

## Rootstock-mediated differential responses in the antioxidative metabolism of pepper plants subjected to salinity stress

## Respuestas diferenciales mediadas por el portainjerto en el metabolismo antioxidativo de plantas de pimiento sometidas a estrés salino

A. Gálvez\*, A. Albacete, F.M del Amor, J. López-Marín

Departamento de Producción Vegetal y Agrotecnología, IMIDA. La Alberca, Murcia. Spain.

\*1297@coitarm.es

### Abstract

Contrasting growth and yield responses of pepper rootstocks have been associated with changes in the hormonal balance under moderate salinity. In the present study, three important antioxidative metabolism-related parameters (lipid peroxidation, total phenol concentration, and ascorbate peroxidase activity) were analysed in leaves of pepper plants (Gacela F1) either non-grafted or grafted onto three commercial rootstocks (Atlante, Creonte, and Terrano) and cultivated under control (0 mM NaCl) and moderate salinity conditions (35 mM NaCl). Salinity did not significantly alter either lipid peroxidation or total phenol concentration except for plants grafted onto Terrano, which showed the highest phenol concentrations. Importantly, plants grafted onto the three commercial rootstocks significantly decreased lipid peroxidation, thus buffering the damage caused by oxidative stress under salinity with respect to the non-grafted Gacela F1 plants. The peroxidase activity was reduced under salinity, especially in plants grafted onto Atlante while plants grafted onto Terrano presented the highest activity. This study shows rootstock-mediated differential responses in the antioxidative metabolism of salinized pepper plants that could help to explain the contrasting growth and yield effects observed

**Keywords:** *Capsicum annuum* L.; abiotic stress; grafting.

### Resumen

Se ha visto que, las respuestas diferenciales de crecimiento y productividad de portainjertos comerciales de pimiento están asociadas a cambios en el metabolismo hormonal en condiciones de estrés salino. En este estudio, tres parámetros fundamentales del metabolismo antioxidativo (peroxidación lipídica, concentración de fenoles totales y actividad ascorbato peroxidasa) se analizaron en hojas de plantas de pimiento (Gacela F1) sin injertar e injertadas sobre tres portainjertos comerciales (Atlante, Creonte y Terrano), y se cultivaron en condiciones control (0 mM NaCl) y salinas (35 mM NaCl). La salinidad no afectó significativamente ni a la peroxidación lipídica ni a la concentración de fenoles totales. Sin embargo, las plantas injertadas sobre los tres portainjertos comerciales presentaron una reducción significativa de la peroxidación lipídica, que amortiguó el daño oxidativo provocado por el estrés salino. La actividad ascorbato peroxidasa se vio reducida en condiciones de salinidad, especialmente en plantas injertadas sobre Atlante, mientras que las plantas injertadas sobre Terrano presentaron una actividad ascorbato peroxidasa significativamente superior al resto de combinaciones. Este estudio muestra que existen respuestas diferenciales en el metabolismo antioxidativo en plantas de pimiento sometidas a estrés salino que podrían explicar las diferencias en crecimiento y productividad observadas.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum* L.; estrés abiótico; injerto.

## 1. INTRODUCCIÓN

La salinización de los recursos hídricos y del suelo reduce el crecimiento y productividad de los cultivos (1) e impide que las plantas alcancen su potencial genético. Las zonas más afectadas por la salinización son, principalmente, las regiones áridas y semiáridas de más de 100 países en todos los continentes (2), que presentan baja pluviometría y elevada evaporación. Además, un factor añadido que está contribuyendo a agravar el problema de la salinidad es la gestión ineficaz de los recursos hídricos. El problema es tan grave que, a nivel global, más del 20% de los cultivos de regadío están afectados por la salinidad (3). A nivel fisiológico, las elevadas concentraciones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> provocan, inicialmente, un estrés osmótico en la planta que afecta a su capacidad para absorber agua y nutrientes y, posteriormente, cuando el estrés es más severo, los niveles de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> pueden alcanzar niveles tóxicos que provocan graves daños celulares. En este sentido, se ha demostrado que el estrés salino genera un desequilibrio metabólico que conduce a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el oxígeno singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), el ion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y los radicales hidroxilo (•OH) manifestándose como estrés oxidativo (4–7). El aumento de la producción de ROS puede alterar la homeostasis celular y el metabolismo normal a través del daño oxidativo de las macromoléculas esenciales (8).

Para mejorar la tolerancia a la salinidad de los cultivos, se han utilizado diferentes estrategias, tanto a nivel biológico como agrotecnológico. Una estrategia de mejora de la tolerancia a la salinidad que ha demostrado alta eficacia, tanto en cultivos leñosos como hortícolas, es el injerto. En particular, el uso del injerto comercial en especies hortícolas ha aumentado espectacularmente en las últimas décadas debido a los importantes beneficios que genera, principalmente la resistencia a enfermedades de suelo y la tolerancia a estreses abióticos como la salinidad y siendo capaz de modular las respuestas de crecimiento y productividad en condiciones de estrés abiótico.

En un trabajo publicado recientemente se ha visto que el portainjerto induce respuestas diferenciales de desarrollo (crecimiento vegetativo *versus* desarrollo productivo) en plantas de pimiento sometidas a estrés salino moderado, que están asociadas a cambios en el balance hormonal de la planta (9). Dado que se ha demostrado que las hormonas vegetales son capaces de modular el metabolismo antioxidativo, el objetivo de este trabajo ha sido completar el estudio anterior para determinar las respuestas diferenciales en el metabolismo antioxidativo mediadas por el portainjerto en plantas de pimiento en condiciones de salinidad moderada.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal y condiciones del cultivo

Se evaluaron plantas de pimiento de la variedad comercial ‘Gacela’ ‘F1’ (Syngenta Seeds, USA) injertadas sobre tres porta-injertos comerciales: ‘Atlante’ (Ramiro Arnedo, España), ‘Creonte’ (De Ruiters-Monsanto Seeds-Bayer Crop Science, Alemania) y ‘Terrano’ (Syngenta Seeds, USA). Las plantas de Gacela F1 sin injertar se usaron como controles. Las plantas injertadas se trasplantaron individualmente a macetas de 20 L. y se distribuyeron en filas en un invernadero multitúnel con una separación de 40 cm entre plantas y 100 cm entre filas. El tratamiento de salinidad se inició 15 días después del trasplante, añadiendo NaCl a una solución nutritiva Hoagland estándar hasta llegar a una concentración final de 35 mM, y recibiendo el control, la solución nutritiva original.

### 2.2 Determinación de peroxidación lipídica, compuestos fenólicos y ascorbato peroxidasa

La peroxidación lipídica, los fenoles totales y la actividad de la enzima ascorbato peroxidasa (APX) se determinaron en hoja de acuerdo a la metodología descrita por Piñero et al. (10).

### 2.3 Diseño experimental

Los valores medios de las distintas combinaciones de injertos y del tratamiento salino se compararon utilizando el test Tukey con  $P \leq 0,05$ , utilizando el software SPSS para Windows (Versión 25.0, SPPSS Inc., Chicago, IL, USA).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estrés salino moderado no modificó de forma significativa los valores de peroxidación lipídica. Sin embargo, sí que se produjo una disminución significativa de la peroxidación lipídica en todas las combinaciones de injerto con respecto a las plantas Gacela F1 no injertadas en condiciones de estrés salino (Fig. 1a). Dado que la peroxidación lipídica es un indicador de la degradación oxidativa de los lípidos, este parámetro se utiliza como indicador del daño oxidativo de las membranas celulares (11). En este sentido, todos los portainjertos comerciales evaluados redujeron el daño oxidativo de membranas celulares en condiciones de estrés salino a través de la regulación del balance hormonal de la planta (9).

En condiciones control, las concentraciones de fenoles totales fueron significativamente inferiores en las plantas injertadas. Sin embargo, la salinidad provocó un incremento de los niveles de fenoles en todas las combinaciones de injertos, siendo significativa en plantas injertadas sobre Terrano (Fig. 1b). Se ha demostrado que los fenoles juegan un papel muy importante frente al estrés oxidativo, reduciendo los niveles de ROS y manteniendo el crecimiento en condiciones de estrés salino (12). Por tanto, el mayor crecimiento y productividad observada en condiciones de estrés salino moderado en plantas injertadas sobre portainjertos comerciales (9) podría ser explicada por una mayor capacidad de detoxificación de ROS.

La actividad de la enzima ascorbato peroxidasa disminuyó de forma significativa en plantas injertadas sobre Terrano en condiciones control. Sin embargo, la salinidad no afectó a la actividad de esta enzima en plantas injertadas sobre Terrano, pero sí que provocó una fuerte disminución en las plantas injertadas sobre Atlante y Creonte y en las plantas Gacela F1 sin injertar (Fig. 1c). De hecho, las plantas injertadas sobre Atlante presentaron valores de actividad ascorbato peroxidasa significativamente inferiores a las otras combinaciones y a las plantas Gacela F1 en condiciones de estrés salino. La ascorbato peroxidasa es una enzima clave en el ciclo del glutatión-ascorbato, que resulta fundamental para la detoxificación del peróxido de hidrógeno (13). Las plantas injertadas sobre Atlante fueron las que presentaron una mayor disminución de la biomasa vegetativa en condiciones de estrés salino (9), lo cual podría ser explicado por la fuerte disminución de la actividad ascorbato peroxidasa observada. Sin embargo, esta enzima no parece tener un papel clave en la detoxificación del estrés oxidativo producido por la salinidad en los portainjertos estudiados.

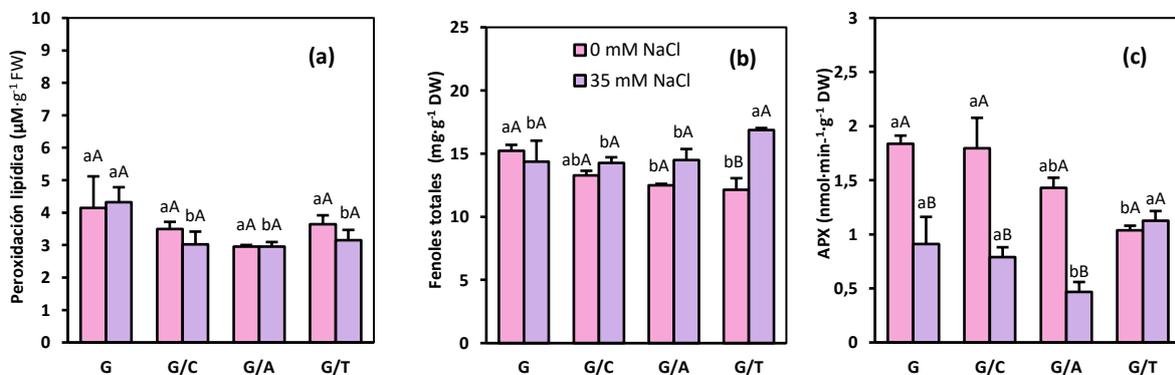
### 4. CONCLUSIONES

El portainjerto provoca respuestas diferenciales en el crecimiento y la productividad de plantas de pimiento cultivadas en condiciones de salinidad moderada, asociadas a cambios en el balance hormonal. En este trabajo se ha visto que las respuestas de tolerancia al estrés salino mediadas por el portainjerto parecen estar reguladas por un control hormonal del metabolismo antioxidativo. En concreto, el daño oxidativo estudiado a través de la peroxidación lipídica fue menor en todas las combinaciones de injertos con respecto de las plantas Gacela F1 no injertadas. Además, las concentraciones de fenoles totales, moléculas con una fuerte capacidad antioxidante, aumentaron con la salinidad, especialmente en plantas injertadas sobre Terrano. La disminución actividad ascorbato peroxidasa se asoció a la fuerte disminución del crecimiento vegetativo en plantas injertadas sobre Atlante en condiciones de estrés salino, pero no parece tener un papel principal en las respuestas de tolerancia.

### 5. REFERENCIAS

1. Colla G, Rouphael Y, Leonardi C, Bie Z. Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Sci Hort.* 2010;127:147-55.

2. Modarelli GC, Roupheal Y, De Pascale S, Öztekin GB, Tüzel Y, Orsini F, et al. Appraisal of salt tolerance under greenhouse conditions of a cucurbitaceae genetic repository of potential rootstocks and scions. *Agronomy*. 2020 Jul 1;10(7):967.
3. Roychoudhury A, Paul S, Basu S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Rep*. 2013;32:985–1006.
4. Rajaei SM, Niknam V, Seyedi SM, Ebrahimzadeh H, Razavi K. Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. *Biol Plant*. 2009;53(3):523–9.
5. Chaves MM, Miguel Costa J, Madeira Saibo NJ. Recent Advances in Photosynthesis Under Drought and Salinity. *Adv Bot Res*. 2011;57:49–104.
6. Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch Biochem Biophys*. 2005;44:139–58.
7. Acosta-Motos JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco MJ, Hernandez JA. Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*. 2017;7(1):18.
8. Abdelgawad H, Zinta G, Hegab MM, Pandey R, Asard H, Abuelsoud W. High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs. *Frontiers in plant science*. 2016;7:276.
9. Gálvez A, Albacete A, Martínez-Andújar C, Del Amor FM, López-Marín J. Contrasting rootstock-mediated growth and yield responses in salinized pepper plants (*Capsicum annuum* L.) are associated with changes in the hormonal balance. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7).
10. Piñero MC, Pérez-Jiménez M, López-Marín J, Varó P, del Amor FM. Differential effect of the nitrogen form on the leaf gas exchange, amino acid composition, and antioxidant response of sweet pepper at elevated CO<sub>2</sub>. *Plant Growth Regul*. 2018 Sep 1;86(1):37–48.
11. Hernández JA, Jiménez A, Mullineaux P, Sevilla F. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ*. 2000;23:853–62.
12. Berwal MK, Kumar R, Prakash K, Rai GK, Hebbar KB. Antioxidant Defense System in Plants Against Abiotic Stress. In: *Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Plants*. CRC Press; 2020:175–202.
13. Khan MH, Panda SK. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiol Plant*. 2008 Jan;30(1):81–9.



**Figura 1.** (a) Peroxidación lipídica, (b) Fenoles totales y (c) actividad antioxidante ascorbato peroxidasa en hojas de plantas de pimiento de la variedad comercial ‘Gacela F1’ no injertadas (G) o injertadas sobre tres porta-injertos comerciales Creonte (G/C), Atlante (G/A) y Terrano (G/T), y cultivadas en condiciones control (0 mM NaCl) y salinidad (35 mM NaCl). Las barras muestran la media de 5 plantas ± SE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas debido al tratamiento salino, mientras que diferentes letras minúsculas las muestran entre combinaciones de injerto de acuerdo con el test Tukey ( $P \leq 0,05$ ).