



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Trabajo Final de Intensificación

**SUPERVIVENCIA Y DESARROLLO AÉREO Y RADICAL
DE CLONES DE SAUCE Y ÁLAMO BAJO ESTRÉS
SALINO**

Victoria Torraca Argüelles

Docente Tutor: Mg. Luis Alberto Caro

Docente Asesor 1: Mg. María Verónica Rosetti

Docente Asesor 2: Dr. Luis Francisco Hernández

Bahía Blanca

Argentina

2024

Agradecimientos

A mi familia, en especial a mis papás Patricia y Walter para los que no tengo palabras que alcancen para agradecerles la forma en que nos criaron, acompañaron y apoyaron en todo lo que nos hemos propuesto. Gracias por el infinito amor, contención, felicidad y oportunidades que recibimos durante toda la vida, todo lo que soy y son mis hermanos es gracias a ustedes.

A mis hermanos Juan Emilio y Rocio. Que han sido mis pilares en la vida, mis amigos y compañeros, no puedo creer la suerte que tengo de tenerlos y lo feliz y divertida que es mi vida gracias a ustedes.

Un apartado especial para Rocio que además de mi hermana fue mi compañera durante toda esta carrera, y hacer este camino a la par fue uno de los mayores privilegios y alegrías de la vida.

A mis amigos que son mi familia.

A Luis C, Luis H y Vero que además de acompañarme, aconsejarme y trabajar a lo largo de todo este ensayo, me dieron la oportunidad, y tuve la suerte, de trabajar en conjunto durante varios años y en diversas materias de la carrera, por los que además pude conocerlos y ver el amor y dedicación con la que se desempeñan en la docencia el cual es inspirador.

Al Departamento de Agronomía que me brindo muchísimo más que una educación de prestigio, me dio oportunidades y experiencias que nunca pensé ni imaginé que iba a tener en la vida. Y por haber hecho de este camino uno increíble.

A la Universidad Nacional del Sur por la educación de excelencia, por la oportunidad de formarme y ser parte de esta institución además de como alumna como docente, mi corazón está atado por siempre a este lugar.

Gracias eternas a la UNIVERSIDAD PUBLICA NACIONAL que es uno de los grandes orgullos y privilegios que tenemos.

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
SALINIDAD	6
SALINIDAD EN ARGENTINA	7
SALICÁCEAS.....	7
EFECTO DE LA SALINIDAD EN ESPECIES PERENNES	8
EFECTO DE LA SALINIDAD A NIVEL ANATÓMICO.....	10
OBJETIVOS.....	12
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS PARTICULARES	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
ENSAYO PRELIMINAR	13
ENSAYO DEFINITIVO	15
DISEÑO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
SUPERVIVENCIA DE CLONES	19
EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE VARIABLES MORFOLÓGICAS EN LOS ÓRGANOS VEGETALES.....	22
A) BROTACIÓN.....	22
A-1) NÚMERO DE BROTES POR ESTACA.....	22
A-2) LONGITUD DE BROTES.....	24
B) RAÍCES	25
B-1) NÚMERO DE RAÍCES	25
B-2) PESO SECO	27
B-3) LONGITUD DE RAÍCES	28
C) HOJAS	30
C-1) NÚMERO DE HOJAS.....	30
C-2) PESO SECO	31
CONCLUSIONES	46
BIBLIOGRAFÍA	47

RESUMEN

La salinidad en el suelo y en el agua, junto con la sequía, es una de las principales causas de estrés abiótico que afecta el establecimiento, el crecimiento, la producción de biomasa y la supervivencia de las plantas. A nivel mundial más de 833 millones de ha son afectadas por salinidad, representando el 8,7% de la superficie del planeta. Los ejemplos más notorios de salinidad ocurren en zonas áridas y semiáridas. Argentina es uno de los países con mayor problemática de esta índole en suelos. Frente a esta situación se busca encontrar especies tolerantes a este estrés. Se estudió en este caso el comportamiento de ejemplares de la familia Salicáceas, la cual se compone de especies de rápido crecimiento y fácil propagación, presentando una plasticidad que les permite prosperar bajo una variada gama de condiciones climáticas y edáficas.

El ensayo se realizó utilizando clones de *Salix sp.* seleccionados provenientes del Programa de Mejoramiento Genético de Sauce de la Estación Forestal INTA Delta del Paraná, y un clon catalogado como resistente a salinidad. Además, se estudió el comportamiento de un clon de *Populus deltoides*. Los clones fueron cultivados en estacas utilizando como sustrato perlita y se los sometió a un tratamiento de riego salino bajo condiciones controladas en invernadero, regando durante 6 semanas con soluciones de NaCl a concentraciones de: 0 mEq/l, 50 mEq/l (2,95 g/l), 100 mEq/l (5,9 g/l), 150 mEq/l (8,8 g/l) y 200 mEq/l (11,8 g/l). Se determinó la supervivencia de los clones frente al estrés salino evaluándola en cuatro momentos: a los 21, 28, 35 y 42 días. Una vez finalizado el ensayo, en cada estaca sobreviviente se contabilizó el número y la longitud de brotes, de hojas y de raíces y se determinó la biomasa seca (g) de raíces y hojas. Asimismo, se reservó una muestra de raíces, hojas y brotes de cada clon sobreviviente y de cada tratamiento para el posterior estudio histológico donde se midió el espesor de la cutícula, de los tejidos epidérmicos y parenquimáticos y se registraron todas las observaciones anatómicas necesarias.

Los clones de *Salix sp.* se comportaron bajo condiciones de salinidad intermedia (50 mEq/l) como una buena alternativa de cultivo, puesto que todos sobrevivieron y mostraron adaptación bajo dichas condiciones. Se destaca que dos de los clones de *Salix sp.* (LA y 524-50) y el clon de *Populus deltoides* (129-60) sobrevivieron a una concentración de 100 mEq/l.

Se considera al clon de *Salix sp.* LA como una buena alternativa de plantación en condiciones de salinidad elevada ya que fue el que mejor desempeño obtuvo en los parámetros morfológicos estudiados. En cuanto a la evaluación histológica se encontraron resultados interesantes en este clon como por ejemplo el aumento en el diámetro de la corteza radical y en el espesor del tejido vascular a medida que aumentaba la concentración salina de los tratamientos dado que estos son resultados que se esperan en especies aclimatadas a ambientes salinos.

INTRODUCCIÓN

SALINIDAD

La salinidad es la concentración de sales solubles presentes en la solución del suelo que ingresan al sistema suelo-planta y se acumulan como resultado de la evaporación edáfica y transpiración vegetal (Lamz Piedra y Gonzáles Cepero, 2013). Estos procesos pueden darse de forma natural (suelos pobremente drenados, topografía baja, climas áridos, condición de salinidad debido a la meteorización de la roca madre), o por acción antrópica a través del uso de fertilizantes y/o agua de riego con alta concentración salina y debida a cambios de la vegetación natural en ambientes áridos y semiáridos (Lamz Piedra y Gonzáles Cepero, 2013).

La salinidad en el suelo y el agua, junto con la sequía, es una de las principales causas de estrés abiótico que afectan el establecimiento, el crecimiento, la producción de biomasa y la supervivencia de las plantas y la producción de grano, disminuyendo así el rendimiento general del cultivo (Agarwal *et al.*, 2006; Arzani, 2008). Los suelos se consideran salinos cuando alcanzan una conductividad eléctrica de 4 dS/m (Taleisnik y López Launestein, 2011). Uno de los mecanismos de acción de la alta concentración de sales es la reducción de la disponibilidad del agua presente para las plantas, debido a la disminución del potencial hídrico del suelo (García *et al.*, 2008). El rendimiento de los cultivos se ve reducido cuando el contenido total de sales en la solución del suelo se incrementa de tal manera que dificulta la extracción de agua desde las raíces, provocando distintos síntomas como sequía fisiológica, engrosamiento de hojas, viraje de coloración de follaje a verde azulado, quemaduras localizadas en la zona apical, bordes y parénquima internerval de las hojas (Barriga Nito, 2019).

Otra causa de salinidad es la derivada por los excesos de iones a niveles tóxicos para las plantas y por el desbalance nutricional que estos causan (Martin y Vila, 2013; García *et al.*, 2008). Los principales iones involucrados en la salinización de los suelos son Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} y HCO_3^- (Richard, 1967; Martin y Vila, 2013) formando sales de diversa solubilidad mediante su combinación.

Concentraciones altas de sodio y bajas de calcio en suelo y agua reducen la infiltración disminuyendo el agua disponible para los cultivos. Excesiva presencia de iones sodio, cloro y boro se acumulan en elevadas concentraciones hasta llegar a causar toxicidad en los cultivos. Los efectos nocivos de la salinidad sobre el crecimiento de las

plantas son asociados con el bajo potencial hídrico del medio de raíces lo que provoca un déficit hídrico dentro de la planta; toxicidad causada por el efecto de los iones, principalmente Na^+ y Cl^- y desequilibrio nutricional causado por la reducción de la absorción y transporte de nutrientes (Arzani Amhad, 2008).

A nivel mundial más de 833 millones de hectáreas son afectadas por salinidad, representando el 8,7% de la superficie del planeta (FAO, 2008). Los ejemplos más notorios de salinidad ocurren en zonas áridas y semiáridas. Argentina junto con Irán, Pakistan, Australia y Egipto, es uno de los países con mayor problemática de esta índole en suelos (Arzani Ahmad, 2008). El 50 % de los suelos irrigados en todos los continentes son afectados por salinidad, impactando negativamente en la producción de alimentos para más de 1.500 millones de personas (FAO, 2008).

SALINIDAD EN ARGENTINA

En Argentina el 27% de la superficie edáfica es salina, sódica o salina-sódica, considerando el horizonte de 0-30 cm, y al tener en cuenta una profundidad de horizonte entre 30-100 cm el 38,2 % de la superficie se encuentra afectada por la salinidad. En otras palabras, aproximadamente 70 millones de hectáreas se encuentran afectadas en algún grado por salinidad y al menos 600.000 hectáreas de suelos irrigados bajo climas áridos y semiáridos se observan afectados por acción antropogénica (Tozzi *et al.*, 2017).

A nivel nacional se citan con problemática las regiones fitogeográficas Pampeana, Chaqueña (Chaco, Formosa y Santiago del Estero) y del Monte, principalmente la provincia de Mendoza (Taleisnik y López Launestein, 2011) El número de hectáreas afectadas por la salinización a nivel nacional aumenta entre 0,25-0,50 millones de hectáreas por año.

SALICÁCEAS

Las Salicáceas comprenden una familia botánica de especies arbóreas y arbustivas pertenecientes al orden Salicales y que presentan una amplia distribución mundial natural en climas templados y subtropicales, exceptuando el continente Oceánico donde no hay registro de la existencia natural de esta familia (Aperlo *et al.*, 2023). Las Salicáceas se componen de especies de rápido crecimiento y fácil propagación agámica, presentando una plasticidad que les permite prosperar bajo una variada gama de condiciones

climáticas y edáficas (Cerrillo *et al.*, 2015) a su vez poseen una fácil implantación, alta capacidad de rebrote y posibilidad de consociarse con otros cultivos para la producción agroforestal (Borodowsky, 2017; Luquez *et al.*, 2022). Esta capacidad de adaptación, sumada a la diversidad de productos y servicios que ofrecen, justifica la extensiva utilización mundial de estas especies.

En Argentina, las Salicáceas son el tercer grupo mayoritario de especies elegidas para la producción forestal (Borodowsky, 2017), después de los pinos y eucaliptos. Los principales representantes de esta familia son los géneros *Populus* (álamos) y *Salix* (sauces). El 90% de la producción de estas especies se sitúa en el Delta, utilizándose principalmente en la industria maderera y papelera. Además, sus maderas son aptas para la elaboración de productos con valor agregado como vigas multi laminadas, tableros alistonados, pisos y muebles (Borodowsky, 2017). También es factible la utilización de madera para bioenergía, y se cita su uso en servicios ambientales como fitoremediación, en sistemas silvopastoriles y utilización apícola, medicinal y alimenticia (Cerrillo *et al.*, 2015; Luquez *et al.*, 2022; Aperlo *et al.*, 2023).

Los sauces son especies capaces de crecer bajo condiciones de sequía, ambientes salinos (Hangs *et al.*, 2011; Quiñones *et al.*, 2014), arenosos y estériles (Quiñones *et al.*, 2014). El estrés salino es un grave impedimento para la agricultura y silvicultura. Dado que pocas especies son halófitas, los sauces se convierten en una alternativa de cultivo viable en zonas marginales, permitiendo el uso agroforestal en suelos de escasa aptitud agrícola. Así mismo, tienen el potencial de ser usados en la restauración de áreas degradadas (Mirck y Zalesny, 2015) y pueden catalizar el desarrollo de nuevos sistemas de producción en los ecosistemas áridos argentinos (Quiñones *et al.*, 2014). En ambientes semiáridos con napas fluctuantes es importante utilizar especies forestales con capacidad de tolerar salinidad y alternancia al anegamiento y sequía para lograr una implantación a raíz profunda.

EFFECTO DE LA SALINIDAD EN ESPECIES PERENNES

En general en plantas perennes la supervivencia dependerá de cuan eficiente pueden mantenerse los distintos mecanismos de tolerancia a lo largo del tiempo. Como ejemplo puede citarse el comportamiento de las hojas más viejas que tienden a acumular tantos tóxicos que provocan su muerte. Una estrategia de tolerancia puede basarse en la alta renovación de follaje, por hojas de menor tamaño y mayor grosor (mayor masa por

unidad de área) y una coloración más oscura con respecto a los ejemplares libres de estrés debido a un aumento en la cantidad de cloroplastos por unidad de área (Munns y Harvey Millar, 2023).

El primer efecto notorio de salinidad en el desarrollo de las plantas es la disminución del crecimiento general causado por la disminución del potencial osmótico en la solución del suelo a un nivel por debajo del necesario para la absorción de agua por las células de la raíz impidiendo así la expansión celular, ya que el potencial de presión de la célula tiende a equipararse con el del suelo (Barriga Nito, 2019).

El exceso de sales en la zona radical puede resultar en la reducción de la longitud y cantidad de raíces ejerciendo efectos adversos en el crecimiento y desarrollo de la planta (Shannon y Grieve, 1999; Barriga Nito, 2019). La hipótesis que mejor explica este hecho es que el efecto perjudicial de los altos niveles de sal en el ambiente externo a las raíces disminuye la capacidad de la planta para absorber agua y nutrientes, con la consecuente reducción en la cantidad de nutrientes disponibles para ser translocados a otros órganos, lo que conlleva a un menor desarrollo y crecimiento de las plantas. En resumen, se pueden citar tres mecanismos de tolerancia a la salinidad: tolerancia al estrés osmótico (absorción de agua independiente del grado de acumulación de Na^+), exclusión de Na o Cl y tolerancia del tejido al Na o Cl acumulado mediante la compartimentación de iones tóxicos en tejidos, células y organelas específicos (Munns y Tester, 2008; Arzani, 2008; Negrao *et al.*, 2017).

En la actualidad, existe escasa bibliografía referida a la tolerancia a la salinidad en Salicáceas, es por esta razón que se utilizan experiencias de ensayos en familias distintas para poder determinar los extremos de tolerancia en especies perennes leñosas. En un ensayo donde se evaluó la tolerancia de distintos clones de sauces a la salinidad, se evidenció que éstos resistieron moderada salinidad (CE: 5,0 dS/m) e incluso algunos clones presentaron escasa reducción en el crecimiento bajo condiciones severas de salinidad (CE: 8 dS/m) (Hangs *et al.*, 2011). Otros ensayos realizados en *Salix sp.* presentaron disminución en el largo de raíces en concentraciones moderadas (CE:4,8dS/m) y altas de salinidad (CE:10,5 dS/m) (Quiñones *et al.*, 2014).

Experiencias en *Vitis sp.* arrojaron tolerancia de ciertos clones a riegos con solución de NaCl 100 mM. Sin embargo, se demostró que el riego con agua salina afecta la expresión vegetativa, disminuye el área foliar, el crecimiento de los brotes y el número de hojas. A su vez, a nivel celular se pierde la integridad de las membranas, y se produce

muerte de células por deshidratación o acumulación de iones tóxicos en el citoplasma (Martin y Vila, 2003).

En caña de azúcar (*Saccharum sp.*) la tolerancia a la salinidad se refleja en los mecanismos adaptados por la planta para minimizar el efecto osmótico, limitando la absorción de agua y disminuyendo la vulnerabilidad a niveles de iones tóxicos de Na y Cl (Oliveira *et al.*, 2018). Este estudio data menor área y longitud foliar, menor longitud y cantidad de raíces, así como también menor biomasa total a medida que aumenta la concentración salina de los tratamientos.

EFFECTO DE LA SALINIDAD A NIVEL ANATÓMICO

Una forma de contrarrestar la salinidad en las estructuras vegetativas es la inducción de cambios a nivel anatómico. Las modificaciones morfológicas y anatómicas más comunes observadas en los distintos órganos y tejidos vegetales ante el estrés por exceso de salinidad incluyen la succulencia, la modificación de la densidad estomática (Salas *et al.*, 2001; Benavides *et al.*, 2004), el desarrollo de parénquima acuífero y la presencia de cristales en los tejidos (Salas *et al.*, 2001; Apóstolo, 2005; Céccoli *et al.*, 2011), cambios en la pared celular (Ramos *et al.*, 2004) y en el grosor de la cutícula (Poblete *et al.*, 1991).

El órgano que se expone directamente al exceso de sales es la raíz, por lo que se asume que los cambios estructurales más notorios inducidos por salinidad parecerían ocurrir en él. Uno de los mecanismos que se cree utilizan las raíces es el impedimento del ascenso de sales al tallo por medio de la retención o disminución de la absorción de agua (García *et al.*, 2011). La principal diferencia anatómica entre especies halófitas (adaptadas a la salinidad) y glicófitas (aclimatadas a ambientes salinos) está vinculada con la relación ancho de la banda de Caspary/ancho de las paredes radiales de la endodermis, número de estratos de la corteza y área superficial de los elementos del metaxilema en sección transversal (García *et al.*, 2011). La presencia de una exodermis con paredes suberizadas debajo de la rizodermis, incremento en el espesor de la corteza y diámetro de la médula, así como aumento en el grado de vacuolización de los tejidos de la corteza y la médula, son otros cambios anatómicos observados en raíces de especies halófitas (García *et al.*, 2011).

Ensayos realizados en caña de azúcar, demostraron iniciación precoz de raíces laterales, diferenciación temprana y desarrollo más conspicuo de la banda de Caspary en

exodermis y endodermis, y deposición de suberina en células del parénquima cortical, como respuesta anatómica a las diferentes concentraciones de sal (García *et al.*, 2011). Además de desarrollo de mayor número de vacuolas en uno de los clones evaluados lo que indica una mayor capacidad de retención de sales (García *et al.*, 2011).

La hoja tradicionalmente se ha considerado un órgano de importancia en lo que respecta a la regulación de los niveles de sales en la planta, diversas adaptaciones foliares como la succulencia, el desarrollo de glándulas secretoras de sal, la presencia de modificaciones en la cutícula de la lámina, así como la deposición de cristales en los tejidos, contribuyen a contrarrestar el exceso de sales (García *et al.*, 2008).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia a la salinidad de clones de *Salix sp.* y un clon de *Populus* para visualizar el potencial de su implantación en ambientes salinos y alcalinos, con el fin de incrementar su cultivo en áreas con problemas de halo-hidromorfismo.

OBJETIVOS PARTICULARES

Utilizando concentraciones crecientes de NaCl en el agua de riego de clones de *Salix sp.* y un clon de *Populus deltoides*:

- Medir la resistencia a la salinidad y el crecimiento inicial de raíces.
- Evaluar la supervivencia y desarrollo aéreo de las estacas.
- Comparar y determinar cambios morfológicos en la anatomía foliar y radical.
- Aportar detalles sobre anatomía del tallo de *Salix sp.* y *Populus deltoides* desarrollados bajo estas condiciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

ENSAYO PRELIMINAR

Los ensayos *in vitro* son un sistema ideal para caracterizar la genética potencial de las especies leñosas, ya que se pueden llevar a cabo en condiciones controladas con espacio y tiempo limitados. Estos ensayos proporcionan información acerca de las respuestas fisiológicas, anatómicas y bioquímicas de las especies, especialmente si la respuesta inducida *in vitro* imita la respuesta de la planta *in vivo* expuesta a una situación de estrés similar.

Con el objetivo de evaluar la tolerancia a la salinidad de clones de *Salix sp.* y un clon de *Populus deltoides*, se realizó un ensayo preliminar compuesto de 3 etapas. Dentro de los clones de *Salix sp.* empleados se encuentra el *Salix matsudana* Koidtz x *Salix alba* L. “524-50”, que es un material catalogado como resistente a la salinidad, de uso regular y utilizado en áreas marginales. Además, se utilizaron los clones *S. matsudana* Koidtz x *S. alba* L. “Los Arroyos” (LA), *Salix alba* L. “Yaguareté” (YA), *S. matsudana* Koidtz x *S. alba* L. “Carapachay” (CA), *S. matsudana* Koidtz x *S. alba* L. “Agronales” (AG) y *Salix matsudana* Koidtz “Géminis” (GE); desarrollados en el Programa de Mejoramiento Genético de Sauce de la Estación Forestal INTA Delta del Paraná, donde ensayos evaluativos indican que poseen buena tolerancia al anegamiento (Cerrillo, 2012; 2014; 2015). Por otro lado, el clon del género *Populus* utilizado fue *Populus deltoides* “Australiano” 129-60. Todos los materiales genéticos fueron provistos por la Estación Forestal INTA 25 de Mayo.

Los clones LA, AG, GE, YA y CA se utilizan en sistemas silvopastoriles. En cuanto a la utilización de sus maderas, estos clones están adaptados al uso de doble propósito para aserrado y fabricación de pasta de papel. A su vez, los clones LA, GE y AG se utilizan para servicios ambientales, como restauración de canteras, tratamientos complementarios de efluentes e instalación de cortinas forestales. En apicultura, YA y AG son utilizados por presentar una alta producción de polen.

La primera etapa del ensayo preliminar consistió en probar una metodología sencilla de enraizamiento de los clones utilizando brotes de 1 cm de diámetro. Estos brotes fueron desinfectados con caldo bordelés al 1% e hipoclorito de sodio al 1% y puestos a enraizar directamente en frascos con solución de agua destilada a diferentes concentraciones de NaCl. Los tratamientos fueron los siguientes: Control: 0 mEq/l (solo

agua destilada); 25 mEq/l (1,47 g/l); 50 mEq/l (2,95 g/l); 75 mEq/ (4,42 g/l) y 100 mEq/l (5,9g/l). Como resultado de este ensayo, no se obtuvo enraizamiento de los vástagos en ninguno de los tratamientos, incluido el control, por lo que se puede intuir que el contacto directo previo con el fungicida y la lavandina, sumado a la concentración de sales de las soluciones, provocó la inhibición del enraizamiento por un fuerte daño en el tejido.

Durante la segunda etapa, se perfeccionó la técnica desinfectando previamente con alcohol 70% y agua destilada durante 5 minutos, y luego se sumergieron directamente en las soluciones salinas previamente descritas. Como resultado de esta prueba, solamente sobrevivieron los tratamientos control.

Debido a los resultados obtenidos en las dos etapas anteriores, se realizó una tercera prueba exploratoria utilizando perlita como sustrato (Fig. 1), en donde las estacas de los clones utilizado en esta prueba fueron regadas con las soluciones salinas iniciales previamente descritas. El objetivo de utilizar perlita fue no exponer los vástagos directamente sobre las soluciones salinas. En esta etapa, sobrevivieron todos los clones del tratamiento Control; y los clones 524-50 y AG expuestos a la concentración de 25 mEq/L. Debido a que prácticamente no se observó enraizamiento en ninguno de los clones durante las tres etapas del ensayo, se puede definir que, en términos generales, ante las concentraciones de salinidad elegidas para el presente experimento, los clones de los géneros *Salix sp.* y *Populus deltoides* utilizados requieren cierto grado de adaptación previa. Es por esto, que se decidió realizar un ensayo final con ciertas modificaciones. En el mismo, se utilizó un sustrato inerte, perlita, para evitar el aporte de nutrientes al tratamiento salino. A su vez, previo a la exposición de las estacas a los diferentes tratamientos, se regaron agua de red durante 20 días con el objetivo de lograr el enraizamiento.



Figura 1. Ensayo preliminar *in vitro* en donde se observan las estacas de los clones de *Salix sp.* utilizados en este trabajo en recipientes con sustrato perlita y sometidos a distintas concentraciones salinas.

ENSAYO DEFINITIVO

La experiencia se llevó a cabo en las instalaciones del invernadero perteneciente al Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (UNS), ubicado en la localidad de Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Los clones de *Salix sp.* y *Populus deltoides* empleados fueron los mismos que se utilizaron en los ensayos preliminares. El material fue fraccionado en estacas de 20 - 25 cm de longitud, con un mínimo de 4 yemas laterales y se desinfectaron en sumersión en alcohol 70% y agua durante 5 min. La plantación se realizó en macetas de 1 L, colocándose 2 estacas por maceta y un total de 4 estacas por tratamiento. El riego se realizó de manera automatizada con agua de red durante 20 días. Luego, los ejemplares se podaron hasta dejar un remanente de 2 - 3 brotes por vástago (Fig. 2) y se inició el tratamiento de estrés salino utilizando soluciones de agua destilada y distintas concentraciones de NaCl. Las concentraciones iniciales utilizadas para el riego fueron las mismas que para los ensayos preliminares: Control: 0 mEq/l (solo agua destilada); 25 mEq/l (1,47 g/l); 50 mEq/l (2,95 g/l); 75 mEq/l (4,42 g/l) y 100 mEq/l (5,9g/l). Todas las macetas se regaron con 80 ml de dichas soluciones cada 48 horas durante 15 días.

Trascurridos los 15 días iniciales, y considerando que todos los clones se encontraban en buenas condiciones, se decidió duplicar a partir del día 16 la concentración de sales, obteniendo así los nuevos tratamientos: Control: 0 mEq/l; 50

mEq/l (2,95 g/l); 100 mEq/l (5,9 g/l); 150 mEq/l (8,8 g/l) y 200 mEq/l (11,8 g/l). Se continuó regando cada maceta con 80 ml cada 48 horas durante 28 días, obteniendo así un ensayo final de 42 días de duración (Fig. 3).



Figura 2. Recipientes con estacas de clones de sauce y álamo al comienzo del ensayo definitivo.



Figura 3. Estado general de los clones de sauce y álamo luego de 42 días de ensayo.

En los diferentes tratamientos, se midió la conductividad eléctrica (CE) en dS/m de las soluciones, arrojando los siguientes resultados: CE Control (0 mEq/L): 0 dS/m; CE 50 mEq/L: 6,78 dS/m; CE 100 mEq/L: 12,36 dS/m; CE 150 mEq/L: 16,46 dS/m y CE

200mEq/L. Esta última concentración de ClNa superó los 20 dS/m, por lo que no fue leído por el conductímetro utilizado.

Durante el ensayo, se determinó la supervivencia de los clones frente al estrés salino evaluándola visualmente en cuatro momentos a partir de que se duplicaron las concentraciones salinas: a los 21, 28, 35 y 42 días.

Una vez culminado el ensayo, en cada estaca sobreviviente se contabilizó el número y la longitud de brotes, de hojas y de raíces. Además, se determinó la biomasa seca (g) de raíces y hojas, mediante secado en estufa durante 48 h a 60 °C y posterior pesado en balanza analítica con una precisión de 0,001 g.

Todo el experimento fue registrado semanalmente a través de fotografías, con el propósito de observar los cambios visualmente significativos en las estacas de las especies utilizadas. Asimismo, se reservó una muestra de raíces, hojas y brotes de cada clon sobreviviente y de cada tratamiento para el posterior estudio histológico. Dichas muestras fueron conservadas en solución fijadora FAA: 10% formol, 5% ácido acético glacial, 50% alcohol etílico (ETOH) y 35% agua destilada, para posteriormente procesarlas de acuerdo a las técnicas convencionales de corte y coloración (Ruzin, 1999). En el laboratorio, las muestras fijadas fueron deshidratadas en una serie de alcoholes, comenzando con concentraciones ascendentes: 20%, 35% y 50% ETOH; y continuada por una serie ascendente de alcohol ter-butílico (TBA) con agua destilada, ETOH 96° y ETOH absoluto, en las siguientes proporciones: TBA-1 (1:5:4:0), TBA-2 (2:3:5:0), TBA-3 (3,5:1,5:5:0), TBA-4 (5,5:0:4,5:0) y TBA-5 (7,5:0:0:2,5; Ruzin, 1999). Posteriormente, las muestras fueron incluidas en parafina (Paraplast®, Leica) y se introdujeron en cazoletas de papel de aluminio formando bloques rectangulares. Dichos bloques se tallaron formando un trapecio isósceles y se pegaron en un taco de madera. Luego se procedió a realizar cortes transversales de 8-10 µm de espesor con micrótopo rotatorio tipo Minot (Jung, Alemania). Los cortes se montaron en portaobjetos, se fijaron con adhesivo de Haupt (Johansen, 1940) y se estiraron en placa caliente a 45 °C durante 72 h. Una vez adheridos los cortes al portaobjeto, se realizó una coloración diferencial, utilizando safranina y verde rápido (Ruzin, 1999); para luego cubrirlos con bálsamo de Canadá natural (Sintorgan®) y cubreobjeto de vidrio. Las observaciones, mediciones y registros fotográficos de los cortes se realizaron con un microscopio Nikon Labophot-2 provisto de cámara fotográfica digital y micrómetro ocular.

Utilizando las imágenes digitales obtenidas de las secciones transversales de raíces, tallos y hojas con el software ImageJ (Rasband, 2011) se midió el espesor de la cutícula, de

los tejidos epidérmicos y parenquimáticos y se registraron todas las observaciones anatómicas necesarias.

DISEÑO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El diseño experimental utilizado consistió en un diseño balanceado completamente aleatorizado, con siete clones y tres tratamientos salinos como variables de clasificación, y cuatro estacas (réplicas) por combinación de dichas variables.

Los datos obtenidos se analizaron mediante Análisis de la Varianza (ANDEVA) doble. En el caso de encontrarse diferencias significativas entre tratamientos, se realizaron comparaciones de medias poblacionales con la prueba de diferencia mínima significativa (DMS), con probabilidad de error $p=0,05$ (Di Rienzo *et al.*, 2020). Para realizar dichos análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.*, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo de tesis se exponen los resultados obtenidos en los brotes, hojas y raíces de las concentraciones salinas donde se observaron especies sobrevivientes. Durante el análisis estadístico de todas las variables morfológicas se observó interacción entre los clones y las concentraciones salinas ($p < 0,05$), por lo que se particionó las variables analizadas para su análisis estadístico por cada clon. A lo largo de esta sección se considera a la concentración 0 mEq/l como Control, 50 mEq/l como concentración Media y 100 mEq/l como Elevada.

SUPERVIVENCIA DE CLONES

Durante los primeros quince días de iniciado el ensayo, se regaron todos los tratamientos con una concentración salina reducida a la mitad de la concentración final, a modo de adaptación de las plantas. Con estas concentraciones salinas iniciales más bajas solo se observó una clorosis leve en todos los clones (Fig. 4), no manifestando necrosis en los tejidos de ninguna planta. Pasado ese período de adaptación, y al duplicar las concentraciones salinas, se comenzaron a evidenciar signos de necrosis total en algunas plantas recién a los 28 días (Fig. 5). Una vez modificadas las soluciones salinas, los signos observados en las plantas fueron moteado foliar en los clones de *Populus* y desecación y abscisión foliar y necrosis de tallo en los clones de *Salix sp.*

Durante los primeros 21 días todos los clones sobrevivieron, incluso a la mayor concentración salina. Pero, a partir del día 28 algunos clones comenzaron a necrosarse, siendo el clon AG el más afectado por la máxima concentración salina (200 mEq/L), presentando las estacas una mortandad del 100%. Transcurridos 35 días de ensayo, se observó mortandad total en los tratamientos 150 mEq/L y 200 mEq/L en el resto de los clones de sauce y en álamo (Tabla 1)



Figura 4. Clorosis evidenciada en los tratamientos salinos durante el período inicial de adaptación de las estacas de *Salix sp.*



Figura 5. Necrosis evidenciada en el tratamiento salino 150 mEq/l durante los primeros 28 días de ensayo en las estacas del clon YA

Tabla 1. Supervivencia (%) registrada en cada clon (LA: Los arroyos, 524-50, CA: Carapachay, YA: Yaguareté, GE: Génesis, AG: Agronales y álamo 129 60) a distintas concentraciones salinas (0 mEq/l, 50 mEq/l, 100 mEq/l, 150 mEq/l y 200 mEq/l) y en cuatro momentos (21, 28, 35 y 42 días).

CLON	Días	CONCENTRACIÓN SALINA (mEq/L)				
		0	50	100	150	200
LA	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	100	100
	35	100	100	50	0	0
	42	75	100	50	0	0
524-50	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	100	100
	35	100	100	100	0	0
	42	100	100	100	0	0
CA	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	75	50
	35	100	50	0	0	0
	42	50	50	0	0	0
YA	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	50	50
	35	100	100	0	0	0
	42	100	75	0	0	0
GE	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	50	25
	35	100	100	75	0	0
	42	100	75	0	0	0
AG	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	50	0
	35	100	75	0	0	0
	42	100	75	0	0	0
ÁLAMO	21	100	100	100	100	100
	28	100	100	100	75	25
	35	100	75	50	0	0
	42	75	50	25	0	0

Al cabo de 42 días, durante el último conteo de supervivencia, el clon 524-50 resultó ser el más tolerante a la salinidad, registrándose una supervivencia del 100% a la concentración Elevada, aunque evidenció una marcada defoliación (Fig. 6). Por su parte, el clon LA mostró una supervivencia del 50% a esa misma concentración (Tabla 1), pero las plantas sobrevivientes mostraron un mejor aspecto general (Fig. 7).



Figura 6. Ejemplar sobreviviente del clon 524-50 a concentración 100mEq/l mostrando marcada desecación foliar.



Figura 7. Ejemplar sobreviviente del clon LA a concentración 100 mEq/l mostrando una buena adaptación a condiciones de salinidad Elevada.

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE VARIABLES MORFOLÓGICAS EN LOS ÓRGANOS VEGETALES

A) BROTACIÓN

A-1) NÚMERO DE BROTES POR ESTACA

LA fue el clon que menor desarrollo de brotes presentó en el tratamiento Control, pero una vez iniciado el tratamiento salino no evidenció diferencias con el resto de los clones de sauce (Tabla 2). En contraste, GE se diferenció estadísticamente de LA durante el tratamiento Control presentando un mayor número de brotes (Tabla 2), pero tampoco se obtuvieron diferencias con respecto a los otros clones en los tratamientos salinos. En la concentración salina Elevada, las estacas de álamo presentaron la mayor cantidad de brotes por estaca, y LA y 524- 50 fueron los únicos clones de sauce en mantener brotes vivos a concentraciones Elevadas, sin diferencias significativas entre ellos (Tabla 2).

Tabla 2. Número de brotes por estaca observados en clones de sauce y álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	2,75 ab	3,00 a	1,25 a
Los arroyos (LA)	1,50 a	3,50 a	1,50 a
Yaguarete (YA)	2,50 ab	2,25 a	-
Carapachay (CA)	2,50 ab	3,50 a	-
Agronales (AG)	2,75 ab	1,75 a	-
Géminis(GE)	3,50 b	2,00 a	-
Álamo	3,00 ab	2,50 a	3,00 b

En los resultados expuestos en la Tabla 3 se observa que el clon 524-50 presentó mayor número de brotes por estaca a concentración salina Media. Aunque en el resto de los clones no se observan diferencias significativas en el número de brotes por estaca a medida que aumenta la concentración de sales, hubo una tendencia, en los clones LA y CA, de aumento en el número de brotes en la concentración Media con respecto al Control, mientras que el resto de los clones disminuyó la cantidad de brotes. Hangs (2011), a diferencia de estos resultados, observó que el número de brotes en las estacas de sauces disminuían a medida que aumentaba la concentración de sales.

Tabla 3. Variación en el número de brotes por estaca a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	2,75 ab	1,50 a	2,50 a	2,50 a	2,75 a	3,50 a	3,00 a
50	3,00 b	3,50 a	2,25 a	3,50 a	1,75 a	2,00 a	2,50 a
100	1,25 a	1,50 a	-	-	-	-	3,00 a

A-2) LONGITUD DE BROTES

En cuanto a longitud de brotes, LA presentó mayor crecimiento en ausencia de sales agregadas con respecto al resto de los clones (Tabla 4), no encontrándose diferencias significativas entre los clones a una concentración Media, ni entre los clones sobrevivientes a una concentración Elevada.

Tabla 4. Longitud de brotes registrada en clones de sauce y en álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	6,79 a	4,12 a	8,43 a
Los arroyos (LA)	13,55 b	6,42 a	7,88 a
Yaguarete (YA)	5,45 a	4,21 a	-
Carapachay (CA)	6,55 a	4,54 a	-
Agronales (AG)	4,67 a	6,87 a	-
Géminis(GE)	6,47 a	8,37 a	-
Álamo	10,26 ab	7,48 a	10,30 a

En la Tabla 5 se expresan los cambios en la longitud de brotes para cada clon a medida que aumentó la concentración salina. El clon AG presentó mayor longitud de brotes en la concentración Media con respecto al Control; sin embargo, el resto de los clones tanto de sauce como de álamo, no presentaron diferencias significativas en la longitud de sus brotes. Respecto a estos resultados, excepto para el clon AG, se podría inferir que el aumento en la concentración salina no influyó negativamente en la longitud de los brotes. Oliveira *et al.* (2018) demostraron diferencias significativas para distintas especies de *Saccharum* sp. utilizando las mismas concentraciones salinas que en este trabajo. *Saccharum* presentó una disminución marcada en la longitud de brotes a partir de una concentración salina de 100 mEq/L, pudiendo tolerar hasta 200 mEq/L.

Tabla 5. Longitud de brotes (cm) comparando las tres concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) en los siete clones utilizados en el experimento. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	6,79 a	13,55 a	5,45 a	6,55 a	4,76 a	6,47 a	10,26 a
50	4,12 a	6,42 a	4,21 a	4,54 a	6,87 b	8,37 a	7,48 a
100	8,43 a	7,88 a	-	-	-	-	10,30 a

B) RAÍCES

B-1) NÚMERO DE RAÍCES

Con respecto a la variable número de raíces por estaca, el clon LA fue el que mayor número de raíces presentó en el tratamiento Control (Tabla 6). Sin embargo, en la concentración Media, el clon GE tuvo mayor número de raíces con respecto al clon del álamo, mientras que el resto no se diferenciaron de ninguno de los dos. A una concentración Elevada el clon LA fue el que presentó mayor número de raíces secundarias, comportándose de igual forma que en el tratamiento Control. El álamo fue el más desfavorecido tanto en la concentración Media como en la Elevada (Tabla 6). Entre los dos clones de sauce sobrevivientes a dicha concentración, LA fue el que tuvo el mayor número de raíces. Por su parte, Oliveira *et al.* (2018) trabajando con distintas especies del género *Saccharum* (caña de azúcar) no encontraron diferencias significativas entre ellas dentro de los tratamientos Control y Medio, pero sí una marcada disminución del número de raíces a dosis iguales a 100 mEq/l.

Tabla 6. Número de raíces por estaca contabilizadas en clones de sauce y en álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	23,00 a	17,25 ab	18,25 b
Los arroyos (LA)	47,75 b	22,75 ab	43,50 c
Yaguarete (YA)	22,50 a	16,75 ab	-
Carapachay (CA)	26,50 a	24,00 ab	-
Agronales (AG)	22,00 a	29,75 ab	-
Géminis(GE)	17,25 a	34,50 b	-
Álamo	14,75 a	14,00 a	9,00 a

Al observar el comportamiento en el número de raíces de un clon a medida que aumentó la concentración salina, se puede concluir que GE es el único clon que presentó un mayor desarrollo radicular en condiciones moderadas de salinidad, con respecto al tratamiento Control (Tabla 7). LA presentó un elevado desarrollo radicular a una concentración de 100 mEq/L, pero el mayor desarrollo se vio en el tratamiento Control. Al igual que LA, el clon 524-50 tuvo mayor desarrollo radicular en el tratamiento Control, y el menor desarrollo se vio en el tratamiento de concentración Media. Este último clon mantuvo una biomasa radicular constante ante situaciones de estrés tal como se evidencia en el trabajo de Quiñones (2014). Hangs *et al.* (2011) explicaron que los clones que no tuvieron cambios en el desarrollo de raíces a medida que aumentó la exposición a salinidad, presumiblemente se encontraban menos estresados y esto se reflejó en un crecimiento sostenido en condiciones cada vez más salinas, tal como ocurrió con los tres clones de *Salix* sobrevivientes en este ensayo. En el trabajo de Quiñones *et al.* (2014) el clon 524-50 mostró menor número de raíces iniciales que el resto de los clones evaluados, pero mantuvo el número de raíces a medida que aumentó la salinidad.

Por su parte, los clones YA, CA, AG y el clon de álamo, no vieron comprometido el número de raíces por estaca a medida que aumentó la concentración salina (Tabla 7).

Tabla 7. Variación del número de raíces por estaca a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	23,00 b	47,75 c	22,50 a	26,50 a	22,00 a	17,25 a	14,75 a
50	17,25 a	22,75 a	16,75 a	24,00 a	29,75 a	34,50 b	14,00 a
100	18,25 ab	43,50 b	-	-	-	-	9,00 a

B-2) PESO SECO

En las tres concentraciones salinas evaluadas, el clon LA fue el que mayor peso seco de raíces presentó (Tabla 8). A concentración 0 mEq/l los clones YA y AG presentaron menor respuesta a la rizogénesis, no presentando diferencias con 524, GE y álamo. A una concentración de 50 mEq/l la mayor biomasa se registró en el clon LA y el menor peso de raíces se observó en YA. A una concentración igual a 100 mEq/l no se encontraron diferencias significativas entre los dos clones sobrevivientes de sauce, pero sí de estos con respecto al clon de álamo (Tabla 8).

Tabla 8. Peso seco de raíces (g) registrados en clones de sauce y en álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	0,35 abc	0,18 bc	0,25 b
Los arroyos (LA)	0,54 c	0,38 e	0,36 b
Yaguarete (YA)	0,22 a	0,10 a	-
Carapachay (CA)	0,53 bc	0,29 d	-
Agronales (AG)	0,26 a	0,15 ab	-
Géminis(GE)	0,28 ab	0,24 cd	-
Álamo	0,30 abc	0,16 abc	0,04 a

El clon LA presentó una marcada disminución del peso seco por raíz del Control con respecto al tratamientos salino Medio y se condice con el menor número de raíces ante condiciones de estrés (Tablas 9 y 7, respectivamente). Hangs (2011) comunica

disminuciones significativas en el peso a medida que aumenta la salinidad del tratamiento aún con condiciones de salinidad moderada, lo cual también es evidente en este ensayo en la mayoría de los clones evaluados.

Tabla 9. Peso seco de raíz (g) comparando las tres concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) en los siete clones utilizados en el experimento. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON							
Conc.	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	0,35 a	0,54 b	0,22 b	0,53 a	0,26 b	0,28 a	0,30 b
50	0,18 a	0,38 a	0,10 c	0,29 a	0,15 a	0,24 a	0,16 ab
100	0,25 a	0,36 a	-	-	-	-	0,04 a

B-3) LONGITUD DE RAÍCES

En ausencia de sales (0 mEq/L) no se encontraron diferencias significativas en la longitud de raíces entre los distintos clones (Tabla 10), pero sí a una concentración de 50 mEq/L, los clones LA, 524, y CA mostraron mayor longitud. A una concentración igual a 100 mEq/L no se hallaron diferencias entre los dos clones sobrevivientes de sauce (524-50 y LA). Similares resultados fueron observados en ensayos de *Saccharum sp.* donde no se encontraron diferencias significativas en la longitud radical a una concentración salina equivalente a 50mEq/L entre las distintas especies, y si se observó una marcada disminución a partir de concentraciones iguales o superiores a 100 mEq/L en las tres especies de *Saccharum sp.* evaluadas (Oliveira *et al.*, 2018). Igualmente, este género evidencia capacidad de sobrevivir aún a concentraciones salinas de 200 mEq/l (Oliveira *et al.*, 2018).

Tabla 10. Longitud de raíces (cm) registradas en clones de sauce y de álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	7,31 a	5,79 bc	6,08 b
Los arroyos (LA)	6,28 a	7,82 c	7,02 b
Yaguarete (YA)	7,11 a	5,50 ab	-
Carapachay (CA)	7,33 a	6,54 bc	-
Agronales (AG)	5,17 a	4,41 ab	-
Géminis(GE)	7,04 a	3,96 a	-
Álamo	4,90 a	4,24 a	4,88 a

El clon GE disminuyó la longitud de raíces a medida que se expuso a concentraciones salinas Medias, el resto de los clones no presentó diferencias significativas para esta variable comparando entre salinidad Media y los respectivos controles (Tabla 11). Quiñones (2014) comunica que se obtiene menor longitud de raíces a medida que aumenta la salinidad, lo cual no ocurrió en este ensayo en los tres clones sobrevivientes.

Tabla 11. Variación de longitud de raíz (cm) comparando las distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) en los siete clones utilizados en el experimento. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p<0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	7,31 a	6,28 a	7,11 a	7,33 a	5,17 a	7,04 b	4,90 a
50	5,79 a	7,82 a	5,50 a	6,54 a	4,41 a	3,96 c	4,24 a
100	6,08 a	7,02 a	-	-	-	-	4,88 a

C) HOJAS

C-1) NÚMERO DE HOJAS

El número de hojas por estaca no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los clones a la concentración testigo (0 mEq/L) (Tabla 12), pero sí se observó un mayor número de hojas en el clon LA a una concentración de 50 mEq/L. A más alta concentración salina (100 mEq/L) se observó mayor desarrollo de hojas en el clon LA y en el clon de álamo, en comparación con el clon 524-50 (Tabla 12). Los demás clones ensayados a esta concentración salina se encontraron al final del ensayo totalmente necrosados.

Tabla 12. Número de hojas por estaca contabilizado en clones de sauce y en álamo, a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	12,00 a	7,25 a	0,50 a
Los arroyos (LA)	8,00 a	19,75 b	8,00 b
Yaguarete (YA)	12,25 a	7,00 a	-
Carapachay (CA)	14,00 a	13,50 ab	-
Agronales (AG)	10,50 a	11,750 ab	-
Géminis(GE)	16,25 a	13,75 ab	-
Álamo	11,50 a	8,00 a	10,00 b

El clon 524-50 disminuyó notoriamente la cantidad de hojas a medida que aumentó la concentración salina, LA, por el contrario, a niveles moderados de salinidad aumentó la producción foliar a concentración salina 50 mEq/L y luego la disminuyó a concentración equivalente a 100 mEq/L (Tabla 13). En el resto de los clones no se observaron diferencias significativas entre controles y concentración salina Media.

El mayor número de hojas contabilizadas por estaca se registró en el clon LA a una concentración Media (50 mEq/L), sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas con las otras concentraciones.

Tabla 13. Variación del número de hojas por estaca a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) en los siete clones utilizados en el experimento. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	12,00 c	8,00 a	12,25 a	14,00 a	10,50 a	16,75 a	11,50 a
50	7,25 b	19,75 a	7,00 a	13,50 a	11,75 a	13,75 a	8,00 a
100	0,50 a	8,00 a	-	-	-	-	10,00 a

C-2) PESO SECO

En ausencia de sales (0 mEq/L) el álamo presentó mayor biomasa foliar, presentando diferencias estadísticas para esta variable al compararlo con los distintos clones de sauce (Tabla 14). En cambio, en condiciones de concentración salina Media (50 mEq/L), se determinó mayor acumulación de biomasa en los clones LA, GE y en álamo, mientras que el clon YA presenta menor biomasa. A una concentración de 100 mEq/L se observó mayor biomasa en el clon de álamo, encontrándose diferencias estadísticamente significativas al compararlos con los únicos clones sobrevivientes de sauce (LA y 524-50), y de éstos 524-50 presentó menor desarrollo de hojas. En el trabajo de Hangs (2011) se comprobó una disminución de biomasa de hojas a concentraciones salinas Elevadas, lo cuál se vio reflejado también en este ensayo en la mayoría de los clones, no encontrándose una gran disminución a niveles moderados de salinidad.

Tabla 14. Peso seco de hojas (g) registrados en clones de sauce y álamo a distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

CLON	Concentración de NaCl (mEq/L)		
	0	50	100
524-50	0,20 a	0,10a b	0,01 a
Los arroyos (LA)	0,11 a	0,21 b	0,08 b
Yaguarete (YA)	0,10 a	0,05 a	-
Carapachay (CA)	0,21 a	0,16 a b	-
Agronales (AG)	0,09 a	0,09 a b	-
Géminis(GE)	0,13 a	0,22 b	-
Álamo	0,69 b	0,21 b	0,19 c

El clon 524-50 disminuyó el peso seco a medida que aumentó la concentración salina, lo opuesto ocurrió en el clon GE, donde el tratamiento a concentración Media casi duplicó el peso seco con respecto al Control (Tabla 15). El resto de los clones evaluados no presentó diferencias significativas en esta variable a medida que se aumentó la concentración de NaCl (Tabla 15).

Tabla 15. Variación del peso seco por hoja (g) comparando las distintas concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) en los siete clones utilizados en el experimento. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

Conc.	CLON						
	524-50	Los arroyos (LA)	Yaguarete (YA)	Carapachay (CA)	Agronales (AG)	Géminis(GE)	Álamo
0	0,20 b	011 a	0,10 a	0,21 a	0,09 a	0,13 a	0,69 a
50	0,10 ab	0,21 a	0,05 a	0,16 a	0,09 a	0,22 b	0,21 a
100	0,01 a	0,08 a	-	-	-	-	0,19 a

El clon LA ha demostrado un alto índice de supervivencia en distintos ambientes salinos por lo que este trabajo coincide con la bibliografía consultada (Marraro Acuña *et al.*, 2023). Además, obtuvo alta tolerancia al anegamiento prolongado (Cortizo *et al.*, 2016). Las condiciones de salinidad moderada son compatibles con el enraizamiento en todos los clones de *Salix sp.* tal como se comunicó en el ensayo de Quiñones (2014).

La mayor relación entre raíces y biomasa total se confirmó en este trabajo al igual que en el trabajo realizado por Hangs (2011) utilizando salinidad mayor a 8 dS/m, en

donde se evidencia que se pierden brotes y hojas a medida que aumenta la salinidad pero el número de raíces continúa siendo elevado (Tablas 2, 6 y 12).

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE VARIABLES ANATÓMICAS EN LOS ÓRGANOS VEGETALES

Las plantas que crecieron bajo estrés salino experimentaron pocos cambios anatómicos en sus órganos como respuesta a esta condición.

Independientemente del clon y la salinidad a la que estuvo expuesta la planta, algunos cortes transversales de las raíces adventicias mostraron el inicio de crecimiento secundario. A los fines de realizar una comparación estadística lo más representativa posible, se eligieron únicamente raíces con crecimiento primario para comparar en esta tesina. En todos los clones y en todas las dosis se observó que la raíz primaria presentó una epidermis uniestratificada formada por células alargadas sin espacios intercelulares (Fig. 8). La corteza mostró una o dos capas continuas de células parequimáticas isodiamétricas y luego grandes espacios intercelulares que dieron lugar a un aerénquima que se extiende desde el parénquima cortical hasta la endodermis (Fig. 8). Esta formación puede deberse a que estos clones están adaptados a crecer en condiciones de alta humedad y anegamiento (Cerrillo, 2012; 2014), donde este tipo de parénquima facilita la aireación de la raíz. El cilindro vascular mostró que todos los clones presentan periciclo uniestratificado, que la especie *Salix* es tritarca (con 4 polos de xilema) y *Populus* poliarca (con 5 polos de xilema) y que la médula está ocupado por células parenquimáticas o vasos del xilema (Fig. 8).

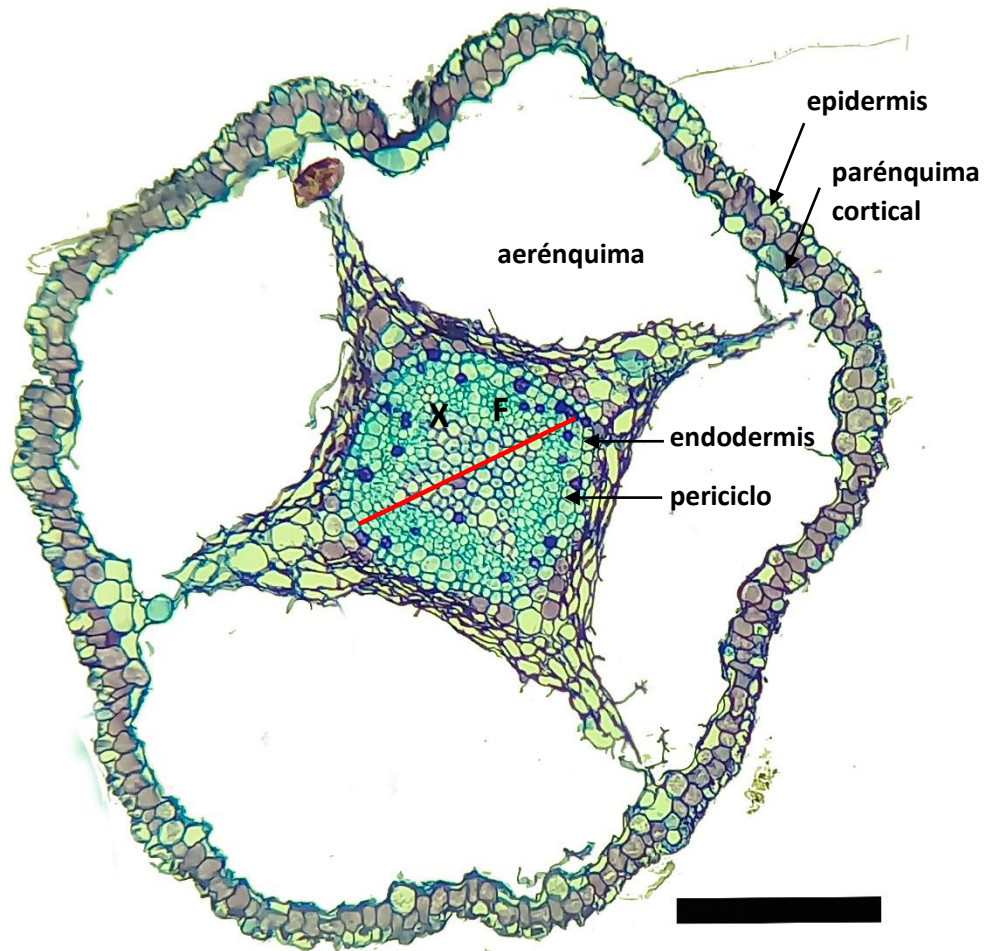


Figura 8. Corte transversal de raíz de *Salix* clon Géminis dosis 0, indicando los tejidos analizados. Se observa abundante aerénquima. X: xilema, F: floema. La línea roja abarca el cilindro vascular. Escala: 200 μm .

No hubo evidencia de interacción ($p > 0,05$) entre los tratamientos de salinidad y clon en la variable analizada espesor de epidermis de la raíz. El promedio de espesor entre las tres dosis fue de 14 μm ; y el clon GE fue el que presentó espesor mayor (19 μm) y el 524-50 menor (12 μm).

En las otras variables de la raíz analizadas sí se presentó interacción entre tratamiento y clon ($p < 0,0001$). En cuanto al diámetro de la raíz y de la corteza radical, la mayoría de los clones vio afectado este parámetro con el aumento de salinidad (Tablas 16 y 17), solo CA y GE siguieron aumentando sus diámetros con dosis Media y LA con dosis Elevada.

Tabla 16. Diámetro de raíz (μm) de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	diámetro de la raíz (μm)						
Concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	964 a	754 a	791 a	818 a	791 a	858 a	892 a
50	858 ab	749 a	648 b	1123 b	648 b	1220 b	728 b
100	779 b	968 b	-	-	-	-	642 c

Tabla 17. Espesor de corteza radical (μm) de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado

variable:	Espesor de la corteza (μm)						
Concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	791 c	583 b	673 a	477 a	451 a	597 a	675 c
50	479 a	466 a	754 a	831 b	454 a	1026 b	585 b
100	588 b	720 c	-	-	-	-	383 a

El comportamiento de los clones en cuanto al espesor del cilindro vascular fue variable (Tabla 18). Los clones AG, CA y GE lo disminuyeron con el agregado de solutos en el agua de riego, pero LA, 524-50 y álamo no. Según evidencias previas, el efecto esperable como respuesta al aumento de salinidad en el agua de riego es la reducción en el diámetro de cilindro vascular de la raíz, debido a la disminución del número de vasos de metaxilema como del diámetro de estos (Valenti *et al.*, 1992; Gadallah y Ramadan 1997).

Tabla 18. Espesor de cilindro vascular radical (μm) de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	espesor del cilindro vascular (μm)						
Concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	247 b	171 a	233 a	341 b	320 b	262 b	217 a
50	380 c	283 c	244 a	292 a	197 a	194 a	211 a
100	191 a	248 b	-	-	-	-	264 b

Las raíces no presentaron depósito de cristales en sus células, a excepción de 524-50 que bajo tratamientos salinos presentó abundante cantidad de oxalato de calcio en forma de drusas distribuidas en la corteza (Fig. 9).



Figura 9. Corte transversal de raíz de *Salix* clon 524-50 dosis 50 mEq/l, mostrando la presencia de abundante cantidad de oxalato de calcio en forma de drusas en idioblastos de la corteza. La flecha indica una drusa. Escala: 100 μm .

Si se compara el comportamiento de los clones para las variables anatómicas diámetro de la raíz, espesor de la corteza y espesor del cilindro vascular en cada una de

las dosis ensayadas, podemos observar que con la dosis Media el clon GE fue quien presentó mayor diámetro de raíz y espesor de corteza, pero menor de cilindro vascular (Tabla 19).

Tabla 19. Diámetro de la raíz (μm), espesor de corteza radical (μm) y espesor de cilindro vascular radical (μm) de cada una de las concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) comparando los clones entre sí. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	diámetro raíz (μm)			espesor corteza (μm)			espesor cilindro vascular (μm)		
	0	50	100	0	50	100	0	50	100
524-50	964 d	858 c	779 b	791 d	479 a	588 b	247 cd	380 d	191 a
LA	754 a	749 b	968 c	583 b	466 a	720 c	171 a	283 c	248 b
YA	1129 e	947 d	-	673 c	754 bc	-	233 bc	244 b	-
CA	818 abc	1123 e	-	477 a	831 cd	-	341 e	292 c	-
AG	791 ab	648 a	-	451 a	454 a	-	320 e	197 a	-
GE	858 bc	1220 f	-	597 b	1026 d	-	262 d	194 a	-
Álamo	892 cd	728 b	642 a	675 c	585 ab	383 a	217 b	211 ab	264 c

En cuanto a la anatomía de tallo se observó que en todos los clones la estructura presentaba una transición entre crecimiento primario y secundario (Fig. 10). El crecimiento secundario temprano suele estar asociado a especies que se desarrollan en ambientes hostiles, proporcionándole al tallo mayor rigidez, y en algunos casos, protegiendo a los tejidos conductores (Pérez Cuadra, 2012).

La estructura caulinar secundaria temprana presentó de afuera hacia adentro: una cutícula muy gruesa, epidermis, tejido cortical con colénquima de tipo anular/laminar formado por tres estratos y aerénquima, floema secundario con casquete de fibras en la parte superior, cámbium continuo, xilema secundario, xilema primario y una médula parenquimática muy extensa (Fig. 10). Independientemente del clon y del tratamiento salino, asociado a la corteza y a la médula, se registraron cristales de oxalato de calcio con forma de drusas (Fig. 11), por lo que este parámetro no pudo ser usado como variable de cambio.

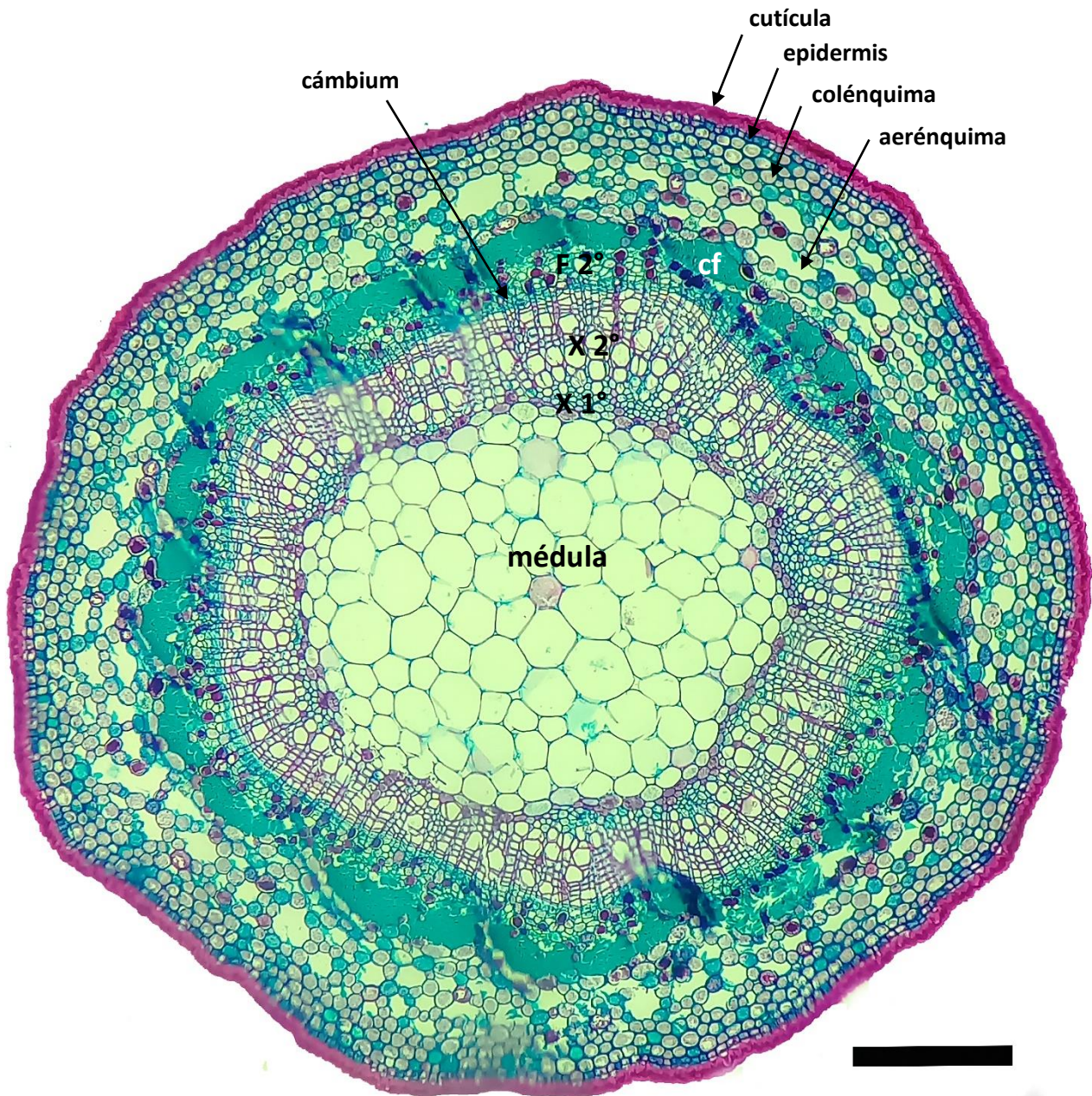


Figura 10. Corte transversal de tallo de *Salix* clon 524-50 dosis 0, indicando los tejidos analizados en los tratamientos de esta tesina. Cf: casquete de fibras; F 2°: floema secundario; X 2°: xilema secundario; X 1°: xilema primario. Escala: 200 μ m.



Figura 11. Corte transversal de tallo de *Salix* clon 524-50 dosis 0, resaltando con círculo negro la presencia de drusas en idioblastos en la corteza. Escala: 100 μm .

De todas las variables histológicas evaluadas en el tallo, hubo evidencia de interacción ($p < 0,01$) entre los tratamientos de salinidad y clon.

Tabla 20. Diámetro de tallo (μm) de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Diámetro del tallo (μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	1250 b	1609 b	1523 b	1760 b	1239 a	1271 a	1169 a
50	770 a	1097 a	983 a	1176 a	1213 a	1609 b	1433 b
100	1175 b	1223 a	-	-	-	-	1116 a

En cuanto a la variable espesor de cutícula se observó una marcada disminución en espesor a medida que aumentó la concentración salina en 524-50, LA, YA y CA (Tabla 21). Los clones AG, GE y álamo no presentaron diferencias significativas en este parámetro, aunque el álamo duplicó su espesor en concentración salina Elevada. El aumento en la producción de cutina es citado como un carácter adaptativo ante condiciones de baja humedad atmosférica (Delf, 1915), como barrera de protección ante vientos fuertes y alta radiación solar, para disminuir la transpiración (Arambarri *et al.*, 2006). En esta tesina solo en el álamo se observó esta relación directa entre mayor estrés salino y mayor espesor de cutícula.

Tabla 21. Espesor de la cutícula (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Espesor de la cutícula (μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	21 c	19 b	20 b	20 b	19 a	5 a	2 a
50	4 a	8 a	4 a	4 a	11 a	5 a	2 a
100	9 b	6 a	-	-	-	-	4 a

El clon 524-50 disminuyó el espesor de la epidermis a medida que aumentó la concentración salina (Tabla 22). No siendo así el comportamiento del resto de los clones,

los cuales aumentaron el espesor a medida que aumentó la concentración salina. El clon de álamo evidenció a concentración 100 mEq/L una duplicación del espesor.

Tabla 22. Espesor de la epidermis (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Espesor de la epidermis(μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	11 b	8 a	8 a	12 a	8 a	7 a	7 a
50	8 a	10 a	23 b	10 a	12 b	9 b	8 a
100	6 a	7 a	-	-	-	-	15 b

Solo el clon CA y el clon de álamo presentaron diferencias en la variable espesor de colénquima, con disminución a medida que aumentó el tratamiento salino (Tabla 23). El álamo además presentó aumento en el espesor a concentración 100 mEq/L. 524-50 y LA no presentaron diferencias ante el aumento de la concentración salina. En especies herbáceas que se desarrollan en ambientes xéricos y salinos es común encontrar tejido de sostén subepidérmico caulinar, colénquima y esclerénquima, que le confieren rigidez al tallo y su abundancia está directamente relacionada con la pobreza de los suelos (Ancibor, 1982). En los clones de *Salix* y *Populus* acá ensayados se detectó la presencia de colénquima subepidérmico, pero sin cambios en el espesor relacionado al tratamiento salino.

Tabla 23. Espesor del colénquima (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	colénquima (μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	41 a	46 a	31 a	67 b	26 a	32 a	31 b
50	38 a	38 a	28 a	31 a	26 a	38 a	19 a
100	33 a	29 a	-	-	-	-	25 ab

La variable espesor de aerénquima (Tabla 24) no presentó diferencias significativas en ninguno de los tres tratamientos salinos en los clones 524-50 y LA, ni diferencias entre Control y salinidad Media en CA, AG y GE. El álamo aumentó su espesor a concentración Media y luego lo disminuyó a concentración salina Elevada. El único clon que mostró un comportamiento con abrupta disminución ante condiciones Medias de salinidad es el clon YA.

Tabla 24. Espesor del aerénquima (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Espesor del aerénquima (μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	ÁLAMO
0	77 a	61 a	181 b	119 a	84 a	143 a	45 a
50	124 a	76 a	52 a	82 a	86 a	127 a	107 b
100	91 a	74 a	-	-	-	-	83 b

La variable espesor de tejido vascular mostró resultados variados. El álamo mantuvo el espesor a medida que aumentó la salinidad en los tratamientos, y en contraparte los clones 524-50, YA, CA, AG disminuyeron el espesor a medida que aumentó el tratamiento. GE es el único clon que aumentó el espesor con salinidad Media y LA disminuyó con salinidad Media y luego volvió a aumentar bajo dosis Elevadas (Tabla 25).

Tabla 25. Espesor del tejido vascular (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Espesor del tejido vascular(μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	ÁLAMO
0	576 b	719 b	723 b	894 a	697 a	600 a	516 a
50	352 ab	493 a	450 a	500 a	559 a	952 b	576 a
100	220 a	700 b	-	-	-	-	513 a

El espesor de la médula también presentó comportamiento variable entre los distintos clones. Álamo aumentó bajo condiciones de salinidad Media y luego disminuyó

bajo condiciones salinas Elevadas (Tabla 26). CA y GE no presentaron diferencias significativas entre Control y salinidad Media. AG aumentó el espesor bajo condiciones salinas moderadas al igual que álamo. YA, LA y 524-50 disminuyeron el espesor bajo condiciones salinas moderadas. En condiciones salinas Elevadas LA mantuvo el espesor, mientras que en el clon 524-50 lo aumentó notablemente.

Tabla 26. Espesor de la médula (μm) caulinar de cada uno de los clones a diferentes concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l). En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	Espesor de la médula(μm)						
concentración	524-50	LA	YA	CA	AG	GE	Álamo
0	525 b	757 b	562 b	649 a	405 a	485 a	568 b
50	243 a	472 a	425 a	550 a	520 b	478 a	722 c
100	817 c	408 a	-	-	-	-	476 a

Comparando el comportamiento de los clones para los parámetros espesor de cutícula y epidermis en cada una de las concentraciones salinas, se observó que a Elevada concentración salina LA y 524-50 se comportaron de manera similar (Tabla 27). Se observan diferencias significativas entre ambos en la variable espesor de médula donde 524-50 presentó el doble de espesor (Tabla 27).

Tabla 27. Espesor de la cutícula (μm), de la epidermis (μm) y de la médula (μm) caulinar de cada una de las concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) comparando los clones entre sí. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	espesor cutícula (μm)			epidermis (μm)			médula(μm)		
	0	50	100	0	50	100	0	50	100
Clon									
524-50	21 b	4 ab	9 b	11 bc	8 a	6 a	525 b	243 a	817 b
LA	19 b	8 bc	6 ab	8 ab	10 ab	7 a	757 d	472c	408 a
YA	20 b	4 ab	-	8 ab	23 c	-	562 b	425b	-
CA	20 b	4 ab	-	12 c	10 ab	-	649 c	550e	-
AG	19 b	11 c	-	8 ab	12 b	-	405 a	520de	-
GE	5 a	5 ab	-	7 a	9 a	-	485 ab	478cd	-
Álamo	2 a	2 a	4 a	7 ab	8 a	15 b	568 bc	722f	476 a

Ambos clones sobrevivientes bajo condiciones de salinidad Elevada se comportaron de manera similar para las variables diámetro de tallo, espesor del parénquima cortical y aerénquima. Solo se encontraron diferencias entre los clones en el espesor del tejido vascular donde LA presentó una marcada diferencia con respecto a 524-50 (Tabla 28).

Tabla 28. Diámetro del tallo (μm), espesor del parénquima cortical (μm), del aerénquima (μm) y tejido vascular (μm) caulinar de cada una de las concentraciones salinas (Control: 0 mEq/l, Media: 50 mEq/l y Elevada: 100 mEq/l) comparando los clones entre sí. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). Los espacios en blanco corresponden a material necrosado.

variable:	diámetro del tallo (μm)			parénquima cortical(μm)			aerénquima(μm)			tejido vascular(μm)			
	Clon	0	50	100	0	50	100	0	50	100	0	50	100
524-50		1250 a	770 a	1175 a	41 ab	38 b	33 a	77 ab	124 c	91 a	576 ab	352 a	220 a
LA		1609 bc	1097 bc	1223 a	46 b	38 b	29 a	61 a	76 ab	74 a	719 bc	493b	700 b
YA		1523 b	983 b	-	31 ab	28 ab	-	181 d	52 a	-	723 bc	450ab	-
CA		1760 c	1176 c	-	67 c	31 ab	-	119 bc	82 ab	-	894 c	500b	-
AG		1239 a	1213 c	-	26 a	26 ab	-	84 ab	86 ab	-	697 ab	559b	-
GE		1271 a	1609 e	-	32 ab	38 b	-	143 cd	127c	-	600 ab	952c	-
Álamo		1169 a	1433 d	1116 a	31 ab	19 a	25 a	45 a	107bc	83 a	516 a	576b	513 b

De todas las variables histológicas evaluadas en las hojas, no hubo evidencia de interacción ($p>0,05$) entre los tratamientos de salinidad y clon.

No hubo diferencias significativas entre la dosis Control y las dosis Media y Elevada ($p>0,05$) en la mayoría de las variables. En promedio de todos los clones creciendo bajo esas condiciones, el espesor de la epidermis adaxial fue de 17 μm , de la epidermis abaxial de 16 μm y parénquima clorofílico 155 μm . En cuanto al contenido de cristales de oxalatos de calcio, en estos clones estudiados las drusas fueron el tipo de cristales que se encontraron tanto en tallos como en hojas. Las hojas desarrolladas bajo la dosis Media y Elevada presentaron mayor cantidad ($p=0,04$) de drusas que bajo dosis cero: 2 (promedio de tratamientos salinos) y 0,5 drusas/0,1 mm^2 , respectivamente. La formación de cristales es uno de los mecanismos más común en los vegetales para la osmoregulación interna de sales, siendo la relación positiva entre salinidad y contenido de cristales de oxalatos de calcio (Rains, 1972; Poblete *et al.*, 1991; Apóstolo, 2005; Grigore y Toma, 2008). A diferencia de otros trabajos en lo que se evaluaron otras especies como la especie halófito *Halophytum ameghinoi* (Fernández *et al.*, 2016), en este ensayo solo el órgano hojas de todos los clones presentaron esta relación positiva con la mayor concentración de sales.

Comparando el comportamiento de los clones, AG presentó mayor ($p=0,22$) epidermis adaxial (30 μm) y CA, GE, LA y álamo la menor (14 μm). En cuanto a la epidermis abaxial, AG también tuvo mayor espesor ($p=0,5$) con 27 μm y álamo el menor con 10 μm . No hubo diferencias en el espesor del clorénquima ($p=0,5$), promediando entre los clones 155 μm . Y en cuanto al número de drusas/0,1 mm^2 , AG presentó la mayor cantidad (2 drusas/0,1 mm^2) y álamo la menor (0,2 drusas/0,1 mm^2).

CONCLUSIONES

Las concentraciones salinas utilizadas en este ensayo pueden considerarse como extremas. La bibliografía consultada considera que a partir de 8 dS/m las concentraciones son altamente salinas, las cuales fueron superadas ampliamente en esta experiencia.

La concentración a la cual sobrevivieron dos de los clones (LA y 524-50) fue de 12,3 dS/m, aunque ninguno de los clones resistió a partir de la concentración salina de 150 mEq/l (CE 16,48 dS/m). Por lo que podría analizarse en futuros proyectos concentraciones intermedias dentro de estos valores para evaluar el máximo rango de tolerancia a la salinidad.

Los clones de *Salix sp.* ensayados en este trabajo se comportaron bajo condiciones de salinidad Media (6,78 dS/m) como una buena alternativa de cultivo, puesto que todos sobrevivieron y mostraron adaptación bajo dichas condiciones.

La concentración salina inhibe el enraizamiento directo de las estacas, pero en este ensayo se probó qué si se enraízan previamente bajo condiciones controladas, pueden someterse luego a tratamientos con agua salina, obteniéndose un buen crecimiento y desarrollo de los clones.

Sería interesante estudiar los cambios morfológicos y anatómicos foliares luego del reposo invernal de las Salicáceas ya que, podría evidenciar cambios en las nuevas estructuras luego de la brotación.

Además del 524-50, que es un clon de *Salix sp.* ya probado como resistente a la salinidad, se considera al clon LA como la mejor alternativa de plantación en condiciones de salinidad Elevada ya que fue el que mejores resultados obtuvo, tanto en parámetros morfológicos como en la evaluación histológica.

A nivel anatómico deberían evaluarse además otros parámetros no tenidos en cuenta aquí como son la densidad estomática foliar y el estudio de vasos xilemáticos, los cuales pueden ser considerados importantes en la evaluación de especies para su tolerancia a la salinidad.

BIBLIOGRAFÍA

Agarwal, P. K., Agarwal, P., Reddy, M. K. y Sopory, S. K. (2006). Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports*, 25, 1263-1274.

Ancibor, E. (1982). Anatomía ecológica de la vegetación de La Puna de Mendoza. I. Anatomía foliar. *Parodiana*, 7, 63-76.

Aperlo, D., Schrohn, H., Fernández, N. y Mestre, M. C. (2023). Micorrizas y salicáceas: qué sabemos del período 2010-2020 y hacia dónde vamos. *Bosque*, 44, 9-22. Valdivia, Chile.

Apóstolo, N. M. (2005). Caracteres anatómicos de la vegetación costera del Río Salado (Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 40, 215-227.

Arambarri, A. M., Freire, S. E., Colares, M. N., Bayón, N. D., Novoa, M. C., Monti C. y Stenglein, S. A. (2006). Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from gallery forests of the Paranaense Province (Argentina). Part I. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 41, 233-268.

Arzani, A. (2008). Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. *In Vitro Cellular and Developmental Biology—Plant*, 44, 373-383.

Barriga Nito, K.Y. (2019). Cambios estructurales y fitoquímicos en plantas creciendo en estrés salino. Tesis de Magister. Instituto Politécnico Nacional, Michoacán, México.

Benavides, A., Dávila, R., Rincón, F., Ramírez, H. y Fuentes, L. (2004). Respuesta de la densidad estomática y de células tabulares de maíces bajo estrés por NaCl. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*, 1, 184-185.

Borodowski, E. (2017). Situación actual del cultivo y uso de las Salicáceas en Argentina. V Congreso Internacional de Salicáceas. Chile.

Céccoli, G., Ramos, J. C., Ortega, L. I., Acosta, J. M. y Perreta, M. G. (2011). Salinity induced anatomical and morphological changes in *Chloris gayana* Kunth roots. *Biocell*, 35, 9-17

Cerrillo, T. (2012). Advances on the willow breeding program in Argentina.

Cerrillo, T. (2014). Mejoramiento Genético del Sauce. Nuevos clones seleccionados para la foresto-industria del Delta. EEA INTA Delta del Paraná.

Cerrillo, T., Alvarez, J. A., Alvarez, J. L., Battistella, A., Braccini, C. L., Casaubon, E., ... & Olemberg, D. J. (2015). La forestación de salicáceas como aporte al desarrollo sustentable del Delta del Paraná.

- Cortizo, S. C., Cerrillo, T., Thomas, E. R., & Monteverde, M. S. (2016). Subprograma Salicáceas (*Salix* y *Populus*). Ministerio de Agroindustria, Argentina.
- Delf, E. M. (1915). The meaning of xerophily. *The Journal of Ecology*, 3, 110-121.
- Di Rienzo JA., Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión (2020). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar> (Verificado: 30 de mayo de 2024).
- FAO. (2008). Harmonized World Soil Database (version 1.0), FAO, Rome, Italy and IIASA, Laxenburg, Austria.
- Gadallah, M. y Ramadan, T. (1997). Effects of zinc and salinity on growth and anatomical structure of *Carthamus tinctorius* L., *Biology Plant*, 39: 411-418.
- García, M., Jáuregui, D. y Medina, E. (2008). Adaptaciones anatómicas foliares en especies de angiospermas que crecen en la zona costera del estado falcón (Venezuela). *Acta Botánica Venezuelica*, 31, 291-306.
- García, M., Medina, E. y Jáuregui, D. (2011). Cambios anatómicos inducidos por la salinidad en raíces de dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp., Poaceae). *Acta Botánica Venezuelica*, 34, 177-198.
- Grigore, M. N. y Toma, C. (2008). Ecological anatomy investigations related to some halophyte species from Moldavia. *Romanian Journal of Biology- Plant Biology* 53: 27-31.
- Hangs, R. D., Schoenau, J. J., Van Rees, K. C. J., y Steppuhn, H. (2011). Examining the salt tolerance of willow (*Salix* spp.) bioenergy species for use on salt-affected agricultural lands. *Canadian Journal of Plant Science*, 91, 509-517.
- Johansen, D.A. (1940). Plant microtechnique. McGraw- Hill Book Company. London.
- Lamz Piedra, A. y González Cepero, M. C. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales*, 34, 31-42.
- Luquez, V. M. C., Bartolozzi, M. E. y Martínez Alonso, S. M. (2022). Utilización de álamos y sauces para la producción de biomasa para energía. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, Argentina*, 121, 1-17.
- Marraro Acuña, F., Cora, A., Renaudeau, R., & Monguillot, L. (2023). Evaluación de nuevos clones productivos de sauce en ambientes de Córdoba–Argentina. EEA Manfredi, INTA.
- Martin, L. y Vila, H. (2013). Evaluación de tolerancia al NaCl en cultivares viníferas y portainjertos híbridos del género *Vitis*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 45, 150-160.
- Mirck, J. y Zalesny, R. S. (2015). Mini-review of knowledge gaps in salt tolerance of plants applied to willows and poplars. *Int J Phytoremediation*, 17, 640-50.

- Munns, R. y Harvey Millar, A. (2023). Seven plant capacities to adapt to abiotic stress, *Journal of Experimental Botany*, 74, 4308-4323.
- Munns, R. y Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 651-81.
- Negrão, S., Schmöckel, S. M. y Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119, 1-11.
- Oliveira, L. A. R., Cardoso, M. N., Oliveira, A. C. A., Machado, C. A., Santana, F. V., Cardoso, B. T., Castro, E. M., Silva, A. V. C. y Ledo, A. S. (2018). Biochemical, physiological and growth changes in response to in vitro salinity in sugarcane. *Bioscience Journal*, 34, 1649-1662.
- Pérez Cuadra, V. (2012). Anatomía ecológica de la vegetación del salitral de la vidriera. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Poblete, V., Campos, V., Gonzalez, L. y Montenegro, G. (1991). Anatomic leaf adaptations in vascular plants of a salt marsh in the Atacama desert (Chile). *Revista Sociedad Chilena de Historia Natural*, 64, 65-75.
- Quiñones Martorello, A. S., Fernández, M. E., Gyenge, J. y Laclau, P. (2014). Enraizamiento de seis clones de *Salix* spp. ante condiciones de estrés múltiple generado por salinidad y anoxia. Actas del IV Congreso Internacional de las Salicáceas en Argentina / Jornadas de Salicáceas, La Plata.
- Quiñones Martorello, A.S, Gyenge, J, Lorea, L. y Laclau, P. (2014). Ecofisiología de la implantación de sauces y eucaliptos en sitios con estrés ambiental múltiple. Actas del IV Congreso Internacional de las Salicáceas en Argentina / Jornadas de Salicáceas, La Plata.
- Rains, D. W. (1972). Salt transport by plants in relation to salinity. *Annual Review of Plant Physiology* 23: 367-388.
- Ramos, J., Perrata, M., Tivano, J. y Vegetti, A. (2004). Variaciones anatómicas en la raíz de *Pappophorum philippianum* inducidas por salinidad. *Phyton*, 73, 103-109.
- Rasband, W.S. (1997-2011). ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/> (Verificado: 30 de mayo de 2024).
- Richards, L. (1964). Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. 3a. edición. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.
- Ruzin, S.E., (1999). Plant Microtechnique and Microscopy. OxfordUniversity Press, p. 322.
- Salas, J., Sanabria, M. E. y Pire, R. (2001). Variación en el índice y la densidad estomática de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro*, 13, 99-104.

Serrato Valenti, G., 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, 399-404.

Shannon, M.C. y Grieve C.M. (1999). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Journal Scientia Horticulturae*, 78, 7-11.

Taleisnik, E. y López Launestein, D. (2011). Woody perennials for environments affected by salinity: A synopsis of the argentine contribution on this topic. *Ecología austral*, 21, 3-14.

Tozzi, F., Mariani, A., Vallone, R. y Morábito, J. (2017). Evolución de la salinidad de los suelos regadíos del río Tunuyán Inferior (Mendoza - Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 49, 79-93.