

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ESTRÉS OSMÓTICO DURANTE LA GERMINACIÓN, EMERGENCIA Y
DESARROLLO FENOLÓGICO DEL MAÍZ

Tesis

Que presenta ADRIANA CAMPOS FLORES
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

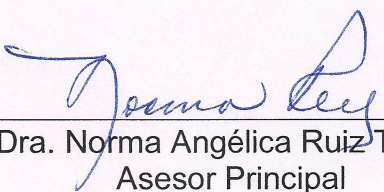
Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

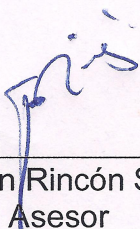
ESTRÉS OSMÓTICO DURANTE LA GERMINACIÓN, EMERGENCIA Y
DESARROLLO FENOLÓGICO DEL MAÍZ

Tesis

Elaborada por ADRIANA CAMPOS FLORES como requisito parcial para
obtener el grado de MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS
con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría




Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal



Dr. Froylán Rincón Sánchez
Asesor



Dr. Celestino Flores López
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

Agradecimientos

A mi “**ALMA MATER**” **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, por haberme cobijado durante la realización de mis estudios profesionales de Ingeniería y hasta este momento a nivel maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por el apoyo otorgado para la realización de esta maestría.

Al núcleo académico de la **MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS**, por brindarme sus conocimientos y experiencias en cada uno de los ámbitos de estudio.

A la **Ph. D. NORMA ANGÉLICA RUIZ TORRES**, primeramente, por haber facilitado el espacio, los materiales y equipos requeridos. Por el tiempo dedicado a la realización del proyecto de investigación, toma de datos y revisión de documento de tesis; gracias a su paciencia y dedicación en cada etapa de los estudios el objetivo ha sido cumplido.

Al **Ph. D. FROYLÁN RINCÓN SÁNCHEZ**, por haber facilitado el material experimental en estudio y su valiosa contribución a este trabajo de investigación.

Al **Dr. CELESTINO LÓPEZ FLORES**, por dedicar parte de su tiempo en la realización de este proyecto.

Al personal del **CENTRO DE CAPACITACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS**, particularmente a la T.A. **Dra. ALMA PATRICIAL GARCIA VILLANUEVA** encargada del laboratorio de servicios, por su apoyo en la realización de este proyecto.

Al **T. L.Q. CARLOS ALBERTO ARÉVALO SANMIGUEL**, por el apoyo y asesoría recibidos durante la determinación del análisis químico proximal de la variedad experimental en este estudio.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
Lista de Cuadros.....	vi
Resumen.....	viii
Abstract	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Origen de la salinidad de los suelos.....	3
La salinidad en México.....	3
Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla.....	4
Efectos en el crecimiento y desarrollo de las plantas.....	5
Estrés hídrico por efecto de las sales.....	6
Desbalance y toxicidad iónica.....	7
Efectos fisiológicos y tolerancia de las plantas a la salinidad.....	8
Absorción y transporte de sales por la planta.....	9
Efecto de la salinidad en el proceso de fotosíntesis.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
Material genético utilizado.....	14
Estudio preliminar.....	14
Estudio I. Ensayo de germinación y vigor en condiciones de estrés salino en laboratorio.....	16
Estudio II. Índice de velocidad de emergencia (IVE).....	19

Estudio III. Evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
Estudio preliminar.....	24
Calidad fisiológica. En el Cuadro 5 se presentan los resultados de ensayo de germinación realizado en laboratorio, para conocer la calidad fisiológica de la semilla. El material utilizado en el estudio presentó 100 % de germinación.....	24
Estudio I. Germinación y vigor en condiciones de estrés salino en laboratorio	25
Estudio II. Índice de velocidad de emergencia (IVE)	30
Estudio III. Evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.....	33
CONCLUSIONES.....	41
LITERATURA CITADA	42

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Potenciales osmóticos en los tratamientos utilizados en el ensayo de germinación y vigor de la semilla.	17
Cuadro 2. Potenciales osmóticos en los tratamientos para determinar el índice de velocidad de emergencia.	19
Cuadro 3. Potenciales osmóticos utilizados para la evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.	21
Cuadro 4. Fechas y condiciones de muestreo en el estudio de la respuesta fisiológica y contenido de clorofila de plantas en invernadero.	21
Cuadro 5. Calidad fisiológica de la semilla de la variedad experimental en el estudio preliminar.	24
Cuadro 6. Caracterización física de la semilla de la variedad experimental de maíz.	25
Cuadro 7. Composición química proximal de variedad experimental de maíz.	25
Cuadro 8. Cuadrados medios de análisis de varianza para variables evaluadas en el estudio de germinación y vigor en laboratorio bajo condiciones de salinidad.	26
Cuadro 9. Comparación de medias para variables de germinación y vigor de la semilla bajo condiciones de laboratorio	28
Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en el estudio del índice de velocidad de emergencia en invernadero, bajo condiciones de salinidad.	30
Cuadro 11. Comparación de medias del análisis de varianza para las variables vigor.	31
Cuadro 12. Cuadrados medios del análisis de varianza para los caracteres de las plantas.	33

Cuadro 13. Medias de tratamientos y etapa fenológica de los caracteres de las plantas en el estudio de salinidad.	34
Cuadro 14. Medias de tratamientos y etapa fenológica de las variables asociadas con la fotosíntesis de plantas en invernadero.	37
Cuadro 15. Medias de tratamientos y etapa fenológica de las variables asociadas con la fotosíntesis de plantas en invernadero.	39

Resumen

ESTRÉS OSMÓTICO DURANTE LA GERMINACIÓN, EMERGENCIA Y
DESARROLLO FENOLÓGICO DEL MAÍZ

POR

ADRIANA CAMPOS FLORES

MAESTRÍA PROFESIONAL EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dra. NORMA ANGELICA RUÍZ TORRES-ASESOR

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

Se estudió el efecto del potencial osmótico en los procesos fisiológicos relacionados con la capacidad de germinación, vigor, desarrollo vegetativo y variables asociadas con la actividad fotosintética en una variedad experimental de maíz amarillo. La investigación incluyó cuatro estudios, llevados a cabo en el Laboratorio de Fisiología de semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas (CCDTS) y en invernadero, ambos pertenecientes a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista Saltillo, Coahuila, México. Estudio preliminar: incluyó un ensayo de germinación de semillas y una caracterización física y análisis bromatológico. Estudio I. Ensayo de germinación y vigor, consistió en la siembra de semillas en papel Anchor humedecido con soluciones salinas ajustadas a diez diferentes potenciales osmóticos (PO) en un rango de -0.125 MPa a -1.250 MPa, usando NaCl y un testigo con agua destilada, posteriormente se colocaron en una cámara de germinación ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) por siete días. El vigor y la capacidad germinación se midieron al cuarto y séptimo día después de la fecha de siembra respectivamente. Estudio II. Índice de Velocidad de Emergencia (IVE) las semillas se sembraron en suelo pesado en un invernadero, al inicio del ensayo se aplicaron siete potenciales osmóticos (-0.25, -0.50, -0.75, -1.0, -1.25, -1.5) y un testigo con agua destilada. La emergencia de plántulas se evaluó por siete días, al medio día y al final la se obtuvo la emergencia total (ET) y el peso de las plántulas (PSP). Estudio III. Se evaluaron los caracteres de la planta y variables fotosintéticas en diferentes etapas fenológicas (en las hojas 5, 8, 12, 16) bajo condiciones de estrés salino en invernadero. Se utilizó un medidor portátil de fotosíntesis (LICOR LI-6400) para determinar la tasa de la asimilación de CO_2 , CO_2 intercelular, conductancia estomática (g_s) y la tasa de transpiración (E).

Los resultados del estudio preliminar mostraron 100% de germinación de la semilla, 10.57 % de proteína, 5.1% de lípidos, 80.92 % de carbohidratos y 1.95 % de contenido de fibra. Estudio I. Los resultados indican que esta variedad de maíz tiene la habilidad de germinar a un PO por encima de -1.00 MPa ($\text{CE} = 18.57 \text{ dSm}^{-1}$), sin que presente una reducción drástica en el número de

plántulas normales. Sin embargo a PO más bajos, la germinación y el vigor de semillas, así como la longitud de plúmula y de la raíz, así como el peso seco, se reducen en una forma dramática. Estudio II. Reducciones en el PO causa una disminución en el índice de velocidad de emergencia (IVE), emergencia total (ET) y peso seco de plántulas (PS); a -1.5 MPa, el IVE se redujo de 6.26 a 0.09, la ET descendió de 100 a 2.66 % y el PS de 214.35 a 51.5 mg plántula⁻¹. Estudio III. La tasa neta de fotosíntesis no cambio al reducirse el PO de la solución, sin embargo, la conductancia estomática bajo cuando las plantas se regaron con soluciones salinas de -3 MPa, esta respuesta sugiere que la anatomía de la hoja cambio, conservando cloroplastos para llevar a cabo la asimilación de CO₂. El Contenido de clorofila bajo 35% cuando un estrés extremo fue aplicado (-3 MPa) pero la hoja pudo mantener la actividad fotosintética.

En general, el potencial osmótico de las soluciones tuvo un efecto negativo en la germinación y vigor, así como en la tasa fotosintética. La reducción en la germinación de las semillas expuestas a condiciones de salinidad es resultado del estrés osmótico o la toxicidad iónica que afectan el metabolismo y la movilización de reservas almacenadas en la semilla. Por otra parte cuando las soluciones salinas son aplicadas en invernadero en plantas con un desarrollo más avanzado, la solución de agua afecto el crecimiento por dos razones: 1) se reduce de la habilidad de la planta para absorber agua y esto conlleva reducciones en la tasa de crecimiento, y 2) Cuando grandes cantidades de sal entran en la planta en el flujo de la transpiración, se va a presentar daño celular que resulta en reducciones en el crecimiento. El daño celular causa una disminución en la cantidad de clorofila. Sin embargo la tasa de asimilación de CO₂ se mantiene.

Palabras clave: Salinidad, germinación, vigor, potencial osmótico

Abstract

OSMOTIC STRESS DURING GERMINATION, PHENOLOGICAL
DEVELOPMENT EMERGENCY AND CORN

BY

ADRIANA CAMPOS FLORES

PROFESSIONAL MASTER IN GRAIN AND SEED TECHNOLOGY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dra. NORMA ANGELICA RUÍZ TORRES-ADVISER

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

The effect of the osmotic potential on the physiological processes related to germination capacity, vigor, vegetative development and variables associated to the photosynthetic activity was studied, in a yellow maize experimental variety. The research included four studies, carried out in the Seed Physiology Laboratory of the Training and Seed Technology Development Center and in the greenhouse at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico. Preliminary Study: Included a seed germination test and a physical and bromatological characterization. Study I. Germination and vigor tests, consisted in planting seeds in germination Anchor paper, wetted with salinity solutions and adjusted to ten different osmotic potentials (OP), ranging from -0.125 to -1.250 MPa using NaCl and a check with distilled water. Thereafter were placed in a growth chamber ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$) for 7 days. Vigor and germination capacity were evaluated 4th and 7th days after the planting date, respectively. Study II. Emergence speed index (ESI). Seeds were planted in a greenhouse in a heavy soil, seven saline solutions treatments (- 0.250, -0.500, -0.750, -1.000, -1.250, -1.500 MPa) and a check (distilled water) were applied once at the beginning of the test. Seedlings emergence was evaluated at midday for seven days, and at the end the total emergence (TE) and the seedlings weight (SWT) were obtained. Study III. The responses of agronomic and photosynthetic variables were evaluated in different phenological stages (at the 5th, 8th, 12th and 16th leaf) under saline stress, in greenhouse conditions. A portable photosynthesis meter (LICOR LI-6400) was used, to determine CO_2 assimilation rate, intercellular CO_2 , stomatal conductance and transpiration rate. Results from the preliminary test showed 100 % seed germination, 10.57 % protein, 5.1 % lipids, 80.92 % carbohydrates and 1.95 % fiber content. Study I. Results indicated that this maize variety has the ability to germinate at a PO above -1.00 MPa ($\text{CE} = 18.57 \text{ dS/m}$), without having a drastic reduction in the number of normal plants. However at lower OP, seed vigor and germination, as well as root and shoot length and dry weight, decreased in a dramatic way. Study II. Decreases in the OP, caused a reduction in the ESI, TE, and SWT; at -1.5 MPa, the ESI dropped from 6.26 (check) to 0.09. The TE descended from

100 to 2.66 % and the SWT from 214.35 to 51.5 mg/seedling. Study III. The net photosynthesis rate did not change with decreasing the OP, however the stomatal conductance dropped when the plants were watered with -3 MPa saline solutions, this response suggests the leaves anatomy changed, conserving chloroplasts to carry out the CO₂ assimilation. The chlorophyll content dropped 35 % when extreme stress was applied (-3 MPa), but it was able to maintain the leaf photosynthetic activity.

In general, the OP solutions had a negative effect in the seed vigor and germination, and in the photosynthetic rate. Germination breakdown in seeds exposed to saline conditions is the result of the osmotic stress or the ion toxicity, affecting the seed metabolism and the mobilization of stored reserves. On the other hand, when saline solutions are applied to greenhouse grown plants, the water solution affects growth for two main reasons: 1). It reduces the ability of the plant to take up water, and this leads to reductions in the growth rate, and 2). When enormous amounts of salt enter the plant in the transpiration stream, there will cause cell damage, resulting also in growth reductions. Cell damage causes a reduction in the amount of chlorophyll, however the CO₂ assimilation rate is constant.

INTRODUCCIÓN

La acumulación de sales en la superficie del suelo ocasiona salinización y sodicidad. Ambos procesos son ejemplo de la degradación de los suelos, los cuales presentan cambios físico-químicos que restringen en gran medida la producción agrícola. Con base en el mapa mundial de suelos FAO/UNESCO (1970-1980), se estima que a nivel mundial, aproximadamente 397 millones de hectáreas de suelos son salinos y 434 millones de hectáreas corresponden a suelos sódicos, en México, el área afectada por salinidad es aproximadamente de 1.6 millones de hectáreas (FAO, 1988).

La mayoría de las especies comestibles de granos y vegetales son muy susceptibles a la salinidad del suelo (glicofitas), aun cuando la conductividad eléctrica sea menor de 4 dS/m. Dicha situación limita en gran medida la producción agrícola y por ende pone en riesgo la seguridad alimentaria. Dentro de las especies susceptibles más cultivadas a nivel mundial, se encuentra el maíz.

En México el maíz se cultiva extensamente, bajo una amplia gama de condiciones ambientales, y es un producto importante para la industria de alimentos, tanto para consumo humano como animal. Por tal motivo es de considerarse como un rubro importante para la producción y comercialización de semillas, mismas que deben garantizar el rendimiento del cultivo. En consecuencia es importante identificar genotipos tolerantes a condiciones adversas, el estrés salino e hídrico. Por ello se realizó la presente investigación, donde se evaluó el comportamiento de la germinación de semillas, el vigor plántulas y el desarrollo fenológico de una variedad experimental de maíz amarillo, a diferentes potenciales osmóticos simulados con NaCl, con los siguientes objetivos e hipótesis:

Objetivos

- Determinar el efecto del estrés salino en los caracteres de la germinación y vigor de la semilla.
- Determinar el índice de velocidad de emergencia a diferentes niveles de salinidad.
- Determinar los efectos del estrés osmótico en los caracteres de la planta y la respuesta fotosintética, en diferentes etapas fenológicas en plantas de una variedad experimental de maíz amarillo.

Hipótesis

La presión osmótica determina el nivel de actividad fisiológica y metabólica, durante los procesos germinativos y de desarrollo de las plantas de maíz.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen de la salinidad de los suelos

La salinidad es el resultado de procesos naturales y/o antropogénicos que contribuyen en menor o mayor grado a la acumulación de sales sobre la superficie de los suelos. El contenido de sal en el suelo está definido en primera instancia por el material parental que lo compone, al cual se adicionan sustancias acarreadas por el agua de los mantos freáticos superficiales y el viento. Por otro lado, el empleo de aguas subterráneas para la irrigación aporta sales solubles como el sodio, calcio, magnesio, potasio, sulfatos y cloruros, que se acumulan excesivamente tras la evaporación cuando estos no son lixiviados o no se tiene un drenaje adecuado (Mata-Fernández *et al.*, 2014). En este mismo sentido, Maathuis (2014) refiere que la salinización puede surgir por causas naturales, tales como la geología local o la proximidad a zonas costeras, o por actividades del hombre, por ejemplo, mediante el uso de agua salada para riego. Aunque la mayoría de los suelos salinos contienen altas concentraciones de Na^+ y Cl^- , a menudo presentan altas cantidades de otros compuestos inorgánicos como el calcio (Ca^{2+}), sulfato (SO_4^{2-}) y bicarbonato (HCO_3^-). Por su parte Rengasamy (2006), clasificó la salinidad en tres tipos con base en los procesos del suelo y las aguas subterráneas que se encuentran en todo el mundo: aguas subterráneas de la salinidad asociada, salinidad transitoria y la salinidad de irrigación. Señalando que estas son distintas a la clasificación normal de salinidad primaria y salinidad secundaria o suelos salinos y sódicos.

La salinidad en México

De acuerdo con lo expuesto por Mata-Fernández *et al.* (2014), el problema de la salinización de los suelos se incrementa cada vez más, sobre todo en las zonas de riego, en las que el área afectada en diferente grado por este problema es

de 600 mil hectáreas, de las cuales 300 mil presentan rendimientos deficientes o han sido abandonadas.

La mayoría de las plantas de importancia económica son sensibles en menor o mayor grado a condiciones de salinidad, algunas especies y/o variedades presentan tolerancia a las condiciones de salinidad del suelo. Dicha tolerancia salina puede variar, no solo entre especies y/o variedades, sino también a lo largo de las fases de desarrollo de las plantas. La habilidad relativa de las plantas para producir rendimientos satisfactorios o sostenerse en suelos salinos brinda una oportunidad para su establecimiento en suelos afectados por sales. Existe una clasificación generalizada que agrupa a las plantas en halófilas y glicófitas. Dentro de las especies glicófitas se tiene al maíz (*Zea mays* L.), el cual es la base de la alimentación de la población mexicana.

Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla

El efecto de las sales comienza a manifestarse desde la germinación de las semillas, reflejada en la retención, emergencia no uniforme y desolación que se observa en los suelos salinizados, debido principalmente a la poca disponibilidad de agua para la imbibición, la cual es la primera etapa del proceso de germinación.

Estudios realizados por diversos autores (Argentel y González, 2006; Franca *et al.*, 2007; Argentel *et al.*, 2010; Nicasio *et al.*, 2011), evidencian la existencia de variabilidad intraespecífica en varias especies y variedades, respecto de la tolerancia que presentan los genotipos a las condiciones de salinidad durante el proceso de imbibición.

La segunda etapa del proceso de germinación corresponde al rompimiento de las estructuras; en esta etapa tienen lugar fundamentalmente los procesos físico-químicos, los cuales pueden verse afectados e incluso inhibidos a altas concentraciones de sales, aun cuando se ha iniciado el proceso de germinación con la imbibición (González, 2001).

Algunos autores (Camejo y Torres, 2000; Meza *et al.*, 2004) refieren que bajo condiciones de salinidad existe cambio en la dinámica de germinación,

observándose incremento en el tiempo para que se dé la máxima velocidad de germinación de diferentes cultivos. El periodo de germinación se prolonga conforme se incrementa la concentración de sal y el porcentaje de germinación final se verá afectado debido a tal situación.

Por otro lado Kaya *et al.* (2008), menciona que el estrés por salinidad (NaCl) no afecta la frecuencia de germinación en semillas de genotipos de garbanzo, aunque la interacción del tamaño de la semilla y la concentración de sal da como resultado un menor crecimiento de las plántulas dentro de un mismo genotipo.

Con respecto a la germinación de semillas de maíz (Layne *et al.*, 2008; Akram *et al.*, 2010), dieron a conocer la existencia de diferencias en la respuesta a salinidad entre genotipos. Estos autores señalan que algunos genotipos presentan mayor susceptibilidad bajo esta condición de estrés, lo cual repercute en un menor porcentaje de germinación conforme se incrementa la concentración de sal.

Al respecto, Layne *et al.* (2008) comentan que el empleo de NaCl para simular diferentes potenciales osmóticos, permite discriminar entre genotipos en relación a la germinación. Sin embargo, un alto porcentaje de germinación bajo condiciones de estrés, no es un parámetro que pueda asegurar que el genotipo en cuestión presente la misma tolerancia en etapas posteriores del crecimiento. Bajo este punto de vista, conviene no solo evaluar la respuesta de los genotipos a la salinidad durante la germinación, sino ir más allá para conocer la capacidad de estos en etapas subsecuentes.

Efectos en el crecimiento y desarrollo de las plantas

Siguiendo al proceso de la germinación, comienza el desarrollo de las plántulas. Esta fase es mucho más afectada bajo condiciones de estrés salino, aun a menores concentraciones de sal en el sustrato.

González (2001) menciona que el retraso en la división y diferenciación celular causado por las altas concentraciones de sal en el sustrato en el que las plántulas se desarrollan, limita su crecimiento. Aseverando que el crecimiento

de las plántulas no es afectado directamente por procesos relacionados con la hidrólisis de las sustancias de reservas de la semillas, más bien puede ser debido a la acumulación de hidrolizados, lo cual sugiere que la causa de esta reducción del crecimiento está relacionada con la disminución de los procesos de síntesis.

Por su parte Leidi y Pardo (2002), consideran que para hacer frente al estrés por salinidad, las plantas activan mecanismos de adaptación los cuales se reflejan fenotípicamente con un menor crecimiento, modificación de la relación parte aérea/raíz, y la limitación de la expansión foliar.

En este mismo sentido Chaves *et al.* (2009), refieren que el estrés salino causa inhibición de la elongación celular, desorganización de las membranas y afectaciones en el proceso de fotosíntesis.

Por su parte Läuchli y Grattan (2007), mencionan que la mayoría de las plantas de cultivo son tolerantes a la sal en la germinación, pero sensibles a esta durante la emergencia y el desarrollo vegetativo. Además, señalan que la fase de desarrollo reproductivo es considerada menos sensible al estrés salino que el crecimiento vegetativo, aunque en especies como en el trigo, el estrés salino puede acelerar crecimiento reproductivo, inhibir el desarrollo de la espiga y disminuir el potencial de rendimiento. En contraste el arroz es más sensible, pues se asocia el bajo rendimiento principalmente con la reducción de los macollos, y por espiguillas estériles en algunos cultivares.

Estrés hídrico por efecto de las sales

El balance hídrico de las plantas se ve afectado por el exceso de sales en la solución del suelo, lo cual baja el potencial osmótico. Para mantener un gradiente entre el suelo y las hojas, que permita continuar con la absorción de agua, la planta debe generar un potencial hídrico mucho más negativo que el de la solución del suelo.

Al respecto Barkla *et al.* (2007), mencionan que el agua como principal componente de células y tejidos, así como la manera en que se regula la entrada y salida, debe ser uno de los aspectos más importantes de la fisiología

de los organismos para explicar el uso eficiente del agua. Cuando la disponibilidad de agua en el medio cambia, las plantas sufren una alteración en el potencial osmótico. Estímulos como la sequía y la salinidad, así como incrementos en la síntesis del ácido abscísico (ABA), el cual está relacionado con la percepción del estrés osmótico, causan cambios en la expresión de genes relacionados con los mecanismos de transporte de solutos y agua presentes en las membranas de las células. Para balancear estos cambios, las células vegetales deben poseer mecanismos que les permitan controlar la actividad y/o expresión de los diferentes mecanismos de transporte de solutos y agua.

El estrés osmótico generado por el estrés salino así como por los efectos del estrés hídrico, influyen directamente en el metabolismo de las plantas y por consiguiente en su crecimiento y desarrollo, lo que reduce el rendimiento agrícola de los cultivos. Desde un punto de vista agronómico, la salinidad se expresa en términos de conductividad eléctrica (CE), la cual indica la velocidad con la que la corriente eléctrica atraviesa una solución salina, siendo esta proporcional a la concentración de sales en la solución. La CE se mide en milimhos por centímetro cúbico (mmhos/cm^3) también conocida como decism (dSm^{-1}).

Desbalance y toxicidad iónica

Munns y Tester (2008) hacen referencia a los mecanismos fisiológicos y moleculares de la tolerancia a los componentes osmóticos e iónicos de estrés por salinidad, ya que puede darse en dos fases: fase rápida, osmótica que inhibe el crecimiento de las hojas jóvenes, y otra fase más lenta, iónica que acelera la senescencia de las hojas maduras.

De acuerdo con Munns y Matthew (2015), el estrés puede ser definido en términos de costos de energía; dado que el estrés que se produce cuando se reduce la cantidad de energía adquirida por las plantas (debido a una reducción en la tasa fotosintética o área de la hoja) y/o cuando la energía se redistribuye desde crecimiento en defensa del estrés y afectando la transferencia de fotosintatos de la fuente al vertedero. Bajo condiciones de estrés salino, la

mayor parte de la energía disponible es utilizada en los procesos necesarios para el mantenimiento de la biomasa; transporte de proteínas, síntesis de lípidos e hidratos de carbono, el mantenimiento de gradientes iónicos y la ganancia de nutrientes. El crecimiento también requiere de la inversión de energía, ya sea para la acumulación de biomasa o rendimiento del grano, por lo que el requerimiento de energía dependerá de la etapa de desarrollo de la planta.

Lo anterior pone de manifiesto que el costo de mantenimiento se relaciona con la etapa de desarrollo de la planta. Además, la sensibilidad de las plantas a las sales cambia durante el desarrollo fenológico, dependiendo de la especie, el cultivar y factores ambientales (Munns, 2002). El mismo autor concluye que el costo es mayor cuanto mayor es la planta; por lo que, la ganancia de energía total disminuirá con mayor salinidad, pudiendo inducir el cierre de estomas siguiendo la disminución de la tasa fotosintética y daños a la maquinaria celular y fotosíntesis.

Efectos fisiológicos y tolerancia de las plantas a la salinidad

Roy *et al.* (2014) mencionan que la salinidad causa diferentes efectos en las plantas, por lo que presentan diferentes mecanismos de tolerancia a este tipo de estrés. Dichos mecanismos se pueden clasificar en tres categorías: en primer lugar la tolerancia osmótica, en segundo plano la exclusión de iones y finalmente la tolerancia del tejido. Sin embargo, se sabe muy poco o nada acerca de la tolerancia osmótica, que está relacionada con la minimización de los efectos sobre la reducción de crecimiento de los brotes, y puede estar relacionado con los mecanismos de detección y señalización aún desconocidos. Leidi y Pardo (2002) indican que los mecanismos de adaptación se reflejan fenotípicamente como un menor crecimiento, modificación de la relación parte aérea/raíz, limitación de la expansión foliar, y son consecuencia de cambios bioquímicos (síntesis de ácido abscísico y solutos osmoprotectores) y fisiológicos (alteración de la permeabilidad de las membranas a los iones y al agua, cierre estomático, disminución de transpiración y fotosíntesis). La

respuesta adaptativa está gobernada por señales moleculares que regulan la relación con el medio externo (por ejemplo, cambios en la actividad de canales y transportadores de membranas) y por la activación y transcripción de genes entre cuyos efectos está la modificación de rutas biosintéticas que resulta en ajuste osmótico y la protección de las estructuras celulares.

De acuerdo con Chaves *et al.* (2009), la respuesta fotosintética a la sequía y el estrés salino es muy compleja. Se trata de la interacción de las limitaciones que tienen lugar en diferentes sitios de las células de la hoja y en diferentes escalas de tiempo en relación con el desarrollo de la planta.

Absorción y transporte de sales por la planta

De acuerdo con Leidi y Pardo (2002), el flujo de agua dentro de la planta es provocado por la transpiración foliar, lo cual promueve el movimiento de sales desde las raíces hasta las hojas. Los solutos presentes en la solución del suelo entran en las raíces, siguiendo el flujo transpiratorio, se mueven por el apoplasto, y una vez que atraviesan la membrana de una célula radical, el transporte continúa por el simplasto hasta alcanzar el xilema. Aunque en teoría, el movimiento de iones por el apoplasto se interrumpe en la endodermis, debido a la impermeabilidad de las paredes celulares (banda de Caspary) que impiden el libre flujo.

Al respecto Mata-Fernández *et al.* (2014), mencionan que uno de los mecanismos de respuesta a la salinidad es la exclusión de sales desde las raíces hasta la parte superior, para lo cual es necesario disminuir la permeabilidad selectiva de la membrana a los iones sodio y cloruro. La permeabilidad diferencial de la célula vegetal depende de un balance (normalmente alrededor de 10:1) entre cationes monovalentes como el K^+ y Na^+ y bivalentes, principalmente Ca^{2+} . Por lo tanto, el ión Ca^{2+} , puede actuar como un agente protector de la membrana, garantizando su impermeabilidad a elevadas concentraciones exteriores de NaCl (50 mM o más). Sin embargo, esto solo es posible siempre que exista suficiente Ca^{2+} en el medio radical.

Por su parte Roy *et al.* (2014), mencionan que uno de los principales mecanismos de tolerancia que presentan las plantas en respuesta al estrés corresponde a la “fase iónica”, la cual les permite reducir la toxicidad mediante la acumulación de iones tóxicos en las láminas de las hojas (exclusión de Na^+ y Cl^-), y/o mediante el aumento de su capacidad para tolerar las sales que se han dejado de excluir, compartimentándolas a nivel celular e intracelular.

Koyro (2006) menciona que las plantas presentan mecanismos para la regulación osmótica por solutos orgánicos. Estudios realizados por este autor en *Plantago coronopus* L., mostraron abundancia de azúcar (alcohol) sorbitol en la mayoría de los órganos, sugiriendo que dicho azúcar sirve como soluto compatible y osmoprotector a varios niveles de salinidad en la zona radicular.

Efecto de la salinidad en el proceso de fotosíntesis

De acuerdo con Gutiérrez-Rodríguez *et al.* (2005), existen factores externos e internos que pueden regular en mayor o menor grado el proceso de fotosíntesis. Los primeros se refieren a las condiciones ambientales, mientras que los internos son la actividad enzimática, el contenido de clorofila y su duración activa (verdor en las hojas por más tiempo). Así mismo la interacción entre el medio externo (suelo, disponibilidad de agua) y el metabolismo de la planta, como el balance nutricional y el estatus hídrico son elementos que influyen en este proceso.

Koyro (2006) determinó que la salinidad impone cuatro principales limitaciones en la fisiología de las plantas relacionados con el intercambio de gases de la hoja, la relación agua, relación de iones y ajuste osmótico. Respecto al intercambio de gases, particularmente la fotosíntesis es fuertemente afectada por la salinidad (NaCl) y esto se relaciona con la conductancia estomática. El rendimiento cuántico y la respiración oscura disminuyen, lo cual puede reflejar un aumento relativo de procesos alternativos para el consumo de electrones. Así mismo se incrementa la proporción de carotenoides/clorofila y de la relación de la tasa de fotosíntesis neta y transpiración que conduce a una reducción del

flujo de electrones a través de los fotosistemas (reducción de la eficiencia fotosintética, en conjunto para disminuir el riesgo de la fotoinhibición).

De acuerdo con lo expuesto por Munns (2002), existe similitud entre los efectos que causan tanto el estrés hídrico, como el salino y ambos tienen un efecto reductor en el proceso de fotosíntesis. La salinidad afecta de diferentes maneras el crecimiento de la planta. En primera instancia el crecimiento es reducido debido al efecto osmótico de la sal en la solución del suelo, y produce una serie de efectos idénticos a los de estrés hídrico. Más tarde la acumulación de sal en las hojas puede ocasionar un efecto tóxico y promover la senescencia prematura de las hojas. Esto reducirá la cantidad de asimilados que la planta puede producir, y una reducción en el transporte de asimilados a los tejidos en crecimiento, lo cual limita aún más el crecimiento. La segunda fase de respuesta durante el crecimiento, es en la que se observa claramente la capacidad de las especies y genotipos de tolerar suelos salinos. En conclusión, el crecimiento se limita principalmente por estrés osmótico, pero en especies que tienen una alta tasa de absorción de sal, o no la compartimentan eficazmente en vacuolas, con el tiempo verán afectados sus procesos metabólicos. Esto debido a que la sal impone una tensión adicional en la planta mediante una falla en la capacidad para producir fotoasimilados. El estrés hídrico inducido principalmente por la sal disminuye el potencial hídrico y potencial osmótico de la hoja. Tales condiciones de estrés provocan una disminución transitoria de los principales iones esenciales. Dicho estrés controla el intercambio de gases en las hojas, mientras que la carga de sal y el desequilibrio de iones no causan daños irreversibles al aparato fotosintético.

Sudhir y Murthy (2004) mencionan que el estrés por sales tiene varios efectos sobre los procesos fisiológicos de las plantas, como aumento de la tasa de respiración, toxicidad de iones, cambio en el crecimiento de las plantas, la distribución de los minerales, la inestabilidad de la membrana resultado del desplazamiento del calcio por el sodio, la permeabilidad de la membrana y la reducción de la eficiencia fotosintética.

De acuerdo con James *et al.* (2002), el indicador más sensible de estrés por salinidad es la conductancia estomática (g_s), seguido de asimilación de CO_2 . En este mismo sentido, Delfine *et al.* (1999) mencionan que la reducción en la conductancia estomática y mesófilo disminuye la concentración de CO_2 del cloroplasto en hojas de plantas bajo condiciones de salinidad, lo cual causa la inhibición de la fotosíntesis. Sin embargo esta no está asociada con cambios en la capacidad bioquímica y fotoquímica.

El control de la apertura estomática (conductancia), es consecuencia de la interacción de diferentes factores, pero el mantenimiento de la turgencia así como la concentración de CO_2 en el mesófilo de la hoja y las variaciones climáticas diurnas, resultan esenciales. Así, los estomas se abren cuando el suministro de agua es abundante y la demanda de CO_2 en el mesófilo es elevada, y viceversa. Pero ambos aspectos no siempre se presentan simultáneamente y la necesidad de fijar CO_2 puede ser coincidente con la de retener agua, complicando el proceso (Agustí, 2004).

Flexas *et al.* (2004) mencionan que el estrés por sequía y salinidad afectan la actividad fotosintética de las plantas C3. Principalmente la difusión de CO_2 por la hoja, debido a la disminución de la conductancia estomática y del mesófilo, pero no la capacidad bioquímica de asimilar CO_2 , en menor a mayor nivel de estrés.

Diversos estudios (Ashraf y Humera, 2001; Yang y Lu 2005), muestran que existen diferencias significativas en relación a la tasa de fotosíntesis entre especies tolerantes y no tolerantes a la salinidad; la conductancia estomática se ve reducida debido al estrés salino en ambas. Sin embargo, no presenta correlación significativa con la tasa de asimilación. Las especies tolerantes presentan una tasa de asimilación alta y mayor eficiencia en el uso del agua aunque no existe significancia de la tolerancia con respecto a la conductancia estomática, potencial de agua o tasa de transpiración de la hoja.

En relación a los factores internos que regulan el proceso de fotosíntesis, el cual se realiza en las plantas a través del funcionamiento de la clorofila, que es

el pigmento que forma un complejo lipo-proteínico con los estromas de los cloroplastos (González, 2001).

El proceso de fotosíntesis, inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila a, b y carotenoides) de los complejos antena de la membrana fotosintética y continúa con la distribución de la energía en tres procesos simultáneos: una parte es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer el trabajo químicamente útil y la otra parte es disipada principalmente como calor y en menor grado re-emitada como energía luminosa (González *et al.*, 2008).

Argentel *et al.* (2009) mencionan que la acumulación de Na⁺ en el tejido foliar del trigo presenta una correlación negativa con el contenido de clorofila. Dicha reducción puede ser atribuida a la interferencia nutricional que se da cuando la conductividad eléctrica alcanza 12 dS.m⁻¹.

La salinidad afecta cada aspecto de la fisiología y metabolismo de las semillas y la planta. Algunas especies y/o variedades de plantas poseen la habilidad para producir rendimientos satisfactorios o sostenerse bajo estas condiciones; denominada tolerancia a la salinidad. La identificación de genotipos tolerantes puede ayudar tanto en la recuperación de áreas de cultivo subutilizadas, como en los rendimientos en aquellas zonas donde la salinidad es un factor limitante de la producción agrícola. Por lo tanto, la evaluación de las variables relacionadas con la respuesta fisiológica a este tipo de estrés cobra gran importancia para la documentación e identificación de genotipos adaptados a suelos salinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación consistió en el establecimiento de cuatro estudios: Estudio preliminar: Calidad fisiológica, caracterización física y composición química proximal; Estudio I. Ensayo de germinación y pruebas de vigor en laboratorio; Estudio II. Índice de Velocidad de Emergencia (IVE) en invernadero; Estudio III. Evaluación de la respuesta de la planta de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.

Material genético utilizado

Se utilizó semilla de una variedad experimental de grano amarillo, adaptada a la región sureste del estado de Coahuila, resultante de diversas estrategias de manejo y selección. La variedad experimental fue obtenida a partir de selección de familias segregantes de la cruce entre pool 33 x pool 34 provenientes del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

Estudio preliminar

La elección de un genotipo y/o variedad de maíz para su establecimiento y explotación en una determinada región, está fuertemente influenciada por las preferencias de los productores; quienes eligen entre los distintos tipos de maíz los que mejor se adapten a las condiciones de su parcela, pero también por las características de los alimentos que con este se elaboran. También, es importante determinar y documentar los atributos asociados con la calidad, como la densidad, el tamaño y color de grano e índice de flotación. Por tal motivo, y al carecer de la información relacionada con las características físico-químicas, se consideró la determinación de las características físicas y atributos sobresalientes, composición química proximal y calidad industrial (dureza), como estudios complementarios en la presente investigación.

Calidad fisiológica: se determinó mediante la prueba germinación estándar (ISTA, 2009), con algunas modificaciones. El ensayo consistió de tres repeticiones de 25 semillas colocadas entre dos hojas de papel Anchor húmedo, enrolladas en forma de tacos, y posteriormente llevados a la cámara de germinación a una temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por siete días, con 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad. Las variables evaluadas consistieron del primer conteo de las plántulas normales (plúmula y radícula emergida con una relación de dos veces, el tamaño de la semilla), considerando este valor como un índice de vigor, y en el segundo se realizó la clasificación de las plántulas con base en lo siguiente:

Plántulas normales (PN). Trascurridos siete días del establecimiento del ensayo se clasificó a las plántulas considerando normales a aquellas que presentaron las siguientes estructuras esenciales: sistema radicular bien desarrollado, incluyendo raíz primaria, plúmula intacta con desarrollo vigoroso y balanceado.

El número de plántulas normales se consideró como la germinación (G), la cual expresa el porcentaje final de semillas que germinaron (PN) con relación al número total de semillas sembradas (Ss).

$$G = (PN / Ss) \times 100\%$$

Plántulas anormales (PA). Las que presentaron algún defecto en sus estructuras esenciales, lo que les impide lograr un desarrollo normal.

Semillas sin germinar (SSG). Son consideradas las semillas que no germinaron por razones propias de la semilla.

Caracterización física. Se realizó en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se determinaron los atributos físicos: largo, ancho y espesor, midiendo con una regla milimétrica; determinación del volumen por el método de gravedad específica (desplazamiento del agua), se colocaron 100 granos en una probeta graduada, realizándose 8 repeticiones, tomando el valor promedio; índice de dureza, se determinó de acuerdo a la metodología propuesta en la norma mexicana para maíz blanco destinado al proceso de nixtamalización (SE, 2002).

Composición química proximal. Las determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Nutrición de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se utilizó el manual establecido por el laboratorio para análisis proximales, con base en las técnicas utilizadas como estándar a nivel internacional (AOAC, 1984).

Ajuste de los potenciales osmóticos (PO): se utilizó cloruro de sodio (NaCl) como fuente de sal para simular diferentes PO, agregando una cantidad en gramos de cloruro de sodio grado reactivo en un litro de agua de acuerdo a la concentración molal requerida para obtener el potencial osmótico deseado. Los PO en MPa se ajustaron siguiendo la relación empírica de Vant`Hoff (Salisbury y Ross, 1992), de acuerdo con la fórmula: $\Psi_o = -CiRT$, donde; Ψ_o = potencial osmótico; C = concentración de la solución (moles de soluto por Kg de H₂O); i = 1.8 constante de ionización del NaCl; R = constante de los gases (0.0831 Kg, bar mol⁻¹, K⁻¹) y T = temperatura absoluta (°K).

Estudio I. Ensayo de germinación y vigor en condiciones de estrés salino en laboratorio

El ensayo de germinación y vigor se estableció en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas

(CCDTS), perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se procedió a sembrar tres repeticiones de 25 semillas en hojas de papel anchor (tacos), previamente humedecidas con soluciones salinas de NaCl, ajustadas a diez potenciales osmóticos, las cuales se aplicaron de acuerdo al tratamiento correspondiente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Potenciales osmóticos en los tratamientos utilizados en el ensayo de germinación y vigor de la semilla.

Potencial osmótico(Mpa)	Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)
Testigo	0.002
-0.125	2.680
-0.250	5.110
-0.375	7.520
-0.500	9.790
-0.625	12.070
-0.750	14.250
-0.875	16.460
-1.000	18.570
-1.250	22.800

Una vez realizada la siembra se procedió a colocar los tacos en canastas plásticas, acomodadas de manera aleatoria en la cámara de germinación Maca Termo Scientific, modelo Precision con temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), un periodo de 16 horas oscuridad y fotoperiodo de 8 horas de luz. Se mantuvieron en esas condiciones por un periodo de 7 días. Se consideró a cada uno de los tacos como una unidad experimental (25 semillas/taco). Las variables evaluadas fueron: Germinación ($G=PN/Ss$); número de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG). Cabe señalar que para este ensayo, la clasificación se realizó considerando únicamente las diferencias fenotípicas entre plántulas dentro de cada unidad experimental y

no entre tratamientos, esto debido a que las condiciones de germinación variaron de acuerdo con la concentración de NaCl en el agua de riego.

Vigor: En este estudio se determinó la tasa de crecimiento y acumulación de materia seca para lo cual, se separaron todas las plántulas normales de cada tratamiento y se midió la longitud de plúmula (LP) y radícula (LR), desde la base del mesocotilo hasta la parte apical, registrándose el dato en milímetros. Para la determinación de peso seco de plúmula (PSP) y peso seco de radícula (PSR), se procedió a separar los segmentos de plúmula de la radícula y se colocaron en bolsas de papel estraza, se llevaron a una estufa de secado a una temperatura de 75 °C durante 24 horas, para deshidratar completamente el material vegetativo. Pasadas las 24 horas el material se pesó usando una balanza de precisión y se registraron los datos en miligramos por plántula (mg planta^{-1}).

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente aleatorio con diez tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental consistió de un taco con 25 semillas. El análisis de los datos se realizó a través de un análisis de varianza y la comparación de tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) (SAS Institute, 2004). Se utilizó el Modelo lineal: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$; donde: Y_{ij} =Variable observada; μ =media general; α_i = concentración de NaCl; ε_{ij} = Error experimental.

Estudio II. Índice de velocidad de emergencia (IVE)

El índice de velocidad de emergencia como estimador de vigor fue propuesto por Maguire (1962), en donde se cuenta el número de plántulas emergidas diariamente hasta la emergencia total bajo condiciones específicas. En este estudio, las semillas se sembraron en un suelo de textura pesada, previamente regado con soluciones salinas a diferentes concentraciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Potenciales osmóticos en los tratamientos para determinar el índice de velocidad de emergencia.

Potencial osmótico (Mpa)	Conductividad eléctrica (dSm ⁻¹)
Testigo	0.002
-0.250	5.110
-0.500	9.790
-0.750	14.250
-1.000	18.570
-1.250	22.800
-1.500	26.800

La siembra se realizó en una cama de concreto forrada con plástico de 2.98 × 0.98 × 0.28 m de largo, ancho y alto, respectivamente. Se dividió en 7 segmentos correspondientes a los tratamientos, formando camas individuales de 32 cm en las que se colocaron 20 cm de suelo (textura pesada) aislándolas con plástico y fibra de vidrio. Cada una de las camas se regó con la solución de NaCl, correspondiente a cada uno de los tratamientos, ubicados aleatoriamente. Dicho riego se realizó 24 horas antes de la siembra para asegurar la homogeneidad de la infiltración. La siembra se realizó en surcos de 25 semillas a 1 cm de profundidad, con una distancia de 3.5 cm entre plantas y 5 cm entre surcos, y tres repeticiones por tratamiento (cada surco se consideró como una unidad experimental).

La determinación del IVE consistió en conteos diarios del número de plántulas emergidas, para mayor precisión de la prueba, los conteos se realizaron a la

misma hora. Una vez transcurridos siete días en los que se llevó a cabo el conteo diario de plántulas emergidas, se procedió a realizar el cálculo de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$IVE = \frac{\text{No. de plántulas emergidas al conteo } i - \text{ésimo}}{\text{No. de días desde la siembra al conteo } i - \text{ésimo}}$$

La determinación del porcentaje de emergencia total (ET), se realizó tomando en cuenta el número de plantas totales emergidas en el último conteo, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% E = \frac{\text{Plantulas emergidas en el ultimo conteo}}{\text{No. de semillas sembradas}} 100$$

Diseño experimental y análisis de resultados

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al aleatorio con siete tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental consistió de un surco con 25 semillas. El análisis de los datos se realizó a través de un análisis de varianza; y la comparación de tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey (SAS Institute, 2004). Se utilizó el modelo lineal: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$.

Estudio III. Evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero

Se estableció el cultivo de maíz en bolsas plásticas de polietileno con capacidad de 10 L, las cuales fungieron como macetas. Como sustrato se utilizó una mezcla de perlita, vermiculita y peat moss en una relación 1:0.5:0.25. En cada maceta se sembraron tres semillas de la variedad experimental y dos semanas después de la emergencia se realizó un raleo para dejar una sola planta. Se aplicó riego de forma manual, aplicando el mismo volumen para cada maceta; los primeros riegos se realizaron con agua potable y a las dos semanas de la

emergencia de las plántulas se inició la aplicación de soluciones salinas ajustadas a los potenciales osmóticos correspondientes a los tres tratamientos en estudio y agua potable para el control (Cuadro 3). Además, durante todo el ciclo se llevaron a cabo las labores culturales correspondientes: fertilización, control de plagas y aporque, para evitar condiciones de estrés que pudieran influir en los resultados.

Cuadro 3. Potenciales osmóticos utilizados para la evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.

(Mpa)	dSm ⁻¹
Testigo	0.002
-1.00	18.570
-2.00	34.500
-3.00	48.800

Las determinaciones de los caracteres de la planta y la respuesta fisiológica consistieron de cuatro muestreos durante el ciclo de vida del cultivo, los cuales se iniciaron tres semanas posteriores a la emergencia de las plántulas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Fechas y condiciones de muestreo en el estudio de la respuesta fisiológica y contenido de clorofila de plantas en invernadero.

Etapa fenológica (número de hoja)	Fecha de muestreo	Temperatura de la hoja (°C)	RFA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
H5	29 de Julio	31.18	199.79
H8	13 de agosto	31.75	250.25
H12	7 de septiembre	30.14	269.80
H16	24 de septiembre	30.10	260.20

RFA=Radiación fotosintéticamente activa

Con la finalidad de conocer las posibles diferencias en el desarrollo de la planta en los diferentes niveles de salinidad, en cada una de las etapas fenológicas se determinaron los caracteres: altura de la hoja (AH) y diámetro de tallo (DT) para lo cual se midió la distancia existente entre la superficie del sustrato y la base de la hoja evaluada. El diámetro se obtuvo con un vernier, tomando esta medida justo en la base de la hoja correspondiente a cada etapa fenológica (Cuadro 4). Al término del ciclo vegetativo se procedió a separar el vástago (tallo y hojas) de la raíz, y se depositaron en bolsas de papel de estraza y se llevaron a secar en una estufa a 75°C durante 48 horas y posteriormente se determinó el peso seco en una balanza analítica, expresando los resultados en gramos por planta (g planta^{-1}).

En el mismo estudio se evaluaron variables asociadas con la fotosíntesis. Las mediciones se efectuaron en cuatro fechas de acuerdo con las diferentes etapas fenológicas (Cuadro 4). Dichas mediciones se realizaron a medio día, con un medidor portátil de fotosíntesis LICOR LI-6400, previo calentamiento y calibración. Una vez identificada la hoja correspondiente, se procedió a inyectar $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de CO_2 para realizar la medición; con el tubo de la soda en posición “full scrub” y el tubo del desecante en “full bypass” y con el flujo de luz calibrado a $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la lectura fue tomada una vez que el valor permaneció constante en la pantalla en un lapso de 30 segundos. La radiación fotosintéticamente activa externa promedio fue de aproximadamente $250.58 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y la temperatura promedio dentro de la cámara foliar fue de 30.99 °C. Todas las mediciones se realizaron en el mismo orden de aleatorización del experimento.

Se determinó la tasa de asimilación de CO_2 (A), expresado en $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$; conductancia estomática (g_s), expresada en $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$; CO_2 intercelular (C_i), en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol s}^{-1}$.; tasa Transpiración (E), expresada en $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Asimismo, se incluyó en el estudio un parámetro bioquímico como es el contenido relativo de clorofila (Índice SPAD). Para lo cual, se utilizó el medidor portátil Minolta SPAD-502 Plus, el cual mide de manera instantánea la cantidad

relativa de clorofila (grado de verdor de la hoja). En cada unidad experimental, se realizaron tres lecturas tomadas en diferentes segmentos, a ambos lados de la nervadura central de la hoja y el promedio de estas represento el valor SPAD. Dicha medición se realizó a la par de la medición de actividad fotosintética.

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x4 (AxB), con tres repeticiones. Los potenciales osmóticos (PO) se consideraron como factor A y el desarrollo fenológico (H5, H6, H8, H12, H16) como factor B. Se consideró a cada planta como una unidad experimental. El análisis de los datos se realizó a través de un análisis de varianza, y la comparación de tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), (SAS Institute, 2004).

Se utilizó el modelo lineal: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i \beta_i + \varepsilon_{ijk}$; donde: Y_{ijk} =variable observada; μ = media general; α_i =efecto de la i-ésima concentración de NaCl; β_i = efecto del j-ésima etapa fenológica del cultivo; $\alpha_i \beta_i$ = efecto de la interacción de la i-ésima concentración de NaCl por la j-ésima etapa fenológica del cultivo; ε_{ijk} = error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan los resultados obtenidos y su interpretación para cumplir con el objetivo de la investigación. Dichos resultados están en el siguiente orden: Estudios preliminares: Calidad fisiológica, caracterización física y composición química proximal; Estudio I. Germinación y vigor en condiciones de estrés salino en laboratorio; Estudio II. Índice de velocidad de emergencia en invernadero; Estudio III. Evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero.

Estudio preliminar

Calidad fisiológica. En el Cuadro 5 se presentan los resultados de ensayo de germinación realizado en laboratorio, para conocer la calidad fisiológica de la semilla. El material utilizado en el estudio presentó 100 % de germinación.

Cuadro 5. Calidad fisiológica de la semilla de la variedad experimental incluida en el estudio preliminar.

Germinación (%)				Tasa de crecimiento		
PC	G	PA	SSG	LP (cm)	LR (cm)	Peso seco (mg plántula ⁻¹)
100	100	0	0	14.53	21.06	92.05

PC= Primer conteo; G= Germinación; PA=Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; PS= Peso seco de plántula.

Caracterización física de la semilla. En el Cuadro 6 se presentan los resultados de la caracterización física de la semilla.

Cuadro 6. Caracterización física de la semilla de la variedad experimental de maíz.

Parámetro	Medida
Largo (mm)	10.82
Ancho (mm)	8.76
Espesor (mm)	5.48
Volumen (ml)	0.50
Dureza	Muy duro*

*De acuerdo con la NMX-FF-034/1-SCFI-2002 para maíz blanco destinado al proceso de nixtamalización.

Análisis químico proximal de la semilla. A continuación se presentan los resultados del análisis químico de la semilla (Cuadro 7).

Cuadro 7. Composición química proximal de variedad experimental de maíz.

Componente químico	Porcentaje
Proteína cruda	10.57
Lípidos	5.01
Fibra cruda	1.95
Cenizas	1.51
Carbohidratos	80.92

Estudio I. Ensayo de germinación y vigor en condiciones de estrés salino en laboratorio

En el Cuadro 8 se presentan los resultados del análisis de varianza para este ensayo, con la aplicación de diferentes concentraciones de NaCl, muestran diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos, para todas las variables relacionadas con la capacidad germinativa y el vigor de la semilla. Lo anterior indica que los diferentes tratamientos afectaron los procesos relacionados con la imbibición, metabolismo y emisión de radícula y plúmula. Además de modificar acumulación de materia seca tanto en plúmula como en radícula, que está relacionada con la división celular y el llenado de las células.

Cuadro 8. Cuadrados medios de análisis de varianza para variables evaluadas en el estudio de germinación y vigor en laboratorio bajo condiciones de salinidad.

FV	GL	PC (%)	G (%)	LP (mm)	LR (mm)	GL	PSP (mg planta ⁻¹)	PSR (mg planta ⁻¹)
Trats	9	2873.42 **	2533.03 **	112538.47 **	117211.51 **	9	492.64 **	244.46 **
Error	20	5.33	36.26	414.62	1258.37	18	26.84	20.24
CV (%)		2.62	7.11	28.38	20.42		17.35	14.06

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; Trats= tratamientos; CV= Coeficiente de variación (%); PC= Primer conteo; G= Germinación; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; PSP=Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula.

Los resultados de la comparación de medias por concentración de NaCl en el agua de riego, se presentan en el Cuadro 9.

Los resultados indican que la semilla tiene la capacidad de germinar normalmente hasta un PO de -1 MPa (22.8 dS.m⁻¹), sin embargo, la tasa de crecimiento y acumulación de materia seca de las plántulas (LP, LR, PSP y PSR), se reduce conforme se incrementa la concentración de sal. Este comportamiento ha sido observado en diferentes especies y variedades: en frijol (Franca *et al.*, 2007; Can *et al.*, 2014), pastos (Ruiz y Terenti, 2012), chícharo (Kaya *et al.*, 2008), maíz (Layne *et al.*, 2008; Akram *et al.*, 2010). Los resultados de este estudio pueden ser atribuidos a la disminución de la movilidad del agua, lo cual reduce su disponibilidad para los procesos que se llevan a cabo durante la germinación. Este fenómeno es llamado “sequía fisiológica”, debido a que en suelos salinizados disminuye la velocidad de imbibición de las semillas, el cual es el primer evento con el que se inicia la germinación. La siguiente etapa de la germinación es el rompimiento de las estructuras y la posterior emergencia de la plúmula y radícula, estos últimos eventos se relacionan con el inicio de los procesos fisiológicos (mecanismos de arranque), probablemente relacionados con los primeros ciclos de división celular en el embrión, los cuales al parecer son menos afectados por el estrés salino que los procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren durante el crecimiento de las plántulas (González, 2001). Los sistemas enzimáticos de la glicólisis, así como el ciclo de Krebs son especialmente sensibles a la salinidad y dan como resultado una menor disponibilidad de energía, adquisición de nutrientes, la disminución de la capacidad germinativa y la reducción del crecimiento de la plántula (Mata-Fernández *et al.*, 2014).

En lo correspondiente a las variables relacionadas con la acumulación de materia seca (LP, LR, PSP, PSR), se registraron diferencias entre el testigo y los tratamientos salinos.

Cuadro 9. Comparación de medias para variables de germinación y vigor de la semilla bajo condiciones de laboratorio

Tratamientos (PO en MPa)	PC (%)	Germinación (%)	LP (mm)	LR (mm)	PSP (mg plántula⁻¹)	PSR (mg plántula⁻¹)
0.000	100.00 a	100.00 a	136.29 a	229.10 a	46.00 ab	43.20 a
-0.125	97.33 a	97.33 a	120.86 a	204.29 ab	47.51 a	41.10 a
-0.250	98.66 a	98.66 a	100.45 b	209.21 ab	42.62 ab	38.03 ab
-0.375	98.66 a	98.66 a	81.86 c	194.63 b	35.70 abc	38.07 ab
-0.500	97.33 a	98.66 a	60.86 d	179.58 bc	30.38 bcd	36.37 ab
-0.625	100.00 a	97.33 a	40.78 e	160.72 cd	22.60 cde	32.62 abc
-0.750	94.66 a	88.00 ab	36.81 ef	147.19 d	20.47 cde	26.09 bcd
-0.875	98.66 a	89.33 ab	24.01 efg	107.34 e	14.76 de	20.38 cd
-1.000	93.33 a	73.33 b	21.55 fg	104.75 e	13.54 e	18.13 d
-1.250	0.00 b	5.33 c	18.00 g	91.75 e	15.00 de	17.50 d
Media	87.86	84.66	71.73	173.70	29.85	32.12
Tukey ($\alpha = 0.05$)	6.67	17.48	17.83	31.07	16.61	14.49

Medias con letras iguales en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). PO=Potencial osmótico; MPa=Megapascales; PC=primer conteo; LP= longitud plúmula; LR= longitud de radícula; PSP= peso seco de plúmula; PSR= peso seco de radícula.

Las diferencias indican que las sales afectaron el crecimiento, respuesta que puede estar relacionada a una menor absorción de agua por las raíces. El efecto osmótico generado por altas concentraciones de sal aumentan la presión osmótica de la solución por lo que las células sufren una adaptación que requiere mayor consumo de energía (Aiazzi *et al.*, 2005), para la activación de mecanismos de adaptación, los cuales se reflejan fenotípicamente con un menor crecimiento, modificación de la relación parte aérea/raíz, y la limitación de la expansión foliar (Leidi y Pardo, 2002).

El efecto de las sales en la germinación y crecimiento de las plántulas están estrechamente relacionados con la tolerancia varietal (González, 2001). La tolerancia salina es una habilidad relativa de las plantas para producir rendimientos satisfactorios o sostenerse bajo estas condiciones. Esta tolerancia varia a lo largo de las distintas fases de desarrollo de la planta (Mata-Fernández *et al.*, 2014).

Munns (2002), dio a conocer que el efecto de la sal sobre el crecimiento de las plantas de maíz se da en dos fases. En la primera fase, la reducción del crecimiento se da a unos cuantos días de exposición de la planta a la sal, esta reducción es aparentemente rápida y es causada por la sal fuera de las raíces (estrés hídrico). Las plantas sometidas al estrés salino presentan un tamaño más pequeño, resultado de cambios en la elongación y división celular. Estos cambios presumiblemente son regulados por señales hormonales procedentes de las raíces. La segunda fase de reducción del crecimiento toma mayor tiempo para desarrollarse y es resultado de la lesión interna, debido a un periodo prolongado de exposición a este tipo de estrés.

Es de notarse que el primer conteo (vigor), presentó valores más altos a los de germinación. Este comportamiento se debe a que en esta etapa, la evaluación considera normales aquellas semillas cuyo desarrollo es igual o mayor a dos veces el tamaño de la semilla, mientras que en el conteo final (a los siete días), la evaluación es más estricta y se descartan a aquellas plántulas que presentan algún tipo de daño en sus estructuras.

Estudio II. Índice de velocidad de emergencia (IVE)

En el Cuadro 10 se presentan los resultados del análisis de varianza para las variables relacionadas con el vigor durante la emergencia de plántulas en invernadero.

Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en el estudio del índice de velocidad de emergencia en invernadero, bajo condiciones de salinidad.

FV	GL	IVE (%)	ET (%)	PS (mg plántula⁻¹)
Tratamientos	6	18.80 **	4706.01 **	14949.26 **
Error	12	0.17	79.55	530.11
CV (%)		12.30	14.50	18.16

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; FV= Fuentes de variación (%); GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; IVE= Índice de velocidad de emergencia; ET= Emergencia total; PS= Pesos seco de plántulas.

Los resultados del índice de velocidad de emergencia indican diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos aplicados en la prueba de vigor, a la que se sometieron las semillas. Las diferencias se pueden atribuir a que el incremento de la concentración de NaCl en la solución del suelo, aumenta las fuerzas potenciales que retienen el agua y hacen más difícil la absorción (Mata-Fernández *et al.*, 2014). Debido a la disminución de la movilidad del agua en los suelos salinizados, la germinación se ve reducida dando como resultado la no uniforme emergencia de las plántulas (González, 2001).

La comparación de medias por concentración de NaCl aplicado en la prueba de vigor (IVE) se presenta en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Comparación de medias del análisis de varianza para las variables vigor.

Tratamientos (PO en MPa)	IVE (Plántulas día⁻¹)	ET (%)	PS (mg plántula⁻¹)
0.000	6.26 a	100.00 a	214.35 a
-0.250	6.31 a	97.33 a	209.70 a
-0.500	4.45 b	90.66 ab	154.32 ab
-0.750	3.11 c	66.00 bc	83.92 bc
-1.000	2.57 c	62.00 c	85.29 bc
-1.250	0.50 d	13.33 d	34.88 c
-1.500	0.09 d	2.66 d	51.50 c
Media	3.38	61.47	126.73
Tukey ($\alpha = 0.05$)	1.27	27.24	2.47

Medias con letras iguales en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). PO=Potencial osmótico; MPa=Megapascuales; IVE= Índice de velocidad de emergencia; ET= Emergencia total; PS= Pesos seco de plántulas.

Los resultados indican un cambio en la dinámica de germinación; al reducirse el potencial osmótico se incrementó el tiempo para el inicio del proceso que consiste en la imbibición de la semilla y la posterior activación del metabolismo para dar lugar a la emergencia de la radícula y plúmula. Estos resultados concuerdan con lo observado por otros investigadores (Camejo y Torres, 2000 y Meza *et al.*, 2004) quienes mencionan que este retraso puede deberse a la disminución de la capacidad de las semillas para la absorción de agua y/o un efecto tóxico de los iones los cuales afectan a enzimas y hormonas que retrasan o inhiben el proceso de germinación. El porcentaje de germinación final se ve afectado por el incremento en la concentración salina, lo cual puede ser atribuido a que el estrés salino causa inhibición de la elongación celular (Chaves *et al.*, 2009).

Al registrarse una baja acumulación de materia seca, al incrementar la concentración de sal, se observaron los efectos adversos de las sales sobre el crecimiento, consecuencia de las alteraciones en el metabolismo de las plantas, causadas por un aumento en la presión osmótica, que a su vez genera un desbalance energético (Mata-Fernández *et al.*, 2014).

El estrés hídrico generado por la alta concentración salina, provoca que las células de la planta sufran una adaptación osmótica que genera un mayor consumo de energía; la inversión de la mayor parte de esta, en los procesos de adaptación osmótica de las células, para la absorción de agua, conlleva a una menor disponibilidad de energía para otras funciones, repercutiendo en la tasa de crecimiento (Aiazzi *et al.*, 2005). Otra de las causas de las afectaciones al crecimiento de las plántulas es el retraso que se produce en la división celular, siendo esta última la más afectada por la salinidad. Además, las altas concentraciones de sal dentro de la célula, inhiben los procesos de síntesis (González, 2001), debido principalmente a que bajo estas condiciones de estrés, la cantidad de energía adquirida se ve reducida y/o se redistribuye desde el crecimiento (Munns y Matthew, 2015).

En este estudio es evidente el efecto negativo de la salinidad en el proceso germinativo y en la acumulación de materia seca, confirmando que el estrés causado por el NaCl altera el metabolismo celular, reflejándose en un menor IVE, con una reducción de poco más de 6 unidades, registrado para el tratamiento con menor potencial osmótico (-1.500 MPa) cuyo IVE es 0.09, valor muy inferior al 6.26 del testigo. Así mismo, al reducirse la acumulación de materia seca, se hace evidente el efecto negativo de la sal, tanto en la división celular como en el depósito de reservas y nutrientes en las células que finalmente constituyen la biomasa de las plantas.

Estudio III. Evaluación de la respuesta de las plantas de maíz a las condiciones de salinidad en invernadero

La evaluación de la respuesta de la planta a la salinidad en invernadero se presenta en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Cuadrados medios del análisis de varianza para los caracteres de la planta.

FV	GL	AH (cm)	DT (mm)	GL	PSV (g planta ⁻¹)	PSR (g planta ⁻¹)
Trat	3	13279.60 **	13.84 ns	3	3883.88 **	489.90 **
EF(hoja)	3	20266.45 **	940.04 **			
Trat * EF	9	2025.66 **	16.58 ns			
Error	32	301.13	22.19	8	25.43	37.70
CV (%)		24.05	32.76		10.44	37.31

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; GL=Grados de libertad; FV= Fuentes de variación; Trat= Tratamientos; CV (%)=Coeficiente de variación, EF=Etapa Fenológica; AH= Altura de la hoja; DT= Diámetro de tallo; PSV= Peso seco de vástago; PSR= Peso seco de raíz.

Caracteres de la planta. Se muestran diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para la fuente de variación tratamientos, para la variable altura de hoja, peso seco vástago y peso seco de raíz. Asimismo, para la fuente de variación etapas fenológicas, se presentaron diferencias en altura de hoja y diámetro de tallo (Cuadro 12). En la interacción tratamiento \times etapa fenológica hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) solamente para la variable altura de hoja. Las diferencias observadas pueden ser atribuidas al efecto de la salinidad en el desarrollo normal de la planta.

La comparación de medias de tratamientos y etapa fenológica de los caracteres de la planta se presenta en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Medias de tratamientos y etapa fenológica de los caracteres de la planta en el estudio de salinidad.

Tratamientos (PO en MPa)	AH (cm)	DT (mm)	PSV (g planta⁻¹)	PSR (g planta⁻¹)
0	101.51 a	15.30 a	98.50 a	32.26 a
-1	95.25 a	15.28 a	47.03 b	21.30 ab
-2	62.35 b	13.74 a	32.70 c	7.36 bc
-3	29.39 c	13.20 a	14.80 d	4.88 c
Media	72.13	14.38	48.28	16.45
Tukey ($\alpha= 0.05$)	19.19	5.21	13.18	16.05
Etapa fenológica				
EF(H5)	14.40 c	27.32 a		
EF(H8)	76.00 b	11.43 b		
EF(H12)	87.43 b	11.50 b		
EF(H16)	110.67 a	7.26 b		
Media	72.13	14.38		
Tukey ($\alpha= 0.05$)	19.19	5.21		

Medias con letras iguales en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). PO=Potencial osmótico; MPa=Megapascuales; EF=Etapa Fenológica; AH= Altura de la hoja; DT= Diámetro de tallo; PSV= Peso seco de vástago; PSR= Peso seco de raíz.

Los resultados revelan que la mayor altura de hoja 16 se registró para el testigo, mientras que la planta con menor altura para esta hoja correspondió a aquella bajo un potencial osmótico de -3 MPa. Por otro lado, es notoria la diferencia en relación a la acumulación de biomasa del vástago en las plantas testigo, con respecto a las pertenecientes al tratamiento de -1 MPa, las cuales tuvieron una reducción de aproximadamente el 50 %. Así mismo, se observa que la reducción es mayor, cuanto más negativo es el PO. Este fenómeno puede deberse a la reducción de la cantidad de energía adquirida por las plantas bajo

este tipo de estrés. Aunado a esa reducción, la energía se redistribuye desde crecimiento en defensa del estrés, lo cual se traduce en el uso de la mayor parte de la energía en los procesos necesarios para el mantenimiento (Munns y Matthew, 2015). Por otro lado, los resultados indican que la mayor altura de hoja se observó en la etapa final, tal y como se esperaba; conforme la planta va desarrollándose, la altura de esta se incrementa.

En relación al diámetro de tallo se observó que en la primera etapa de crecimiento el diámetro fue mayor; esto puede ser atribuido a que la medición se tomó cuando las hojas nuevas aún no habían sido desplegadas; se encontraban enrolladas en ese punto y no se habían alargado los entrenudos. Es importante mencionar que la altura a la que se hace referencia en cada muestreo correspondió a la altura a la que se encontraba la hoja en estudio, y que la reducción registrada para el diámetro de tallo puede deberse al efecto de los tratamientos en la acumulación de hidrolizados y daño en los procesos de síntesis así como en la división y diferenciación celular. Mata-Fernández *et al.* (2014) afirman que las plantas sometidas a altas concentraciones de sal, son afectadas por la retención de agua y el efecto iónico que esto ocasiona, sobre el citoplasma y las membranas de las células. Los sistemas enzimáticos de la glicolisis, ciclo de Krebs y la fotofosforilación son especialmente sensibles a la salinidad, por lo que bajo estas condiciones se reduce la cantidad de energía disponible, adquisición de nutrientes y el crecimiento de la planta se reduce. Así mismo la presencia de altas concentraciones de iones de Na^+ y Cl^- en la solución del suelo provoca efectos tóxicos e induce alteraciones en el metabolismo de las plantas, promueve la acumulación de productos tóxicos, provocando un desequilibrio energético. Para superar a las fuerzas potenciales que retienen el agua en el suelo, las células de las raíces sufren una adaptación osmótica para poder absorber agua, este gasto de energía resulta en la reducción de la tasa de crecimiento (Aiazzi *et al.*, 2005). Además la sensibilidad de las plantas a las sales cambia durante el desarrollo fenológico, dependiendo de la especie, el cultivar y factores ambientales (Munns, 2002). Las sales afectan aspectos muy importantes de la fisiología y metabolismo de las plantas,

tales como la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, hormonas reguladoras de crecimiento. Las plantas que se desarrollan en suelos salinos, presentan una reducción en los procesos de división y diferenciación celular (González, 2001; Mata-Fernández et al., 2014). Por tal motivo la tasa de crecimiento bajo estrés salino es reducida por la alteración en la tasa fotosintética y modificación en el metabolismo de los carbohidratos (Argente *et al.*, 2009).

Variables asociadas con la fotosíntesis. En el Cuadro 14 se presentan los resultados del análisis de varianza de varianza para variables fisiológicas y contenido de clorofila.

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 14), indican diferencias significativas entre tratamientos para contenido de clorofila. Por otra parte, la fuente de variación etapa fenológica indica diferencias ($P \leq 0.01$) para todas las variables, mostrando que la respuesta de las variables asociadas con la fotosíntesis, tiene un comportamiento que varía con el desarrollo de la planta.

Asimismo, se observó interacción entre tratamientos y etapas fenológicas para g_s , E y contenido de clorofila, indicando que en gran medida la respuesta de las variables estuvo asociada a la apertura de los estomas, los cuales son los primeros en responder tanto al estrés salino como al hídrico. Por otra parte, la síntesis de clorofila se reduce al incrementarse los niveles de estrés salino, por lo que se expresó con diferencia estadística entre etapas fenológicas.

Cuadro 14. Medias de tratamientos y etapa fenológica de las variables asociadas con la fotosíntesis de plantas en invernadero.

FV	GL	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		GL	Clorofila (Spad)
Tratamientos	3	3.288	ns	0.001	ns	29.48	ns	1.20	ns	3	1531.02 **
EF	3	336.047	**	0.020	**	75885.88	**	48.26	**	3	1676.49 **
Trat. x EF	9	4.121	ns	0.001	**	1494.03	ns	2.47	**	9	388.37 **
Error	78	6.887		0.0003		2275.21		0.622		128	28.10
CV (%)		44.34		46.880		32.15		37.465			14.82

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; GL=Grados de libertad; CV (%) = Coeficiente de variación; Trat= Tratamientos; EF=Etapa fenológica; A= Tasa de asimilación; g_s= Conductancia estomática; C_i= CO₂ intercelular; E= Transpiración.

Los resultados de la comparación de medias para fisiológicas y contenido de clorofila, se presentan en el Cuadro 15.

La comparación de medias por tratamientos, indica que a pesar de haber diferencias significativas en el contenido de clorofila, no se observó reducción en la tasa de asimilación de CO₂, lo cual es inesperado, sin embargo, esto se puede atribuir al genotipo de la variedad, que aun en condiciones de salinidad extrema, mantiene activo el metabolismo relacionado con la fijación de CO₂, específicamente con la enzima Rubisco.

En este sentido, se ha observado que en algunas especies sometidas a estrés salino, las tasas de fotosíntesis por unidad de área foliar a menudo no presentan cambios, aun cuando la conductancia estomática se reduce. Este fenómeno puede ser explicado por los cambios en la anatomía celular, dando lugar a células más pequeñas con mayor reducción en el área de la profundidad, por lo que las hojas son más pequeñas y más gruesas, con mayor densidad de cloroplastos por unidad de área foliar. La reducción de expansión de las hojas, que resulta en una acumulación de fotosintatos sin utilizar en tejidos en crecimiento puede generar señales de retroalimentación para regular a la baja la fotosíntesis y con el tiempo, producir la inhibición por retroalimentación del vertedero a la fuente, entonces la tasa de fotosíntesis se puede ajustar con precisión para que coincida con la reducción de la demanda derivada de la inhibición del crecimiento (Munns y Tester, 2008).

Por otra parte, el C_i se mantuvo en un rango de 135.55 a 159 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ indicando la disponibilidad de CO₂ en el mesófilo de la hoja, con una g_s que indica la respuesta de los estomas al estrés impuesto por los diferentes niveles de salinidad, lo cual puede incrementar la temperatura de la planta, y resultar en una mayor pérdida de vapor de agua a través del proceso de transpiración (E). La respuesta más dramática y fácilmente medible de la salinidad sobre la fisiología de las plantas, es la reducción de la apertura estomática, en primer lugar inducido por el estrés osmótico generado por la alta concentración de sales al exterior de las raíces y posteriormente, el incremento de ácido abscísico

Cuadro 15. Medias de tratamientos y etapa fenológica de las variables asociadas con la fotosíntesis de plantas en invernadero.

Tratamientos (PO en MPa)	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		CRC (Spad)	
0	5.475	a	0.035	a	159.01	a	1.94	a	43.54	a
-1	6.012	a	0.043	a	139.25	a	2.17	a	37.81	b
-2	5.989	a	0.041	a	156.19	a	2.12	a	33.57	c
-3	6.256	a	0.046	a	135.55	a	2.20	a	28.14	d
Etapa fenológica										
EF(H5)	8.928	a	0.078	a	171.54	a	3.90	a	37.89	a
EF(H8)	11.780	b	0.073	a	136.54	b	3.74	a	40.11	a
EF(H12)	4.814	c	0.024	b	86.80	c	1.23	b	39.46	a
EF(H16)	1.195	d	0.013	b	225.55	a	0.71	b	25.63	b
Media	5.917		0.041		148.34		2.10		35.77	
Tukey ($\alpha= 0.05$)	2.183		0.016		39.68		0.65		3.25	

Medias con letras iguales en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). PO=Potencial osmótico; A= Tasa de asimilación de CO_2 ; g_s = Conductancia estomática; C_i = CO_2 intercelular; E= Transpiración; CRC=contenido relativo de clorofila.

dentro de los tejidos fotosintéticos, probablemente sintetizado localmente. (Munss y Tester, 2008).

Con respecto a la comparación de medias por etapa fenológica (Cuadro 15), se registró que el contenido de clorofila se mantuvo a través de tres etapas fenológicas (H5, H8, H12), sin embargo al desarrollar la hoja 16 presentó una reducción significativa que no se puede atribuir a la acumulación de sales en el tejido y su aumento en el estrés oxidativo en cloroplastos. Lo anterior se refleja en una reducción de la tasa de asimilación de CO₂ en la hoja 16 con 1.19 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹. Además se observó que aunque los niveles de clorofila se hayan mantenido a través de las etapas fisiológicas, esto no garantiza que la fijación de CO₂ se realice de manera normal, más bien el daño a la estructura celular por el NaCl se agudiza con el paso del tiempo, lo cual se confirma al reducirse la g_s y aumentar los niveles de C_i, indicando posibles daños a la enzima Rubisco, ya que estos niveles de C_i indican ineficiencia en la actividad y activación de esta enzima. El indicador más sensible del estrés salino es g_s, seguida por la asimilación de CO₂ (James *et al.*, 2002). La disminución de la g_s se considera un buen parámetro de referencia para la determinación de la baja regulación de la actividad de la enzima Rubisco bajo estrés hídrico, lo cual disminuye CO₂ disponible, resultado de las limitaciones de difusión de estomas (Flexas *et al.*, 2004).

Estudios conducidos por Flexas *et al.* (2006), confirman la baja regulación de la actividad Rubisco inducida por los el cierre de estomas en soya, así como la resistencia a este factor por parte del tabaco, mencionando que en un principio, la disminución inicial de la actividad Rubisco podría deberse a la disminución de la concentración de proteínas, aumento de la concentración, su unión con inhibidores (es decir, una disminución de la actividad máxima), disminución del estado de activación, o combinaciones de dos o más de estos factores.

CONCLUSIONES

- La variedad experimental en estudio, posee habilidad para germinar en un medio caracterizado por un bajo potencial osmótico (-1 MPa), producto del efecto que genera el NaCl, se presenta una disminución significativa del 7 y 27 % en el vigor y la capacidad germinativa, respectivamente.
- Concentraciones de sal en el suelo por debajo de -1 MPa influyen en una reducción del 58.9, 38.0 y 60.3 % en el índice de velocidad de emergencia, la emergencia total y el peso seco de plántula.
- El estrés por salinidad tiene un efecto del 71.0 y 84.9 % en la altura de la hoja 16 y el peso seco de vástago y raíz respectivamente a una presión osmótica de -3 MPa.
- La exposición prolongada de las plantas de la variedad experimental al estrés salino, redujo los niveles de clorofila y la tasa de transpiración, al igual que los niveles del C_i , en la etapa final del cultivo.
- Al parecer, el genotipo en estudio posee la habilidad de mantener activo su metabolismo, aun en condiciones extremas (-3 MPa) de estrés por salinidad, alcanzando valores de fijación de CO_2 , muy similares a los del testigo.

Con base en los resultados obtenidos en los diferentes estudios, se acepta la hipótesis planteada, la cual refiere: La presión osmótica determina el nivel de actividad fisiológica y metabólica, durante los procesos germinativos y de desarrollo de las plantas de maíz.

LITERATURA CITADA

- Agustí, M. 2004. El medio. En Ediciones Mundi Prensa. Fruticultura, Madrid. pp. 57-58.
- Aiazzi, M.T., P. Carpane y C. Deza. 2005. Efecto de la salinidad, sobre el crecimiento de plantas de *Atriplex cordobensis* Gandoger et Stuckert originadas de semillas de distintas procedencias. *Multequina* 14:39-46.
- AOAC, 1984. Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edition. Arlington, VA, 1141 pp.
- Argentel, L. y M. González. 2006. Respuesta interespecífica a la salinidad en dos especies del género *Triticum*. *Cultivos Tropicales* 27(2):51-52.
- Argentel, L., D.R. López, L.M. González, R.C. López, E. Gómez, R. Girón, I. Fonseca. 2009. Contenido de clorofila e iones en la variedad de trigo harinero Cuba-C-204 en condiciones de estrés salino. *Cultivos Tropicales* 30(4):32-37.
- Argentel, L., R.D. López, L.M. González, R.C. López, E. Gómez y I. Fonseca 2010. Evaluación de la tolerancia a la salinidad en estadios tempranos y finales del desarrollo en triticales (*X Triticum secale*). *Cultivos Tropicales* 31(1):48-53.
- Ashraf, M. and R. Humera. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages. *Acta Physiologiae Plantarum* 23(4):407-414.
- Barkla, B.J., R. Vera-Estrella, E. Balderas y O. Pantoja. 2007. Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas. *Biotecnología* 14:263-272.
- Camejo, D. y W. Torres. 2000. La salinidad y su efecto en los estadios iniciales del desarrollo de dos cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Cultivos tropicales* 21(2):23-26.
- Can, A., L.G. Ramírez, H. M. Ortega, E.C. Cruz, D.R. Flores, E.I. Sánchez, A. Madueño. 2014. Germinación y crecimiento de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. en condiciones de salinidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(5):753-763.

- Chaves, M.M., J. Flexas and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany* 103(4):551-560.
- Delfine, S., A. Alvino, M.C. Villani, and F. Loreto. 1999. Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant Physiology* 119(3):1101-1106.
- Food and Agricultural Organization. (1988). Salt-affected soils and their management, 1988. FAO, Rome.
- Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic, and T.D. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology* 6(3):269-279.
- Flexas, J., M. Ribas-Carbó, J. Bota, J. Galmés, M. Henkle, S. Martínez-Cañellas and H. Medrano. 2006. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist* 172: 73–82
- Franca, B., L. De Sa Ribeiros y C. Aragao. 2007. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes* 29(2):106-110.
- González, L.M. 2001. Apuntes sobre la fisiología de las plantas cultivadas en condiciones salinas. *Cultivos Tropicales* 23(4):47-57.
- González, M.S., V.H. Perales y A.M. Salcedo. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la Investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista Bioquímica* 27(4):119-129.
- Gutiérrez-Rodríguez, M., M.P. Reynolds, J.A. Escalante-Estrada, A. Larqué-Saavedra. 2005. Algunas consideraciones en la relación entre fotosíntesis y el rendimiento de grano en trigo. *Ciencia Ergo Sum* 12(2):149-154.
- International Seed Testing Association. ISTA. 2009. International Rules for Seed Testing. Chapter 5: The germination test. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- James, R.A., A.R. Rivelli, R. Munns and S. Caemmerer. 2002. Factors affecting CO₂ assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat. *Functional Plant Biology* 29(12):1393-1403.

- Kaya, M., G. Kaya, M.D. Kaya, M. Atak, S. Saglam, K.M. Khawar and C.Y. Ciftci. 2008. Interaction between seed size and NaCl on germination and early seedling growth of some Turkish cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Zhejiang University Science B*. 9(5):371-377.
- Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany* 56(2):136-146.
- Läuchli, A. and S.R. Grattan. 2007. Plant growth and development under salinity stress. In *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*. Springer Netherlands. p. 1-32.
doi: <https://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-5578-2>
- Layne, J., J.R. Méndez, y J. Mayz. 2008. Efecto de la salinidad y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 11(1):17-25.
- Leidi, E. y J. Pardo. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino: qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Rosario* 2 (2):69-90.
- Maathuis, F .J. 2014. Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany* 65(3):849-858.
- Maguire, J.D. (1962) Speed of Germination-Aid in Selection and Evaluation for Seedling Emergence and Vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
- Mata-Fernandez I., M.L. Rodríguez-Garmiño, J. López-Blanco, G. Vela-Correa. 2014. Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital E-Bios. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco* 1(5):26-35.
- Meza, N., A. Pereira, y D. Bautista. 2004. Efecto de la salinidad en la germinación y emergencia de semillas de níspero (*Manilkara achras* Miller Fosberg) *Fisiología vegetal. Universidad del Zulia, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía* 21(4):60-66.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25:239-250.
- Munns, R. and G. Matthew 2015. Salinity tolerance of crops what is the cost? *New Phytologist* 208:668-673.
- Munns, R. and M. Tester 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59:651-681.

- Nicasio, S., E. Sánchez, A. Orozco y A. Gamboa. 2011. Efecto del preacondicionamiento y el sustrato salino en la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*) raza Chalqueño. *Agrociencia* 45 (2):195-205
- Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany* 57(5):1017-1023.
- Roy, J.S., S. Negrão, and M. Tester, 2014. Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26:115-124.
- Ruiz, M. y O. Terenti. 2012. Germinación de cuatro pastos bajo condiciones de estrés salino. *Phyton* 81:169-176.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT ® 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 1521 p.
- Salisbury, F. y C. Ross. 1992. Fisiología de las plantas. Thomson Learning, España. 682 p.
- SE. 2002. Norma Oficial Mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano –Cereales- Parte I. Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado –especificaciones y métodos de prueba-. Secretaría de Economía (SE). Diario Oficial de la Federación, 22 de Mayo de 2002.
- Sudhir, P. and S. Murthy. 2004. Effects of salt stress on basic process of photosynthesis. *Photosynthetica* 42 (4):481-486.
- Yang, X. and C. Lu. 2005. Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt stressed maize plants. *Physiologia Plantarum* 124(3):343-352.