



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador | Sede
Ibarra



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS AMBIENTALES Y VETERINARIA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERA ZOOTECNISTA**

**ROL DEL CALCIO (Ca^{2+}) EN LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA CBL–CIPK Y SU
INFLUENCIA EN LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN ALFALFA (*Medicago
sativa L.*).**

YASSIRA MAYERLI MORALES IMBA

TUTOR: MARITZA DE LOS ÁNGELES MIER QUIROZ

**IBARRA – ECUADOR
MARZO, 2026**

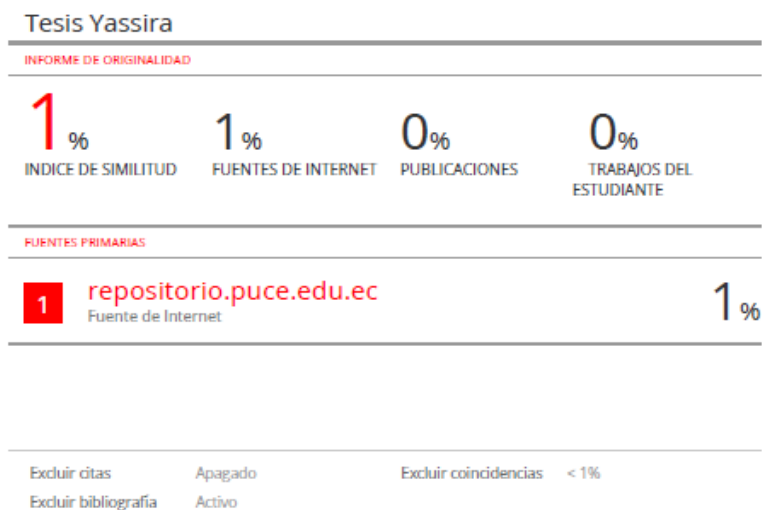
Ibarra, 05 de marzo de 2026


CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo d integración curricular titulado: **ROL DEL CALCIO (CA²⁺) EN LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA CBL–CIPK Y SU INFLUENCIA EN LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN ALFALFA (*Medicago sativa L.*)**., presentado por el estudiante **Morales Imba Yassira Mayerli** con cédula de ciudadanía N°**1754678066**, para obtener el Título de **INGENIERA ZOOTECNISTA**.

Certifico que el trabajo cumple con todos los parámetros establecidos, mediante el cual el estudiante demuestra el desarrollo de competencias en el campo de conocimiento de su profesión con un nivel de argumentación coherente, para ser sometido a la evaluación por parte de los lectores.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de originalidad de TURNITIN.



(f): 
Mgs. Maritza de los Ángeles Mier Quiroz
TUTOR DE TRABAJO
C.C.: 1002878287

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El tribunal examinador, aprueba el presente trabajo en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra:



(f):

Mgs. Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

C.C.: 1002878287



(f):

Msc. Edmundo Rene Recalde

C.C.: 1001774494



(f):

Msc. Luis Humberto Haro Bedon

C.C.: 1002739389

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, *Morales Imba Yassira Mayerli*, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derechos de disponer de sus derechos o autorizar las utilidades de sus obras o prestaciones a título gratuito y oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 05 de marzo de 2026



(f): _____

Morales Imba Yassira Mayerli

C.C.: 1754678066

AUTORIA

Yo, *Morales Imba Yassira Mayerli*, portador(a) de la cedula de ciudadanía N° 1754678066, declaro que la presente trabajo de investigación es de total responsabilidad de la autor(a), y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



(f):.....

Morales Imba Yassira Mayerli

C.C.: 1754678066

Tipo de artículo: científico.

Rol del calcio (Ca^{2+}) en la activación de la vía CBL–CIPK y su influencia en la tolerancia al estrés salino en alfalfa (*Medicago sativa* L.).

Artículo recibido en mes, año, día. Aceptado después de revisión, en mes, año, día. Publicado en mes, año, día.

Yassira Mayerli Morales Imba

<https://orcid.org/0009-0002-2639-0548>

Resumen

La salinidad del suelo constituye una de las principales formas de estrés abiótico que condiciona el desempeño fisiológico de las plantas, debido a su impacto negativo sobre la absorción hídrica, la homeostasis iónica y la estabilidad metabólica de los tejidos vegetales. Frente a este escenario, el calcio (Ca^{2+}) desempeña un papel central no solo como componente estructural, sino principalmente como segundo mensajero en la activación de rutas de señalización que permiten a la planta percibir y responder al estrés salino. En particular, la vía Calcineurin B-like (CBL)-CBL-interacting protein kinases (CIPK) actúa como un sistema molecular clave para decodificar las firmas cálcicas inducidas por la salinidad y regular procesos asociados al balance iónico, el control redox y la estabilidad fisiológica. En especies forrajeras como *Medicago sativa* L., la activación eficiente de la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK resulta particularmente relevante, dado su impacto directo sobre la tolerancia al estrés salino y la sostenibilidad productiva del cultivo. Mediante una revisión bibliográfica de estudios publicados entre 2010 y 2025, obtenidos de bases de datos indexadas como Scopus, ScienceDirect y Web of Science, se analizó el rol del Ca^{2+} en la activación de la vía CBL-CIPK y su contribución a los mecanismos de tolerancia al estrés salino en *Medicago*, integrando evidencia fisiológica, molecular y genómica proveniente de leguminosas forrajeras y especies modelo relacionadas. Los trabajos revisados muestran que la señalización dependiente de Ca^{2+} permite regular de manera eficiente la relación Na^+/K^+ , activar sistemas antioxidantes y mantener la funcionalidad fotosintética bajo condiciones salinas, destacándose genes como *MsCIPK2*, *MsCIPK4* y *MtCBL13* en genotipos con mayor tolerancia.

Palabras clave: señalización cálcica; estrés abiótico; homeostasis iónica; expresión génica.

Abstract

Soil salinity is one of the main forms of abiotic stress that constrains plant physiological performance due to its negative impact on water uptake, ionic homeostasis, and the metabolic stability of plant tissues. In this context, calcium (Ca^{2+}) plays a central role not only as a structural component but, primarily, as a second messenger in the activation of signaling pathways that enable the plant to perceive and respond to salt stress. In particular, the Calcineurin B-like (CBL)-CBL-interacting protein kinases (CIPK) pathway acts as a key molecular system for decoding salinity-induced calcium signatures and regulating processes associated with ionic balance, redox control, and physiological stability. In forage species such as *Medicago sativa* L., the efficient activation of the Ca^{2+} -CBL-CIPK pathway is especially relevant, given its direct impact on salt-stress tolerance and the productive sustainability of the crop. Through a literature review of studies published between 2010 and 2025, retrieved from indexed databases such as Scopus, ScienceDirect, and Web of Science, the role of Ca^{2+} in activating the CBL-CIPK pathway and its contribution to salt-stress tolerance mechanisms in *Medicago* were analyzed, integrating physiological, molecular, and genomic evidence from forage legumes and related model species. The reviewed studies show that Ca^{2+} -dependent signaling enables efficient regulation of the Na^+/K^+ ratio, activates antioxidant systems, and maintains photosynthetic functionality under saline conditions, with genes such as *MsCIPK2*, *MsCIPK4*, and *MtCBL13* standing out in genotypes with greater tolerance.

Key words: calcium signaling; abiotic stress; ionic homeostasis; gene expression.

Introducción

Los suelos agrícolas presentan una fracción fina (limo+arcilla) cuya mineralogía, en particular la presencia de filosilicatos 2:1 como esmectitas e illitas, se asocia con una elevada capacidad de intercambio catiónico (CEC) y favorece la retención de cationes intercambiables, entre ellos Ca^{2+} , en el complejo de cambio del suelo (Tan, 2010). La abundancia de Ca^{2+} en suelos minerales se relaciona con la meteorización y disolución de minerales cálcicos (p. ej., carbonatos y silicatos), y los materiales parentales ricos en Ca se han vinculado con mejoras en múltiples funciones del suelo y en la organización de redes microbianas (Rowley et al., 2018). Además, el Ca intercambiable puede contribuir a la floculación de partículas y a la estabilización de agregados y del carbono orgánico del suelo mediante mecanismos de “puente” iónico, relevantes para la estabilidad estructural edáfica (Rowley et al., 2018; Tan, 2010). Estas propiedades condicionan el suministro de Ca^{2+} hacia la rizosfera y pueden influir en la carga superficial de la raíz (p. ej., potencial zeta), modulando interacciones suelo-raíz y disponibilidad iónica en la interfase radical (Hinsinger et al., 2009).

Desde una perspectiva fisiológica, el Ca^{2+} es un catión divalente cuyo radio iónico efectivo depende del número de coordinación ($\approx 0,99$ Å en coordinación VI) y presenta hidratación fuerte en solución acuosa, propiedades que limitan su difusión libre y favorecen su rol como señal celular (Rowley et al., 2018). En células vegetales, la concentración basal de Ca^{2+} libre en el citosol se mantiene en niveles muy bajos (submicromolares; típicamente ~ 100 – 200 nM), en contraste con reservorios milimolares en apoplasto, vacuola y retículo endoplásmico, lo que establece gradientes electroquímicos clave para señales rápidas y transitorias (Dodd et al., 2010). Esta compartimentalización permite que cambios espacio-temporales en Ca^{2+} (firmas cálcicas) codifiquen información específica del estímulo y activen respuestas diferenciales (Dodd et al., 2010; McAinsh & Pittman, 2009).

En la interacción planta-ambiente, estímulos abióticos, como salinidad, perturbaciones osmóticas, frío o desequilibrios nutricionales, alteran la homeostasis celular y disparan señalización dependiente de Ca^{2+} como sistema integrador de la percepción y transducción del estrés (Ye et al., 2025a). En salinidad, el exceso de Na^+ impone un componente osmótico e iónico que perturba el balance Na^+/K^+ y exige respuestas coordinadas de transporte y señalización (Hualpa-Ramirez et al., 2024; Munns & Tester, 2008).

La activación de vías dependientes de Ca^{2+} se inicia con la apertura de canales permeables a Ca^{2+} y la liberación desde reservorios internos, seguida por mecanismos de remoción (Ca^{2+} -ATPasa y antiportadores $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$) que restauran niveles basales y, al hacerlo, generan firmas cálcicas con patrones de amplitud, frecuencia y duración (Dodd et al., 2010). Por ejemplo, un estímulo osmótico puede inducir incrementos rápidos de Ca^{2+} citosólico en raíz, mientras que señales hormonales como ABA pueden inducir oscilaciones en Ca^{2+} citosólico en células diana, evidenciando especificidad de firma según el estímulo (Du et al., 2025a).

Entre los sensores que decodifican estas firmas se encuentran las proteínas Calcineurin B-like (CBL), que poseen motivos EF-hand para unión a Ca^{2+} y cuya localización subcelular puede depender de modificaciones lipídicas, aportando especificidad espacial a la señal (Batistič & Kudla, 2012; Weinl & Kudla, 2009). En condiciones de señalización, las CBL reclutan quinasas CIPK para formar complejos CBL-CIPK que regulan directamente transportadores y bombas, actuando como interfaz entre el Ca^{2+} y la reprogramación de la homeostasis iónica (Batistič & Kudla, 2012; Feyissa et al., 2021; Luan, 2009).

En estrés salino, aumentos de Na^+ inducen señales de Ca^{2+} y activan rutas como SOS, donde el complejo CBL4/SOS3-CIPK24/SOS2 activa el antiportador SOS1, promoviendo la extrusión de Na^+ y contribuyendo a restaurar un balance Na^+/K^+ compatible con el metabolismo (Hinsinger et al., 2009). Un Na^+/K^+ citosólico equilibrado es crítico porque K^+ participa en múltiples procesos metabólicos (incluida activación enzimática) y su desplazamiento por Na^+ compromete el funcionamiento celular; por ello, la regulación de transportadores de Na^+ y K^+ es un eje central de tolerancia (WANG et al., 2016). Además, componentes del sistema SOS se han vinculado con la energización de membranas mediante bombas de H^+ (particularmente la H^+ -ATPasa vacuolar), reforzando el transporte secundario y la compartimentalización iónica en condiciones salinas (Y.-Y. Wang et al., 2026).

A nivel fisiológico, en alfalfa se han documentado estrategias tisulares diferenciadas entre cultivares contrastantes, incluyendo restricción de acumulación iónica en parte aérea bajo ciertos niveles de salinidad y respuestas tisulares específicas, lo que contribuye a explicar variación genotípica en tolerancia (Bhattarai et al., 2021). En *Medicago sativa* se han identificado y caracterizado familias CBL y CIPK, y se ha descrito su expresión diferencial frente a estrés por sal y sequía, respaldando la relevancia de este módulo en la adaptación al estrés en la especie (Feyissa et al., 2021; Singer et al., 2023; Wan et al., 2023).

La nutrición mineral vegetal se sustenta en la presencia de iones en la solución del suelo y en la capacidad de la raíz para convertir gradientes electroquímicos en flujos de entrada mediante sistemas de transporte selectivo en membrana plasmática (Kirkby, 2011; Maathuis, 2009). Iones con alta movilidad en el continuo suelo-raíz, como el nitrato (NO_3^-), se incorporan mediante sistemas de alta y baja afinidad cuya regulación se integra con señales de estado nutricional a nivel planta completa (Y.-Y. Wang et al., 2026). El potasio (K^+) se adquiere por canales y transportadores con comportamiento de doble afinidad, y su control permite sostener homeostasis iónica y rendimiento bajo variaciones externas (Nieves et al., 2014). En contraste, el fosfato (principalmente como H_2PO_4^-) suele generar zonas de agotamiento cercanas a la raíz, por lo que su adquisición depende fuertemente de procesos espaciales asociados a la exploración de ápices radicales y respuestas locales del sistema radical (Nussaume et al., 2011).

Tras la absorción, muchos nutrientes presentan movilidad simplástica y redistribución por floema hacia órganos sumidero, lo que sostiene un control integrativo de la economía mineral de la planta (White & Broadley, 2003). En el caso del nitrógeno, la señalización asociada al NO_3^- coordina distribución y uso en distintos tejidos, conectando disponibilidad externa con decisiones metabólicas internas (Gao et al., 2022). Para el fósforo, la eficiencia de captura y movilización interna se relaciona con mecanismos de transporte y partición tisular que condicionan crecimiento y productividad bajo baja disponibilidad edáfica (Bucher, 2007). En conjunto, la coordinación entre transporte radial, carga vascular y redistribución permite que la planta sostenga crecimiento aun cuando los suministros del suelo fluctúan (Kirkby, 2011).

Sin embargo, no todos los elementos esenciales siguen la lógica “entrada-redistribución”, y el calcio (Ca^{2+}) es el caso paradigmático por su limitada movilidad floemática y su fuerte dependencia del flujo xilemático (Gilliham et al., 2011). El Ca^{2+} se transloca preferentemente hacia los órganos aéreos con la corriente transpiratoria, lo que genera patrones de distribución estrechamente acoplados a la hidráulica

y al balance hídrico del tejido (Gilliham et al., 2011). Su baja redistribución por floema se asocia a la alta afinidad por sitios de intercambio en pared celular y a su participación en el mantenimiento de estructuras celulares, lo que favorece su inmovilización una vez depositado (White & Broadley, 2003). Por ello, la disponibilidad tisular de Ca^{2+} depende de un suministro continuo y espacialmente dirigido desde la raíz, en lugar de compensaciones internas por remobilización (Kirkby, 2011)

Esta singularidad se vuelve crítica en tejidos con transpiración relativamente baja o con crecimiento rápido, donde pueden presentarse deficiencias locales aun cuando el Ca^{2+} sea suficiente a nivel edáfico, debido a limitaciones de entrega vía xilema (Hocking et al., 2016). La distribución diferencial de Ca^{2+} también se vincula con la funcionalidad hidráulica y con “cuellos de botella” anatómicos que limitan su llegada a ciertos órganos y etapas del desarrollo (Gilliham et al., 2011). En consecuencia, el Ca^{2+} debe entenderse como un nutriente cuya fisiología de transporte impone restricciones particulares de manejo agronómico, especialmente cuando las condiciones ambientales modifican transpiración y flujo xilemático (White, 2000). Esta condición, además, adquiere relevancia adicional porque el Ca^{2+} no solo cumple funciones estructurales, sino que también se reconoce como un ion con roles regulatorios celulares, lo que exige importancia entre suministro, distribución y control intracelular en etapas posteriores del desarrollo conceptual (Hirschi, 2004).

El calcio (Ca^{2+}) desempeña en las células vegetales un papel distintivo como segundo mensajero intracelular, función que se fundamenta en el mantenimiento de concentraciones basales extremadamente bajas de Ca^{2+} libre en el citosol en comparación con otros compartimentos celulares (Hepler, 2005). Esta característica permite que variaciones pequeñas y transitorias en la concentración citosólica del ion sean interpretadas como señales informacionales y no como simples fluctuaciones nutricionales (Hirschi, 2004). La existencia de este gradiente electroquímico pronunciado entre el citosol, el apoplasto y los reservorios endomembranosos constituye una condición fisiológica indispensable para la señalización dependiente de Ca^{2+} en plantas superiores (Dodd et al., 2010).

El mantenimiento de la homeostasis citosólica del Ca^{2+} requiere la acción coordinada de sistemas de transporte activo y de secuestro intracelular que limitan la acumulación libre del ion y previenen efectos citotóxicos (Conn et al., 2011). Entre estos sistemas se incluyen bombas Ca^{2+} -ATPasa y antiportadores $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$, cuya actividad restablece rápidamente las concentraciones basales tras un evento de señalización (Sanders et al., 2002). Este control dinámico garantiza que la señalización cálcica opere sobre pulsos discretos y reversibles, preservando la capacidad de respuesta de la célula frente a estímulos sucesivos (Dodd et al., 2010).

En este contexto, la señalización por Ca^{2+} se organiza en patrones espacio-temporales específicos que son posteriormente decodificados por sensores moleculares especializados, permitiendo la activación de respuestas celulares altamente reguladas (McAinsh & Pittman, 2009). Estas señales adoptan configuraciones definidas conocidas como firmas cálcicas, cuya amplitud, duración, frecuencia y localización subcelular permiten a la célula discriminar entre estímulos ambientales de distinta naturaleza (Dodd et al., 2010). Estas firmas constituyen la unidad informacional básica de la señalización dependiente de Ca^{2+} y son esenciales para la activación selectiva de respuestas fisiológicas específicas (Kudla et al., 2018).

La generación de firmas cálcicas se produce a partir de la apertura regulada de canales de Ca^{2+} localizados en la membrana plasmática y en compartimentos endomembranosos, así como de la liberación controlada del ion desde reservorios intracelulares (Demidchik et al., 2018). De manera complementaria, la terminación de la señal depende de mecanismos de remoción que extinguen el pulso cálcico y restablecen el estado basal del citosol (Albornoz et al., 2023). Esta alternancia precisa entre activación y apagado confiere al sistema de señalización cálcica una elevada resolución temporal y evita la pérdida de especificidad de la señal (Kudla et al., 2018).

Como resultado, el Ca^{2+} se consolida como un mensajero intracelular de alta fidelidad, capaz de traducir perturbaciones externas en señales celulares específicas sin comprometer la homeostasis global del ion (McAinsh & Pittman, 2009). Esta propiedad distingue al Ca^{2+} de otros nutrientes minerales como K^+ o NO_3^- , cuyos cambios citosólicos no presentan la misma capacidad de codificación informacional (Hirschi, 2004). Sobre esta base fisiológica se organiza la posterior decodificación molecular de las señales cálcicas, que será abordada en el siguiente bloque mediante el análisis de los sensores y quinasas especializadas que integran estas respuestas.

La activación del módulo de señalización Ca^{2+} -CBL-CIPK constituye un proceso de decodificación molecular mediante el cual las firmas cálcicas generadas en el citosol son traducidas en respuestas bioquímicas específicas (Kolukisaoglu et al., 2004). Este módulo está compuesto por sensores de Ca^{2+} de la familia Calcineurin B-like (CBL) y por quinasas Ser/Thr denominadas CBL-interacting protein kinases (CIPK), cuya interacción funcional depende estrictamente de la presencia de Ca^{2+} libre y de la localización subcelular del complejo (Luan, 2009). En este contexto, el Ca^{2+} no actúa como efector directo, sino como señal primaria que condiciona la formación del complejo sensor-efector (Kudla et al., 2018).

Las proteínas CBL constituyen una familia específica de plantas caracterizada por la presencia de dominios EF-hand capaces de unir Ca^{2+} con afinidades diferenciadas, lo que les permite responder selectivamente a variaciones en la concentración citosólica del ion (Batistič & Kudla, 2012). La unión de Ca^{2+} induce cambios conformacionales en las CBL que exponen superficies de interacción con quinasas CIPK, habilitando la transmisión de la señal hacia niveles posteriores de regulación (Weinl & Kudla, 2009). Además, muchas CBL presentan señales de direccionamiento subcelular mediadas por modificaciones lipídicas, como miristoilación o palmitoilación, que determinan el compartimento en el que se ensambla el complejo funcional (Batistič et al., 2010).

Las CIPK son quinasas Ser/Thr que actúan como efectores catalíticos del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK y permanecen en un estado autoinhibido en ausencia de señal cálcica (Luan, 2009). La interacción con una CBL cargada con Ca^{2+} provoca la liberación del dominio autoinhibitorio de la CIPK, activando su capacidad de fosforilación sobre proteínas diana (Kolukisaoglu et al., 2004). Estas quinasas no presentan actividad constitutiva, lo que garantiza que la fosforilación de dianas ocurra únicamente cuando una firma cálcica válida ha sido previamente decodificada (Kudla et al., 2018).

La especificidad funcional del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK no depende únicamente de la identidad de las proteínas involucradas, sino también de su localización subcelular y del contexto tisular en el que se activa la señal (Batistič & Kudla, 2012). Diferentes combinaciones de isoformas CBL y CIPK pueden ensamblarse en compartimentos como la membrana plasmática, el tonoplasto o el retículo endoplásmico, determinando qué proteínas diana serán fosforiladas y, por tanto, qué respuesta fisiológica será ejecutada (Weinl & Kudla, 2009). Esta arquitectura modular permite que un mismo ion mensajero, el Ca^{2+} , active respuestas distintas dependiendo del patrón de señal y del ensamblaje del complejo (Luan, 2009).

Desde el punto de vista genético y funcional, los genes CBL y CIPK conforman familias multigénicas en plantas superiores, lo que amplía el repertorio de combinaciones sensor–quinasa disponibles y confiere una elevada plasticidad al sistema de señalización dependiente de Ca^{2+} (Kolukisaoglu et al., 2004). La expresión diferencial de estos genes en respuesta a estímulos ambientales y en tejidos específicos condiciona la disponibilidad de complejos CBL–CIPK funcionales, integrando la señalización iónica con mecanismos de regulación transcripcional y control postraduccional de la actividad enzimática (Batistič & Kudla, 2012; Kudla et al., 2018). En este contexto, el Ca^{2+} actúa como señal primaria cuya dinámica espacio-temporal, codificada en firmas cálcicas específicas, es detectada por sensores CBL que, tras unirse al ion, reclutan y activan quinasas CIPK responsables de la fosforilación selectiva de proteínas diana, garantizando que las respuestas celulares se activen únicamente cuando la señal cumple criterios adecuados de intensidad, duración y localización subcelular (Batistič & Kudla, 2012; Luan, 2009).

En *Medicago sativa*, la respuesta al estrés salino mediada por Ca^{2+} se organiza como una red jerárquica de señalización que conecta la percepción temprana de incrementos citosólicos del ion con respuestas fisiológicas y moleculares adaptativas (Dodd et al., 2010). A nivel genómico, se ha identificado un total de 33 genes MsCIPK, lo que refleja una expansión moderada de esta familia en alfalfa, asociada a eventos de duplicación génica derivados de su historia de poliploidía (Chen et al., 2026a). La diversidad estructural y filogenética de estos genes sugiere una especialización funcional que permite respuestas diferenciadas según el tejido y la naturaleza del estímulo abiótico (Batistič & Kudla, 2012).

Dentro de este repertorio, MsCIPK2 se ha caracterizado como un regulador positivo de la tolerancia a salinidad en *M. sativa*, dado que su activación se asocia con una mejora significativa del crecimiento bajo condiciones de NaCl (Chen et al., 2026a). A nivel fisiológico, la función de MsCIPK2 se vincula con el mantenimiento de la eficiencia fotosintética, particularmente mediante la preservación de la actividad

del fotosistema II durante el estrés salino (Bhattarai et al., 2021). Adicionalmente, se ha reportado que MsCIPK2 contribuye al control del estado redox celular mediante la activación de sistemas antioxidantes, reduciendo la acumulación de peroxidación lipídica en tejidos sometidos a salinidad (Zhang et al., 2017).

De manera complementaria, MsCIPK4 participa en la respuesta adaptativa de alfalfa frente a estrés salino y sequía, actuando como un modulador de la tolerancia durante fases prolongadas del estrés (Du et al., 2025a). La activación de MsCIPK4 se asocia con un incremento en la capacidad de eliminación de especies reactivas de oxígeno, lo que contribuye a la protección de membranas y proteínas frente al daño oxidativo (Mittler, 2017). Este mecanismo permite sostener la homeostasis metabólica y estructural de la célula vegetal bajo condiciones de estrés iónico persistente (Leng et al., 2025).

En el nivel de percepción de la señal cálcica, las proteínas de la familia CBL actúan como sensores primarios de los incrementos transitorios de Ca^{2+} citosólico inducidos por estrés abiótico (Luan, 2009). En leguminosas del género *Medicago*, se ha demostrado que CBL13 se localiza preferentemente en la membrana plasmática y se expresa de forma predominante en tejidos radicales, donde participa en la modulación de respuestas dependientes de ácido abscísico (Wassie et al., 2023). Esta localización subcelular resulta crítica para la especificidad de la señal, ya que condiciona la activación selectiva de quinasas CIPK asociadas a la homeostasis iónica (Batistić et al., 2010).

Además del eje CBL–CIPK, la señalización por Ca^{2+} en alfalfa incluye sensores alternativos pertenecientes a la familia calmodulin-like, los cuales integran la señal iónica con rutas metabólicas adaptativas (McCormack et al., 2005). En este contexto, MsCML50 ha sido implicada en la regulación de la acumulación de azúcares compatibles, contribuyendo al ajuste osmótico celular bajo condiciones de estrés (Li et al., 2010). Asimismo, la activación de MsCML50 se asocia con una reducción del daño oxidativo, lo que refuerza la tolerancia metabólica frente a la salinidad (Gill & Tuteja, 2010).

A nivel nuclear, la respuesta al estrés salino involucra la activación de factores de transcripción que operan downstream de la señalización cálcica (Ranty et al., 2016). El factor MsNF-YC4 ha sido identificado como un regulador positivo del desarrollo radicular en *M. sativa*, promoviendo la ramificación y elongación de raíces en ambientes salinizados (Gao et al., 2022). Esta reprogramación del crecimiento radicular favorece la exploración del suelo y la absorción de agua, contribuyendo a la adaptación morfológica frente a condiciones edáficas adversas (Munns & Tester, 2008).

Finalmente, la respuesta prolongada al estrés salino incorpora mecanismos de regulación postranscripcional mediados por microARN, los cuales modulan la expresión génica asociada a tolerancia (Sunkar et al., 2007). En *Medicago*, el módulo miR156–SPL se ha vinculado con ajustes del desarrollo y con la estabilización de la respuesta adaptativa durante exposiciones prolongadas a NaCl (Feyissa et al., 2021). Este sistema actúa como una capa regulatoria tardía que consolida los cambios fisiológicos inducidos por la señalización cálcica sostenida (Khraiwesh et al., 2012).

Sobre esta base molecular general, la activación del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK adquiere relevancia particular en especies forrajeras como *Medicago sativa*, donde la organización genómica y funcional de estos componentes condiciona la eficiencia de la respuesta frente al estrés salino (F. Chen et al., 2026a). Además de la exclusión de Na^+ , el módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK participa en la compartimentalización vacuolar de cationes y en el ajuste del potencial de membrana, contribuyendo a estabilizar el entorno iónico intracelular bajo condiciones salinas (Hu et al., 2025). Estas acciones se complementan con la regulación indirecta de bombas H^+ -ATPasa y otros transportadores secundarios, lo que permite sostener gradientes electroquímicos necesarios para el transporte activo en situaciones de estrés prolongado (Wei et al., 2021). De este modo, la señalización cálcica no solo activa respuestas de emergencia, sino que contribuye al mantenimiento de la homeostasis a medio plazo.

El estrés salino también induce un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales actúan tanto como agentes dañinos como señales secundarias que modulan la respuesta celular (Mittler, 2017). En este contexto, la interacción entre señalización cálcica y redox resulta clave, ya que el módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK puede influir en la activación de sistemas antioxidantes y en la regulación de la expresión génica asociada a la detoxificación oxidativa (Sanders et al., 2002). Esta

integración funcional permite coordinar la respuesta iónica con la protección frente al estrés oxidativo inducido por la salinidad.

En conjunto, el módulo de señalización Ca^{2+} -CBL-CIPK actúa como un eje central que vincula la percepción temprana del estrés salino con respuestas celulares orientadas a restablecer la homeostasis iónica, mantener la integridad metabólica y sostener la viabilidad celular bajo condiciones adversas (WANG et al., 2016). La eficacia de este sistema depende tanto de la generación adecuada de señales cálcicas como de la correcta decodificación molecular y ejecución de las respuestas, sentando las bases para las diferencias de tolerancia observadas entre especies y genotipos, que serán analizadas específicamente en *Medicago sativa* en el siguiente bloque (He et al., 2024).

La tolerancia diferencial al estrés salino observada entre especies vegetales no depende únicamente de la presencia de mecanismos generales de señalización, sino de la organización genómica, regulación transcripcional y eficiencia funcional de dichos sistemas en contextos fisiológicos específicos (Munns & Tester, 2008). En cultivos forrajeros como *Medicago sativa* L., estas diferencias adquieren relevancia productiva debido a su sensibilidad moderada a la salinidad y a la necesidad de sostener crecimiento y calidad forrajera en ambientes edáficos limitantes (Z. Chen et al., 2023). En este marco, el análisis del módulo de señalización Ca^{2+} -CBL-CIPK en *Medicago* permite identificar particularidades que explican su comportamiento frente al estrés salino (Singer et al., 2023).

Desde el punto de vista genómico, *Medicago sativa* presenta una organización compleja de las familias génicas *CBL* y *CIPK*, caracterizada por procesos de duplicación y retención génica asociados a su historia de poliploidía, lo que amplía el repertorio potencial de combinaciones sensor–quinasa disponibles para la señalización cálcica (Niu et al., 2022). Esta expansión génica no implica redundancia funcional estricta, sino una diversificación regulatoria que permite respuestas específicas según tejido, estadio de desarrollo y tipo de estímulo ambiental ((Ye et al., 2025a). En consecuencia, la arquitectura genómica del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK en *M. sativa* proporciona una base estructural para una mayor plasticidad adaptativa frente a la salinidad (Wan et al., 2023).

A nivel transcripcional, diversos estudios han demostrado que genes *MsCBL* y *MsCIPK* presentan patrones de expresión inducibles por estrés salino, con una regulación particularmente marcada en tejidos radicales, donde ocurre la percepción primaria del exceso de Na^+ (Niu et al., 2022). Esta inducción diferencial sugiere que *Medicago* prioriza la activación del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK en el sitio de entrada del estrés, favoreciendo respuestas tempranas orientadas al control iónico (Singer et al., 2023). Además, la coexpresión coordinada de genes *CBL* y *CIPK* bajo condiciones salinas refuerza la eficiencia del ensamblaje del complejo funcional (Leng et al., 2025).

En términos funcionales, la activación del módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK en *Medicago sativa* se asocia con la regulación de transportadores iónicos implicados en la homeostasis Na^+/K^+ , así como con el ajuste del potencial de membrana y la compartimentalización vacuolar de cationes (Liu et al., 2024). Aunque el sistema SOS ha sido caracterizado principalmente en especies modelo como *Arabidopsis thaliana*, evidencias transcriptómicas y funcionales indican que componentes homólogos operan en *Medicago* mediante combinaciones específicas de CBL y CIPK adaptadas a su contexto fisiológico (Luan, 2009). Esta adaptación funcional permite mitigar la acumulación citotóxica de Na^+ y sostener procesos metabólicos dependientes de K^+ bajo salinidad moderada (Niu et al., 2022).

Adicionalmente, el módulo Ca^{2+} -CBL-CIPK en *Medicago* muestra una integración funcional con mecanismos de control redox y respuestas antioxidantes, lo que resulta particularmente relevante dado el aumento concomitante de especies reactivas de oxígeno bajo estrés salino (Singer et al., 2023). La activación coordinada de este módulo contribuye a estabilizar membranas, preservar la integridad metabólica y reducir el daño oxidativo en tejidos fotosintéticos y radicales (Leng et al., 2025). Esta integración entre señalización iónica y redox constituye una diferencia funcional relevante frente a especies más sensibles, donde la respuesta suele ser menos coordinada o transitoriamente ineficiente (Munns & Tester, 2008).

En conjunto, la especificidad del módulo de señalización Ca^{2+} -CBL-CIPK en *Medicago sativa* L. no radica en la presencia de componentes exclusivos, sino en la forma en que su genómica, regulación de expresión y ensamblaje funcional permiten una decodificación más eficiente de las señales cálcicas

inducidas por salinidad (Liu et al., 2024). Esta organización multiescala, que integra percepción radicular, activación molecular y respuesta fisiológica, explica la capacidad relativa de la *Medicago* para tolerar condiciones salinas moderadas sin comprometer severamente su crecimiento, y proporciona una base sólida para estrategias de mejoramiento genético orientadas a la resiliencia en ambientes salinizados (Ye et al., 2025a).

Metodología

El presente trabajo adoptó un enfoque teórico-cualitativo de tipo analítico y descriptivo, basado en una revisión documental sistemática de literatura científica indexada sobre los mecanismos fisiológicos y moleculares que confieren tolerancia a la salinidad en *Medicago sativa* L., con especial énfasis en la vía de señalización dependiente de calcio (Ca^{2+}) CBL–CIPK.

No se realizará experimentación directa, sino la recopilación, selección, organización y análisis crítico de fuentes académicas verificables y de alto impacto, garantizando el rigor metodológico propio de las revisiones científicas.

La búsqueda bibliográfica se llevará a cabo en bases de datos internacionales reconocidas como *ScienceDirect*, *Scopus*, *Taylor & Francis*, *Web of Science* y *SciELO*, utilizando combinaciones de palabras clave estructuradas mediante operadores booleanos (AND, OR). Entre las expresiones empleadas se incluirán:

- “*Medicago sativa*”
- “calcium signaling”
- “CBL–CIPK pathway”
- “salt stress tolerance”
- “ionic homeostasis”
- “legume forage stress physiology”

Estas cadenas de búsqueda se adaptarán a los filtros de cada plataforma (“Find articles with these terms” en *ScienceDirect* “Enter keywords, authors, DOI” en *Taylor & Francis*), priorizando resultados comprendidos entre 2015 y 2025, publicados en inglés o español, y que presenten evidencia experimental o revisiones actualizadas sobre el tema.

Criterios de inclusión

- Estudios originales o revisiones sistemáticas que analicen la relación entre el calcio (Ca^{2+}) y la tolerancia al estrés salino en especies vegetales.
- Investigaciones que describan o caractericen la vía CBL–CIPK en *Medicago sativa* L. o en especies afines de la familia Fabaceae (*Medicago truncatula*, *Trifolium pratense*, *Glycine max*, *Cicer arietinum*, *Lotus japonicus*, *Phaseolus vulgaris*), por su similitud filogenética y conservación funcional.
- Artículos con datos sobre transporte iónico (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), expresión génica, o regulación de proteínas asociadas a la homeostasis iónica en condiciones de salinidad.
- Publicaciones disponibles en revistas indexadas y arbitradas, con respaldo metodológico y resultados reproducibles.

Criterios de exclusión

- Documentos no indexados, tesis sin revisión por pares o fuentes sin respaldo científico verificable.
- Estudios enfocados en organismos no pertenecientes a leguminosas forrajeras.
- Artículos con información metodológica incompleta o sin datos experimentales claros.

Procedimiento metodológico

1. Se realizó una búsqueda estructurada en las bases de datos seleccionadas, utilizando combinaciones de los términos indicados con operadores booleanos (AND, OR) para maximizar la recuperación de estudios pertinentes.
2. Se efectuó una revisión secuencial de títulos, resúmenes y palabras clave, conservando solo los artículos que cumplan con los criterios de inclusión.
3. Se registró en una matriz bibliográfica los siguientes datos: autor, año, especie analizada, tipo y nivel de estrés salino, concentraciones iónicas, genes o proteínas involucradas y principales resultados fisiológicos o moleculares.
4. Mediante una comparación crítica entre estudios, se identificaron coincidencias, vacíos de conocimiento y patrones funcionales relacionados con la vía CBL–CIPK y la homeostasis iónica.

5. Los hallazgos se integraron en un modelo mecanístico interpretativo, que describe cómo el calcio (Ca^{2+}) activa los complejos CBL-CIPK para modular la tolerancia a la salinidad en alfalfa, estableciendo las bases para futuras investigaciones experimentales.

Resultados

Con base en el marco mecanístico desarrollado previamente, desde la generación de firmas cálcicas inducidas por salinidad hasta su decodificación mediante complejos Ca^{2+} -CBL-CIPK, esta sección organiza la evidencia disponible en *Medicago sativa* desde la arquitectura genómica del sistema hasta sus manifestaciones fisiológicas y fenotípicas, manteniendo una progresión lógica desde los niveles moleculares mínimos hacia respuestas integradas de la planta. Este enfoque evita la enumeración descriptiva de estudios y prioriza patrones funcionales convergentes reportados entre 2010 y 2025 (Al-Farsi et al., 2020; Kudla et al., 2018; Ye et al., 2025b).

Arquitectura genómica y conservación de la vía CBL-CIPK en *Medicago sativa*

Los estudios genómicos en leguminosas forrajeras han demostrado que la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK constituye un sistema de señalización altamente conservado, con relevancia funcional frente a múltiples tipos de estrés abiótico, incluida la salinidad (Ye et al., 2025b). En *Medicago sativa*, se ha identificado un repertorio de 33 genes *MsCIPK* organizados en subgrupos filogenéticos, lo que evidencia una expansión génica moderada compatible con diversificación regulatoria sin pérdida del núcleo funcional del sistema (Al-Farsi et al., 2020).

La alta similitud filogenética entre *MsCIPK* y sus ortólogos en *Medicago truncatula* sugiere conservación evolutiva de dominios catalíticos y regiones reguladoras, permitiendo extrapolar principios mecanísticos sin asumir equivalencia funcional absoluta (F. Chen et al., 2026b).. Dentro de este repertorio, *MsCIPK2* emerge de manera recurrente como un nodo regulador asociado a respuestas antioxidantes y mantenimiento del desempeño fisiológico bajo condiciones salinas (F. Chen et al., 2025).

En el componente sensor, *MtCBL13* ha sido caracterizado como una proteína asociada a membrana plasmática, con expresión predominante en raíces y un patrón de inducción transcripcional temprano y transitorio frente a estrés osmótico, posicionándola como un sensor inicial de señales cálcicas inducidas por salinidad (Wassie et al. 2023)

Cinética del Ca^{2+} como mensajero secundario e integración de señales

La exposición de *Medicago sativa* a estrés salino induce incrementos rápidos y transitorios de Ca^{2+} citosólico que actúan como señales primarias de percepción del desequilibrio iónico y osmótico (Du et al., 2025b).. Estos transitorios no representan acumulación nutricional, sino firmas cálcicas cuya amplitud, duración y frecuencia determinan qué sensores y quinasas downstream son activados (Wassie et al., 2023).

En este contexto, la inducción temprana de *MtCBL13* refleja su participación en la fase inicial de decodificación de la señal cálcica; sin embargo, la posterior atenuación de su expresión indica que su función se restringe temporalmente a la percepción temprana del estímulo, antes de que entren en acción módulos reguladores más estables (Wassie et al., 2023).

Posteriormente, quinasas dependientes de CBL, particularmente *MsCIPK2*, muestran una inducción sostenida bajo salinidad, actuando como transductores que enlazan la firma cálcica con respuestas celulares prolongadas relacionadas con homeostasis iónica y control redox (Du et al., 2025; Chen et al., 2026).

Complejos CBL-CIPK y control de efectores

La activación funcional de la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK en *Medicago sativa* se materializa mediante la formación de complejos específicos sensor–quinasa que regulan proteínas efectoras asociadas al transporte iónico y al equilibrio redox. En particular, *MsCIPK4* ha sido asociado con la activación de

transportadores de K⁺ como HAK5 y con ATPasas, contribuyendo al mantenimiento del balance Na⁺/K⁺ bajo condiciones salinas (Du et al., 2025b).

La localización subcelular diferencial de *MsCIPK4*, reportada principalmente en el retículo endoplasmático de raíces, refuerza su papel integrador entre señales iónicas y respuestas antioxidantes en el sitio primario de percepción del estrés (Du et al., 2025b).

De forma complementaria, *MsCIPK2* ha sido vinculado con la regulación de efectores asociados a la estabilidad del fotosistema II y a la mitigación del daño oxidativo, evidenciando que la vía Ca²⁺-CBL-CIPK no actúa exclusivamente sobre transporte, sino que coordina múltiples procesos fisiológicos críticos bajo salinidad (F. Chen et al., 2026b; Zhu, 2016).

Adicionalmente, algunos estudios han reportado cambios proteómicos diferenciales y efectos moduladores de la microbiota rizosférica asociados a genotipos tolerantes; no obstante, estos elementos se consideran resultados downstream o factores contextuales de la respuesta al estrés salino, y no componentes directos de la vía de señalización Ca²⁺-CBL-CIPK.

Tabla 1

Componentes clave del módulo Ca²⁺-CBL-CIPK y su relación con la tolerancia al estrés salino en *Medicago sativa*.

Componente	Nivel de acción	Función	Evidencia
<i>MsCIPK2</i>	Celular - fotosintético	Regulación antioxidante y estabilidad fotosintética	Mejora la eficiencia fotosintética, reduce MDA
<i>MsCIPK4</i>	Raíz – RE	Homeostasis iónica y antioxidante	Activación de HAK5 y ATPasas
<i>MtCBL13</i>	Membrana plasmática	Sensor temprano de Ca ²⁺	Inducción transitoria; regulación negativa
<i>MsCML50</i>	Citoplasma	Integración Ca ²⁺ - metabolismo	Síntesis de osmoprotectores
<i>MsNF-YC4</i>	Núcleo	Desarrollo radicular	Activación de MsARF8
<i>Mir156-SPL</i>	Postranscripcional	Regulación génica del estrés	Control epigenético de tolerancia

Nota: Adaptado de F. Chen et al. (2026b), Du et al. (2025b), Wassie et al. (2023), Yang et al. (2025), Gao et al. (2025), Yao et al. (2025), Gao et al. (2018) y H.-R. Wang et al. (2022).

Metabolismo, hormonas y control postranscripcional

Además de los complejos CBL-CIPK, sensores tipo calmodulina-like como *MsCML50* integran la señal de Ca²⁺ con rutas metabólicas asociadas a la síntesis de osmoprotectores, enlazando la señalización iónica con ajustes metabólicos necesarios para la tolerancia osmótica (Yang et al., 2025).

La señalización por Ca²⁺ también interactúa con rutas hormonales; *MtCBL13* ha sido asociado con la regulación de genes de señalización por ácido abscísico, lo que evidencia un crosstalk Ca²⁺-ABA relevante durante las fases iniciales del estrés salino (Wassie et al., 2023).

En niveles superiores de regulación, factores de transcripción como *MsNF-YC4* y módulos postranscripcionales como *miR156-SPL* contribuyen a la plasticidad fenotípica observada en genotipos tolerantes, particularmente en lo relativo a arquitectura radicular y balance entre crecimiento y defensa (Gao et al., 2025; Yao et al. 2025).

Expresión génica y manifestación de rasgos fenotípicos específicos

La tolerancia relativa a la salinidad en *Medicago sativa* no depende de la presencia aislada de genes del sistema Ca²⁺-CBL-CIPK, sino de patrones de expresión específicos en tiempo, tejido e intensidad, que determinan la activación coordinada de rutas iónicas, antioxidantes y metabólicas (Al-Farsi et al., 2020).

La sobreexpresión de *MsCIPK4* se ha asociado con mayor longitud radicular, incremento de la actividad de SOD, POD y CAT, y reducción de peroxidación lipídica (MDA), configurando un fenotipo con mayor capacidad de exclusión de Na^+ y menor daño oxidativo (Du et al., 2025b).

De manera similar, *MsCIPK2* ha sido vinculado con mejoras en la eficiencia fotosintética y estabilidad del PSII, así como con una disminución de marcadores de estrés oxidativo, lo que refleja su papel como integrador entre señalización cálcica y metabolismo energético (F. Chen et al., 2026b).

En contraste, una mayor expresión de *MtCBL13* se ha relacionado con efectos negativos sobre la tolerancia, incluyendo acumulación de ROS y fuga de electrolitos, lo que demuestra que ciertos sensores pueden actuar como reguladores negativos dependiendo del contexto celular y del complejo formado (Wassie et al., 2023).

Tabla 2

Evidencia funcional del módulo Ca^{2+} - CBL – CIPK en la regulación iónica

Complejo/gen	Ion regulado	Mecanismo principal	Efecto observado
<i>MsCBL2-MsCIPK4</i>	K^+	Activación de HAK5	Mantenimiento del K^+ citosólico
<i>MsCIPK2</i>	Na^+/K^+	Regulación redox-iónica	Mejora del balance iónico
<i>MtCBL13</i>	Ca^{2+}	Sensor temprano	Regulación negativa de tolerancia
<i>MsCML50</i>	Ca^{2+}	Integración metabólica	Producción de osmoprotectores

Nota: Du et al. (2025b), F. Chen et al. (2026b), Wassie et al. (2023) y Yang et al. (2025).

En la tabla 2, se expone que la activación selectiva de complejos CBL-CIPK constituye un mecanismo determinante para el mantenimiento de la homeostasis iónica bajo salinidad, reforzando el papel del Ca^{2+} como regulador maestro de la respuesta adaptativa en *Medicago* (F. Chen et al., 2026b).

Integración proteómica y rol de la rizosfera

Los análisis proteómicos han identificado conjuntos de proteínas de expresión diferencial asociados a genotipos tolerantes de *Medicago sativa*, lo que respalda la idea de que la tolerancia es un rasgo emergente de redes reguladoras complejas activadas downstream de la señalización cálcica (Gao et al., 2018).

Adicionalmente, la interacción con microbiota rizosférica puede modular rutas hormonales y metabólicas que influyen indirectamente sobre la señalización por Ca^{2+} , mejorando biomasa y eficiencia fotosintética bajo salinidad; sin embargo, los mecanismos moleculares específicos que vinculan estos microorganismos con la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK permanecen aún poco caracterizados (Wang et al., 2022).

Tabla 3

Efectos fisiológicos e iónicos del estrés salino asociados a la señalización de Ca^{2+} .

Parámetro afectado	Respuesta bajo estrés salino	Relación con Ca^{2+} / CBL-CIPK
Relación Na^+/K^+	Incremento de Na^+ y reducción de K^+ en genotipos sensibles	Regulación vía <i>MsCIPK4</i> y HAK5
Actividad SOD, CAT, POD	Disminuye en plantas sensibles; aumenta en líneas con <i>MsCIPK</i> sobre expresado	Activación antioxidante dependiente de Ca^{2+}
Peroxidación lipídica MDA	Incremento significativo bajo NaCl	Reducción en genotipos con señalización Ca^{2+} eficiente
Fotosistema II (PSII)	Fotoinhibición en genotipos sensibles	Estabilización mediada por CIPK
Longitud radicular	Reducción general por salinidad	Incremento con sobre expresión de <i>MsCIPK4</i>

Nota: Adaptado de Du et al. (2025b), F. Chen et al. (2026b) y Gao et al. (2018).

DISCUSIÓN

La información analizada en esta revisión confirma que la vía de señalización dependiente de calcio Ca^{2+} -CBL-CIPK constituye un eje regulador central en la tolerancia al estrés salino en *Medicago sativa*, al integrar señales iónicas, metabólicas y hormonales en una respuesta adaptativa coordinada. Este rol integrador concuerda con modelos actuales de señalización vegetal en los que el Ca^{2+} actúa como nexo entre la percepción del estrés y la activación de respuestas fisiológicas específicas (Al-Farsi et al., 2020). Asimismo, la conservación genómica y funcional de los componentes CBL y CIPK entre *M. sativa* y *M. truncatula* refuerza la relevancia evolutiva de esta vía y valida el uso de especies modelo para la comprensión de mecanismos funcionales en leguminosas forrajeras de interés agronómico (F. Chen et al., 2026b).

Desde una perspectiva genómica, la identificación de 33 genes *MsCIPK* organizados en subgrupos filogenéticos sugiere una diversificación funcional que permite una regulación diferencial frente a distintos tipos de estrés abiótico, sin comprometer la conservación estructural del sistema. Esta expansión moderada, observada también en otras especies de la familia Fabaceae, indica que la familia CIPK ha evolucionado para proporcionar flexibilidad regulatoria en contextos ambientales variables (Du et al., 2025b). En este marco, la recurrencia funcional de *MsCIPK2* y *MsCIPK4* en distintos estudios posiciona a estos genes como nodos centrales en la respuesta a la salinidad en *Medicago sativa* (F. Chen et al., 2026b).

A nivel de señalización, la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK se caracteriza por una dinámica altamente dependiente de la cinética del mensajero secundario, donde la amplitud y duración de los transitorios cálcicos determinan la activación selectiva de sensores y quinasas downstream. En este contexto, la inducción transitoria de *MtCBL13* durante las fases iniciales del estrés osmótico respalda su papel como sensor temprano de las firmas cálcicas generadas por la salinidad. No obstante, su asociación con efectos negativos sobre la tolerancia indica que determinadas señales de Ca^{2+} pueden activar rutas regulatorias negativas, dependiendo del complejo CBL-CIPK formado y del contexto celular en el que se decodifique la señal (Wassie et al., 2023).

Posteriormente, la activación de quinasas como *MsCIPK2* y *MsCIPK4* consolida la señal cálcica en respuestas fisiológicas sostenidas, reforzando el papel de la vía CBL-CIPK como un punto de convergencia entre la percepción iónica y la regulación funcional de la planta. La capacidad de estos complejos para modular simultáneamente la homeostasis iónica, la actividad antioxidante y la estabilidad fotosintética evidencia un alto grado de coordinación funcional necesario para sostener el crecimiento bajo condiciones de estrés salino prolongado (Gao et al., 2018). En particular, la localización subcelular diferencial de *MsCIPK4* sugiere que la compartimentalización intracelular contribuye a la especificidad de la respuesta y a la integración de señales redox e iónicas (Du et al., 2025b).

La interacción entre la señalización por Ca^{2+} y las rutas hormonales amplía el alcance regulador de la vía CBL-CIPK en *Medicago sativa*. La modulación de genes asociados a la señalización por ácido abscísico y auxinas indica que la tolerancia al estrés salino no se limita a mecanismos de detoxificación iónica, sino que involucra ajustes coordinados en el crecimiento y en la estructura radicular (Gao et al., 2025). Esta integración hormonal permite a la planta balancear la supervivencia celular con el mantenimiento del desarrollo, un aspecto crítico en especies forrajeras sometidas a estrés ambiental crónico (Al-Farsi et al., 2020).

Adicionalmente, la participación de factores de transcripción como *MsNF-YC4* y de módulos postranscripcionales como miR156-SPL revela que la regulación de la tolerancia al estrés se extiende más allá de la señalización primaria por Ca^{2+} . Estos niveles superiores de control contribuyen a la plasticidad fenotípica observada en genotipos tolerantes, particularmente en lo que respecta a la ramificación radicular, la eficiencia fotosintética y la capacidad antioxidante (F. Chen et al., 2025; Gao et al., 2025).

Desde una perspectiva fisiológica integrada, la activación de la vía Ca^{2+} -CBL-CIPK se asocia con una mejora consistente del sistema antioxidante, una mayor estabilidad del fotosistema II y la acumulación de osmoprotectores, lo que concuerda con modelos actuales de tolerancia al estrés abiótico basados en la integración entre señalización iónica, metabolismo energético y control redox (Gao et al., 2018;

Chen et al., 2026). En este sentido, la identificación de proteínas de expresión diferencial específicas de genotipos tolerantes respalda la noción de que la tolerancia al estrés salino es un rasgo emergente de redes reguladoras complejas, más que el resultado de la acción aislada de un solo gen (Ye et al., 2025b).

La influencia de la microbiota rizosférica introduce una dimensión adicional en la regulación de la tolerancia al estrés salino, sugiriendo que la señalización por Ca^{2+} puede verse modulada indirectamente por interacciones planta–microorganismo. La mejora en biomasa y eficiencia fotosintética asociada a estas interacciones refuerza la necesidad de considerar la tolerancia a la salinidad como un proceso holístico; sin embargo, los mecanismos moleculares que vinculan la microbiota con la vía CBL–CIPK en *Medicago sativa* permanecen aún poco explorados (Wang et al., 2022; F. Chen et al., 2026b).

Diversos estudios han identificado variedades y germoplasmas de *Medicago sativa* con mayor tolerancia a la salinidad, caracterizados por una mejor regulación de la relación Na^+/K^+ , menor daño oxidativo y mayor estabilidad fotosintética bajo estrés, rasgos fisiológicos compatibles con una activación más eficiente de rutas de señalización dependientes de Ca^{2+} (Anower et al., 2017). Entre estos materiales se incluyen cultivares como ‘Halo’, ‘Salado’ y ‘Bridgeview’, así como ecotipos provenientes de regiones con suelos salinos de Asia Central y Medio Oriente, los cuales presentan una respuesta adaptativa sostenida frente a NaCl en comparación con variedades sensibles (Zhang et al., 2018).

La superioridad fisiológica observada en estas variedades no se atribuye a la presencia exclusiva de genes del eje Ca^{2+} –CBL–CIPK, dado que dichos genes forman parte del genoma basal de la especie, sino a una regulación más eficiente de su expresión y activación bajo estrés salino (Kudla et al., 2018). En particular, la menor acumulación de Na^+ citosólico y la preservación de la actividad fotosintética sugieren una señalización cálcica más precisa, capaz de activar mecanismos downstream de exclusión iónica, compartimentalización vacuolar y control redox (Zhu, 2016).

En este sentido, la evidencia disponible permite inferir que la tolerancia varietal a la salinidad en *Medicago sativa* está estrechamente vinculada a la eficiencia funcional del eje Ca^{2+} –CBL–CIPK, más que a diferencias estructurales en la dotación génica (Munns et al., 2020). Esta interpretación refuerza la utilidad del análisis de la señalización cálcica como criterio complementario en programas de selección y evaluación de variedades destinadas a ambientes edáficos salinizados (Flowers & Colmer, 2015).

A pesar de los avances recientes, persisten limitaciones importantes en el conocimiento actual, dado que gran parte de la evidencia disponible proviene de estudios en condiciones controladas o de extrapolaciones desde especies modelo. Esto resalta la necesidad de validar los mecanismos propuestos mediante ensayos de campo y en genotipos comerciales de *Medicago sativa*. Asimismo, la integración funcional entre señalización cálcica, regulación epigenética y microbiota rizosférica representa una línea de investigación aún incipiente que requiere abordajes experimentales integrales (Al-Farsi et al., 2020; Ye et al., 2025).

En conjunto, los datos genómicos, moleculares, fisiológicos y proteómicos convergen para validar el modelo propuesto en el Desarrollo, demostrando que la vía Ca^{2+} –CBL–CIPK actúa como un eje regulador central que integra percepción iónica, transducción de señales y respuestas adaptativas, sosteniendo la tolerancia al estrés salino en *Medicago sativa*.

Conclusiones

Las conclusiones del presente estudio se alinean con el objetivo de analizar el papel del Ca^{2+} en la activación de la vía de señalización CBL–CIPK y su influencia en la homeostasis iónica durante el estrés salino en *Medicago sativa*, ya que el análisis integral de la información revisada permitió confirmar que la salinidad altera de forma simultánea el equilibrio iónico, el estado redox y la estabilidad fotosintética. Este contexto fisiológico explica la sensibilidad de la especie frente a la acumulación de Na^+ y pone en evidencia la necesidad de mecanismos reguladores capaces de integrar estas perturbaciones a nivel celular. En este escenario, el Ca^{2+} actúa como un mensajero central cuya dinámica permite la activación

específica de complejos CBL–CIPK, responsables de regular el transporte de Na^+ y K^+ , la actividad antioxidante y la compartimentalización iónica, contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis celular bajo condiciones salinas.

El estudio detallado de la ruta de señalización del Ca^{2+} permitió comprender que la tolerancia al estrés salino no depende únicamente de la disponibilidad del ion en el suelo, sino de la capacidad de la planta para percibir, decodificar y traducir las señales cálcicas en respuestas fisiológicas eficientes. Este aprendizaje resultó clave para interpretar las diferencias observadas entre genotipos de *Medicago sativa* expuestos a condiciones similares de salinidad, ya que la eficiencia de la vía CBL–CIPK condiciona la magnitud y estabilidad de la respuesta adaptativa. De este modo, el análisis de la ruta del Ca^{2+} aportó una base conceptual sólida para explicar la variabilidad fisiológica de la especie frente al estrés salino.

Desde una perspectiva aplicada, los resultados de este trabajo sugieren que la selección de variedades de *Medicago sativa* para suelos salinos debe considerar no solo parámetros productivos generales, sino también la capacidad del material vegetal para activar mecanismos de regulación iónica y fisiológica dependientes del Ca^{2+} . La respuesta de la planta frente a la salinidad está fuertemente influenciada por la localidad, el tipo de suelo y las condiciones ambientales, por lo que una variedad puede comportarse de manera contrastante según el contexto edáfico e hídrico en el que se establezca. En este sentido, la tolerancia al estrés salino debe entenderse como una respuesta dinámica resultante de la interacción entre genotipo y ambiente.

Asimismo, el análisis realizado permitió concluir que las estrategias de manejo de suelos salinos no deben limitarse exclusivamente a la corrección química del exceso de sodio, sino que deben integrar el efecto del calcio sobre la fisiología y la señalización celular de la planta. Mejorar el intercambio de Na^+ en el suelo puede favorecer indirectamente la eficiencia de las respuestas reguladoras mediadas por Ca^{2+} , siempre que estas acciones se consideren dentro de un enfoque integral que contemple tanto el suelo como la respuesta biológica del cultivo.

Finalmente, este trabajo abre la posibilidad de plantear metodologías experimentales orientadas a evaluar el uso del Ca^{2+} en combinación con el Na^+ bajo distintos esquemas de frecuencia, concentración y momento de exposición, con el objetivo de analizar cómo estas variables modulan la respuesta fisiológica de *Medicago sativa*. La integración de estos enfoques permitiría avanzar hacia estrategias de manejo y selección más ajustadas a las condiciones reales de suelos salinizados, contribuyendo al desarrollo de sistemas forrajeros más resilientes y sostenibles.

Recomendaciones

Con base en los resultados del presente estudio, se recomienda que futuras investigaciones en *Medicago sativa* profundicen en la caracterización funcional de los módulos CBL–CIPK mediante análisis integrados de expresión génica diferencial, localización subcelular y estudios de interacción proteína–proteína bajo condiciones de estrés salino controlado. Este enfoque permitiría comprender con mayor precisión cómo la activación diferencial de estos complejos condiciona la eficiencia de la señalización cálcica y su traducción en respuestas fisiológicas adaptativas.

Asimismo, se considera necesario estudiar con mayor profundidad los patrones genéticos y regulatorios asociados a los genes de la vía Ca^{2+} –CBL–CIPK, evaluando cómo la variabilidad en su expresión y regulación se traduce en diferencias funcionales entre genotipos contrastantes. El análisis comparativo de materiales con distinta tolerancia a la salinidad podría aportar información clave sobre los mecanismos que determinan la eficiencia del balance Na^+/K^+ , la estabilidad fotosintética y la capacidad antioxidante, contribuyendo a una mejor comprensión de la tolerancia desde una perspectiva genómica y fisiológica integrada.

Se recomienda, además, ampliar este enfoque hacia estudios genómicos comparativos en otras especies vegetales, particularmente en leguminosas forrajeras y cultivos de importancia agronómica que enfrentan problemas similares de salinidad. La implementación de análisis de conservación, expansión y divergencia funcional de las familias CBL y CIPK en distintas especies permitiría identificar patrones comunes y específicos de adaptación al estrés salino, fortaleciendo la extrapolación de los modelos propuestos en *Medicago sativa*.

Finalmente, se sugiere integrar de manera más sistemática la señalización cálcica con otros niveles de regulación, como los mecanismos postranscripcionales y la interacción con la microbiota rizosférica. El

abordaje de estos componentes desde un enfoque multiescala facilitaría la construcción de modelos más completos de resiliencia vegetal frente a la salinidad, aportando bases científicas sólidas para el diseño de estrategias de selección, manejo y adaptación de sistemas forrajeros establecidos en ambientes edáficos limitantes.

Fuente de financiamiento: Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Albornoz, K., Zhou, J., & Beckles, D. M. (2023). Chemical induction of the *Arabidopsis thaliana* CBF1 gene in transgenic tomato fruit to study postharvest chilling injury. *Current Plant Biology*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2023.100275>
- Al-Farsi, S. M., Nawaz, A., Anees-ur-Rehman, Nadaf, S. K., Al-Sadi, A. M., Siddique, K. H. M., & Farooq, M. (2020). Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in lucerne (*Medicago sativa*). *Crop & Pasture Science*, 71(5), 411–428. <https://doi.org/10.1071/CP20033>
- Batistič, O., & Kudla, J. (2012). Analysis of calcium signaling pathways in plants. En *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (Vol. 1820, Número 8, pp. 1283–1293). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.10.012>
- Batistič, O., Waadt, R., Steinhorst, L., Held, K., & Kudla, J. (2010). CBL-mediated targeting of CIPKs facilitates the decoding of calcium signals emanating from distinct cellular stores. *Plant Journal*, 61(2), 211–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04045.x>
- Bhattacharai, S., Liu, N., Karunakaran, C., Tanino, K. K., Fu, Y. B., Coulman, B., Warkentin, T., & Biliget, B. (2021). Tissue specific changes in elements and organic compounds of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars differing in salt tolerance under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153485>
- Bucher, M. (2007). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. En *New Phytologist* (Vol. 173, Número 1, pp. 11–26). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01935.x>
- Chen, F., A, Y., & Zhang, J. (2026a). Genome-wide identification of the CIPK gene family in *Medicago sativa* and functional characterization of MsCIPK2 in salt stress tolerance. *Plant Science*, 364. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112921>
- Chen, F., A, Y., & Zhang, J. (2026b). Genome-wide identification of the CIPK gene family in *Medicago sativa* and functional characterization of MsCIPK2 in salt stress tolerance. *Plant Science*, 364, 112921. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112921>
- Chen, F., Ha, X., Ma, T., & Ma, H. (2025). Integrative Physiological, Metabolomic, and Transcriptomic Insights into MsCIPK2 Responses to Drought Stress in Alfalfa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(45), 29210–29228. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5c10970>
- Chen, Z., Guo, Z., Xu, N., Cao, X., & Niu, J. (2023). Graphene nanoparticles improve alfalfa (*Medicago sativa* L.) growth through multiple metabolic pathways under salinity-stressed environment. *Journal of Plant Physiology*, 289. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2023.154092>
- Conn, S. J., Gilliam, M., Athman, A., Schreiber, A. W., Baumann, U., Moller, I., Cheng, N. H., Stancombe, M. A., Hirschi, K. D., Webb, A. A. R., Burton, R., Kaiser, B. N., Tyerman, S. D., & Leigh, R. A. (2011). Cell-specific vacuolar calcium storage mediated by CAX1 regulates apoplastic calcium concentration, gas exchange, and plant productivity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23(1), 240–257. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072769>
- Demidchik, V., Shabala, S., Isayenkov, S., Cuin, T. A., & Pottosin, I. (2018). Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. En *New Phytologist* (Vol. 220, Número 1, pp. 49–69). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/nph.15266>
- Dodd, A. N., Kudla, J., & Sanders, D. (2010). The language of calcium signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 593–620. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070109-104628>
- Du, W., Huang, H., Wang, Z. Y., Yang, G., & Pang, Y. (2025a). The calcium-regulated kinase MsCIPK4 confers drought and salt stress tolerance in alfalfa by enhancing ROS scavenging. *Plant Science*, 359. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112646>
- Du, W., Huang, H., Wang, Z.-Y., Yang, G., & Pang, Y. (2025b). The calcium-regulated kinase MsCIPK4 confers drought and salt stress tolerance in alfalfa by enhancing ROS scavenging. *Plant Science*, 359, 112646. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112646>

- Feyissa, B. A., Amyot, L., Nasrollahi, V., Papadopoulos, Y., Kohalmi, S. E., & Hannoufa, A. (2021). Involvement of the miR156/SPL module in flooding response in *Medicago sativa*. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82450-7>
- Gao, Y., Long, R., Kang, J., Wang, Z., Zhang, T., Sun, H., Li, X., & Yang, Q. (2018). El análisis proteómico comparativo revela que el sistema antioxidante y el metabolismo de los azúcares solubles contribuyen a la tolerancia a la sal en las hojas de alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Proteome Research*, acs.jpoteome.8b00521. <https://doi.org/10.1021/acs.jpoteome.8b00521>
- Gao, Y., Qi, S., & Wang, Y. (2022). Nitrate signaling and use efficiency in crops. En *Plant Communications* (Vol. 3, Número 5). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100353>
- Gao, Y., Wang, K., Xu, M., Zhang, M., Liu, Y., Tanvir, R., Li, L., Liu, Y., & Zhang, W. (2025). MsNF-YC4 positively regulates root branching and drought resistance in alfalfa by activating MsARF8. *The Crop Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2025.10.006>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. En *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 48, Número 12, pp. 909–930). <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gilliam, M., Dayod, M., Hocking, B. J., Xu, B., Conn, S. J., Kaiser, B. N., Leigh, R. A., & Tyerman, S. D. (2011). Calcium delivery and storage in plant leaves: Exploring the link with water flow. En *Journal of Experimental Botany* (Vol. 62, Número 7, pp. 2233–2250). <https://doi.org/10.1093/jxb/err111>
- He, C., Du, W., Ma, Z., Jiang, W., & Pang, Y. (2024). Identification and analysis of flavonoid pathway genes in responsive to drought and salinity stress in *Medicago truncatula*. *Journal of Plant Physiology*, 302. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2024.154320>
- Hepler, P. (2005). *Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development*. www.plantcell.org
- Hirschi, K. D. (2004). The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. En *Plant Physiology* (Vol. 136, Número 1, pp. 2348–2442). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1104/pp.104.046490>
- Hocking, B., Tyerman, S. D., Burton, R. A., & Gilliam, M. (2016). Fruit calcium: Transport and physiology. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 7, Número APR2016). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00569>
- Hu, P., Zhang, W., Wanek, W., Chen, J., Abalos, D., Zhao, J., Xiao, D., Hou, X., Li, J., Chen, H., Xiao, J., Liao, X., Tang, T., Wu, H., & Wang, K. (2025). Calcium-rich parent materials enhance multiple soil functions and bacterial network complexity. *Communications Earth and Environment*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s43247-025-02761-9>
- Khraiweh, B., Zhu, J. K., & Zhu, J. (2012). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1819(2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.05.001>
- Kirkby, E. (2011). Introduction, Definition and Classification of Nutrients. En *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition* (pp. 3–5). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00001-7>
- Kolukisaoglu, Ü., Weinl, S., Blazevic, D., Batistic, O., & Kudla, J. (2004). Calcium Sensors and Their Interacting Protein Kinases: Genomics of the Arabidopsis and Rice CBL-CIPK Signaling Networks. *Plant Physiology*, 134(1), 43–58. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033068>
- Kudla, J., Becker, D., Grill, E., Hedrich, R., Hippler, M., Kummer, U., Parniske, M., Romeis, T., & Schumacher, K. (2018). Advances and current challenges in calcium signaling. En *New Phytologist* (Vol. 218, Número 2, pp. 414–431). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/nph.14966>
- Leng, F., Liu, X., Zhou, L., Zhang, Q., Li, S., Wu, F., Luo, W., Yang, H., Wang, Y., Zhu, X., & Wang, X. (2025). Salt-tolerance of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) are mediated by rhizosphere microbiome and root exudate. *Rhizosphere*, 36, 101216. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2025.101216>
- Li, R., Shi, F., Fukuda, K., & Yang, Y. (2010). Effects of salt and alkali stresses on germination, growth, photosynthesis and ion accumulation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 56(5), 725–733. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2010.00506.x>
- Liu, S., Zhao, L., Cheng, M., Sun, J., Ji, X., Ullah, A., & Xie, G. (2024). Calmodulins and calmodulin-like proteins-mediated plant organellar calcium signaling networks under abiotic stress. *Crop Journal*, 12(5), 1321–1332. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2024.09.006>
- Liu, X., Elzenga, J. T. M., Venema, J. H., & Tiedge, K. J. (2024). Thriving in a salty future: morpho-anatomical, physiological and molecular adaptations to salt stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) and other crops. En *Annals of Botany* (Vol. 134, Número 7, pp. 1113–1129). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/aob/mcae152>

- Luan, S. (2009). The CBL-CIPK network in plant calcium signaling. En *Trends in Plant Science* (Vol. 14, Número 1, pp. 37–42). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.005>
- Maathuis, F. J. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. En *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 12, Número 3, pp. 250–258). <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.003>
- McAinsh, M. R., & Pittman, J. K. (2009). Shaping the calcium signature. En *New Phytologist* (Vol. 181, Número 2, pp. 275–294). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02682.x>
- McCormack, E., Tsai, Y. C., & Braam, J. (2005). Handling calcium signaling: Arabidopsis CaMs and CMLs. En *Trends in Plant Science* (Vol. 10, Número 8, pp. 383–389). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.07.001>
- Mittler, R. (2017). ROS Are Good. En *Trends in Plant Science* (Vol. 22, Número 1, pp. 11–19). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. En *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 59, pp. 651–681). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Nieves, M., Alemán, F., Martínez, V., & Rubio, F. (2014). K⁺ uptake in plant roots. The systems involved, their regulation and parallels in other organisms. *Journal of Plant Physiology*, 171(9), 688–695. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.021>
- Niu, J., Chen, Z., Guo, Z., Xu, N., Sui, X., Roy, M., Kareem, H. A., Hassan, M. U., Cui, J., & Wang, Q. (2022). Exogenous melatonin promotes the growth of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under NaCl stress through multiple pathways. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113938>
- Nussaume, L., Kanno, S., Javot, H., Marin, E., Pochon, N., Ayadi, A., Nakanishi, T. M., & Thibaud, M. C. (2011). Phosphate import in plants: Focus on the PHT1 transporters. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 2, Número NOV). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00083>
- Ranty, B., Aldon, D., Cotelle, V., Galaud, J. P., Thuleau, P., & Mazars, C. (2016). Calcium sensors as key hubs in plant responses to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAR2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00327>
- Sanders, D., Pelloux, J., Brownlee, C., & Harper, J. F. (2002). Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell*, 14(SUPPL.). <https://doi.org/10.1105/tpc.002899>
- Singer, S. D., Lehmann, M., Zhang, Z., Subedi, U., Burton Hughes, K., Lim, N. Z. L., Ortega Polo, R., Chen, G., Acharya, S., Hannoufa, A., & Huan, T. (2023). Elucidation of Physiological, Transcriptomic and Metabolomic Salinity Response Mechanisms in *Medicago sativa*. *Plants*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/plants12102059>
- Sunkar, R., Chinnusamy, V., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2007). Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation. En *Trends in Plant Science* (Vol. 12, Número 7, pp. 301–309). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.05.001>
- Wan, W., Liu, Q., Zhang, C., Li, K., Sun, Z., Li, Y., & Li, H. (2023). Alfalfa growth and nitrogen fixation constraints in salt-affected soils are in part offset by increased nitrogen supply. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1126017>
- WANG, F. wei, WANG, C., SUN, Y., WANG, N., LI, X. wei, DONG, Y. yuan, YAO, N., LIU, X. ming, CHEN, H., CHEN, X. feng, WANG, Z. min, & LI, H. yan. (2016). Overexpression of vacuolar proton pump ATPase (V-H⁺-ATPase) subunits B, C and H confers tolerance to salt and saline-alkali stresses in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 15(10), 2279–2289. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61399-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61399-0)
- Wang, H.-R., Zhao, X.-Y., Zhang, J.-M., Lu, C., & Feng, F.-J. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungus regulates cadmium accumulation, migration, transport, and tolerance in *Medicago sativa*. *Journal of Hazardous Materials*, 435, 129077. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129077>
- Wang, Y.-Y., Cheng, Y.-H., Chen, K.-E., & Tsay, Y.-F. (2026). *Annual Review of Plant Biology Nitrate Transport, Signaling, and Use Efficiency*. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817>
- Wassie, M., Song, S., Cao, L., & Chen, L. (2023). A *Medicago truncatula* calcineurin B-like protein, MtCBL13 confers drought sensitivity in *Arabidopsis* through ABA-dependent pathway. *Environmental and Experimental Botany*, 206, 105141. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105141>
- Wei, T. J., Li, G., Wang, M. M., Jin, Y. Y., Zhang, G. H., Liu, M., Yang, H. Y., Jiang, C. J., & Liang, Z. W. (2021). Physiological and transcriptomic analyses reveal novel insights into the cultivar-specific response to alkaline stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 228. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113017>
- Weinl, S., & Kudla, J. (2009). The CBL-CIPK Ca²⁺-decoding signaling network: Function and perspectives. En *New Phytologist* (Vol. 184, Número 3, pp. 517–528). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02938.x>

- White, P. J. (2000). *The pathways of calcium movement to the xylem*.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. En *Annals of Botany* (Vol. 92, Número 4, pp. 487–511). <https://doi.org/10.1093/aob/mcg164>
- Yang, L., Sun, H., Xu, B., Liu, Y., Zhu, H., & Guo, Z. (2025). A calmodulin-like protein (MsCML50) confers cold tolerance through interacting with MsTPP8 to moderate sugars accumulation and ROS scavenging in alfalfa. *Environmental and Experimental Botany*, 239, 106255. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2025.106255>
- Yao, T., Qi, S., Zhang, H., Zhang, H., Su, J., Cen, Z., Wang, Z., Qin, B., & Zhang, H. (2025). MicroRNA responses to alkaline stress and the key role of the miR156–MsSPL2/6B module in alfalfa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 229, 110567. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.110567>
- Ye, Q., Zhou, C., Lin, H., Luo, D., Jain, D., Chai, M., Lu, Z., Liu, Z., Roy, S., Dong, J., Wang, Z. Y., & Wang, T. (2025a). Medicago2035: Genomes, functional genomics, and molecular breeding. En *Molecular Plant* (Vol. 18, Número 2, pp. 219–244). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.12.015>
- Ye, Q., Zhou, C., Lin, H., Luo, D., Jain, D., Chai, M., Lu, Z., Liu, Z., Roy, S., Dong, J., Wang, Z.-Y., & Wang, T. (2025b). Medicago2035: Genomes, functional genomics, and molecular breeding. *Molecular Plant*, 18(2), 219–244. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.12.015>
- Zhang, Y., Bai, Y., Wu, G., Zou, S., Chen, Y., Gao, C., & Tang, D. (2017). Simultaneous modification of three homoeologs of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *Plant Journal*, 91(4), 714–724. <https://doi.org/10.1111/tbj.13599>



Mgs. Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

C.C.: 1002878287