

“Crecimiento, rendimiento y calidad de semillas de tres cv de *Cenchrus ciliaris* bajo condiciones de salinidad”.

Ruiz Guirado, Mónica Beatriz

Licenciada en Biología Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales
Universidad Nacional de San Juan-2002-

Magister de la Universidad de Buenos Aires, área: producción vegetal,
orientación: cultivos extensivos

Escuela para Graduados Alberto Soriano
Convenio Facultad de Agronomía – UBA
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

COMITÉ CONSEJERO

CONSEJERO PRINCIPAL:

Aclaración de firma: Edith Taleisnik

Título Profesional: Bióloga

Título Académico: PhD en Biología

CONSEJERO:

Aclaración de firma: Carlos A. Parera

Título Profesional: Ingeniero Agrónomo

Título Académico: PhD en Fisiología Vegetal

JURADO DE TESIS

Aclaración de firma: Edith Taleisnik

Título Profesional: Bióloga

Título Académico: PhD en Biología

Miembro: Dr María Verónica Rodríguez

Título Profesional: Bióloga

Título Académico: Doctora en Ciencias Biológicas

Miembro: María Virginia Luna

Título Profesional: Bióloga

Título Académico: Doctora en Ciencias Biológicas

Fecha de aprobación de la tesis: 14 de abril 2011

Índice General

Resumen	7
Introducción	12
-Objetivo general	25
-Hipótesis 1	25
-Hipótesis 2	25
-Hipótesis 3	25
-Objetivos específicos	25
Capítulo I	27
Introducción	28
-Hipótesis 1	36
-Hipótesis 2	36
-Objetivos específicos	36
Materiales y Métodos	37
Primera Temporada	39
- <i>Implantación y riego</i>	39
- <i>Variables de crecimiento</i>	41
Segunda Temporada	42
- <i>Implantación y riego</i>	42
- <i>Variables de crecimiento</i>	43
- <i>Variables de rendimiento reproductivo y colección de semillas</i>	43
- <i>Relaciones hídricas</i>	44
- <i>Determinación aniones y cationes en lámina foliar</i>	44
- <i>Diseño experimental y Análisis estadístico</i>	45
Resultados	46
- <i>Efectos de la salinidad sobre el crecimiento</i>	46
- <i>Efectos de la salinidad sobre el rendimiento reproductivo</i>	49
- <i>Relaciones hídricas</i>	54
- <i>Acumulación de aniones y cationes en lámina foliar</i>	55
Discusión	57

Capítulo II

Introducción	69
-Hipótesis 3	75
-Objetivos específicos	75
Materiales y Métodos	76
<i>-Colección de semillas</i>	76
<i>-Germinación en condiciones de estrés</i>	76
<i>-Potencial hídrico y osmótico en semillas</i>	78
<i>-Diseño experimental y Análisis estadístico</i>	78
Resultados	79
<i>-Germinación en condiciones de estrés</i>	79
<i>-Potencial hídrico y osmótico en semillas</i>	84
Discusión	87
Discusión general	90
Bibliografía	105
Anexo 1	117

Indice de Tablas

Tabla 1.1	51
Tabla 1.2	52
Tabla 1.3	53
Tabla 1.4	56
Tabla 2.1	77

Indice de Figuras

Figura 1.1	29
Figura 1.2	38
Figura 1.3	40
Figura 1.4	40
Figura 1.5	41
Figura 1.6	41
Figura 1.7	41
Figura 1.8	43
Figura 1.9	47
Figura 1.10	48
Figura 1.11	50
Figura 1.12	54
Figura 1.13	55
Figura 2.1	72
Figura 2.2	82
Figura 2.3	83
Figura 2.4	84
Figura 2.5	85
Figura 2.6	86
Figura 2.7	86

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo, y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.”

Resumen

La salinidad es uno de los mayores factores limitantes para la expansión de la frontera agrícola, afecta a más de 30 millones de hectáreas principalmente en las regiones áridas y semiáridas, donde es una de las principales limitaciones edáficas para la producción de plantas forrajeras. *Cenchrus ciliaris* (Poaceae,) es una especie perenne, nativa de África y de la mitad este de Asia de conocida tolerancia a condiciones de sequía y elevadas temperaturas. Sin embargo la información sobre la tolerancia a condiciones de salinidad es escasa por lo que el objetivo general de este trabajo fue aportar conocimientos sobre los efectos de la salinidad en el rendimiento de forraje y semilla de *Cenchrus ciliaris* y algunos de los mecanismos fisiológicos subyacentes. Para esto se utilizaron tres cv Americana, Biloela y Texas, que se cultivaron en containers de 1000 litros sobre arena lavada durante dos temporadas. Este sistema de cultivo permitió controlar los niveles de salinidad en el sustrato, similar a una hidroponía, pero mantener a las plantas en condiciones de campo en cuanto a temperatura, radiación, humedad, vientos etc. Haciendo así que los resultados sean mucho más próximos y extrapolables a una condición real de cultivo. Los tratamientos consistieron en riegos con soluciones de NaCl de 8, 13 y 18 dS/m, sobre una base de solución nutritiva. El control consistió solamente en la mencionada solución nutritiva (3 dS/m). Para evitar la acumulación de sales en el perfil se diseñó un sistema de drenaje que permitió monitorear diariamente el lixiviado de riego y mantener el sistema estable. Los efectos de los tratamientos se evaluaron sobre variables de crecimiento y de rendimiento reproductivo. También se realizaron mediciones de potencial hídrico, osmótico, contenido relativo de agua (RWC) y acumulación de iones en lámina foliar. Para

determinar si las semillas obtenidas de plantas estresadas toleran mejor condiciones de estrés durante la germinación, estas se incubaron en soluciones de NaCl de -0.5, -1, -1.5, -2, -2.5 y -3 MPa.

Los resultados mostraron que los tres cv responden de manera similar frente al estrés, disminuyendo el crecimiento vegetativo y el rendimiento conforme aumenta la salinidad. Como respuesta general a los tratamientos salinos el crecimiento disminuyó al igual que lo observado para condiciones de estrés hídrico. De todas las etapas del ciclo ontogénico estudiadas la más susceptible fue la inicial que comprendió plantas que estaban iniciando la etapa reproductiva, siendo el cv Biloela el más susceptible. Luego hacia el final de la temporada de crecimiento las diferencias entre el control y el tratamiento menos salino (8 dS/m) desaparecieron. Esto indica que el cultivo es más sensible a la salinidad en la etapa vegetativa y el inicio de la etapa reproductiva. De las componentes del rendimiento reproductivo sólo el número de espigas por planta y el peso de 100 cariopses se vieron afectados. Con respecto a las variables hídricas los tres cv modificaron tanto el potencial hídrico como el osmótico y mantuvieron su RWC constante. Los iones adicionados con los tratamientos Na^+ y Cl^- se acumularon en hoja conforme aumentó la conductividad de las soluciones de riego. El análisis de K^+ para cada cv mostró que en todos los casos los niveles de este ion fueron significativamente mayores en el control que en los tratamientos.

En los tres cv estudiados se observó que semillas provenientes de plantas que crecieron en condiciones de salinidad germinaron en mayor cantidad y más rápido que las provenientes del control. En el cv Texas estas diferencias son especialmente marcadas, así semillas provenientes del tratamiento con mayor nivel de salinidad (18 dS/m) germinaron casi un 50 % más que las

provenientes del control. El efecto de la salinidad durante el desarrollo de las semillas incrementó los niveles de germinación en los controles (0 Mpa) y en condiciones moderadas de salinidad (-0,5 a -1,5 MPa).

Palabras claves: *Cenchrus ciliaris*, salinidad, ajuste osmótico, efecto materno

Abstract

Salinity is a major limiting factor for expanding the agricultural frontier, it affects more than 30 million hectares mainly in arid and semiarid regions, in these regions it is a major soil constraint to production of fodder crops. *Cenchrus ciliaris* (Poaceae,) is a perennial grass, native to Africa and the eastern half of Asia with known tolerance to drought conditions and high temperatures. However, information on tolerance to salinity is low so that the overall objective of this study was to provide knowledge about the effects of salinity on forage yield and seed of *Cenchrus ciliaris* and some of the underlying physiological mechanisms. For this, three cv we used, American, Biloela and Texas, which were grown in containers of 1000 liters of washed sand over two seasons. This farming system allowed to control salinity levels in the substrate, similar to hydroponics, but keep the plants under field conditions in terms of temperature, radiation, humidity, wind, etc. This way, making the results much closer and extrapolated to a real condition of farming. Treatments consisted of irrigation with NaCl solutions of 8, 13 and 18 dS/m, on the basis of nutrient solution. The control consisted only in the nutrient solution (3 dS/m). To avoid the accumulation of salts in the profile a drainage system was designed, which allowed monitoring leachate irrigation daily and keeping the system stable. The effects of processing were evaluated on growth and reproductive performance variables. Water and osmotic potential, relative water content (RWC) and accumulation of ions in leaf blade were also measured. To determine whether the seeds from stressed plants are more tolerant of stress conditions during germination, they were incubated in NaCl solutions of -0.5, -1, -1.5, -2, and -3 -2.5 MPa. The results showed that all three cv respond similarly to stress, decreasing

vegetative growth and yield with increasing salinity. As a general response to the saline treatments, growth decreased as observed for water stress conditions. In all stages of the ontogeny cycle studied, the most susceptible was the initial one, which involved plants starting the reproductive stage, being the cv Biloela the most susceptible one. Then, towards the end of the growing season, differences between control and less saline treatment (8 dS/m) disappeared. This indicates that the crop is more sensitive to salinity at the vegetative stage and at the beginning of the reproductive stage. Of the components of reproductive output, only the number of spikes per plant and the weight of 100 caryopses were affected. With regard to water variables, the three cv changed both the osmotic and water potential and remained their RWC constant. Ions added with the Na⁺ and Cl⁻ treatments accumulated with increasing conductivity of water solutions. The analysis of K⁺ for each cv showed that in all cases this ion levels were significantly higher in control than in treatments. In the three crops studied, it was showed that seeds from plants grown in saline conditions germinated in greater numbers and faster than those from the control. In the Texas cv, these differences are particularly marked, and seeds from the treatment with higher levels of salinity (18 dS/m) germinated almost 50% more than those from the control. The effect of salinity during seed development increased the levels of germination in pure water (0Mpa) and in moderate conditions of salinity (-0.5 to -1.5 MPa).

Key Words: *Cenchrus ciliaris*, salinity, osmotic adjustment, maternal effect.

Introducción

La salinidad es una condición del suelo caracterizada por una alta concentración de sales solubles. Un suelo se considera salino cuando la E_{Ce} (conductividad eléctrica del extracto de saturación) es de 4 dS/m o más, que es equivalente a 40 mM NaCl y a una presión osmótica de aproximadamente -0.2 MPa (Munns & Tester, 2008). De acuerdo a la FAO, en el año 2000, el área total de suelos afectados por las sales, incluyendo suelos salinos y sódicos, fue de 831 millones de hectáreas, extendidos por todos los continentes, esto es más del 6% del total de tierras emergidas del planeta. En América del Sur se han mapeado 69,4 millones de hectáreas de áreas salinas y 59,6 millones de hectáreas de suelos sódicos (Rengasamy, 2006). Muchas de estas tierras son afectadas por salinidad de origen natural, sin embargo una importante proporción de las tierras cultivadas se han salinizado debido a las prácticas de riego (Rengasamy, 2006; Manchanda & Garg, 2008), que surgieron en la antigüedad y dieron origen al primer problema ambiental ocasionado por el hombre. Los primeros escritos que hablan de la temática datan del 2400 dc y se refieren a los efectos de las sales en las planicies aluviales de los ríos Tigris y Eufrates en Iraq (Manchanda & Garg, 2008). Actualmente la salinidad del suelo es el mayor factor limitante para la expansión de la frontera agrícola (Ashraf *et. al.* 2008) y las perspectivas al respecto no son muy alentadoras, ya que se espera que el incremento de la salinidad en las tierras cultivables resulte en una pérdida del 30% de tierras cultivables en los próximos 25 años y más del 50% para la segunda mitad del siglo XXI (Mahajan & Tuteja, 2005). En las zonas áridas y semiáridas, el problema se acentúa ya que la escasez y variabilidad de las precipitaciones junto a las altas tasas de evapotranspiración afectan el

balance hídrico de los suelos. La baja humedad atmosférica y las altas temperaturas incrementan el ascenso de la solución del suelo y con ello la deposición y concentración de sales en los horizontes superficiales causando la acumulación de cloruros y sulfatos de Na^+ , Mg^{++} y Ca^{++} en los primeros centímetros del suelo (Manchanda & Garg, 2008). Así el agua aportada por los sistemas de riego produce una concentración de sales año a año en el suelo, originando importantes pérdidas de superficie cultivable que se reflejan directamente en la economía (Mahajan & Tuteja, 2005).

Cada año hay un deterioro de 2 millones de hectáreas (1%) de las tierras cultivables debido a la salinidad, conduciendo a una reducción importante de la producción (Dregne, 1987). Esta situación ha llevado a la intensificación de la agricultura y al uso de áreas antes no destinadas al cultivo agrícola. En Argentina, el avance de la agricultura ha llevado al desplazamiento de la actividad ganadera, particularmente la de cría, a regiones marginales. En el Chaco semiárido argentino la ganadería de cría se basa en pasturas naturales y principalmente en gramíneas forrajeras introducidas. Una de las principales causas del limitado aporte de las regiones semiáridas a la ganadería nacional, es la baja receptividad de los campos debido a la escasa oferta forrajera. Un incremento en el potencial de producción de forraje posibilitará aumentar las cargas animales y permitirá esquemas de producción de carne bovina de alta productividad (De León, 2004). En ese contexto, la salinidad de los suelos que afecta a más de 30 millones de hectáreas localizadas principalmente en las regiones áridas y semiáridas de nuestro país es una de las principales limitaciones edáficas a la producción de plantas forrajeras, que deben combinar adecuada tolerancia a la sequía y a la salinidad.

El estrés salino afecta la mayoría de los procesos fisiológicos de los vegetales como el crecimiento, la fotosíntesis, la síntesis de proteínas y el metabolismo energético (Parida & Das, 2005); sin embargo la duración y severidad del período de estrés, al igual que la especie afectada, determinarán la magnitud de los efectos observables y los procesos fisiológicos afectados por esta condición. Así por ejemplo un tratamiento con altos niveles de salinidad en una planta sensible como *Arabidopsis* inducirá cambios asociados con la senescencia, mientras que un tratamiento con bajos niveles de sal en una planta resistente probablemente no inducirá cambios notables en la expresión de genes ni en la concentración de metabolitos (Tester & Davenport, 2003; Munns & Tester, 2008). Experimentalmente se han llevado a cabo muchos trabajos para determinar los efectos de la salinidad sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de diversas especies vegetales. Muchos de ellos estuvieron y están destinados a conocer los efectos de las sales sobre especies de interés agrícola, apuntando así a mejorar los rendimientos en zonas donde los suelos están afectados por la salinidad y/o la falta de agua (Munns & Tester, 2008). Mientras que muchos otros se enfocaron en conocer los mecanismos que hacen que algunas especies puedan crecer en suelos con conductividades superiores a 40 dS/m (Marcum, 2006), con el fin de descubrir y aislar genes relacionados con esta capacidad (Ferne, Tadmor & Zamir, 2006; Salmeron & Herrera-Estrella, 2006). Dada la complejidad del tema y de las interacciones entre las componentes del suelo y las sales se ha optado en muchos casos por realizar diseños experimentales donde las plantas son cultivadas en condiciones controladas de invernáculo y en sistemas hidropónicos que les permiten a los investigadores aislar el efecto de las sales sobre el crecimiento de las plantas, del sin-número de factores que las afectarían en el ambiente natural. En muchos casos se ha llegado a simplificar tanto los sistemas experimentales que sólo una

hoja, una porción de tejido o una simple célula son sometidas a condiciones de estrés, evaluando en ellos respuestas que muchas veces se pretende extrapolar a sistemas más complejos como una planta o un cultivo. Por lo que para obtener mayores beneficios de los nuevos descubrimientos en genética molecular, es necesario que las plantas crezcan en condiciones fisiológicas lo más cercanas a las condiciones de campo (Muñiz & Tester, 2008).

A nivel de planta, el efecto de la salinidad se puede manifestar en una reducción de la producción de biomasa (Wang *et al.*, 2002; Gulzar *et al.*, 2003; Marcum, 2006; Jaleel *et al.*, 2008), que varía según la especie y en muchos casos puede ocasionar la muerte de la planta (McCue & Hanson, 1990). Esta reducción del crecimiento se debe a un efecto conjunto de la modificación del potencial osmótico y de la toxicidad de los iones (Munns, 1993; Buchanan *et al.*, 2000; Marcum, 2006). Las plantas presentan tres mecanismos que les permiten tolerar la salinidad, por un lado hacer frente al estrés osmótico, que comprende la habilidad de las plantas de resistir la falta de agua ocasionada por las sales y mantener la expansión de las hojas y la conductancia estomática (Rajendran *et al.*, 2009), por otro lado reducir el efecto de los iones en las células vegetales ya sea excluyéndolos del sistema transpiratorio a través de las hojas o compartimentalizándolos en vacuolas o células específicas de manera que el daño al metabolismo sea mínimo (Tester & Davenport 2003; Munns & Tester 2008) y por último mantener el balance iónico en suelos donde prevalecen algunos (Na^+ y Cl^-) muy por encima de otros (K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}). En suelos con elevadas concentraciones de sal el potencial osmótico se reduce significativamente, sin embargo, existen plantas que pueden tolerar estas condiciones ya que son capaces de mantener la absorción de agua del suelo, evitar la toxicidad iónica y completar sus ciclos vitales en presencia de altas

concentraciones de sales (Flowers *et al.*, 1977; Ungar, 1991; Zhu, 2001). Mantener un bajo potencial agua en la planta, respecto del potencial agua del suelo, asegura un gradiente de potencial hídrico que permite la absorción de agua. Este gradiente se logra, generalmente, mediante la acumulación de osmolitos, favoreciendo así el mantenimiento de la turgencia y del volumen celular, mecanismo denominado ajuste osmótico (Lambers *et al.*, 1998; Yeo, 1998; Buchanan *et al.*, 2000; Wiladino & Camara, 2003, Taiz & Zeiger, 2004).

Se conocen dos mecanismos generales a través de los cuales se realiza el ajuste osmótico o proceso de adaptación celular a la salinidad: por un lado el control del movimiento de iones y por otro la acumulación de sustancias “osmoprotectoras” (Bohnert *et al.*, 1995). El primer mecanismo consiste en la absorción y compartimentalización de los iones tóxicos; las plantas acumulan Na^+ y Cl^- en las vacuolas y de esta forma mantienen bajas concentraciones iónicas en el citoplasma evitando la inhibición de los procesos metabólicos (Flowers *et al.*, 1977; Keiffer & Ungar, 1997; Bray *et al.*, 2000; Tester & Davenport, 2003). El segundo mecanismo consiste en el mantenimiento del balance o ajuste osmótico a través de la síntesis y acumulación en el citoplasma de solutos compatibles (osmolitos), los cuales no inhiben el metabolismo aun en altas concentraciones, facilitando así el ingreso y retención de agua (Bray *et al.*, 2000; Ashraf & Harris, 2004). Crecer en suelos con sales impone costos adicionales como el de excluir iones, el de compartimentalizarlos y el de excretarlos a través de glándulas. Sin embargo estos costos son muy bajos comparados con los de sintetizar solutos orgánicos para el ajuste osmótico (Munns, 2002), por lo que la acumulación de Na^+ y Cl^- como osmótico es la estrategia más económica para realizar ajuste osmótico (Munns & Tester, 2008). En las especies sensibles a la salinidad, donde las sales no son efectivamente

excluidas del sistema transpiratorio, éstas se acumulan en mayor medida en las hojas que más transpiran y así se produce la pérdida progresiva de la viabilidad. El estrés osmótico ocasionado por una falta de ajuste osmótico resulta en una reducción de la absorción de agua y ocasiona sequía fisiológica, considerada esta la mayor causa de daño por salinidad en plantas (Munns, 2005).

Generalmente los incrementos de Na^+ en el medio externo resultan en un incremento en las concentraciones de Na^+ en la planta, este ión no sólo es tóxico para el metabolismo celular si no que interfiere con el ingreso de K^+ y Ca^{++} , contribuyendo así al desbalance nutricional (Yeo, 1998; Zhu, 2001). Los incrementos de Na^+ en el sustrato producen una disrupción de la integridad de las membranas de la raíz que alteran la selectividad de las mismas respecto del K^+ , favoreciendo el ingreso de Na^+ por sobre el K^+ (Lazof & Bernstein, 1999; Tester & Davenport, 2003; Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). Mantener adecuados niveles de K^+ es esencial para la supervivencia de las plantas bajo condiciones de salinidad, principalmente por la contribución de este ión a bajar los potenciales osmóticos de las células de la raíz, un prerrequisito para controlar el transporte de solutos y el balance de agua (Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). Además el K^+ es un macronutriente esencial que se requiere para diversos procesos del metabolismo celular, como el mantenimiento del potencial de membrana, la actividad de algunas enzimas, la síntesis de proteínas y almidón, la respiración y la fotosíntesis (Maathuis & Amtmann, 1999). El ingreso selectivo de K^+ sobre Na^+ es considerado como un importante mecanismo fisiológico que contribuye a la tolerancia a la salinidad en muchas especies (Hester *et al.*, 2001; Hauser & Horie, 2010). Esta bien documentado que en gran medida esta tolerancia está asociada con sistemas más eficientes en la selección del ingreso de K^+ sobre Na^+ (Hauser & Horie, 2010). Además la

traslocación o exclusión de Na^+ desde las hojas hacia otras partes de la planta (Munns, 2007), conjuntamente con una baja acumulación podrían resultar en mantener altas relaciones K^+/Na^+ , que son indispensables para que ocurran normalmente los procesos metabólicos en plantas (Al-Khateeb, 2005; Munns, 2007). Varios autores han indicado que el mantenimiento de los niveles citoplasmáticos de K^+ en relación a los de Na^+ , lo que incrementa la relación K^+/Na^+ , está altamente correlacionado con el incremento en tolerancia a la salinidad en glicófitas (El-Sayed, 2004; Davenport *et al.*, 2005, Hauser & Horie, 2010) y con diferencias importantes en la productividad entre cv (Asch *et al.*, 2000; Hauser & Horie, 2010). En base a lo anterior, se propone que la tolerancia a la salinidad está relacionada con la habilidad de restringir o controlar la acumulación de iones en los tejidos, dada por el transporte eficiente de $\text{K}^+ - \text{Na}^+$, sumado a un sistema de restricción del ingreso de Na^+ . Se ha observado que las monocotiledóneas, incluyendo las Poaceas, bajo condiciones salinas, tienden a restringir el ingreso de ciertos iones fundamentales como el K^+ , el Ca^{++} y el Mg^{++} (Lazof & Bernstein, 1999), ocasionando alteraciones en el balance iónico celular y reducción del crecimiento (Marcum, 2006). Sin embargo una diversidad de estrategias para sobrevivir en niveles medios y altos de salinidad se han desarrollado en las gramíneas, entre ellas la secreción de sales a través de glándulas, la exclusión de iones tóxicos en diferentes tipos de células y tejidos y la selectividad iónica a nivel de raíz y tallo son las más comunes (Ashraf, 2006; Marcum, 2006; Gulzar y Khan, 2006)

Las gramíneas, con más de 7.500 especies, muestran un amplio rango de tolerancia a la salinidad que va de especies altamente sensibles hasta muy tolerantes. Las especies sensibles y las medianamente tolerantes generalmente muestran una caída de los rendimientos a medida que se incrementan los

niveles de salinidad, a diferencia de las especies muy tolerantes que muestran una estimulación del crecimiento del tallo y la raíz a concentraciones medias de salinidad (Marcum, 2006). Las gramíneas de mayor importancia forrajera para el sub-trópico son originarias de África; géneros de gran valor como *Brachiaria*, *Cenchrus*, *Chloris*, *Pennisetum*, *Panicum*, *Hemarthria*, *Cynodon*, *Hyparrhenia*, *Digitaria*, evolucionaron en dicho continente debido a una gran diversidad de presiones de selección. La presencia de rumiantes con variantes en el tipo de pezuña, peso, dentadura, capacidad ruminal y hábito de pastoreo se sumaron a la diversidad de ambientes y condiciones climáticas. Este proceso tuvo lugar a lo largo de 15 millones de años de evolución simpátrica entre gramíneas y consumidores (Kellogg, 2001). Una de las características que surgió de este proceso evolutivo fue la apomixis gametofítica, un tipo reproductivo asexual, predominante en la mayoría de las gramíneas tropicales. Esta modalidad reproductiva, presente en la mayoría de las especies africanas que llegaron a América ha reducido, en este continente, la diversificación genética de los materiales forrajeros durante 500 años de relación intercontinental (Quero Carrillo *et al.*, 2007). Los pastos africanos tropicales fueron introducidos en América con el inicio del comercio de esclavos, durante el siglo XVI; sin embargo, los estudios sistemáticos de su potencial forrajero se iniciaron a finales del siglo XIX, debido a la carencia de respuestas adaptativas al pastoreo por parte de las gramíneas tropicales americanas (Sarmiento, 1992). En Latinoamérica han sido introducidos, y se explotan actualmente, materiales de gramíneas seleccionados y mejorados en otros países (EEUU y Australia). Un ejemplo lo constituye el pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L. Sin. *Pennisetum ciliare* L. Link.) cuyas variedades de procedencia australiana y estadounidense (Gaidah, Molopo, Biloela, Llano, Nueces, T4464, Americana, Común, etc.) se han evaluado para caracterizar la producción de forraje, manejo de la

fertilización, producción de semilla, manejo del pastoreo, y análisis bromatológicos y económicos (Quero Carrillo *et al.*, 2007)

Cenchrus ciliaris (familia Poaceae, subfamilia Panicoideae y tribu Panicea) es una planta perenne, nativa de África y de la mitad este de Asia, aunque se hallaron formas anuales en condiciones extremas de aridez al oeste de la India (Clayton *et al.*, 2006). Su crecimiento es estival, presentando tallos geniculados que emergen de una corona nudosa, dependiendo de la variedad puede alcanzar entre 25 y 150 cm de altura. Sus tallos son alargados y suaves, con bases hinchadas, lo que le permite almacenar más hidratos de carbono que otras especies (FAO, 2009). Las hojas son planas y lineales, glabras o ligeramente pubescentes en la base, en especial cerca de la lígula. Miden alrededor de 3 a 10 mm de ancho cuando están extendidas y terminan en punta, con una longitud de 7 a 30 centímetros. Su inflorescencia es una panícula cilíndrica densa, de 2 a 12 cm de longitud de color marrón rojizo o púrpura por lo general flexible (Ayerza, 1981). Posee un sistema radical sumamente desarrollado y profundo. Ocasionalmente dependiendo de la variedad puede presentar rizomas más o menos desarrollados. Puede propagarse por semilla, siendo en general una gran productora, o por medio de rizomas (Ayerza, 1981). La semilla fresca del Buffelgrass tiene una dormancia física y química la cual debe ser superada antes de que ocurra la germinación (Guertin, 2003). El periodo de latencia es de 3 a 20 meses (Namur, 1985). La longevidad es de hasta tres años, donde los porcentajes de germinación aumentan durante el almacenaje (Guertin, 2003). A lo largo de los siglos, los pastos hoy cultivados tuvieron que desarrollar varias formas, adaptándose a condiciones específicas. *Cenchrus ciliaris* no es una excepción, cuenta con un gran número de

variedades o líneas adaptadas a diferentes condiciones ambientales (Ayerza, 1981; Quero Carrillo *et al.*, 2007).

La especie se reproduce principalmente por apomixis apospórica, pero también de manera sexual por semillas. La mayoría de los géneros de la tribu Paniceae tienen un número cromosómico de 9, sin embargo el género *Cenchrus* forma series aneuploides que muestran la formación de un número cromosómico realmente imposible. Estas series aneuploides exhiben cromosomas meióticos anormales y por lo tanto problemas con la reproducción sexual. Este problema reproductivo resulta en inestabilidad meiótica y ha sido resuelto por la formación de un saco embrionario apospórico (Snyder *et al.*, 1955), lo que hace que la especie sea muy poco variable. Los polimorfismos encontrados tienen que ver con la estatura, el color de las semillas, la morfología de las semillas y la producción de semillas. Dado que el tipo de reproducción asexual es el que prevalece en esta especie no hay muchas diferencias entre genotipos y la selección de materiales ha sido principalmente en relación a mayores rendimientos de materia forrajeable (Tu, 2002). El más común de los cv es el conocido como Texas 4464, esta línea es genéticamente uniforme debido a que se reproduce mayoritariamente por apomixis (Tu, 2002). La mayoría de los cv disponibles en el mercado al igual que Texas se reproducen de manera asexual lo que les da a los cv mucha estabilidad en el tiempo.

Cenchrus ciliaris presenta un rápido crecimiento con ciclos completos de alrededor de 50 días (Newman & Delgado, 1999). El mecanismo fotosintético de esta especie es C_4 , caracterizado por una anatomía y bioquímica particular del proceso fotosintético (Rudmann *et al.*, 2001). Esta gramínea ha sido introducida en América Central, Australia, Puerto Rico, Texas y algunas otras áreas del mundo (Butt *et al.*, 1992), debido a su conocida tolerancia a condiciones de

sequía y elevadas temperaturas (Whyte, 1959). Además tiene relativamente alta productividad, conserva el valor forrajero aún en condiciones de sequía con valores de proteína cruda superiores al 10% en períodos de crecimiento (Ayerza, 1981). Puede crecer a altitudes superiores a los 2000 msnm, alcanzando hasta 1m de altura (Mutz & Drawe, 1993, Gómez de la Fuente *et al.*, 2007). El Buffel grass tiene moderada tolerancia a la salinidad y es menos tolerante que *Cloris gayana*, *Cynodon dactylon* y *Panicum antidotale* (Graham & Humphreys, 1970). Sin embargo algunos autores señalan diferencias en tolerancia entre cultivares (Graham & Humphreys, 1970). En estudios realizados con *Cenchrus ciliaris* se ha observado que la salinidad afecta el crecimiento de las raíces y de la parte aérea, disminuye considerablemente la tasa fotosintética y modifica la concentración de metabolitos secundarios como la prolina (Akram *et al.*, 2006). Aunque otras variables relacionadas al ajuste osmótico, como el contenido relativo de agua y el potencial hídrico no se han cuantificado, los incrementos en la concentración de prolina (Akram *et al.*, 2006), bajo condiciones de salinidad, son un indicio indirecto de que esta especie realiza ajuste osmótico (Bohnert *et al.*, 1995 Bohnert & Jensen, 1996; Bray *et al.*, 2000; Ashraf & Harris, 2004). La respuesta de esta especie al estrés hídrico ha sido mucho más estudiada, Ludlow (1980) afirma que esta especie puede tolerar potenciales de hasta -13 MPa en el suelo. Dos estrategias fisiológicas, el ajuste osmótico (Wilson & Ludlow, 1983) y el control de la apertura estomática (Ludlow *et al.*, 1985), serían las responsables de que esta especie pueda mantener el balance hídrico aún en suelos con potenciales hídricos bajos (Keya, 1998). Dada la relativa escasez de información sobre las respuestas a la salinidad de *Cenchrus ciliaris* uno de los objetivos de este trabajo fue describir los efectos de la misma sobre tres cultivares de esta forrajera de uso común en nuestro país.

El crecimiento en condiciones de estrés no sólo modifica los patrones de crecimiento de las plantas y su bioquímica (Yeo, 1998; Zhu, 2001; Ashraf & Harris, 2004; Marcum, 2006; Munns & Tester, 2008) sino que también puede inducir modificaciones fenotípicas en las semillas que se forman (Zandt & van Mopper, 2004; Galloway, 2005). Son frecuentes los informes sobre el incremento de tolerancia a la salinidad en progenie de plantas expuestas a dicho estrés (Yeo, 1998; Zhu, 2001; Ashraf & Harris, 2004; Zandt & van Mopper, 2004; Galloway, 2005; Marcum, 2006; Munns & Tester, 2008). Cambios en la disponibilidad de luz, CO₂ y nutrientes en las plantas madres pueden afectar a las semillas originadas en esas condiciones (Wulff *et al.*, 1994; Wuff, 1995; Steinger *et al.*, 2000). Estos cambios en la respuesta fenotípica marcan una potencial dirección de la respuesta evolutiva ya que pueden favorecer a que la progenie se adapte mejor al ambiente en el que probablemente se desarrollará (Byers *et al.*, 1997; Zandt & van Mopper, 2004). El efecto materno inducido por el ambiente proporciona plasticidad adaptativa a lo largo de las generaciones ya que actúa siguiendo tres vías: primero permite predecir el ambiente en el que la progenie se desarrollará, segundo ajusta el fenotipo de la progenie para que los nuevos individuos sean más exitosos y tercero proporciona variabilidad genética a la especie (Galloway, 2005). Se ha observado que esta respuesta fenotípica se da también en respuesta a gradientes de salinidad, así plantas que crecieron en condiciones de salinidad produjeron progenie más vigorosa para tolerar dichas condiciones (Amzallag, 1994). En experiencias realizadas con *Iris hexagona* (Zandt & van Mopper, 2004) se observó que semillas producidas por plantas madres que crecieron en altos niveles de salinidad germinaron antes y en mayor número, tanto en condiciones normales como bajo estrés salino, que semillas provenientes de bajas salinidades, demostrando un efecto indirecto del ambiente materno. En dichas especies los efectos maternos no fueron

detectables 10 días después de la germinación indicando que el efecto indirecto de la salinidad es más efectivo durante la germinación que durante el crecimiento de las plántulas (Redbo-Torstensson, 1994; Zandt & Van Mopper, 2004). Es posible que durante la maduración de las semillas algunas enzimas y otros compuestos que se acumulan en respuesta a los diferentes factores ambientales sean los responsables de diferencias durante la germinación (Gutterman, 1992).

Para poder evaluar los efectos del ambiente sobre las semillas, es necesario separar los efectos de éste de las componentes genéticas, por lo que es recomendable utilizar clones, líneas altamente hibridizadas o especies apomícticas. Esto es de suma importancia por que la variabilidad genotípica puede enmascarar los efectos maternos determinados por el ambiente (Wuff, 1995). Las especies apomícticas como *Cenchrus ciliaris* son particularmente interesantes para el estudio del efecto materno, ya que la apomixis implica la formación del embrión sin fecundación previa (Valla, 2005). No es necesaria la polinización para iniciar el proceso de formación del embrión y este se produce por división del núcleo femenino, sin intervención del gameto masculino, por lo cual la nueva planta originada por ese embrión tendrá una constitución genética idéntica a la planta madre que originó la semilla (Fenner & Thompson, 2005). Todos los caracteres que presentan las nuevas plántulas son de origen exclusivamente materno y se puede así atribuir al ambiente en el cual creció la planta cualquier modificación de dichos caracteres. En base a estos antecedentes el segundo objetivo de este trabajo fue determinar la existencia de efectos maternos sobre la respuesta a la salinidad.

Objetivo general:

-Aportar conocimiento sobre los efectos de la salinidad en el rendimiento de forraje y semilla de *Cenchrus ciliaris* y algunos de los mecanismos fisiológicos subyacentes.

Hipótesis 1

-Dada la proximidad genética entre los cultivares de *Cenchrus ciliaris*, las respuestas a la salinidad en términos de crecimiento vegetativo y reproductivo serán iguales.

Hipótesis 2

-En la tolerancia a la salinidad de cultivares de *Cenchrus ciliaris*, medida como efecto sobre el crecimiento vegetativo y la producción de semillas viables, intervienen mecanismos que participan en la regulación del estado hídrico y en el balance foliar K^+/Na^+ , que depende de la exclusión de Na^+ en láminas foliares.

Hipótesis 3

-Semillas provenientes de plantas salinizadas toleran más condiciones de estrés salino durante la germinación. Este incremento en la tolerancia a la salinidad, se debe a modificaciones en el potencial hídrico de las semillas, resultante de una mayor acumulación de solutos.

Objetivos específicos:

- 1) Caracterizar los efectos de diferentes niveles de salinidad sobre el crecimiento vegetativo, producción de materia seca, emisión de macollos y de espigas en tres cv de *Cenchrus ciliaris*.

- 2) Determinar los efectos de la salinidad sobre las componentes del rendimiento reproductivo: (Nº de espigas por planta, Nº de cariopses por espiga, peso de 100 cariopses y peso de 100 semillas).
- 3) Caracterizar, en los materiales cultivados, bajo diferentes condiciones de salinidad, el contenido hídrico relativo, el potencial hídrico y el potencial osmótico en hojas e inferir, en base a estas variables, si existen mecanismos de osmorregulación.
- 4) Caracterizar los efectos de la salinidad sobre el contenido foliar de iones Na^+ , K^+ y Cl^- . Evaluar la posible asociación entre estas variables y la tolerancia a la salinidad.
- 5) Evaluar la germinación en condiciones de salinidad de semillas provenientes de plantas que se desarrollaron en ambientes salinizados y no salinizados, para determinar la presencia de efectos maternos.
- 6) Medir potencial hídrico y potencial osmótico en semillas para determinar si las modificaciones en tolerancia a la salinidad se deben a una disminución del potencial agua de la semilla por acumulación de solutos.

Capítulo I

“Efecto de la salinidad sobre el crecimiento
vegetativo y la producción de semillas
en *Cenchrus ciliaris*”

Introducción

La salinidad reduce la capacidad de las plantas de extraer agua del suelo y en primera instancia inhibe el crecimiento de las mismas (Munns, 2002; 2005). En este tipo de suelos además del efecto del potencial mátrico de las partículas hay un efecto osmótico originado por la presencia de iones. Así los bajos potenciales osmóticos debidos a la salinidad restringen el ingreso de agua a las plantas y reducen la habilidad de las mismas para sobrevivir y producir materia seca. Es conocido que el efecto de la salinidad sobre las plantas responde a un patrón de dos fases (Munns, 1993) (Fig 1.1). La primera se caracteriza por una rápida reducción del crecimiento, debido a que las sales acumuladas en la rizósfera generan un efecto osmótico disminuyendo el potencial hídrico del sustrato y consecuentemente la absorción de agua. Señales hormonales generadas a nivel radicular serían las responsables de esta primera respuesta (Munns, 2002). La segunda etapa, se debe principalmente a la acumulación de sales en las hojas, que pueden generar inhibición enzimática y consecuentemente una alteración importante del metabolismo (Li-Weng, 1997). Este estrés iónico impacta sobre el crecimiento mucho después y en un nivel inferior al del estrés osmótico (Munns, 2002; Munns & Tester, 2008). Una respuesta inmediata de la planta a la salinidad es la disminución de la tasa de expansión foliar, que trae como consecuencia una reducción del área foliar total de la planta. Esta disminución en la expansión estaría asociada a una pérdida de la turgencia celular debido tanto al efecto osmótico como al específico de las sales (Munns & Tester, 2008). Algunos autores sostienen que esta disminución en el crecimiento no se debe a la pérdida de la turgencia si no a la presencia de señales que actúan a larga distancia, es decir hormonas y sus precursores, que regulan el crecimiento de manera independiente del estado hídrico (Munns &

Tester, 2008). Las vías metabólicas básicas como la fotosíntesis y la respiración también son afectadas por la salinidad, en primera instancia asociados a los efectos de la sal sobre el funcionamiento de las enzimas (Yeo, 1998; Buchanan *et al.*, 2000; Parida & Das, 2005). En un estudio sobre comunidades de *Panicum hemitomom*, *Spartina patens* y *Spartina alterniflora* con diferente exposición a condiciones de salinidad, se encontró que la exposición a niveles sub-letales de sal resultó en una disminución significativa de la fijación de CO₂, la expansión foliar, la eficiencia en el uso del agua y la biomasa total. Se ha encontrado una relación negativa entre la actividad fotosintética y los contenidos de Na⁺ y Cl⁻ en hoja en muchas sp (Yeo, 1998), sin embargo la tolerancia a la salinidad del sistema fotosintético y respiratorio está asociada a la capacidad de las especies de regular el contenido de iones en el citoplasma (Tester & Davenport, 2003; Maathuis, 2005).

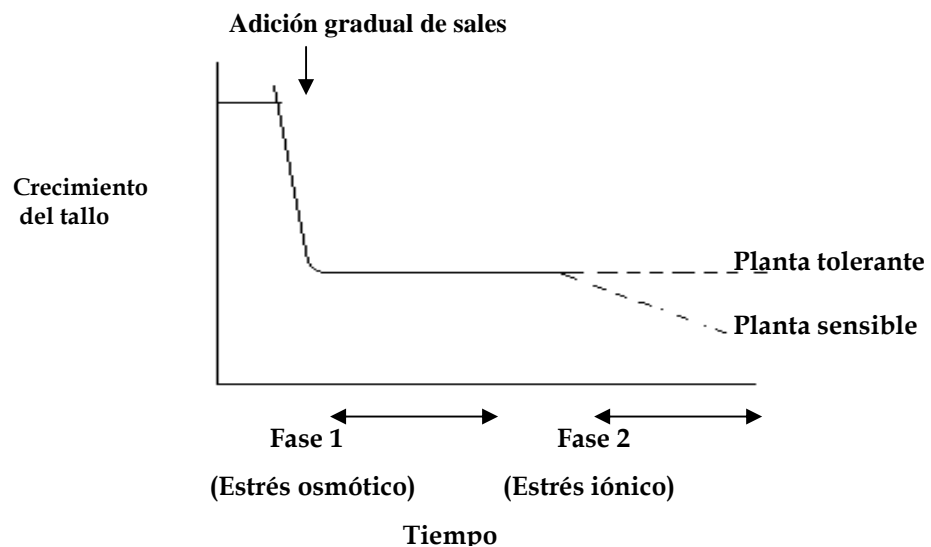


Figura 1.1: Respuesta esquemática del efecto bifásico de la adición de sales sobre el crecimiento. **Durante la fase 1**, el crecimiento de ambos genotipos se reduce debido al efecto osmótico de la solución salina alrededor de las raíces. **Durante la fase 2**, las hojas del genotipo más sensible mueren y se reduce la capacidad fotosintética de la planta, disminuyendo el crecimiento (Tomado de Munns, 2005).

Las plantas presentan tres mecanismos que les permiten tolerar la salinidad, por un lado la tolerancia al estrés osmótico comprende la habilidad de tolerar la sequía dada por la salinidad y mantener la expansión de las hojas y la conductancia estomática (Rajendran, Tester & Roy, 2009). Los mecanismos involucrados en este proceso todavía no están completamente dilucidados pero se ha demostrado que la respuesta de las plantas al estrés osmótico es independiente del nivel de nutrientes en el medio de crecimiento. El segundo mecanismo involucrado está relacionado con la habilidad de reducir el estrés iónico, minimizando la cantidad de Na^+ que se acumula en el citosol de las células particularmente en las hojas que están transpirando. El control de los niveles de Na^+ se puede lograr a través de la exclusión de este ión de las hojas, ya sea evitando el ingreso o redistribuyéndolo (Tester & Davenport 2003; Munns & Tester 2008), o eficientizando la compartimentalización de Na^+ en las vacuolas o algún tipo particular de células de manera que el daño al metabolismo celular sea mínimo (Munns & Tester 2008). El último mecanismo tiene que ver con la capacidad de mantener la homeostasis iónica y asegurar el funcionamiento de los procesos metabólicos básicos en ambientes donde el desbalance iónico es muy marcado (Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006).

Las estrategias relacionadas con el incremento en tolerancia a la salinidad en plantas son variables e incluyen diferentes mecanismos de control de iones como la restricción del ingreso a nivel de las raíces, la distribución y relocalización en el tallo, el ajuste osmótico y el ingreso de iones a los sitios de compartimentalización (Greenway & Munns, 1980; Yeo 1998). El aumento de iones en respuesta a la salinidad y la disminución de los potenciales hídricos y osmóticos supone una relación directa entre ajuste osmótico y acumulación de iones. Sin embargo aunque el Na^+ es un osmolito que contribuye a disminuir el

potencial osmótico y así mantener el crecimiento en condiciones de salinidad, resulta tóxico, afectando muchas enzimas a nivel celular (Tester & Davenport, 2003), por lo que es necesario excluirlo del citoplasma a sitios de compartimentalización. Las monocotiledóneas en general tienden a excluir iones de los tallos para minimizar el efecto tóxico, numerosos estudios en Poaceas han comprobado que la tolerancia a la salinidad está relacionada con este mecanismo (Hauser & Horie, 2010; Rajendran, Tester & Roy, 2009; Ashraf, 2006; Marcum, 2006; Davenport *et al.*, 2005; Poustini & Siosemardeh; 2004; Asch *et al.*, 2000). Los pastos regulan la concentración de iones a través de la compartimentalización vacuolar en las raíces o en el tallo o mediante la excreción de sales a través de glándulas de sal, mientras que la reabsorción de iones por el xilema/floema y la redistribución en raíces o en hojas senescentes juegan un papel menor (Marcum, 2006). En muchos de ellos se ha visto que el ajuste osmótico ocurre bajo condiciones de estrés salino aún en especies sensibles, donde los osmolitos predominantes son los iones presentes en el suelo. Se ha observado también que las estrategias de ajuste osmótico y homeostasis iónica varían entre especies tolerantes y no tolerantes y aún entre cultivares.

En un estudio comparativo entre varias especies de pastos frente a condiciones de salinidad se observó que las estrategias para enfrentar estas condiciones fueron diversas (Ashraf, 2006). La especie más tolerante *Leptochloa fusca* acumuló grandes cantidades de Na^+ y Cl^- en los tallos mientras que las concentraciones permanecieron bajas en raíces. Esta especie utiliza la estrategia típica de las especies halófitas que poseen glándulas secretoras de sal, que les permite rápidamente traslocar los iones desde las raíces hasta las glándulas ubicadas en las hojas. La especie más sensible, *Panicum divisum*,

también mostró una alta acumulación de Na^+ y Cl^- en los tallos, pero su crecimiento fue mucho más afectado. La diferencia entre las dos especies radicó en que *Leptochloa fusca* acumuló grandes cantidades de K^+ y Ca^{++} lo que le permitió mantener altos índices K^+/Na^+ y $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$, mientras que *Panicum divisum* no pudo mantener altas las relaciones K^+/Na^+ y $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$. Otras dos especies, *Cenchrus pennisetiformis* y *Panicum turgidum*, son relativamente intermedias en la tolerancia a la salinidad. Se vio que *Cenchrus pennisetiformis* de manera similar a *Leptochloa fusca* absorbió grandes cantidades de Na^+ en los tallos pero al mismo tiempo acumuló grandes cantidades de Ca^{++} manteniendo la relación $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$ alta. Por el contrario *Panicum turgidum* mantuvo bajas concentraciones de Na^+ y Cl^- en el tallo pero las concentraciones de estos iones en raíces fueron altas (Ashraf, 2006). En otro trabajo Gulzar y Khan (2006) observaron que en *Aeluropus lagopoides* y *Urochondra setulosa* la absorción de grandes cantidades de Na^+ provocó el incremento de la succulencia para mantener la turgencia. Mientras que en *Sporobolus ioclados*, se produjo la pérdida de agua de los tejidos aún cuando los niveles de K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} fueron altos y los de Cl^- bajos. Indudablemente esta especie no fue exitosa en eliminar los iones Na^+ probablemente debido a una baja tasa de secreción a través de las glándulas de sal. En comunidades de *Panicum hemitomom*, *Spartina patens* y *Spartina alterniflora* con diferente exposición a condiciones de salinidad, se encontró un incremento significativo de la relación Na^+/K^+ en hoja y de los contenidos de prolina, glicinbetaina y sacarosa en hoja. En las poblaciones más tolerantes a la sal se encontró la mayor selectividad iónica, es decir bajas relaciones Na^+/K^+ (Hester *et al.*, 2001). Es conocido para un gran número de especies que la capacidad de tolerar concentraciones moderadas de sal está asociada a la capacidad de acumular Na^+ y de mantener elevados los niveles de K^+ (Munns *et al.*, 2000 Zhu *et al.*, 2000). Esta correlación es especialmente fuerte

en plantas gramíneas, las monocotiledóneas halófitas tienden a acumular menos Na^+ pero a mantener los niveles de K^+ altos y el balance osmótico está dado por la síntesis de azúcares. Esto se debe a que las monocotiledóneas tienen menos capacidad de almacenar Na^+ en las vacuolas que las dicotiledóneas, pero requieren más K^+ y solutos compatibles en el citosol para mantener el potencial hídrico (Tester y Davenport, 2003).

Los efectos de la salinidad sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas están muy relacionados con la etapa del ciclo ontogénico en que ocurre el estrés. Las etapas más susceptibles son la germinación y el establecimiento de las plántulas (Taiz & Zeiger, 2004), luego en orden de sensibilidad siguen la etapa vegetativa y los primeros estadios de la etapa reproductiva, hacia el final del ciclo de la planta la susceptibilidad a la salinidad disminuye (Maas *et al.*, 1986; Maas & Poss, 1989a; Maas & Poos, 1989b; Zeng & Shannon, 2000). Esta sensibilidad a la salinidad durante los primeros estadios de la etapa reproductiva se traduce en modificaciones sobre las componentes del rendimiento. En arroz se ha observado que el estrés salino inhibe el desarrollo normal de las plantas, particularmente afectando el número de macollos y panículas, lo que disminuye el número total de flores por planta (Grattan *et al.*, 2002). Aunque las especies responden de manera diferente frente a las condiciones de estrés en lo respecta al rendimiento reproductivo, los efectos más marcados se observan cuando el período de estrés se ubica alrededor de la floración que es cuando se determina principalmente el número de granos (Slafer *et al.*, 2006). En algunas especies anuales lo que se ve afectado es la formación y viabilidad de los órganos reproductivos. En arroz se han observado modificaciones del número de macollos, del número de panículas, de la cantidad de espigas por panícula, del número de flores fértiles y del peso individual de los granos. La modificación de

estas variables estuvo relacionada con el momento en el que se produjo el estrés, así las reducciones en el número de espigas por panícula, de panículas por planta y el peso de semillas fueron más afectadas cuando el estrés se produjo entre la aparición de la tercera hoja y de las panículas. El número de espigas se redujo significativamente cuando el estrés se impuso entre la iniciación de la panícula y los primeros estadios del llenado mientras que el número de macollos no fue sensible a la salinidad durante este período (Grattan *et al.*, 2002). También en arroz Zeng y Shannon (2000) observaron que la etapa más sensible del ciclo fue al inicio de la panícula modificando todas las componentes del rendimiento excepto el peso de 1000 granos.

Se ha demostrado que los niveles de Na^+ y Cl^- presentes en los primordios reproductivos son demasiado bajos para alterar el metabolismo (Munns, 2002). Aparentemente el transporte de Na^+ y Cl^- vía floema hacía los ápices estaría muy bien controlado, evitando que éstos alcancen concentraciones tóxicas (Munns, 2002), por lo que se cree que los efectos específicos de la sal realmente no alteran el desarrollo reproductivo. Aparentemente el efecto es debido a la falta de agua ya que consecuencias similares en los rendimientos se han observado en respuesta a la sequía. En arroz la emergencia de panículas falla, las espiguillas pierden agua y la lema y palea mueren y también las anteras fallan en la dehiscencia. El estrés hídrico durante ciertos estadios del desarrollo floral provoca serios daños en la producción de semillas, a través de la esterilidad del polen y el aborto de embriones. Bajos potenciales hídricos durante la antesis son especialmente perjudiciales en arroz y maíz. En maíz, por ejemplo, la microesporogénesis es el evento más sensible al estrés, y a pesar de que el estado hídrico de los tejidos florales se mantiene, aún en condiciones de bajo potencial hídrico, se observa un efecto esporocida asociado al ABA generado en los tejidos vegetativos y que

actúa sobre los reproductivos (Passioura, 2006). Posteriormente, en maíz pueden ocurrir severos problemas de aborto de embriones por la merma en la disponibilidad de carbohidratos para las semillas en formación (Passioura, 2006).

La respuesta de las plantas al estrés hídrico y a la salinidad tienen mucho en común, la salinidad reduce la capacidad de las plantas para extraer agua del suelo y esto provoca reducciones en las tasas de crecimiento. Muchos de los cambios metabólicos que se traducen en reducciones en el crecimiento originados por la salinidad son idénticos a los que ocurren frente al estrés hídrico (Munns, 2002). Bajo condiciones de estrés hídrico se ha visto que *Cenchrus ciliaris* disminuye su crecimiento (Akram *et al.*, 2008) y su capacidad de emitir macollos (Mansoor *et al.*, 2002). También se sabe que esta especie realiza ajuste osmótico y disminuye su potencial hídrico hasta -6.9 MPa (Wilson & Ludlow, 1983). Con respecto a otros parámetros fisiológicos bajo condiciones de estrés hídrico se ha visto que esta especie disminuye su tasa neta de fotosíntesis y la conductancia estomática de manera considerable (Buldgen & François, 1998). Sin embargo en relación a la tolerancia a la salinidad sólo hay estudios generales que hablan de diferencias entre cv (Graham & Humphreys, 1970; Ayerza, 1981), pero no respecto de las estrategias fisiológicas utilizadas por la especie bajo estas condiciones. En este trabajo se planteó evaluar el efecto del estrés salino en tres cv de *Cenchrus ciliaris* durante todo el ciclo de la planta. Para ello se diseñó un sistema experimental a campo que permitió mantener constantes los niveles de sal en el sustrato, asegurando el desarrollo de las plantas hasta alcanzar la etapa reproductiva. El tipo de reproducción predominante en esta especie, de tipo asexual, impide la recombinación genética y por lo tanto la diversidad intraespecífica por lo que sería de esperar

que los cv no difieran demasiado en su respuesta. Derivado de todo lo antedicho se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos específicos:

-Hipótesis 1: Dada la proximidad genética entre los cultivares de *Cenchrus ciliaris*, las respuestas a la salinidad en términos de crecimiento vegetativo y reproductivo serán similares.

-Hipótesis 2: En la tolerancia a la salinidad de cultivares de *Cenchrus ciliaris*, medida como efecto sobre el crecimiento vegetativo y la producción de semillas viables, intervienen mecanismos que participan en la regulación del estado hídrico y en el balance foliar K^+ / Na^+ , que depende de la exclusión de Na^+ en láminas foliares.

Objetivos específicos:

- 7) Caracterizar los efectos de diferentes niveles de salinidad sobre el crecimiento vegetativo, producción de materia seca, emisión de macollos y de espigas en tres cultivares de *Cenchrus ciliaris*.
- 8) Determinar los efectos de la salinidad sobre las componentes del rendimiento reproductivo: (Nº de espigas por planta, Nº de cariopses por espiga, peso de 100 cariopses y peso de 100 semillas).
- 9) Determinar en materiales cultivados, bajo esas condiciones, el contenido hídrico relativo, el potencial hídrico y el potencial osmótico en hojas e inferir, en base a estas variables, si existen mecanismos de osmorregulación.
- 10) Caracterizar los efectos de la salinidad sobre el contenido foliar de iones Na^+ , K^+ y Cl^- . Establecer la asociación entre estas variables y la tolerancia a la salinidad.

Materiales y Métodos

Para este estudio se utilizaron tres cultivares de *Cenchrus ciliaris* (Fig 1.2): Biloela, Americana y Texas 4464 (Ayerza, 1981).

-Biloela: es de porte alto y robusto, se desarrolla bien en suelos de textura pesada y con tenores moderados de sal, no tolera las inundaciones. Posee rizomas y puede alcanzar una altura de 1,50 m bajo condiciones favorables. Es de floración más tardía que los tipos más bajos. Paull y Lee (Ayerza, 1981) sostienen que esta variedad es la que mejor toleró la presencia de sal en Australia.

-Americana: aparentemente esta variedad podría derivar de la Texas 4464, pero esto no está comprobado. Posee tallos finos y follaje denso, los rizomas subterráneos son más cortos y menos numerosos, pero la densidad de sus brotes es mayor que en la variedad Biloela. Es menos robusta que la variedad Biloela pero el ganado frecuentemente la prefiere. Alcanza una altura de 55 cm.

-Texas 4464: produce abundante follaje y se comporta bien en suelos livianos hasta semipesados, soportando cierta inundación y hasta -10°C de temperatura. Esta variedad se caracteriza por su color verde claro siendo muy resistente a la sequía.

La selección de los cultivares se realizó teniendo en cuenta las características de los mismos y el uso y/o disponibilidad en el mercado. El cv Biloela es, según la bibliografía, el más tolerante a condiciones de salinidad (Graham & Humphreys, 1970; Ayerza, 1981) mantiene altos rendimientos en concentraciones de 80 meq por litro de NaCl. El cv Texas se incluyó por ser el más difundido en toda Latinoamérica y el que posee mayor disponibilidad de semillas en el mercado. En cuanto al cv Americana se cree que es idéntico al material anterior, sin embargo esto no está comprobado (Ayerza, 1981), por lo

que se lo incluyó en el ensayo para comparar su respuesta frente a condiciones salinas con el cv Texas. En un estudio realizado por Graham y Humphreys (1970), el cv America resultó uno de los que mejor toleró las bajas salinidades respecto de otros cultivares.



Figura 1.2: *Cenchrus ciliaris* 1-Hábito; 2- Lígula; 3- Inflorescencia 4- Espiguilla

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones de la Estación Experimental Agropecuaria EEA INTA San Juan (Latitud 31° 37' S, Longitud 68° 32' W, Altura 618.23 m. snm) durante dos temporadas estivales, la primera comenzó en diciembre de 2006 y finalizó en julio de 2007 y la segunda se extendió de diciembre de 2007 hasta julio de 2008. Durante la primera temporada se realizaron muestreos periódicos para obtener medidas de crecimiento y productividad de los cultivares. Durante la segunda temporada se hizo hincapié principalmente en la evaluación de las variables fisiológicas relacionadas con el ajuste osmótico y la acumulación de iones.

Primera Temporada

-Implantación y riego

Las semillas de los tres cultivares de *Cenchrus ciliaris*: Biloela, Texas y Americana se sembraron en contenedores de 1000 lts, en arena lavada (Fig 1.3). El 20 de diciembre de 2006, se regaron con agua de riego (CE 650 $\mu\text{sm/cm}$ aproximadamente) hasta la emergencia de las plántulas que se observó el 24 del mismo mes. Luego de la emergencia las plántulas se regaron con una solución nutritiva comercial de nitrato de amonio, nitrato de potasio y ácido fosfórico, en una concentración de 10:4:2 ppm/l respectivamente, para asegurar el aporte de nutrientes esenciales. Las plantas se regaron con solución nutritiva para asegurar un normal desarrollo antes y durante la aplicación de los tratamientos salinos. Los tratamientos se aplicaron a los 45 días de la emergencia, previo al inicio de los mismos se seleccionaron plantas uniformes dentro de cada variedad las cuales se regaron con soluciones salinas de NaCl de 8, 13 y 18 dS/m. Estas conductividades son equivalentes a 50, 100 y 150 mM NaCl. Las conductividades citadas se obtuvieron agregando a la solución nutritiva de 3 dS/m la proporción adecuada de NaCl. A las soluciones de NaCl se les midió la conductividad eléctrica (Ce) con un conductímetro de inmersión. Para evitar el shock osmótico las concentraciones de NaCl se incrementaron gradualmente cada dos días hasta alcanzar la concentración deseada. A modo de control se utilizaron plantas regadas sólo con solución nutritiva. Se utilizaron cuatro contenedores por tratamiento de riego dentro de los cuales se sembraron los 3 cv. En todos los casos se mantuvo el sustrato a capacidad de campo reemplazando las pérdidas de agua causadas por evaporación y transpiración.

El riego se realizó a través de un sistema presurizado con 9 goteros de 78 ml/m y 9 goteros de 38 ml/m en cada contenedor, los que aportaron un

volumen total de solución de 1.044 ml/m Las soluciones de riego se prepararon diariamente y se monitoreó la conductividad eléctrica de las mismas. El riego se realizó cuatro veces por día en láminas de 50 litros cada una, los horarios de riego abarcaron las horas de máxima evaporación para evitar la acumulación de iones en el perfil (8, 11, 14 y 16 hs). Las láminas de 50 litros se distribuyeron en las cuatro repeticiones de cada tratamiento, correspondiendo a cada maceta un volumen de aproximadamente 12 litros por riego (Fig 1.4). El exceso de humedad de los contenedores se receptó en un sistema de drenaje interno (Fig 1.5) y se colectó en bidones de 35 litros monitoreando diariamente la conductividad eléctrica del lixiviado y el volumen colectado de cada contenedor (Fig 1.6) (Grattan *et al.*, 2004). Las conductividades de la soluciones de riego y de los excedentes de lixiviado se monitorearon diariamente para mantener la estabilidad del sistema, es decir un nivel de salinidad constante en cada uno de los contenedores (Fig 1.7). Las condiciones del ensayo fueron a temperatura, radiación y humedad ambiente durante los meses de noviembre a junio.



Figura 1.3: Vista del contenedor de 1000 lts.



Figura 1.4: Vista del sistema de riego presurizado

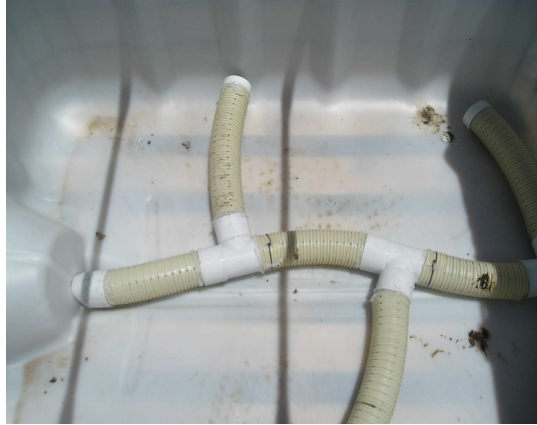


Figura 1.5: Sistema de drenaje en el fondo del contenedor



Figura 1.6: Bidón colector del excedente de riego

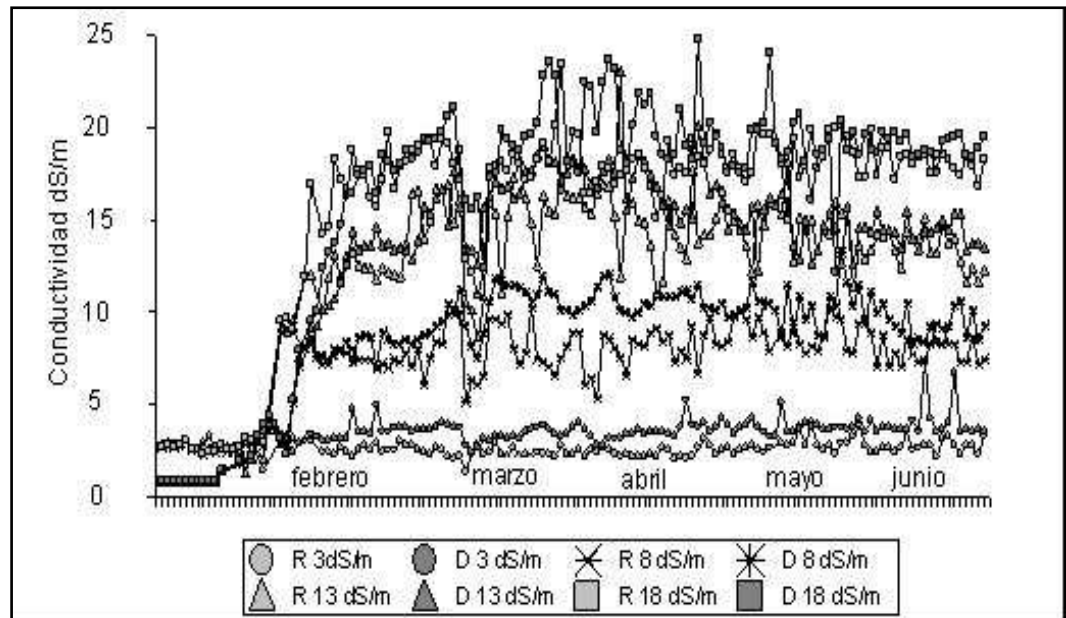


Figura 1.7: Conductividad diaria en milisiemens de las soluciones de riego (R) y drenaje (D), durante los meses de enero a junio.

-Variables de crecimiento

Se realizaron muestreos extractivos de plantas completas en los meses de febrero, marzo y mayo. En cada una de las fechas mencionadas dos plantas por cv se extrajeron de cada contenedor y se llevaron a laboratorio para obtener las siguientes medidas de crecimiento: Altura (desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más larga), número de macollos (se contabilizaron todos los macollos presentes). Luego las plantas se separaron en parte aérea y raíz y se pesaron en balanza de precisión para obtener el peso fresco. El material vegetal

se deshidrató posteriormente en estufa a 70°C y se pesó en balanza de precisión para obtener el peso seco. Algunas variables se expresaron como porcentaje respecto del control para eliminar el efecto del tamaño del cv, ya que Biloela es un cv alto y los otros dos bajos (Kusvuran *et al.*, 2007).

Segunda Temporada

-Implantación y riego

Durante la segunda temporada se realizó una modificación del sistema de drenaje que consistió en la recolección de la solución de lixiviado en un sistema de drenaje gravitacional. Así el lixiviado de las 4 repeticiones de un tratamiento se reunía en una manguera colectora principal que desembocaba en un bidón de 200 lts, desde donde se bombeaba nuevamente la solución por el sistema presurizado para realizar el riego. Se logro así un circuito cerrado donde la solución de lixiviado era recuperada para ser nuevamente aplicada a través del riego. Las soluciones de los bidones se monitorearon diariamente y se ajustaron cada dos días (Fig 1.8), preparando soluciones nuevas cada cinco días. Las láminas y horarios de riegos se mantuvieron idénticos a la temporada anterior asegurando la estabilidad del sistema.

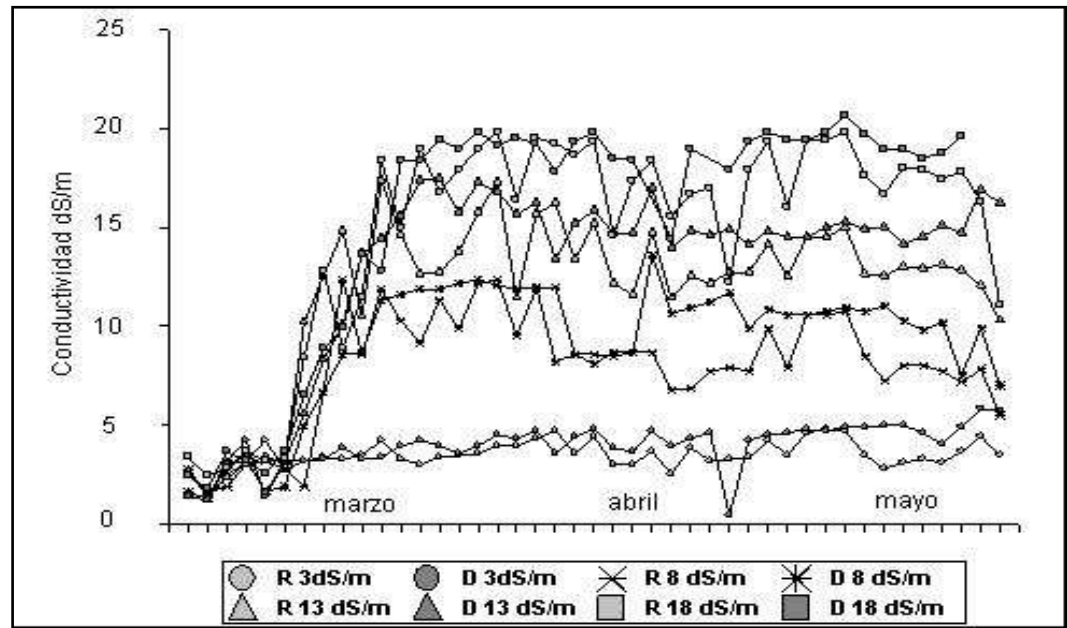


Figura 1.8: Conductividad diaria en milisiemens de las soluciones de riego (R) y drenaje (D), durante los meses de marzo a mayo.

-Variables de crecimiento

Se realizó un muestreo extractivo de plantas completas en el mes de mayo, dos plantas por cv se seleccionaron de cada contenedor y se llevaron a laboratorio para obtener las medidas de crecimiento descritas en la primera temporada.

- Variables de rendimiento reproductivo y colección de semillas

Se determinó el número de espigas por planta producidos en cada uno de los cortes extractivos de febrero, marzo y mayo. Para determinar el número de cariopses por espiga, estas se cubrieron con una bolsa de tul transparente para evitar la caída de los cariopses. Las mismas se colectaron una vez madura la espiga y se contaron los cariopses. Una vez por mes a partir de la madurez de las semillas se realizó la cosecha de todas las espigas maduras. Con este material se obtuvo el rendimiento por planta, el peso promedio de 100 cariopses y el de 100 semillas limpias luego de ser escarificadas.

-Relaciones hídricas

Antes de la extracción de las plantas seleccionadas para la obtención de las variables de crecimiento se realizó la medición del potencial hídrico en hoja (Ψ_h) utilizando una cámara de presión de Scholander (Scholander *et al.*, 1965). Para la obtención del mismo se utilizaron hojas nuevas. De las mismas plantas se extrajeron cuatro hojas para calcular el contenido hídrico relativo (RWC). Secciones de hoja de aproximadamente 4 cm se pesaron, obteniéndose el peso fresco (Fw) luego se incubaron 24 hs en agua desionizada a 4°C en oscuridad para obtener el peso turgente (Tw). Posteriormente se deshidrataron 48 hs en estufa de secado a 70°C para determinar el peso seco (Dw). El RWC se calculó mediante la siguiente ecuación (Ghoulam *et al.*, 2002)

$$\text{RWC} = ((\text{Fw} - \text{Dw}) / (\text{Tw} - \text{Dw})) \times 100$$

Donde: **Fw**: peso fresco

Dw: peso seco determinado luego de 48 hs en estufa de secado a 70°C

Tw: peso turgente (luego de 24 hs de saturación en agua a 4°C en oscuridad)

Para determinar el potencial osmótico (Ψ_o) se tomaron cuatro hojas totalmente expandidas por planta en cuatro plantas seleccionadas al azar. Estas se conservaron en freezer a -10°C para producir la ruptura celular. Posteriormente las muestras se prensaron para obtener el líquido tisular, este se colocó en un Osmómetro (Wescor) para determinar el Ψ_o de la muestra.

-Determinación aniones y cationes en la lámina foliar

El material vegetal obtenido del corte del mes de mayo se utilizó para la determinación de Na^+ , K^+ y Cl^- . Las hojas se sometieron a un lavado con detergente no iónico y se secaron en estufa a 70°C hasta peso constante. Luego el material seco fue calcinado a 500°C durante 6hs, las cenizas se disolvieron en SO_4H_2 al 20 %, se diluyeron con agua desionizada y se filtraron. A partir de esta solución se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica con un

equipo Analyst 200 (Perkin Elmer) los contenidos de Na^+ y K^+ (Ghoulam *et al.*, 2002; M'rah *et al.*, 2005), para la determinación de Cl^- se utilizaron electrodos selectivos. Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol/g}$ de materia seca. La selectividad iónica se determinó como el cociente entre la relación K^+/Na^+ de la planta y la relación de estos iones en la solución de riego (Flowers & Yeo, 1988, Grieve *et al.*, 2004).

-Diseño experimental y Análisis estadístico

El diseño aplicado fue en parcelas divididas, correspondiendo a la parcela principal el tratamiento de riego (control, 8, 13 y 18 dS/m) y a la parcela secundaria la variedad de *Cenchrus ciliaris* (Texas, Americana y Biloela). Siguiendo el modelo estadístico de factores fijos para parcelas divididas en bloques completamente aleatorizados (Cochran & Cox, 1957; Kuehl, 2001):

$$y_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \gamma_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Un total de 4 repeticiones por cada tratamiento se distribuyeron al azar. Los datos se analizaron a través del análisis de la varianza (ANOVA) a dos vías (tratamiento y cultivar) teniendo en cuenta niveles de significancia de $P \leq 0.05$ o $P \leq 0.01$. Se consideraron en el análisis el efecto de los tratamientos, de la variedad y la interacción de ambos. En los casos en que el ANOVA resultó significativo para la separación de medias se aplicó a posteriori el test de Tukey. En aquellos casos en que las variables se modificaron por efecto de los tratamientos, se realizó un análisis de tendencia lineal. Se comprobó en todos los casos que los datos cumplieran los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia

Resultados

-Efectos de la salinidad sobre el crecimiento

La evolución del crecimiento del Buffel grass obtenido con los muestreos de febrero, marzo y mayo durante la primer temporada, mostró que esta especie tiene una tendencia a disminuir su crecimiento proporcionalmente a medida que aumenta la concentración de sal (tendencias lineales significativas de altura y peso fresco del tallo) (Fig 1.9 A, Tabla 1.1, Anexo 1). El desarrollo radicular a lo largo de la primer temporada mostró también una disminución significativa a medida que se incrementó la salinidad (Tabla 1.1, Anexo 1). El número de macollos no mostró diferencias significativas entre los tratamientos en la primera fecha de muestreo realizada en febrero, mientras que en las fechas posteriores se observó una disminución significativa del macollaje en los tratamientos de 13 y 18 dS/m (Tabla 1.1, Anexo 1). En ninguna de las fechas de muestreo se observaron diferencias significativas entre los cv ni interacciones entre variables. También se pudo observar que a medida que el tiempo de exposición a la sal se incrementó (2 y 4 meses) los cv mostraron una adaptación al nivel más bajo de salinidad (8 dS/m), igualándose los porcentajes de pesos aéreos, radiculares y el macollaje respecto del control (Tabla 1.1, Anexo 1). La altura de las plantas no siguió esta tendencia sino que disminuyó a 8 dS/m, lo que indica que las modificaciones en peso se deben exclusivamente a modificaciones en la generación de macollos.

En la segunda temporada las variables de crecimiento, cuantificadas sólo al final de la misma, también mostraron modificaciones en respuesta a los tratamientos aplicados, tampoco se registraron interacciones significativas entre cultivares y tratamientos. La altura fue significativamente modificada por la

salinidad ($p=0,0004$) (Anexo 1), registrándose diferencias entre el control y los tratamientos, pero no entre los distintos niveles de salinidad (Fig 1.9 B)

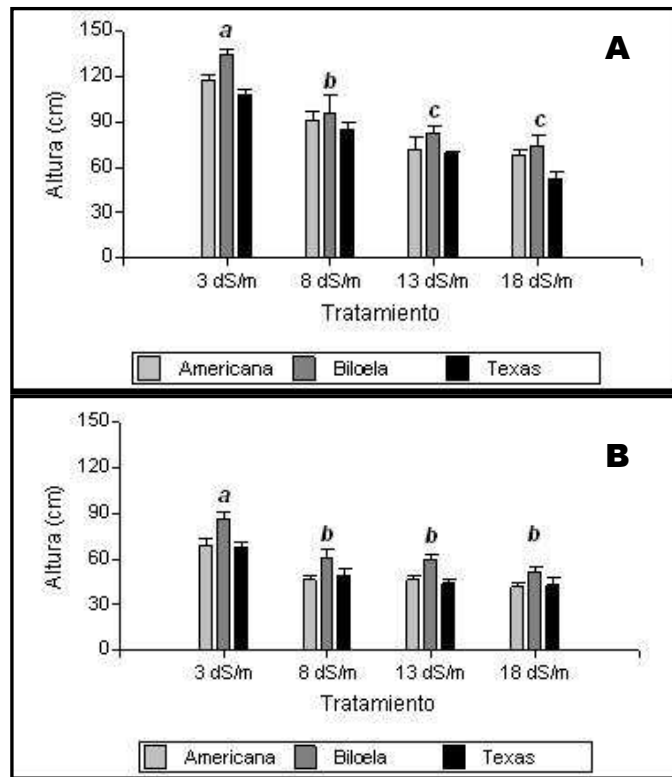


Figura 1.9: Altura de las plantas al finalizar la primer temporada de muestreo (A) y al finalizar la segunda temporada de muestreo (B). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) según test de Tukey. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

Los pesos frescos y secos tanto de la raíz como del tallo siguieron la misma tendencia que la altura (Tabla 1.2). Es decir aparecieron diferencias significativas de los tratamientos respecto del control pero no entre ellos, con una tendencia significativa a decrecer conforme aumenta la sal de la solución de riego. En lo referido a la aparición de macollos se aprecia una disminución de los mismos en los tratamientos de mayor conductividad eléctrica respecto del control pero los análisis de tendencia lineal y cuadrática no resultaron

significativos para esta variable (Tabla 1.2) (Fig 1.10). Idénticos resultados se obtuvieron para el número de espigas.

Las diferencias en las variables de crecimiento que se observan entre la temporada 1 y la 2 se deberían a que la densidad de plantas por contenedor fue menor en la temporada 2. Esto hizo que las plantas de la temporada 2 fueran más bajas en promedio (Fig 1.9) y emitieran mayor número de macollos (Fig 1.10). En general cuando se analizan los porcentajes de cada variable respecto del control las tendencias son similares.

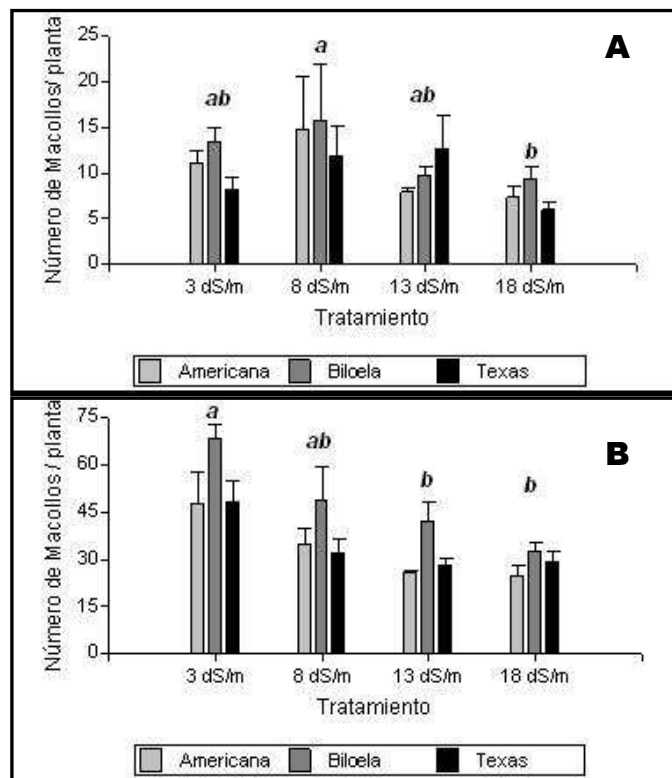


Figura 1.10: Número de macollos por planta al finalizar la primera temporada de muestreo (A) y al finalizar la segunda temporada de muestreo (B). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

-Efectos de la salinidad sobre el rendimiento reproductivo

El rendimiento reproductivo disminuyó en los tratamientos salinos, al final de la segunda temporada la tendencia de la producción de espigas fue decreciente en relación a la salinidad siendo significativamente menor en los tratamientos salinos (Fig 1.11). El ANOVA a dos vías para el porcentaje de espigas respecto del control mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p=0,0473$) y entre cv ($p=0,0002$). Mientras que las interacciones entre variables no resultaron significativas (Tabla 1.3) (Anexo 1). Al final de la segunda temporada el rendimiento por planta fue afectado por los tratamientos ($p=0,050$) y varió también entre cv ($p=0,0487$) (Anexo 1 Tabla 1.3). De los 3 cvs, Texas es el que menos producción tuvo y Americana el más productivo, Biloela se ubicó entre los dos anteriores mostrando un comportamiento intermedio. En los tres cv el control se diferenció de los tratamientos salinos, aunque entre éstos no siempre se presentaron grandes diferencias (Tabla 1.3). El número de cariopses por espiga no se modificó en respuesta a los tratamientos, indicando que esta componente del rendimiento no es afectada por los niveles de salinidad evaluados. Biloela presentó un número significativamente mayor de cariopses por espiga respecto de los otros cv (Tabla 1.3). Con respecto al peso de 100 cariopses aparecieron interacciones significativas entre los tratamientos y el cv ($p=0,0009$) (Anexo 1), por lo que se analizó el comportamiento de cada cv por separado. Este análisis mostró que el peso de 100 cariopses en el cv Biloela no se modificó con los tratamientos (Tabla 1.3), mientras que en los otros 2 cv si se vio afectada esta variable por los tratamientos. En el cv Texas los cariopses se hicieron más livianos a medida que la salinidad fue mayor (Tabla 1.3). En el cv Americana el patrón no fue tan claro, los cariopses más pesados fueron los del tratamiento de 8 dS/m (Tabla 1.3). Si analizamos conjuntamente esta variable con el peso de 100 semillas escarificadas donde no hay diferencias de peso en respuesta a los

tratamientos ($p=0,0893$) (Anexo 1), es evidente que estas modificaciones en el peso de los cariopses se deben a que en respuesta a los tratamientos, en los cariopses hay más semillas vanas o bien se fijan menos semillas por cariopse, ya que el número de semillas por cariopse puede variar de 1 a 5 según el cv (Ayerza, 1981). De las variables del rendimiento las componentes más afectadas son el número de espigas por planta y el peso de 100 cariopses. Esta última variable es indicativa del número de semillas fijadas por cariopse o la cantidad de cariopses vanos en respuesta a los tratamientos. En el cv Texas los cariopses se hicieron más livianos a medida que la salinidad fue mayor, indicando que en este cv el efecto de la salinidad fue más marcado que en los otros dos. Las otras componentes del rendimiento cuantificadas, número de cariopses por espiga y peso de 100 semillas, no sufrieron modificaciones debido a los tratamientos.

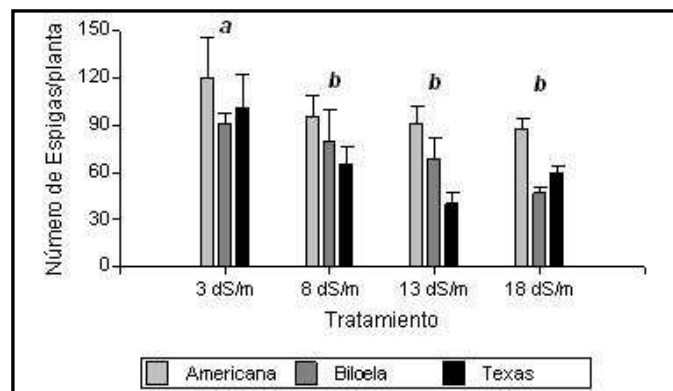


Figura 1.11: Número de espigas por planta al finalizar la segunda temporada de muestreo Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

Tabla 1.1: Evolución de la altura, peso fresco del tallo y número de macollos por planta en tres cultivares de *Cenchrus ciliaris* en los meses de febrero, marzo y mayo durante la primera temporada de muestreo. Valores medios obtenidos de dos plantas por repetición. Entre paréntesis letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey. Para cada variable se indican porcentajes respecto del control. Ajuste lineal de los datos, valor de R^2 y nivel de significancia del ajuste ** $p \leq 0,0001$, * $p \leq 0,05$ y ^{ns} no significativo.

Cultivar	Tratamiento	Altura (cm)			Peso fresco del tallo (g)			Número de macollos		
		Febrero	Marzo	Mayo	Febrero	Marzo	Mayo	Febrero	Marzo	Mayo
Americana	3 dS/m	93,5(a)	119,8(a)	117,8(a)	112,4(a)	349,5(a)	390,7(a)	19,0(a)	10,2(a)	11,13(ab)
	8 dS/m	74,0(b) 78%	90,0(b) 74%	91,0(b) 77%	94,0(b) 86%	237,7(ab) 78%	470,0(a) 132%	15,0(a) 79%	12,0(a) 124%	14,7(a) 135%
	13 dS/m	59,8(bc)64%	70,0(c) 58%	72,2(c) 61%	66,5(bc) 68%	110,4(b) 40%	131,7(b) 33%	17,0(a) 91%	7,0(b) 76%	7,8(ab) 75%
	18 dS/m	57,9(c) 62%	61,6(c) 51%	68,3(c) 58%	56,0(c) 54%	71,7(b) 27%	135,6(b) 36%	14,6(a) 78%	5,1(b) 52%	7,3(b) 72%
	Tendencia lineal	0.77 **	0.89 **	0.78 **	0.53**	0.65 **	0.40*	0.13 ^{ns}	0.43*	0.14 ^{ns}
Biloela	3 dS/m	112,7(a)	133,7 (a)	134,00(a)	446,96(a)	582,79(a)	664,8(a)	23,2 (a)	14,0(a)	13,5(ab)
	8 dS/m	90,0(b) 79%	109,2(b) 82%	96,0(b) 72%	214,4(b) 51%	449,4(ab) 95%	529,8(a) 87%	18,5(a) 80%	14,8(a) 112%	15,7(a) 110%
	13 dS/m	82,0(bc)73%	87,8(c) 66%	82,5(c) 61%	114,2(bc) 25%	315,9(b) 63%	279,1(b) 45%	15,6(a) 65%	8,8(b) 65%	9,8(ab) 74%
	18 dS/m	74,0(c) 65%	73,2(c) 56%	74,7(c) 56%	92,2(c) 22%	204,7(b) 41%	202,4(b) 36%	14,0(a) 62%	7,6(b) 51%	9,5(b) 75%
	Tendencia lineal	0.68**	0.80 **	0.74 **	0.79**	0.41*	0.56*	0.36 ^{ns}	0.40*	0.12 ^{ns}
Texas	3 dS/m	92,8 (a)	115,63(a)	107,75(a)	147,69(a)	297,33(a)	287,6(a)	20,8(a)	10,1(a)	8,2(ab)
	8 dS/m	72,0(b) 77%	87,0(b) 75%	85,6(b) 79%	86,2(b) 66%	201,2(ab) 81%	306,5(a) 124%	15,0(a) 78%	11,1(a) 110%	11,8(a) 155%
	13 dS/m	59,6(bc)64%	67,2(c) 59%	70,1(c) 65%	65,8(bc) 54%	110,0(b) 45%	214,5(b) 76%	17,2(a) 96%	7,7(b) 81%	12,6(ab) 161%
	18 dS/m	54,1(c) 58%	53,3(c) 46%	53,2(c) 49%	69,6(c) 52%	63,4(b) 22%	108,7(b) 41%	20,0(a) 103%	5,0(b) 57%	6,0(b) 80%
	Tendencia lineal	0.87**	0.86 **	0.91 **	0.47*	0.59 **	0.35*	0.16 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.25 ^{ns}

Tabla 1.2: Altura, peso seco del tallo, peso seco de la raíz y número de macollos al final de la temporada 1 (mayo) y de la temporada 2 (mayo). Para cada variable se muestran porcentajes respecto del control y entre paréntesis letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) según test de Tukey. Ajuste lineal de los datos, valor de R^2 y nivel de significancia del ajuste ** $p \leq 0,0001$, * $p \leq 0,05$ y ^{ns} no significativo.

Cultivar	Tratamiento	Altura (cm)		Peso seco tallo (g)		Peso seco raíz (g)		Nº Macollos por planta	
		Temporada 1	Temporada 2	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 1	Temporada 2
Americana	3 dS/m	117,8(a)	69,0(a)	103,5(a)	79,7(a)	4,6(ab)	3,2(a)	11,13(ab)	47,7(a)
	8 dS/m	91,0(b) 77%	45,8(b) 68%	131,3(a) 140%	34,8(ab) 67%	6,2(a) 70%	1,4(ab) 50%	14,7(a) 135%	31,1(ab) 77%
	13 dS/m	72,2(c) 61%	46,6(b) 68%	38,6(b) 35%	39,8(ab) 64%	1,8(bc) 38%	1,5(ab) 60%	7,8(ab) 75%	29,7(b) 63%
	18 dS/m	68,3(c) 58%	41,3(b) 60%	43,4(b) 44%	33,5(b) 57%	1,6(c) 39%	1,4(b) 40%	7,3(b) 72%	31,0(b) 54%
	Tendencia lineal	0.78 **	0.70 **	0.37 ^{ns}	0.40*	0.28 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.29 ^{ns}
Biloela	3 dS/m	134,0(a)	86,1(a)	157,8(a)	210,8(a)	7,7(ab)	13,0(a)	13,5(ab)	68,5(a)
	8 dS/m	96,0(b) 72%	61,1(b) 71%	132,5(a) 94%	141,4(ab) 67%	9,3(a) 125%	8,5(ab) 78%	15,7(a) 110%	48,8(ab) 72%
	13 dS/m	82,5(c) 61%	59,6(b) 69%	82,0(b) 57%	125,8(ab) 57%	4,0(bc) 52%	7,0(ab) 59%	9,8(ab) 74%	42,1(b) 61%
	18 dS/m	74,7(c) 56%	51,8(b) 60%	62,7(b) 47%	76,7(b) 38%	2,6(c) 37%	3,7(b) 30%	9,5(b) 75%	32,5(b) 47%
	Tendencia lineal	0.74 **	0.64 **	0.41*	0.46*	0.65 **	0.36 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.57 **
Texas	3 dS/m	107,7(a)	68,6(a)	76,7(a)	78,2(a)	5,5(ab)	4,5(a)	8,2(ab)	48,2(a)
	8 dS/m	85,6(b) 79%	50,0(b) 73%	78,3(a) 115%	36,7(ab) 4%	5,1(a) 101%	1,7(ab) 33%	11,8(a) 155%	32,1(ab) 71%
	13 dS/m	70,1(c) 65%	43,6(b) 64%	59,0(b) 77%	31,4(ab) 63%	4,0(bc) 78%	1,6(ab) 61%	12,6(ab) 161%	28,2(b) 63%
	18 dS/m	53,2(c) 49%	42,1(b) 61%	31,3(b) 42%	30,9 (b) 46%	1,2(c) 23%	1,2(b) 20%	6,0(b) 80%	37,8(b) 63%
	Tendencia lineal	0.91 **	0.73 **	0.33 ^{ns}	0.42*	0.51*	0.27 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.41*

Tabla 1.3: Número de espigas por planta y porcentaje respecto del control, rendimiento por planta en gramos, número de cariopses por espiga, peso de 100 cariopses y peso de 100 semillas escarificadas en los tres cv de *C. ciliaris* cultivadas en cuatro niveles de salinidad durante la segunda temporada. Entre paréntesis letras que indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey. Para cada variable se muestran porcentajes respecto del control.

Cultivar	Tratamiento	Nº espigas	Rendimiento (g)	Nº cariopses por espiga	Peso 100 cariopses (g)	Peso 100 semillas (g)
Americana	3 dS/m	117,88 (a)	19,69 (a)	65,00	0,23 (b)	0,07
	8 dS/m	91,00 (b) 77%	11,64 (b)	51,75	0,30 (a)	0,07
	13 dS/m	72,25 (b) 61%	12,10 (b)	56,21	0,24 (ab)	0,07
	18 dS/m	68,38 (b) 58%	13,22 (b)	64,33	0,25 (ab)	0,07
Biloela	3 dS/m	134,00 (a)	16,97 (a)	77,67	0,20 (a)	0,09
	8 dS/m	96,00 (b) 72%	14,33 (ab)	77,68	0,22 (a)	0,09
	13 dS/m	82,50 (b) 61%	12,07 (ab)	82,17	0,20 (a)	0,09
	18 dS/m	74,75 (b) 56%	8,09 (b)	86,92	0,18 (a)	0,09
Texas	3 dS/m	107,75 (a)	18,91 (a)	74,84	0,26 (a)	0,08
	8 dS/m	85,63 (b) 79%	9,93 (b)	63,33	0,21 (ab)	0,07
	13 dS/m	70,13 (b) 65%	6,49 (b)	62,34	0,21 (ab)	0,06
	18 dS/m	53,25 (b) 49%	7,96 (b)	59,50	0,19 (b)	0,07

-Relaciones hídricas

Como era de esperar tanto el potencial hídrico (Ψ_h) en hoja al mediodía como el osmótico (Ψ_o) se vieron afectado por los tratamientos, haciéndose significativamente más negativo ($p < 0,001$) a medida que se incrementó la salinidad (Fig 1.12 y 1.13). Sin embargo en el potencial hídrico de las panojas, no se detectaron diferencias para esta variable entre tratamientos ($p = 0,4392$). El contenido relativo de agua (RWC) de hojas se mantuvo alrededor del 80 % en todos los tratamientos ($p = 0,2614$), sugiriendo la capacidad de la especie de mantener el contenido de agua y asegurar el funcionamiento del metabolismo celular en condiciones de estrés.

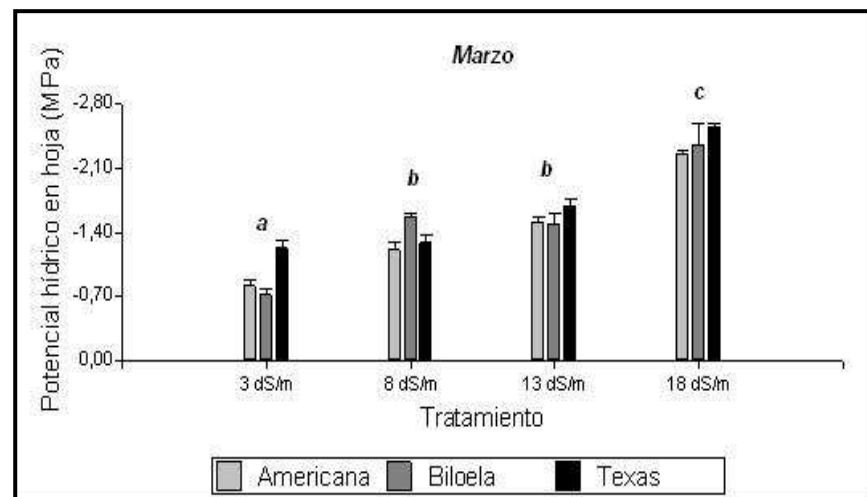


Figura 1.12: Potencial hídrico en hoja al mediodía para los tres cv estudiados en respuesta a los tratamientos salinos. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

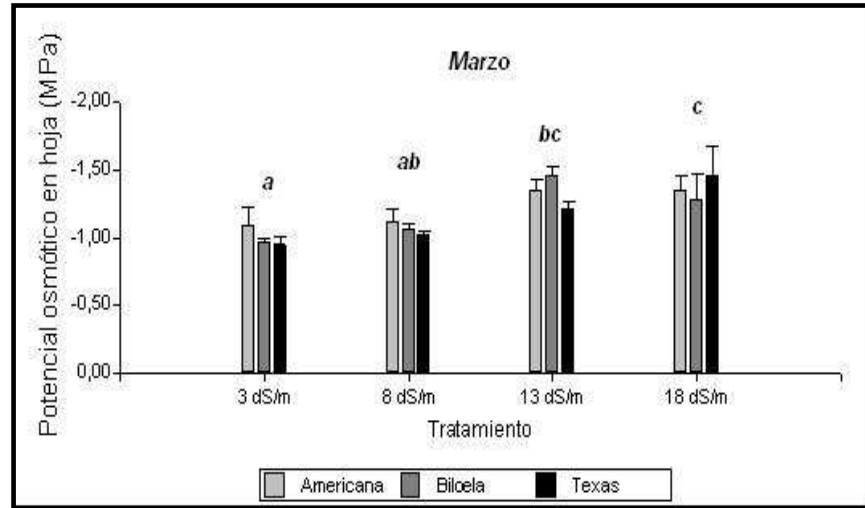


Figura 1.13: Potencial osmótico en hoja, para los tres cv estudiados en respuesta a los tratamientos salinos, Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) según test de Tukey. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

-Acumulación de aniones y cationes en la lámina foliar.

Todos los iones cuantificados se modificaron significativamente en respuesta a los tratamientos ($p < 0,0001$) (Anexo 1 Tabla 1.4). De todos ellos el único que mostró interacción entre las variables tratamiento y cultivar fue el K^+ , por lo que se analizó por separado el comportamiento de los cv en cada tratamiento (Tabla 1.4). Los iones adicionados con los tratamientos salinos (Na^+ y Cl^-) se acumularon conforme aumentó la conductividad de las soluciones de riego. El ion Na^+ se acumuló en mayor cantidad en el tratamiento más salino (18 dS/m), diferenciándose marcadamente del resto en los tres cv (Tabla 1.4), siendo el cv Texas el que menos Na^+ acumuló. El Cl^- en rasgos generales se acumuló más en los tratamientos de 13 y 18 dS/m diferenciándose de los otros dos (Tabla 1.4). El análisis de K^+ para cada cv mostró que en todos los casos los niveles de este ion fueron significativamente mayores en el control que en los tratamientos. Con respecto a las relaciones entre iones, la relación K^+/Na^+

disminuyó marcadamente entre el control y los tratamientos, pero se mantuvo en todos los casos superior a 1 que es lo que algunos autores (Ashraf, 1994; Maathuis & Amtmann, 1999) mencionan como óptimo (Tabla 1.4). La selectividad iónica de K^+ sobre Na^+ fue superior en el tratamiento de 13 dS/m en todos los cv, disminuyendo en el tratamiento más salino (18 dS/m).

Tabla 1.4: Concentración foliar de los iones Na^+ , Cl^- , K^+ todos expresados en $\mu\text{mol/g}$ materia seca, relación K^+/Na^+ e índice de selectividad K^+/Na^+ . Entre paréntesis letras que indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$) según test de Tukey

Cultivar	Tratamiento	Na^+ $\mu\text{mol/g}$	Cl^- $\mu\text{mol/g}$	K^+ $\mu\text{mol/g}$	K^+/Na^+	S_{K^+/Na^+}
Americana	3 dS/m	76,3 (b)	361,3 (c)	972,5 (a)	14,10(a)	-
	8 dS/m	125,7(b)	594,4(b)	710,3(b)	5,69(b)	90(ab)
	13 dS/m	152,0(b)	729,6(ab)	642,6(b)	5,04(b)	165(b)
	18 dS/m	457,0(a)	940,9(a)	694,4(b)	1,55(b)	74(a)
Biloela	3 dS/m	68,7(c)	294,4(b)	1127,9(a)	17,63(a)	-
	8 dS/m	147,0(bc)	540,8(b)	855,5(b)	6,01(b)	95(ab)
	13 dS/m	277,2(ab)	824,0(a)	803,1(b)	3,33(b)	109(b)
	18 dS/m	423,7(a)	877,5(a)	689,3(c)	1,70(b)	81(a)
Texas	3 dS/m	58,9(b)	327,5(c)	1017,3(a)	17,67(a)	-
	8 dS/m	119,2(ab)	572,5(b)	802,4(b)	6,87(b)	108(ab)
	13 dS/m	193,7(ab)	647,2(ab)	710,4(bc)	4,18(bc)	137(b)
	18 dS/m	341,3(a)	820,4(a)	615,8(c)	2,30(c)	110(a)

Discusión

Los tratamientos salinos aplicados a los tres cultivares de *Cenchrus ciliaris* disminuyeron el crecimiento de las plantas. En las dos temporadas analizadas se observó que a medida que la salinidad de la solución de riego se incrementaba la altura de las plantas disminuía, lo mismo ocurrió con los pesos frescos y secos de la parte aérea y de las raíces. Los resultados obtenidos coinciden con muchos autores, por ejemplo en *Pennisetum clandestinum*. Muscolo y colaboradores (2003) observaron una disminución del crecimiento conforme aumentó la concentración de NaCl de 0, a 200 mM. El NaCl en el medio externo afectó el crecimiento, el contenido iónico y el estado hídrico de *Aeluropus lagopoides*, causando disminuciones en el peso fresco y seco (Gulzar *et al.*, 2003). En *Pennisetum purpureum*, los resultados obtenidos luego de tratamientos con concentraciones crecientes de NaCl mostraron que la acumulación de biomasa disminuyó notablemente, hasta cerca de un 50 % en el tratamiento más salino de 25 dS/m (Wang *et al.*, 2002). En arroz, Grattan *et al.* (2002) encontraron que la salinidad afectó severamente el crecimiento de tallos y raíces. Un estudio sobre distintas comunidades de *Panicum hemitomon*, *Spartina patens* y *Spartina alterniflora* todos pastos halófitos, mostró que en todas las especies estudiadas niveles de salinidad subletales resultaron en una reducción de la asimilación neta de CO₂, la expansión celular y la biomasa total (Hester *et al.*, 2001). Grattan *et al.* (2004) observaron en 7 de las 8 forrajeras que estudiaron disminuciones del crecimiento al incrementar la salinidad de 15 dS/m a 25 dS/m. Sólo una de ellas *Cyodon dactylon* incrementó su crecimiento a salinidades elevadas. Este fenómeno de incremento del crecimiento se ha observado en algunas especies en respuesta a salinidades bajas. Por ejemplo en *Panicum turgidum* Al-Khateeb (2005) observó que a niveles bajos de

salinidad (25-50 mM) se estimuló el crecimiento de tallos y raíces mientras que a concentraciones mayores (100 mM) se observaron disminuciones importantes del crecimiento. La salinidad, no sólo afecta las tasas de expansión foliar (Taleisnik *et al.*, 2009), sino que ocasiona reducciones en las tasas fotosintéticas que limitan la disponibilidad de carbohidratos necesarios para el crecimiento y desbalances nutricionales ocasionados por el exceso de Na^+ (Lazof & Bernstein, 1999). Asimismo, la salinidad produce inhibición del crecimiento de la planta debido a que grandes cantidades de Na^+ , Cl^- y SO_4^{2-} disminuyen el ingreso de elementos esenciales como P, K^+ , NO_3^- y Ca^{++} , además de producir toxicidad iónica y estrés osmótico (Zhu, 2001; Maathius, 2006).

En los tres cv de *Cenchrus ciliaris* estudiados el macollaje disminuyó conforme se incrementó la salinidad de la solución de riego, mientras que el número de espigas por planta disminuyó significativamente en los tratamientos de 13 y 18 dS/m respecto del control. En cereales en general se observa en estrés salino una reducción del número de macollos y por lo tanto del número de espigas (Munns & Tester, 2008). En arroz los efectos de la salinidad sobre el rendimiento también se manifestaron en una reducción del número de macollos y del número de panículas (Grattan *et al.*, 2002). En los tres cv en estudio el número de cariopses por espiga no se modificó en respuesta a los tratamientos indicando que esta componente del rendimiento reproductivo no es afectada por la salinidad. En cereales se ven afectados el número de flores por espiga y el tiempo de floración y maduración (Munns, 2002). En soja uno de los componentes del rendimiento más afectado por la salinidad es la formación de vainas y por lo tanto la producción de semillas por planta (Shakil, 2009). En arroz se observó que las modificaciones en el rendimiento se debieron a un incremento en la esterilidad de las flores, produciendo menos flores fértiles por

panícula (Grattan *et al.*, 2002). En los tres cv *Cenchrus ciliaris* estudiados el peso individual de las semillas escarificadas no varió en respuesta a los tratamientos, lo que indica que este componente del rendimiento tampoco fue afectado por la salinidad. En trabajos realizados en arroz sí se observaron modificaciones en el peso individual de los granos conforme aumentaba la salinidad. Aunque de todas las variables que componen el rendimiento, esta fue la menos afectada (Grattan *et al.*, 2002). Lo que si se pudo observar de manera indirecta en este trabajo es que el número de cariopses fértiles o el número de semillas fijadas por cariopse se modificó en respuesta a los tratamientos, especialmente en el cv Texas, donde el peso de 100 cariopses disminuyó notablemente con la salinidad pero el peso de 100 semillas no fue afectado. Esto sugiere que la fertilidad de los cariopses está siendo influenciada por los tratamientos salinos, al igual que lo observado por Grattan *et al.* (2002) en arroz. Por el contrario Zeng & Shannon (2000) y Zeng *et al* (2002) también en arroz observaron que la fertilidad y el peso de 1000 granos fueron las variables menos afectadas. Mientras que todas las demás componentes del rendimiento fueron afectados por la salinidad. El cv Americana fue el que mostró mayores rendimientos de semillas por planta a salinidades elevadas (18 dS/m), esto se debió principalmente a una menor cantidad de cariopses vanos, ya que el número de espigas, el número de cariopses por espigas y el peso de 100 semillas no se diferenciaron de los otros cv. Mientras que el cv Texas por el contrario fue el que presentó mayor proporción de cariopses vanos. En este cv el proceso de fijación del número de semillas es indudablemente más sensible que en los otros cv evidenciando así una marcada disminución del rendimiento.

Reducciones en el rendimiento y en sus componentes bajo condiciones de estrés se atribuyen principalmente a la baja producción y expansión de las

hojas. Menor desarrollo de follaje verde fisiológicamente activo y aumento de hojas senescentes, son todos eventos que convergen en la reducción de la tasa fotosintética diaria (Otegui & Andrade, 2000), lo que ocasiona una disminución en la eficiencia por día por planta para asegurar el desarrollo de las semillas. La relación fuente-sumidero se modifica de manera notoria, ya que la superficie foliar fotosintéticamente activa no es suficiente para asegurar el desarrollo completo del número óptimo de frutos y semillas (Abbate *et al.*, 1995; Borrás *et al.*, 2004; Gambín *et al.*, 2006). Esto lleva a que se afecten inevitablemente una o varias de las componentes del rendimiento en pos de asegurar una mínima producción de semillas viables (Zayed *et al.*, 2006; Shakil, 2009). Además de este efecto debido a la disminución de fotoasimilados, en algunas especies los eventos que tienen que ver con la fecundación son generalmente sensibles al estrés. Así en maíz las disminuciones en rendimiento se deben principalmente al efecto esporocida del estrés (Passioura, 2006). En otros casos el aborto de embriones es el mayor responsable de las disminuciones del rendimiento (Zeng & Shannon, 2000; Zeng *et al.*, 2002; Passioura, 2006). En el caso de *Cenchrus ciliaris*, la caída de la fertilidad podría deberse tanto al aborto de embriones como a la disminución de la formación de los mismos vía apomíctica. Es importante destacar que aunque no se produzca fecundación para la formación de los embriones ésta si es necesaria para la formación del endosperma y la fijación del número final de semillas (Shafer *et al.*, 2000). Teniendo en cuenta que en muchas especies la viabilidad del polen es especialmente afectada, este también podría ser un punto clave de regulación en lo que respecta a la producción de semillas.

Importantes modificaciones en el potencial hídrico de la hoja al mediodía se observaron entre los tratamientos para los tres cv estudiados, mientras que

los contenidos de agua en hoja no se modificaron. Estos resultados coinciden con lo observado por Ashraf (2006) donde el incremento de la salinidad en el medio de cultivo no afectó el contenido relativo de agua de ninguno de los 5 pastos estudiados, *Cenchrus pennisetiformis* mostró el mayor contenido de agua a 16 dS/m. Conjuntamente con las modificaciones de las variables mencionadas anteriormente se registraron cambios en los potenciales osmóticos a nivel de hoja. Wilson y Ludlow (1985) observaron en plantas de Buffel grass sometidas a estrés hídrico una disminución del potencial hídrico hasta niveles de -6.9 MPa. Las hojas estresadas ajustaron osmóticamente, disminuyendo su potencial osmótico linealmente a medida que disminuía el potencial de agua de la solución de riego. Es conocido que el exceso de salinidad en el medio de crecimiento causa reducción en los potenciales hídricos de las hojas, que combinado con reducciones en el potencial osmótico causan que la turgencia celular se mantenga. El potencial hídrico y osmótico de los tallos de *Aeluropus lagopoides* también se volvió más negativo con la salinidad, esto estuvo asociado con la acumulación de Na^+ y Cl^- en hojas (Gulzar *et al.*, 2003). El incremento de los contenidos de Na^+ , K^+ y Cl^- en hoja hacen suponer que para balancear los potenciales hídricos entre los compartimentos celulares deberán sintetizarse y acumularse solutos orgánicos (McCue & Hanson, 1990; Bray *et al.*, 2000). Por lo que es de esperar que bajo condiciones de salinidad como las experimentadas en este trabajo se acumulen en hoja solutos orgánicos como azúcares, prolina y glicinbetaína entre otros (Marcum, 2006). Además de lo expuesto anteriormente en cuanto a que los valores de RWC se mantengan constantes en todos los tratamientos podría ocurrir que en esta especie se activen mecanismos fisiológicos como el ajuste osmótico, que permiten a mantener el contenido de agua de los tejidos aun en medios con potenciales hídricos muy negativos.

Por ejemplo en *Aeluropus lagopoides*, un pasto rizomatoso perenne altamente tolerante a la salinidad, se ha encontrado que se acumulan grandes cantidades de Na^+ y Cl^- en tallos y raíces y bajas cantidades de K^+ , Mg^{++} y Ca^{++} . Estos resultados sugieren que la acumulación de iones inorgánicos permite a *A. lagopoides* mantener un gradiente de potencial hídrico entre el suelo y la planta sin discontinuar el ingreso de agua al sistema radicular (Gulzar *et al.*, 2003). También en plantas *A. lagopoides* bajo estrés hídrico Mohsenzadeh *et al.* (2006) encontraron relaciones estrechas entre el contenido relativo de agua y los contenidos de prolina libre, azúcares solubles y aminoácidos totales. Así a medida que la cantidad de agua disminuyó los niveles de los mencionados compuestos se incrementaron, ayudando a la posterior recuperación de los niveles hídricos una vez suspendida la condición de estrés. Los resultados obtenidos en *Pennisetum clandestinum* bajo condiciones de estrés salino mostraron que el crecimiento fue afectado a concentraciones superiores a 150 mM de NaCl, con disminuciones marcadas en el crecimiento de las raíces y las hojas. En esta especie se observó también la acumulación de hexosas a mayores concentraciones de sal (Muscolo *et al.*, 2003). En *Cenchrus pennisetiformis*, un incremento de la salinidad en el sustrato redujo marcadamente el peso seco de tallos y raíces, los potenciales osmóticos disminuyeron y los contenidos de prolina se incrementaron. Esta especie concentró también grandes cantidades de Na^+ en los tallos pero al mismo tiempo acumuló importantes cantidades de Ca^{++} , manteniendo una relación $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ baja (Ashraf, 2006).

En este trabajo luego de que la planta fue sometida a estrés salino durante todo su ciclo de vida, se observó que todos los iones cuantificados se modificaron en respuesta a los tratamientos. Los iones adicionados con los

tratamientos Na^+ y Cl^- se acumularon progresivamente conforme aumentó la conductividad de las soluciones de riego. Al igual que en este trabajo el incremento del contenido de Na^+ en la solución de riego afectó la concentración de Na^+ en los tallos de *Cenchrus pennisetiformis* (Ashraf, 2006). Las concentraciones de Cl^- en tallos y raíces se incrementaron en casi todas las especies estudiadas por Ashraf (2006), excepto en *C. pennisetiformis*, que mostró iguales concentraciones en el control y en los tratamientos de 8 y 24 dS/m. Los niveles de K^+ determinados en los 3 cv de *Cenchrus ciliaris* mostraron una tendencia decreciente conforme aumentó la salinidad de la solución de riego. Las concentraciones de K^+ en todas las forrajeras estudiadas por Grieve *et al.* (2004) disminuyeron conforme aumento la salinidad de la solución de riego. Se ha encontrado que en genotipos tolerantes de maíz los contenidos de este ion disminuyeron menos que en los genotipos no tolerantes, cuando aumentó la salinidad del medio (El-Sayed, 2004). En *Sorghum bicolor* una disminución de un 20 % en la deposición de K^+ y un aumento en la acumulación de Na^+ se observaron en hojas en expansión (Lazof & Bernstein, 1999). La concentración de Na^+ se incrementó significativamente en tallos y raíces de *Panicum turgidum* cuando las concentraciones de NaCl excedieron los 25 mM NaCl (Al-Khateeb, 2005). En este caso lo que se observó fue un incremento de los niveles de Na^+ y una disminución de los niveles de K^+ , sin diferencias entre cv.

Aunque la acumulación de iones como el Na^+ y Cl^- contribuyan de manera significativa al ajuste osmótico en condiciones de salinidad, el balance K^+/Na^+ es fundamental para que el metabolismo celular no se vea comprometido. El Na^+ compite con el K^+ por el ingreso y muchas veces bloquea los transportadores de K^+ en condiciones de salinidad. Esto resulta en niveles tóxicos de Na^+ y concentraciones insuficientes de K^+ para el normal funcionamiento de la planta.

El Na^+ induce deficiencia de K^+ lo que afecta el crecimiento de los cultivos, ya que el K^+ es esencial para que la planta sobreviva en condiciones de salinidad por que es el principal contribuyente a la disminución del potencial osmótico en raíces (Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). Muchos investigadores sugieren que en las glicófitas la relación K^+/Na^+ debería ser mayor que 1 para asegurar el aporte de K^+ necesario para el normal funcionamiento de los procesos metabólicos (Maathuis & Amtmann, 1999). De acuerdo con esto las relaciones medidas para *Pennisetum clandestinum* (5.6), *Paspalum vaginatum* (2.9) y *Cynodon dactylon* (6.0) a 25 dS/m se consideran adecuadas para el normal desarrollo de la planta (Grieve *et al.*, 2004). Un estudio sobre distintas comunidades de *Panicum hemitomom*, *Spartina patens* y *Spartina alterniflora* todos pastos halófitos, mostró que las poblaciones más tolerantes de *Spartina alterniflora* presentaron una mayor selectividad iónica con una mayor relación K^+/Na^+ (Hester *et al.*, 2001). Generalmente tanto la relación K^+/Na^+ como el crecimiento disminuyen cuando aumenta la salinidad del medio, por lo que se considera que ambas variables están estrechamente relacionadas. En *Panicum turgidum* (Al-Khateeb, 2005) la relación K^+/Na^+ tanto en tallos como en raíces se redujo notoriamente conforme aumentó la salinidad del riego. Sin embargo esta se mantuvo en niveles adecuados lo que le permitió a *Panicum turgidum* tolerar la salinidad (Al-Khateeb, 2005). Por el contrario una baja relación K^+/Na^+ podría ser responsable de incrementar la permeabilidad de las membranas en plantas (Ashraf, 2006). Especies sensibles a la salinidad como *Panicum divisum*, muestran una clara relación entre el bajo crecimiento y los patrones de acumulación de iones bajo condiciones de salinidad. Esto es altas tasas de acumulación de Na^+ y Cl^- y bajas relaciones K^+/Na^+ (Ashraf, 2006).

En este trabajo los tres cv de *Cenchrus ciliaris* mantuvieron relaciones K^+/Na^+ elevadas en hojas. Si se comparan los valores acumulados de Na^+ y K^+ puede observarse, que en este trabajo a diferencia de otros (Al-Khateeb, 2005), los niveles de K^+ fueron siempre superiores a los de Na^+ , aunque en las soluciones de riego los contenidos de Na^+ siempre fueron mayores a los de K^+ . Esto se ve claramente en los índices de selectividad calculados, donde la preferencia de ingreso de K^+ sobre Na^+ es entre 70 y 100 veces superior. Según Rodríguez-Navarro & Rubio (2006) podrían estar presentes algunos transportadores a nivel de raíz con alta afinidad por el K^+ . Se han descrito muchos transportadores que tienen alta afinidad por el Na^+ , sin embargo en algunos casos la adición de bajas concentraciones de K^+ inhiben el ingreso de Na^+ al mismo tiempo en que se incrementa el ingreso de K^+ , por lo que se llega a la conclusión de que hay sistemas que seleccionan K^+ antes que Na^+ . Esto ocurriría por que los transportadores de baja afinidad de K^+ , es decir que no discriminan lo suficiente entre Na^+ y K^+ se desactivan y los canales de alta afinidad de K^+ se activan. Estos transportadores de alta afinidad de K^+ tendrían la capacidad de ingresar K^+ en presencia de altas concentraciones de Na^+ , pero esto no está demostrado experimentalmente (Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). *Cenchrus ciliaris* podría tener un sistema de selección iónica como el descrito anteriormente, lo que sería una ventaja adaptativa para crecer en suelos salinos, ya que le permitiría realizar ajuste osmótico mediante la acumulación de iones como Na^+ y Cl^- y a la vez asegurar elevados los niveles de K^+ .

En resumen podemos decir que entre los cv de *Cenchrus ciliaris* estudiados no aparecieron diferencias en cuanto a crecimiento vegetativo, relaciones hídricas y acumulación de iones (Tabla 1.1 y 1.2; Fig 1.9 y 1.10). Sólo

se manifestaron diferencias en los rendimientos dadas por la fijación en el número de semillas viables (Tabla 1.3). Los antecedentes de esta especie recalcan que el tipo de reproducción predominante, de tipo asexual, disminuye la variabilidad intraespecífica que se manifiesta con muy pocas diferencias entre los cv. Esta hipótesis quedó evidenciada con los resultados obtenidos ya que entre los tres cv estudiados Americana, Biloela y Texas, sólo se manifestaron diferencias en los rendimientos reproductivos. También los resultados obtenidos permiten establecer los umbrales de tolerancia al estrés salino de esta especie, a partir de los 8 dS/m se observan disminuciones en el crecimiento y rendimiento respecto del control no salinizados y hasta los 18 dS/m testeados el nivel de estrés permitió que la especie cumpla con todas las fases del ciclo vital, con disminuciones en crecimiento (50%) y rendimiento (50%) pero sin afectar la viabilidad de las plantas. Si lo comparamos con otras especies como *Agropyron elongatum* una especie de alta tolerancia que mostró disminuciones de sólo el 15 % a salinidades de 21 dS/m (Suyama *et al.*, 2007), *Leptochloa fusca* y *Puccinellia distans* que no mostraron reducciones de crecimiento hasta salinidades de 24 dS/m (Ashraf, 2006), *Cynodon dactylon* que disminuyó un 55% a 21 dS/m (Suyama *et al.*, 2007) *Cenchrus pennisetiformis* y *Panicum turgidum* que disminuyeron el crecimiento a 24 dS/m y fueron clasificadas por Ashraf (2006) como de tolerancia media. Podemos situar a *Cenchrus ciliaris* en la categoría de medianamente tolerante a la salinidad, con factibilidad de ser implantada en suelos de hasta 18 dS/m de conductividad sin pérdida de viabilidad y hasta 8 dS/m con reducciones mínimas de productividad y rendimiento. En cuanto a la estrategia fisiológica que le permite a esta especie crecer en condiciones como las descritas, las disminuciones de los potenciales hídricos y osmóticos y la acumulación de iones hacen suponer la ocurrencia del ajuste osmótico. La exclusión de Na^+ de las hojas junto con la acumulación de K^+

permiten mantener altas relaciones K^+/Na^+ en el citoplasma. Tanto el mecanismo de exclusión de Na^+ desde las hojas hacia otros sitios de la planta como la selectividad a nivel de raíz, que permiten el ingreso de K^+ por sobre el Na^+ serían los dos mecanismos responsable de la tolerancia a la salinidad observada en la especie.

Capítulo II

“Efecto de la salinidad en la planta madre
sobre la germinación de semillas”

Introducción

La semilla es una estructura donde un embrión completamente desarrollado es dispersado y le permite al mismo sobrevivir el período comprendido entre la maduración de la semilla y el establecimiento de la plántula (Boesewinkel & Bouman, 1995). Las semillas secas y dormantes están completamente equipadas para sobrevivir durante largos períodos de tiempo. El ambiente en el cual se desarrollaron las plantas madres es uno de los factores que influye sobre el grado de germinabilidad de las semillas. La temperatura, la calidad de la luz, el largo del día, la sequía y la disponibilidad de nutrientes, son algunos de los factores que influyen sobre los niveles de germinación (Wulff *et al.*, 1994; Fenner & Thompson, 2005). Los mecanismos fisiológicos a través de los cuales el ambiente parental influye sobre el grado de germinabilidad de las semillas, probablemente difiera de un factor a otro y el detalle de los mecanismos fisiológicos a través de los cuales opera este mecanismo son casi completamente desconocidos. Sin embargo está claro que en todos los casos el estímulo es detectado por la planta madre y algunos productos metabólicos son transmitidos a las semillas influyendo sobre el nivel de germinación de las mismas. Probablemente los cambios observados en las semillas originados en cambios en el ambiente materno tengan que ver con alteraciones en la cantidad, transporte o actividad de sustancias como el ABA, giberelinas, citokininas etc. (Fenner, 1991). Las variaciones fenotípicas observadas en las características de las semillas tienen consecuencias ecológicas importantes para las plantas silvestres. Así los individuos que producen semillas capaces de germinar en distintas condiciones tienen más probabilidad de sobrevivir (Fenner, 1991).

En especies sometidas a estrés hídrico se ha observado que usualmente este factor ambiental tiene el efecto de reducir la dormición, posiblemente porque

interfiere con la síntesis de algún inhibidor o promotor de la germinación (Fenner, 1991). Se ha observado también, que semillas producidas en plantas madres que crecieron en elevadas condiciones de salinidad germinaron antes y en mayor proporción que las que provenían de plantas no salinizadas, demostrando un efecto indirecto del ambiente materno sobre la germinación (Amzallac 1994; Zandt & Van, Mopper, 2004). En el caso de *Iris hexagona* este efecto materno se detectó sólo en los primeros días, indicando que el efecto indirecto de la salinidad tuvo más incidencia sobre el tiempo y la velocidad a la que ocurrió la germinación que en el crecimiento posterior de las plántulas (Zandt & Van, Mopper, 2004). En semillas de *Sorghum bicolor* el desarrollo bajo condiciones de estrés hídrico hizo que los embriones presentaran una menor sensibilidad al ABA, lo que se tradujo en una mayor germinación (Benech Arnold *et al.*, 1991). En la leguminosa *Stylosanthes hamata*, las altas temperaturas a las que fueron expuestas las plantas madres redujeron la germinación debido a un incremento en la dureza de las cubiertas seminales (Argel & Humphreys, 1983). Un estudio detallado en *Cenchrus ciliaris* sobre cuatro factores ambientales durante el desarrollo de las semillas y su efecto sobre la germinación y la dormición, mostró que esta especie incrementó sus niveles de germinación en respuesta a altas temperaturas, altas concentraciones de nutrientes y días cortos, mientras que la misma disminuyó con el estrés hídrico (Sharif-Zadeh & Murdoch, 2000).

La germinación de las semillas comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: primero la absorción de agua por imbibición, luego el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio y por último el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula (Bewley & Black, 1994; Bradford, 1995). Al comienzo de la imbibición las diferencias de potencial hídrico, que provocan el ingreso de agua a las semillas, están determinadas principalmente por los potenciales hídricos de las semillas y

del medio circundante. Luego, la emergencia de la radícula ocurre sólo si los contenidos de agua en el interior, exceden el valor crítico o umbral. Si los potenciales hídricos del medio son muy bajos como para evitar que se alcance este punto, la emergencia radicular no ocurre y la fase II se extiende indefinidamente (Bradford, 1995) (Fig 2.1). La emergencia indica la finalización del proceso de germinación y el comienzo del proceso de crecimiento de la plántula. Este proceso lo conduce básicamente la elongación de las células localizadas en la región subapical de la raíz (Sánchez & Mella, 2004). Los mecanismos que inducen el inicio de la elongación dependen de la acumulación de solutos para incrementar la turgencia del embrión; del incremento de la extensibilidad de las paredes celulares primarias, previo a la relajación de los tejidos envolventes de la radícula. Que la semilla alcance la etapa de germinación está determinado principalmente por que el embrión genere las fuerzas de presión necesarias para superar las restricciones impuestas por las cubiertas seminales, es decir que su potencial de crecimiento se incremente suficientemente como para vencer las fuerzas generadas por las cubiertas (Bewley, 1997; Koornneef *et al.*, 2002). Si estas fuerzas no son superadas la semilla permanecerán en estado de quiescencia o latencia. La salinidad del suelo es uno de los factores que puede disminuir la germinación de las semillas, ya que si la cantidad de sal en el entorno es muy elevada el ingreso de agua a la semillas es restringido y el embrión no alcanza la turgencia necesaria para superar la restricción impuesta por las cubiertas seminales (Bewley & Black, 1994; Bradford 1995 y 1997) (Fig 2.1).

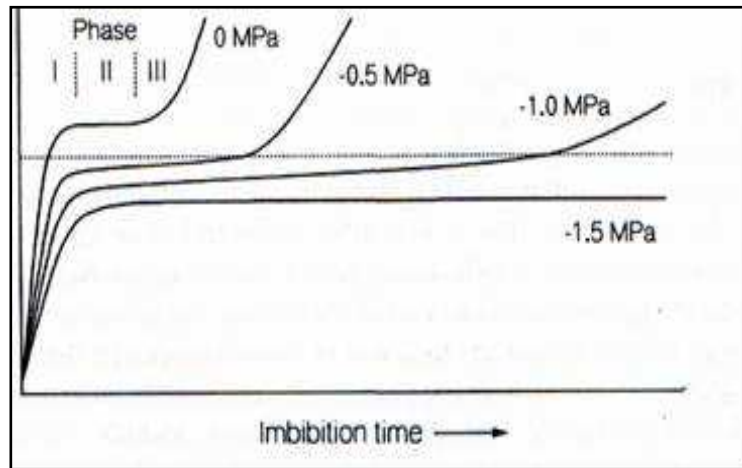


Figura 2.1: Evolución del contenido de agua en semillas durante la imbibición en soluciones con diferentes potenciales hídricos. La línea de puntos indica el nivel umbral de contenido de agua que deben alcanzar para que ocurra la Fase III o de protusión radicular.

Tanto la ocurrencia o no de la germinación como la velocidad a la que ésta se produce están determinadas principalmente por los gradientes de potenciales hídricos entre la semilla y el medio. El potencial agua de las células de las semillas está dado por la siguiente ecuación:

$$\Psi_{\text{cel}} = \psi_{\pi} + \psi_m + \psi_p$$

Donde ψ_{π} es el potencial osmótico, que está determinado por la concentración de solutos disueltos en las células de las semillas. La concentración de solutos influye sobre el ingreso de agua generando los gradientes de potencial entre la semilla y el medio. El potencial mátrico ψ_m que está determinado por la hidratación de las matrices de las paredes celulares y el potencial de presión ψ_p que se genera cuando ingresa agua al interior de las células originando la fuerza interna que permite la salida de la radícula (Welbaum & Bradford, 1988; 1989; Welbaum et al., 1990; Bewley & Black, 1994). Mayores cantidades de solutos acumulados en las semillas aseguran un mayor ingreso de agua a las mismas y

permiten que estas alcancen los potenciales necesarios para pasar de la Fase II a la Fase III (Fig 2.1), o bien reducen el tiempo en el que estos fenómenos ocurren. Las mediciones del potencial hídrico de semillas en las primeras horas de imbibición brindarían información útil para poder predecir el comportamiento de las mismas en soluciones con potenciales hídricos muy negativos. La disminución de los potenciales hídricos en semillas provenientes de plantas salinizadas podría ser una de las causas de que estas semillas puedan germinar mejor en condiciones de estrés, por lo que obtener información acerca de las modificaciones o no de los potenciales hídricos en semillas frente a tratamientos de estrés salino en las plantas madres, podría proporcionar una respuesta a las causas del efecto materno. Si estos potenciales son diferentes entre semillas provenientes de plantas salinizadas y no salinizadas podrían sugerir que menores potenciales hídricos y osmóticos serían los responsables del denominado efecto materno observado en semillas de otras especies (Zandt & van, Mopper, 2004; Benech Arnold et al., 1991; Argel & Humphreys, 1983; Sharif-Zadeh & Murdoch, 2000).

Generalmente la germinación y el establecimiento de las plántulas son las fases del crecimiento más sensibles a cualquier situación de estrés, principalmente las que tienen que ver con una disminución en la disponibilidad de agua, sin embargo la rápida y uniforme germinación y el primer crecimiento de las plántulas son de vital importancia para la producción de cultivos en suelos salinos (Bewley, 2001; Ashraf & Foolad, 2005; Bradford, 1996). Aunque las plantas adultas estén bien adaptadas a condiciones de salinidad la germinación de las semillas de la mayoría de las plantas es inhibida por la salinidad (Khan & Ungar, 1984; Khan & Rizvi, 1994; Gulzar *et al.*, 2001). Estas germinan en mayores porcentajes en agua dulce y muestran una rápida disminución con la salinidad, sólo en algunas especies bajas concentraciones de NaCl (0.25-0.5%)

incrementan la germinación. La germinación de las semillas depende principalmente de la disponibilidad de agua, en semillas bajo estrés salino hay una disminución de la disponibilidad de agua por la caída del potencial hídrico del suelo, como consecuencia tanto los porcentajes como las tasas de germinación se afectan drásticamente (Ungar, 1995; Marañón *et al.*, 1989; Mohammed & Sen, 1990; Khan, 1991; Gorai & Neffati, 2007). La salinidad afecta la imbibición, la germinación y la elongación de las raíces. En experimentos comparativos donde las especies son incubadas con soluciones de NaCl y PEG (Katembe *et al.*, 1998; Fenner y Thompson, 2005), se ha observado que las soluciones de NaCl ejercen un efecto combinado, por un lado el efecto osmótico debido a la disminución del potencial osmótico del medio, que crea estrés hídrico en la semilla o plántula, y por otro lado, un efecto iónico por la entrada y/o acumulación de iones en la semilla o plántula (Dodd & Donovan, 1999). Las sales reducen el potencial osmótico, y por tanto el potencial hídrico en la solución del medio de crecimiento (Bradford, 1995). Cuando las semillas llegan al suelo, el recurso clave para iniciar los cambios fisiológicos que conducen a la germinación, es el agua, que resulta indispensable para activar el metabolismo y el crecimiento de las células vivas de los tejidos de las semillas. La cantidad de agua que absorbe una semilla y la velocidad a la que lo hace no sólo dependen de las características de la semilla, como la permeabilidad de sus cubiertas, la composición química de sus reservas, su tamaño y su contenido de humedad, sino que también están determinadas por condiciones ambientales como la humedad del suelo, la humedad del aire y la temperatura (Bradford, 1995).

La tolerancia a la sal durante este período es crítico para el establecimiento de plantas que prosperan en suelos salinos (Marañón *et al.*, 1989; Mohammed & Sen, 1990; Khan, 1991; Ungar 1995; Gorai & Neffati, 2007). Los efectos de la salinidad sobre las plantas han sido ampliamente estudiados,

sin embargo los efectos de la misma sobre las semillas producidas y la presencia o no del denominado efecto materno han sido temáticas muy poco abordadas por los investigadores (Fenner & Thompson, 2005), siendo esta una vía interesante para lograr incrementar la tolerancia a la sal de los cultivos.

-Hipótesis 3: Semillas provenientes de plantas salinizadas toleran más condiciones de estrés salino durante la germinación. Este incremento en la tolerancia a la salinidad, se debe a modificaciones en el potencial hídrico de las semillas, resultante de una mayor acumulación de solutos.

Objetivos específicos:

- 11) Evaluar la germinación en condiciones de salinidad de semillas provenientes de plantas salinizadas y no salinizadas, para determinar la presencia de efectos maternos.
- 12) Medir potencial hídrico y potencial osmótico en semillas para determinar si las modificaciones en tolerancia a la salinidad se deben a una disminución del potencial agua de la semilla por acumulación de solutos.

Materiales y Métodos

Las semillas utilizadas en los ensayos de germinación se obtuvieron durante la primer temporada de muestreo, diciembre 06 /mayo 07, de las plantas sembradas en los contenedores descritos en el Capítulo I. Así las semillas de los 3 cv provenientes de plantas irrigadas con soluciones salinas de 3, 8, 13 y 18 dS/m se colectaron y almacenaron por separado. Las pruebas de germinación se llevaron a cabo durante el año 2008 al igual que las determinaciones de potencial hídrico y potencial osmótico.

-Colección de semillas

Una vez por mes a partir de la madurez de las semillas se realizó la cosecha de todas las espigas maduras. Las mismas se almacenaron a 20°C y 20 % de humedad relativa durante seis meses antes de realizar las pruebas de germinación. Para escarificar las semillas se utilizó un sistema de fricción entre dos superficies de goma estriadas, lo que permite obtener las semillas limpias sin dañar las cubiertas seminales.

-Germinación en condiciones de estrés

Se colocaron 25 semillas escarificadas de cada cv en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con papel de filtro (Muntkel 1700) con un baño previo de la solución fungicida Captan: N-Triclorometilo al 0.5% (cicloex-4-ene-1, 2-dicarboximide 80%). Para producir el estrés salino las muestras se regaron con soluciones de NaCl de -0.5, -1, -1.5, -2, -2.5 y -3 MPa. Como testigo se utilizó agua destilada. Las semillas se incubaron en una cámara controlada a 25°C y en oscuridad. Las soluciones se prepararon siguiendo la relación empírica de Vant` Hoff (Salisbury & Ross, 1994) según la siguiente fórmula:

$$\Psi_s = -CiRT$$

Donde: Ψ_s = potencial osmótico

C = concentración de la solución, expresada como molalidad

i = constante para la ionización del soluto.

R = constante de los gases (0.00831 Kg.MPa.mol⁻¹.K⁻¹)

T = temperatura absoluta (K) = grados C + 273ç

Tabla 2.1: Potenciales osmóticos en MPa y conductividad eléctrica en dS/m de las soluciones de riego

Potencial de la solución (MPa)	Conductividad (dS/m)
-0,5	1,20
-1	3,08
-1,5	4,32
-2	5,51
-2,5	6,63
-3	7,79

La determinación del potencial osmótico se realizó utilizando un osmómetro (Wescor, USA). Cada 48 h durante 15 días se contaron las semillas germinadas considerando como tal aquellas que presentaron protrusión radicular. Se calculó el porcentaje final de germinación y el índice de velocidad de emergencia (ERI) (Shmueli & Goldberg, 1971), según la siguiente fórmula:

$$n = c-1$$

$$ERI = \sum X_n (c-n)/N$$

$$n = n_0$$

Donde:

X_n: número de semillas germinadas contadas el día n.

c: número de días desde la siembra hasta que terminó la emergencia.

n: día en el cual se realizó el conteo expresado en días después de la siembra.

n₀: día que comienza la emergencia expresada como número de días después de la siembra

N: número total de semillas.

-Potencial hídrico y osmótico en semillas

Para determinar el potencial hídrico de las semillas se tomaron 10 semillas embebidas durante 2, 4 y 6 hs. Las mismas se colocaron en una cámara psicrométrica conectada a un microvoltímetro (Wescor, USA) y se estabilizaron durante una hora. Luego se realizó la medición utilizando el método Dew point y psicrométrico (Schopfer & Plachy, 1985). Para la determinación del potencial osmótico, antes de colocar en la cámara psicrométrica, las muestras de semillas embebidas se introdujeron durante 20 segundos en nitrógeno líquido y luego se dejaron descongelar por 20 minutos (Schopfer & Plachy, 1985).

-Diseño experimental y Análisis estadístico

Para los ensayos de germinación el diseño experimental utilizado fue al azar con cuatro repeticiones. Se realizó un ANOVA a tres vías (cv, tratamiento y concentración de la solución de riego). En los casos en que las interacciones fueron significativas se analizó el efecto de los factores tratamiento y concentración dentro de cada cv a través de análisis de la varianza (ANOVA) a dos vías teniendo en cuenta niveles de significancia de $P \leq 0.05$ o $P \leq 0.01$. Se consideraron en el análisis el efecto de los tratamientos, de la concentración de la solución de riego y la interacción entre ellos. En los casos en que el ANOVA resultó significativo para la separación de medias se aplicó a posteriori el test de Tukey. Se comprobó en todos los casos que los datos cumplieran los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia

Resultados

-Germinación en condiciones de estrés

El ANOVA a tres vías mostró interacciones altamente significativas entre todas las variables, tanto para el porcentaje de germinación como para el ERI (Anexo 1), por lo que se estudió el efecto de los factores tratamiento y concentración dentro de cada cultivar (Willems & Raffaele, 2001). Esta interacción altamente significativa se debe principalmente a que los efectos del tratamiento aplicado a la planta madre (8, 13 y 18 dS/m) afectaron de manera diferencial a las semillas producidas por cada cv (Fig 2.2; 2.3 y 2.4), en el cv Texas es donde más efecto de los tratamientos se pudo observar y en el cv Biloela en el que menos se evidenció el efecto materno.

Los porcentajes de germinación para el cv Americana (Fig 2.2) mostraron diferencias significativas para tratamiento y solución de riego ($p=0,0178$ y $P<0,0001$ respectivamente). Con respecto a los tratamientos se observó que los porcentajes fueron mayores en aquellas semillas que provenían de los tratamientos salinos, incrementándose casi un 20% los niveles de germinación respecto del control en el rango de potenciales hídricos comprendido entre 0 y -1 MPa, en las soluciones más concentradas las diferencias desaparecieron. Las soluciones de riego afectaron por igual las semillas provenientes de todos los tratamientos, disminuyendo el nivel de germinación a medida que se hizo más concentrada la solución, con escasa o nula germinación a partir de concentraciones de -2,0 MPa (Fig 2.2). El índice de velocidad de germinación (ERI) calculado para este cv también mostró diferencias significativas entre tratamientos y solución de riego ($p=0,0031$ y $P<0,0001$ respectivamente), indicando que las semillas provenientes de los tratamientos salinos germinaron levemente más rápido que el control y que a medida que la solución de riego

tuvo potenciales hídricos más negativos la velocidad se hizo menor (Fig 2.2). Al igual que en la germinación, las diferencias observadas entre las procedencias de las semillas se hicieron notables en los potenciales hídricos comprendidos entre 0 y -1 MPa.

Para el cv Biloela también se encontraron diferencias significativas para los tratamientos y la solución, tanto en los porcentajes como en la velocidad de germinación con valores de $p < 0,0001$ en todos los casos. A diferencia del cv anterior en la separación de medias sólo el tratamiento de 18 dS/m se diferenció de los demás y del control, mostrando mayores porcentajes y velocidad de germinación (Fig. 2.3). En este caso, el efecto de la solución con que se incubaron las semillas, fue el mismo que en el cv Americana, de tendencia decreciente a mayores concentraciones y casi sin germinación en soluciones de -2,0; -2,5 y -3,0 MPa. Es para destacar que en la solución de -1,5 MPa, que podría considerarse un punto crítico para los niveles de germinación, las diferencias registradas entre el control y el tratamiento de 18 dS/m son considerables rondando el 30% en el mencionado tratamiento respecto de un 20% en el control.

El cv Texas (Fig 2.4), al igual que los otros cv mostró diferencias significativas entre tratamientos y también entre soluciones para el porcentaje y la velocidad de germinación (ERI) con valores de $p < 0,0001$. A diferencia de los otros dos cv, Texas, presentó grandes diferencias entre semillas obtenidas de plantas cultivadas a 18 dS/m respecto del control regado con 3 dS/m. Los porcentajes de germinación fueron 40% superiores en el mencionado tratamiento respecto del control, y se manifestaron hasta potenciales de -1,5 MPa. Los valores de ERI calculados para el tratamiento de 18 dS/m duplicaron los obtenidos en el control a 0 MPa y lo triplicaron a -0,5 MPa (Fig 2.4).

En los tres cv estudiados se observó que semillas provenientes de plantas que crecieron en condiciones de salinidad germinaron en mayor cantidad y más rápido que las provenientes del control. En el cv Texas estas diferencias son especialmente marcadas, así semillas provenientes del tratamiento con mayor nivel de salinidad (18 dS/m) germinaron casi un 50 % más que las provenientes del control. Estas diferencias fueron fácilmente detectables cuando las semillas se sembraron en agua pura o en soluciones de NaCl de potenciales hídricos mayores a -1,5 MPa. A partir de este punto crítico y a menores potenciales hídricos los efectos de la solución de riego son tan marcados que no permiten apreciar diferencias entre las procedencias de las semillas. Cuando las semillas fueron sembradas con soluciones de NaCl de -0,5, -1 y hasta -1,5 MPa se observaron para los cv Texas y Biloela porcentajes de germinación significativamente más elevados en semillas que provenían de plantas madres regadas con 18 dS/m respecto del control, lo que está indicando un incremento de la tolerancia a la salinidad durante la germinación en semillas provenientes de madres estresadas. El cv Americana fue el que menor incidencia del efecto materno presentó en relación con la tolerancia a la salinidad, sin embargo si se observó un mayor nivel de germinación de las semillas provenientes de plantas salinizadas cuando se las incubó en agua destilada.

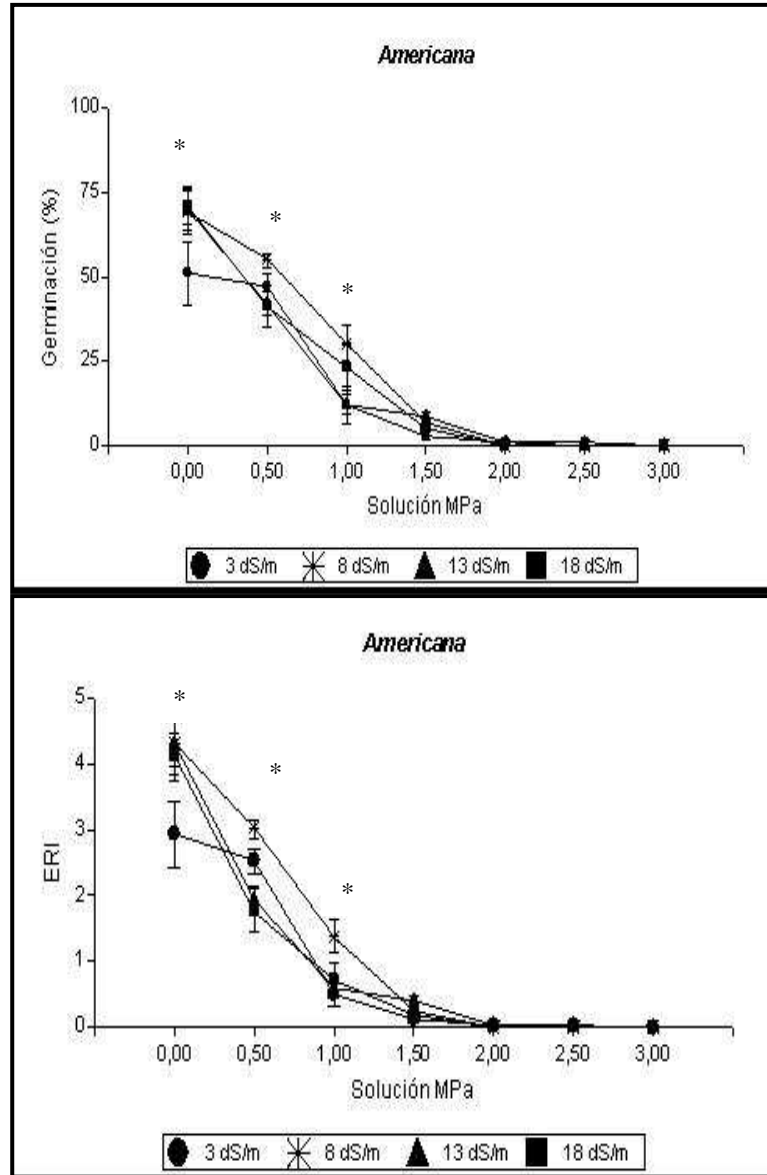


Figura 2.2: Porcentaje e índice de velocidad de germinación (ERI) para el cv Americana para cada tratamiento de donde se obtuvieron las semillas y según la solución de riego con la que se incubaron. Barras verticales indican error estándar, * diferencias significativas entre procedencias.

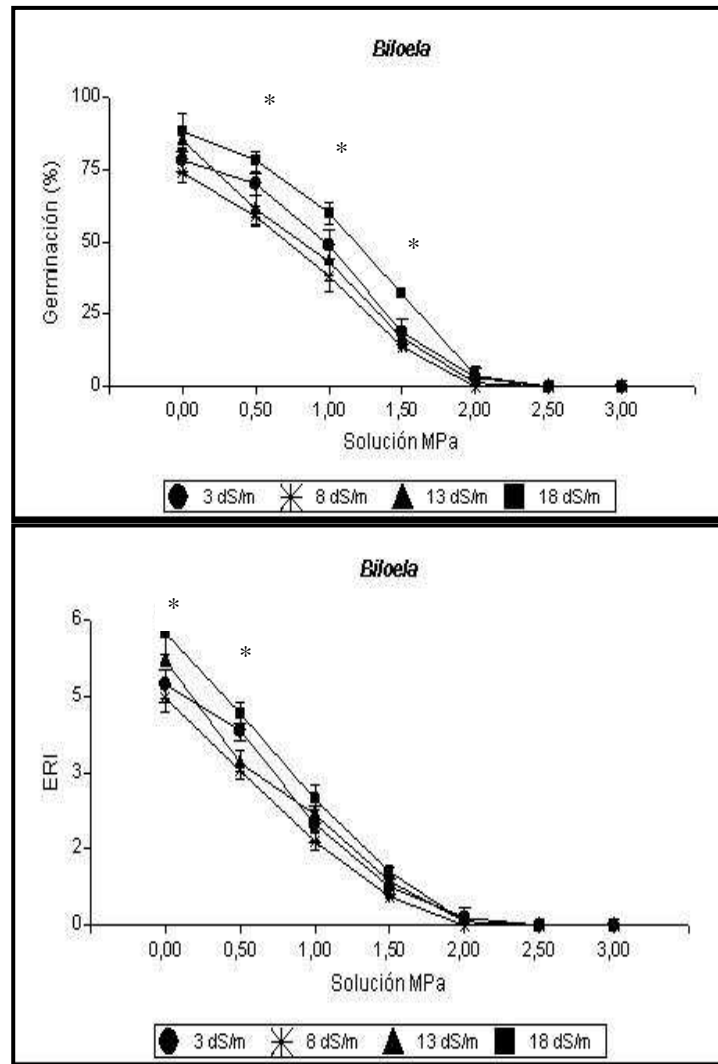


Figura 2.3: Porcentaje e índice de velocidad de germinación (ERI) para el cv Biloeia para cada tratamiento de donde se obtuvieron las semillas y según la solución de riego con la que se incubaron. Barras verticales indican error estándar, * diferencias significativas entre procedencias.

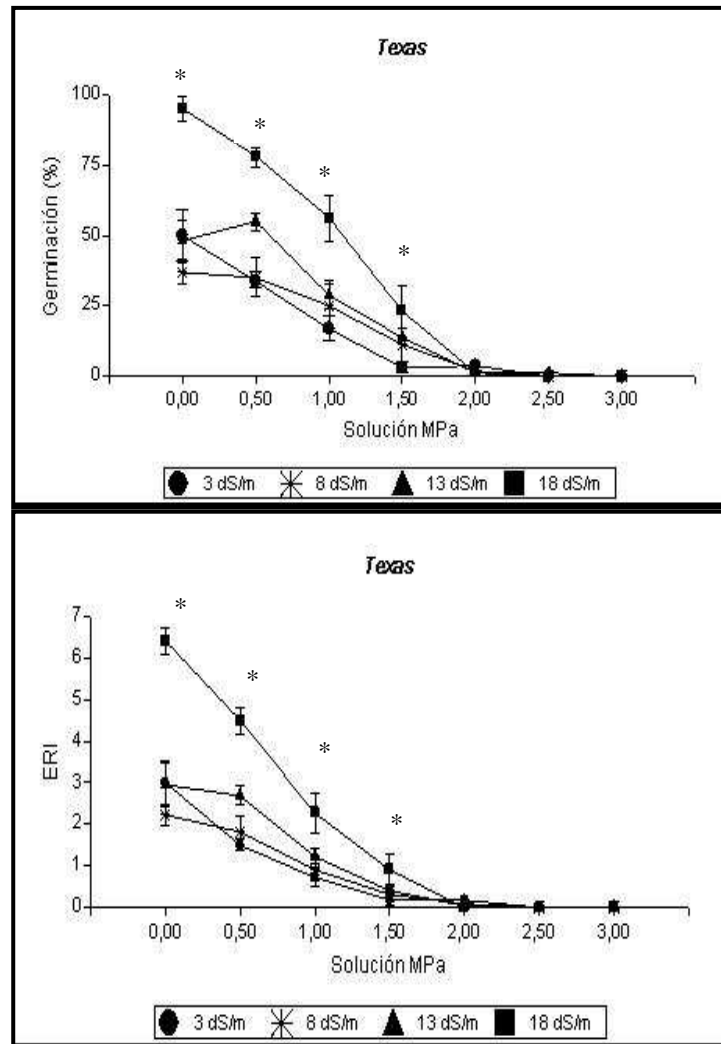


Figura 2.4: Porcentaje e índice de velocidad de germinación (ERI) para el cv Texas para cada tratamiento de donde se obtuvieron las semillas y según la solución de riego con la que se incubaron. Barras verticales indican error estándar, * diferencias significativas entre procedencias.

-Potencial hídrico y osmótico en semillas

Las mediciones realizadas en el cv Americana con diferentes tiempos de imbibición 1, 2, 4 y 6 hs se muestran en la Fig 2.5. En la misma se puede observar cómo los potenciales hídricos de las semillas disminuyeron a medida que el tiempo de imbibición fue mayor. En base al análisis de esta curva se definió tomar las mediciones de potencial hídrico y osmótico a las 4 y 6 hs de imbibición. El potencial hídrico de las semillas luego de 4 hs de imbibición no

mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,5074$) y si se observaron diferencias entre cv ($p=0,0027$), siendo el cv Americana el que se diferenció de los otros y presentó potenciales hídricos más negativos. Luego de 6 hs de imbibición, los potenciales hídricos de las semillas se igualaron y no mostraron diferencias entre tratamientos ni tampoco entre cv (Fig 2.6). Los potenciales osmóticos tampoco mostraron diferencias entre tratamientos y cv (Fig 2.7).

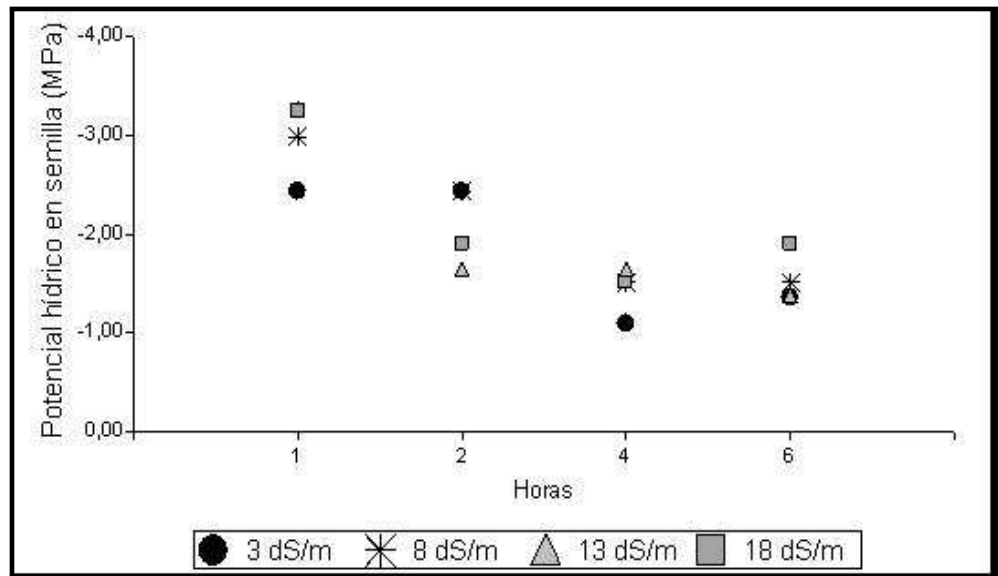


Figura 2.5: Relación entre el potencial hídrico en semillas y la cantidad de horas de imbibición previas a la medición. Para semillas obtenidas de 3, 8, 13 y 18 dS/m del cv Americana.

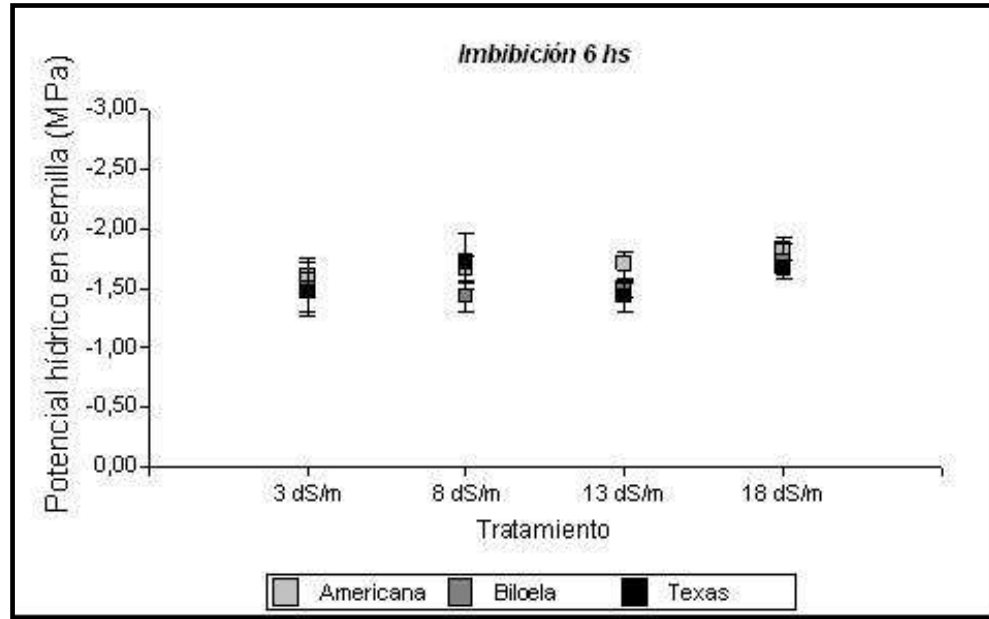


Figura 2.6: Potencial hídrico (MPa) en semillas luego de 6 hs de imbibición, para semillas de los 3 cv obtenidas de plantas tratadas con 3, 8, 13 y 18 dS/m. Barras verticales indican error estándar.

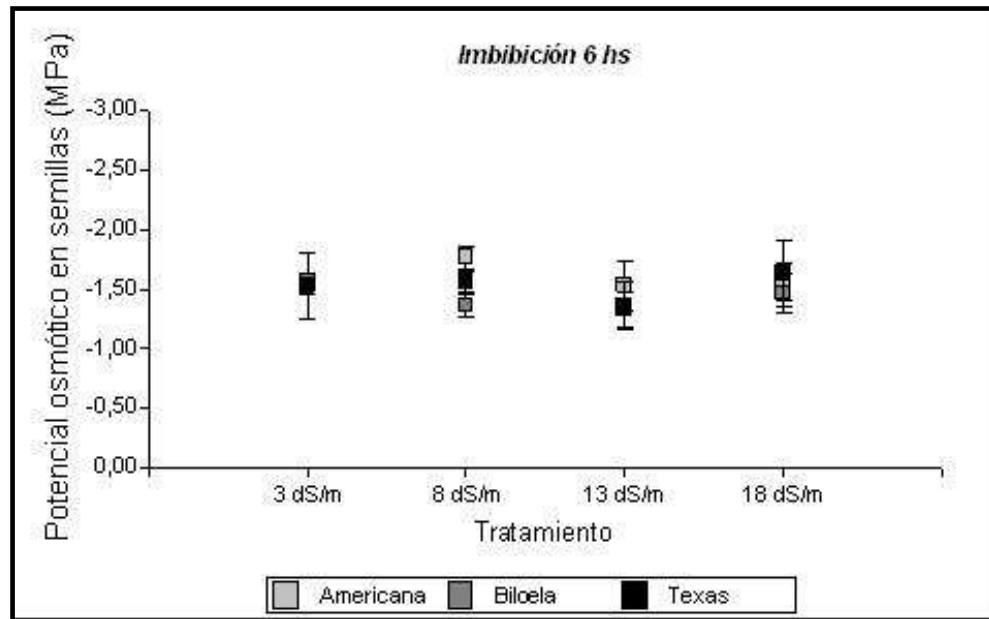


Figura 2.7: Potencial osmótico (MPa) en semillas luego de 6 hs de imbibición, para semillas de los 3 cv obtenidas de plantas tratadas con 3, 8, 13 y 18 dS/m. Barras verticales indican error estándar

Discusión

La salinidad, en el medio de incubación de las semillas, afectó la germinación de los tres cv de *Cenchrus ciliaris* disminuyendo los porcentajes y la velocidad de germinación. Los resultados obtenidos concuerdan con varios estudios tanto en halófitas como en glicófitas, estas últimas especialmente sensibles a la salinidad en la fase de germinación (Ungar, 1995; Khan & Rizvi, 1994; Katembe *et al.*, 1998; Gulzar *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2006, Gorai & Neffati 2007). El riego con soluciones de potenciales hídricos menores de -1,5 MPa resultaron en escasa o nula germinación, coincidiendo también con lo observado para la mayoría de las especies estudiadas (Khan & Rizvi, 1994; Katembe *et al.*, 1998; Gulzar *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2006, Gorai & Neffati 2007; Bilquees & Khan, 2008). Excepcionalmente algunas halófitas muy tolerantes a la salinidad como *Zostera marina* pueden germinar a niveles similares al agua de mar (3,3 %) (Harrison, 1991; Probert & Brenchley, 1999). *Salicornia pacifica* var. *utahensis* presenta algo de germinación a niveles del 5 % de salinidad (Khan & Weber, 1986) pero para la mayoría de las especies vegetales la germinación es la etapa más crítica y sensible de todo el ciclo de vida. El efecto inhibitorio del NaCl es tanto iónico como osmótico y actuaría interfiriendo directamente con la actividad metabólica (Ungar, 1991; Khan *et al.*, 2006).

En varias especies han sido observadas diferencias en los niveles de germinabilidad de las semillas asociadas directamente con las condiciones en las que crecieron las plantas madres (Fenner, 1991; Galloway, 2005; Fenner & Thompson, 2005). Así los factores ambientales presentes en el entorno materno causaron diferencias durante el desarrollo de la planta que se transmitieron a las semillas (Galloway, 2005). Este tipo de respuestas plásticas permite a las nuevas generaciones tener más posibilidades de sobrevivir en las condiciones

desfavorables del entorno (Fenner, 1991). Así podemos observar que el efecto de la salinidad durante el desarrollo de las semillas provocó dos efectos: aumentó los porcentajes de germinación en condiciones óptimas e incrementó los niveles de germinación en condiciones moderadas de salinidad (-0,5 a -1,5 MPa). Tanto el efecto promotor de la germinación como el incremento en la tolerancia a la salinidad han sido observados en otras especies. En *Sorghum bicolor* por ejemplo se observó que semillas provenientes de plantas salinizadas generaron plántulas más vigorosas y tolerantes a la salinidad que aquellas provenientes de plantas madres no salinizadas. Este efecto del ambiente materno sólo fue evidente durante la germinación y los primeros estadios de desarrollo de las plántulas, desapareciendo a medida que avanzaba el ciclo de vida de la planta (Amzallac, 1994).

Buscando una posible explicación para las diferencias germinativas obtenidas entre semillas que se formaron en plantas madres salinizadas y no salinizadas se propuso la hipótesis de que una mayor acumulación de solutos en las semillas podrían explicar este comportamiento, vía modificaciones en los potenciales hídricos de las semillas (Welbaum & Bradford, 1988; 1989; Welbaum *et al.*, 1990; Bewley & Black, 1994). Sin embargo los resultados de las mediciones de potencial hídrico y potencial osmótico no mostraron diferencias significativas que permitan explicar el efecto materno observado a través de este mecanismo. En ninguno de los cv se observaron diferencias en los mencionados potenciales entre semillas provenientes de plantas madres sometidas a tratamientos salinos y los controles no salinizados. Sólo se observaron algunas diferencias entre cv, pero estas no se relacionan con el comportamiento germinativo del modo planteado. Según Munns (2002) no cabría esperar la acumulación de sales en las semillas ya que los niveles de Na⁺ y Cl⁻ presentes en los primordios reproductivos son demasiado bajos como para afectar el

metabolismo. Parecería que los transportadores de Na^+ y Cl^- entre el floema y el ápice están suficientemente bien controlado como para prevenir que las concentraciones de estos iones resulten tóxicas en estas células.

Los efectos maternos no actuarían, aparentemente, a través de la acumulación de solutos y de modificaciones en los potenciales hídricos. Es posible que las diferencias observadas tengan que ver con diferencias en la movilización de reservas (Fenner, 1991) fenómeno estrechamente relacionado con los balances hormonales en el embrión y el endosperma (Karssen, 1995). En semillas sometidas a estrés hídrico, donde se observaron diferencias en los niveles de germinación, el ABA fue mencionado como uno de los posibles responsables de estas diferencias, ya que se han encontrado niveles elevados en semillas de plantas sometidas a sequía. Aunque el ABA es un inhibidor de la germinación, se ha encontrado que en las especies que responden disminuyendo los niveles de dormancia frente a la sequía, hay un pico de ABA al principio del desarrollo de los granos que es seguido por una caída importante en los niveles del mismo. Esto hace que el embrión pierda sensibilidad al ABA y resulte menos dormante. También es posible que la sequía durante el desarrollo resulte en un incremento de la actividad de las giberelinas. Entre los nutrientes, el K^+ es uno de los candidatos para explicar el incremento en la germinación, es posible que este sea necesario para la síntesis de ABA por lo que una deficiencia del mismo produce semillas con mayor nivel de germinación (Fenner, 1991).

Discusión general

La salinidad del suelo es uno de los mayores problemas ambientales que van en detrimento de la productividad agrícola. En las zonas afectadas por la salinidad, la principal solución a los problemas productivos ha sido la sustitución de cultivos sensibles por otros más tolerantes (Ashraf *et al.*, 2008). Encontrar y utilizar cultivos tolerantes a la sal es uno de los desafíos más importantes a los que se enfrentan científicos y productores para resolver el problema (Manchanda & Garg, 2008; Ashraf *et al.*, 2008; Munns *et al.*, 2006; Munns, 2007). Las forrajeras cultivadas son en nuestro país el sustento fundamental de los sistemas ganaderos tradicionales. El incremento de las zonas agrícolas cultivables ha impulsado a estos sistemas a moverse hacia áreas menos productivas, de tipo marginal y con problemas de diversos tipos, como la escasez de agua y la salinidad. La implantación de pasturas en zonas cada vez más áridas, afectadas no sólo por la escasez de precipitaciones sino por la salinidad y las elevadas temperaturas ha sido uno de los principales desafíos para la ganadería. Incrementar la información acerca del efecto de los ambientes estresantes sobre la implantación de especies forrajeras es clave para lograr incrementos de la productividad en los sistemas mencionados (De León, 2004). Actualmente hay una gran variedad de plantas que pueden crecer bajo condiciones de salinidad, muchas de ellas representan un recurso alimenticio para el ganado. Así a bajas salinidades (15 dS/m) tanto leguminosas como pastos con tolerancia moderada a la salinidad pueden desarrollarse, mientras que a altas concentraciones de sal (25 dS/m) tanto los niveles de producción como las especies tolerantes disminuyen (Suyama *et al.*, 2007). La composición mineral de estas plantas se ve significativamente alterada por las concentraciones y tipos de sales presentes en el suelo y el agua. Así los pastos halófitos acumulan grandes cantidades de

Na⁺ y Cl⁻ y a veces los niveles de estos iones superan el máximo permitido para alimentación animal comprometiendo la salud de los mismos (Masters *et al.*, 2007).

En este trabajo se estudió el efecto de 3 niveles de salinidad en el medio sobre el crecimiento y rendimiento reproductivo de tres cv de *Cenchrus ciliaris*. Para ello se utilizó un sistema experimental nuevo en el país, que combina las ventajas de un sistema hidropónico con las condiciones reales a campo que afectan los cultivos. El sistema de riego y drenaje continuo permitió mantener estables los niveles de sales en el sustrato durante todo el ciclo del cultivo, además de controlar los niveles de nutrientes en cada uno de los tratamientos (Suyama *et al.*, 2007). El tamaño de las macetas utilizadas o contenedores proporcionó una ventaja importante frente a cultivos hidropónicos comunes, ya que las plantas pudieron alcanzar la etapa reproductiva sin ningún inconveniente permitiendo así evaluar no sólo el crecimiento vegetativo si no también el reproductivo de los cv seleccionados. Cabe destacar que la mayor ventaja de este sistema está dada por la cercanía de las condiciones experimentales a una situación real a campo ya que la radiación, temperatura, humedad relativa, evapotranspiración, vientos y exposición a plagas no fueron controladas, lo que hace que los resultados sean extrapolables con un mayor grado de certeza a una situación de cultivo. La potencialidad del sistema experimental es muy diversa, no sólo permite realizar evaluaciones en cuanto a tolerancia a la salinidad en diversos cultivos, sino que también permitiría realizar tratamientos de deficiencia de nutrientes o combinaciones de distintos nutrientes que pueden ser perfectamente evaluados en todas las etapas fenológicas de la especie seleccionada. El sistema de riego y drenaje también permite utilizar a los contenedores como lisímetros individuales donde la cantidad de agua que ingresa y la que se lixivia del mismo puede ser monitoreada.

Los resultados obtenidos en este trabajo para *Cenchrus ciliaris* mostraron que el crecimiento de los tres cv fue adversamente afectado por la salinidad, con disminuciones significativas en altura, peso fresco y seco tanto de tallos como de raíces. Esta respuesta coincidió con lo observado por muchos autores en varias especies de mono y dicotiledóneas, con moderada tolerancia a la salinidad (Al-Khateeb, 2006; Grattan *et al.*, 2004; Muscolo *et al.*, 2003; Gulzar *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2002; Grattan *et al.*, 2002). Los efectos observados en el crecimiento de los tres cv de *Cenchrus ciliaris* respondieron indudablemente a los tres efectos principales de las sales sobre la planta: el déficit hídrico que tornó los potenciales de la solución del suelo más negativos, el efecto tóxico de los iones, asociado especialmente al exceso de Na^+ y Cl^- y el desbalance nutricional que se origina cuando el exceso de Na^+ y Cl^- disminuyen el ingreso de K^+ , Ca^{++} , NO_3 y P (Lazof & Bernstein, 1999). Al igual que en otros grupos taxonómicos, se observó una disminución del crecimiento del tallo conforme aumenta la salinidad, ya que tasas de crecimiento más lentas, son en general, la estrategia adaptativa utilizada por las plantas para sobrevivir en condiciones de estrés (Zhu, 2001). El estrés osmótico causado por las sales en las proximidades de la raíz reduce la tasa de formación de hojas nuevas y la producción de macollos (Munns, 2002; Munns & James, 2003), esto disminuye la superficie foliar fotosintéticamente activa y por ende la generación de fotoasimilados. A esto se le suma que los mecanismos que se activan y permiten a las plantas crecer en suelos con exceso de sales, conllevan un gasto energético importante que se traduce indefectiblemente en una disminución del crecimiento (Munns, 2002). Los efectos de las sales sobre el crecimiento en general, la expansión foliar y el macollamiento en particular (Taleisnik *et al.*, 2009; Munns & Tester, 2008), se han observado en un sinnúmero de especies, y generalmente la

disminución de estas variables son proporcionales a los incrementos de sales en el medio (Grattan *et al.*, 2004; Gulzar *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2002; Grattan *et al.*, 2002; Hester *et al.*, 2001). Sólo algunas especies de halófitas muestran incrementos del crecimiento a salinidades medias (Al-Khateeb, 2005; Grattan *et al.*, 2004). En las condiciones de salinidad del trabajo, los tres cv disminuyeron el crecimiento tal como se ha informado para condiciones de estrés hídrico (Buldgen & François, 1998; Mansoor *et al.*, 2002; Akram *et al.*, 2008), la etapa más susceptible coincidió en el primer muestreo, cuando el cultivo se encontraba en etapa vegetativa y comienzos de la etapa reproductiva. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores en distintas especies donde observaron que las etapas más susceptibles a la salinidad son las que se suceden durante el crecimiento vegetativo (Maas *et al.*, 1986; Maas y Poos, 1989ab).

Los efectos de la salinidad sobre el rendimiento reproductivo y las componentes del mismo son complejos, por ejemplo, Aloy (1992) encontró que el peso de 1000 semillas es más afectado en cebada que el número de granos por espiga o el número de espigas por planta. Sin embargo en arroz el número de espigas y el número de granos fueron más afectados por la salinidad que el peso de las semillas (Zeng *et al.*, 2002; Grattan *et al.*, 2002). En este trabajo algunas de las componentes del rendimiento reproductivo fueron modificadas por la salinidad como el número de espigas por planta, mientras que el número de cariopses por espiga y el peso de las semillas no variaron. El número de cariopses fértiles por espiga sí podría ser una de las variables que contribuyan a la disminución del rendimiento reproductivo. Aunque esta variable no se cuantificó directamente en el trabajo, indirectamente se pudo deducir que sí fue afectada, ya que se encontraron diferencias entre cv en el peso de 100 cariopses pero no entre el peso de 100 semillas, según Ayerza (1981) el número

de semillas por cariopse puede variar de 1 a 5 según el cv. De los tres cv en estudio Americana fue el que mostró mayores rindes a salinidades elevadas (13 y 18 dS/m) y esto se debió principalmente a una menor cantidad de cariopses vanos, mientras que el cv Texas por el contrario fue el que presentó mayor proporción de cariopses vanos. Los efectos de la salinidad sobre la fertilidad generalmente resultan confundidos por la compensación entre las componentes del rendimiento y los efectos de la salinidad en el llenado de los granos y en los diferentes estadios de la antesis. Aparentemente en arroz los efectos de la salinidad en la fertilidad son menos pronunciados que en la viabilidad del polen. Pero como los umbrales de germinabilidad del polen son difíciles de determinar, ambos fertilidad y viabilidad del polen se consideran en el mismo rango (Zeng & Shannon, 2000).

El Buffel grass se reproduce predominantemente a través de apomixis apospórica pseudoagámica, donde el saco embrionario es formado mitóticamente a partir de células de la nucela (Spillane *et al.*, 2001) y la fertilización del núcleo polar por el núcleo espermático es requerida para el desarrollo del endosperma y la viabilidad de la semilla. De ahí que la especie se denomine apomíctica pseudoagámica (Dwivedi *et al.*, 2007). Por lo tanto es necesaria la presencia de polen viable para la fijación del número de semillas. Las diferencias observadas en este estudio entre cultivares, con respecto al número de cariopses vanos, pudo deberse a efectos diferenciales de la salinidad sobre la viabilidad del polen, siendo el cv Texas más afectado que los otros. Se ha observado que en temporadas muy cálidas se incrementa la polinización cruzada en Buffel grass, por lo que es probable que bajo condiciones de estrés salino este fenómeno también aumente (Shafer *et al.*, 2000), disminuyendo así las probabilidades de que los eventos de protusión de los estigmas y la antesis coincidan. También puede agregarse a esto algunos problemas en la

receptividad de los estigmas, que podría verse incrementada por las condiciones de estrés (Shafer *et al.*, 2000). Todos o algunos de estos factores podrían ser los responsables de las diferencias observadas entre cv en el número de cariopses vanos producidos, que se traduce en menores rendimientos de semillas.

En relación con la primer hipótesis planteada los resultados mostraron que todos los cv tuvieron una respuesta igualmente plástica en cuanto al crecimiento vegetativo frente al estrés. Es decir, no se encontraron diferencias entre cv para las variables relacionadas con el crecimiento vegetativo. Esto coincide con el modo de reproducción de la especie, la apomixis, que no permite la recombinación genética y por lo tanto hace que la especie sea muy poco variable (Spillane *et al.*, 2001). Mientras que en lo que respecta a las variables del rendimiento reproductivo sí se observaron diferencias entre cv, Americana tuvo mayor productividad de semillas, dada por una menor cantidad de cariopses vanos por espiga. Probablemente las diferencias en cuanto a la producción de semillas viables tenga que ver con diferencias en la susceptibilidad al estrés entre los cv, ya sea en la viabilidad del polen, la receptividad de los estigmas o durante la formación del endosperma, necesaria en esta especie para fijar el número de semillas viables.

En lo que respecta a las relaciones hídricas los resultados mostraron que los contenidos relativos de agua en hoja (RWC) permanecieron iguales al control en todos los tratamientos sin diferencias entre cv. Por el contrario, los potenciales hídricos y osmóticos en hoja se hicieron más negativos conforme aumentó la salinidad, llegando a valores de -2 MPa de potencial hídrico y -1,5 MPa de potencial osmótico en el tratamiento de 18 dS/m, siendo estos valores significativamente menores que en el control donde los valores promedios fueron de -0,5 y -1 MPa respectivamente. El análisis conjunto de estas tres variables sugiere que los tres cv modificaron su potencial hídrico a través del ajuste

osmótico. Como se puede observar en los resultados del Capítulo 1 las concentraciones foliares de Na^+ y Cl^- se incrementaron notablemente con los tratamientos salinos. Por lo que esta podría ser una de las estrategias involucradas en el ajuste osmótico, es decir que las plantas osmorregularon mediante la acumulación de iones (Munns & Tester, 2008). Así la tolerancia relativa a la salinidad de estos cv podría estar asociada con la capacidad de usar Na^+ y Cl^- en el ajuste osmótico (Megdiche *et al.*, 2008).

Los niveles de K^+ cuantificados en este estudio disminuyeron conforme aumentó la salinidad coincidiendo con lo obtenido en varios trabajos (Chachar *et al.*, 2008; Suyama *et al.*, 2007; Ashraf, 2006; Grieve *et al.*, 2004; Hester *et al.*, 2001) sin embargo la acumulación de K^+ en hoja en todos los tratamientos fue superior a los valores informados por otros autores para especies forrajeras (Al-Khateeb, 2006; Grieve *et al.*, 2004). Esto le permitió a las plantas mantener una relación K^+/Na^+ alta en los tratamientos más salinos aún cuando el Na^+ compite con el K^+ para ingresar a las raíces (Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). Una alta relación K^+/Na^+ en el citosol es importante para mantener el metabolismo celular bajo condiciones de estrés (Gulzar & Khan, 2006). Esta relación positiva entre los iones mencionados asegura que los procesos metabólicos puedan mantenerse con elevados contenidos celulares de Na^+ y Cl^- . La relación K^+/Na^+ es considerada un índice efectivo para determinar tolerancia a la salinidad ya que generalmente tanto la relación K^+/Na^+ como el crecimiento disminuyen cuando aumenta la salinidad del medio, por lo que se considera que ambas variables están estrechamente relacionadas (Ashraf, 2006; Gulzar & Khan, 2006; Al-Khateeb, 2005; Hester *et al.*, 2001). Así Gulzar & Khan (2006) encontraron que en los pastos más tolerantes fue mayor dicha relación que en los menos tolerantes. Un estudio sobre distintas comunidades de *Panicum hemitomon*, *Spartina patens* y *Spartina alterniflora* todos pastos halófitos, mostró que las

poblaciones más tolerantes de *Spartina alterniflora* presentaron una mayor selectividad iónica con una mayor relación K^+/Na^+ (Hester *et al.*, 2001). En especies sensibles a la salinidad como *Panicum divisum*, se ha encontrado que hay una clara relación entre el bajo crecimiento y los patrones de acumulación de iones, esto es altas tasas de acumulación de Na^+ y Cl^- y bajas relaciones K^+/Na^+ (Ashraf, 2006). Algunos autores consideran que la relación K^+/Na^+ debe ser mayor que 1 para asegurar el normal crecimiento de la planta (Maathuis & Amtmann, 1999; Ashraf, 1994), de acuerdo con esto las relaciones medidas para *Pennisetum clandestinum* (5.6), *Paspalum vaginatum* (2.9) y *Cynodon dactylon* (6.0) a 25 dS/m se consideran adecuadas para el normal desarrollo de la planta (Grieve *et al.*, 2004). En *Panicum turgidum* (Al-Khateeb, 2005) encontró que la relación K^+/Na^+ tanto en tallos como en raíces se redujo notoriamente conforme aumentó la salinidad del riego, sin embargo esta se mantuvo en niveles adecuados, es decir superior a 1, lo que le permitió a *P. turgidum* tolerar la salinidad (Al-Khateeb, 2005). En los tres cv de *Cenchrus* evaluados y en todos los niveles salinos la relación K^+/Na^+ fue mayor que 1, lo que podría ser la causa de que esta especie continuara creciendo y completara su ciclo reproductivo en los tratamientos con salinidades más elevadas. Esta relación K^+/Na^+ elevada se mantuvo debido a que esta especie presenta una alta selectividad de K^+ sobre Na^+ haciendo que el K^+ pueda ingresar alrededor de 100 veces más que el Na^+ en los tratamientos salinos. Una teoría que explica que la selectividad iónica se mantenga o se incremente a niveles elevados de NaCl propone que a nivel de raíz hay dos tipos de transportadores de K^+ : los de baja afinidad, que no pueden discriminar de manera eficiente el Na^+ del K^+ y los de alta afinidad que tienen la habilidad de transportar K^+ en presencia de grandes cantidades de Na^+ . La actividad de estos transportadores sería diferencial es decir a bajas salinidades actuarían los transportadores de baja selectividad y a niveles superiores de

salinidad estos se desconectan y sólo funcionan los transportadores de alta afinidad de K^+ (Xiong & Zhu, 2002). Esto no está demostrado experimentalmente. Sin embargo, esta teoría coincide con los resultados obtenidos en este trabajo ya que a bajas salinidades (8 dS/m) la selectividad es menor que a 13 dS/m (Tabla 1.4) lo que indicaría una mayor actividad de los transportadores de alta afinidad (Xiong & Zhu, 2002). A niveles de salinidad mayores (18 dS/m) estos transportadores de alguna manera se ven saturados y/o desconectados lo que hace disminuir la selectividad de K^+/Na^+ en este tratamiento.

Además de este mecanismo a nivel radicular que permite la selectividad de iones, a nivel de hoja las concentraciones de Na^+ son relativamente bajas debido a la presencia de algún mecanismo de exclusión de iones que impide que estos se acumulen en el limbo foliar. Entre los mecanismos más comunes están la exclusión de Na^+ desde la raíz como sitio de ingreso, este se ha sugerido como una de las estrategias más importantes relacionados con la tolerancia a la salinidad en plantas (Lazof & Bernstein, 1999). Hasta ahora con los datos obtenidos en diversos trabajos se ha observado que la concentración de Na^+ en las raíces es menos variable entre especies que la concentración en los tallos (Tester y Davenport, 2003). Sin embargo, las concentraciones de Na^+ de las raíces no están correlacionadas linealmente con las del suelo y muestran una saturación a niveles moderados de NaCl externo, lo que sugiere un punto de control a nivel de raíces del ingreso de NaCl (Tester y Davenport, 2003). Además las raíces controlan el flujo de Na^+ en dos direcciones, hacia el suelo y hacia el xilema, por lo que el transporte de Na^+ hacia el xilema sería una causa secundaria de la homeostasis iónica a nivel de raíces. Por ejemplo, se demostró que las diferencias en tolerancia a la salinidad de dos variedades de trigo (Davenport *et al.*, 2005) se debieron principalmente a diferencias en el transporte de Na^+ desde la raíz al tallo. Así la tasa de transferencia de Na^+ entre la raíz y el

tallo vía xilema fue mucho menor en el genotipo tolerante, mientras que el ingreso de Na^+ a las raíces no se diferenció entre genotipos. Otro punto de control podría ser el movimiento de Na^+ a través del xilema, de lo que no se conoce mucho, este podría ser activo, pasivo o usar ambos mecanismos dependiendo de la concentración de Na^+ (Tester y Davenport, 2003). Otro mecanismo podría ser la remoción de Na^+ desde la savia del xilema, algunas teorías proponen que los antiporters Na^+/H^+ actuarían en dirección contraria y el Na^+ retransportado se acumularía en las vacuolas, en raíces maduras, en la base de los tallos o a lo largo de los tallos en las plantas que elongan sus tallos. Así por ejemplo en plantas de trigo las concentraciones de Na^+ disminuyeron desde la base hacia hasta la inserción de la hoja 8 a una razón de 1 mM por entrenudo. Lo que muestra que el Na^+ es removido de los tejidos en activo crecimiento y acumulado en los entrenudos. Otro de los grupos celulares donde se acumularía el Na^+ sería en las células epidérmicas de la raíz, ya que se ha observado que en esta células al igual que en las células parenquimáticas que rodean al xilema, los genes que codifican para antiporters Na^+/H^+ se expresan en mayor cantidad (Xiong & Zhu, 2002). La recirculación de Na^+ desde el tallo a la raíz vía floema ha sido informado para algunas especies y asociado con la tolerancia a la salinidad, sin embargo los detalles son poco conocidos (Tester y Davenport, 2003). La exclusión de sales a través de glándulas o pelos epidérmicos es otra estrategia utilizada para eliminar el exceso de sales. En los pastos la presencia de pequeñas glándulas bicelulares está relacionada con la tolerancia a la salinidad, así una variedad de arroz silvestre *Porteresia coarctata* presenta micropelos epidérmicos que secretan sales (Tester y Davenport, 2003). De todos los mecanismos mencionados para los tres cv de *Cenchrus ciliaris* podemos descartar el de la exclusión a través de pelos epidérmicos, ya que si este fuera el mecanismo los niveles de Na^+ en hojas serían superiores. Con los

datos obtenidos en este trabajo sólo podemos decir que claramente hay un mecanismo de exclusión de sales pero no podemos conocer a que nivel estaría actuando. Para lo cual habría que continuar con líneas de investigación que permitan conocer cual es el o los mecanismos de exclusión de iones que le permiten a esta especie mantener bajos los niveles de Na^+ en hojas. Esta capacidad de la especie de mantener bajos los niveles de Na^+ la hacen una buena opción para cultivar en zonas salinas sin perjudicar la salud animal. Las altas concentraciones de NaCl en el forraje causan en el animal disminución de la asimilación de nutrientes y comprometen la salud del mismo, por lo que se buscan plantas que bajo condiciones de salinidad acumulen poco NaCl . Los rangos permitidos de contenido de NaCl para rumiantes están entre el 3 y el 6% de la materia seca (Masters *et al.* 2007). Los valores obtenidos en este trabajo para Buffel grass son en promedio del 4% para las plantas regadas con el máximo nivel de salinidad (18 dS/m), lo que hace de esta una pastura recomendable para cultivar en terrenos salobres sin comprometer la salud animal.

En los tres cv se activaron mecanismos que les permitieron tolerar las condiciones de salinidad y completar el ciclo de vida, por lo que en relación a la segunda hipótesis podemos decir que en respuesta a los tratamientos salinos los tres cv disminuyeron sus potenciales hídricos conforme lo hacía el potencial hídrico del suelo. Esto se evidenció en menores potenciales osmóticos y en la capacidad de mantener los contenidos relativos de agua (RWC) altos, lo que sugiere la capacidad de osmorregulación de los cv. Una de las estrategias utilizada por esta especie, para disminuir el potencial osmótico, sería la acumulación de Na^+ y Cl^- como osmolitos al mismo tiempo que mantiene los niveles de K^+ elevados haciendo la relación K^+/Na^+ alta, dada por una alta selectividad de K^+ sobre Na^+ entre 70 a 100 veces mayor. Indudablemente la

tolerancia a la salinidad observada en *Cenchrus ciliaris* está asociada a la capacidad de la especie de compartimentalizar efectivamente las sales que llegan a la hoja en la vacuola y de balancear los potenciales osmóticos en los otros compartimentos celulares a través de la acumulación de K^+ a niveles sub-tóxicos. Sumado a lo anterior la presencia de mecanismos que le permiten a la especie excluir Na de las hojas fotosintéticamente activas hacen que la planta pueda tolerar las condiciones de salinidad. Es probable que también ocurra concentración y síntesis de solutos compatibles, mecanismo no evaluado en este trabajo (Lambers *et al.*, 1998; Bray *et al.*, 2000; Wiladino & Camara, 2003; Ashraf & Harris, 2004; Taiz & Zeiger, 2004; Mahajan & Tuteja, 2005; Munns & Tester, 2008). La mayoría de los resultados obtenidos en respuesta a la salinidad en esta especie coinciden con los obtenidos para condiciones de estrés hídrico (Wilson & Ludlow, 1983; Buldgen & François, 1998; Akram *et al.*, 2008). Así las disminuciones en el crecimiento vegetativo y reproductivo al igual que las modificaciones de las relaciones hídricas y el ajuste osmótico, son respuestas comunes a ambos tipos de estrés. Esto ubica a *Cenchrus ciliaris* como una especie no sólo tolerante al estrés hídrico sino también adaptada a condiciones de mediana salinidad en el sustrato, lo que hace a esta una pastura óptima para implantar en zonas áridas y semiáridas de nuestro país afectadas por la salinidad.

En cuanto al efecto de la salinidad en la planta madre sobre la germinación de las semillas se observó que semillas obtenidas de plantas de *Cenchrus ciliaris* cultivadas bajo condiciones de estrés salino a campo, fueron más tolerantes a condiciones de salinidad durante la germinación en laboratorio. También se observó un efecto promotor de la germinación cuando se sembraron dichas semillas en agua destilada. Este efecto se observó en los tres cv pero en el cv Texas estas diferencias son especialmente marcadas, así semillas

provenientes del tratamiento con mayor nivel de salinidad (18 dS/m) germinaron casi un 50 % más que las provenientes del control. Por otro lado, el cv Americana fue el que menor incidencia del efecto materno presentó en relación con la tolerancia a la salinidad. Es probable que las diferencias observadas en rendimiento de semillas y el efecto materno estén relacionadas. Así, el cv Americana, que mostró mayor rendimiento y menor efecto materno, pudo fijar más semillas por que ocurrió más polinización cruzada, lo que incrementó el número de semillas pero disminuyó el efecto materno. Mientras que en el cv Texas la polinización cruzada no fue posible o sólo en una proporción mínima, haciendo que el índice de autofecundación fuera alto, disminuyendo la fijación de semillas y acentuando el efecto materno. Se ha informado que la fijación del número de semillas en los genotipos apomícticos que producen pocas semillas se puede incrementar con la polinización con otros cv (Shafer *et al.*, 2000). Los detalles de los mecanismos fisiológicos a través de los cuales la germinación de semillas es afectada por el ambiente materno son casi desconocidos. Sin embargo está claro que en todos los casos el estímulo es detectado por la planta madre y algunos productos metabólicos son transmitidos a las semillas influyendo sobre el nivel de dormancia de las mismas (Fenner & Thompson, 2005). Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el o los mecanismos subyacentes relacionados con el efecto materno observado no están relacionados con la acumulación de solutos en las semillas ni con modificaciones en los potenciales hídricos de las mismas. Probablemente los cambios observados en las semillas originados en cambios en el ambiente materno tengan que ver con alteraciones en la cantidad, transporte y/o actividad de sustancias como el ABA, giberelinas, citokininas etc. (Fenner, 1991). En especies sometidas a estrés hídrico se ha observado que usualmente este factor ambiental tiene el efecto de reducir la dormición, posiblemente por que interfiere

con la síntesis de algún inhibidor o promotor de la germinación (Fenner, 1991). Khan & Weber (1986) observaron que el ácido giberélico (GA_3) y la kinetina disminuyen tanto la dormancia innata como la dormancia inducida por salinidad en el medio en *Salicornia pacifica* var *utahensis*. En algunas especies la actividad del fitocromo podría ser afectada por la sequía. El ABA es otro de los posibles responsables de estas diferencias en germinación, ya que se han encontrado niveles elevados en semillas de plantas sometidas a sequía. Aunque el ABA es un inhibidor de la germinación, se ha encontrado que en estas especies que responden aumentando los niveles de germinación frente a la sequía, hay un pico de ABA al principio del desarrollo de los granos que es seguido por una caída importante en los niveles del mismo. Esto hace que el embrión pierda sensibilidad al ABA y resulte menos dormante (Fenner, 1991). También es posible que la sequía durante el desarrollo resulte en un incremento de la actividad de las giberelinas. Entre los nutrientes, el K^+ es uno de los candidatos para explicar la disminución de los niveles de dormancia, es posible que este sea necesario para la síntesis de ABA por lo que una deficiencia del mismo produce semillas con menos nivel de dormición (Fenner, 1991).

Por lo que en relación a la tercer hipótesis planteada los resultados obtenidos mostraron que semillas provenientes de plantas salinizadas, además de germinan más, toleran más condiciones de estrés salino durante la germinación. Sin embargo el o los mecanismos fisiológicos relacionados con este efecto materno no tienen que ver con modificaciones en los potenciales hídricos ni osmóticos de las semillas por la acumulación de solutos. Podría existir una relación entre los niveles de K^+ en hoja y el aumento de la germinación, temática a investigar en futuros trabajos. Seguir indagando en esta temática y en los efectos sobre más de una generación de modificaciones en el ambiente materno, es un nuevo e interesante desafío que no debería dejarse de lado. Los

mecanismos fisiológicos que gobiernan este efecto materno están muy lejos de ser conocidos y dilucidarlos ampliaría mucho más las perspectivas para el mejoramiento de los cultivos. Indudablemente el mejoramiento genético de las especies vegetales constituye uno de los factores primordiales para incrementar los índices de producción. En el caso de las especies forrajeras estas no son la excepción, por el contrario esta reconocido plenamente que la obtención de pastos mejorados es uno de los pilares necesarios para aumentar la productividad ganadera. La obtención de cv mejorados de *Cenchrus ciliaris* mediante técnicas de mejoramiento genético tradicionales es particularmente complicado por el mecanismo reproductivo que presenta la especie, la “apomixis” (Valla, 2005). Esto hace que la polinización cruzada sea virtualmente imposible disminuyendo las opciones de mejoramiento en *Cenchrus ciliaris* (Ayerza, 1981). Encontrar fuentes para incrementar la variabilidad de los cv disponibles es de suma importancia para la expansión del área a cultivar con esta especie.

Bibliografía

- Abbate P, Andrade F, Culot J (1995) The effects of radiation and nitrogen on number of grain in wheat. *Journal of Agricultural Science* **124**, 351-360.
- Akram N A, Shahbaz M, Ashraf M (2008). Nutrient acquisition in differentially adapted populations of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Cenchrus ciliaris* L. under drought stress. *Pakistan Journal of Botany* **40**(4): 1433-1440
- Akram NA, Shahbaz M, Athar H, Ashraf M (2006) Morpho-physiological responses of two differently adapted populations of *Cynodon dactylon* (L) Pers. and *Cenchrus ciliaris* L. to salt stress. *Pakistan Journal of Botany* **38**(5),1581-1588.
- Aloy M (1992) Effect of different levels of salinity on yield and yield components of six varieties of barley. Proc. 2nd Congress, European Society of Agronomy, Warwick, UK
- Al-Khateeb S (2006) Effect of salinity and temperature on germination, growth and ion relations of *Panicum turgidum* Forssk. *Bioresource Technology*. **97**, 292–298
- Amzallag GN (1994) Influence of parental NaCl treatment on salinity tolerance of offspring in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *New Phytologist* **128**, 715-723
- Argel PJ, Humphreys LR (1983) Environmental effects on seed development and hardseededness in *Stylosanthes hamata* cv. Verano. I. Temperature. *Australian Journal of Agricultural Research* **34**, 261-270.
- Asch F, Dingkuhn M, Dörffling K, Miezan K (2000) Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. *Euphytica* **113**, 109–118.
- Ashraf M, Athar,HR, Harris PJC, Kwon TR (2008) Some Prospective Strategies for Improving Crop Salt Tolerance. *Advances in Agronomy* **97**, 45-110
- Ashraf M, Harris PJC (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* **166**, 3-16
- Ashraf M (2006) Tolerance of some potential forage grasses from arid regions of Pakistan to salinity and drought. Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance In Plants Edited by M. Oztürk, Y.Waisel, M.A. Khan and G. Go Verlag/Switzerland
- Ashraf M, Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* **59**, 206–216
- Ashraf M, Foolad, MR (2005) Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advance in Agronomy* **88**, 223–271

- Ayerza R (1981) El Buffel grass: utilidad y manejo de una promisorio gramínea. Editorial Hemisferio sur Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur, 139p
- Benech Arnold, RL, Fenner M, Edwards PJ (1991). Changes in germinability, ABA levels and ABA embryonic sensitivity in developing seeds of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. induced by water stress during grain filling. *New Phytologist* **118**, 339-347.
- Bewley JD, Black M (1994). Seeds. Physiology of Development and Germination, 2nd edn. New York: Plenum.
- Bewley JD (1997) Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**, 1053-1066
- Bewley JD (2001) Seed Germination and Reserve Mobilization. En Encyclopedia of life Sciences Nature publishing group / www.els.net
- Bilquees G, Khan MA (2008) Effect of compatible osmotica and plant growth regulators in alleviating salinity stress on the seed germination of *Allenrolfea occidentalis*. *Pak. J. Bot.* **40**(5),1957-1964
- Bradford KJ (1995) Water relations in seed germination. In Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp 351-396
- Bradford KJ (1996) Population- Based Models Describing Seed Dormancy Behaviour Implications for Experimental Design and Interpretation. In Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. G. A. Lang (Ed) CAB International. pp 313-340
- Bradford KJ (1997) The hidrotime concept in seed germination and dormancy. In Basic and Applied Aspects of Seed Biology. R.H. Ellis, M. Black, A. J. Murdoch y T. D. Hong (Eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Gran Bretaña. pp 3 49-360.
- Boesewinkel FD, Bouman F (1995) The Seed: Structure and Function. In Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp 1-24
- Bohnert HJ, Nelson DE, Jensen RG (1995) Adaptation to environmental stresses. *Plant Cell* **7**, 1099-1111.
- Bohnert HJ, Jensen RG (1996). Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* **14**, 98-97.
- Borrás L, Slafer G, Otegui M (2004) Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: quantitative reappraisal. *Field Crops Research* **86**,131-146
- Bray E, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000) Response to abiotic stress. Chapter 22 In Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Buchanan B, W Grissem Eds. Pp: 1158-1203

- Bremner J, Mulvaney C (1982) Nitrogen total. In Page et al. (eds). Methods of soil analysis. Part 2. Second Edition Agronomy. Am. Soc. of Agron. Madison, Wis. 9, 595-624.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (2000) Response to abiotic stress. In Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Eds. American Society of Plant Physiologist, Rockville, Maryland) pp 1158-1202
- Buldgen A, François J (1998). Physiological reactions to imposed water deficit by *Andropogon gayanus* cv Bisquamulatus and *Cenchrus ciliaris* cv. Biloela in a mixed fodder crop. *The Journal of Agricultural Science* **131**, 31-38
- Butt MN, Donart GB; Southward MG, Pieper R, Mohamma DN (1992) Effects of defoliation on plant growth of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). *Annals of Arid Zones* **31**, 19-24
- Byers DL, Platenkamp AJ Shaw RG (1997) Variation in seed characters in the *Nemophila menziesii*: evidence of a genetic basis for maternal effect. *Evolution* **51**(5), 1445-1456.
- Chachar QI, Solangi AG, Verhoef A (2008) Influence of sodium chloride on seed germination and seedling root growth of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) *Pakistan Journal of Botany* **40**(1), 183-197
- Clayton WD, Harman KT, Williamson H (2006). Grass Base—The Online World Grass Flora. www.kew.org/data/grasses-db.html.
- Cochran WG, Cox GM (1957) Experimental designs. Second Edition. John Wiley & Sons, INC.
- Davenport R, James R, Zakrisson-Plogander A, Tester M, Munns R (2005) Control of sodium transport in durum wheat. *Plant Physiology* **137**, 807-818.
- De León M (2004) Ampliando la frontera ganadera. Informe Técnico N° 1. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Córdoba
- Dwivedi KK, SR Bhat, V Bhat, BV Bhat, MG Gupta (2007) Identification of a SCAR marker linked to apomixis in buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.). *Plant Science* **172**, 788–795.
- Dodd GL, Donovan LA (1999) Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *American Journal of Botany* **86**(8), 1146-1153.
- Dregne H (1987) Envergadura y difusión del proceso de desertificación. En Colonización de los territorios áridos y lucha contra la desertificación: enfoque integral. Comisión de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Moscú.
- El-Sayed El-Hendawy S. (2004). Salinity Tolerance in Egyptian Spring Wheat Genotypes. Die Dissertation wurde am 01.06.2004 bei der

Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 08.07.2004 angenommen.

-FAO, (2009). *Cenchrus ciliaris* L.

<http://www.fao.org/Ag/agp/agpc/doc/Gbase/DATA/Pf000196.htm>

-Fenner M, Thompson K (2005) *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press. 241 Pp 1-29

-Fenner M (1991) The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* **1**, 75-84.

-Ferne AR, Tadmor Y, Zamir D (2006) Natural genetic variation for improving crop quality. *Current Opinion in Plant Biology* **9**, 196-202

-Flowers TJ, Troke PF, Yeo AR (1977) The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **28**, 89-121

-Flowers TJ, Yeo AR (1988) Ion relations of salt tolerance. In: Baker, D.A., Hall, J.L. (Eds.), *Solute Transport on Plant Cells and Tissues*. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 392–416.

-Flowers TJ, Yeo AR (1986) Ion relations of plants under drought and salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**, 75-91.

-Galloway LF (2001) The effect of maternal and paternal environments on seed characters in the herbaceous plant *Campanula Americana* (Campanulaceae). *American Journal of Botany* **88**, 832-840.

-Galloway LF (2005) Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *Research Review. New Phytologist* **166**, 93–100

-Gambín B, Borrás L, Otegui M (2006) Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Research* **95**, 316-326.

-Ghoulam C, Foursy A, Fares K (2002) Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and Experimental Botany* **47**, 39-50.

-Gibon Y, Bessieres MA, Larher F (1997) Is glycinebetaine a noncompatible solute in higher plants that do not accumulate it? *Plant Cell Environmental* **20**, 329–40.

-Gómez de la Fuente E, Díaz Solís H, Saldívar Fitzmaurice A, Briones Encinia F, Vargas Tristán V, Grant W (2007) Patrón de crecimiento de pasto buffel [*Pennisetum ciliare* L. (Link.) Sin. *Cenchrus ciliaris* L.] en Tamaulipas, México. *Técnica Pecuaria México* **45**(1):1-17.

-Gorai M, Neffati M (2007) Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. *Annals of Applied Biology* **151**, 53–59

- Graham TWG, Humphreys LR (1970) Correction - Salinity response of cultivars of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* **10**(47), 725-728
- Grattan SR, Grieve CM; Poss JA; Robinson PH, Suarez DL, Benes SE (2004) Evaluation of salt-tolerant forages for sequential water reuses systems I. Biomass production. *Agricultural Water Management* **70**, 109-120
- Grattan S, Zeng L, Shannon M, Roberts S (2002) Rice is more sensitive to salinity than previously thought. *California Agriculture* **56**(6), 189-195.
- Greenway H, Munns R (1980) Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **31**, 149-190
- Grieve C, Poss J, Grattan S, Suarez D, Benes S, Robinson P (2004) Evaluation of salt-tolerant forages for sequential water reuse systems II. Plant-ion relations. *Agricultural Water Management* **70**, 121-135.
- Guertin, P. (2003). *Pennisetum ciliare* (L.) Link. Plant factsheet/profile. USGS Weeds in the West project: Status of Introduced Plants in Southern Arizona Parks.
- Gulzar S, Khan A (2006) Comparative salt tolerance of perennial grasses. In *Ecophysiology Of High Salinity Tolerant Plants*. Edited por M. Ajmal Khan Y Darrell J. Weber Editorial Springer Dordrecht, The Netherlands. Pp 239-235
- Gulzar SM, Khan A, Ungar IA (2003) Effects of Salinity on Growth, Ionic Content, and Plant–Water Status of *Aeluropus lagopoides*. *Communications In Soil Science and Plant Analysis* **34**, 1657–1668
- Gulzar S, Khan MA, Ungar IA (2001). Effect of salinity and temperature on the germination of *Urochondra setulosa* (Trin) C. E. Hubbard. *Seed Science & Technology* **29**, 21-29
- Guterman Y (1992) Maternal effects on seeds during development. In *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities*. Edited por Michael Fenner . CAB International. Pp 27-60
- Harrison PG (1991). Mechanisms of seed dormancy in annual population of *Zostera marina* (eelgrass) from The Netherlands. *Canadian Journal of Botany* **69**, 1972-1076.
- Hauser F, Horie T (2010) A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K⁺/Na⁺ ratio in leaves during salinity stress. *Plant, Cell and Environment* **33**, 552–565
- Hester M, Mendelssohn IA, McKee KL (2001) Species and population variation to salinity stress in *Panicum hemitomom*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: morphological and physiological constraints. *Environmental and Experimental Botany* **46**, 277–297

-Jaleel C, Sankar B, Sridharan R, Panneerselvam R (2008) Soil Salinity Alters Growth, Chlorophyll Content, and Secondary Metabolite Accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turk J Biol* **32**, 79-83

-Karssen C (1995) Hormonal regulation of seed development, dormancy and germination studied by genetic control. In Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. Pp 333-350

-Katembe WJ; Ungar IA, Mitchel JP (1998) Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). *Annals of Botany* **82** (2), 167-175.

-Keiffer CH, Ungar I (1997) The effect of density and salinity on shoot biomass and ion accumulation in five inland halophytic species. *Canadian Journal of Botany* **75**, 96-107

-Kellogg EA (2001) Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiology* **125**, 1198-1205.

-Keya GA (1998) Growth, water relations and biomass production of the savanna grasses *Chloris roxburghiana* and *Cenchrus ciliaris* in Kenya. *Journal of Arid Environments* **38**, 205–219

-Khan MA, Ungar IA, Showalter AM (2000a) The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf of a succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa*. *Journal of Arid Environment* **45** (1), 73-84

-Khan MA, Ungar IA, Showalter AM (2000b) Effects of Salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte, *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Annals of Botany* **85**, 225-232

-Khan MA (1991) Studies on germination of *Cesca cretica*. *Pakistan Journal of Weed Science Research* **4**, 89-98.

-Khan MA, Rizvi Y (1994) Effect of salinity, temperature and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Canadian Journal of Botany* **72** (4), 475-479

-Khan MA, Zaheer Ahmed M, Hameed A (2006). Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments* **67**, 535–540

-Khan MA, Ungar IA (1984) The effect of salinity and temperature on the germination of polymorphic seed and growth of *Atriplex triangularis*. *Wildlife Botanical Gazeta* **145** (4), 487-494.

-Khan MA, Weber DJ (1986). Factors influencing seed germination in *Salicornia pacifica* var. *utahensis*. *American Journal of Botany* **73**, 1163-1167.

-Koornneef ML, Bentsink, Hilhorst H (2002) Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 33–36

- Kuehl RO (2001) Diseño de experimentos. Segunda Edición. Thomson Learning 469-486.
- Kusvuran S, Yasar F, Ellialtioglu S, Abak K (2007) Utilizing some of screening methods in order to determine of tolerance of salt stress in the melon (*Cucumis melo* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* **3**(1), 40-45
- Lambers H, F Stuart Chapin III, Pons TL (1998) Plant Physiological Ecology. Sections 3 "Plant Water Relations" Editorial Springer- Verlag New York Inc.
- Lazof D, Bernstein N (1999) The NaCl induced inhibition of shoot growth: the case for disturbed nutrition special consideration of calcium. *Advances in Botanical Research* **29**, 115-175.
- Li-Weng W, Showalter A, Ungar AI (1997) Effect of salinity on growth, ion content and cell wall chemistry. *American Journal of Botany* **84**, 1247-1255
- Ludlow MM (1980) Stress physiology of tropical pasture plants. *Tropical grasslands* **14**(3), 136-145
- Ludlow MM, Fisher MJ, Wilson JR (1985) Stomatal Adjustment to Water Deficits in Three Tropical Grasses and a Tropical Legume Grown in Controlled Conditions and in the Field. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**(2), 131 - 149
- Maathuis FJM (2006) The role of monovalent cation transporters in plant responses to salinity. *Journal of Experimental Botany* **57**(5), 137–1147
- Maathuis FJM, Amtmann (1999) K⁺ and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Annals of Botany* **84**, 123-133
- Maas EV, Poss JA, Hoffman GJ (1986) Salinity sensitivity of sorghum at three growth stages. *Irrigation Science* **7**,1
- Maas EV, Poss JA (1989)a Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science* **10**,29
- Maas EV, Poss JA (1989)b Salt sensitivity of cowpea at various growth stages *Irrigation Science* **10**,313-320
- Mahajan S,Tuteja N (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **444**, 139–158
- Manchanda G, Garg N (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologica Plantarum* **30**,595–618
- Mansoor U, Mansoor H, Wahid A, Altaf R (2002). Ecotypic variability for drought resistance in *Cenchrus ciliaris* L. germplasm from Cholistan desert in Pakistan. *International Journal Of Agriculture & Biology* **4**(3): 392–397
- Marañón T, García LV, Troncoso A (1989) Salinity and germination of annual *Melilotus* from the Gaddalquivir delta (SW). *Plant and Soil* **119**, 223-228.

- Marcum KB (2006) Saline tolerance physiology in grasses. In *Ecophysiology Of High Salinity Tolerant Plants*. Edited por M. Ajmal Khan Y Darrell J. Weber Editorial Springer Dordrecht, The Netherlands. Pp 157-172
- Marcum KB, Murdoch CL (1994) Salinity tolerance mechanisms of six C4 turfgrasses. *Journal of the American Society of Horticultural Science* **119**, 779-784.
- Masters DG, Benes SE, Norman HC (2007) Biosaline agriculture for forage and livestock production. *Review.Agriculture, Ecosystems and Environment* **119**, 234-248
- McCue KF, Hanson AD (1990) Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* **8**, 358–62.
- Megdiche W, Hessini K, Gharbi F, Jaleel CA, Ksouri R, Abdelly C (2008) Photosynthesis and photosystem 2 efficiency of two salt-adapted halophytic seashore *Cakile maritima* ecotypes. *Photosynthetica* **46**(3), 410-419.
- Mohammed S, Sen DN (1990) Germination behaviour of some halophytes in Indian desert. *Indian Journal of Experimental Biology* **28**, 545- 549.
- Mohsenzadeh S, Malboobi MA, Razavi K, Farrahi-Aschtiani S (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* **56**(3), 314-322
- M'rah S, Ourghi Z, Berthomieu C, Havaux M, Jungas C, Ají M, Grignon C, Lachaal M (2006) Effects on NaCl on the growth, ion accumulation and photosynthetic parameters of *Thellugiella halophila*. *Journal of Plant Physiology* **163**(10),1022-1031
- Munns R (2005) Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* **167**, 645–663.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* **25**, 239-250.
- Munns R (1993) Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* **16**, 15-24.
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* **59**,651–681
- Munns R (2007) Utilizing genetic resources to enhance productivity of salt-prone land. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* **2** (9), 651-681
- Munns R, Richard A, James, Lauchli A (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals *Journal of Experimental Botany Plants and Salinity Special Issue* **57**(5), 1025–1043.

- Muscolo A, Panuccio MR, Sidari M (2003) Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst) *Plant Science* **164**, 1103- 1110
- Mutz JL, Drawe LD (1993) Clipping frequency and fertilization influence herbage yields and crude protein content of 4 grasses in South Texas. *Journal of Range Management* **36**, 582-585.
- Namur, P. (1985). Buffel Grass: Generalidades, implantación y manejo. Estación Experimental Agropecuaria La Rioja. INTA
- Newman Y, Delgado H (1999) Crecimiento del pasto buffel 1. Arquitectura de la planta. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia **16**,319-326
- Otegui ME, Andrade FH (2000) New relationships between light interception ear growth and kernel set in maize. In Physiology and Modeling kernel set in maize. (Ed Crop Science Society of America and American Society of Agronomy) pp 89-102
- Pardo JM; Cubero B; Leidi EO, Quintero FJ (2006) Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany* **57**(5), 1181–1199.
- Parida AK, Das AB (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **60**, 324–349
- Passioura J (2006) Increasing crop productivity when water is scarce-from breeding to field management. *Agricultural Water Management* **80**, 176-196.
- Poustini K, Siosemardeh A (2004) Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Research* **85**, 125-133
- Probert RJ, JL Brenchley (1999) The effect of environmental factors on field and laboratory germination in a population of *Zostera marina* L. from southern England. *Seed Science Research* **9**, 331-339.
- Quero Carrillo AR; Enriquez Quiroz JF, Miranda Jiménez L (2007) Evaluación de especies forrajeras en América Tropical, avances o status quo. *INCI* **32**(8), 566-571.
- Rajendran K, Tester M y Roy S (2009) Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant, Cell and Environment* **32**, 237-249
- Rathinasabapathi B (2000) Metabolic engineering for stress tolerance: installing osmoprotectant synthesis pathways. *Annals of Botany* **86**, 709-716
- Redbo-Torstensson P (1994) Variation in plastic response to salinity gradient within a population of the halophytic plant. *Spergularia marina*. *Oikos* **70**, 349-358
- Rengasamy P (2006) World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany* **57**(5), 1017–1023

- Rodríguez-Navarro A, Rubio F (2006) High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany* Salinity Special Issue **57**(5),1149-1160
- Rudmann S, Milham PJ, Conroy JP (2001) Influence of high CO₂ partial pressure on nitrogen use efficiency of the C₄ grasses *Panicum coloratum* and *Cenchrus ciliaris*. *Annals of Botany* **88**, 571-577
- Salisbury FB, Ross CW (2000) Fisiología de las plantas 3: Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Ed. Thomson Learning, Paraninfo S.A. Madrid. Cap. 26.
- Salmeron J, Herrera-Estrella L 2006 Plant biotechnology Fast-forward genomics for improved crop production. *Current Opinion in Plant Biology* **9**, 177-179
- Sánchez R, Mella R (2004) Chapter 7: The exit from dormancy and the induction of germination: physiological and molecular aspects. In Handbook of seed physiology pp 221-243.
- Sarmiento G (1992) Adaptative strategies of perennial grasses in South American savannas. *Journal of Vegetal Science* **3**, 325-336.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingson EA (1965) Sap pressure in vascular plants. *Science* **148**, 339-346.
- Schopfer P, Plachy C (1985) Control of seed germination by abscisic acid. III Effect on embryo growth potential (minimum turgor pressure) and growth coefficient (cell wall extensibility) in *Brassica napus*. *Plant Physiology* **77**, 676-686
- Shafer G S, BL Burson, MA. Hussey (2000) Stigma Receptivity and Seed Set in Protogynous Buffelgrass. *Crop Science* **40**, 391-397
- Shakil A (2009). Effect of soil salinity on the yield and yield components of mungbean. *Pakistan Journal of Botany* **41**(1): 263-268
- Sharif-Zadeh F, Murdoch AJ (2000) The effect of different maturation condition on seed dormancy and germination in *Cenchrus ciliaris*. *Seed Science Research* **10**, 447-457
- Shmueli M, Goldberg D (1971) Emergence, early growth and salinity of five vegetable crops germinated by sprinkle and trickle irrigation in arid zones. *Horticultural Science* **6**, 176 -177.
- Slafer G, González F, Kantolic A, Whitechurch E, Abeledo G, Miralles D, Savin R (2006) Grain number determination in major grain crops. Handbook of seed Science and Technology- In AS Basra (Ed). The Hawort Press Inc. pp 95-123
- Spillane ·C, Steimer A, U. Grossniklaus (2001)Apomixis in agriculture: the quest for clonal seeds. *Sex Plant and Reproduction* **14**,179-187
- Steinger T, Gall R, Schmid B (2000) Maternal and direct effects on elevated CO₂ on seed provisioning, germination and seedling growth in *Bromus erectus*

Oecologia **123**(4), 475-480

-Song J; Feng G; Tian C, Zhang F (2006) Osmotic adjument traits of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* in field conditions. *Plant Science* **170**,113-119.

-Suyama H, Benes SE, Robinson PH, Grattan SR, Grieve CM, Getachew G (2007) Forage yield and quality under irrigation with saline-sodic drainage water: Greenhouse evaluation. *Agricultural Water Management* **8**(8), 159 –172

-Taiz L, Zeiger E (2004) Plant physiology. Third Edition. Chapter 25 “Stress Physiology”. Editorial Sinauer.

-Taleisnik E, Rodriguez A, Bustos D Laszlo E, Ortega L, Senn ME (2009) Leaf expansion in grasses under salt stress. *Journal of plant physiology*. **166**, 1123-1140

-Tester M, Davenport R (2003) Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higer plants. *Annals of Botany* **91**, 503-527

-Tu M (2002) Element stewardship abstract for *Cenchrus ciliaris*. In The Nature Conservancys Wildland Invasive Species Team. Dept of Vegetable, Crops & Weed Sciences, University of California.

-Ungar IA (1978). Population dynamics of inland halophytes communities. *Bulletin de la Societe Botanique de France* **121**, 287-292.

-Ungar IA (1991) Ecophysiology of vascular halophytes. CRC Press. Boca Ratón. Florida. USA.

-Ungar IA (1995) Seed germination and seed bank ecology in halophytes. In Seed Develoment and Germination. Editory: Kigel J. and Galili, G. pp 599-628

-Valla J (2005) Botánica: Morfología de las plantas superiores. Editorial Hemisferio Sur. Pp 251.

-Wang DJ; Possw A; Donovanw TJ; Shannonz MC, Leschw SM (2002) Biophysical properties and biomass production of elephant grass under saline conditions. *Journal of Arid Environments* **52**, 447–456

-Welbaum GE, Bradford KJ (1988) Water Relations of Seed Development and Germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.)' I. Water relations of seed and fruit development. *Plant Physiology* **86**, 406-411

-Welbaum GE, Bradford KJ (1989) Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) II. Development of germinability, vigour, and desiccation tolerance. *Journal of Experimental Botany* **40**, 1355-1362

-Welbaum GE; Tissaoui T, Bradford KJ (1990) Water Relations of Seed Development and Germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.)' III. Sensitivity of Germination to Water Potential and Abscisic Acid during Development. *Plant Physiology* **92**, 1029-1037

- Whyte R, Moir TR, Cooper JP (1959). Las gramíneas en la Agricultura. FAO *Estudios Agropecuarios* N° 42 Roma, Italia.
- Wiladino L, Camara T (2003). Origen y naturaleza de los ambientes salinos. Capítulo 10 En "La ecofisiología vegetal una ciencia de síntesis" Reigosa M.; Pedrol N. y Sánchez A. coordinadores Thomson Editores Spain.
- Willems P, Raffaele E (2001) Implicancias del efecto de las interacciones en la interpretación de experimentos factoriales en biología. *Ecología Austral* 11,131-138.
- Wilson JR, Ludlow MM (1983) Time Trends for Change in Osmotic Adjustment and Water Relations of Leaves of *Cenchrus ciliaris* During and After Water Stress. *Australian Journal of Plant Physiology* 10(1), 15-24
- Wuff R; Cáceres A, Schmitt J (1994) Seed and seedling responses to maternal and offspring environments in *Plantago lanceolata*. *Functional Ecology* 8,763-769
- Wuff RD (1995) Environmental Maternal Effects. In Seed Development and Germination. Editado por Kigel J y Galili G. Marcel Dekker Inc. Pp 491-506
- Xiong L , Zhu J-K (2002). Salt Tolerance. *In The Arabidopsis Book*. American Society of Plant Biologists Eds. pp1-24
- Yasar F, Uzal O, Tufenkci S, Ildis K (2006) Ion accumulation in different organs of green bean genotypes grown under salt stress. *Plant Soil and Environment* 52(10), 476-480
- Yeo A (1998) Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology. *Journal of Experimental Botany* 49, 915-929
- Zandt PA, van Mopper S (2004) The effects of maternal salinity and seed environment on germination and growth in *Iris hexagona*. *Evolutionary Ecology Research* 6 (6), 813-832
- Zayed B, Abou El Hassan W, Kitamura Y, Shehata S, Zahor A, Faridullah (2006) Effect of reuse drainage water management on rice growth, yield and water use efficiency under saline soils of Egypt. *Asian Journal of Plant Sciences* 5(2), 287-296.
- Zeng L, Shannon M C. (2000) Salinity Effects on Seedling Growth and Yield Components of Rice. *Crop Science* 40:996-1003
- Zeng L, Shannon MC, Grieve CM (2002) Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by multiple agronomic parameters. *Euphytica* 127, 235-245.
- Zinder LA, Hernandez AR, Warmke (1955) The mechanism of apomixis in *Pennisetum ciliare*. *Botanical Gazette* 116, 209-221.
- Zhu JK (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6, 66-71.

Anexo 1

Tabla 1.1

Febrero

Altura

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	11901,22	29	410,39	16,17	<0,0001	
Tratamiento	10098,25	3	3366,08	31,25	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	67,66	3	22,55	0,89	0,4659	
Tratamiento*Bloque	969,3	9	107,7	4,24	0,0044	
cv	180,4	2	90,2	3,55	0,05	
Tratamiento* cv	136,9	6	22,82	0,9	0,5169	
Bloque* cv	448,71	6	74,79	2,95	0,035	
Error	456,93	18	25,38			
Total	12358,15	47				

Peso fresco del tallo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	43148,64	29	1487,88	3,38	0,0045	
Tratamiento	23420,61	3	7806,87	35,76	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	4594,18	3	1531,39	3,48	0,0376	
Tratamiento*Bloque	1964,62	9	218,29	0,5	0,8583	
cv	6300,25	2	3150,12	7,16	0,0052	
Tratamiento* cv	2551,77	6	425,3	0,97	0,475	
Bloque* cv	4317,21	6	719,54	1,64	0,1948	
Error	7920,89	18	440,05			
Total	51069,53	47				

Macollos

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	922,91	29	31,82	1,75	0,1082	
Tratamiento	201,06	3	67,02	3,3	0,0718	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	313,22	3	104,41	5,74	0,0061	
Tratamiento*Bloque	182,96	9	20,33	1,12	0,3993	
Variedad	30,79	2	15,4	0,85	0,4452	
Tratamiento*cv	131,33	6	21,89	1,2	0,349	
Bloque* cv	63,54	6	10,59	0,58	0,7398	
Error	327,33	18	18,19			
Total	1250,24	47				

Marzo**Altura**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	32008,46	29	1103,74	16,6	<0,0001	
Tratamiento	25040,68	3	8346,89	53,73	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1717,97	3	572,66	8,61	0,0009	
Tratamiento*Bloque	1398,17	9	155,35	2,34	0,0599	
cv	3598,57	2	1799,29	27,07	<0,0001	
Tratamiento* cv	87,3	6	14,55	0,22	0,9657	
Bloque* cv	165,76	6	27,63	0,42	0,859	
Error	1196,53	18	66,47			
Total	33204,99	47				

Peso fresco del tallo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1502221,12	29	51800,73	3,67	0,0028	
Tratamiento	617270,62	3	205756,87	7,18	0,0092	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	85256,99	3	28419	2,01	0,1483	
Tratamiento*Bloque	257761,77	9	28640,2	2,03	0,0964	
cv	466393,23	2	233196,61	16,51	0,0001	
Tratamiento* cv	25216,18	6	4202,7	0,3	0,9301	
Bloque* cv	50322,34	6	8387,06	0,59	0,7313	
Error	254193,23	18	14121,85			
Total	1756414,35	47				

Macollos

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	932,51	29	32,16	3,23	0,0059	
Tratamiento	352,1	3	117,37	15,1	0,0007	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	363,1	3	121,03	12,14	0,0001	
Tratamiento*Bloque	69,94	9	7,77	0,78	0,6377	
cv	83,51	2	41,76	4,19	0,0521	
Tratamiento* cv	10,74	6	1,79	0,18	0,9789	
Bloque* cv	53,11	6	8,85	0,89	0,5239	
Error	179,47	18	9,97			

Mayo**Altura**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	26536,21	29	915,04	8,22	<0,0001	
Tratamiento	20427,83	3	6809,28	51,08	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1530,29	3	510,1	4,58	0,0149	
Tratamiento*Bloque	1199,79	9	133,31	1,2	0,3539	
cv	2489,29	2	1244,65	11,19	0,0007	
Tratamiento* cv	454,04	6	75,67	0,68	0,6677	
Bloque* cv	434,96	6	72,49	0,65	0,6887	
Error	2002,71	18	111,26			
Total	28538,92	47				

Peso fresco del tallo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1626415,96	29	56083,31	1,84	0,0889	
Tratamiento	851721,85	3	283907,28	17,39	0,0004	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	39376,28	3	13125,43	0,43	0,7334	
Tratamiento*Bloque	146934,63	9	16326,07	0,54	0,8297	
cv	306841,13	2	153420,56	5,04	0,0183	
Tratamiento* cv	166437,57	6	27739,59	0,91	0,5094	
Bloque* cv	115104,51	6	19184,09	0,63	0,7047	
Error	548288,75	18	30460,49			
Total	2174704,71	47				

Macollos

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1076,11	29	37,11	1,08	0,4419	
Tratamiento	259	3	86,33	3,87	0,0496	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	209,71	3	69,9	2,04	0,145	
Tratamiento*Bloque	200,54	9	22,28	0,65	0,7425	
cv	53,14	2	26,57	0,77	0,4762	
Tratamiento* cv	104,91	6	17,48	0,51	0,7937	
Bloque* cv	248,82	6	41,47	1,21	0,3473	
Error	618,3	18	34,35			
Total	1694,42	47				

Tabla 1.2**Altura****1ª Temporada**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	26536,21	29	915,04	8,22	<0,0001	
Tratamiento	20427,83	3	6809,28	51,08	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1530,29	3	510,1	4,58	0,0149	
Tratamiento*Bloque	1199,79	9	133,31	1,2	0,3539	
cv	2489,29	2	1244,65	11,19	0,0007	
Tratamiento* cv	454,04	6	75,67	0,68	0,6677	
Bloque* cv	434,96	6	72,49	0,65	0,6887	
Error	2002,71	18	111,26			
Total	28538,92	47				

2ª Temporada

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	10046,74	29	346,44	9,79	<0,0001	
Tratamiento	6150,63	3	2050,21	15,9	0,0006	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	355,21	3	118,4	3,34	0,0424	
Tratamiento*Bloque	1160,83	9	128,98	3,64	0,0094	
cv	2026,97	2	1013,48	28,63	<0,0001	
Tratamiento* cv	123,53	6	20,59	0,58	0,7404	
Bloque* cv	229,57	6	38,26	1,08	0,4102	
Error	637,26	18	35,4			
Total	10684	47				

Peso seco del tallo**1ª Temporada**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	92347,43	29	3184,39	1,45	0,2084	
Tratamiento	45145,81	3	15048,6	12,51	0,0015	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1044,25	3	348,08	0,16	0,9231	
Tratamiento*Bloque	10822,91	9	1202,55	0,55	0,8223	
cv	18366,79	2	9183,4	4,17	0,0325	
Tratamiento* cv	8764,85	6	1460,81	0,66	0,6801	
Bloque* cv	8202,82	6	1367,14	0,62	0,7114	
Error	39642,73	18	2202,37			
Total	131990,16	47				

2ª Temporada

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	179706,31	29	6196,77	7,84	<0,0001	
Tratamiento	37750,57	3	12583,52	6,04	0,0154	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	10215,08	3	3405,03	4,31	0,0186	
Tratamiento*Bloque	18759,1	9	2084,34	2,64	0,0381	
cv	90465,8	2	45232,9	57,25	<0,0001	
Tratamiento cv	10577,36	6	1762,89	2,23	0,0874	
Bloque* cv	11938,41	6	1989,73	2,52	0,06	
Error	14221,28	18	790,07			
Total	193927,59	47				

Peso seco raíz**1ª Temporada**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	356,23	29	12,28	3,15	0,0067	
Tratamiento	198,04	3	66,01	13,65	0,0011	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	25,72	3	8,57	2,2	0,1231	
Tratamiento*Bloque	43,52	9	4,84	1,24	0,3312	
cv	52,24	2	26,12	6,71	0,0067	
Tratamiento* cv	25,48	6	4,25	1,09	0,405	
Bloque* cv	11,22	6	1,87	0,48	0,8143	
Error	70,1	18	3,89			
Total	426,33	47				

2ª Temporada

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	944,44	29	32,57	7,88	<0,0001	
Tratamiento	161,58	3	53,86	3,42	0,0066	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	96,99	3	32,33	7,82	0,0015	
Tratamiento*Bloque	141,54	9	15,73	3,8	0,0076	
cv	412,04	2	206,02	49,83	<0,0001	
Tratamiento* cv	64,57	6	10,76	2,6	0,0538	
Bloque* cv	67,71	6	11,29	2,73	0,0458	
Error	74,42	18	4,13			
Total	1018,86	47				

Macollos**1ª Temporada**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1076,11	29	37,11	1,08	0,4419	
Tratamiento	259	3	86,33	3,87	0,0496	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	209,71	3	69,9	2,04	0,145	
Tratamiento*Bloque	200,54	9	22,28	0,65	0,7425	
cv	53,14	2	26,57	0,77	0,4762	
Tratamiento* cv	104,91	6	17,48	0,51	0,7937	
Bloque* cv	248,82	6	41,47	1,21	0,3473	
Error	618,3	18	34,35			
Total	1694,42	47				

2ª Temporada

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	10715,44	29	369,5	5,26	0,0003	
Tratamiento	4787,39	3	1595,8	7,91	0,0068	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	577,68	3	192,56	2,74	0,0736	
Tratamiento*Bloque	1816,51	9	201,83	2,87	0,0271	
cv	2102,84	2	1051,42	14,96	0,0001	
Tratamiento* cv	371,66	6	61,94	0,88	0,5281	
Bloque* cv	1059,36	6	176,56	2,51	0,0605	
Error	1265,14	18	70,29			
Total	11980,58	47				

Tabla 1.3**Número de espigas**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	45441,64	29	1566,95	4,81	0,0005	
Tratamiento	11849,88	3	3949,96	3,96	0,0473	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	5159,5	3	1719,83	5,28	0,0087	
Tratamiento*Bloque	8988,38	9	998,71	3,07	0,0206	
cv	9514,7	2	4757,35	14,61	0,0002	
Tratamiento* cv	2693,47	6	448,91	1,38	0,276	
Bloque* cv	7235,72	6	1205,95	3,7	0,0142	
Error	5861,28	18	325,63			
Total	51302,92	47				

Rendimiento

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1721,8	29	59,37	4,69	0,0006	
Tratamiento	590,43	3	196,81	3,76	0,0500	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	246,62	3	82,21	6,5	0,0036	
Tratamiento*Bloque	470,47	9	52,27	4,13	0,005	
cv	90,82	2	45,41	3,59	0,0487	
Tratamiento* cv	119,76	6	19,96	1,58	0,2105	
Bloque* cv	203,7	6	33,95	2,68	0,0486	
Error	227,65	18	12,65			
Total	1949,45	47				

Número de cariopses

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	10639,99	29	366,9	4,22	0,0012	
Tratamiento	475,78	3	158,59	0,5	0,6922	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1742,57	3	580,86	6,69	0,0032	
Tratamiento*Bloque	2860,63	9	317,85	3,66	0,0092	
cv	4086,64	2	2043,32	23,52	<0,0001	
Tratamiento* cv	803,04	6	133,84	1,54	0,2215	
Bloque* cv	671,33	6	111,89	1,29	0,3118	
Error	1563,58	18	86,87			
Total	12203,57	47				

Peso 100 cariopses

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	0,07	29	2,30E-03	5,75	0,0001	
Tratamiento	0,01	3	3,20E-03	2,04	0,1795	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	1,00E-03	3	3,40E-04	0,86	0,4808	
Tratamiento*Bloque	0,01	9	1,60E-03	4	0,006	
cv	0,02	2	0,01	30,36	<0,0001	
Tratamiento* cv	0,02	6	2,50E-03	6,41	0,0009	
Bloque* cv	1,80E-03	6	3,00E-04	0,76	0,6137	
Error	0,01	18	3,90E-04			
Total	0,07	47				

Peso 100 semillas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	4,90E-03	29	1,70E-04	4,44	0,0008	
Tratamiento	3,40E-04	3	1,10E-04	2,97	0,0893	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	3,70E-04	3	1,20E-04	3,21	0,0478	
Tratamiento*Bloque	3,50E-04	9	3,90E-05	1,02	0,462	
cv	3,40E-03	2	1,70E-03	44,36	<0,0001	
Tratamiento* cv	1,70E-04	6	2,80E-05	0,74	0,6233	
Bloque* cv	2,90E-04	6	4,90E-05	1,28	0,3156	
Error	6,80E-04	18	3,80E-05			
Total	0,01	47				

Relaciones hídricas (figura 1.8 y 1.9)

Potencial hídrico en hoja

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1545,16	29	53,28	16	<0,0001	
Tratamiento	1362,81	3	454,27	107,69	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	15,35	3	5,12	1,54	0,2395	
Tratamiento*Bloque	37,96	9	4,22	1,27	0,3189	
cv	46,17	2	23,08	6,93	0,0059	
Tratamiento* cv	66,21	6	11,03	3,31	0,0224	
Bloque* cv	16,67	6	2,78	0,83	0,5594	
Error	59,96	18	3,33			
Total	1605,12	47				

Contenido relativo de agua (RWC)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1920,55	29	66,23	2,73	0,0144	
Tratamiento	225,13	3	75,04	1,58	0,2614	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	260,09	3	86,7	3,58	0,0345	
Tratamiento*Bloque	427,79	9	47,53	1,96	0,1068	
cv	188,26	2	94,13	3,89	0,0395	
Tratamiento* cv	623,49	6	103,92	4,29	0,0074	
Bloque* cv	195,79	6	32,63	1,35	0,2879	
Error	435,97	18	24,22			
Total	2356,51	47				

Potencial osmótico

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	2,65	29	0,09	2,8	0,0127	
Tratamiento	1,21	3	0,4	4,45	0,0354	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	0,26	3	0,09	2,65	0,08	
Tratamiento*Bloque	0,81	9	0,09	2,78	0,0309	
cv	0,04	2	0,02	0,59	0,5632	
Tratamiento* cv	0,23	6	0,04	1,2	0,3519	
Bloque* cv	0,09	6	0,02	0,47	0,8207	
Error	0,59	18	0,03			
Total	3,23	47				

Potencial hídrico en panoja

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	4,01	29	0,14	1,33	0,268	
Tratamiento	0,46	3	0,15	0,99	0,4392	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	0,96	3	0,32	3,09	0,0534	
Tratamiento*Bloque	1,4	9	0,16	1,5	0,2223	
cv	0,37	2	0,19	1,78	0,197	
Tratamiento* cv	0,48	6	0,08	0,78	0,599	
Bloque* cv	0,32	6	0,05	0,51	0,7909	
Error	1,87	18	0,1			
Total	5,88	47				

Tabla 1.4

Na⁺

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	10336,45	29	356,43	10,51	<0,0001	
Tratamiento	7829,01	3	2609,67	21,8	0,0002	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	664,77	3	221,59	6,53	0,0035	
Tratamiento*Bloque	1077,24	9	119,69	3,53	0,011	
cv	207,06	2	103,53	3,05	0,0722	
Tratamiento* cv	424,78	6	70,8	2,09	0,1059	
Bloque* cv	133,6	6	22,27	0,66	0,6852	
Error	610,68	18	33,93			
Total	10947,13	47				

Cl⁻

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	23556,01	29	812,28	6,27	0,0001	
Tratamiento	20168,52	3	6722,84	74,95	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	967,13	3	322,38	2,49	0,0933	
Tratamiento*Bloque	807,3	9	89,7	0,69	0,7075	
cv	344,73	2	172,36	1,33	0,2892	
Tratamiento* cv	719,22	6	119,87	0,93	0,5003	
Bloque* cv	549,11	6	91,52	0,71	0,6487	
Error	2332,18	18	129,57			
Total	25888,19	47				

K⁺

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	11932,74	29	411,47	16,83	<0,0001	
Tratamiento	9807,62	3	3269,21	137,36	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	15,06	3	5,02	0,21	0,8914	
Tratamiento*Bloque	214,21	9	23,8	0,97	0,4923	
cv	1108,91	2	554,45	22,68	<0,0001	
Tratamiento* cv	508,89	6	84,82	3,47	0,0186	
Bloque* cv	278,05	6	46,34	1,9	0,1369	
Error	440,08	18	24,45			
Total	12372,82	47				

K⁺/Na⁺

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	1736,59	29	59,88	13,72	<0,0001	
Tratamiento	1495,48	3	498,49	39,41	<0,0001	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	64,38	3	21,46	4,92	0,0115	
Tratamiento*Bloque	113,84	9	12,65	2,9	0,0261	
cv	10,75	2	5,38	1,23	0,3152	
Tratamiento* cv	32,87	6	5,48	1,26	0,3258	
Bloque* cv	19,27	6	3,21	0,74	0,6277	
Error	78,57	18	4,37			
Total	1815,16	47				

S Na⁺/K⁺

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	51175,85	23	2225,04	1,37	0,2923	
Tratamiento	16181,58	2	8090,79	3,99	0,0492	(Tratamiento*Bloque)
Bloque	9143,01	3	3047,67	1,87	0,1882	
Tratamiento*Bloque	12176,47	6	2029,41	1,25	0,3499	
Cultivar	3362,77	2	1681,38	1,03	0,3857	
Tratamiento*Cultivar	6524,68	4	1631,17	1	0,4442	
Bloque*Cultivar	3787,34	6	631,22	0,39	0,8732	
Error	19541,83	12	1628,49			
Total	70717,68	35				

Capítulo II

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	257992,19	74	3486,38	38,97	<0,0001
Tratamiento	5524,76	3	1841,59	20,58	<0,0001
cv	8266,95	2	4133,48	46,2	<0,0001
Solución	226471,14	6	37745,19	421,88	<0,0001
Repetición	34,1	3	11,37	0,13	0,944
Tratamiento*cv	4824,1	6	804,02	8,99	<0,0001
Tratamiento*Solución	5449,24	18	302,74	3,38	<0,0001
Tratamiento*cv*Solución	7421,9	36	206,16	2,3	0,0001
Error	23351,62	261	89,47		
Total	281343,81	335			

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	896,21	74	12,11	45,48	<0,0001
Tratamiento	14,85	3	4,95	18,59	<0,0001
cv	23,25	2	11,63	43,65	<0,0001
Solución	781,67	6	130,28	489,2	<0,0001
Repetición	0,28	3	0,09	0,35	0,7898
Tratamiento*cv	20,11	6	3,35	12,59	<0,0001
Tratamiento*Solución	22,9	18	1,27	4,78	<0,0001
Tratamiento*cv*Solución	33,14	36	0,92	3,46	<0,0001
Error	69,51	261	0,27		
Total	965,72	335			