

Efecto de *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith y NaCl sobre el patrón electroforético de “tomate” *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae)

Effects of *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith and NaCl on the electrophoretic pattern of “tomato” (*Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae))



Resumen

La salinidad es un factor abiótico que produce disminución en el rendimiento de los cultivos, las plantas responden modificando su expresión génica e inducen cambios en la síntesis de proteínas. El objetivo fue determinar el efecto de *Rhizophagus irregularis* y NaCl sobre el patrón electroforético de tomate (*Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae)). Se inocularon plantas de tomate con *R. irregularis* (0, 1.5 y 3 g de inóculo) y tratadas con 0, 100 y 200 mM de NaCl, por 30 días. Luego, se cuantificó el contenido de proteínas solubles totales mediante el método de Bradford y se evaluó su patrón electroforético mediante SDS-PAGE en hojas y raíces. El contenido de proteínas solubles totales en hojas aumentó conforme aumenta la cantidad de inóculo de *R. irregularis*, mientras que en raíces disminuye conforme incrementa la concentración de NaCl; en cuanto a su patrón electroforético, en hojas, aparece una proteína de 111 kDa por efecto del NaCl y *R. irregularis*; en raíces aparece una proteína de 73 kDa; además se observaron cambios en la intensidad de algunas bandas en hojas y raíces. Posiblemente estos cambios, sean consecuencia de la alteración de la síntesis proteica por el desequilibrio iónico y osmótico que genera el NaCl.

Palabras clave: tomate, salinidad, *Rhizophagus irregularis*, patrón electroforético.

Abstract

Salinity is an abiotic factor that produces a decrease in crop yields, plants respond by modifying their gene expression and inducing changes in protein synthesis. The objective was to determine the effect of *Rhizophagus irregularis* and NaCl on the electrophoretic pattern of tomato (*Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae)). Tomato plants were inoculated with *R. irregularis* (0, 1.5 and 3 g of inoculum) and treated with 0, 100 and 200 mM NaCl, for 30 days. Then, the total soluble protein content is quantified by the Bradford method and its electrophoretic pattern is evaluated by SDS-PAGE on leaves and roots. The total soluble protein content in the compliant leaves increases the amount of inoculum of *R. irregularis*, while in the adjusted conforming roots the concentration of NaCl increases; as for its electrophoretic pattern, in leaves, a 111 kDa protein appears due to the effect of NaCl and *R. irregularis*; in roots a protein of 73 kDa appears; In addition, changes in the intensity of some bands in leaves and roots were observed. Possibly these changes are consequences of the alteration of protein synthesis due to the ionic and osmotic imbalance generated by NaCl.

Keywords: tomato, salinity, *Rhizophagus irregularis*, electrophoretic pattern.

Citación: Ramos, C.; J. Hidalgo; P. Lezama & M. Chaman. 2021. Efecto de *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith y NaCl sobre el patrón electroforético de "tomate" *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). *Arnaldoa* 28(2):365-382 doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.282.28207>

Introducción

El aumento de sales en los suelos es una de las más serias amenazas medioambientales para la supervivencia de las plantas (Munns, 2005; Ashraf, *et al.*, 2003). En muchas áreas del mundo dedicadas a la agricultura, la obtención de buenos rendimientos, así como también la capacidad de cultivar una amplia variedad de especies, tiene muchas restricciones debido a la salinización de los suelos (Tanwar, 2003; Goykovic, 2007). Este

problema junto con la sequía, constituyen los factores abióticos que producen mayor descenso en el rendimiento de los cultivos (Reigosa *et al.*, 2004).

La mayoría de los daños provocados por salinidad son debidos por las sales de sodio (Pessarakli, 2002; Jenks *et al.*, 2007), principalmente, NaCl (Miranda, 2011), sal que se encuentra frecuentemente en terrenos de cultivo, por ello, muchos estudios han sido orientados al entendimiento de los

mecanismos involucrados en la respuesta de las plantas al estrés producido por NaCl (Casierra *et al.*, 2013; Taiz *et al.*, 2007; Yokoi *et al.*, 2002).

Los efectos del NaCl sobre la fisiología de las plantas han sido clasificados como de toxicidad, osmóticos y nutricionales (Jenks *et al.*, 2007). El primero constituye un efecto primario debido a las sales, mientras que los siguientes son efectos secundarios inducidos por el estrés salino (Coca *et al.*, 2012; Reigosa *et al.*, 2004). Ante estas situaciones, las plantas desarrollan mecanismos de respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Estas respuestas varían ampliamente dependiendo del genotipo y del estadio de desarrollo de la planta. Mientras algunas especies presentan elevada tolerancia a la salinidad otras son altamente susceptibles (Taiz *et al.*, 2007; Zhu, 2003).

El “tomate” (*Solanum lycopersicum* L.), es una hortaliza ampliamente distribuida alrededor del mundo, ocupando el segundo lugar en importancia mundial teniendo en cuenta su valor económico y nutricional (Giaconi, 1995; Casanova, 2007). Posee un alto contenido de B- carotenos (licopeno), vitamina A, vitamina C (ácido ascórbico), minerales (calcio, hierro, fósforo y potasio) y aminoácidos (tiamina y niacina) (Willcox *et al.*, 2003). Además, se le han atribuido muchas propiedades medicinales tales como anticancerígeno, antiséptico, analgésico, sedante; además se reportan propiedades antidiabéticas (Brecht *et al.*, 2004; Ramandeep, 2005; Juroszek *et al.*, 2009).

El cultivo del “tomate” en áreas con problemas de salinidad provoca en las plantas un sinnúmero de efectos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos, entre los cuales se encuentran cambios cuantitativos

y cualitativos en la síntesis de proteínas por cambios en la expresión de genes, entre otros (Goykovic *et al.*, 2007). Así, las plantas sometidas a estrés salino pueden sintetizar proteínas reguladoras, dentro de las cuales se encuentran los factores de transcripción, proteínas quinasas, fosfolipasas. Además, pueden producir proteínas de respuesta, como proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant o dehidrinas), enzimas para la biosíntesis de sustancias osmoprotectoras, proteínas de choque térmico (HSPs, heat shock proteins) (chaperonas), acuaporinas, proteasas, enzimas detoxificadoras (Reigosa *et al.*, 2004; Taiz *et al.*, 2007).

Para atenuar el efecto adverso de las sales en el rendimiento de los cultivos de interés agrícola como el tomate, existen una serie de prácticas agronómicas posibles de implementar como el uso de ciertos microorganismos, particularmente bacterias y hongos benéficos. Uno de los microorganismos más comunes es *Rhizophagus irregularis*, este hongo no solo maximiza la captación de nutrientes, sino que también le permite a su vez superar situaciones de estrés biótico y abiótico en las plantas (Tapia, 2003; Rouhrazi *et al.*, 2016).

Los suelos de la costa peruana son afectados por NaCl, el cual restringe el crecimiento y productividad del tomate, planta que modifica significativamente su expresión génica en respuesta a una serie de cambios a nivel molecular. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del *Rhizophagus irregularis* y NaCl en el patrón electroforético de proteínas solubles totales de tomate (*Solanum lycopersicum*), cuantificar y separar mediante electroforesis SDS-PAGE las proteínas solubles totales en hojas y raíces de tomate por efecto de la inoculación con 0, 1.5 y 3 g de *Rhizophagus irregularis* y tratadas con 0, 100 y 200 mM de NaCl.

Materiales y métodos

Material biológico

Se utilizaron plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Río Grande de 15 días de germinadas obtenidas a partir de semillas certificadas, las cuales fueron colocadas en un sistema de germinación que consistió en recipientes de tecnopor con papel toalla absorbente como base. Para la micorrización se utilizó el inóculo de *Rhizophagus irregularis*, el cual se obtuvo del producto comercial AEGIS Micro Gránulo, donado por la empresa ATENS Agrotecnologías Naturales, S.L. Tarragona, España.

Inoculación de plantas de tomate con *Rhizophagus irregularis* y aplicación de NaCl

Se seleccionaron 90 plántulas en base a su uniformidad en tamaño, las cuales fueron aleatoriamente distribuidas en 9 grupos. El sustrato estuvo constituido por arena de río y musgo. La arena de río fue cernida con un tamiz para homogeneizar su textura, después fue lavada con agua corriente por 8

horas para eliminar impurezas, tras lo cual se esterilizó en la estufa a 200° C, durante 3 horas, para eliminar los agentes patógenos. Luego, la arena fue mezclada con el musgo en proporción 1:1. El sustrato obtenido fue colocado en recipientes de polietileno de 1000 ml de capacidad.

Para realizar la inoculación, en los recipientes con sustrato se hizo un orificio de aproximadamente 3 cm. de diámetro, para recibir a las plántulas. A continuación, se agregó a dicho orificio el inóculo de *Rhizophagus irregularis*, de manera que las raíces estuvieron en contacto con el HMA.

Bajo condiciones de invernadero a una temperatura promedio de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $75 \pm 2\%$, las plantas crecieron por 15 días y fueron regadas con la solución nutritiva La Molina de 2 a 3 veces por semana. Transcurrido ese tiempo, las plantas fueron sometidas a estrés salino, para lo cual éstas fueron regadas con solución nutritiva y NaCl que generen concentraciones de 0, 100 y 200 mM por un periodo de 30 días (Figura 1).

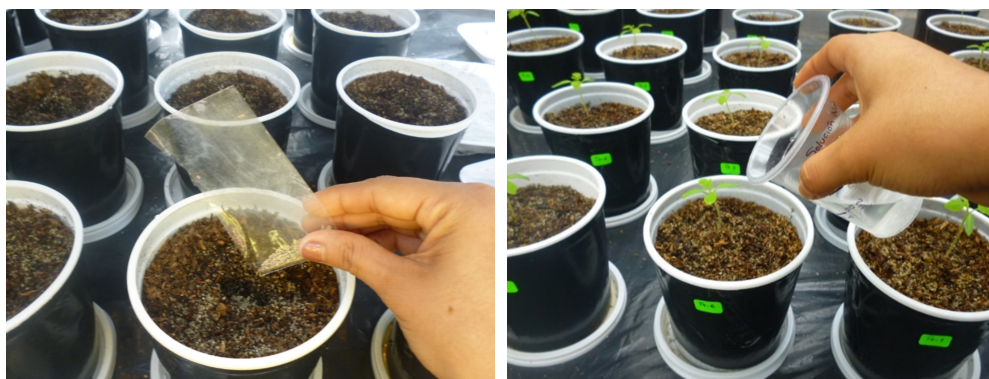


Fig. 1. Inoculación de *Rhizophagus irregularis* en plántulas de tomate de 15 días de edad.

Obtención y cuantificación de proteínas solubles totales

Se pesó 5 g de tejido fresco de hojas y raíces. Luego, por separado, los tejidos se trituraron con nitrógeno líquido en un mortero de porcelana, utilizando como buffer de extracción fosfato de sodio 50 mM y pH 7. El homogenizado obtenido se centrifugó a 10 000 g durante 10 minutos a 4°C; enseguida el sobrenadante se utilizó para cuantificar proteínas. Se siguió el método de Bradford (1976), para lo cual, se tomó 10 ul del extracto y se llevó el volumen final a 1 ml con el reactivo de Bradford, luego se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Genesys 6 a una longitud de onda de 595 nm. Para determinar la cantidad de proteínas se utilizó BSA como estándar en la curva de calibración.

Electroforesis de las proteínas

Para realizar la electroforesis de las proteínas se pesó 5 g de tejido fresco de

raíces y de hojas, y se siguieron todos los pasos mencionados anteriormente para la obtención de proteínas. Las proteínas fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida SDS - PAGE (dodecilsulfato sódico-polyacrylamide gel electrophoresis), de acuerdo a Laemmli (1970). Se utilizó geles de Acrilamida/Bis al 30%.

Los geles fueron cargados con 20 ul del extracto y el corrido electroforético se realizó utilizando una cámara Mini-Protean III de Bio-Rad, siguiendo las especificaciones recomendadas por el Manual (Figura 2).

La tinción de los geles se efectuó sumergiéndolos en una solución de azul de Coomassie, manteniéndolos en agitación constante por 40 a 50 minutos. Luego de la decoloración, los geles fueron fotografiados para el análisis respectivo.

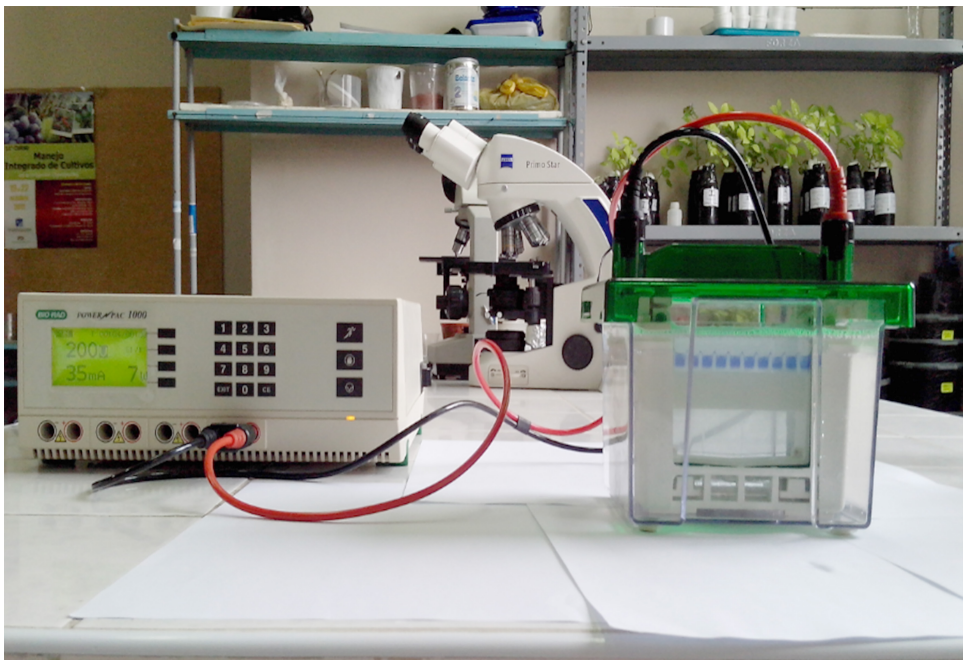


Fig. 2. Electroforesis en hojas y raíces de tomates tratados con *R. irregularis* y NaCl.

Análisis de datos

Una vez obtenidos los resultados, fueron ordenados en tablas y gráficos y se analizaron estadísticamente, para determinar si existen diferencias significativas entre tratamientos, mediante el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple Tukey HSD.

Las bandas reveladas en los geles fueron analizadas para encontrar su peso molecular mediante interpolación de los pesos moleculares de proteínas conocidas, utilizando como patrón una mezcla de proteínas de peso molecular conocido.

Resultados

El contenido de proteínas solubles totales tanto en hojas, como en raíces de tomate (*Solanum lycopersicum*) tratadas con 0, 100 y 200 mM de NaCl se incrementó de manera general, conforme aumentó la cantidad de inóculo de *Rhizophagus irregularis*, al cabo de 30 días.

En la figura 3, se presenta el contenido de proteínas solubles totales en hojas, según tratamiento, se observa que en los tratamientos con 0mM de NaCl, existe un aumento significativo ($p < 0,05$) en el contenido de proteínas solubles totales cuando se agregó el hongo, observándose valores de 0.650 y 0.774 mg/g p.f. respectivamente, en los tratamientos con 1.5 y 3 g de inóculo.

La misma tendencia se observa en las plantas expuestas a 100 mM de NaCl, en las que se encontró que los tratamientos con 1.5 y 3 g de inóculo, indujeron los valores más altos (0.797 y 1.023 mg/g p.f. respectivamente), siendo estas plantas las que tuvieron el más elevado contenido de proteínas solubles totales.

En contraste, las plantas expuestas a 200 mM de NaCl y tratadas con el inóculo, mostraron los menores valores de proteínas solubles totales (0.427 y 0.407 mg/g p.f. respectivamente) al ser comparados con el control, independientemente de la adición del hongo.

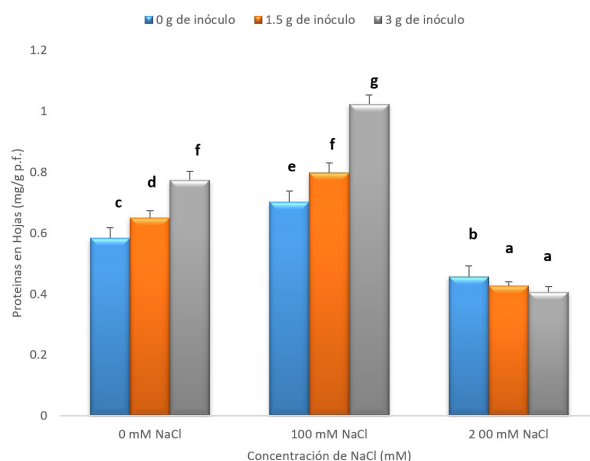


Fig. 3. Contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f) en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L). tratadas con *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento. Las barras verticales indican el error estándar. Las letras diferentes indican diferencias debidas al tratamiento según Tukey HDS (n=3).

La figura 4, se presenta el patrón electroforético en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratadas con *Glomus intraradices* (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM), por 30 días. Las plantas tratadas con 0 mM de NaCl y cantidades de inóculo mostraron cambios de intensidad en algunas bandas proteicas; así, las bandas de 154, 92, 53 y 30 kDa disminuyen de intensidad cuando se agrega 1.5 g de inóculo, mientras que las bandas de 154 y 92 kDa con 3 g de inóculo aumentan.

En las plantas tratadas con 100 mM de NaCl, se observa una disminución de las intensidades de las bandas de 154, 88, 50 y 30 kDa cuando se agrega 3 g de inóculo. En las plantas tratadas con 200 mM de NaCl, se observa un aumento en la intensidad de las bandas proteicas independientemente de la cantidad de inóculo. Asimismo, se observa la aparición de proteínas de 111 kDa cuando se agrega 1.5 y 3 g de inóculo. También, se observa la desaparición de una proteína de 50 kDa cuando se agrega 3 g de inóculo.

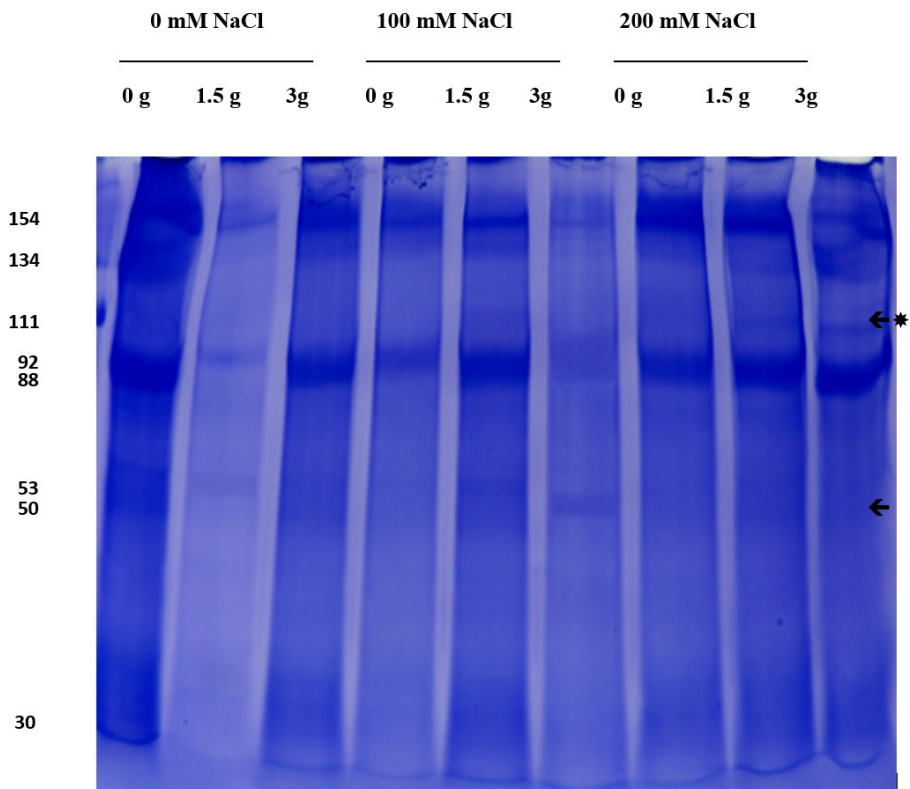


Fig. 4. Patrón electroforético de proteínas solubles totales en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratadas con *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento. A la izquierda se observan los pesos moleculares de las proteínas en kDa. A la derecha, $\leftarrow*$ = aparición de una proteína, \leftarrow = desaparición de proteína.

En la figura 5, se presenta el contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f.) en raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), según tratamiento. Esta gráfica muestra que el contenido de proteínas en este órgano disminuye conforme incrementa la concentración de NaCl, tanto para plantas inoculadas, como aquellas que no fueron tratadas con el organismo fúngico.

Las plantas tratadas con 0mM de NaCl, muestran los valores más elevados de proteínas solubles totales con respecto a los demás tratamientos. En este grupo, se observa un aumento significativo ($p < 0,05$) en los resultados cuando se agregó 1.5 y 3 g de inóculo, encontrándose valores de 0.538 y 0.565 mg/g p.f. respectivamente.

En las plantas expuestas a 100 mM de NaCl, se encontró que los tratamientos con 1.5 y 3 g de inóculo, indujeron un aumento, con valores de 0.439 y 0.470 mg/g p.f. de proteínas solubles totales respectivamente. Sin embargo, estos valores son menores, al ser comparados con el grupo control.

La misma tendencia muestran los tratamientos con 200 mM de NaCl e inóculo, en las que mayores cantidades de inóculo indujeron un aumento en el contenido de proteínas solubles totales. Estas plantas, a su vez, mostraron los menores valores de proteínas solubles totales (0.288, 0.315 y 0.366 mg/g p.f. respectivamente) al ser comparados con el control.

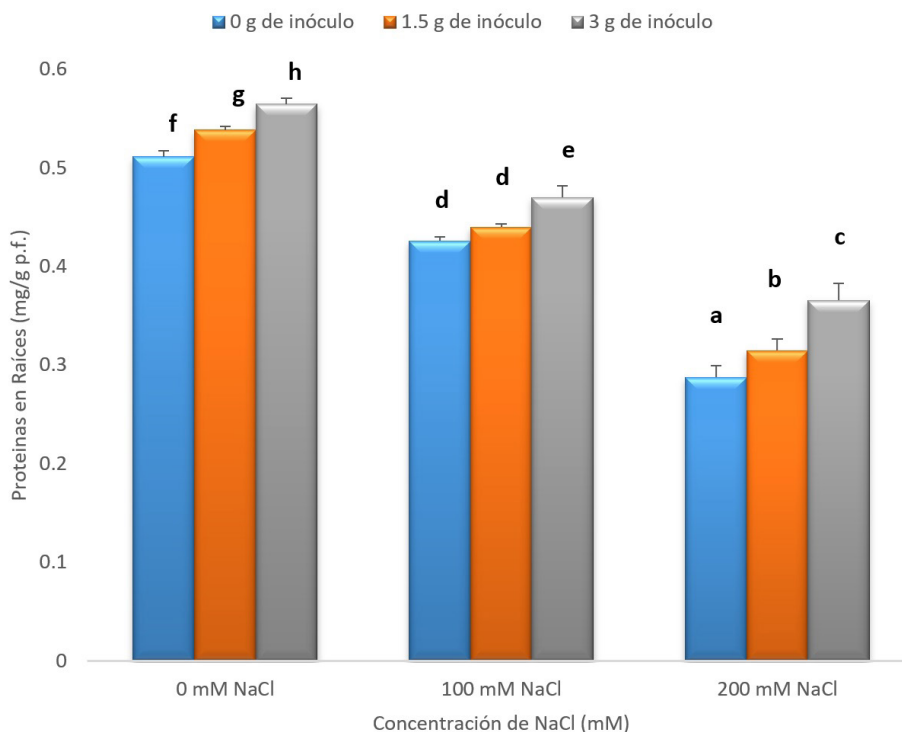


Fig. 5. Contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f.) en raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratadas con *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento. Las barras verticales indican el error estándar. Las letras diferentes indican diferencias debidas al tratamiento según Tukey HDS ($n=3$).

En la figura 6, se muestra el patrón electroforético de raíces de *Solanum lycopersicum* L. tratadas con *Rhizophagus irregularis* (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM), por 30 días; el cual reveló la aparición de una proteína de 73 kDa cuando son tratadas con 200 mM de NaCl, independiente de la cantidad de inóculo. Asimismo, la banda de peso molecular

73 kDa se presenta en las plantas tratadas con 100 NaCl y 3 g de inóculo. También, se observa que las bandas proteicas en general disminuyen de intensidad. Sin embargo, las bandas de pesos moleculares 96 kDa aumentan ligeramente de intensidad cuando son expuestas a 200 mM de NaCl. Las bandas con los pesos moleculares de 146 kDa no presentan cambios entre los tratamientos.

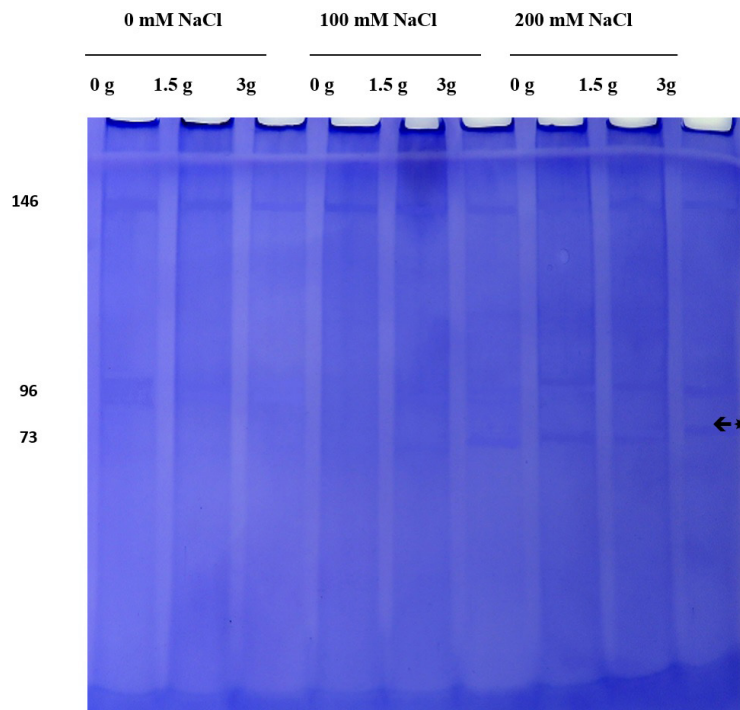


Fig. 6. Patrón electroforético de proteínas solubles totales en raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), tratadas con *Rhizophagus irregularis* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento. A la izquierda se observan los pesos moleculares de las proteínas en kDa. A la derecha, ←* = aparición de una proteína.

Discusión

Las plantas que crecen en suelos con NaCl, suelen presentar desbalance osmótico, desequilibrio nutricional y, principalmente toxicidad iónica, estos efectos involucran respuestas fisiológicas y bioquímicas (Bartels *et al.*, 2005). Entre las principales respuestas de las plantas al estrés salino está la modificación de su expresión génica, que puede inducir la acumulación o agotamiento de ciertos metabolitos, alteraciones en el comportamiento de muchas enzimas, cambios globales en la síntesis de proteínas y en especial la síntesis de nuevos conjuntos de proteínas (Lei *et al.*, 2009; Lesmes *et al.*, 2007; Taiz *et al.*, 2007).

En el presente trabajo, se observó que, en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) tratadas con 0 y 100 mM de NaCl, el contenido de proteínas solubles totales aumenta, conforme se incrementan las cantidades de inóculo de *R. irregularis* (Fig. 3). Las proteínas sintetizadas bajo estrés salino cumplen un papel importante en la tolerancia o adaptación de las plantas a este factor de estrés (Casierra *et al.*, 2013). Sin embargo, el mecanismo general de cómo estas proteínas podrían proporcionar la adaptación no es entendido en su totalidad. Bajo estrés salino, junto con los aminoácidos y compuestos nitrogenados solubles, actúan como componentes de un mecanismo de tolerancia a la sal (Fita *et al.*, 2015). Estos pueden funcionar también como solutos compatibles citoplasmáticos en el ajuste osmótico, con el fin de igualar el potencial osmótico del citoplasma y las vacuolas en condiciones adversas de salinidad (Casierra *et al.*, 2013; Karakas *et al.*, 2016). Por otro lado, un incremento inicial en las proteínas solubles totales durante el estrés podría deberse a la expresión de nuevas proteínas; pero su disminución cuando se

incrementa la intensidad de los factores de estrés, se debería a una severa reducción de los materiales necesarios para la síntesis proteica (Mohammadkhani, 2008; Fita *et al.*, 2015).

En plantas sometidas al estrés salino, la síntesis de proteínas de respuesta a este factor es inducida por la activación de rutas dependientes e independientes del ABA, donde la transcripción es controlada por la interacción de proteínas reguladoras (factores de transcripción) y secuencias reguladoras específicas de los promotores de los genes (ABRE y DREA) (Chinnusamy *et al.*, 2005; Taiz *et al.*, 2007). Así, en plantas de *Arabidopsis thaliana* el factor de transcripción DREB1A, permite activar la expresión de genes involucrados en la tolerancia al estrés, mejorando la tolerancia a la sequía, heladas y salinidad (Kasuga *et al.*, 1999; Fita *et al.*, 2015). También en plantas transgénicas de *Solanum lycopersicum*, se ha descrito el factor de transcripción, HDZIPs (Homeodominio-Leucina Zipper Proteins), que participa en la activación de genes que mejoran la tolerancia al estrés salino (Bartels *et al.*, 2005).

Asimismo, diversas investigaciones señalan que los hongos formadores de micorrizas también tienen la habilidad de proteger a las plantas del estrés provocado por la salinidad, pero los mecanismos que ocurren no están muy claros. De esta forma, el estrés por NaCl, conduce a la expresión diferencial de la información genética, produciendo cambios en los productos génicos, incluyendo mRNA y proteínas (Coca *et al.*, 2012; Casierra *et al.*, 2013). Es así como aumenta la síntesis de nuevas proteínas en plantas estresadas y disminuye el nivel de centenares de proteínas existentes. Estas proteínas específicas de estrés, posiblemente dotan a las plantas con la capacidad de adaptarse al

estrés medioambiental por medio de ajustes fisiológicos y bioquímicos (Lesmes *et al.*, 2007).

Según Boucher *et al.* (1999), altas concentraciones de proteínas en maíz han sido asociadas con un rol adaptativo de las micorrizas arbusculares en la reducción de la degradación proteica bajo condiciones de estrés y a la producción de proteínas llamadas *micorrizas*, las cuales pueden ser inducidas por la asociación con *Glomus spp.*, en respuesta a la infección con el hongo, pero su función específica aún se desconoce. No obstante, los pocos datos disponibles indican que estos hongos contribuyen con el aumento del contenido de proteínas de estrés, las cuales forman parte de la respuesta al incremento moderado de NaCl (Aboul, 2011; Cristobal *et al.*, 2010). En hojas de *Ocimum basilicum* tratadas con *G. mosseae* y *G. intraradices* expuestas a 0, 75 y 150 de NaCl, el contenido de proteínas solubles totales aumenta (Enteshari *et al.*, 2012; Rouhrazi *et al.*, 2016). En plantas de *Zea mays* tratadas con 0, 25, 50 y 100 de NaCl e inoculadas con *Glomus spp.* se encontró un aumento de proteínas solubles totales en el tejido foliar (Boucher *et al.*, 1999; Bhattarai *et al.*, 2011).

En este trabajo se observó que en raíces de *S. lycopersicum* "tomate", el contenido de proteínas solubles totales disminuye tanto en plantas no inoculadas como en las inoculadas cuando se incrementa la concentración (Fig. 5). Este descenso observado puede ser el resultado de la inactivación de algunas enzimas o la inhibición de la síntesis proteica por el efecto primario del NaCl, toxicidad y/o el desequilibrio osmótico, principalmente en este nivel (Hassanein, 2004; Gomathi, 2006). Al respecto algunos investigadores refieren que la salinidad presenta un efecto específico dependiente de la toxicidad de

los iones en solución; y específicamente la toxicidad por NaCl no sólo se debe a efectos tóxicos del Na⁺ y del Cl⁻ en el citosol, sino también por que la homeostasis del K⁺ es alterada, ocasionando la reducción de la relación K⁺/ Na⁺ en el citoplasma, posiblemente por la habilidad del Na⁺ de competir por los sitios de unión del K⁺ (Bartels, 2005; Taiz, 2007; Zhu, 2002; Casierra *et al.*, 2013). Generalmente, el Na⁺ empieza la inhibición de muchas enzimas a concentraciones próximas a 100 mM, la concentración a la cual el Cl⁻ se vuelve tóxico aún no está bien definido, pero es probable que este en el mismo rango que el Na⁺ (Munns, 2005; Salazar, 2007). Situaciones similares podrían explicar esta disminución del contenido de proteínas solubles totales por efecto del NaCl, encontrado en este trabajo.

En el análisis del patrón electroforético de hojas de *S. lycopersicum* (Fig. 4), se encontró que las bandas que representan a una proteína de peso molecular 50 kDa desaparece y que las intensidades de algunas bandas proteicas disminuyeron (154, 92, 53 y 30 kDa), por efecto del NaCl. Estos cambios en las proteínas pueden estar relacionados con la respuesta y/o adaptación de *S. lycopersicum* al NaCl. Este comportamiento ha sido observado en otras especies, en *Hordeum vulgare* la intensidad de las bandas proteicas de peso molecular 176, 160, 147, 134 y 130 kDa aumentó y de las bandas de 55 y 15 kDa disminuyó por efecto del NaCl (50 y 100 mM) (Todorova *et al.*, 1992). En *Triticum durum* expuestas a NaCl 200 mM, muestran que cuatro proteínas (24.8 y 27.9 kDa) se pierden por completo (Yildiz, 2006). En *Bruguiera parviflora* tratadas con diferentes concentraciones de NaCl (100, 200 y 400 mM), se encontró que la intensidad de varias bandas de peso molecular 17, 23, 32, y 34 kDa disminuyen

como resultado del tratamiento con NaCl (Parida *et al.*, 2004).

Al analizar el patrón electroforético de raíces (Fig. 6), se encontró que la intensidad de las bandas proteicas de peso molecular 146, 96 y 73 kDa disminuyeron debido al NaCl, respuestas similares se encontró en raíces de *Zea mays*, que al ser tratadas con NaCl, se indujo la acumulación de algunos polipéptidos con peso molecular de 148, 122.5, 118, 61, 51, 39 y 29 kDa (Tamas *et al.*, 2001; Zorb *et al.*, 2004). Estos cambios, estarían involucrados en la respuesta de *S. lycopersicum* frente al estrés salino, a nivel de raíz.

Conclusiones

La inoculación con *Rhizophagus irregularis* Schenck & Smith y el NaCl en hojas de "tomate" (*Solanum lycopersicum*), causaron un aumento significativo en el contenido de proteínas solubles totales, siendo el tratamiento de 100 mM de NaCl y 3 g de inóculo las que tuvieron el más elevado contenido de proteínas solubles totales.

En raíces, el contenido de proteínas solubles totales disminuye conforme incrementa la concentración de NaCl, tanto para plantas inoculadas, como aquellas que no fueron tratadas con el organismo fúngico.

Rhizophagus irregularis y el NaCl indujeron cambios en el patrón electroforético de proteínas solubles totales en hojas y raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a 200 mM de NaCl con 1,5 y 3 g de inóculo.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Trujillo por brindar las facilidades de uso de

infraestructura y equipamiento para el desarrollo de la presente investigación.

Contribución de los autores

C. R., M. C.; Concepción, diseño del trabajo de investigación; C. R., M. C., J. H.: Recolección de datos o información, análisis e interpretación de los resultados obtenidos; C. R., M. C., J. H., P. L.: Preparación, redacción del artículo y revisión crítica: Todos los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Literatura citada

- Aboul, A.** 2011. Effect of endomycorrhizal fungi on maize plants under different levels of salinity. *J. Soil Sci. and Agric. Eng., Mansoura Univ.*, Vol. 2 (5): 571 – 584.
- Ashraf, M. & A. Bashir.** 2003. Salt stress induced changes in some organic metabolites and ionic relations in nodules and other plant parts of two crop legumes differing in salt tolerance. *Flora* 198(6), 486-498.
- Bartels D. & R. Sunkar.** 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plants Sciences*. 24: 23-58.
- Bhattarai, N.; B. Baral; G. Shrestha & K. Yami.** 2011. Effect of mycorrhiza and rhizobium on *Phaseolus vulgaris* L. *Scientific World* 9(9): 66-69.
- Boucher A.; Y. Dalpe & C. Charest.** 1999. Effect of arbuscular myco rrhizal colonization of four species of *Glomus* on physiological responses of Maize. *Plant Nutr.* 2(45), 783-797.
- Bradford, M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*. 72:248-254.
- Brecht, J.; M. Saltveit; S. Talcott; K. Schneider; K. Felkey & J. Bartz.** 2004. Fresh-cut vegetables and fruits. *Hortic Rev.* 30(4):185-230.
- Casanova, A.** 2007. Manual para la producción protegida de hortalizas. La Habana, Liliana Dimitrova. 125p.

- Casierra, F.; J. Arias & C. Pachón.** 2013. Effect of salinity caused by NaCl on hybrid tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Orinoquia* 17, 23-29.
- Chinnusamy, V.; A. Jagendore & Z. Jian-Kang.** 2005. Understanding and Improving Salt Tolerance in Plants. *Crop Sci.* 45: 437-448.
- Coca, A.; C. Carranza; D. Miranda & M. Rodríguez.** 2012. NaCl effects on growth, yield and quality parameters in the onion (*Allium cepa* L.) under controlled conditions. *Rev. Colomb. Cienc. Hort.* 6(2), 196-212.
- Cristóbal, A.; E. Herrera & E. Ruiz.** 2010. *Glomus intraradices* para el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. *Cuba* 14(1) pp. 25-29.
- Enteshari, S.; Hajbagheri & R. Razavizadeh.** 2012. 'Role of mycorrhizal fungi and Saliyic acid in salinity tolerance of *Ocimum basilicum* resistance to salinity'. *Afri. J. Biotech.* 11: 2223-2235.
- Fita, A.; A. Rodríguez; M. Boscaiu; J. Prohens & O. Vicente.** 2015. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: A new paradigm for increasing food production. *Front. Plant Sci.* 6, 1-14.
- Giaconi, V.** 1995. Cultivo de hortalizas. 11ª edición. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 337 p.
- Gomathi, R.** 2006. Change in nucleic acid content and expression of salt shock proteins in relation to salt tolerance in sugarcane. *Sugar Tech.* 8 (2&3): 124-127.
- Goykovic, V., G. Saavedra del Real.** 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *Idesia.* 24 (3): 457-893.
- Hassanein, A. M.** 2004. Effect of relatively high concentrations of mannitol and sodium chloride on regeneration and gene expression of stress tolerant (ALHAG1 *Graecorum*) and stress sensitive (*Lycopersicon esculentum* L.) plant species. *Biologia Plantarum.* 42(2): 241-248.
- Jenks, M. A.; P. M. Hasegawa & S. Mohan.** 2007. *Advances in Molecular Breeding toward Drought and Salt Tolerant Crops.* Springer, Dordrecht, The Netherlands. 817 p
- Juroszek, P.; H. Lumpkin; R. Yang & D. Ledesma.** 2009. Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems. *J. Agric. Food Chem.* 57(4):1188-1194.
- Karakas, S.; M. A. Cullu; C. Kaya & M. Dikilitas.** 2016. Halophytic companion plants improve growth and physiological parameters of tomato plants grown under salinity. *Pak. J. Bot.* 48(1): 21-28.
- Kasuga, M.; Q. Liu & K. Shinozaki.** 1999. Improving plant drought, salt, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat. Biotechnol.* 17: 287-291.
- Laemmli, U. K.** 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4. *Nature.* 227: 680-685.
- Lei, Z.; T. Li-Hong & G. Yi.** 2009. Identification of an Apoplastic Protein Involved in the initial Phase of Salt Stress Response in Rice Roots by Two – Dimensional Electrophoresis. *Plant Physiology.* 149: 916-928.
- Lesmes, R.; A. Molano; D. Miranda & B. Chaves.** 2007. Evaluation of salt (NaCl) concentrations in irrigation water on lettuce (*Lactuca sativa* L.) 'Batavia' growth. *Rev. Colomb. Cienc. Hort.* 1(2): 222-235.
- Miranda, D.** 2011. Effect of salt stress on physiological parameters of cape gooseberry, *Physalis peruviana* L. Tesis de doctorado. Humboldt-Universität zu Berlin, Alemania.
- Munns, R.; S. Goyal & J. Passioura.** 2005. Estrés salino y su mitigación. Universidad de California. *Plant and Soil.* 247 (1): 93-105.
- Mohammadkhani, N.** 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal* 3 (3): 448-453.
- Parida, A. K.; A. B. Das Mitra & P. Mohanty.** 2004. Salt-stress Induced Alterations in Protein Profile and Protease Activity in the Mangrove *Bruguiera parviflora*. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen.* 59: 408-414.
- Pessaraki, M.** 2002. *Handbook of plant and crop physiology.* Segunda Edición. Eastern Hemisphere Distribution. Copyright by Marcel Dekker, Inc. All Rights Reserved. Estados Unidos. 973p.
- Ramandeep, K. T.** 2005. Antioxidant activity in different fraction of tomatoes. *Food Res. Int.* 38(5):487-494.
- Reigosa, R. M.; B. N. Pedrol & M. A. Sanchez.** 2004. La ecofisiología vegetal una ciencia de síntesis.

Universidad de Vigo. Thomson Editores Spain. España. 1193p.

- Rouhrazi, K.; G. Khodakaramian & E. Velázquez.** 2016. Phylogenetic diversity of rhizobial species and symbiavars nodulating *Phaseolus vulgaris* in Iran. *FEMS Microbiol Lett.* 363 (5): 1-8.
- Salazar, F. V.** 2007. Respuestas de la tuna (*Opuntia ficus-indica* L.) al NaCl. *Asociación Interciencia Caracas, Venezuela.* 32(2): 125-130.
- Taiz, L. & E. Zeiger.** 2007. *Plant Physiology.* Tercera Edición. Publicado por Universitat Jaume I. 1907 p.
- Tapia, J.** 2003. Identificación de hongos micorrízicos arbusculares aislados de suelos salinos y su eficiencia en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Área de Biotecnología. Universidad de Colima.
- Tamas, L.; J. Huttova & I. Mistrík.** 2001. Impact of aluminium, NaCl and growth retardant tetracycline on growth and protein composition of maize roots. *Plant physiology and biochemistry.* 56: 441-449.
- Tanwar, B. S.** 2003. Saline water management for irrigation. International Commission on irrigation and drainage. New Delhi, India. 140 p.
- Torodova, M. L.; M. T. Simeonova & L. P. Popova.** 1992. Changes in the polypeptide patterns of barley seedlings exposed to Jasmonic Acid and Salinity. *Plant Physiology.* 98(2): 700-707.
- Willcox, J. K.; G. L. Catignani & S. Lazarus.** 2003. Tomatoes and cardiovascular health. *Crit. Rev. Food Sci.* 43(1):1-8.
- Yildiz, M.** 2006. Two-Dimensional Electrophoretic Analysis of Soluble Leaf Proteins of a Salt-sensitive (*Triticum aestivum*) and a Salt-tolerant (*T. durum*). Cultivar in Response to NaCl Stress. *Journal of Integrative Plant Biology.* 49(7): 975-981.
- Yokoi, S.; R. A. Bressan & P. M. Hasegawa.** 2002. Salt Stress Tolerance of Plants. Jircas Working Report. 25-33
- Zhu, J. K.** 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 247-273.
- Zhu, J. K.** 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 441-445.
- Zorb, C.; S. Schmitt; A. Neeb; M. Linder & S. Shubert.** 2004. The biochemical reaction of "maize" (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Science* 167 (1): 91-100.

Anexos

Anexo 01: Análisis de varianza del contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f) en hojas de *Solanum lycopersicum* L. tratadas con *Glomus intraradices* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 0.987794 | 8 | 0.123474 | 1735.32 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.00128076 | 18 | 0.0000711535 | | |
| Total (Corr.) | 0.989074 | 26 | | | |

Anexo 02: Análisis de comparación de Tukey HDS del contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f) en hojas de *Solanum lycopersicum* L. tratadas con *Glomus intraradices* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento.

| TRATAMIENTO | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|----------|-------------------|
| T9 | 3 | 0.406878 | X |
| T6 | 3 | 0.42672 | X |
| T3 | 3 | 0.456482 | X |
| T1 | 3 | 0.583466 | X |
| T4 | 3 | 0.650265 | X |
| T2 | 3 | 0.701852 | X |
| T7 | 3 | 0.773942 | X |
| T5 | 3 | 0.79709 | X |
| T8 | 3 | 1.02262 | X |

Anexo 03: Análisis de varianza del contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f) en raíces de *Solanum lycopersicum* L. tratadas con *Glomus intraradices* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 0.226899 | 8 | 0.0283624 | 734.04 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.000695494 | 18 | 0.0000386386 | | |
| Total (Corr.) | 0.227595 | 26 | | | |

Anexo 04: Análisis de comparación de Tukey HDS del contenido de proteínas solubles totales (mg/g p.f) en raíces de *Solanum lycopersicum* L. tratadas con *Glomus intraradices* Schenk & Smith (1, 1.5 y 3 g de inóculo) y expuestas a concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) por 30 días de tratamiento.

| TRATAMIENTO | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|----------|-------------------|
| T3 | 3 | 0.287831 | X |
| T6 | 3 | 0.314947 | X |
| T9 | 3 | 0.365873 | X |
| T2 | 3 | 0.426058 | X |
| T5 | 3 | 0.439947 | X |
| T8 | 3 | 0.47037 | X |
| T1 | 3 | 0.511376 | X |
| T4 | 3 | 0.538492 | X |
| T7 | 3 | 0.564947 | X |

Anexo 05: Electroforesis: a) y b) muestras de hojas y raíces de *Solanum lycopersicum* L. "tomate" durante el corrido en la cámara de electroforesis Bio Rad. c) coloración de los geles con el colorante azul de Coomassie.

