presentó hipoxia, de esta forma se ayuda a mantener la respiración aeróbica en los tejidos ya que estas estructuras aumentan el flujo de oxígeno longitudinal desde la parte aérea hasta la raíz, a parte también ventilan el exceso de gases como etileno, metano y CO₂ que retardan el crecimiento de la planta, la presencia de aerénquima disminuye el gasto metabólico ya que hay menor respiración celular, haciendo que *B. monnieri* tenga un crecimiento exitoso en ambientes anegados al igual que salinos como en el caso de *Zea mays* (Souza *et al.*, 2010). En el caso del tejido vascular, *B. monnieri* del sitio 2 fue la que presentó menor acumulación de tejido vascular en la raíz, lo cual es una modificación positiva en plantas que viven bajo hipoxia, ya que al presentar un cilindro vascular de menor tamaño, hay mayor facilidad de transportar agua, oxígeno y productos de la fotosíntesis, también en el cilindro vascular se observó la presencia de una banda de Caspary la cual es el filtro de iones tóxicos transportados por el apoplasto, haciendo pasar mayor cantidad de iones necesarios que tóxicos por la vía del simplasto hacia el tejido vascular (Souza *et al.*, 2010). En el caso de los tejidos del tallo, en los individuos del sitio 2 es en los que se encontró el mayor tamaño de la epidermis y córtex, al igual que mayor tamaño de espacios de aire (aerénquima), esta adaptación tiene la finalidad de mantener a flote a los tejidos aéreos de la planta, mantener el flujo de oxígeno que va de las hojas hacia las raíces y mantener la turgencia de la planta utilizando menor cantidad de células (Vaibhav *et al.* 2000); en el tallo de estos individuos se encuentran los elementos de vaso de mayor tamaño que en los demás sitios, esta adaptación también se observó en *B. monnieri* sometida a estrés salino

por altas concentraciones de NaCl en la solución de crecimiento, lo cual indica que las plantas del sitio 2 aparte de presentar estrés por anegamiento, también presentaron estrés salino, este aumento en el tamaño de los elementos de vasos de xilema en el tallo se presentó en *B. monnieri* creciendo en un medio líquido o en anegamiento, donde la solución es salina ya que en experimentos previos de Almusawi *et al.*, (2017) observaron que *B. monnieri* en solución nutritiva control, presentaba elementos de vaso de menor tamaño, al igual que en el experimento de invernadero de esta investigación, en la cual cuando *B. monnieri* creció en un suelo salino (tratamiento B), la cual presentó disminución en el tamaño del tejido vascular comparado con el tratamiento A, dando un aumento en el tamaño de los elementos de vaso del xilema del tallo, se presentó cuando esta crece en solución salina o en suelos salinos anegados, con la finalidad de mejorar el flujo de agua transportada de la raíz hacia las hojas, ya que el tejido vascular y elementos de vaso del xilema presente en la raíz es de menor tamaño que en los demás sitios, por lo tanto los elementos de vaso del xilema del tallo al ser de mayor tamaño hacen la función de aumentar el flujo de la solución para llegar a las hojas, ya que a mayor tamaño de elemento de vaso de xilema, mayor flujo de nutrientes (Taíz y Seiger, 2006). En la hoja se observó que la lámina y el mesófilo eran de mayor tamaño que en el sitio 3, pero similar al del sitio 1, lo cual indica que aunque en el sitio 2 no había estrés por déficit hídrico como en el sitio 1, si hay estrés salino, por lo tanto el aumento del mesófilo es un mecanismo para minimizar el efecto negativo de las sales e hipoxia en la fotosíntesis, el tejido parenquimatoso que presentaron las hojas, únicamente es tejido esponjoso o clorénquima, en el cual junto a la vaina del haz se llevan las reacciones fotosintéticas, por eso esta adaptación es necesaria para que estas plantas sobrevivan tanto al estrés salino como al estrés por anegamiento, ya que se observó que en plantas que crecían anegadas y con NaCl, se reducía la actividad fotosintética (Naidoo *et al.*, 1992); también en este sitio los individuos presentaron mayor índice estomático en el haz, mayor densidad estomática en el envés y estomas de mayor tamaño en el envés, esto se debió a que la planta al estar en un ambiente hipóxico, requiere mayor intercambio gaseoso y no hay problema con la pérdida de agua a través de los estomas ya que la planta vive en un medio inundado. En el sitio 3 se encontraron los individuos con

mayor área foliar ya que en este sitio, no se observó estrés salino en la caracterización del suelo, por lo tanto, el tamaño del área foliar no se ve afectada y en comparación con los demás sitios se observó de mayor tamaño. En el caso de los tejidos de la raíz, se observó tamaño del córtex y epidermis similar al del sitio 2, esto se debió al tamaño del aerénquima y este sitio se encuentra en una zona en la que pasa el agua que escurre de las tierras de cultivo, por esta razón que tenga el aerénquima del tamaño similar al sitio 2, ya que en ocasiones el suelo donde crece se encuentra anegado; los elementos de vaso de xilema del tamaño similar al sitio 1 lo cual se pudo deber a que también las plantas pasan tiempo sin agua, presentando estrés hídrico, por esta razón de que los elementos de vaso de xilema sean de tamaño mayor al sitio 2, ya que requiere mejorar el flujo de agua. En los tejidos del tallo se presentó el diámetro y el tamaño del aerénquima de tamaño similar a los individuos del sitio 1 siendo de menor tamaño que en sitio 2, esto se debió a que la planta presentó estrés hídrico por lo tanto al haber déficit de agua, hay disminución en la turgencia de la planta y en el tamaño de los tejidos como el aerénquima. En los tejidos de la hoja, en este sitio se presentaron las hojas con menor tamaño de lámina y mesófilo, lo cual indica un efecto común en plantas que están bajo estrés hídrico, cuando la planta vive en un ambiente con poca presencia de agua, se observó esta disminución en el tamaño de la hoja y mesófilo, este es un mecanismo que utiliza la planta para evitar la pérdida de agua en forma de vapor, junto con la disminución en el tamaño de los estomas, lo cual genera disminución en la fotosíntesis (Bosabalidis y Kofidis, 2002). En los tejidos del tallo y la hoja se observaron modificaciones similares a las presentadas en los individuos del sitio 1, lo cual indica que la planta utiliza modificaciones anatómicas similares, tanto para estrés por salinidad con una C.E. de 17.30 dS/m, como para estrés hídrico con una C.E. de 2.03 dS/m con la menor concentración de sodio y potasio soluble de los 3 sitios en el suelo de crecimiento.

8.2.3 *Flaveria trinervia* en invernadero

En el caso de *F. trinervia* cuando creció en el tratamiento B presentó disminución en el tamaño de la raíz y del tallo como la halófito *Atriplex halimus* L. la cual al estar expuesta a altas concentraciones de NaCl tanto en cámara seca como húmeda, se observó el mismo efecto del NaCl (Poljakoff-Mayber, 1975), pero el área foliar aumentó, *F. trinervia* presentó disminución en el área foliar, como se reportó en sorgo, cuando las plantas están bajo estrés salino prolongado presentaron disminución en el área foliar, la reducción en el crecimiento de la planta se debió a que la presencia de Na⁺ que reduce la tasa de división celular, disminuyendo la tasa de expansión, ya que hay menor cantidad de células (Volkmar y Steppuhn, 1997), esto se debió a que al haber mayor cantidad de sodio y calcio en la solución del suelo, disminuyó la absorción de potasio, esto se observó en la comparación de la caracterización del suelo inicial y final del tratamiento B, observando una disminución en la concentración de sodio y calcio soluble, sin observar un cambio significativo en la concentración de potasio, al haber deficiencia de potasio en la planta, se ve afectada la producción de proteínas, almidones y la activación de enzimas involucradas en el crecimiento de la planta, esto genera que haya disminución en la fotosíntesis y disminución en el transporte de carbohidratos en toda la planta, al igual que disminución en la turgencia (Moreno, 2007). En la raíz se presentó mayor diámetro, en los tejidos, aumento en la acumulación de tejido vascular al igual que mayor tamaño del diámetro de los elementos de vaso del xilema, esto también se presentó en *Cynodon dactylon* obtenida de la cordillera de sal de Pakistán, cuando crecía en altas concentraciones de cloruro de sodio, según Hameed *et al.* (2010) la disminución en el tamaño de la raíz es una respuesta ante la presencia de sales en el medio de crecimiento, pero aumento en el tamaño del diámetro, tejido vascular y elementos de vaso del xilema, pero el aumento de estos tejidos mejora la capacidad de almacenamiento y transporte de la solución nutritiva, lo cual es muy importante ya en medio de crecimiento con altas concentraciones de sales hay presencia de este hídrico disminuyendo la disponibilidad del agua, también se encontró cristales extracelulares en el floema. En los elementos de vaso del xilema tanto en la raíz como en el tallo se encontró la presencia de cristales, observando

mayor presencia en los individuos del tratamiento B, la falta de banda de Caspary en la raíz genera que los iones tóxicos entren a la raíz por medio de la vía del apoplasto, es decir que se transporten por el exterior de las células y de esta manera se transportan hasta el tallo (Perumalla y Peterson, 1986), presentando cristales también en el apoplasto de las células parenquimatosas del córtex; *F. trinervia* acumuló los iones tóxicos en forma de cristales, a este proceso se le conoce como biomineralización, *Sarconia pruinosa* presentó también el proceso de biomineralización en elementos de vaso de xilema y en células de parénquima debajo de la epidermis para que los iones tóxicos no intervengan en las funciones metabólicas celulares de la planta (De la Fuente *et al.*, 2018). En el caso del tallo se observó aumento en la cantidad de las fibras pericíclicas y de los elementos de vaso de xilema, como en *C. dactylon* de la cordillera de sal en Pakistán en la que al aumentar la concentración de cloruro de elementos de vaso de xilema, según Hameed y colaboradores en el 2010 mencionan que el aumento en la cantidad de los elementos de vaso de xilema se debió a lo mismo que en la raíz, al haber estrés hídrico, es necesario distribuir mejor el agua por la planta, por esta razón aumenta la cantidad de los elementos de vaso; en el caso de las fibras peri-vasculares, estas tienen la función de brindar soporte al tallo, manteniendo la presión osmótica cuando la planta está sufriendo estrés hídrico, esto se debió a la retención del agua en el suelo (Malbrán, 2018) por esta razón hay mayor presencia de fibras perivasculares en las plantas de *F. trinervia* del tratamiento B que en las del tratamiento A, también la presencia de la médula fistulada que es un ejemplo de aerénquima, el cual se presentó en plantas que crecen en suelos salinos o anegados para minimizar la hipoxia que generaron en este caso la presencia de sales y el tipo de suelo arcilloso (Grigore y Toma, 2006). En las hojas se observó aumento de la acumulación de floema y xilema, aumento en la acumulación de elementos de vaso de xilema y estos de mayor diámetro, es decir mayor tejido vascular, en *Imperata cylindrica* de la cordillera de sal en Pakistán, también se observó aumento en el tamaño del tejido vascular así como el número y tamaño de los elementos de vaso del metaxilema Hameed *et al.* (2009) esta modificación en el tamaño del tejido vascular se presentó en plantas sometidas a estrés salino, el aumento del xilema y del tamaño de los elementos de vaso es para

mejorar la distribución de agua y minimizar el taponamiento de elementos de vaso por los biominerales, el aumento en el área del floema es para mejorar la distribución de los fotosintatos, y esto relacionado a que las hojas de *F. trinervia* presentaron anatomía tipo Kranz con vainas que tienen cloroplastos con polarización centrípeta, es decir en dirección al haz vascular, la vaina aísla al haz vascular del parénquima, este tipo de anatomía se encuentra en plantas que crecen en ambientes salobres ya que de esta manera se hace un mejor uso del agua disponible, aprovechando mejor el CO₂ y utilizando de manera más eficaz los iones no tóxicos (Pérez y Herman, 2014). *F. trinervia* presentó fotosíntesis C₄, al compararla con *F. pringlei* una planta C₃, observaron que se adaptaba mejor la C₄ a ambientes salinos (Apel *et al.*, 1995), esto se debió al tipo de anatomía que presentó en la hoja y el mecanismo de exclusión de sales de los tejidos fotosintéticos (tricomas), las plantas que presentaron fotosíntesis C₄ tienen la capacidad de disminuir al mínimo la fotorrespiración en la cual se separa la fijación inicial del CO₂ en las células del mesófilo mediante la enzima no rubisco y el ciclo de Calvin se realiza en las células de la vaina, al hacer esta división, se evita que la enzima actúe sobre el oxígeno en lugar que el CO₂, de esta forma disminuye la fotorrespiración y al disminuir también disminuye el gasto de agua y nutrientes, haciendo una mejor distribución de los nutrientes en la hoja (Song, 2012). Algunos investigadores mencionan que, en plantas con este tipo de fotosíntesis, el sodio actúa como un activador de la enzima carboxilasa fosfoenolpirúvica, en la primera carboxilación que se da en las células del parénquima esponjoso del mesófilo (García y García, 2013). *F. trinervia* del tratamiento B también presentó mayor área de células epidérmicas en ambas caras, pero disminución en la densidad estomática y de tricomas, estomas de menor tamaño, también hubo disminución en el tamaño e índice estomático en *Imperata cylindrica* de la cordillera de sal en Pakistán, esto muestra que la planta tiene una buena adaptación a ambientes salinos, ya que de esta manera se reduce la pérdida de agua a través de la superficie de las hojas (Hameed *et al.*, 2009). La disminución de la densidad de tricomas se observó también en *Mentha pulegium* cuando está expuesta a altas concentraciones salinas pero la densidad disminuía mientras aumentaba la edad, ya que en hojas jóvenes se observaba un aumento en la densidad de tricomas (Karray-Bouraoui *et al.*, 2009), por lo tanto, la disminución de

la densidad de tricomas en *F. trinervia* del tratamiento B se pudo deber al tiempo de exposición al estrés salino. Los tricomas en *F. trinervia* tienen la función de excretar los iones tóxicos de los tejidos fotosintéticos en la hoja, los tricomas de *F. trinervia* constan de una célula base y un tallo uniseriado de 6-9 células, en la célula base se acumulan las sales tóxicas provenientes de los haces vasculares principalmente del xilema, excretando las sales por medio del tallo (Werker, 2000).

8.2.4 *Flaveria trinervia* en condiciones de campo

Flaveria trinervia del sitio 1 (15.29 dS/m) y el sitio 3 (4.17 dS/m) presentaron similitudes en las mediciones del tallo y raíz en las cuales no hay diferencias significativas entre sí, siendo de mayor tamaño que los individuos del sitio 2. En los tejidos de la raíz del sitio 1 se observaron elementos de vaso de xilema de mayor tamaño que en los otros sitios, recordando que en el sitio 1 también se presentó estrés por altas temperaturas, este aumento en el tamaño de los elementos de vaso del xilema en la raíz se presentó también en *Lotus creticus* sometida a estrés hídrico y a temperaturas de 39 °C por las noches, esto se debió a una modificación presentada en las plantas para poder mejorar el flujo de agua obtenida en las raíces para las partes altas de la planta, cuando esta crece en ambiente con déficit hídrico (Bañón *et al.*, 2004). En los tejidos del tallo se encuentra mayor cantidad de fibras peri-vasculares por casquete y de medula que en los demás sitios; la acumulación de tejido vascular y de elementos de vaso de xilema son similares a los del sitio 3 pero de mayor tamaño que en el sitio 2; en el caso de la cantidad de fibras peri-vasculares según Hameed *et al.*, (2010) es una modificación benéfica para la planta, ya que ayuda a disminuir la pérdida de agua al igual que da soporte ya que en condiciones de estrés osmótico, la planta puede perder turgencia. Otro mecanismo que utiliza la planta para evitar la pérdida de agua y durar sin flujo de agua, es presentar una medula de gran tamaño, la cual sirve como almacén de agua gracias a la presencia de grandes células parenquimatosas que también dan sostén. En las plantas halófitas es común encontrar células grandes de parénquima como una forma de almacenamiento de agua (Hameed *et al.*, 2010); todo lo anterior junto con una mayor acumulación de tejido vascular y de los elementos de vaso del xilema, son una adaptación muy útil para mejorar el flujo de la solución del suelo y

evitar la pérdida de agua (Bañón *et al.*, 2004), a pesar de que a mayor tamaño de elementos de vaso de xilema mayor es la posibilidad de embolismo en estos, como se observó en algunos elementos de vaso en los cuales hay presencia de cristales salinos. En los tejidos de la hoja, el ancho de la lámina y el mesófilo son de tamaño similar a los del sitio 2 pero de mayor tamaño que en el sitio 3, y presentó mayor tamaño de parénquima en empalizada que los individuos de los demás sitios, esto se debió a que en plantas halófitas sometidas a altas concentraciones salinas, se requiere mantener y obtener agua, y el agua no solo se transporta por el tejido vascular, también por el parénquima en empalizada del agua proveniente de la epidermis de la hoja. En plantas sometidas a estrés hídrico, se desarrolló un parénquima en empalizada de mayor tamaño, para mantener el flujo del agua, el intercambio gaseoso y la fotosíntesis, ya que en este parénquima es en el que se realiza la mayor cantidad de reacciones fotosintéticas, por tener mayor cantidad de cloroplastos y células de mayor tamaño que el parénquima esponjoso, también en este parénquima hubo mayor presión osmótica para almacenar agua necesaria para la fotosíntesis (Valenti *et al.*, 1992), por eso fue común observar mayor tamaño de parénquima en empalizada en plantas bajo estrés salino, también se observó mayor índice estomático en el haz que en el envés al igual que en los individuos del sitio 3, la salinidad y la alta temperatura, generan una disminución en la fotosíntesis, el aumento en la densidad estomática, generó un aumento en la obtención de CO₂ disminuyendo la resistencia estomática y facilitando la asimilación de carbono (Souza *et al.*, 2010). En el sitio 2 los individuos fueron los de menor tamaño de raíz, tallo y hojas, este retraso en el crecimiento de la planta también fue reportado en trigo cuando crecía en un suelo inundado y después drenar los suelos, el tamaño de la raíz, tallo y hoja alcanzaba el de las plantas control, esto se debió a la hipoxia presentada en el suelo y que el anegamiento provocara la pérdida de elementos importantes como el nitrógeno, junto con la mayor concentración de sodio y potasio solubles que en los demás sitios (Malik *et al.*, 2002), en el caso de *F. trinervia* se observó la medula fistulada en los tallos esto como un mecanismo de supervivencia a periodos largos de anegamiento o hipoxia (Grigore y Toma, 2006). En los tejidos de la raíz, los individuos del sitio 2 son los que presentaron mayor acumulación de elementos de vaso de

xilema, pero estos de menor tamaño, lo cual indica una disminución en la conductancia axial, es decir disminución en el flujo de agua hacia las partes altas de la planta como en el sorgo bajo inundación (Huang y Gao, 2000). En los tejidos del tallo todos los tejidos son de menor tamaño que en el sitio 1 y 3, esto se debió a la disminución en el crecimiento de la planta como se observó en el trigo (Malik *et al.*, 2002). Pero en la hoja se observó al igual que en el sitio 1 mayor tamaño de lámina y mesófilo que en los individuos del sitio 3, mayor acumulación de tejido vascular y los elementos de vaso de mayor diámetro que en el sitio 1 y 3, el aumento en el área del floema es una modificación necesaria ya que las plantas expuestas a inundaciones, tienden a disminuir el flujo de fotosintatos hasta la raíz, pero aumentando el área del floema en hojas se mantiene el transporte de productos de la fotosíntesis hacia la raíces y otras partes de la planta. El aumento en el área del xilema en hojas mejora el flujo de agua obtenido de las raíces ya que en la hoja se requiere mayor cantidad de agua para mantener la fotosíntesis, a pesar de la hipoxia y un menor índice estomático que en los otros sitios, esto provoca una disminución del intercambio gaseoso (Souza *et al.*, 2010), por lo tanto *F. trinervia* no se adapta de forma favorable a ambientes anegados o que tienden a las inundaciones, como lo hace en ambientes salinos o con déficit hídrico. Se observó que las mayores longitudes de raíz, tallo y hoja están en el sitio 1 y 3, lo cual indica que *F. trinervia* crece mejor en suelos salinos que presentaron estrés hídrico que en suelos anegados. En el sitio 3 la raíz presentó mayor tamaño del diámetro, córtex y tejido vascular, el aumento en el tamaño del diámetro de la raíz se observó en *Imperata cylindrica* L. que crece en la cordillera de la sal en Pakistán, cuando se sometía a 150 mM de NaCl cuando se aumentaba más la concentración, el tamaño disminuía, lo mismo observamos en el caso de *F. trinervia* del sitio 3 y el sitio 1, a una mayor concentración de sales, se encuentra un menor tamaño del diámetro de la raíz, al igual que en el tamaño de las células corticales y acumulación del tejido vascular, a mayor salinidad estos disminuían, este aumento en el tamaño del córtex y el tejido vascular se debió a una forma de almacenamiento de iones necesarios para aumentar la presión osmótica celular para la extracción de agua del suelo y el aumento en el floema es para mejorar el transporte de fotosintatos provenientes de las hojas, este aumento es común en plantas halófitas dicotiledóneas

como *F. trinervia* (Hameed *et al.*, 2009). En el tallo también hay mayor acumulación de tejido vascular y elementos de vaso del xilema de mayor diámetro, se puede observar que en comparación al sitio 1, hay un aumento en el tamaño de los elementos de vaso, pero no en el tamaño del tejido vascular, lo cual también muestra que a bajas concentraciones salinas el tamaño de los elementos de vaso fueron de mayor tamaño que en altas concentraciones, esto se puede ser una respuesta de la planta contra la embolia en vasos a causa de cristales salinos, ya que a mayor tamaño de elementos de vaso del xilema son más susceptibles a embolismos vasculares, por lo tanto en el sitio 3 los elementos de vaso fueron de mayor tamaño mejorando la conductancia hídrica de la raíz hacia las hojas con menor conductividad eléctrica que en sitio 1. En la hoja se observó mayor acumulación de elementos de vaso por mm² y mayor acumulación de xilema en la vena media que en el sitio 1 y 2, esta modificación permite mejorar el flujo de la solución del suelo hacia el tejido fotosintético, esta planta presentó fotosíntesis C4 lo cual significa que es una planta de alto rendimiento ya que pierden menos moléculas de agua y tienen mejor asimilación del CO₂, haciéndolas resistentes a ambientes áridos (Meinzer, 1978). Los individuos del sitio 3 presentaron un índice estomático similar a los del sitio 1 y la densidad estomática por mm² lo que se deben al área foliar y las células epidérmicas fueron las de menor área que la de los demás sitios.

8.3 Modificaciones fitoquímicas de las plantas creciendo en suelos con conductividades eléctricas contrastantes en invernadero y campo

8.3.1 *Bacopa monnieri* y *Flaveria trinervia* invernadero

En las adaptaciones fitoquímicas se comparó la concentración de compuesto fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados del tratamiento A y tratamiento B, extraídos de las hojas con etanol al 80% y metanol al 80% de *B. monnieri* y *F. trinervia*, en ambos casos se observó una mejor extracción de dichos compuestos con el solvente metanol al 80% en el tratamiento B. La extracción de estos depende principalmente de la polaridad del compuesto y las macromoléculas con las que se encuentren enlazados como proteínas y lípidos (Jakopič *et al.*, 2009). Se ha

observado que el metanol genera una lisis en la membrana celular y disuelve algunos compuestos fenólicos y los estabiliza. El metanol es mejor extractante de compuestos fenólicos como los flavonoides ya que según Jakopič *et al.*, (2009) observaron que el metanol tiene mejor extracción de polifenoles, antocianinas, catequina, epicatequina y epigallocatequina; los flavonoides que presentaron un gran número de hidroxilos insustituídos o con azúcares se consideran polares por esta razón son solubles en solventes polares como el metanol, lográndose extraer casi todos los flavonoides excepto los flavonoides de baja polaridad, los flavonoides presentaron carga negativa a un pH cercano a 7, generando que sea difícil la extracción por la membrana celular por la presencia de fosfolípidos que también presentaron carga negativa, para su extracción, el metanol dona protones para estabilizar al flavonoide, por esta razón que solamente se extraigan mayor cantidad de flavonoides polares (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). En el caso de taninos condensados, estos son polímeros aromáticos multihidroxilados, formados por flavonoides, de alto peso molecular, por lo general están formados por unidades de catequina y la epicatequina o galocatequina, las cuales están unidas por enlaces carbono-carbono; para la extracción de estos compuestos generalmente se utiliza acetona acuosa y metanol acuoso entre otros solventes, ese tipo de compuestos por lo general se encuentran enlazados a los glúcidos, proteínas o celulosa, esto en la pared y membrana celular, lo que dificulta su extracción; en algunos casos la extracción de taninos fue mejor con acetona acuosa y HCl en *Lathyrus maritimus* (Chavan *et al.*, 2001), en otros como en el caso de *Vitis vinífera* el mejor extractante fue metanol al 80% y el peor extractante fue etanol al 80%, pero el autor mencionan que para la extracción de taninos se debió identificar qué tipo de compuesto poli fenólico es y de donde se extraerá (Izquierdo, 2011).

Del material vegetal de *B. monnieri* y *F. trinervia* del tratamiento B (13.24 dS/m) se logró extraer mayor concentración de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos. Este aumento de los compuestos fenólicos y polifenólicos en plantas que crecen bajo estrés salino también se observó en el romero que creció en altas concentraciones de NaCl comparado con las plantas control, al igual que en la hierbabuena (Waśkiewicz *et al.*, 2013), en el caso de *Achillea fragratissima* y *Nigella sativa* presentaron aumento de compuestos fenólicos y taninos conforme aumentaba

la salinidad (Ahl y Omer, 2011), lo que indica que en algunas plantas medicinales bajo estrés salino aumentan la producción de metabolitos secundarios, al igual que en el caso de *B. monnieri* y *F. trinervia* en invernadero. El aumento de estos compuestos en las plantas que crecen bajo estrés salinos se debió a una desviación en la ruta metabólica de los carbohidratos, pasando a la ruta del ácido shikímico y fenilpropanona, esta ruta está regulada por enzimas que cuando la planta crece en dichas condiciones se afecta la producción de estas, aumentando en este caso la concentración de metabolitos secundarios (Martin, 2017). Los iones tóxicos que ingresan a la planta por la raíz, provocan efectos fisiológicos y metabólicos negativos que pueden causar la muerte de esta, pero las plantas que tienen la capacidad de crecer en ambientes salinos como *B. monnieri* y *F. trinervia* aumentan la concentración de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos para disminuir los efectos negativos de la salinidad, como la liberación descontrolada de especies reactivas de oxígeno (ROS), los cuales son radicales libres generados durante la fotosíntesis en los cloroplastos provocando estrés oxidativo (Waśkiewicz *et al.*, 2013), cuando la planta crece bajo estrés abiótico la liberación de estas moléculas aumenta interviniendo en procesos bioquímicos importantes que a largo plazo causan la muerte, pero en el caso de *B. monnieri* y *F. trinervia* el aumento en la concentración de los compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, presentaron una alta capacidad antioxidante al igual que la concentración media inhibitoria del radical DPPH y el catión ABTS, lo cual indica que estos compuestos tienen la capacidad de eliminar el efecto tóxico de los ROS, estabilizando los radicales libres ya que presentaron la capacidad de donar electrones y moléculas de H⁺ (Benezer–Benezer *et al.*, 2008). Pero no solamente presentaron función antioxidante si no también, estos compuestos son biosintetizados bajo estrés salino para mejorar las condiciones en las células. Por ejemplo, los compuestos fenólicos pueden cumplir la función de estabilizadores de membrana formando complejos con los fosfolípidos, manteniendo la fluidez adecuada en la membrana evitando la deshidratación (Ávalos y Pérez-Urria, 2009); los flavonoides presentes en membrana impiden la liberación de los radicales libres al exterior de la celular (Bartwal *et al.*, 2012), estos compuestos se encuentran en las membranas de los tilacoides mejorando la absorción de energía lumínica para mantener la fotosíntesis ya que la

salinidad la disminuye, regulan el crecimiento y lignificación de tejidos por estar involucrados en el transporte de auxinas, en el caso de *B. monnieri* y *F. trinervia* de invernadero se presentó una disminución en el crecimiento de la planta por la salinidad, observando que esta pudo afectar la acción de las auxinas u otras fitohormonas de crecimiento (Cartaya y Reynaldo, 2001); la función principal atribuida a los taninos condensados es la de tener un efecto repelente o negativo en patógenos y herbívoros, pero en plantas bajo estrés salino también tiene la función de estabilizar las membranas y como buenos neutralizadores de radicales libres como los ROS en células (Escaray, 2007), son buenos neutralizadores y eliminadores de radicales libres por la presencia del grupo 3-OH lo cual es el determinante más importante de la actividad donadora de electrones (Bartwal *et al.*, 2012). En el caso de *B. monnieri* y *F. trinervia* creciendo en invernadero, los compuestos fenólicos presentaron una buena actividad antioxidantes, pero también están involucrados en la función de las células y tejidos, presentando una gran capacidad para crecer en ambientes salinos.

8.3.2 *B. monnieri* en condiciones de campo

En *B. monnieri* de campo se observó mayor extracción de compuestos fenólicos en etanol al 80% que en metanol al 80%, pero en el caso de *B. monnieri* de invernadero hay mayor extracción con el metanol al 80%, lo cual se debió a que las moléculas sintetizadas pueden ser diferentes presentando mayor afinidad para cada solvente o bien se encuentran formando complejos enlazadas a proteínas o glúcidos, ya que se ha observado que las soluciones polares disueltas en agua como metanol-acuoso y etanol-acuoso, lisan la membrana celular mejorando la obtención de compuestos fitoquímicos (Cheng *et al.*, 2012), pero hay diversas investigaciones que al obtener compuestos fenólicos presentaron mayor extracción con etanol-acuoso, como en el caso de *Limnophila aromatica* que presentó mayor contenido de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante que en los extractos metanólicos (Do *et al.*, 2014), en el caso de *Acacia nilotica*, *Azadirachta indica* y *Eugenia jambolana* también se obtuvo mayor concentración de compuestos fenólicos con etanol al 80% que en metanol al 80% (Sultana *et al.*, 2009); pero en otras plantas es mejor extractante el metanol-acuoso como en el caso de la semilla de uva (Kallithraka *et al.*, 1995), o en el caso de

Tamarix aphylla en la que se presentó mayor concentración de compuestos fenólicos que en los extractos etanólicos (Mohammedi y Atik, 2011); esto indica que para la extracción de los compuestos también es necesario conocer la afinidad de estos con el solvente. Lo que se ha observado en algunas investigaciones es que la extracción de compuesto fenólicos ácidos como ácido elágico y sinapico es mejor con etanol-acuoso como se observó en la nuez verde (Jakopič *et al.*, 2009) y en la semilla de la uva (Kallithraka *et al.*, 1995), también en *Campomanesia lineatifolia* se observó mayor extracción de compuestos fenólicos que en los extractos metanólicos acuosos para lo cual Muñoz *et al.*, (2015) indican que esto se debió a la presencia de difenoles y polifenoles solubles en solventes polares. Por lo tanto, la producción de compuestos fenólicos específicos en *B. monnieri* de campo e invernadero es diferente por la afinidad de estos a los solventes, esta diferencia en los compuestos se pudo deber a la edad de las plantas y a que en invernadero hay mayor control del ambiente de crecimiento que en campo. Algo importante de destacar es que en *B. monnieri* de invernadero del tratamiento B, hay mayor concentración de compuestos fenólicos totales que en las plantas de campo. *B. monnieri* del sitio 1 presento mayor concentración de flavonoides totales que en los individuos de los demás sitios y que los individuos de invernadero, lo cual se pudo deber a que en este sitio las plantas crecen también bajo estrés por calor aumentando la producción de metabolitos secundarios como lo son los difenoles o flavonoides. En él la caña de azúcar se observó que cuando las respuestas fisiológicas al estrés por calor comenzaba a presentarse, se comenzaban a producir flavonoides para mejorar la tolerancia de la planta al estrés por calor, disminuyendo la perdida de agua y manteniendo la fotosíntesis (Wahid, 2007), al igual que en caso de *Ipomoea purpurea* en la que el aumento de flavonoides mejora la fertilización que se ve afectada por las altas temperaturas, de esta manera se alivia el estrés por altas temperaturas (Coberly y Rausher, 2003). En *B. monnieri* se produce una mayor cantidad de flavonoides extractados con etanol al 80% cuando aparte de presentar estrés salino también presentó estrés por altas temperaturas para mejorar la tolerancia de esta al calor, ya que comparado con los individuos del tratamiento B de invernadero, los cuales presentaron C.E. más altas, hay mayor producción de flavonoides totales, y en los de

tratamiento B hay mayor presencia de compuestos fenólicos totales y taninos condensados, lo cual puede indicar que la planta produce mayor concentración de compuestos fenólicos totales y taninos principalmente como respuesta al estrés salino y flavonoides como respuesta al estrés por altas temperaturas. Los flavonoides totales obtenidos de *B. monnieri* del sitio 1 fueron los que tienen mayor capacidad antioxidante de los 3 sitios y estos compuestos lograron el IC₅₀ del catión ABTS, siendo los segundos mejores. En el caso del radical DPPH, ninguno de los extractos de los 3 sitios alcanzó la inhibición del 50%, lo que indicó que los compuestos de *B. monnieri* en campo no tienen un gran efecto como donadores de electrones. En el sitio 2 se extrajo la menor cantidad de metabolitos secundarios de los tres sitios y del tratamiento B, pero comparado con el tratamiento A de invernadero, hubo mayor concentración de flavonoides totales y taninos condensados en los extractos metanólicos. Lo anterior puede deberse a que en las plantas que presentaron anegamiento o suelos muy húmedos, se disminuye el metabolismo aerobio dando lugar al metabolismo anaerobio que provocó disminución en el crecimiento de la planta y menor producción de moléculas energéticas, pero también hay un aumento en la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres, aumentando la producción de compuestos fitoquímicos (Cruz *et al.*, 2012). Como se mencionó anteriormente, tanto los flavonoides como los taninos presentaron características de eliminación y estabilización de radicales libres, y aunque presentaron mejor capacidad antioxidante e inhibición del radical libre DPPH los individuos del tratamiento A que en el sitio 2, los del sitio 2 presentaron mejor inhibición del radical ABTS, por lo tanto *B. monnieri* creciendo en campo en el sitio con alta C.E. y suelo anegado presentó mayor concentración de flavonoides y taninos pero estos tienen una menor capacidad antioxidante que *B. monnieri* creciendo en un suelo no salino y no anegado. En comparación con los sitios 1 y 2, se presentó una menor concentración de compuestos fenólicos, lo cual muestra que *B. monnieri* en suelos salinos no anegados se presentó mayor concentración de compuestos fitoquímicos como en el caso de los individuos del sitio 3, en los que se observó mayor concentración de compuestos fenólicos y taninos condensados que en los demás sitios y similar a la concentración obtenida en el tratamiento B, estos compuestos presentan menor capacidad antioxidante total que

en el sitio 1, pero mayor IC₅₀ del radical libre ABTS que en el sitio 1 y que el tratamiento B, lo cual indica que los flavonoides totales obtenidos en el sitio 1 tienen mejor capacidad antioxidante que el sitio 2 y 3, pero el sitio 3 presentó mayor porcentaje de inhibición del radical libre DPPH y mayor IC₅₀ del radical libre ABTS. Se puede deducir que en este caso la salinidad y la alta temperatura mejora la producción de flavonoides totales, pero una alta salinidad en un medio controlado como invernadero, donde el suelo no presentó alta temperatura ni anegamiento, se obtiene mayor concentración de compuestos fenólicos y taninos condensados, que presentan mayor capacidad antioxidante total y mayor IC₅₀ del radical libre DPPH.

8.3.2 *F. trinervia* en condiciones de campo

En el caso de *F. trinervia* también la mejor extracción de compuestos fitoquímicos se obtuvo con etanol al 80%. En el sitio 1 es en el que se encuentra la mayor concentración de compuestos fenólicos totales y taninos condensados que en el sitio 2 y 3, presentando también mayor concentración de taninos condensados que en el tratamiento B. En el sitio 1 las plantas viven bajo estrés salino y estrés por calor ya que se encuentran cerca de los cráteres de suelo hirviendo, la acumulación de compuestos fenólicos en plantas que crecen bajo estrés térmico es una forma de mejorar la aclimatación de las plantas como en el caso del jitomate y la sandía, en los que la producción de compuestos fitoquímicos mejoraron la aclimatación de la planta tanto a altas temperaturas como a temperaturas subóptimas (Rivero *et al.*, 2001). Cuando una planta crece bajo estrés salino y alta temperatura, se presentan modificaciones similares tanto estructurales y bioquímicas que en el caso de *F. trinervia* del sitio 1 como mayor tamaño que las demás plantas lo que indica una buena movilización y producción de fitohormonas del crecimiento por lo que estos compuestos al actuar como osmoprotectores mantienen la turgencia de las células y ayudan a que los tejidos realicen sus funciones normales (Herrera *et al.*, 2014), ya que el estrés por salinidad y temperatura generan un estrés osmótico en las células provocando cierre estomático. En el caso de *F. trinervia* el índice estomático es mayor en el sitio 1 lo que indica que aumenta el índice estomático para aumentar la entrada de CO₂ a la planta, ya que el estrés osmótico disminuye este factor, generando que

las especies reactivas de oxígeno (ROS) aumentan en las células del mesófilo, por esta razón los compuestos fenólicos y taninos condensados cumplen la función de ser mejores antioxidantes que en los demás sitios ya que tienen mejor CAT que los individuos de los demás sitios, IC₅₀ de DPPH y ABTS que en los sitios de campo e invernadero, lo que indica que en este caso los compuestos fenólicos y los taninos condensados presentan mejor capacidad antioxidante cuando la planta presenta estos dos tipos de estrés. En el sitio 2 donde la plantas crecen en suelos son más húmedos salinos, presentaron menor concentración de compuestos fenólicos y flavonoides que en los tratamientos de invernadero. En cuanto a taninos, es una concentración similar al sitio 1 y mayor a los individuos de invernadero. En este caso se observó una menor concentración de fenoles y flavonoides totales que en el tratamiento A de invernadero, la comparación es para observar el cambio entre *F. trinervia* en un suelo húmedo salino y un suelo no salino sin humedad excesiva, en lo cual se observó que en los individuos de campo la mayor concentración de taninos que en campo, pero menor concentración de fenoles y flavonoides. Se ha reportado en *Suaeda marítima*, una halófito que crece en la orilla del mar, que cuando crecía en suelo anegado con agua salina, presentaba mejor crecimiento y mayor concentración de compuestos fenólicos con mayor capacidad antioxidante que minimizan el efecto de las moléculas reactivas de oxígeno las cuales se producen en mayor concentración por la hipoxia presentada en las raíces, que en suelos bien drenados no salinos (Alhdad *et al.*, 2012). Esto es diferente a lo presentado en *F. trinervia* del sitio 2, ya que la longitud de la planta es de menor tamaño que en los demás sitios y el tratamiento A, y la producción de compuestos fenólicos, flavonoides y CAT también es menor, lo que indica que *F. trinervia* tienen la capacidad de vivir en suelos anegados salinos por las modificaciones estructurales y la producción de taninos que tienen la capacidad de estabilizar los radicales libres donando electrones. *F. trinervia*, presentó más mecanismos de respuesta a la salinidad que a los suelos anegados. En el caso del sitio 3 hay mayor concentración de flavonoides que en los demás sitios de campo pero menor que en invernadero, con la baja capacidad antioxidante que en el sitio 1 e invernadero, similar al sitio 2, con una IC₅₀ del radical libre DPPH similar al sitio 1. En *Ligustrum vulgare* se reportó que cuando creció en un ambiente soleado y con una

concentración baja de NaCl se observó un aumento en la concentración de glucido de flavonol que es un flavonoide que eliminaba eficazmente el radical de DPPH. La producción de este tipo de compuesto tiene la función de eliminar los radicales libres y mejorará la fotosíntesis al mejorar la absorción de energía lumínica (Agati *et al.*, 2012). En el caso de *F. trinervia* del sitio 3, se presentó una alta concentración de flavonoides comparado con los demás sitios pero no una mayor capacidad antioxidante que en los demás sitios e invernadero, lo cual puede indicar en este caso que *F. trinervia* tiene mejor capacidad antioxidante al igual que producción de compuestos fenólicos y polifenólicos en los extractos metanólicos al 80% en suelos salinos con ambiente controlado como en invernadero, en campo intervienen más factores bióticos y abióticos, aparte de tener en cuenta la edad de la planta.

9. CONCLUSIÓN

Las modificaciones morfo-anatómicas de las plantas estudiadas debido a su crecimiento en suelos salinos fueron diferentes para cada planta, en el caso de *B. monnieri* presentó aumento en la longitud del tallo y área foliar tanto en invernadero como campo, en suelos salinos anegados aumentó el tamaño de los tejidos vasculares, así como el tamaño del aerénquima. En el caso de *F. trinervia* en suelos salinos, mostró disminución en el tamaño de la raíz, tallo y área foliar, pero aumento en el tamaño de los tejidos principalmente conductores de agua y fotosintatos, por lo tanto *F. trinervia* es una planta que presentó las modificaciones adecuadas y necesarias para crecer en suelos salinos comparado con su crecimiento en suelos no salinos y suelos anegados. Las modificaciones fitoquímicas de los individuos de *B. monnieri* y *F. trinervia* bajo estrés salino tanto para campo como invernadero presentó mayor concentración de compuestos fenólicos, flavonoides, capacidad antioxidante e inhibición del radical libre ABTS y DPPH, como respuesta al estrés. Tanto las modificaciones morfo-anatómicas como las fitoquímicas indican que ambas plantas son capaces de desarrollarse en ambientes salinos que en suelos no salinos, lo que les confiere la característica de plantas halófitas.

11 RECOMENDACIONES SUGERIDAS

Las recomendaciones sugeridas son realizar la extracción con una mayor diversidad de solventes y concentraciones, así mismo análisis cualitativo y cuantitativo más específico como la técnica de UPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución), para determina específicamente los compuestos fenólicos presentes en las muestras.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Ávalos, A. y Pérez-Urriria, R. L. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Fisiología vegetal*, 2: 129-132.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. y Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant science*, 196: 74-76.
- Ahl, S. A. y Omer, E. A. (2011). Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. *Herb a Polonica*, 57: 50-55.
- Almusawi, A. H. A., Al-Aradi, H. J. y Hammadi, K. J. (2017). The impact of salinity stress on morphological and anatomical aspect of water hyssop *Bacopa monnieri* (L.) Wettst grown in vitro. *African Journal of Biotechnology*, 16: 802-804.
- Amira M.S. y Qados, A. (2010). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10: 7-8.
- Antonovics, J. A. y Levin, D. A. (1980). The ecological and genetic consequences of density-dependent regulation in plants. *Annual Reviews Inc*, 11: 411-413.
- Ávalos A. y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca (Biología)*, 2: 119-122.
- Alhdad, G. M., Seal, C.E., Al-Azzawi, M. J. y Flowers, T. J. (2013). The effect of combined salinity and waterlogging on the halophyte *Suaeda maritima*: the role of antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 87: 124-125.
- Abdul, Ch., Manivannan P., Wahid, A, Farooq, M., Al-Juburi R., Somasundaram, R. y Panneerselvam R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International journal of agriculture & biology*, 11: 100.
- Adnan, M., Aslam, M., Mukhtar, R., Ahmad R., Ayyub C. M., Abbas T. y Akhta N. (2011). Salt stress effects on some morphological and physiological characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Revista Soil Environtal*, 30: 66-67.

- Argentel, L., González, L. M., López, R. D. y López, R.C. (2013). Régimen hídrico y ajuste osmótico en variedades cubanas de trigo (*Triticum aestivum* y *T. durum*) cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos Tropicales*, 34: 18-19.
- Arslan, M. (2012). Waterlogging stress in plants: A review. *African Journal of Agricultural Research*. 7: 1976-1977.
- Apel, P., Peisker, M., Pfündel, E. y Mühle, K. (1995). *Flaveria pringlei* (C 3) y *Flaveria trinervia* (C 4) bajo estrés por NaCl. *Biologia plantarum*, 37: 65.
- Aréchiga, H. (2000). Homeostasis. En H. Aréchiga, Conceptos Homeostasis (págs. 9-11). Distrito Federal: UNAM.
- Ávila C. M., M.T. Moreno y J. I. Cubero, “Introducción”, La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora vegetal, Junta de Andalucía, pág. 7-13, Andalucía, España (2008).
- Ariza, J. Q. (2012). *RODAS de Introducción a la ecofisiología*. Recuperado el 18 de enero de 2018, https://rodas5.us.es/file/f51f5dcc-829b-1b5b-6c73-6fdbd4024f03/1/introduccion_SCORM.zip/pagina_13.htm.
- Anaya, R. (2015). *Modelado de la salinidad del suelo en Los Negritos Villamar, Michoacán*. Tesis de posgrado, CIIDIR Michoacán, Michoacán, México.
- Benavides A., “El concepto de estrés”, Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas, editorial UAAANB, pág. 6-7, Saltillo, México (2002).
- Bartwal, A. R., Mall, R., Lohani, P., Guru, S.K. y Arora, S. (2013). Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *Revista Journal of plant growth regulation*, 32: 230-232.
- Barriada, L. G., Almaraz, N., Delgado, E., Gallardo, T., Ávila, J.A. y Torres, R. (2014). Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA – Journal Food*, 12: 105-108.
- Bañon, S., Fernandez, J.A., Franca, J.A., Alarcón, J.J. y Sánchez-Blanco, M.J. (2004). Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and

morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae*, 101: 338-340.

Barrientos, A. F., Borys, M.W., Trejo, C. y López, L. (2003). Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. *Fitotecnia Mexicana*, 26: 286.

Boyer, J. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443.

Bari, R. y Jones J. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology*, 69: 474.

Basurto, M., Núñez, A., Pérez, R. y Hernández, O.A. (2008). Fisiología del estrés ambiental en plantas. *Aventuras del pensamiento*, 48: 1-2.

Barbieri, G., Vallone, S., Orsini, F., Paradiso, R., Pascalea, S., Negre, F. y Maggio, A. (2012). Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 169: 1737-1738.

Bernstein, L. (2016). Osmotic Adjustment of Plants to Saline Media. I. Steady State. *American Journal of Botany*, 48: 909-910.

Barlow, P. y Lück, J. (2008). Rhythmic Plant Morphogenesis: Recurrent Patterns of Idioblast Cell Production. *Russian Journal of Plant Physiolog*, 55: 149-150.

Blanco, C., Aarts, M., Bentsink, L., Keurentjes, J., Reymond, M., Vreugdenhil, D. y Koornneef, M. (2009). What Has Natural Variation Taught Us about Plant Development, Physiology, and Adaptation? *The plant cell*, 21: 1877.

Bitá, C. y Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers plant science*, 4: 1-2.

Boege K., Córdoba, A., Cordero, C., Domínguez, C., Drummond, H., Eguiarte, L., Fornoni, J., Falcón, L., García, G., Jaramillo, J., Núñez, N., Piñero, D., Souza, V. y Torres, R. (2011) La ecología evolutiva: interfase de la ecología y la evolución. *Ciencias*, 103: 28-37. [En línea]

- Bronwyn, J. B., Vera, R., Balderas, E. y Pantoja, O. (2007). Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas. *Biotecnología*, 14: 264.
- Bosabalidis, A. M. y Kofidis, G. (2002). Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant science*, 163: 377-379.
- Benavides-Mendoza, A., Dávila-Salinas, R.V., Rincón-Sánchez, F., Ramírez, H. y Fuentes-Lara, L.O. (2014). Respuesta en la densidad estomática y de células tabulares de maíces bajo estrés por NaCl. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* 1: 184-185.
- Benezer-Benezer, M., Castro-Mercado, E. y García-Pineda, E. (2008). La producción de Especies Reactivas de Oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26: 58-61.
- Carrow R. y R. Duncan, “*Understanding Characteristics of Salt-Affected Sites*”, Saline and sodic turfgrass soils, editorial Taylor & Francis Group, pág. 3-10, Boca Raton, EUA (2012)
- Cuartero, J., C. Bolarín, V. Moreno y B. Pineda, “*Tolerancia a la salinidad*”, La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora vegetal, Junta de Andalucía, pág. 231, Andalucía, España (2008).
- Connor, D., R. Loomis and K. Cassman, “*Plasticity*”, Crop Ecology: Productivity and Management in Agricultural Systems, Cambridge University Press, pág. 58, Nueva York, E.U.A (2011).
- Cartaya, O. y Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22: 8-11.
- Campos G., García, M., Pérez, D. y Ramis, C. (2011). Respuesta de 20 variedades de Carota (*Phaseolus vulgaris* L.) ante el estrés por NaCl durante la germinación y en la fase plantular. *Revista Bioagro*, 23: 216-218.
- Chavan, U. D., Shahidi, F. y Naczki, M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food chemistry*, 75: 511.

- Chaves M., Flexas, J. y Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103: 552.
- Chaves, N. y Gutiérrez, M. (2017). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. *Revista Agronomía Mesoamérica*, 28: 238-240.
- Chávez, L., Álvarez, A. y Ramírez, R. (2012). Apuntes sobre algunos reguladores del crecimiento vegetal que participan en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico. *Cultivos tropicales*, 33: 47-49.
- Chen, H y Jiang, J. (2013). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews.*, 18: 309-3010.
- Ciríaco, E., Jurema, R., Pinheiro, F., Franklin, N. y Días, A. (2008). Physiological responses to salt stress in young umbu plants. *Elsevier*. 63: 47.
- Choat, B., Drayton, W., Brodersen, C., Matthews, M., Shackel, K., Wada, H. y Mcelrone, A. (2010). Measurement of vulnerability to water stress-induced cavitation in grapevine: a comparison of four techniques applied to a long- vesseled species Plant. *Cell and Environment*, 33: 1502.
- Coulombe, C., Wilding, L. y Dixon, J. (1996). Overview of Vertisols: Characteristics and Impacts on Society. *Advances in Agronomy* 57: 300-305.
- Cheng, S., Wilks, C., Yuan, Z., Leitch M. y Xu, C.C. (2012). Hydrothermal degradation of alkali lignin to bio-phenolic compounds in sub/supercritical ethanol and water–ethanol co-solvent. *Polymer Degradation and Stability*, 97: 839-840.
- Coberly, L. C. y Rausher, M. D. (2003). Analysis of a chalcone synthase mutant in *Ipomoea purpurea* reveals a novel function for flavonoids: amelioration of heat stress. *Molecular Ecology*, 12: 1120-1124.
- Cruz, A. B., Hebly, M., Duong G.H., Wahl S.A., Pronk, J. T., Heijnen J. J. y Van Gulik, W. M. (2012). Similar temperature dependencies of glycolytic enzymes: an evolutionary adaptation to temperature dynamics? *BMC systems biology*, 6: 151.

- Chirinos D. T., L. Chirinos, F. Geraud, O. Castejón, R. E. Fernández, J. A. Vergara, L. E. Mármol y D. Chirinos. (1997). Modelos para estimar el área foliar de melón híbrido 'Durango'. *Revista de la Facultad de Agronomía Luz*, 14: 165.
- Creek, W. (2009). *Chenopodiaceae: Atriplex spongiosa*. Recuperado el 28 de marzo de 2018, http://tcf.bh.cornell.edu/imgs/meredith/r/Chenopodiaceae_Atriplex_spongiosa_36736.html.
- De la Fuente, V., Rufo, L., Sánchez-Gavilán, I., Ramírez, E., Rodríguez, N., y Amilis, R. (2018). Plant Tissues and Embryos Biominerals in *Sarcocornia pruinosa*, a Halophyte from the Río Tinto Salt Marshes. *Minerals* 8: 10-11.
- Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G. y Schroeder, J.I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science*, 19: 371-375.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. y Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22: 299.
- Eggli, U. y Nyffeler, R. (2009). Living under temporarily arid conditions - succulence as an adaptive strategy. *Bradleya*, 270: 13-14.
- Escaray, F. J. (2007). Taninos condensados en leguminosas del género Lotus: Estudio de sus funciones biológicas y evaluación de su utilidad en el mejoramiento de la calidad forrajera de especies de importancia agronómica. Tesis doctoral, Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina.
- Flowers, T. J. y Colmer, T.D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179: 945-963.
- Floris, M., Mahgoub, H., Lanet, E., Robaglia, Ch. y Menand, B. (2009). Post-transcriptional regulation of gene expression in plants during abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 3173-3180.

- Fitzpatrick, B. (2012). Underappreciated consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation. *Ecology and Evolutionary Biology*. Pág. 2.
- Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Ahmed, F., Khaliq, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F., Ullah, N., Faiq, M., Rafiullah, M., Khan, A., Khan, A., Ullah, A., Ullah, N. y Huang, J., (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Revista Plant Growth Regul*, 75: 393-399.
- Flowers, T., Galal, H. y Bromham, L. (2010). Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. *Revisit Functional Plant Biology*, 34: 609.
- Fassbender, H. y E. Bornemisza. “*Suelos salinos y sódicos*”, Química de suelos con énfasis en América latina, 1er reimpression, CIDIA, pág. 187-189, San José, Costa Rica (1994).
- Fahmi, T. (2013). *Estudio de la actividad sobre el sistema nerviosos central de especies vegetales procedentes de la flora egipcia*. Tesis de post-grado, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- García M., García, M., Medina, E. y Jáuregui, D. (2011). Cambios anatómicos inducidos por la salinidad en raíces de dos genotipos de caña de azúcar. *Acta Botánica Venezuela*, 34: 178-189.
- Galvan-Ampudia, C. S y Testerink, C. (2011). Salt stress signals shape the plant root. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 297-299.
- González, D. y Zapata, O. (2008). Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 82: 53.
- Goykovic, V. y Saavedra, G. (2007). Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *IDESA (Chile)*, 25: 50-52.
- Ghalambor, C., Mckay, J., Carroll, S. y Reznick, D. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21: 395.

- García, A., Dorado, M., Pérez, I. y Montilla, E. (2010). Efecto del déficit hídrico sobre la distribución de fotoasimilados en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.). *Asociación Interciencia*, 35: 47.
- Guerrero, J., Pla, I., Camacho, R., Valera, A. y Ferrer, J. (2007). Génesis de un suelo salino-sódico de Tucupido, esta Doguárico-Venezuela. *Agronomía Tropical*, 57: 172-173.
- Grigore, M. N. y Toma, C. (2006). Ecological anatomy elements related to Asteraceae halophytes species. *Studii și Comunicări Compl. Muz. Șt. Nat. Ion Borcea Bacău*, 21: 95-96.
- Gayoor A., M. Iqbal y P.S. Srivastava. (1999). A viable approach for micropropagation of *Bacopa monniri* grown under salt stress. En Krishor, Kavi. Plant tissue culture and biotechnology (pp 215-2018). India: Universities Press.
- García, G. N., & García, S. N., “*Elementos químicos beneficiosos y esenciales para algunas plantas*”, Química agrícola química del suelo y de nutrientes esencial, Mundi-Prensa Libros, pág. 457, Madrid España (2013).
- Hernández, A., M. O. Ascanio, M. Morales, J. I. Bojórquez, N. E. García y J. D. García. “*Criterios sobre la morfología del perfil del suelo*”, El suelo: Fundamentos sobre su formación, los cambios globales y su manejo, Primera edición, Universidad Autónoma de Nayarit, pág. 107-108, Nayarit, México (2006).
- Hameed, M. A., Ashraf, M. U., Naz, N. y Al-Qurainy, F. (2010). Anatomical adaptations of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. from the Salt Range Pakistan to salinity stress. I. Root and stem anatomy. *Pakistan Journal of Botany*, 42: 285-289.
- Hameed, M., Ashraf, M. y Naz, N. (2009). Anatomical adaptations to salinity in cogon grass [*Imperata cylindrica* (L.) Raeuschel] from the Salt Range, Pakistan. *Plant and soil*, 322: 235-238.
- Hasanuzzaman M., Nahar, K. y Fujita, M. (2013). Extreme Temperature Responses, Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants. *INTECH*, 1: 169.

- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, Md., Bhowmik, P., Hossain, Md., Rahman, M.; Prasad, M., Ozturk, M. y Fujita, M. (2014). Potential Use of Halophytes to Remediate Saline Soils. *BioMed Research International*, 2014: 4-6.
- Heil, K. y Schmidhalter, U. (2012). Characterisation of soil texture variability using the apparent soil electrical conductivity at a highly variable site. *Computers & Geosciences*, 39: 98-99.
- Huang, B. y Gao, H. (2000). Root physiological characteristics associated with drought resistance in tall fescue cultivars. *Crop Science*, 40: 202-203.
- Izquierdo, A. I. (2011). Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *vitis vinifera*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Agronómicas, Chile.
- Jakopic, J. y Veberic, R. (2009). Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agriculturae Slovenica*, 93: 11.
- Jathina, M. y Abdussalam, A. K. (2019). Histological and morphological responses of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell in glycophytic and halophytic conditions. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10: 409-411.
- Jennings, D. H. (1968). Halophytes, Succulence and sodium in plants: a unified theory. *New Phytologist*, 67: 899-911.
- Johansen, D. (1940). Plant microtechnique. Londres: Mac Graw Hill.
- Jong, M. y Leyser, O. (2012). Developmental Plasticity in Plants. *Cambridge University*, 77: 63.
- Jackson, M., Ishizawa, K. y Ito, O. (2009). Evolution and mechanisms of plant tolerance to flooding stress. *Annals of Botany*, 103: 137-138.
- Jouyban, Z. (2012). The Effects of Salt stress on plant growth. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2: 7-8.

- Karray-Bouraoui, N., Rabhi, M., Neffati, M., Baldan, B., Ranieri, A., Marzouk, B. y Smaoui, A. (2009). Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*, 30: 340-342
- Kassam, A., Friedrich, T., Shaxson, F. y Pretty, J. (2013). International Journal of Agricultural Sustainability. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 7: 292-296.
- Kosyk, O., Okanenko, A. y Taran, N. (2009). Plant sulfolipid. III. Role in adaptation. *Біополімери і клітина*, 25: 88-89.
- Kumar, A. y Bandhu, A. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 325.
- Kallithraka, S., Garcia-Viguera, C., Bridle, P. y Bakker, J. (1995). Survey of solvents for the extraction of grape seed phenolics. *Phytochemical Analysis*, 6: 265-267.
- Kloster, N. (Edit.). “*Capacidad de intercambio catiónico*”, Métodos de análisis e implementación de Calidad en el Laboratorio de Suelos, primera edición, Ediciones INTA, pág. 57, La Pampa, Argentina (2017).
- Lamaison, J.L. y Carnet, A. (1990). Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm Acta Helv*, 65: 315–320.
- Lee, K., Chang, Y., Kyung, W. y Yeul, J. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 4-8.
- Leidi, E. y Pardo, J. (2002). Tolerancia de los cultivos al estrés salino: qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 1: 70-74.
- Lichtenthaler, H. (1995). Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*, 148: 5.

- Luis, V., Vilagrosa, A., Llorca, M., Hernández, E. y Vallejo, V. (2008). Plasticidad morfológica y fisiológica en plantones de alcornoque, lentisco y pino canario inducidos por tratamientos de fertilización y sombreo. *Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 28: 214.
- Leitch, A. y Leitch, I. (2008). Genomic Plasticity and the Diversity of Polyploid Plants. *Science*, 320: 481-483.
- Leimu, R. y Fischer, M. (2008). A Meta-Analysis of Local Adaptation in Plants. *Plos medicine*, 3: 1-3.
- Lambers, H., F. Stuart and T. Pons, “*Assumptions and Approaches*”, Plant Physiological Ecology, Second Edition, Springer Science and Business Media, pág. 3-5, New York, U.S.A. (2008).
- Levitus, G., V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp y L. Mroginski, “*Obtención de plantas tolerantes a distintos tipos de estreses abióticos*”, Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II, primera edición, Argenbio e INTA, pag.519-520, Buenos Aires, Argentina (2010).
- Landon, J. (ed). “*Soil and water salinity and sodicity*”, Booker tropical soils manual, 1era edición, Pitman Press Limited, pag. 177, Gran Bretaña, Inglaterra (1984).
- Mohammedi, Z. y Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 1: 610.
- Martin, G. (2017). Los compuestos fenólicos: un acercamiento su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de investigación Agraria y Ambiental*, 1: 83-84.
- Malik, A. I., Colmer, T.D., Lambers, H., Setter, T. L. y Schortemeyer, M. (2002). Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytologist*, 153: 234-236.
- Martínez, I., Ros, G. y Periago, M. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50: 5-7.

- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M. y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*, 17: 277.
- Martínez, N., López, C., Basurto, M. y Pérez, R. (2011). Efectos por salinidad en el desarrollo vegetativo. *Tecnociencia Chihuahua*, 3: 156-157.
- Manzano, J. I., Rivera, P., Briones, F. y Zamora, C. (2014). Rehabilitación de suelos salino-sódicos: estudio de caso en el distrito de riego 086, Jiménez, Tamaulipas, México. *Terra Latinoamericana*, 32: 211-212.
- Medina, J. R., Mares, M. D., Valiente, J., Vásquez, M., Álvarez D. y Villar, E.. (2016). Total phenolic content, total flavonoids and antioxidant capacity of methanolic extracts from *Solanum ferrugineum* Jacq. (Solanaceae). *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 47: 1135-1144.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci*, 11: 15.
- Muñoz, A. M., Ramos, D., Alvarado, C. y Castañeda, B.. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73: 148.
- Maia, G. y Mendes, J. (2013). Toward a hierarchical concept of plant stress. *Plant Sciences*, 59: 30.
- Molina, M. (2008). Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales. *Ecosistemas*, 17: 148-150.
- Montes, S., Lalama, J., Echeverría, J. y Salazar, S. (2016). Factores bióticos y abióticos que influyen en la aclimatación de las vitroplantas en invernadero. *Dominio de las ciencias*. 2: 67.
- Moir, J. L. y Moot, J. (2010). Soil pH, exchangeable aluminium and lucerne yield responses to lime in a South Island high country soil. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 72: 191-194.

- Munns, R. y Teaster, M. (2018). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Plant Biology*, 59: 652-653.
- Morales, D., Rodríguez, P., Dell'Amico, J., Torrecillas, A. y Sánchez, M. (2006). Efecto de altas temperaturas en algunas variables del crecimiento y el intercambio gaseoso en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. CV. Amalia). *Cultivos tropicales*, 27: 45-48.
- Manzano, J., Rivera, P., Briones, F. y Zamora, C. (2014). Rehabilitación de suelos salino-sódicos: estudio de caso en el distrito de riego 086, Jiménez, Tamaulipas, México. *Terra Latinoamericana*, 32: 212-213.
- Moreno, L.P. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27: 179-182.
- Meinzer, F. C. (1978). Observaciones sobre la distribución taxonómica y ecológica de la fotosíntesis C4 en la vegetación del noroeste de Centroamérica. *Revista de Biología Tropical*, 26: 364-366.
- Muñoz, W., Chávez, W., Pabón, L. C., Rendón, M. R., Patricia-Chaparro, M. y Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *CENIC. Ciencias Químicas*, 46: 44-46.
- Moreno A. (ed). "Potasio", Elementos nutritivos. Asimilación, funciones, toxicidad e indisponibilidad en los suelos, primera edición, LibrosEnRed, pág. 18, (2007).
- Maldonado, M. (2012). *Tolerancia a la salinidad de especies dominantes en suelos salinos de maguey blanco*. Tesis de Grado, Dpto. Biología, Univ. Autónoma de México, Distrito Federal, México.
- Malbrán, A. (2018). Morfo-anatomía vegetativa en especies de *Jatropha* (Euphorbiaceae) con especial referencia a las estructuras secretoras. Tesis de post-grado, Universidad Nacional de Córdoba, facultad de ciencias exactas, físicas y naturales, Córdoba, Argentina.

- Molina, W. F. (2017). Comportamento Mecânico do Solo em Operações Agrícolas. Recuperado el 30 de marzo del 2018, https://www.researchgate.net/figure/Figura-31-Triangulo-textural-utilizado-para-determinacao-da-textura-do-solo-segundo_fig16_312584281.
- Naidoo, G., McKee, K. L. y Mendelssohn I. S. (1992). Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *American Journal of Botany*, 79: 768-770.
- Nawaz, T., Hameed, M., Ashraf, M., Batool, S. Y Naz, N. (2013). Modifications in root and stem anatomy for water conservation in some diverse blue panic (*Panicum antidotale* Retz.) ecotypes under drought stress. *Arid land research and management*, 27: 295-298.
- Nawazish, S., Hameed, M. y Naurin, S. (2006). Leaf anatomical adaptations of *Cenchrus ciliaris* L. from the salt range, Pakistan against drought stress. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 1726-1728.
- Nicotra, A., Atkin, O., Bonser, S., Davidson, A., Finnegan, E., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M., Richards, C., Valladares, F. y Van Kleunen, M. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Elsevier*. 15: 684-685.
- Nesterova, V., Nesterkinab, I., Rozentsveta, O., Ozolinab. N. y Salyaev, R. (2017). Detection of Lipid-Protein Microdomains (Rafts) and Investigation of Their Functional Role in the Chloroplast Membranes of Halophytes. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 476: 304.
- Oades, J. M. (1988). The retention of organic matter in soils. *Biogeochemistry*, 5: 35-37.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. y Lam-Son, P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 1: 3-5
- Olivera, R., Sanfilippo, N. y Monteiro, A. (2015). Anatomia folias de halófitas e psamófilas reptantes ocorrentes na restinga de ipitanfas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Rodriguésia*, 60: 333.

- Osakabe Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. y Tran, L. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5: 1-4.
- Ogburn, M. y Edwards, E. (2013). Repeated Origin of Three-Dimensional Leaf Venation Releases Constraints on the Evolution of Succulence in Plants. *Current Biology*, 23: 723-724.
- Olmedilla A., J.D. Ramírez y M. Rodríguez. (2010). Identificación histológica y ultraestructural de plantas C4 y CAM. En González, José Luis y Chueca, Ana. C4 y CAM características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas (pp 110-112). Madrid: CSIC.
- Ortíz, P. R. (2017). *Biología de El estrés en plantas*. Recuperado el 16 de enero de 2018, <http://www.infobiologia.net/2017/01/estres-plantas.html>.
- Parida, A. K., Das, A. B. y Mitra, B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees*, 18: 1721-174.
- Parés J., M. Arizaleta, M. Sanabria and G. García. (2008). Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomático y el grosor foliar en plantas de *Carica papaya* L. *Acta Botánica Venezolánica*. 31: 27.
- Prieto, P., Pineda, M. y Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.
- Pérez, N. y Jiménez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el Cultivo in vitro. *Revista Biotecnología vegetal*, 11: 197.
- Pérez, J., García, Y., Terrazas, L., Ramírez, C. y Ortega, H. M. (2013). Composición y caracterización química del suelo: indicadores de salinidad y sodicidad. En J.P. Perez-Díaz (Ed), XVII Congreso Nacional de Irrigación (pp 1-8). Puerto Vallarta, Jalisco, México.

- Perumalla, C. J. y Peterson, C. A. (1986). Deposition of Casparian bands and suberin lamellae in the exodermis and endodermis of young corn and onion roots. *Canadian Journal of Botany*, 64: 1875-1876.
- Parvaiz, A. y Satyawati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant soil environ*, 54: 89-90.
- Peleg, Z. y Blumwald, E. (2011). Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Elsevier*, 14: 290-292.
- Pérez, V. y Hermann, R. (2014). Anatomía foliar y caulinar de tres *Salicornieae* (Chenopodiaceae) halófilas argentinas. *φFYTON* 83: 374-376.
- Pire, R. y Valenzuela, I. (1995). Estimación del área foliar en *Vitis vinífera* L. 'French colombarde' a partir de mediciones lineales en hojas. *Revista Agronomía Tropical*, 45: 144.
- Poljakoff-Mayber, A. (1975). Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. En Poljakoff-Mayber, In *Plants in saline environments* (pp. 97-117). Berlin: Springer.
- Pourcel, L. y Grotewold, E. (2009). Participation of Phytochemicals in Plant Development and Growth. *Plant-derived Natural Products*, 1: 272-274
- Pulido, L. y González, J. (2009). Metodología para el diagnóstico, manejo y control de la salinidad, aplicada en el Distrito de Riego 038 Río Mayo, Sonora, México. *Ingeniería hidráulica en México*, 24: 55-56.
- Powrie, W. "Origin and classification of soils", Soil Mechanics concepts and applications, tercera edición, CRC Press Taylor and FrancisGroup, pág. 5-9, Boca Raton, E.U.A. (2014).
- Pagán, E. A. (2012). *Salsola oppositifolia* Desf. Recuperado el 28 de marzo del 2018, <http://www.biodiversidadvirtual.org/herbarium/Salsola-oppositifolia-Desf.-img201727.html>.

- Quintana C., Sanabria, M., Ojeda, M. y Valera, R. (2012). Efecto de la salinidad sobre la anatomía foliar y radical de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) 'española roja'. *Pittieria*, 36: 88-102.
- Reinoso, H., Sosa, L., Ramírez, L. y Luna, V. (2004). Salt-induced changes in the vegetative anatomy of *Prosopis strombulifera* (Leguminosae). *Canadian Journal of Botany*, 82: 618.
- Ruiz, O., Escaray, F., Pesqueira, J., Damiani, F., Paolocci, F. y Carrasco, P. (2007). Taninos condensados y antocianinas en el género *Lotus*: su relación con el estrés salino en especies forrajeras para zonas marginales. *Innovación y tecnología agroalimentaria*, 37: 113-121.
- Rejeb, I., Pastor, V. y Mauchi, B. (2014). Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*, 3: 459.
- Reyes-López, D., Quiroz-Valentín, J., Kelso-Bucio, H., Huerta-Lara, M., Avendaño-Arrazate, C. y Lobato-Ortiz, R. (2015). Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla*. *Agronomía Mesoamericana*. 26: 241-243.
- Rosabal, L., Martínez, L., Reyes, Y., Dell'Amico, J. y Núñez, M. (2014). Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. *Cultivos Tropicales*, 35: 24-25.
- Rodríguez, P., Torrecillas, A., Morales, M. A., Ortuno M. F. y Sánchez-Blanco, M. J. (2005). Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 118-123.
- Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1018-1019.
- Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Garcia, P. C., Lopez-Lefebvre, L. R., Sánchez, E. y Romero, L. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, 160: 319-321.

- Richards, L. (Edit). "Determination of the properties of saline and alkali soils", Diagnosis and Improvement of saline and alkali soils, 1er edición, United States department of agriculture, pág. 9, Washington, E.U.A (1969).
- Rabe, E. A. (2015). *La tolerancia de las plantas al estrés es parte de su evolución*. Recuperado el 02 de abril de 2018, <http://ww.santafe-conicet.gov.ar/la-tolerancia-de-las-plantas-al-estres-es-parte-de-su-evolucion/>.
- Salas, J. A., Pire, R. y Sanabria, M. E. (2001). Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro*, 13: 99-103.
- Said, H. A. y Omer, E. A. (2011). Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. *Herba Polonica Journal*, 57: 77-80.
- Singleton, V., Orthofer, R. y Lamuela, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299: 152-178.
- Siddiqui, M., Mohammad, F. y Nasir, M. (2009). Morphological and physio-biochemical characterization of *Brassica juncea* L.Czern. & Coss. genotypes under salt stress. *Journal of Plant Interactions*, 4: 67.
- Shannon, M.C. y Grieve C. M. (1999). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Journal Scientia Horticulturae*, 78: 7-11.
- Shao, H., Chu, L., Abdul, C. y Zhao, C. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Elsevier*, 331: 216.
- Shimamura, S., Mochizuki, T., Nada, Y. y Fukuyama, M. (2003). Formation and function of secondary aerenchyma in hypocotyl, roots and nodules of soybean (*Glycine max*) under flooded conditions. *Plant and soil*, 251: 351-353.
- Song, A. N. (2012). Evolusi fotosintesis pada tumbuhan. *Jurnal Ilmiah Sains*, 12: 31-33.

Souza, T. C., Magalhães, P. C., Pereira, F. J., Castro, E. M., Silva Junior, J. M. y Parentoni, S. M. (2010). Leaf plasticity in successive selection cycles of 'Saracura' maize in response to periodic soil flooding. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45: 20-24.

Sultana, B., Anwar, F. y Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14: 2175.

Sakai, A. and W. Lancher, "Low temperature and frost as environmental factors", Frost of survival of plants responses and adaptation to freezing stress, primera edición, Springer-Verlag, pág. 1-9, Berlín, Alemania (1987).

Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. (2002). *Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. Distrito federal, México: Diario Oficial de la Federación.

Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. (2002). *Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. Distrito federal, México: Diario Oficial de la Federación.

Secretaría de medio ambiente y recursos naturales, y secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. (2010). *Salinidad del suelo*. Nayarit, México: Folleto.

Song J. y Wang B. (2015). The halophyte *Suaeda salsa* for saline agriculture. *Annals of Botany*, 15: 545.

Taleisnik, E. y López, D. (2011). Leñosas perennes para ambientes afectados por salinidad. Una sinopsis de la contribución argentina a este tema. *Ecología austral*, 21: 4.

Torres, A.M., Nair, V., Cisneros, L. y Jacobo, D. A. (2014). Effect of exogenous amylolytic enzymes on the accumulation of chlorogenic acid isomers in wounded potato tubers. *Journal Agriculture Food Chemical*, 62: 7671-7675.

- Tai, F., Lv, S., Jiang, P., Wang, J., Feng, J. y Li, Y. (2017). Establishment of a gene function analysis system for the euhalophyte *Salicornia europaea* L. *Plant Cell Reports*, 2.
- Teixeira, P., Lelis, P., De Barros, N. y Ferreira De Novais, R. (1995). Nutrición potásica y relaciones hídricas en plantas de *Eucalyptus* spp. *BOSQUE* 16: 63-64.
- Taiz, L. y E. Zeiger, “*Transporte del agua a través del xilema*”, Fisiología vegetal, primera edición, Universitat Jaume I., pág. 91-93, Castello de la plata, España (2006).
- Upchurch, R.G. (2008). Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology Letters*, 30: 967.
- Upadhyaya, H., Kumar, S. y Kumar-Dutta, B. (2008). Variation of physiological and antioxidative responses in tea cultivars subjected to elevated water stress followed by rehydration recovery. *Acta Physiology Plant*, 30: 457-458.
- Valenti, G. S., Melone, L., Orsi, O. y Riveros, F. (1992). Anatomical changes in *Prosopis cineraria* (L.) Druce seedlings growing at different levels of NaCl salinity. *Annals of Botany*, 70: 401-404.
- Vaibhav, T., Tiwari, K. N. y Singh, B. D. (2000). Suitability of liquid cultures for in vitro multiplication of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *Phytomorphology*, 50: 339-341.
- Villa, M., catalán, E., Inzunza, M. A. y Ulery, A. L. (2006). Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de Chile fertilizadas. *Fitotecnia Mexicana*, 29: 79-87.
- Vinocur, B. y Altaman, A. (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Elsevier*, 16: 123-124.
- Villagra, P., Giordano, C., Alvarez, J., Cavagnaro, J., Guevara, A., Sartor, C., Passera, C. y Greco, S. (2011). Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte central de Argentina. *Ecología Austral*, 21: 29.
- Volkmar, K., Y. Hu y Steppuhn, H. (2019). Physiological responses of plants to salinity: A review. *Canadian Journal Plant Science*, 1: 20-22.

- Valla, J., "Estomas", Morfología de las plantas superiores, editorial hemisferio sur, pág. 103-104, Buenos Aires, Argentina (2005).
- Wang, W., Vinocur, B. y Altman, Y. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Springer-Verlag*, 218: 1-10.
- Wilson, R. y Franklin, C. (2002). Testing the beneficial acclimation hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 17: 66.
- Wahid, A., Gelani, B., Ashraf, M. y Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61: 220-221.
- Werker, E. (2000). Trichome diversity and development. *Advances in Botanical Research*, 1: 6-7.
- Waśkiewicz, A., Muzolf-Panek, M. y Goliński, P. (2013). Phenolic content changes in plants under salt stress. In *Ecophysiology and responses of plants under salt stress* (pp. 300). Springer, New York, NY.
- Wahid, A. (2007). Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *Journal of plant Research*, 120: 225-227.
- Yeo, R. (2011). Bakau Pasir (*Rhizophora stylosa*). Recuperado el 28 de marzo del 2018, <http://tidechaser.blogspot.mx/2011/11/bakau-pasir-rhizophora-stylosa.html>.
- Zlatev, Z. y Cebola, F. (2012). An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Journal Food & Agriculture*. 24: 59.
- Zúñiga, O., Osorio, J., Cuero, R. y Peña, J. (2011). Evaluación de Tecnologías para la Recuperación de Suelos Degradados por Salinidad. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64: 5769-5770.