

Introducción



La quinoa (*Chenopodium quinoa* Will.) es una planta anual arbustiva con raíces pivotantes y fasciculadas. Actualmente se han descrito más de 3000 variedades que están adaptadas a muy distintos ambientes, capaces de crecer en saladares, altiplanos, zonas húmedas o zonas con escasez hídrica. En países andinos su grano ha sido una fuente de alimentación rica en proteínas y aminoácidos. La quinoa es la única planta de grano utilizada para la alimentación con características halofíticas, presentando en su tallo y hojas unas glándulas conocidas como bladder cells (glándulas vejiga), las cuales se considera están implicadas en la tolerancia a salinidad. Sin embargo, la fisiología de esta especie está poco estudiada. Este trabajo pretende ser una aproximación a la respuesta fisiológica y celular al estrés salino en quinoa.



Material y Métodos

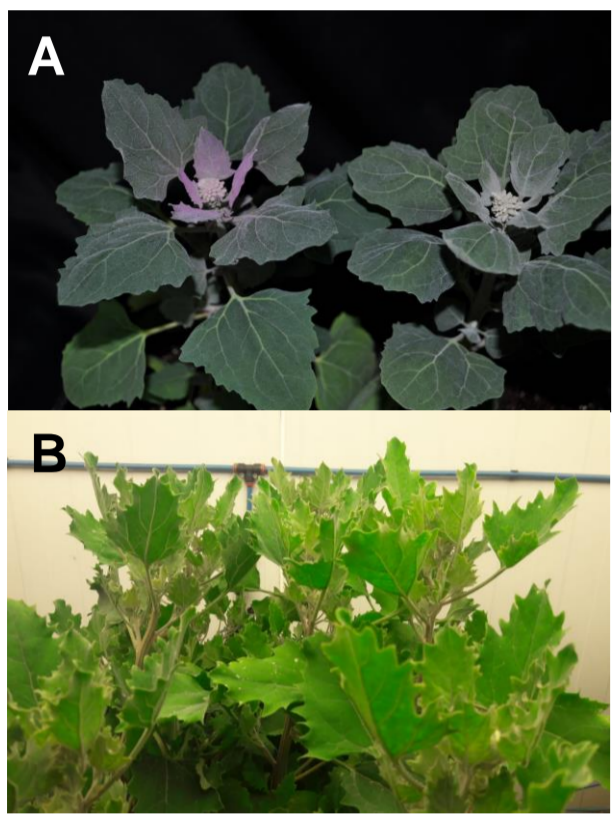


Figura 1. Plantas de quinoa. (A) Variedad Pasankalla; (B) Variedad Titikaka

Material vegetal y condiciones de crecimiento. Para este estudio se utilizaron plantas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Will.) de las variedades Pasankalla y Titikaka. Dichas plantas fueron crecidas en macetas que contenían una mezcla de turba y vermiculita en una proporción 3:1, en tratamiento control y 150 mM NaCl. Las cámaras de crecimiento controlado donde se crecieron las plantas, tenían un fotoperiodo de 16 h de luz ($350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 26°C y 60% de humedad relativa y 8 horas de oscuridad a 18-20°C y 80% de humedad relativa, y fueron regadas con disolución Hoagland y cuando tuvieron unas 4 hojas verdaderas se les aplicó un tratamiento de 150 mM NaCl. NaCl durante 7 días.

Metodología. Se estudio el contenido de clorofilas y el rendimiento cuántico (F_v/F_m), parámetros relacionados con el proceso fotosintético. Las muestras se incluyeron en resina SPURR y se observaron en un microscopio electrónico de transmisión JEOL 1011 (MET). La reconstrucción 3D de las glándulas foliares se realizó en un microscopio Leica DM6 monitorizado, con CID y filtro de fluorescencia Y5. La localización de los lípidos se realizó con una tinción con Rojo Nilo y con un filtro de fluorescencia TXR.



Figura 2. Imagen de fluorómetro portátil OS-30 (ADC BioScientific) en Pasankalla para la determinación de F_v/F_m .

Resultados y Conclusiones

Respecto al **contenido en clorofila de las hojas de quinoa**, los resultados muestran un descenso significativo de la clorofila en ambas variedades a los 7 días de la aplicación del tratamiento salino 150 mM NaCl (Figura 3A). Los valores de F_v/F_m (Figura 3B) mostraron un ligero descenso en ambas variedades, pero siempre superior a 0.80, indicando que, aunque bajaron las clorofilas, no se produjo un daño significativo en el PSII.

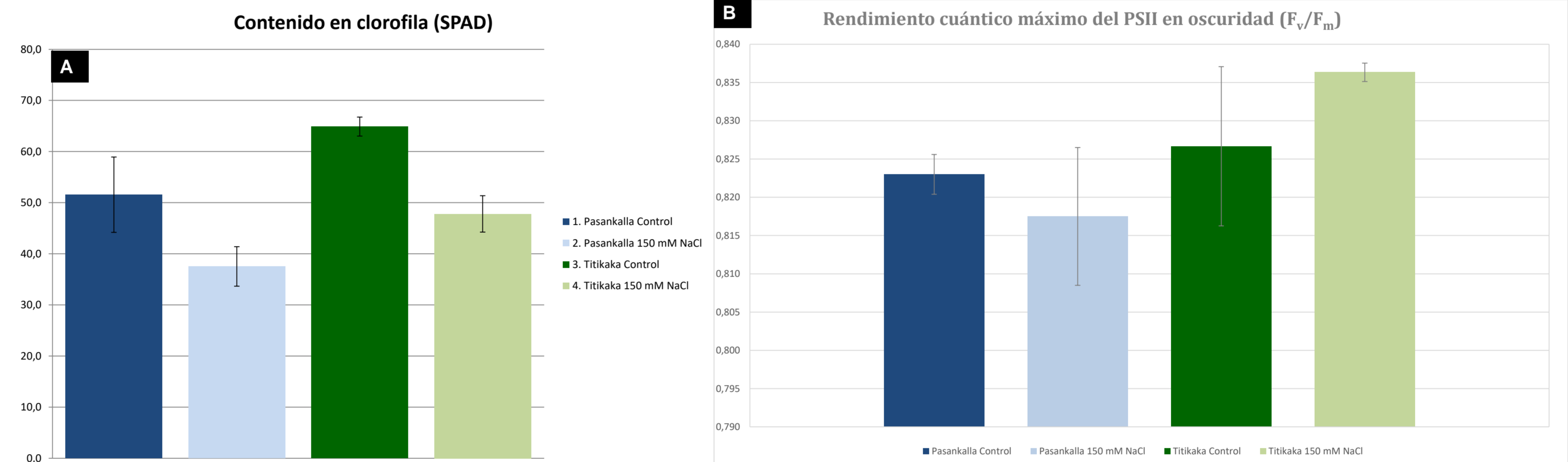


Figura 3. (A). Contenido en clorofilas en plantas de quinoa Pasankalla y Titikaka crecidas en tratamiento control y a los 7 días de la aplicación del tratamiento salino. (B) Valores de F_v/F_m en plantas de quinoa Pasankalla y Titikaka crecidas en tratamiento control y a los 7 días de la aplicación del tratamiento salino.

A nivel subcelular, **los estudios de MET** muestran que las plantas crecidas en tratamiento control presentan células del parénquima en empalizada con abundantes cloroplastos ricos en gránulos de almidón y un grana bien desarrollado. Sin embargo, las plantas tratadas con NaCl mostraron niveles muy bajos de almidón en los cloroplastos, así como un grana con tilacoides que presentaban un lumen dilatado. Igualmente, estas células presentaban importantes invaginaciones de las membranas que penetraban en la vacuola (ver flechas en Figura 4).

Estas invaginaciones pueden indicar la formación de procesos de autofagia. El estudio de las raíces mediante la **tinción específica para lípidos con Rojo Nilo** mostró que el tratamiento salino inducía la acumulación de gotas lipídicas, eran escasamente observadas en control (Figura 5). La aparición de estos acúmulos lipídicos pueden indicar un proceso de degradación lipídica para la obtención de energía a partir de los ácidos grasos que forman los lípidos.

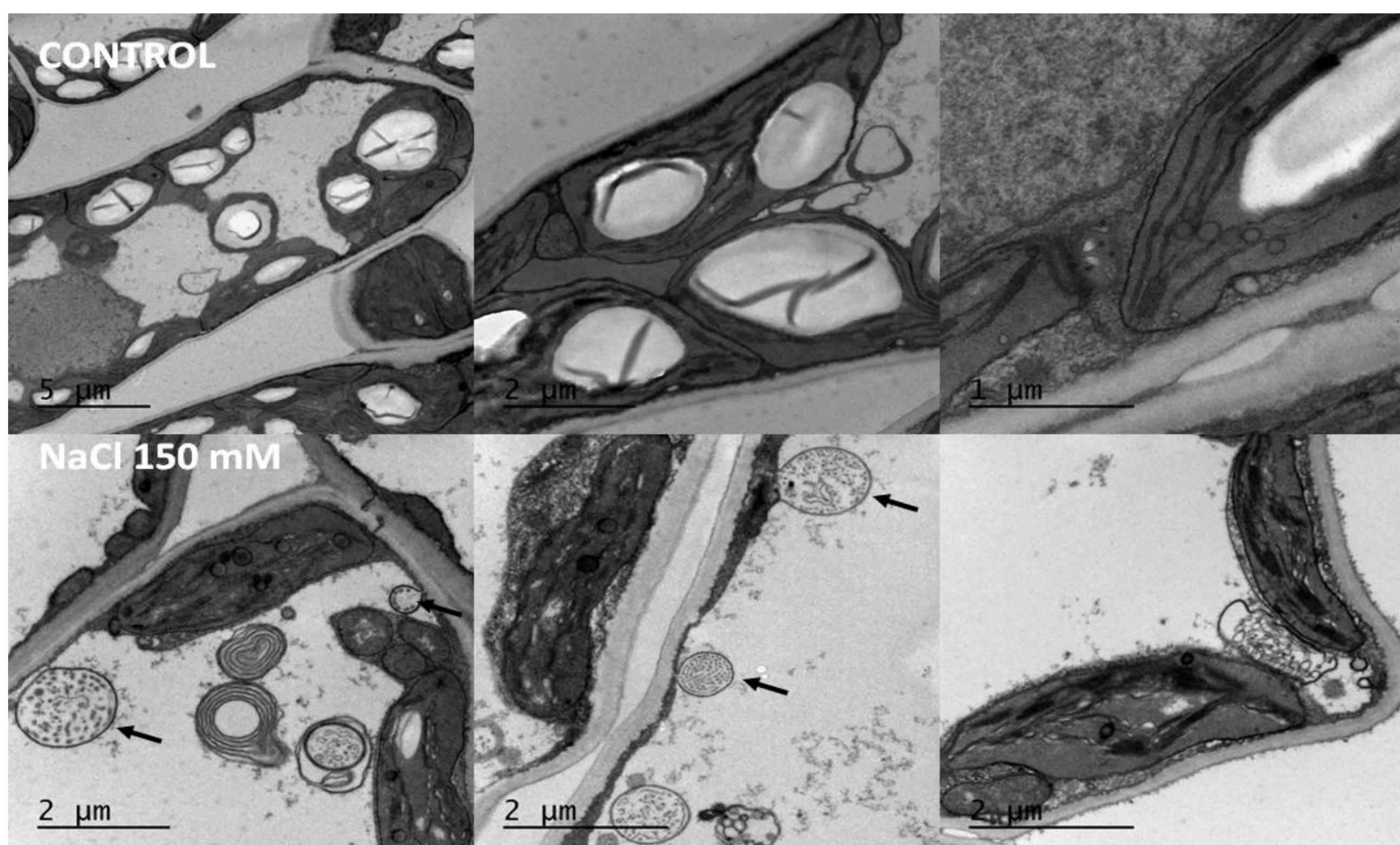


Figura 4. Imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión de plantas en condiciones control (primera fila) y condiciones salinas, 150 mM de NaCl (segunda fila). Cloroplasto de plantas control de quinoa (primera fila). Cloroplasto de plantas de quinoa crecidas en 150 mM NaCl mostrando la exclusión de plastoglóbulos (4ª y 5ª foto)

También hemos realizado un estudio de las glándulas foliares de quinoa llamadas glándula vejiga (*bladder cells*). En la figura 6 vemos una reconstrucción 3D *in vivo* de 2 glándulas mostrando la presencia de plastidios distribuidos de forma homogénea en la glándula.

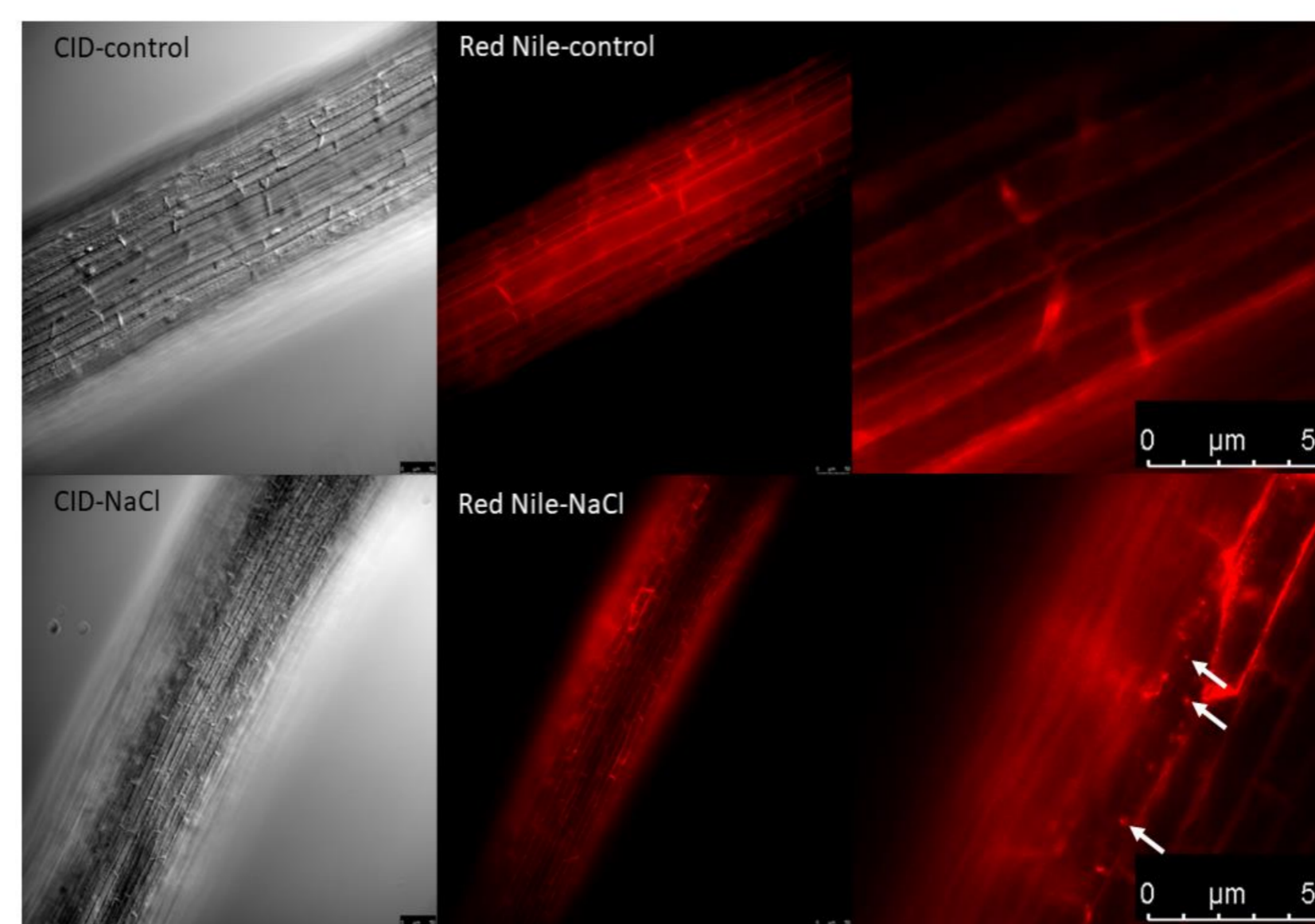


Figura 5. Muestra de las raíces de las plantas control (fila superior) y 150 Mm NaCl, con CID y tinción con Rojo Nilo con filtro de fluorescencia TXR. En ella se pueden ver los acúmulos de lípidos (flechas blancas).

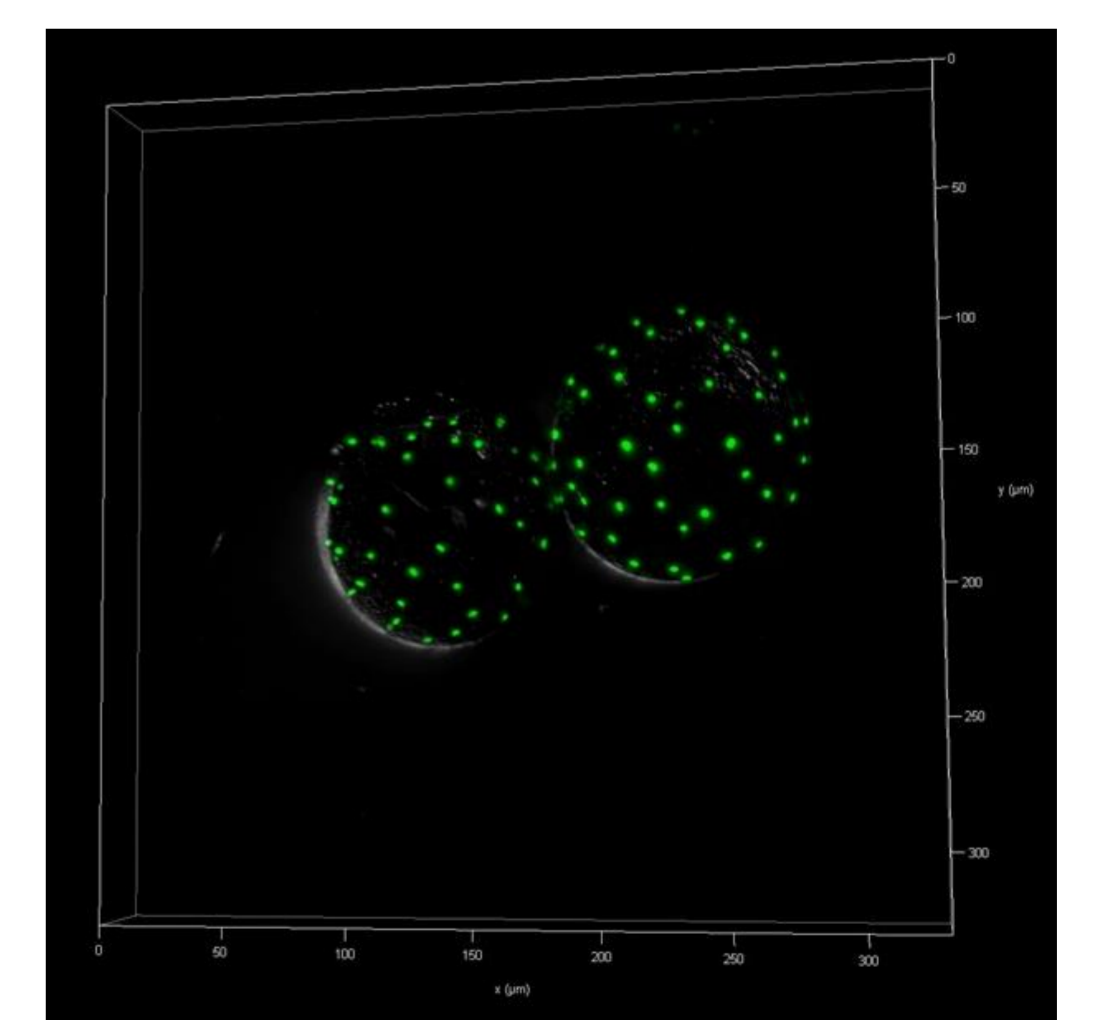


Figura 6. Imágenes de 3D de las glándulas foliares de Titikaka mostrando la distribución tridimensional de plastidios. La imagen es una composición obtenida mediante microscopía de fluorescencia y microscopía de contraste interferencial.

Agradecimientos

Agradecemos al CEBAS/CSIC y al IES Juan Carlos I su colaboración en la realización de este trabajo. Concretamente a Nieves Fernández Y Enrique Olmos, quienes nos han ayudado desde el CEBAS; también a Luis Martín y Trinidad Cámara que nos han guiado y apoyado desde el instituto.