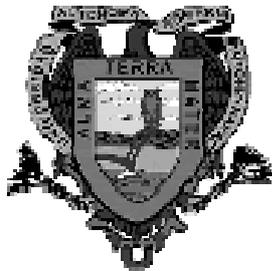


EFEECTO DE SALINIDAD (NaCl) Y CALIDAD DE SEMILLA  
EN 19 LINEAS DE TRIGO  
(*Triticum aestivum* L.)

ELENA ELIZALDE FLORES

TESIS

Presentada como requisito parcial  
para obtener el grado de  
Maestro en  
Tecnología de Granos y Semillas



Universidad Autónoma Agraria  
"Antonio Narro"

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila

Abril de 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIRECCIÓN DE POSTGRADO

EFFECTO DE SALINIDAD (NaCl) Y CALIDAD DE SEMILLA EN 19 LINEAS DE  
TRIGO

(*Triticum aestivum* L.)

POR

ELENA ELIZALDE FLORES

elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de asesoría y  
aprobada como requisito parcial, para obtener el grado de

MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

C O M I T É      P A R T I C U L A R

Asesor principal:

---

M.P. María Alejandra Torres Tapia

Asesor:

---

Dr. Víctor Manuel Zamora Villa

Asesor:

---

M.C. Federico Facio Parra

---

Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Director de Postgrado

Buнавista, Saltillo, Coahuila. Abril 2008

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por la vida que tengo

A mis padres por darme parte de su existencia

A mi esposo por su apoyo y comprensión

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,  
por la educación que es un privilegio

A los maestros que incidieron directamente en mi formación

Al apoyo de mis asesores para la realización de la presente tesis  
M.P. María Alejandra Torres Tapia, Dr. Víctor Zamora Villa  
y M.C. Federico Facio Parra

A mis amigos y compañeros de la maestría que me brindaron su tiempo y  
amistad.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mis padres,

A mi esposo y mi pequeña Isabel

a mis hermanas Lupe, Rocío, Raquel y Rosa y mi hermano Miguel

a mis amigos

a mis maestros

a todas la personas que conocí en esta escuela y en esta ciudad,  
especialmente a quienes me brindaron su apoyo incondicional e hicieron  
posible una estancia agradable en la maestría.

## COMPENDIO

EFFECTO DE SALINIDAD (NaCl) Y CALIDAD DE SEMILLA EN 19 LINEAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)

POR

ELENA ELIZALDE FLORES

MAESTRO EN  
TECNOLOGIA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. ABRIL 2008

M. P. MARIA ALEJANDRA TORRES TAPIA -ASESOR-

Palabras clave: Semillas, Imbibición, germinación, vigor, envejecimiento acelerado.

En la actualidad, la salinidad del suelo es uno de los factores abióticos más negativos para la productividad de los cultivos, ya que afecta millones de hectáreas a nivel mundial, una alternativa de bajo costo es la selección de genotipos tolerantes a la salinidad en condiciones de laboratorio. Por ello; se evaluaron 20 genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) determinando su calidad física, fisiológica y bioquímica, utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial en cuatro repeticiones para cada variable. Se aplicaron cinco concentraciones de sal NaCl (0, 100, 200, 300 y 400 mM), previo a ello se determinó la tasa de imbibición de los genotipos, determinando 24 horas de imbibición para los tratamientos salinos, y posteriormente se evaluaron, la calidad fisiológica (capacidad de germinación (CG)) y vigor (envejecimiento acelerado (EA), longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula

(LMR) y peso seco (PS)) conforme a la ISTA (2004). La calidad física (contenido de humedad (CH), peso volumétrico (PV) y peso de mil semillas (PMS)) y bioquímica (cantidad y tipo de proteínas presentes) las cuales se determinaron en semillas sin imbibir. Los resultados en el CH de los genotipos fueron inferior al recomendado para su almacenamiento de semillas que es de 12%; en el PV los genotipos 2, 15,17 y 19 fueron de mayor peso, mientras que 8, 9, 10 y 12 de menor; en el caso de PMS 5, 6 y Bacanora reportaron bajos pesos. En la tasa de imbibición el genotipo 9 obtuvo el más alto valor de capacidad de imbibición a través del tiempo y el 6 resultó el menor. En la CG a medida que aumento la concentración aumentaron las SSG y las plántulas anormales solo después del EA, para LMP, LMR y PS se dio un efecto positivo con el tratamiento aunque en algunos genotipos fue negativo; el genotipo 19 supero al testigo en germinación y vigor mostrando un valor menos negativo en el coeficiente de regresión, los genotipos 14 y 15 fueron los mas afectados por salinidad mostrando un coeficientes de regresión más negativo; en los genotipos 9 y 10 disminuyeron las plántulas normales después del EA, pero presentaron una mediana tolerancia al estrés salino. El tamaño de semilla se relacionó positivamente con la cantidad de agua absorbida; mientras que el PS estuvo relacionado positivamente con PMS. Además hubo una correlación negativa entre las proteínas presentes (gluteninas y gliadinas) y LMP frente al estrés salino.

## ABTRACTS

At the present time, the salinity of the soil is one of the abiotic factors more negative for the crop productivity, since it affects millions of hectares at world level, an alternative of low cost is the selection of tolerant genotypes to salinity under laboratory conditions. For it; 20 genotypes of bread wheat were evaluated (*Triticum aestivum* L.) determining their physical, physiological and biochemical quality, using a design totally at random with factorial arrangement in 4 repetitions for each variable. Five concentrations of salt NaCl were applied (0, 100, 200, 300 and 400 mm), previous to it was determined the rate of imbibition of the genotypes, determining 24 hours of imbibition for saline treatments, and later physiological quality (germination capacity (GC)) and vigor (accelerated aging (AA), mean plumule length (MPL), mean radicle length (MRL) and dry weight (DW)) were evaluated, according to the ISTA (2004). The physical quality (content of humidity (CH), volumetric weigh (VW) and weigh of thousand seeds (WTS)) and biochemistry quality (quantity and type of present proteins) were determined in seeds without imbiber. The results show that the CH of genotypes were inferior to the one recommended for storage of seeds, that is 12%; in PV the genotypes 2, 15,17 and 19 were the highest weight, while 8, 9, 10 and 12 the smallest weight; in the case of WTS 5, 6 and Bacanora reported low pesos. In the imbibition rate the genotype 9 obtained the highest value of imbibition capacity through the time and the 6 was the minor. In the GC as was increased the concentration the SSG increased too and the abnormal seedlings only after the EA, for MPL, MRL and DW a positive effect was given with the treatment although in some genotypes it was negative; the genotype 19 surpass the control in germination and vigour showing a less negative value in the regression

coefficient, the genotypes 14 and 15 were more affected by salinity showing a more negative regression coefficients; in the genotypes 9 and 10 the normal seedlings diminished after the AA, but they presented a medium tolerance to saline stress. The seed size was related positively with the quantity of absorbed water; while the DW was related positively with WTS. There was also a negative correlation among the present proteins (glutenins and gliadins) and MPL in front of the saline stress.

Key words: imbibition, germination, vigour, accelerated ageing

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
Salinidad .....	4
Medición de la salinidad.....	6
Potencial de agua .....	7
Salinidad en los cultivos.....	8
Gluteninas y gliadinas.....	17
Electroforesis SDS-PAGE.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Material genético .....	22
Tratamientos.....	22
Variables evaluadas .....	23
Calidad física .....	23
Tasa de imbibición .....	24
Calidad fisiológica.....	25
Proteínas .....	26
Electroforesis Vertical .....	28
Análisis estadístico .....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33
Calidad física .....	33
Imbibición.....	34
Calidad Fisiológica.....	37
Comportamiento por concentración.....	39
Comportamiento de líneas.....	41
Germinación y Vigor .....	41
Longitud media de plúmula y radícula .....	43
Peso seco .....	45
Interacción concentraciones x líneas.....	46
Germinación .....	48
Vigor .....	49
Longitud Media de Plúmula y Radícula.....	50
Peso seco .....	55
Proteínas .....	58
Cuantificación de gliadinas y gluteninas .....	58
Tipo de bandas en gluteninas y gliadinas .....	60
Correlación .....	62
CONCLUSIONES .....	66
RESUMEN.....	67
LITERATURA CITADA .....	69
ANEXO .....	74

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1. Reactivos para gel de corrida.....	29
Cuadro 3.2. Cantidades de reactivos a mezclar para el gel de corrida.....	29
Cuadro 3.3. Reactivos para el gel concentrador.....	29
Cuadro 3.4. Cantidades de reactivos para el gel concentrador.....	29
Cuadro 3.5. Cantidad de reactivos para el Buffer de corrida 10x .....	30
Cuadro 3.6 Cantidad de reactivos para la solución teñidora.....	30
Cuadro 3.7. Cantidad de reactivos para la solución desteñidora.....	30
Cuadro 4.1. Características físicas de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	34
Cuadro 4. 2. Agua absorbida (mililitros en 100 semillas) durante 29 horas de imbibición de 20 genotipos de trigo harinero tolerante a salinidad.....	36
Cuadro 4.3. Cuadrados medios de las variables estudiadas en la prueba capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	38
Cuadro 4.4. Cuadrados medios de las variables estudiadas en la prueba de envejecimiento acelerado de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	38
Cuadro 4.5. Efecto de cuatro concentraciones sobre la calidad fisiológica de semillas de trigo tolerante a salinidad antes y después del envejecimiento acelerado.....	40
Cuadro 4.6. Pendiente de la regresión lineal de 20 genotipos de trigo tolerante a salinidad.....	47
Cuadro 4.7. Cuadrados medios de gliadinas y gluteninas de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	58
Cuadro 4.8. Coeficientes de correlación de 19 variables evaluadas en 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	65
Cuadro A1. Medias Tukey de las variables evaluadas después de la prueba de Capacidad de germinación de 20 genotipos y una variedad de trigo tolerantes a salinidad. ....	86
Cuadro A2. Medias Tukey de las variables evaluadas después del envejecimiento acelerado de 20 genotipso y una variedad de trigo tolerantes a salinidad. ....	87
Cuadro A3. Medias Tukey de contenido de gluteninas y gliadinas en 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	87

## INDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 Partes del equipo de electroforesis vertical.....	28
Figura 4.1. Tasa de imbibición de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad representada por el peso de 100 semillas durante 29 horas.....	35
Figura 4.2. Plántulas normales antes y después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	42
Figura 4.3. Longitud media de plúmula (LMP) antes y después de 48 horas de envejecimiento acelerado (LMPEA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	44
Figura 4.4. Longitud media de radícula (LMR) antes y después de 48 horas de envejecimiento acelerado (LMREA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	45
Figura 4.5. Miligramos/plántula de Peso seco (PS) antes y después de 48 horas de envejecimiento acelerado (PSEA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	48
Figura 4.6. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	49
Figura 4.7. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	49
Figura 4.8. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula de 20 genotipos tolerantes a salinidad.....	51
Figura 4.9. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	52
Figura 4.10. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de radícula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	53
Figura 4.11. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de radícula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	54
Figura 4.12. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	56
Figura 4.13. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	57
Figura 4.14. Gliadinas y gluteninas de 20 genotipos evaluados .....	59
Figura 4.15. Gluteninas en gel de poliácridamida de 20 genotipos evaluados .....	61
Figura 4.16. Gliadinas en gel de poliácridamida de 20 genotipos	

evaluados.....	61
Figura A1. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	74
Figura A2. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas anormales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	75
Figura A3. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las semillas sin germinar en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	76
Figura A4. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	77
Figura A5. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas anormales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	78
Figura A6. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las semillas sin germinar después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	79
Figura A7. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	80
Figura A8. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de plúmula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	81
Figura A9. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de radícula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	82
Figura A10. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de radícula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	83
Figura A11. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	84
Figura A12. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.....	85

## INTRODUCCIÓN

La presencia excesiva de sales solubles en el suelo es definido como salinidad, que provocan desbalances en las plantas debido al efecto osmótico negativo para las raíces, la toxicidad de los iones y el desequilibrio nutricional de la planta por competencia entre éstos; lo que afecta la producción agrícola en todo el mundo.

El programa Ambiental de las Naciones Unidas estima que el 20% de tierras agrícolas y el 50% de la superficie cultivable en el mundo tiene un estrés por sal.

Son varias las causas de la salinidad en los suelos, por mencionar unos, el material parental que origina estos, el uso excesivo del agua en los distritos de riego a lo largo de los años, así como la cercanía a fuentes de aguas saladas entre otras.

Algunas soluciones al problema incluyen el manejo del suelo, mediante empleo de tecnologías de manejo del suelo y labores culturales, pero cabe mencionar que la opción a largo plazo es la selección de plantas tolerantes a este estrés, aprovechando que de forma natural existen cultivos tolerantes a la salinidad en las gramíneas.

Por lo que corresponde a trigo, éste es medianamente tolerante a la salinidad, y actualmente a nivel mundial se incluye en programas de mejoramiento la tolerancia a salinidad, por ser una alternativa para aquellos suelos que han sido afectados por este fenómeno, como el caso en México de los distritos de riego de Sonora, Sinaloa y Guanajuato, así como Baja California Sur, Michoacán y Jalisco, estados donde el cultivo del trigo es importante a nivel nacional.

La selección de genotipos tolerantes a salinidad puede realizarse en la fase de germinación, por lo que existe la posibilidad de trabajar en laboratorio, pero no existe todavía un consenso en la metodología para desarrollar estos ensayos. Trabajos llevados a cabo han mostrado relación entre el comportamiento de la germinación de las semillas en soluciones salinas y el desarrollo en campo en algunos cultivos. Tal es el caso de la cebada, donde la susceptibilidad a la sal es más crítica que en el estado vegetativo, por lo que se debe estudiar cada fase del cultivo con el que se trabaje, en el caso del trigo se han hecho pocos trabajos con respecto a esto, en particular lo referente a la evaluación en laboratorio, por eso el presente trabajo tiene como:

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar la calidad física, fisiológica y bioquímica de 20 genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) aplicando cuatro concentraciones de sal NaCl bajo condiciones de laboratorio.

### Objetivos específicos

1. Determinar la respuesta fisiológica frente a estrés salino de 20 genotipos de trigo con 4 concentraciones de NaCl.
2. Cuantificar y diferenciar las proteínas presentes en los genotipos por espectrofotometria y SDS-PAGE.
3. Determinar la relación entre la calidad física, imbibición, calidad fisiológica y cantidad y tipo de proteínas presentes en semillas de 20 genotipos de trigo harinero.
4. determinar la relación entre variables evaluadas en los 2 genotipos estudiados.

## Hipótesis

Al menos un genotipo presenta un comportamiento fisiológico sobresaliente frente al estrés de NaCl y éste tiene relación con las características físicas y bioquímicas de las semillas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Salinidad

La salinidad del suelo es uno de los factores abióticos más negativos para la productividad de los cultivos, ya que afecta millones de hectáreas a nivel mundial (Szabolcs, 1989) y no existen cifras certeras de su magnitud, el programa Ambiental de las Naciones Unidas estima que el 20% de tierras agrícolas y el 50% de la superficie cultivable en el mundo tienen un estrés por sal. A pesar de las discrepancias en las cifras, debido a que se trata de meras estimaciones y no a al resultado de una cartografía adecuada, la dimensión del problema es importante ya que, junto a la sequía, es el factor abiótico que produce un mayor descenso en el rendimiento de los cultivos (Flowers and Yeo, 1995).

Schaller *et al.*, (1981) mencionan que las soluciones al problema de la salinidad son lógicamente multidisciplinarias, incluyendo tanto medidas de tipo tecnológico (sistemas de riego más eficientes, instalación de drenajes, aplicación de enmiendas físicoquímicas, etc.), como medidas de tipo agronómico (fertilización, manejo del riego, densidades de siembra, etc.). En este contexto, la selección de plantas especialmente adaptadas a condiciones salinas se plantea como una de las soluciones a medio/largo plazo para rentabilizar los sistemas agrícolas afectados por la salinidad, siempre que el cultivo de estas plantas mejoradas no conduzca a la salinización progresiva e irreversible de los suelos y de las aguas,

estos autores han sugerido realizar la selección de genotipos en la fase de germinación debido a la posibilidad de trabajar en laboratorio, ya que encontraron abundante variabilidad en la tolerancia en dicha fase en cebada.

Por otra parte, a pesar de la amplia información existente acerca del efecto de la salinidad sobre los cultivos, no existe todavía un consenso generalizado en muchos puntos fundamentales a la hora de abordar un programa de mejora para condiciones salinas, ello puede deberse a que, si bien se conocen de forma bastante precisa los mecanismos que confieren tolerancia a las plantas halófitas, no sucede lo mismo con las glicófitas, grupo en el que se encuentran la mayor parte de las plantas cultivadas. A pesar de que se han realizado numerosos trabajos para determinar el grado de tolerancia de distintos cultivos a la salinidad, la información acerca de la variabilidad intraespecífica en los cultivos es mucho más escasa, esta falta de consenso se refleja en aspectos tales como: (1) las discrepancias respecto a efectuar una selección empírica basada en el rendimiento o una selección basada en los caracteres que confieren tolerancia, (2) el ambiente en el que debe efectuarse la selección, que puede ser en condiciones naturales o en condiciones controladas de salinidad del suelo, así como el nivel salino a emplear y (3) discrepancias incluso en la conveniencia de llevar a cabo programas específicos de mejora por salinidad, ya que se argumenta que los genotipos que mayor rendimiento tienen en condiciones no salinas son también los más productivos bajo condiciones salinas (Isla, 1996).

## **Medición de la salinidad**

Desde el punto de vista agronómico la salinidad se expresa en términos de conductividad eléctrica debido a que el agua que contiene sales disueltas como la de los suelos conduce la corriente aproximadamente en proporción a la cantidad de sales presente. Tomando como base este principio, las mediciones de la conductividad eléctrica de un extracto dan una indicación casi exacta de la concentración total de constituyentes ionizados (Rodríguez y Rodríguez, 2002).

El  $\text{mmhos cm}^{-1}$  es utilizado para expresar el contenido salino de un suelo y es numéricamente igual a  $\text{dS m}^{-1}$  (decisiemens por metro), mientras que  $\text{micromhos cm}^{-1}$  es una unidad muy común para el contenidos de sales del agua, ya que la mayoría de las aguas utilizadas con fines de riego se encuentran por debajo o muy cerca de  $1 \text{ dS m}^{-1}$  o  $1 \text{ mmhos cm}^{-1}$  ( $1 \text{ mmhos cm}^{-1} = 1 \text{ dS m}^{-1} = 0,64 \text{ gr l}^{-1} = 640 \text{ mg l}^{-1}$ ) (Báez, 2002).

En el aspecto fisiológico la salinidad se expresa como concentración de sales en unidades milimolar (mM) (khan & Ungar, 1996; Alam *et al.*, 2006) o molar (M) (Jeannette *et al.*, 2002; Dell'Alquila & Spata, 1993) para referirse al efecto del estrés salino en la respuesta de las plantas, en la germinación de la semilla por ejemplo. La Molalidad también suele mencionarse como  $\text{mol m}^{-3}$  (Mahalati *et al.*, 2005; Hameed *et al.* 2005) para referirse a la concentración de NaCl. Y en estudios anteriores Bishnoi & Pancholy (1980) hicieron referencia al porcentaje de NaCl para comparar el comportamiento de tolerancia a la salinidad en triticale, trigo y arroz.

## Potencial de agua

El movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera es debido al contenido de energía libre del agua, el cual decrece progresivamente debido al paso del suelo, vía el xilema y la hoja a la atmósfera. Se define como potencial de agua a la energía libre por unidad de volumen de agua, asumiendo que el potencial del agua pura es cero bajo condiciones estándares, el potencial del agua incrementa con la temperatura y con solutos disueltos es mas bajo que el del agua pura (Fitter & Hay, 1981).

En el sistema suelo-planta-atmósfera, los potenciales de agua son usualmente negativos y el agua fluye a aquellas regiones con valores más negativos. La transpiración rápida del árbol *Stika spruce*, de 10 metros de altura, el agua fluye hacia arriba, pero el potencial de agua cambia, de -0.4 bar en el suelo a -15 bar en los tallos terminales en la copa del árbol (Fitter & Hay, 1981).

El agua es esencial para la rehidratación de las semillas ya que es el primer paso hacia la germinación, la cantidad de agua absorbida por la semilla depende de varios factores (tamaño, contenido de humedad, etc.) pero en términos absolutos esta es bastante pequeña y frecuentemente no puede exceder 2-3 veces el peso seco de la semilla (Bewley & black, 1983). Si el potencial osmótico de la solución es mas grande que el potencial de crecimiento del embrión, la germinación de la semilla no ocurre (Baskin & Baskin, 1998).

El potencial del agua es medido en unidades de presión, la presión es una fuerza por unidad de superficie y puede expresarse en unidades tales como pascal, bar,

atmósferas, kilogramos por centímetro cuadrado y psi (libras por pulgada cuadrada). En el Sistema Internacional (S.I.) esta normalizada en pascal, el cual es 1 newton por metro cuadrado ( $1 \text{ N/m}^2$ ), siendo el newton la fuerza que aplicada a un cuerpo de masa 1 kg, le comunica una aceleración de  $1 \text{ m/s}^2$  (Hewit, 1996). Como el pascal es una unidad muy pequeña, se emplean también el kilopascal ( $1 \text{ kPa} = 10^3 \text{ Pa}$ ) (Hewit, 1996), el megapascal ( $1 \text{ MPa} = 10^6 \text{ Pa}$ ) (Fitter and Hay, 1981) y el gigapascal ( $1 \text{ GPa} = 10^9 \text{ Pa}$ ). En la industria se utiliza también el bar ( $1 \text{ bar} = 10^5 \text{ Pa} = 1,02 \text{ kg/cm. cuadrado}$ ) (Aguilera & Martínez, 1996) y el  $\text{kg/cm}^2$  tiene un uso todavía muy extendido, pero se emplea cada vez con menos frecuencia (<http://www.monografias.com>).

En el presente trabajo las unidades mayormente mencionadas son el MPa y el bar.

### **Salinidad en los cultivos**

En lo referente al efecto de la salinidad en las plantas, Pasternak (1987) separó tres tipos de estrés sobre los cultivos: (1) disminución del potencial hídrico del suelo debido a una disminución del componente osmótico; (2) toxicidad iónica específica debida a un exceso de iones tales como el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}_2^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ; (3) desequilibrios nutricionales que dificultan la absorción de determinados iones como el  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{NO}_3^-$ .

Tanto la sequía como la salinidad resultan en estrés osmótico, que inhibe el crecimiento y causa perturbaciones a nivel metabólico. El reconocimiento de los mecanismos bioquímicos y fisiológicos involucrados en la osmorregulación ante

estrés osmótico permite implementar nuevas estrategias para el manejo y mejoramiento de los cultivos en condiciones de estrés hídrico y salino. El transporte de agua por acuaporinas, el cierre estomático, la síntesis de osmolitos compatibles, el transporte de iones a través de sistemas selectivos de sodio y potasio y los no selectivos localizados en las membranas biológicas y la extrusión y compartimentalización de sodio, son mecanismos reconocidos en las plantas para adaptarse y tolerar cambios en el potencial hídrico. La osmorregulación da a las plantas capacidad para tolerar condiciones de escasez de agua y salinidad elevada, con la expresión de mecanismos adaptativos que evitan disminución de la fotosíntesis, alteraciones en la traslocación y distribución de fotoasimilados y pérdidas en rendimiento, hechos significativos en el funcionamiento normal de la planta y en la productividad de los cultivos (Rodríguez, 2006).

En etapas específicas, Ashraf & Foolad (2005) mencionan que la germinación rápida de la semilla y el establecimiento son factores críticos para la producción bajo condiciones de estrés de sal. En muchas especies, la germinación de la semilla y el crecimiento temprano de la plántula son las etapas más sensibles para el estrés por salinidad. La salinidad puede retardar el comienzo, conduciendo a las reducciones en el crecimiento de la planta y el rendimiento final del cultivo y que el estrés salino puede ser aliviado mediante la imbibición de la semilla con cantidades restrictivas de agua para permitir la suficiente hidratación y desarrollo del proceso metabólico pero previniendo la germinación o pérdida de tolerancia al desecado.

Por lo anterior, autores han conducido experimentos para evaluar la tolerancia a salinidad en la etapa de germinación de cultivos empleando sales como KCL,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , NaCl a diferentes concentraciones o incluso el uso de agua subterránea, para crear un potencial osmótico adverso para el desarrollo de las plántulas, éstos se describen a continuación.

En el caso de maíz, Mara *et al.* (2006) evaluaron el efecto del estrés del agua y sales sobre las semillas y plántulas de tres cultivares de maíz palomero. Las semillas se sembraron en papel imbibido con cloruro de potasio (KCL), se utilizaron cinco niveles de potencial osmótico: 0.0 (control); -0.1; -0.3; -0.6 y -0.9Mpa. Los resultados indican que la reducción del potencial osmótico reduce el comportamiento de las semillas de maíz.

Por su parte Méndez, *et al.* (1997) evaluaron el efecto de cinco potenciales osmóticos creados con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sobre la capacidad de germinación de las semillas y posterior crecimiento de las plántulas de tres híbridos de maíz. Los potenciales osmóticos de 0, -3, -6, -9 y -12 bares se obtuvieron agregando 0,00; 21,54; 43,02; 64,56 y 86,10 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , respectivamente, en un litro de agua. Estos autores encontraron que para el porcentaje de germinación, altura de plántula, peso seco del vástago y peso seco de la radícula, la relación altura de plántula/longitud de radícula y la relación peso de vástago/peso de radícula, la interacción fue no significativa, mientras que para el número de hojas/plántula y longitud de la radícula la interacción cultivares x potenciales osmóticos fue significativa. El porcentaje de germinación se incrementó 9,45 % a -3 bares, para luego disminuir con incrementos del potencial, la germinación se redujo 83,72 y 73,28 % a -9 y -12 bares, respectivamente.

Musito *et al.* (2004) en el laboratorio se evaluaron la longitud de la radícula y la plúmula en cinco niveles de salinidad (0, 3, 6, 9, 12 decisiemens). En el trabajo no se detectó una tendencia significativa en laboratorio. No hubo una tendencia descendente respecto a la longitud radicular, que a medida que se incrementara el nivel de salinidad, la longitud radicular se redujera. Los genotipos que en campo mostraron el mayor rendimiento, no fueron los que obtuvieron el mejor comportamiento en laboratorio, lo cual pudo deberse a la interacción de los genotipos con el ambiente, principalmente con la temperatura que propicia un mayor daño de salinidad a las plantas.

Para el caso de variedades de alfalfa Figueroa *et al.*, (2005) en el INIFAP, desarrollaron una Metodología para evaluar la tolerancia a salinidad de cultivos en etapas tempranas de desarrollo. Los tratamientos se formularon con agua subterránea para uso agrícola con una conductividad eléctrica (CE) de  $10.1 \text{ dS m}^{-1}$ , diluida con agua para uso doméstico ( $\text{CE} = 0.9 \text{ dS m}^{-1}$ ). La germinación se evaluó en cajas Petri y la etapa de plántula en envases de un litro con perlita como sustrato y solución nutritiva. La germinación fue altamente afectada en la mayoría de las variedades. La variable materia seca en parte aérea tuvo una relación lineal con la salinidad, excepto en una variedad.

La temperatura es un factor que influye en la respuesta a la salinidad Khan & Ungar, (1996) realizaron un experimento con *Haloxylon recurvum* Bunge ex. Boiss. para determinar el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la germinación de las semillas. Los resultados indican que la germinación de *H. recurvum* disminuyó con el incremento en la salinidad y fue sustancialmente

inhibido en 500mM (menos del 10%). Sin embargo, el porcentaje más alto de germinación se obtuvo con agua destilada, y los termoperiodos fríos (10-20°C) promovieron la germinación mientras que las altas temperaturas (25-35°C) la inhibieron significativamente en todas las concentraciones de NaCl probadas (100, 200, 300, 400 y 500 mM).

Junto con el autor anterior, otros investigadores han realizado trabajos utilizando NaCl debido a que la salinidad de los suelos suele estar asociada a elevadas concentraciones de dicha sal, algunos se han centrado en la búsqueda de relaciones entre tolerancia a la salinidad y concentración de Na<sup>+</sup> y Cl en diferentes partes de la planta y en distintos momentos a lo largo de su ciclo de desarrollo. Así, se ha encontrado una asociación entre exclusión de Na<sup>+</sup> y tolerancia en cebada (Islas, 1996).

En arroz, Alam *et al.*, (2006) evaluaron la respuesta de germinación y crecimiento temprano de la plántula para niveles de salinidad (0, 50, 100, 150, 200 y 250 mM NaCl) en lotes individuales de semilla de diez genotipos modernos. Semillas de arroz nuevo y deteriorado fueron germinadas en toallas enrolladas del papel y en cajas Petri. Las pruebas de los genotipos de arroz difirieron en su calidad inicial de la semilla. El efecto de deterioro varió dependiendo de la calidad inicial de la semilla y la severidad del tratamiento impuesto. El envejecimiento (usando la técnica de deterioro controlado, (DC)) por 24 h no tuvo efecto en niveles finales de germinación. Aunque el DC por 30 h únicamente redujo ligeramente la germinación final, el envejecimiento durante 36 o 48 h la redujo grandemente. El deterioro controlado por 36 h o más redujo la relación de la extensión de la

plúmula y radícula. Combinando la información acerca de la germinación en la solución de sal con la calidad de la semilla permitió una distinción hecha entre variedades que se comportaron pobremente porque fueron genéticamente susceptibles a la sal de esas que germinaron pobremente debido a la escasa calidad de la semilla. Se argumenta que el vigor de la semilla de los lotes usados en la evaluación de genotipos debería ser evaluado para evitar descartar genotipos potencialmente útiles debido a la pobre calidad fisiológica de la semilla.

En cebada, Jaradat *et al.*, (2004) realizaron un experimento con 2308 genotipos, en la parte de laboratorio sometieron a la semilla a 0 y 20 dS m<sup>-1</sup> con NaCl durante 10 días, encontraron que el porcentaje de germinación final a 20dS m<sup>-1</sup> tuvo una correlación negativamente significativa. En promedio el peso seco de plántula y el número de raíces por plántula se redujo drásticamente en respuesta al estrés por salinidad.

En frijol, Jeannette *et al.* (2002) evaluaron la tolerancia a la salinidad durante la germinación y desarrollo de plántulas de 24 materiales de frijol de cuatro especies silvestres y cuatro materiales de frijol común con concentraciones de 0, 60, 120 y 180 mM de NaCl. Los resultados mostraron que la biomasa de la radícula y el hipocotilo decrecieron con el incremento en la salinidad. Algunos materiales silvestres germinaron más rápido en condiciones de salinidad.

Bishnoi & Pancholy (1980) determinaron el efecto de seis niveles de la salinidad (NaCl de 0 al 2%) en la germinación de los triticales Beagle y de 6TA 131 en comparación con trigo y centeno, lo cuales fueron determinados en 15-20°C. El

triticale Beagle y el centeno demostraron tendencias similares en la reducción de la germinación conforme la salinidad se incrementa a partir de 0 a 1.5% NaCl y exhibieron tolerancia bastante alta a la sal. Sin embargo, el triticale 6TA 131 y el trigo demostraron una caída significativa en la germinación incluso en concentración 0.5% de NaCl y fueron más susceptibles a lesión por sal.

En lo referente a trigo, Mahalati *et al.*, (2005) realizaron un experimento para determinar la etapa fenológica mas sensitiva a través de la estación de crecimiento, de 2 hojas a la etapa de floración y de 2-hojas al final de la antesis del trigo en salinidad (0, 100, 200 y 300 mol/m<sup>-3</sup>). El número de semillas por espiga fue más sensible a la salinidad que peso de la semilla. La sensibilidad del trigo a la salinidad disminuyó durante el período de llenado del grano. El número de flores estériles por espiguilla fue más sensible que el número de espiguillas por espiga.

Por su parte Kemal (1988) realizo experimentos con solución nutritiva en invernadero, para estudiar los efectos de salinidad en la fotosíntesis neta y parámetros relacionados, concentraciones iónicas de hojas seleccionadas, presión osmótica de la savia, relación de la extensión de la hoja, densidad estomatal, peso específico de la hoja y características agronómicas, en 4 variedades de trigo de primavera. No hubo tendencias en fotosíntesis neta, tasa de transpiración, conductancia estomática y concentración de dióxido de carbono sub-estomatal de la tercera inserción de hoja hasta la hoja bandera, la salinidad tuvo poco efecto en la fotosíntesis pero un gran efecto en el rendimiento del grano y las producciones de materia seca, sugiriendo que los efectos de salinidad en la fijación de carbono no fueron directamente responsables de la disminución del

rendimiento. Aumentaron las concentraciones de sodio en la hoja, cloro, ortofosfato y presión osmótica de la savia y disminución del nitrato de la hoja y concentraciones de sulfato. El potasio de la hoja no fue afectado. La salinidad también redujo altura de la planta, peso de paja, peso del grano e índice de cosecha e incremento la relación tallo/raíz.

Rana & Richard (2003) aplicaron solución 150mM de NaCl en trigo tetraploide, se definió como tolerancia a salinidad a las diferencias fenotípicas en producción de biomasa en condiciones de salinidad y no salinidad durante periodos prolongados de 3 a 4 semanas. En su experimento corto (1 semana) se midió la biomasa o la elongación de las hojas. Se encontró que grandes decrementos en la tasa de crecimiento fueron debidos al efecto osmótico de la sal pero con pocas diferencias genotípicas, aunque sí hubo diferencias genotípicas en los experimentos largos. Los autores mencionan que la exclusión de Na<sup>+</sup> se correlacionó muy bien con la tolerancia a salinidad en subspecies de *T. durum*, y la discriminación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> correlacionó poco. Ambas características fueron independientes de la temperatura de raíz y los factores que pueden influir los rangos de transpiración tales como el nivel de luz. En otras cuatro subspecies de *T. Turgidum* no hubo correlación entre la tolerancia a salinidad y la acumulación de Na<sup>+</sup> o discriminación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, por lo que se examinaron otras características. Se determinó indirectamente la característica de tolerancia a altas concentraciones de Na<sup>+</sup>, mediante la medición de la retención de clorofila.

Con lo referente a la semilla de trigo, Grieve & Francois (1992) realizaron un estudio para determinar si las ventajas que frecuentemente tienen el tamaño de semilla inicial en cereales en términos de vigor y mayor productividad, persisten cuando el cultivo es sometido a salinidad. Dos cultivares de trigo rojo de semilla

de dos tamaños fueron establecidos en invernadero. El riego fue con soluciones con NaCl y CaCl<sub>2</sub> (relación 2:1 molar) y con potenciales de -0.05, -0.55, y -0.70 Mpa. Se observó que el rendimiento de las semillas pequeñas fue menor que las semillas grandes cuando estuvieron sometidas al estrés.

Hameed *et al.* (2005) emplearon diferentes técnicas de remojo de las semillas de trigo por 24 horas en agua destilada, endurecimiento por 12 horas (1 ciclo), con matriz de arcilla por 24 horas y tratamiento de la semilla con 100 mol m<sup>3</sup> CaCl<sub>2</sub> 50 mol m<sup>3</sup> NaCl, 25 mol m<sup>3</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> por 24 horas. Se sometieron a 15 dS/cm bajo condiciones controladas. Todos los tratamientos disminuyeron el efecto adverso del estrés por sal en la etapa de emergencia de la hoja. El remojo en agua y el tratamiento con NaCl tuvieron un tiempo promedio significativamente mas bajo de emergencia, tallos más altos y raíces mas largas, peso seco de plántulas y días a 50% de germinación que aquellos tratados con otras sales o con la arcilla. Los autores concluyeron que el tratamiento de semillas con agua destilada o NaCl induce cambios fisiológicos en la semilla contra las condiciones de estrés por sal y puede ser usada para inducir tolerancia a la salinidad en trigo.

Soltani *et al.*, (2004) realizaron una investigación con el objetivo de identificar el componente sensible del crecimiento de plántula en respuesta al estrés por sequía y salinidad. En el caso de salinidad se empleo NaCl (0, 0.4, 0.8, 1.2 y 1.6 MPa), se usaron dos cultivares de trigo y se encontró que el crecimiento de plántula, la fracción de la reserva de la semilla utilizada y el peso de la reserva de la semilla movilizada decreció con el incremento en el estrés por salinidad. Sin embargo, el estrés no afecto la eficiencia de conversión. Por lo tanto, los esfuerzos en mejoramiento genético deben enfocarse en mejorar la movilización

de las reservas de las semillas para incrementar el crecimiento de las plántulas bajo estrés por sequía y salinidad

Dell'Aquila & Spada (1993) realizaron un estudio de el efecto del estrés salino sobre la síntesis de proteínas en embriones en germinación de semillas de trigo. Probaron dos genotipos con diferente sensibilidad a sal, éstos fueron imbibidos en 0.4 M de NaCl por 72hr o 48hr y entonces transferidos a agua. Se determinó la germinación, el peso fresco y la síntesis de proteína en embriones. Los resultados obtenidos por los autores muestran una reducción en la germinación y sugieren que la expresión de las proteínas frente al estrés salino está relacionada con el proceso de adaptación de las semillas a la salinidad así como a la constitución genética de un genotipo seleccionado a tolerancia a la salinidad.

### **Gluteninas y gliadinas**

La calidad del trigo para pan (*Triticum aestivum* L.) depende de la calidad y cantidad de las proteínas del gluten -gluteninas y gliadinas- las cuales constituyen 10 a 14% de las proteínas del grano. Varios parámetros cuantitativos, como el contenido total de proteínas de la harina, el contenido de proteínas poliméricas presentes en el grano y la proporción de gluteninas y gliadinas, están relacionados a la calidad panadera (Díaz *et al.*, 2006).

En trigos hexaploides y candeales la calidad industrial está determinada por un componente ambiental y por un componente genético (composición de proteínas de reserva del endospermo o gluten). Dentro de estas proteínas, las gluteninas y gliadinas son los principales determinantes de las propiedades visco-elásticas del

gluten en el proceso de elaboración del pan, pastas, bizcochuelos, etc ([www.ergonomix.com/utilización\\_marcadores\\_moleculares](http://www.ergonomix.com/utilización_marcadores_moleculares)).

Las gluteninas son subunidades poliméricas que forman extensos entramados en la masa de harina mediante uniones tipo puentes disulfuro. Estas subunidades se clasifican según su movilidad en electroforesis desnaturalizante (SDS-PAGE) en gluteninas de alto y bajo peso molecular (HMWGs y LMWGs) ([www.ergonomix.com/utilización\\_marcadores\\_moleculares](http://www.ergonomix.com/utilización_marcadores_moleculares)).

Las gliadinas son proteínas monoméricas que según su movilidad electroforética a pH ácido (A-PAGE) se clasifican en gliadinas, en orden decreciente de movilidad. En la región electroforética correspondiente a - gliadinas, también puede aparecer un tercer grupo de proteínas conocidas como secalinas, codificadas por la translocación de centeno 1BL/1RS ([www.ergonomix.com/utilización\\_marcadores\\_moleculares](http://www.ergonomix.com/utilización_marcadores_moleculares)).

### **Electroforesis SDS-PAGE**

La electroforesis es la migración de solutos iónicos bajo la influencia de un campo eléctrico; estas partículas migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos - y +), en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura tridimensional (García, 2000).

El medio en el cual puede realizarse electroforesis es la poliacrilamida, un soporte empleado frecuentemente en electroforesis en gel, es químicamente inerte, de propiedades uniformes, capaz de ser preparado de forma rápida y reproducible.

Forma, además, geles transparentes con estabilidad mecánica, insolubles en agua, relativamente no iónicos y que permiten buena visualización de las bandas durante tiempo prolongado. Además tiene la ventaja de que variando la concentración de polímeros, se puede modificar de manera controlada el tamaño del poro (García, 2000)

Los geles de poliacrilamida se forman por la polimerización vinílica del monómero acrilamida  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$  y del monómero entrecruzador N, N'-metilen-bis-acrilamida  $\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CO} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH} = \text{CH}_2$ . La polimerización se inicia con la formación de radicales libres del monómero, que se producen por radicales libres de oxígeno, por causa de la acción de iones persulfato. Las aminas terciarias como el N, N, N, N'-tetrametilen-diamina (TEMED) se emplean como catalizadores de esta reacción, porque causan la formación de radicales libres del persulfato. Esta reacción es fuertemente inhibida por altos niveles de oxígeno, por lo que la solución debe ser desgasificada para lograr una formación de gel reproducible. Hay muchos factores que desempeñan una función importante en la separación electroforética, como son pH, fuerza iónica, gradiente de potencial, tiempo de corrida, concentraciones de acrilamida y bis-acrilamida, etc. Las condiciones óptimas de una buena separación, en la práctica se determinan experimentalmente, con el análisis de cómo influyen los diferentes factores en la electroforesis en cuestión. La naturaleza de la muestra sirve de guía para alcanzar las condiciones en la que se deben obtener los mejores resultados (García, 2000).

La electroforesis con SDS es un excelente método para identificar y monitorear las proteínas durante un proceso de purificación; también se emplea para la

determinación del peso molecular de las subunidades de proteínas. La estructura del detergente SDS empleado en esta variación de la electroforesis en gel de poliacrilamida es  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2 = \text{SO}_3\text{-Na}^+$ . El anión se une a las proteínas por absorción no específica (aproximadamente una molécula de SDS por cada dos residuos de aminoácidos, con una relación SDS/proteína máximo de 1,4 g/g). El SDS desnaturaliza por completo las proteínas y rompe las interacciones no covalentes que determinan la estructura terciaria y cuaternaria. Los grupos alifáticos dodecil se colocan en el interior, mientras que los grupos sulfato en la superficie y todos los complejos SDS-proteína toman carga neta negativa (que excede la carga intrínseca de las cadenas de aminoácidos). Las proteínas reaccionan con SDS a relativamente alta concentración, pero se ha demostrado que 0,4 % de SDS es el nivel mínimo necesario para saturar los sitios de unión de la proteína, sin embargo, se emplea 1 % para lograr un margen de seguridad (García, 2000).

Existe mucha información sobre la relación entre la calidad panadera de la harina y las bandas de gliadinas y gluteninas en geles de poliacrilamida, los reportes de Gupta & MacRitchie (1991) concluyen que éste método es eficiente para seleccionar genotipos con gluteninas de alto y bajo peso molecular asociados con mejores características de la harinas. Jackson *et al.* (1996) y Branlard *et al.* (2003), propusieron una nomenclatura para los patrones electroforeticos en los alelos de genes como una guía para identificación de bandas de gluteninas de alto y bajo peso molecular y de gliadinas relacionadas con calidad de harina, instituciones como el CIMMyT realiza este tipo de trabajos para la identificación

de genotipos que puedan usarse en el mejoramiento del trigo (Peña, 2007. Comunicación directa,).

Para el caso de marcadores fisiológicos con el uso de bandeo, no hay mucha información. Dell' Alquila (1994) menciona que para tener una herramienta de identificación de tolerancia al deterioro, en semillas sobrevivientes algunos nuevos polipéptidos (84.9-69.5 y 66.6-60.2KDa) sintetizados pueden ser tomados como marcadores valiosos. Y Iglesias & González (1995) realizó un estudio con SDS-PAGE y 0, 0.4 y 0.7 % de NaCl en dos variedades de arroz, los autorradiogramas de tejido radial mostraron la presencias de algunas bandas de bajo peso molecular (26000 y 16000 Da) que al parecer se indujeron en las condiciones de estrés.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Ensayos de semillas “MSc. Leticia A. Bustamante García” del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología y Semillas (CCDTS), ubicado en la ciudad de Saltillo, México y cuyas coordenadas son, a los 25° 22 de Latitud Norte y 101° 00 de Longitud Oeste, con una altitud de 1742 msnm.

### **Tratamientos**

Se emplearon cuatro tratamientos, consistentes en concentraciones de cloruro de sodio (NaCl): 100, 200, 300 y 400 mM (5.85, 17.55, 23.4 y 29.25 g de NaCl grado reactivo, en un litro de agua destilada) aplicando 100ml de las cuatro concentraciones a cada genotipo durante 24 horas

### **Material genético**

Los genotipos empleados fueron 19 líneas y un testigo comercial, considerados como tolerantes a salinidad, líneas generadas en el programa de cereales de la UAAAN, todos los materiales fueron cultivados en Zaragoza, Coahuila en el ciclo O-I 2007, cuya semilla se utilizó en el presente trabajo e identificados en el cuadro siguiente:

<b>Genotipo</b>	<b>Identificación</b>
AN-1	1
AN-2	2
AN-3	3
AN-4	4
AN-5	5
AN-6	6
AN-7	7
AN-8	8
AN-9	9
AN-10	10
AN-11	11
AN-12	12
AN-13	13
AN-14	14
AN-15	15
AN-16	16
AN-17	17
AN-18	18
AN-19	19
Bacanora	B

### **Variables evaluadas**

#### **Calidad física**

*Peso volumétrico.* Se realizó mediante el uso de un recipiente de volumen conocido, dejando caer la semilla desde una altura de 10 cm y eliminando el exceso con un regla, y pesando la cantidad de semilla en una balanza granataria de 0.001 g de precisión se reportó el resultado en peso hectolítrico (Kg/Hl).

*Peso de mil semillas.* Tomando ocho repeticiones de 100 semillas al azar, se pesaron y se obtuvo el promedio para luego calcular el peso de 1000 semillas y el coeficiente de variación.

*Contenido de humedad.* Se determinó con el método indirecto en el determinador de humedad Motomco marca 919, utilizando 250 g de muestra por cada genotipo.

### **Tasa de imbibición**

Se realizó una prueba de Imbibición a todos los genotipos utilizando tres repeticiones de 100 semillas de cada genotipo, tomando el peso inicial de la semilla, se agregaron 100 ml de agua por repetición, dejando reposar por cuatro horas, se calculó la cantidad de agua absorbida en mililitros así como el peso adquirido en gramos durante ese tiempo.

Una vez evaluado lo anterior, se llevó nuevamente a un volumen de 100 ml de agua limpia, repitiendo el proceso cada cuatro horas, hasta observar una germinación fisiológica del 50% más uno en cada repetición, el peso final se expresó en gramos por 100 semillas y la cantidad de agua absorbida en mililitros.

A partir del peso adquirido se calcularon los mililitros de agua absorbida por las 100 semillas, restando del peso adquirido después de cuatro horas de imbibición el peso inicial, y del tercer peso el segundo y así sucesivamente hasta tener la diferencia entre lecturas y sumando estos valores se obtuvo el valor de agua imbibida en mililitros durante 29 horas. Sin embargo el tratamiento se aplicó a los 24 horas debido a la referencia en el trabajo de Duarte *et al.* (2006).

## **Calidad fisiológica**

Después de aplicar el tratamiento salino se evaluó la calidad fisiológica mediante pruebas de germinación y vigor según las reglas de la ISTA (2004).

### Capacidad de germinación

Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por genotipo, en papel de germinación previamente humedecido y formando un taco por repetición e incubados en una cámara germinadora a 25°C con 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad. El conteo de plántulas normales (PN), anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG), se realizó los 7 días, evaluando conforme al manual de la Association of Oficial Seed Análisis (AOSA, 1992).

### Pruebas de vigor

Prueba de envejecimiento acelerado (EA). Se utilizó el método de la AOSA (1993), colocando 100 semillas por material en una humedad relativa de  $\pm 95\%$ , por un tiempo de 48 horas a 42°C, al finalizar el periodo de envejecimiento se realizó una prueba de germinación tal como se describió anteriormente, evaluando las misma variables que en capacidad de germinación (PNEA, PAEA, SSGEA).

Longitud media de plúmula (LMP). Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas para cada material, utilizando la metodología utilizada por Perry (1977). La evaluación se determino antes y después de la prueba de envejecimiento acelerado, tomando las plántulas normales. El número de plúmulas que quedaron entre dos paralelas se multiplicó por el valor medio en centímetros de

dichas paralelas y los productos se sumaron, la longitud total se dividió entre el nuecero de plántulas sembradas en la prueba (25 semillas).

Longitud promedio de radícula.(LMR) De las plántulas normales resultantes de la prueba de longitud media de plúmula, se evaluaron las radículas de cada una de ellas, utilizando una regla expresando el resultado en centímetros. La evaluación se determinó antes y después de la prueba de envejecimiento acelerado.

Tasa de crecimiento de plántula (peso seco - PS -). Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas de cada genotipo, de acuerdo a la metodología descrita por la AOSA (1993 y 1992). La evaluación se determinó antes y después de la prueba de envejecimiento acelerado, donde se realizó la siembra de la semilla a formar tacos como la capacidad de germinación y colocándolos en las condiciones de 25°C con 8 horas luz y 12 horas oscuridad, por 7 días; se evaluaron las plántulas normales y fueron llevadas a una estufa a  $65 \pm 1$  °C, por 24 horas; determinando el peso en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión y reportando en mg/plántula.

### **Proteínas**

Se determinaron las proteínas presentes en la semilla (glutelinas y gliadinas) por microextracción, así como su cuantificación de las mismas como se describe a continuación:

Las proteínas fueron extraídas con solventes polares de acuerdo con su solubilidad.

#### Extracción de gliadinas.

Se molió una muestra de 5 g de semilla tres repeticiones de cada genotipo en un mortero y se colocaron 30 mg en un tubo ependorf, se le añadieron 0.25 ml de solución A (25ml de etanol al 70%, 50 mg de pironina Y/G en 100 ml de agua destilada). Se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente y se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm, se guardó el sobrenadante en otro tubo ependfor para la cuantificación de proteína.

#### Extracción de gluteninas

Al residuo que quedó en la extracción de gliadinas se le agregaron 0.5 ml de solución B (27 g de urea. 3.0 ml de mercaptoetanol y 10 g de SDS en un volumen de 100 ml de agua destilada), se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente. Se centrifugó 10 minutos a 4000 rpm, el sobrenadante se guardó en otro tubo para la cuantificación de proteína.

#### Cuantificación de proteína

Se realizó la cuantificación según la metodología de Bradford (1976), en las tres repeticiones de cada genotipo estudiado; utilizando un kit reactivo de Bradford, el cual contiene azul de coomassie, etanol y ácido ortofosfórico produciendo un reactivo ácido, el cual reacciona enlazando residuos de aminoácidos básicos y aromáticos especialmente arginina de las proteínas extraídas.

Para lectura de la concentración de proteínas se utilizó un espectrofotómetro Serie BioMate 3, para la cual se realizó el ajuste de la curva lineal de los

estándares con seroalbúmina de bovino al 10 al 100  $\mu\text{g/mL}$  a una absorbancia de 950 nm de longitud de onda; obteniendo la absorbancia y concentración en  $\mu\text{g/mL}$ .

Una vez obtenida la curva, se procedió a evaluar cada repetición de los genotipos, colocando en un tubo de ensayo 100  $\mu\text{l}$  de la proteína extraída y se le añadieron 2.5 ml de solución Bradford, dejando reposar por 5 min, y se vació el contenido en las celdas de espectrofotómetro y le evaluó la concentración en el espectrofotómetro a 950 nm de longitud de onda en absorbancia y en  $\mu\text{g/ml}$ , este proceso se realizó en las proteínas glutelinas y gliadinas.

### **Electroforesis Vertical**

A continuación se mencionan los reactivos y el procedimiento empleado en la electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) realizada con un mini-equipos Modelo Bio-Rad.

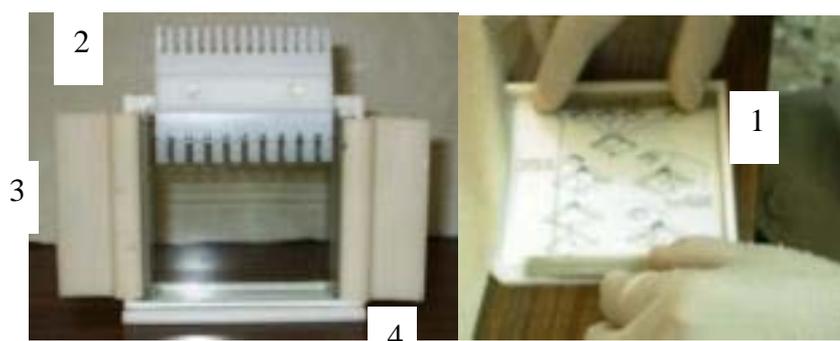


Figura 3.1 Partes del equipo de electroforesis vertical. (1) Vidrios de 1.5 mm de espesor ensamblados por tiras de polietileno, que determinan el grosor del gel; (2) Peine para formar los pozos de carga de muestras; (3) Soportes de plástico para ensamblar los vidrios; (4) Base para realizar el corrimiento del gel.

Se colocaron los vidrios uno sobre otro con dos tiras espaciadoras de polietileno de un mm en cada extremo. Luego se colocaron los vidrios en el soporte del aparato, cuidando que asentaran en los empaques de la parte inferior.

Se preparó el gel de corrida al 8.5% con los reactivos del Cuadro 3.2 y las cantidades del Cuadro 3.3, y antes de que polimerizó se vació en el espacio que existe entre los vidrios ocupando aproximadamente 2/3 de la longitud de los vidrios.

Cuadro 3.1. Reactivos para gel de corrida

<b>Acrilamida bis-acrilamida al 30%</b>		<b>Buffer 4X pH 8.5</b>	
Acrilamida	30 g	Tris-base (Tris OH)	15.1375 g
NN-bis-metilenacrilamida	1 g	SDS al 20%	2 ml
<i>Disolver en 100 ml de agua bidestilada esteril.</i>		<i>Completar a 125 ml con agua bidestilada estéril</i>	

Cuadro 3.2. Cantidades de reactivos a mezclar para el gel de corrida

<b>Gel de corrida</b>	
Acrilamida Bis acrilamida 3	4.2
Buffer 4 x pH 8.8	2.5
Temec 8.4	10 $\mu$ l
Persulfato de amonio	20 $\mu$ l

Se preparó el gel concentrador al 6.8 % con los reactivos descritos en el Cuadro 3.4 y cantidades del Cuadro 3.5 y se vació en el espacio restante, antes de que polimerizara se colocó el peine cuidando de no dejar burbujas.

Cuadro 3.3. Reactivos para el gel concentrador

<b>Acrilamida bis-acrilamida al 30%</b>		<b>Buffer 4x pH 6.8</b>	
Acrilamida	30 g	Tris-base (Tris OH)	12.11 g
NN-bis-metilenacrilamida	1g	SDS al 20%	2 ml
<i>Disolver en 100 ml de agua bidestilada esteril.</i>		<i>Completar a 100 ml con agua bidestilada estéril</i>	

Cuadro 3.4. Cantidades de reactivos para el gel concentrador

Acrilamida Bis acrilamida 30%	2.03 ml
Buffer 4 x pH 8.8	1 ml
Temec 8.4	40 $\mu$ l
Persulfato de amonio	80 $\mu$ l

Se quitaron los peines con cuidado una vez polimerizados los geles y se cargaron los pozos con 20 micro litros de muestra y se llevó a la cámara, la cual se lleno con el buffer de corrida 10x hasta cubrir los vidrios.

Cuadro 3.5. Cantidad de reactivos para el Buffer de corrida 10x

Glicina	14.41g
Tris-OH	3.02g
SDS	1.0g
Agua bidestilada	100ml
<i>Se prepara y se diluye 1 ml en 10 ml.</i>	

Se colocó la cubierta sobre la cámara y colocaron los cables del aparato de electroforesis a la fuente de poder positivo con el positivo (rojo) y el negativo (negro). Se ajusto el voltaje a 150 V y se dejó correr la muestra por 2.5 horas a 3.5 h, al termino de este tiempo se apagó la fuente de poder y se desconectaron los electrodos, sacando al final el porta gel, posteriormente se liberaron los vidrios que contienen el gel y se desprendieron con cuidado coloco el gel en un recipiente con suficiente solución teñidora (Cuadro 3.6) por 20 min.

Cuadro 3.6 Cantidad de reactivos para la solución teñidora

Azul de coomassie al 0.25	0.25g
Acido Acético glacial	50ml
Etanol	40ml
<i>Agua bidestilada</i>	<i>10ml</i>

Después del tiempo mencionado se quito la solución teñidora y se pusó en la solución desteñidora (Cuadro 3.7) dejando reposar 30 min, se repitio 3 veces, hasta que las bandas fueran visibles.

Cuadro 3.7. Cantidad de reactivos para la solución desteñidora

Ácido acético glacial	50 ml
Etanol	40 ml
Agua bidestilada	10 ml
<i>Preparar lo suficiente para desteñir</i>	

Se lavó el gel con agua bidestilada y se guardó en una bolsa de polietileno con cierre, se escanearon los geles para evaluar las bandas y los pesos moleculares de cada una de ellas.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) versión 7, con un Diseño Factorial con arreglo al azar. El factor A consistió de los cuatro niveles y el factor B de los genotipos.

El modelo estadístico que se utilizó fue el siguiente;

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + G_j + GC_{ij} + EE_{ijk}$$

Donde:

- $Y_{ijk}$  = variable observada del  $i$  – esimo genotipo, en la  $j$  – esima concentración,
- $\mu$  = Efecto de la media general
- $C_i$  = Efecto del  $i$  – esima concentración
- $G_j$  = Efecto de la  $j$  – esimo genotipo
- $GC_{ij}$  = Efecto de la interacción del  $i$  – esimo genotipo por la  $j$  – esima concentración
- $EE_{ik}$  = Error Experimental

Se realizó un análisis de regresión lineal simple a los datos de porcentaje de germinación (PN), plántulas anormales, semillas sin germinar; la longitud media de plúmula y radícula y peso seco antes y después del envejecimiento acelerado. El análisis de contenido de gliadinas y gluteninas se realizó con un diseño completamente al azar. También se realizó la prueba de medias Tukey ( $p < 0.05$ ) para las variables de calidad física, fisiológica y cuantificación de gliadinas y gluteninas

En los geles de SDS-PAGE se identificaron el tipo de gluteninas y gliadinas mediante el peso expresado en Kd, para identificar diferencias entre líneas y Bacanora así como la relación con el comportamiento fisiológico. Por último se

realizó una correlación entre todas las variables evaluadas para conocer la relación entre éstas.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Calidad física

El cuadro 4.1 muestra las características físicas de los genotipos de trigo, se encontró que las líneas 1, 8, 9, 10, 12, 15, 16 y bacanora tuvieron contenidos de humedad por debajo del 9.93% y las líneas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 17, 18 y 19, por arriba del 10.03%.

En lo que se refiere a peso volumétrico, las líneas 2, 15, 17 y 19 fueron las de mayor peso, con valores entre 80.12 a 79.36 kg HI<sup>-1</sup>, mientras que las de menor peso fueron la 8, 9, 10 y 12 oscilando de 74.65 a 73.55 kg/HI<sup>-1</sup>.

Al parecer se presentó una relación inversa del contenido de humedad con el peso volumétrico en las líneas 3, 4 y 7, 15 y 16; sin embargo las líneas 2, 5, 6, 11, 13, 14, 17, 18, 19 mostraron una relación directa en los contenidos de humedad y pesos volumétricos altos; mientras que las líneas 1, 8, 9, 10, 12 y Bacanora presentaron valores bajos en ambas pruebas (Cuadro 4.1).

En lo que se refiere al peso de mil semillas las líneas 1, 2, 3, 7, 8, 9 y 12 mostraron los valores más altos, mientras que las líneas 5, 6, y Bacanora resultaron los más bajos en peso; es de observar que la línea 2 mostró valores

altos en sus pruebas físicas, resultado contrario en Bacanora, que presento valores bajos en éstas.

Cuadro 4.1. Características físicas de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad

Línea	Humedad (%)	Peso Volumétrico (HI)	Peso de Mil Semilla			
			(gr)		CV (%)	
AN-1	9.93	77.67	Efd	35.25	bc	3.94
AN-2	10.13	79.77	Ab	36.75	ab	2.817
AN-3	10.03	77.41	Efg	33.75	cde	2.095
AN-4	10.03	76.28	h	31.15	fg	2.129
AN-5	10.13	78.72	Bcd	27.53	i	2.431
AN-6	10.53	78.72	Bcd	28.48	hi	1.86
AN-7	10.53	76.54	gh	34.75	bcd	2.389
AN-8	9.93	74.65	i	35.59	abc	2.018
AN-9	9.63	73.55	j	37.54	a	4.497
AN-10	9.93	73.72	ij	33.05	def	3.085
AN-11	10.03	78.28	Chef	32.35	efg	3.814
AN-12	9.63	74.51	ij	34.25	cde	3.982
AN-13	10.03	78.55	Cd	31.30	fg	2.879
AN-14	10.13	78.34	Chef	31.22	fg	3.574
AN-15	9.93	79.36	Abc	30.33	gh	2.355
AN-16	9.93	78.34	Chef	31.55	fg	2.768
AN-17	10.13	80.12	A	32.69	def	2.543
AN-18	10.03	78.4	Dce	30.96	fg	3.972
AN-19	10.13	79.97	A	32.17	efg	10.07
Bacanora	9.93	77.27	Fgh	28.62	hi	2.896

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales  $P < 0.05$

### Imbibición

En la tasa de imbibición en forma general se encontraron cuatro comportamientos muy marcados entre los materiales estudiados, la línea 9 obtuvo el valor más alto de peso adquirido, seguido de un grupo con valores mas bajos que el anterior formado por 1, 2, 12, 10, 8 y 7; el siguiente grupo fueron 17, 3, 13, 4, 14, 15, 16, 11, 18, 19, 5 y Bacanora, con valores de menor peso adquirido que el grupo anterior, finalmente la línea 6 resulto ser la de menor capacidad de imbibición a través del tiempo en relación a todas las líneas y testigo estudiados (Figura 4.1). El tiempo máximo en el que se evaluó la tasa de imbibición fue a las 29 horas, marcando el 50% del crecimiento del eje

embrionario, ya que el proceso de imbibición finaliza con el inicio de este evento (Bewley & Black, 1986).

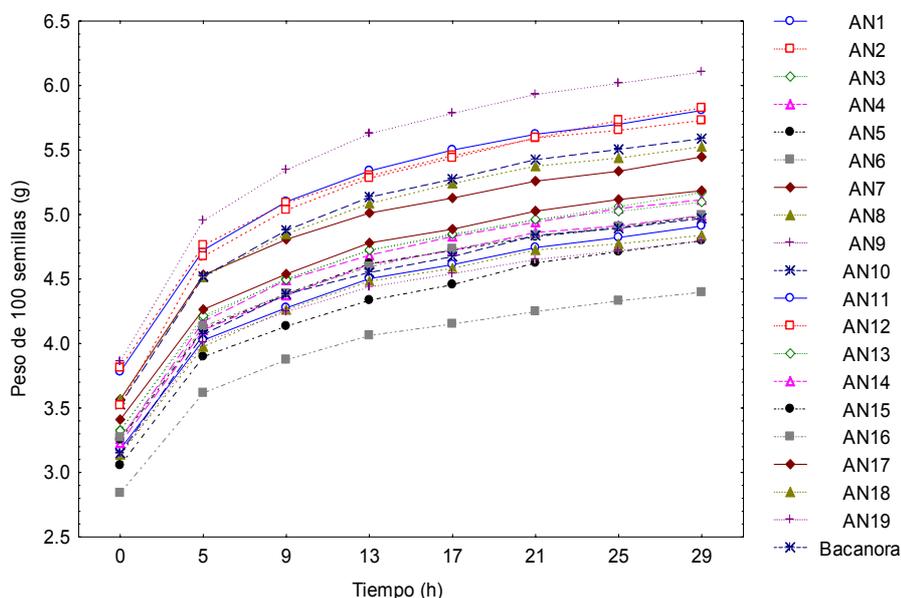


Figura 4.1. Tasa de imbibición de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad representada por el peso de 100 semillas durante 29 horas

En la comparación de medias ( $P < 0.05$ ) del agua absorbida, las líneas 1, 2, 9, 10 y 12 resultaron con los más altos valores de 2.01 a 2.24 ml, seguido de las líneas 3, 4, 7, 8, 13, 17 y Bacanora con valores medios de absorción de humedad de 1.77 a 1.96 ml, y los valores más bajos se encontraron en las líneas 5, 6, 11, 14, 15, 16, 18 y 19 entre 1.56 a 1.74 ml (Cuadro 4.2).

En el caso de las líneas 1, 2 y 9 que presentaron mayor tasa de imbibición también obtuvieron alto peso de mil semillas, al parecer la absorción de humedad está en relación con el tamaño de la semilla, Bewley & Black (1983), afirmaron que la absorción depende del tamaño y grado de hidratación de la misma. Lo mismo se encontró en 5, 6, que obtuvieron pesos bajos de mil semillas y baja absorción de agua. Para peso de mil semillas medios y en absorción media se tuvieron a las líneas 4, 13, 14 y 17.

Cuadro 4. 2. Agua absorbida (mililitros en 100 semillas) durante 29 horas de imbibición de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

Línea	ml de agua por semillas	
AN-1	2.17	bcd
AN-2	2.19	abcd
AN-3	1.99	def
AN-4	2.01	cdef
AN-5	1.89	fg
AN-6	1.71	g
AN-7	2.00	cdef
AN-8	2.14	cde
AN-9	2.41	a
AN-10	2.22	abc
AN-11	1.86	fg
AN-12	2.40	ab
AN-13	1.91	efg
AN-14	1.90	fg
AN-15	1.86	fg
AN-16	1.85	fg
AN-17	1.92	efg
AN-18	1.85	fg
AN-19	1.79	fg
BACANORA	1.97	def

Para algunas líneas se evidenció algún tipo de impermeabilidad ya que 7 y 8, que estadísticamente fueron iguales a las de mayor peso de semillas, su absorción fue media; y 11, 15, 16, 18 y 19, con valores medios de peso de semillas, obtuvieron absorción estadísticamente igual a semillas con peso de semillas bajo. Por último Bacanora a pesar del tamaño pequeño de la semilla, presentó absorción igual a líneas con semillas de mayor peso (Figura 4.1). Los resultados también muestran que en la línea 12 obtuvo un incremento de imbibición en las primeras horas más rápido que las líneas 7, 8 y 10, donde éstas cuatro líneas partieron de un peso promedio de 34.45 g (igual entre ellas), pero no del contenido de humedad, ya que la primera presentó un valor bajo, lo que indica que su comportamiento de ganar humedad se debió a su bajo contenido inicial en comparación con las demás (Figura 4.1).

## Calidad Fisiológica

En la calidad fisiológica de los materiales se encontró en el análisis de varianza una diferencia altamente significativa en las fuentes de variación concentración y líneas para todas las variables estudiadas con excepción de las plántulas anormales en la prueba de capacidad de germinación (Cuadro 4.3).

La interacción entre las líneas x concentraciones en las variables de la prueba de capacidad de germinación resultó altamente significativa con excepción de plántulas anormales (Cuadro 4.3) y todas las variables en la prueba de envejecimiento acelerado tuvieron una interacción altamente significativa, lo cual indica que al menos un genotipo tuvo un comportamiento diferente de PN, SSG, LMP, LMR y peso seco al resto de los demás ante las concentraciones aplicadas (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.3. Cuadrados medios de las variables estudiadas en la prueba capacidad de germinación de los genotipos evaluados

FUENTE	GL	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	LMP (cm)	LMR (cm)	PS
CONC	4	5581.54 **	10.54 ns	5247.56 **	262.22 **	16.65 **	35.11 **
LINEA	19	281.05 **	12.89 *	289.88 **	23.57 **	5.75 **	24.35 **
CONC*LINEA	76	90.68 **	6.90 ns	82.80 **	2.31 **	0.99 **	2.43 **
ERROR	297	41.34478	7.634	37.89	0.74237	0.36	0.94
CV		7.29	179.42	59.94	8.90	3.93	7.24

PN=Plántulas normales; PA=Plántulas anormales; SSG=Semillas sin germinar; LMR=Longitud media de radícula; LMP=Longitud media de plúmula y PS=Peso seco. \*=0.05, \*\*=0.01.

Cuadro 4.4. Cuadrados medios de las variables estudiadas en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos evaluados

FUENTE	GL	PNEA	PAEA	SSGEA (%)	LMPEA (cm)	LMREA (cm)	PSEA
CONC	4	5581.54 **	12054.5 **	11918.6 **	75.66 **	2.57 **	171.32 **
LINEA	19	281.05 **	884.98 **	715.78 **	16.33 **	14.10 **	39.76 **
CONC*LINEA	76	90.68 **	143.15 **	158.10 **	1.15 **	1.65 **	4.77 **
ERROR	297	66.28	8.76	61.43	0.35	0.46	1.23
CV		10.46	115.60	40.03	6.06	4.61	8.64

PNEA=Plántulas normales después de envejecimiento acelerado (EA); PAEA=Plántulas anormales después de EA; SSGEA=Semillas sin germinar después de EA; LMREA=Longitud media de radícula después de EA; LMPEA=Longitud media de plúmula después de EA y PSEA=Peso seco después de EA. \*=0.05, \*\*=0.01.

### **Comportamiento por concentración**

El Cuadro 4.5 muestra el efecto promedio de las concentraciones de sal sobre la calidad fisiológica de los genotipos, donde el porcentaje de germinación (plántulas normales) en la concentración 100 mM no cambio con respecto al testigo 0 pero si disminuyó en 200, 300 y 400 mM ( $P < 0.05$ ), con el envejecimiento acelerado se tuvo menor porcentaje de plántulas normales (vigor) en todas las concentraciones, reduciendo 30.7 % en 400mM, mientras que en germinación la reducción fue sólo de 20.3%. Esta reducción se debió posiblemente al efecto del potencial más negativo de la solución sobre el embrión de la semilla (Baskin & Baskin, 1998), provocando que las proteínas clave en la activación de la germinación fueran afectadas (Dell'Aquila & Spada 1993), los resultados descendientes que se presentaron en el envejecimiento acelerado (Cuadro 4.5) pudieron deberse al efecto de la alta humedad relativa y por el tiempo expuesto provocando hidratación de las semillas (Wuest *et al* 1999) generando la ruptura de la pared celular o membranas (Gao *et al.* 2004) y la aplicación de sal posterior generó estrés hiperosmótico, y aunado al incremento en la concentración de solutos en las células y un descenso en la presión de turgencia por la pérdida de agua (Zyalalov 2004), y posiblemente los iones que pudieron dañar membranas debido a la sal (NaCl) (Leopold & Willing 1984). Y el daño de fosfolípidos y subsecuente deterioro de membranas son un evento temprano en la pérdida de viabilidad de la semilla (Petruzzelli & Taranto 1984)

Mara *et al* (2006) y Jaradat *et al.* (2004) encontraron inhibición muy marcada en la germinación de maíz y en cebada con la aplicación de sales. El porque en

este caso la germinación de las líneas no fue inhibida puede ser explicado por estudios relacionados con el Ca, Gao *et al.* (2004) quienes afirman que éste tiene un efecto protector cuando se aplica NaCl, con efecto más favorable que con el polietilen glicol (PEG) para evaluar sequía, además del efecto específico de “ión transportador modulador” del calcio, el cual al hallarse en altas concentraciones inhibe la entrada de Na<sup>+</sup> a la célula.

En lo que corresponde al porcentaje de plántulas anormales, no hubo diferencias en las cuatro concentraciones antes del envejecimiento; sin embargo después del envejecimiento éstas aumentaron con el incremento en concentración salina.

Cuadro 4.5. Efecto de cuatro concentraciones sobre la calidad fisiológica de semillas de trigo tolerantes a salinidad antes y después del envejecimiento acelerado.

Variable	Capacidad de Germinación					Envejecimiento acelerado				
	0	100	200	300	400	0	100	200	300	400
PN	96.8 a	94.3 a	90.4 b	83.0 c	76.5d	94.7 A	85.2 B	76.0 C	69.4 D	64.0 E
PA	1.5 .a	1.2 a	1.5 a	1.4 a	2.2 a	1.9 A	2.8 AB	3.6 B	2.3 B	2.5 B
SSG	1.7 e	4.5 d	8.15 c	15.7b	21.3a	3.45 E	12.0 D	20.4 C	28.4 B	33.8 A
LMP	6.4 b	10.7 a	10.5 a	10.46a	10.4a	8.06 B	10.2 A	10.3 A	10.3 A	10.1 A
LMR	14.4 b	15.4 a	15.4 a	15.49a	15.5a	14.8 A	14.4 B	14.7 AB	14.8 A	14.9 A
PS	12.3 c	13.4 b	13.3 b	13.87a	14.0a	10.3 C	13.1 B	13.3 AB	13.8 A	13.7 A

Plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula (LMR) y peso seco (PS) Valores con la misma letra son estadísticamente iguales P<0.05, letras minúsculas corresponden a valores en capacidad de germinación y letras mayúsculas corresponden a valores después del deterioro.

Las semillas sin germinar mantuvieron el mismo comportamiento en las concentraciones durante la capacidad de germinación y el envejecimiento acelerado, a medida que incremento la concentración se hizo evidente que las semillas no germinaron (Cuadro 4.5).

El efecto de las concentraciones sobre la plúmula, radícula y peso seco antes y después del envejecimiento acelerado con respecto al testigo 0 Mm fue positivo, los valores se incrementaron con la excepción en longitud media de radícula

después del envejecimiento acelerado, en la concentración 100mM hubo una disminución para luego aumentar en las siguientes concentraciones (Cuadro 4.5), esto tal vez se debió a la forma de aplicación del estrés salino, por imbibición de sal, que induce cambios fisiológicos en la semilla, como lo mencionan Hameed *et al.* (2005)

### **Comportamiento de líneas**

En general los porcentajes de plántulas normales de las líneas estuvieron por arriba del 80% (Cuadro A1), mientras que con el envejecimiento acelerado, estos valores disminuyeron hasta 60% en la línea 9, sin embargo la línea 19 se mantuvo valores cercanos al 90% (Cuadro A2);

### **Germinación y Vigor**

La Figura 4.2 muestra la germinación y vigor, en donde todas las líneas presentaron menor porcentaje de plántulas normales con la aplicación del envejecimiento y las líneas 9 y 10 son las que fueron mayormente afectadas por el deterioro, efecto normal de la prueba, sin embargo es de resaltar que el comportamiento de las líneas puede deberse a la constitución genética como lo menciona Ghana & Schillinger (2003) y Rodríguez 2006; Xong & Zhu 2002).

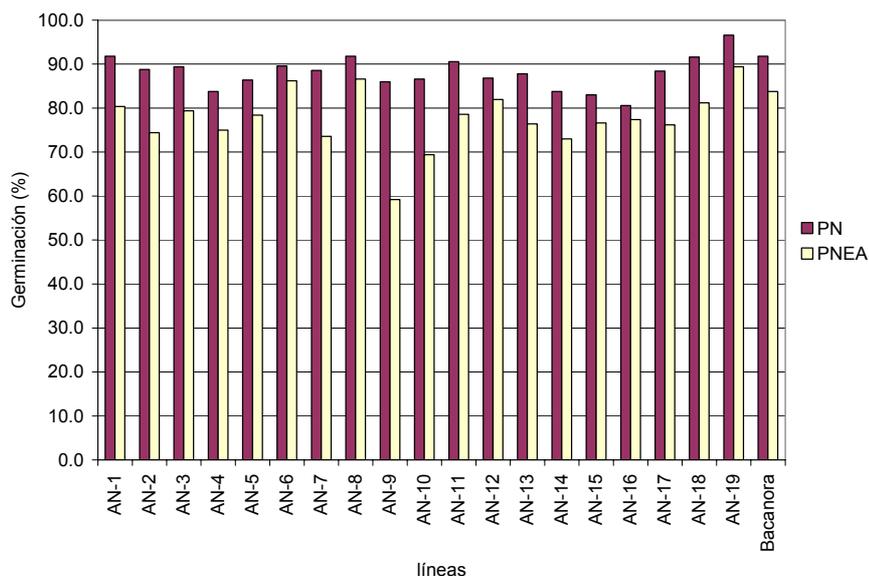


Figura 4.2. Plántulas normales (PN) antes y después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

La línea 19 y Bacanora presentaron el mismo comportamiento en ambas pruebas.

En la prueba de medias tukey ( $P < 0.05$ ) de germinación y vigor, las líneas con porcentajes de germinación mayores de 90% y vigor mayor del 80%: fueron la 1, 8, 18, 19 y Bacanora, junto con éstas la línea 3 tuvo un comportamiento similar pero con 0.06 % menor del rango en ambas características. Mientras que las líneas poco afectadas por EA, con germinación mayor de 85% y vigor menor del 80% fueron las 6 y 12 y con germinación mayor del 80% y vigor menor del 80: 15 y 16. Las líneas afectadas por EA: germinación mayor del 80% pero vigor menor del 80%: 2, 4, 5, 7, 11, 13, 14 y 17, por último las líneas altamente afectadas por EA: germinación mayor del 80% pero vigor menor del 70%: 9 y 10. No podría afirmarse que éstas últimas fueron susceptibles a la salinidad, sino que su calidad fisiológica fue pobre (Alam *et al.* 2006).

La reducción de plántulas normales en vigor puede explicarse por el efecto que presenta el EA, en semillas deterioradas la actividad enzimática disminuye,

alterando la actividad de la  $\alpha$ -amilasa en semillas (Salinas *et al.* 2002); la pérdida de viabilidad por envejecimiento natural en semillas de trigo esta asociada con el daño del ADN y cambios en la síntesis de ARN y patrones enzimáticos y el progresivo deterioro de las membranas (Spano *et al.* 2004); la peroxidación de lípidos y disminución de la actividad de la superóxido dimutasa y peroxidasa son causados por el EA (Balesevie-Tubic *et al.* 2005). Además el EA afecta la movilización de reservas del endospermo al eje embrionario como lo mencionan Cruz *et al.* (2003)

### **Longitud media de plúmula y radícula**

En lo referente a la longitud media de plúmula, algunas líneas tuvieron relación positiva y otras líneas negativa después del envejecimiento acelerado (Figura 4.3). Antes del envejecimiento las líneas que superaron al testigo fueron la 1, 6 y 7, la línea 19 tuvo valores similares y las líneas 13 y 14 los valores más bajos. Después del envejecimiento acelerado sobresalieron otras líneas, como la 4 y 16 que junto con la 19 y 7 superaron al testigo, mientras que los valores más bajos los presento la línea 9.

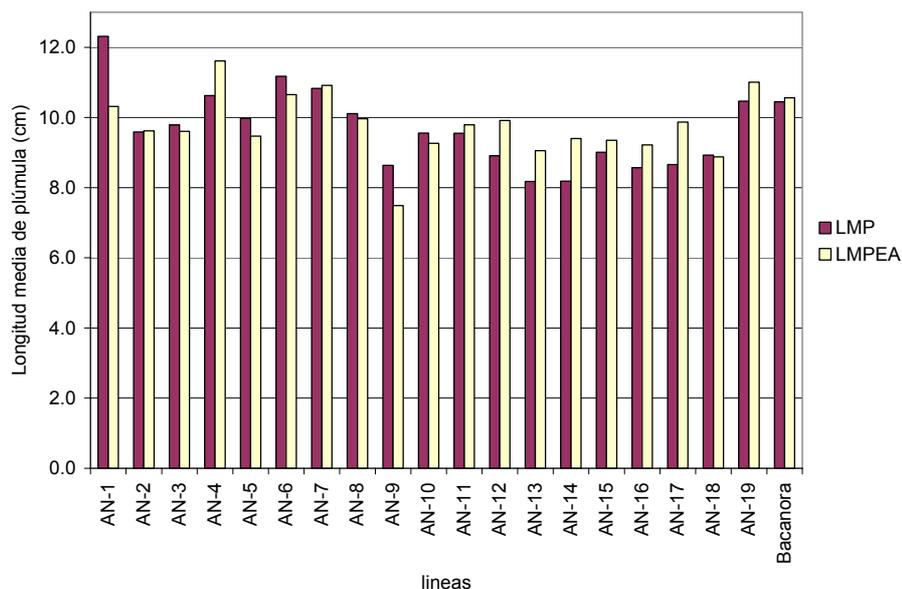


Figura 4.3. Longitud media de plúmula (LMP) y longitud media de plúmula después de 48 horas de envejecimiento acelerado (LMPEA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

Para el caso de la longitud media de radícula, en general el comportamiento de después del envejecimiento acelerado fue el de disminución, este comportamiento coincide con lo descrito por Alam *et al.* (2006). Las líneas que presentaron un incremento en la longitud radicular fueron la 15, 16 y 19 al igual que el testigo. Antes del envejecimiento acelerado solo las líneas 9 y 10 presentaron valores inferiores al testigo y después del envejecimiento acelerado todas las líneas estuvieron por debajo de los valores del testigo, y la disminución de la longitud fue más notable en la línea 9 (Figura 4.4).

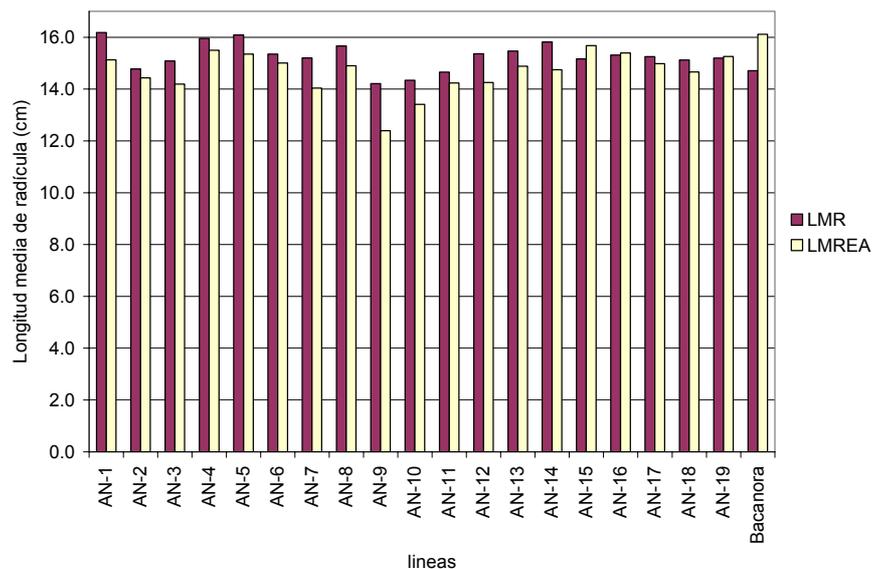


Figura 4.4. Longitud media de radícula antes (LMR) y después de 48 horas de envejecimiento acelerado (LMREA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

Este comportamiento posiblemente se debió el efecto combinado de deterioro por EA y estrés salino, como lo menciona Naylor & Gurmu (1990) emplearon deterioro controlado y potenciales bajos se redujo la absorción de agua, semillas de bajo vigor muestran menor emergencia de radícula y coleoptilo y longitud más corta que las semillas de alto vigor. Coincidiendo con ello Miguel & Gavilanes (1994) encontraron empleando la prueba de deterioro controlado, que el crecimiento radicular fue mas lento en semillas envejecidas.

### **Peso seco**

En lo referente al peso seco de las plántulas, éste disminuyó con el envejecimiento acelerado en la mayoría de las líneas evaluadas, con excepción de las líneas 5, 6, 7 y 8, en donde después de dicho estrés el peso seco se incremento (Figura 4.5).

Para el testigo, el peso seco estuvo entre los valores más bajos y las líneas que sobresalieron en esta variable antes del envejecimiento fueron la 1, 2, 3, 4 y 8 (mayor de 14 mg/plántula), después del envejecimiento la línea 4 ya no figuró dentro de las líneas de mayor longitud. La línea 9 estuvo entre las de menor peso seco y fue mas notable esto después del envejecimiento acelerado (Figura 4.5).

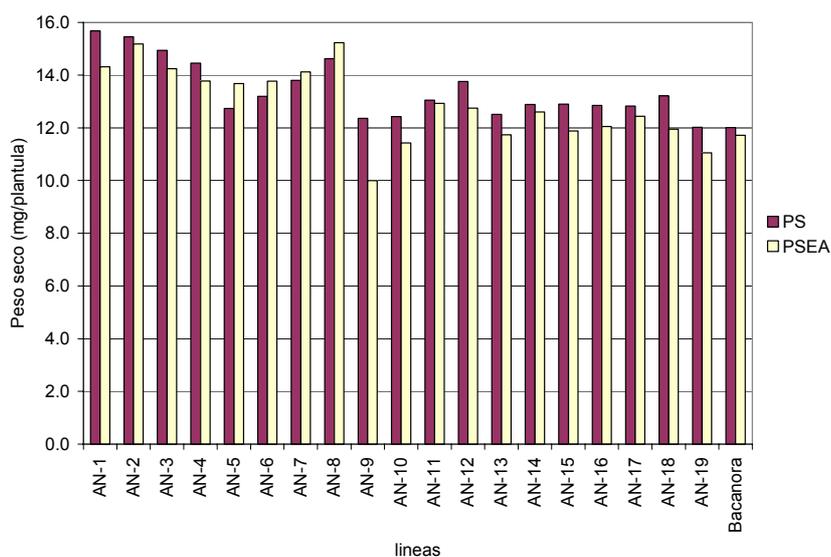


Figura 4.5. Miligramos/plántula de Peso seco antes (PS) y después de 48 horas de envejecimiento acelerado (PSEA) de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

### Interacción concentraciones x líneas

La interacción de concentración x líneas se discute a continuación, se muestra las gráficas de regresión de las variables evaluadas en los materiales a las concentraciones estudiadas, las líneas se agruparon de acuerdo a su pendiente, para identificar las más afectadas por la salinidad, considerando a los genotipos con una tendencia negativa con mas pendiente como los mas susceptibles a las concentraciones salinas, encontramos los siguientes grupos en el Cuadro 4.6.

Cuadro 4.6. Pendiente de la regresión lineal de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad

Germinación (%)		Vigor (%)	
Coefficiente	Líneas	Coefficiente	Líneas
-0.02	19	-0.03	19
-0.03	11, Bacanora	-0.04	12, Bacanora
-0.04	1, 3, 4, 8, 18	-0.06	8, 10
-0.05	2, 6, 7, 13	-0.07	6, 18
-0.06	9, 10, 12	-0.08	1, 4, 9, 11, 13, 16, 17
-0.07	5, 17	-0.09	3
-0.08	15, 16	-0.1	2, 5, 7, 14, 15
-0.09	14		

LMP (cm)	Líneas	LMPEA (cm)	Líneas	LMR (cm)	Líneas	LMREA (cm)	Líneas
Coefficiente		Coefficiente		Coefficiente		Coefficiente	
0.003	12	0.001	<u>6</u>	0.0001	<u>6</u>	0.00005	<u>4</u>
0.004	13	0.002	<u>1, 8, Bacanora</u>	0.0004	<u>2</u>	-0.00009	<u>6</u>
0.005	18	0.003	<u>3, 7, 17, 19</u>	0.001	<u>1, 11</u>	0.0006	<u>14</u>
0.006	1, <u>10</u> , 11, 14, 15	0.004	5, 9, 13, 14	0.002	4, 7, 19	-0.0006	<u>3</u>
0.007	5, 16	0.005	2, 4, 18	0.003	2, 8, 12, 14, 16, 18	0.0008	<u>10</u>
0.008	2, 3, 6, 7, 17	0.006	15	0.004	17, Bacanora, 13	0.001	<u>13</u>
0.01	4, 8, 9, 19, Bacanora	0.007	10, 11, 16	0.005	15	-0.001	<u>1, 2, 7, 8, 17</u>
		-0.02	12	-0.001	<u>10</u>	0.002	<u>16, 18, 19</u>
				-0.0007	<u>5</u>	0.003	<u>15, Bacanora</u>
				-0.00005	<u>3</u>	-0.002	<u>12</u>
						0.004	<u>9</u>
						0.02	<u>11</u>
						-0.0003	<u>5</u>

PS (mg/plántula)	Líneas	PSEA (mg/plántula)	Líneas
Coefficiente		Coefficiente	
0.001	<u>12</u>	-0.0009	<u>12</u>
-0.001	<u>10, Bacanora</u>	0.001	<u>19</u>
0.002	<u>8, 17</u>	0.005	13, Bacanora
0.003	6, 16	0.006	15
0.004	1, 5, 11, 13	0.007	3
0.005	4, 7, 9, 5	0.008	1, 11, 14
0.006	18	0.009	16
0.007	2, 15	0.01	5, 6, 7, 8, 9, 18, <u>2</u> , 4, 10
0.009	3	0	<u>17</u>
-0.03	<u>19</u>		

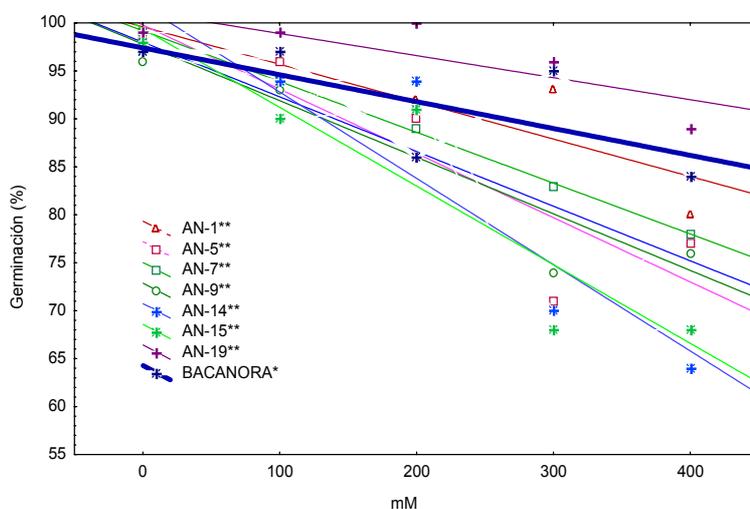
Las líneas que no se ajustaron a la regresión lineal se encuentran en cursivas y subrayado

En este cuadro las líneas con mayor pendiente negativa como es el caso de la 14 en germinación mostraron mayor susceptibilidad a la sal, mientras que las de menor pendiente negativa como la 19 en germinación y vigor mostraron tolerancia a la aplicación de sal. Para el caso de la longitud de plúmula, con excepción de la línea 12 en EA se tuvieron pendientes positivas que mostraron el efecto positivo de la sal sobre esta variable.

## Germinación

Al analizar la interacción concentración x líneas en esta variable se encontró que disminuyó conforme aumentó la concentración de NaCl, comportamiento similar al descrito por autores como Bishnoi y Pancholy (1980) y Naylor & Gurmu (1990)

La Figura 4.6 muestra la tendencia en algunas líneas representadas en la gráfica por 5, 14 y 15 presentaron mayor reducción conforme incrementó la concentración salina al igual que 16, 17 (las cuales no se muestran en la figura), mientras que las menos afectadas fueron la 19 que supero a Bacanora y a la línea 11 (Cuadro 4.6), seguidas de 1 y 7 que tienen la misma tendencia que 3, 4, 8 18, no mostradas en la gráfica (Cuadro 4.6).

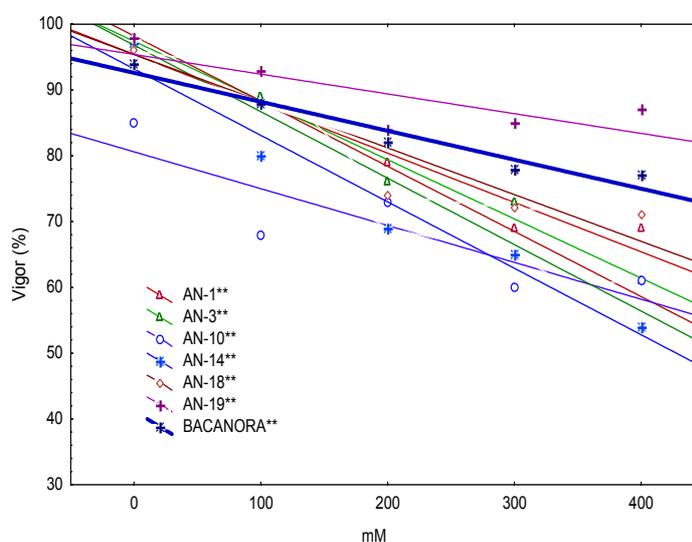


línea	intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	99.6	-0.04	0.51	6.24
AN-5	99.8	-0.07	0.55	10.38
AN-9	97.8	-0.06	0.58	8.76
AN-7	99.2	-0.05	0.76	5
AN-14	101.8	-0.09	0.63	12.2
AN-15	99.4	-0.08	0.68	10.1
AN-19	101.2	-0.02	0.46	3.8
BACANORA	97.4	-0.03	0.26	7.6

Figura 4.6. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

## Vigor

Al analizar la interacción concentración x líneas en el vigor, se encontró que hubo una tendencia lineal negativa altamente significativa con respecto al aumento en concentración de todos los genotipos. La línea 19 siguió superando a Bacanora y esta a su vez superó a las líneas restantes con menor pendiente, sin embargo la línea 10 inicio con un porcentaje bajo de vigor y se mantuvo por debajo de todas las líneas con el aumento de la concentración. (Figura 4.7)



línea	intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	95.4	-0.08	0.78	7.33
AN-3	97.4	-0.09	0.89	6.1
AN-10	80.6	-0.06	0.51	11.85
AN-14	93.2	-0.1	0.70	13.6
AN-18	95.4	-0.07	0.67	9.2
AN-19	95.4	-0.03	0.37	6.5
BACANORA	92.6	-0.04	0.44	8.8

Figura 4.7. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

En la comparación de medias de germinación y vigor se observó que las líneas 9 y 10 fueron más susceptibles al EA, sin embargo su comportamiento conforme aumentaron la concentración de sal no fue tan drástico, con valores similares entre concentraciones. Lo anterior puede explicarse por el efecto que presenta el EA discutido anteriormente.

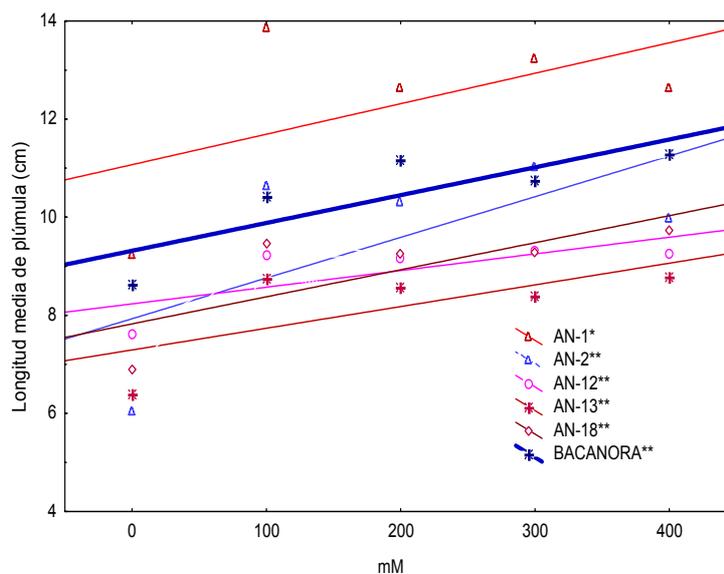
Coincidiendo con Dell'Alquila & Turi (1996) quienes mencionaron que la combinación del estrés por deterioro y salinidad puede ser la explicación del comportamiento de los genotipos, ya que encontraron que esta combinación amplifica los síntomas de envejecimiento.

Otra explicación sobre el mismo es el orden de aplicación de estrés salino y el envejecimiento acelerado, ya que en el presente trabajo no se afectó en gran medida el porcentaje de vigor por el hecho de que la semilla de los genotipos no se sometió al estrés antes de ser envejecida sino después de esto; porque si se aplica antes del almacenamiento incrementaron severamente la susceptibilidad de las semillas al deterioro (Nath *et al.* 1991)

### **Longitud Media de Plúmula y Radícula**

Al estudiar la interacción concentración x líneas en longitud media de plúmula antes (Figura 4.8) y después del envejecimiento acelerado (Figura 4.9) mostró una tendencia lineal significativa al incremento con la salinidad.

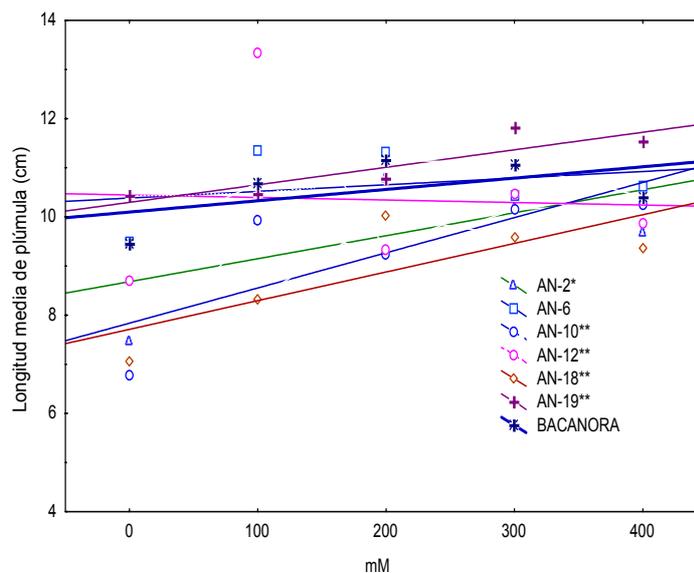
Antes del EA la tendencia con mayor valor positivo (Figura 4.8) al aumento de la salinidad fue Bacanora (representando al grupo 4, 8, 9 y 19 respectivamente (Cuadro 4.6) mientras que la tendencia con menor valor fue la línea 12, sin embargo en todas las líneas aumento de manera positiva al incrementar la concentración de NaCl, comportamiento contrario a lo encontrado por Jeannet *et al.* (2002) en frijol, donde se redujo considerablemente la elongación de hipocotilo con el aumento de salinidad.



línea	intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	11.072	0.006	0.23	13.68
AN-2	7.93	0.008	0.35	17.5
AN-12	8.23	0.003	0.35	7.74
AN-13	7.29	0.004	0.36	10.67
AN-18	7.8	0.005	0.45	10.25
BACANORA	9.3	0.01	0.47	8.53

Figura 4.8. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

En lo que respecta a la longitud media de plúmula después del envejecimiento acelerado, hubo una tendencia positiva en todas las líneas con excepción de la 12 ya que ésta la presentó negativa (Cuadro 4.6); mientras que la 19 sobresalió por superar nuevamente a Bacanora (Figura 4.10). Por lo tanto se puede observar que la tendencia de la línea 12 fue afectada por el EA, aunado al incremento de la concentración de NaCl, mientras que a la línea 19 no le afectó.



Línea	intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-2*	8.68	0.0046	0.27	11.87
AN-6	10.38	0.0013	0.05	7.92
AN-10**	7.84	0.007	0.46	12.52
AN-12**	21.4	-0.02	0.02	174.6
AN-18**	7.7	0.005	0.48	10.1
AN-19**	10.29	0.0035	0.41	5.7
BACANORA	10.1	0.002	0.15	7.8

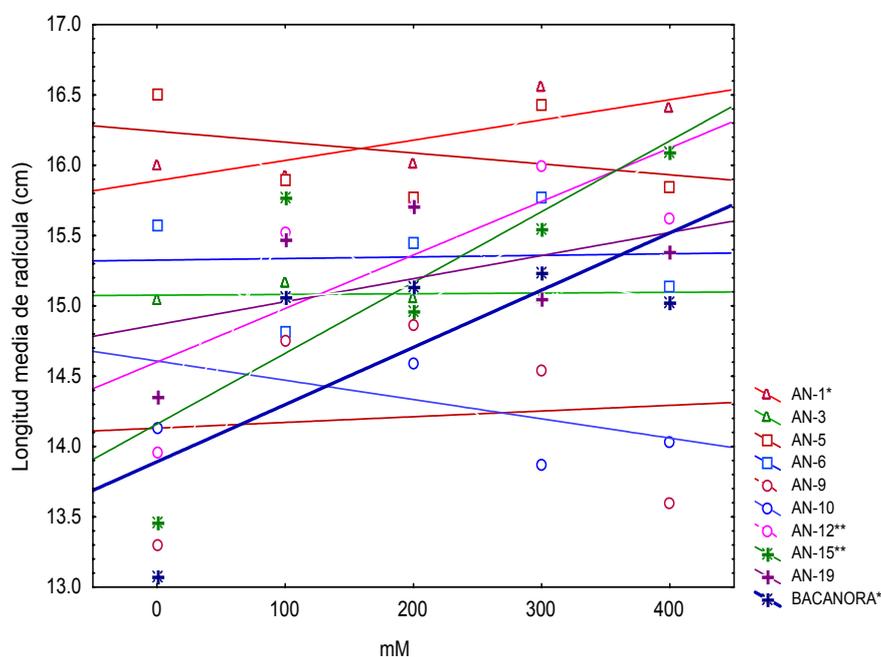
Figura 4.9. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$

Al estudiar la interacción concentración x líneas de la longitud media de radícula de las líneas antes (Figura 4.10) y después de envejecimiento acelerado (Figura 4.11) muestran 2 tipos de comportamiento, el incremento o decremento de la longitud con el aumento en la concentración salina.

La Figura 4.10 muestra la longitud media de radícula antes del EA, sólo las líneas 10, 5 y 3 presentaron tendencia negativa en su longitud de radícula, reflejando que no tuvieron cambios en las concentraciones de sal. Las líneas restantes presentaron un comportamiento positivo, donde la línea 15 y Bacanora muestran diferencias muy marcadas y positivas conforme el aumento en salinidad (Figura 4.10).

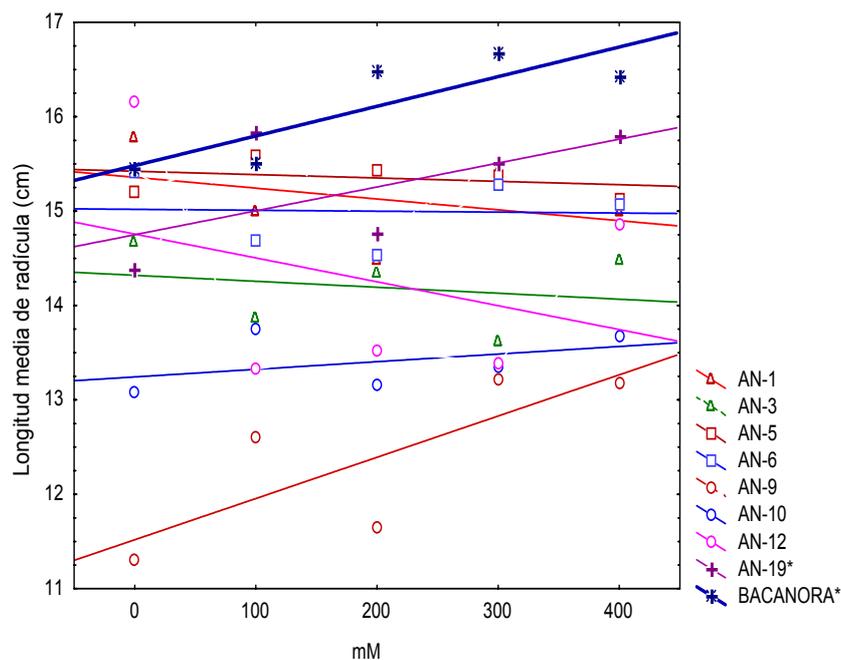
Musito *et al.* (2004) encontró tendencias similares en maíz, donde la longitud de radícula no disminuyó con el incremento en salinidad. Pero Jeannette *et al.* (2002) reportó lo contrario una reducción de la radícula con el incremento en salinidad.

Una posible explicación de la tendencia negativa de 10, 5 y 3 es lo que reportan Soltani *et al* (2004) quienes encontraron que la movilización de la reserva y crecimiento de plántula disminuyó con la salinidad en semillas de trigo.



línea	intercepto	Coefficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	15.89	0.001	0.14	3.3
AN-3	15.1	0.00005	0.0002	3.02
AN-5	16.24	-0.0007	0.03	3.9
AN-6	15.33	0.0001	0.0007	4.19
AN-9	14.13	0.0004	0.004	6.37
AN-10	14.6	-0.0013	0.08	4.87
AN-12	14.6	0.003	0.35	5.05
AN-15	14.15	0.005	0.50	4.9
AN-19	14.86	0.0016	0.11	4.57
Bacanora	13.89	0.004	0.27	6.7

Figura 4.10. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de radícula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01



línea	Intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	15.36	-0.0012	0.05	4.74
AN-3	14.32	-0.00063	0.02	4.5
AN-5	15.42	-0.0003	0.01	3.84
AN-6	15.02	-0.00009	0.00	3.05
AN-9	11.52	0.004	0.29	8.26
AN-10	12.24	0.0008	0.03	5.54
AN-12	14.76	-0.002	0.09	8.52
AN-19	14.75	0.002	0.28	3.99
TESTIGO	15.48	0.003	0.28	4.6

Figura 4.11. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de radícula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$ .

En la longitud de radícula después del EA, Bacanora presentó la mayor tendencia positiva que las restantes al igual que la 15 (Cuadro 4.6), mientras que la línea 1 (representando también a 2, 7, 8 y 17) presentó tendencias negativas al incrementar la salinidad, sin embargo la línea 19 a pesar de sus valores de longitud media después del EA su tendencia fue positiva al incrementar las concentraciones, pero por debajo de Bacanora. Es de resaltar que esta misma tendencia de aumento conforme el incremento de salinidad fue dada por la línea 9, pero con valores por debajo de las demás líneas (Figura 4.11).

Como la parte radical es la que en campo está directamente en contacto con las sales, podría ser un indicador de selección en laboratorio, sin embargo no hay

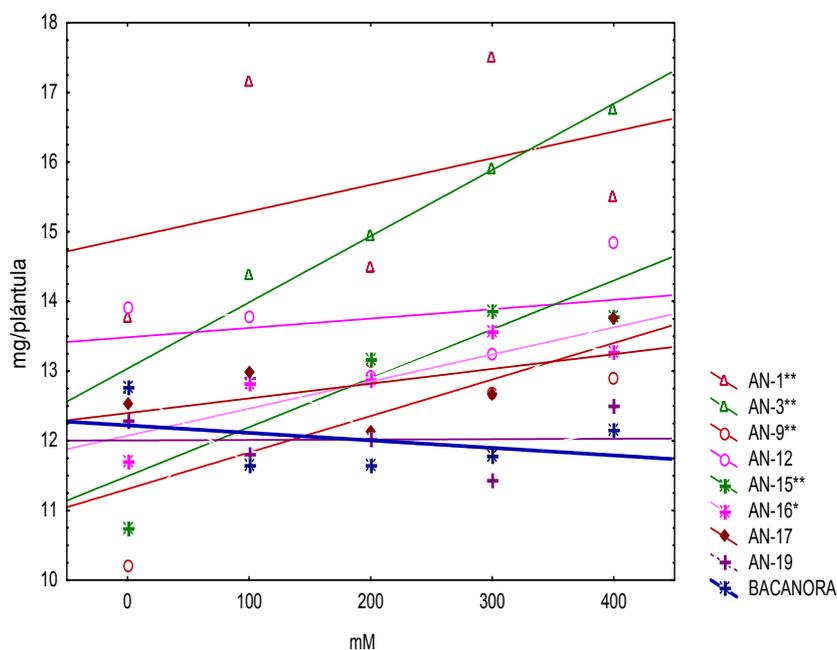
mucha información sobre la relación que tiene ésta característica con el comportamiento en campo, como la línea 1, 12, 15 y 19 (Figura 4.10) y solo la 9 y 19 después de EA (Figura 4.11).

### **Peso seco**

Al analizar la interacción de concentraciones x líneas en el peso seco encontramos que la tendencia del peso seco de las línea 19 y Bacanora fueron negativas (Cuadro 4.6), indicando que las concentraciones de sal les afectó en la producción de materia seca de la plántula, pero no en todas las concentraciones, por ejemplo a una concentración de 100 y 200 mM se afectó el peso seco de Bacanora pero a 300 y 400 mM aumento su peso, este mismo comportamiento lo presentó la 19, donde a 100 y 300 mM disminuyó el peso seco mientras que a 200 y 400 aumento (Figura 4.12). Otra línea con tendencia positiva fue la 3, la cual aumento su peso seco conforme se incrementó la concentración de sal, teniendo valores superiores que Bacanora y la línea 19.

Comportamiento contrario en la línea 1 ya que aumentó el peso seco en 100 y 300, mientras que a 200 y 400 mM disminuyó, sin embargo su tendencia fue considerada positiva (igual que 5, 11 y 13; Cuadro 4.6); además de que fue la que mayor peso presentó en estas últimas concentraciones. Por otro lado las líneas con mayor tendencia positiva fueron la 2 y la 15 (Cuadro 4.6), representadas por la línea 15 en la Figura 4.12. Estos resultados coinciden con Hameed *et al.* (2005) quienes reportan efectos positivos en LMP y LMR a concentraciones de sal.

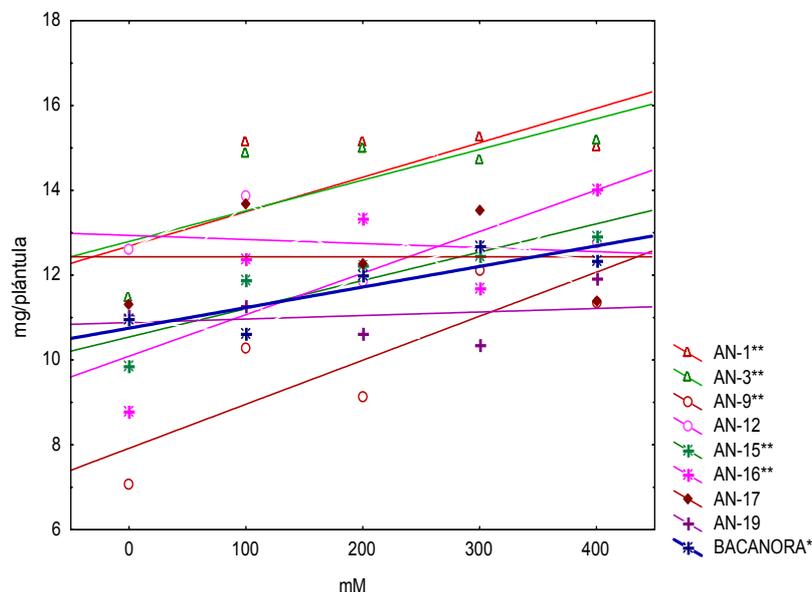
Después del envejecimiento acelerado la línea 12 fue la única que tuvo una reducción en peso seco y por lo tanto su tendencia fue negativa (Cuadro 4.6), coincidiendo con Figueroa. *et al.*, (2005) quienes mencionan que la materia seca tiene una relación lineal con la salinidad, así mismo con Hameed *et al.* (2005) pero no coincide con lo descrito por Jaradat *et al.*, (2004) y Mara *et al* (2006) quienes mencionan que el peso seco se reduce al estrés por salinidad durante la prueba de germinación donde el sustrato fue imbibido con las concentraciones de sal.



línea	Intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	14.91	0.004	0.11	10.49
AN-3	13.04	0.0095	0.75	5.5
AN-9	11.3	0.005	0.32	9.26
AN-12	13.48	0.001	0.03	8.4
AN-15	11.49	0.007	0.53	7.6
AN-16	12.07	0.003	0.23	8.2
AN-17	12.4	0.002	0.11	6.8
AN-19	23.27	-0.028	0.03	145.5
Bacanora	12.2	-0.001	0.03	7.16

Figura 4.12. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

Mientras que el incremento de peso seco con la salinidad ha sido reportado por Hameed *et al.* (2005) con el tratamiento de NaCl por imbibición de la semilla por 24 horas, comportamiento similar al encontrado en el presente trabajo.



Línea	Intercepto	coeficiente	R <sup>2</sup>	CV
AN-1	12.68	0.0081	0.44	9.5
AN-3	12.79	0.007	0.44	8.59
AN-9	7.9	0.01	0.55	14.07
AN-12	12.94	-0.0009	0.01	9.22
AN-15	10.54	0.006	0.49	8.48
AN-16	10.1	0.009	0.50	12.18
AN-17	12.4	0	0.00	10.12
AN-19	10.88	0.001	0.01	9.9
Bacanora	10.74	0.005	0.25	10.57

Figura 4.13. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

Bewley & Black (1983) ya afirmaba que la imbibición de la semilla en solución de sales inorgánicas y posterior transferencia en agua mejora el comportamiento en germinación. Mientras que Hameed *et al.* (2005) emplearon diferentes tratamientos a la semilla para disminuir el efecto del estrés salino, y en la revisión que hace Ghana & Schillinger (2003) de varios autores menciona que la imbibición con agua durante cierto tiempo evitando la germinación, permite la replicación temprana del ADN, incremento de la síntesis de proteína y ARN,

disponibilidad mayor de ATP, crecimiento del embrión más rápido, repara partes de la semilla deteriorada y reduce la pérdida de metabolitos. Mientras que el tratamiento de semillas de trigo con agua o solución osmótica mejora la germinación y emergencia y promueve crecimiento vigoroso de raíz.

## Proteínas

### Cuantificación de gliadinas y gluteninas

En la cuantificación de gliadinas y gluteninas se encontró en el análisis de varianza que hubo diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) entre genotipos (Cuadro 4.7) donde la cantidad de gliadinas fue mayor que el de gluteninas entre ellos.

Cuadro 4.7. Cuadros medios de gliadinas y gluteninas de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad

FV	GL	CM	
		Gliadinas	Gluteninas
Línea	19	24127.02	4110.84
Error	60	4818.03	187.06
CV		8.50	3.99

\*  $P > 0.05$

Las líneas con mayor cantidad de gliadinas y que superaron a Bacanora fueron 12, 15 y 16, seguidas de 2, 4, 12, 14, 18 y 19, mientras las 4, 6 y 10 presentaron valores similares (Figura 4.15). Y todas las líneas con excepción de la 19, superaron a Bacanora en contenido de gluteninas (Figura 4.14).

La línea que presentó mayor contenidos de gluteninas fue la 18 con 442.53  $\mu\text{g/ml}$ , seguida de la línea 17 con 380.88  $\mu\text{g/ml}$ , mientras que la línea 19 y Bacanora presentaron los valores más bajos y similares con 295.2 y 296.85  $\mu\text{g/ml}$  (Cuadro A3).

En el caso de las gliadinas la línea 16 presentó la mayor concentración con 936.83  $\mu\text{g/ml}$  seguida de las líneas 15, 13, 3, 5, 12, 14, 18, 19 (Cuadro A3), Bacanora tuvo una concentración por debajo de las líneas antes mencionadas con 833.43  $\mu\text{g/ml}$ , lo cual indicó que este genotipo no contiene una alta concentración de proteínas debido a que posiblemente tenga una composición mas inclinada hacia el almidón.

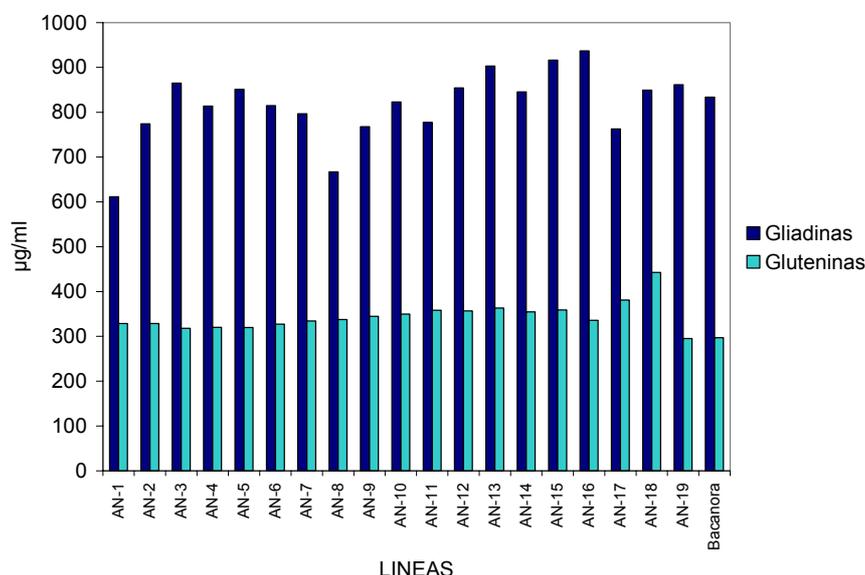


Figura 4.14. Gliadinas y gluteninas de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad

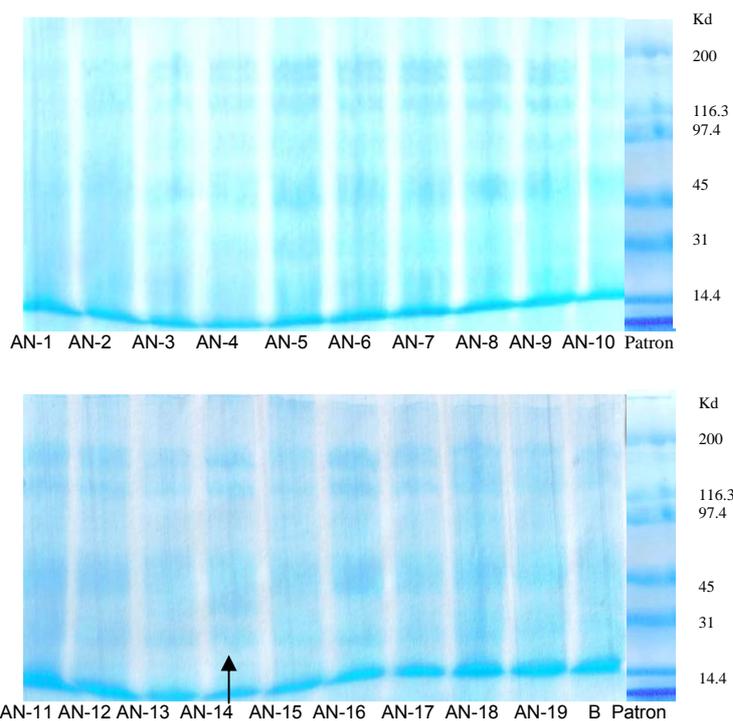
El trigo es uno de los cereales más ricos en gluteninas y gliadinas, según Agricultural Research Service, el contenido de gluteninas alcanza 300-400 ppm en la semilla, lo cual lo pone a la cabeza de todas las plantas que poseen esta proteína sobre la tierra. También y sólo superado por el maíz y jengibre el grano de trigo es uno de los más ricos en gliadinas ([www.geocities.com/cesnchile/salud/salnatinf14.html](http://www.geocities.com/cesnchile/salud/salnatinf14.html)).

### **Tipo de bandas en gluteninas y gliadinas**

En lo que respecta a la diferenciación de bandas en la gluteninas se encontraron cinco bandas sobresalientes en los genotipos con un rango de peso molecular de 200 a 10 Kd, con excepción de la línea 14, que mostró una banda adicional de aproximadamente 35Kd (Figura 4.15).

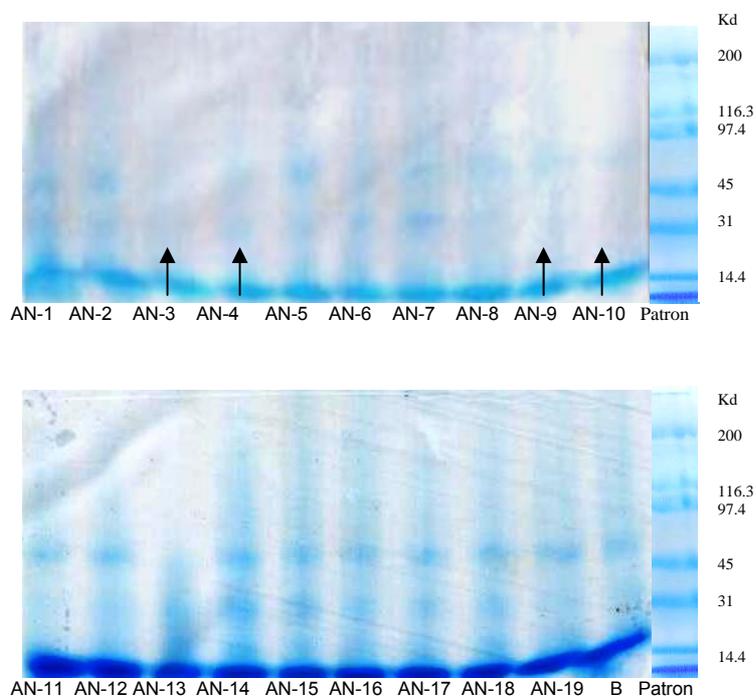
Es de notar que las bandas de algunas líneas sobretodo de las de bajo peso molecular tienden a estar en 14.4 kd y 10 Kd como fueron la 1, 2, 7, 8, 9, 11, 16, 17, 18, 19 y Bacanora con PM igual a 14.4 Kd, mientras que la 3, 4, 5, 6, 12, 13, 14 y 15 con 10 Kd.

En el caso de las bandas obtenidas en las gliadinas, se encontraron un número reducido y de poco peso molecular, por debajo de 97 Kd (Figura 4.16), donde las líneas 14, 15, 16, 17 y 18 al parecer constituyen los mismos polipéptidos, y las líneas 14 y 15 presentan igual número y peso molecular en las bandas, por lo tanto de la misma constitución genética da esta proteína. Las diferencias tampoco parecen tener relación con la calidad fisiológica, ya que Bacanora tiene bandas similares a 14 y 15, líneas que presentaron la disminución más pronunciada de la germinación y vigor con el incremento en concentración de sal.



B=Bacanora

Figura 4.15. Gluteninas en gel de SDS-PAGE de 20 genotipos tolerante a salinidad



B=Bacanora

Figura 4.16. Gliadinas en gel SDS-PGE de 20 genotipos de trigo tolerante a salinidad

Continuando con la Figura 4.16 se observa que las líneas que difieren con menor número de bandas de polipéptidos de gliadinas fueron la 3, 4, 9, 10. Las líneas que tuvieron el menor porcentaje de germinación y vigor parecen diferir en la ausencia de las bandas peptídicas, como son las líneas 9 y 10. Sin embargo la 3 y 4 son parecidas en esa característica pero en su comportamiento fisiológico no corresponden.

En lo que respecta a Bacanora, la banda de bajo peso molecular difiere completamente de los genotipos estudiados

### **Correlación**

Los resultados de correlación se presentan en el Cuadro 4.8, encontramos que la que se tuvo entre la calidad física y la tasa de imbibición concuerda con Bewley & Black (1983), con coeficiente de correlación entre los mililitros de agua absorbida y el peso volumétrico (-0.75) donde a menor peso volumétrico mayor absorción de humedad obtuvo la semilla como fue el efecto que presentaron las líneas 9, 10 y 12. en el caso de peso de mil semillas se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.74 con ( $P < 0.05$ ) el cual indicó que a mayor peso de mil semillas mayor imbibición obtuvo la semilla como fue el caso de las líneas 1, 2, 3 y 9, mientras que las líneas 5 y 6 tuvieron menor peso y menor imbibición (Cuadro 4.8).

En lo referente a calidad fisiológica se observó que al disminuir las plántulas normales, las semillas sin germinar se incrementaron ( $r = -0.98$ ) y con el envejecimiento acelerado sucedió lo mismo ( $r = -0.99$ ), lo cual prueba que el efecto de la sal fue inhibir la germinación, pero en envejecimiento acelerado las

plántulas anormales se correlacionó con plántulas normales (-0.73) debido a que con el deterioro las anormalidades incrementaron ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 4.8).

Para calidad fisiológica y tamaño de semilla, Jeannette *et al.* (2002) mencionan que las semillas grandes tienen más reservas para soportar el crecimiento de la plántula durante el estrés salino, como lo reportó en frijol, pero esto puede variar con la ontogenia y no dar lugar a adultos tolerantes.

En este caso se obtuvo una correlación de 0.5 ( $P < 0.05$ ) entre el peso de mil semillas y el peso seco durante la prueba de germinación, como resultó en las líneas 1, 4 y 8, con alto peso de mil semillas y alto peso seco de plántula y Bacanora con bajo peso de mil semillas y bajo peso seco.

En imbibición Bacanora, de semilla pequeña, presentó mayor absorción que líneas con peso medio, es posible que cuente con algún osmoprotector, que le brindó protección a enzimas relacionadas con germinación (Rodríguez 2006).

Aunque existen diferencias notables entre las líneas no se puede decir que en todas las pruebas exista correlación entre los valores encontrados, por lo que algunas líneas que sobresalen en germinación no lo hacen en la longitud media plúmula o radícula o incluso en el peso seco, no hubo correlación entre estas variables ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 4.8).

No hubo correlación entre el contenido de gliadinas y gluteninas en los genotipos, los coeficientes de correlación fueron de 0.08 (Cuadro 4.8).

Las proteínas también están involucradas en la generación de la plántulas, por eso es que también encontramos correlación entre la longitud media de plúmula y el peso seco antes (-0.54) y después del envejecimiento acelerado (-0.49) y el contenido de gluteninas ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 4.8), como es el caso de la línea 18 que obtuvo el valor más alto de gluteninas (A3) y una de las longitudes de plúmula más cortas en la prueba de germinación (Cuadro A1) y un valor de longitud de plúmula entre los más bajos después del envejecimiento acelerado (Cuadro A2).

Existe una relación entre peso de mil semillas y contenido de gliadinas, con coeficiente de correlación de -0.53 ( $P < 0.05$ ), por lo que a mayor peso de semillas existe menor contenido de gliadinas, como es el caso de la línea 1 y 8, con alto peso de mil semillas y bajo contenido de gliadinas.

La línea 19 y Bacanora presentaron un comportamiento similar con la aplicación de NaCl, por que podría asumirse que genéticamente son iguales, sin embargo en el tipo de bandas se encuentra que Bacanora es diferente.

Cuadro 4.8. Coeficientes de correlación de 19 variables evaluadas en 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad

	HUM	PV	PMS	IMB	GLI	GLU	PNEA	PAEA	SSGA	LMR	LMREA	LMP	LMPEA	PS	PSEA	PN	PA	SSG
HUM	1.00	<b>0.50*</b>	-0.33	<b>-0.64*</b>	0.02	-0.12	0.26	-0.43	-0.22	0.22	0.23	0.37	<b>0.50*</b>	0.06	0.40	0.19	-0.13	-0.16
PV		1.00	<b>-0.44</b>	<b>-0.75*</b>	0.26	0.04	0.38	<b>-0.47*</b>	-0.35	0.27	<b>0.59*</b>	-0.02	0.20	-0.06	0.10	0.14	-0.23	-0.09
PMS			1.00	<b>0.74*</b>	<b>-0.53*</b>	0.03	-0.39	0.46*	0.36	-0.29	<b>-0.66*</b>	-0.01	-0.25	<b>0.50*</b>	0.17	0.12	-0.05	-0.11
IMB				1.00	-0.42	-0.03	<b>-0.47*</b>	<b>0.58*</b>	0.43	-0.26	<b>-0.61*</b>	-0.04	-0.31	0.32	0.02	-0.09	0.11	0.07
GLI					1.00	0.08	-0.02	-0.13	0.04	-0.15	0.19	<b>-0.55*</b>	-0.16	<b>-0.55*</b>	<b>-0.47*</b>	-0.44	-0.08	<b>0.45*</b>
GLU						1.00	-0.19	0.14	0.19	-0.10	-0.23	<b>-0.54*</b>	<b>-0.49*</b>	-0.09	-0.22	-0.13	0.10	0.11
PNEA							1.00	<b>-0.73*</b>	<b>-0.99*</b>	0.39	<b>0.66*</b>	0.41	<b>0.59*</b>	0.11	0.33	<b>0.58*</b>	-0.35	<b>-0.50*</b>
PAEA								1.00	<b>0.65*</b>	<b>-0.61*</b>	<b>-0.68*</b>	-0.37	<b>-0.57*</b>	-0.21	-0.39	-0.22	0.35	0.14
SSGA									1.00	-0.34	<b>-0.63*</b>	-0.40	<b>-0.56*</b>	-0.08	-0.30	<b>-0.61*</b>	0.33	0.53*
LMR										1.00	<b>0.57*</b>	0.30	0.42	0.37	<b>0.49*</b>	-0.09	-0.41	0.17
LMREA											1.00	0.25	<b>0.55*</b>	-0.02	0.20	0.04	-0.04	-0.03
LMP												1.00	<b>0.69*</b>	0.44	<b>0.50*</b>	<b>0.49*</b>	-0.05	<b>-0.47*</b>
LMPEA													1.00	0.26	0.45	0.32	-0.09	-0.30
PS														1.00	<b>0.84*</b>	0.09	-0.11	-0.06
PSEA															1.00	0.12	-0.13	-0.09
PN																1.00	-0.03	<b>-0.98*</b>
PA																	1.00	-0.18
SSG																		1.00

Hum=humedad (%), PV= peso volumétrico (HI), PMS= peso de mil semillas (gr), Imb= imbibición (ml/100 semillas), PN=Plántulas normales; PA=Plantulas anormales; SSG=Semillas sin germinar; LMR=Longitud media de radícula; LMP=Longitud media de plúmula y PS=Peso seco. PNEA=Plántulas normales después de envejecimiento acelerado (EA); PAEA=Plántulas anormales después de EA; SSGEA=Semillas sin germinar después de EA; LMREA=Longitud media de radícula después de EA; LMPEA=Longitud media de plúmula después de EA y PSEA=Peso seco después de EA. \*significativo al 0.05% de probabilidad

## CONCLUSIONES

La aplicación de sal y el aumento de ésta afecta directamente la germinación y vigor de las líneas donde a medida que aumenta la concentración aumentan las SSG y las plántulas anormales solo después del EA.

El genotipo que presento un comportamiento fisiológico sobresaliente frente al estrés por NaCl fue la línea 19.

Las concentraciones tuvieron un efecto positivo en todas las líneas para la longitud de plúmula excepto la línea 12 después de EA

Las concentraciones tuvieron un efecto negativo para las líneas 10, 5 y 3 y después del EA 1, 2, 6, 7, 8 12 y 17.

Existe una relación del comportamiento fisiológico y las características físicas y bioquímicas de la semilla de trigo.

El tamaño de semilla esta relacionado con la cantidad de agua absorbida por ésta.

El peso seco de plántula estuvo relacionado al peso de mil semillas.

Se presento una relación entre las gluteninas y gliadinas y el vigor (LMP) frente al estrés salino.

El deterioro provocó que líneas 9 y 10 disminuyeran su porcentaje de plántulas normales pero no fueron tan susceptibles a la sal como las líneas 14, 15 y 16.

## RESUMEN

Actualmente a nivel mundial se incluye en programas de mejoramiento la tolerancia a salinidad, por ser una alternativa para aquellos suelos que han sido afectados por este fenómeno, como el caso en los distritos de riego de México. La selección de genotipos tolerantes a salinidad puede realizarse en la fase de germinación, por lo que existe la posibilidad de trabajar en laboratorio. Es por ello que se evaluó la calidad física, fisiológica y bioquímica de 20 genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) aplicando cuatro concentraciones de sal NaCl bajo condiciones de laboratorio. Se determinaron características físicas de las semillas (Humedad, Peso Volumétrico, Peso de Mil Semillas). El tratamiento fue 100 mM, 200 mM, 300 mM y 400 mM (5.85, 17.55, 23.4 y 29.25 g de NaCl por litro de agua respectivamente), en vasos de precipitados se aplicaron 100ml de cada solución de las cuatro concentraciones a 100 semillas cada genotipo durante 24 horas de imbibición, después se evaluaron plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), y longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula (LMR) y peso seco (PS) y después del envejecimiento acelerado (EA) se evaluaron las mismas variables (PNEA, PAEA, SSGEA, LMPEA, LMREA y PSEA). Se cuantificaron y diferenciaron las proteínas por espectrofotometria y SDS-PAGE en semillas sin imbibir. También se determino la relación entre la calidad física, imbibición, calidad fisiológica y cantidad y tipo de proteínas presentes en semillas y determino la relación entre variables evaluadas en los 20 genotipos estudiados.

En los resultados primero se presenta la tasa de imbibición, donde las líneas 1, 2, 9, 10 y 12 fueron las de mayor imbibición de 2.01 a 2.24 ml, y las de menor fueron las 5, 6, 11, 14, 15, 16, 18 y 19; las restantes estuvieron en valores medios de 1.77 a 1.96. El peso de mil semillas de 1, 2 y 9 fue el más alto y presentó la mayor imbibición, mientras que 5 y 6 con peso de mil semillas bajo obtuvo el menor valor de agua imbibida. En el análisis de varianza de la calidad fisiológica se encontró significancia en las fuentes de variación con excepción de las plántulas anormales después del EA, a medida que aumentó la concentración aumentaron las SSG y las plántulas anormales solo después del EA; la interacción se muestra para los grupos de líneas de acuerdo a su pendiente, donde la línea 19 superó al testigo en germinación y vigor y las 14 y 15 fueron las más afectadas por salinidad; la línea 9 y 10 fueron altamente afectada por el EA, pero presentaron una mediana tolerancia al estrés salino. Las concentraciones tuvieron un efecto positivo en la longitud de plúmula excepto de la línea 12 después de EA y un efecto negativo en la longitud media de radícula para las líneas 10, 5 y 3 y después del EA 1, 2, 6, 7, 8 12 y 17. Existió una relación del comportamiento fisiológico y las características físicas y bioquímicas de la semilla de trigo, el tamaño de semilla esta relacionado con la cantidad de agua absorbida por ésta, mientras que el peso seco de plántula estuvo relacionado al peso de mil semillas. Además hubo relación entre las gluteninas y gliadinas y el vigor (LMP) frente al estrés salino.

## LITERATURA CITADA

- Alam M.Z., Stuchbury T, Robert E L Naylor. 2006. Early identification of salt tolerant genotypes of rice (*Oryza sativa* L.) using controlled deterioration. *Experimental Agriculture*. London: Vol. 42, Iss. 1; pg. 65
- Aguilera C., M. y Martínez E., R. 1996. Relaciones agua-suelo-planta-atmósfera. 4ta edición. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA), 1992. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 35 The Handbook of official seed. United States of America. 70-81 p.
- Association of Official Seed (AOSA), 1993. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 32 The Handbook of official seed. United States of America. 88 p.
- Ashraf M., Foolad M.R.. 2005. Pre-Sowing Seed Treatment--A Shotgun Approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield Under Saline and Non-Saline Conditions *Advances in Agronomy*. San Diego: Vol. 88 pg. 223
- Báez A. 2002. Efecto de la calidad del agua de riego sobre las propiedades del suelo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Facultad de ciencias agrarias. Universidad Nacional de Mar de Plata. Buenos Aires, Argentina
- Balešević-Tubić, S., Malenčić, Đ. Tatić, M. and Miladinović, J. 2005 Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed *Helia* 28: 107-114,
- Baskin C.C. & Baskin M., J, 1998. *Seed Ecology Biogeography and evolution of dormancy and Germination*. Academic Press. USA. pp 35.
- Bewley J.D. & Black M., 1983. *Physiology and Biochemistry of seeds in relation of germination*. Capítulo 4. 1ed. Springer -Verlag. New York. pp 106-130.
- Bishnoi U. R. & Pancholy D. K. 1980. Comparative salt tolerance in triticale, wheat and rye during germination. *Plant and Soil* Volume 55, Number 3.
- Bradford M.M., 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Bioquímica* 72: 248-254.

- Branlard G., Dardevet M., Amiour N. & Igrejas G. 2003. Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 669-679.
- Cruz-Pérez A B, González-Hernández V A., Mendoza-Castillo M C y Ortega-Delgado M L 2003. Marcadores fisiológicos de la tolerancia al envejecimiento de semilla en maíz. *Agrociencia* 37: 371-381.
- Dell'Aquila, A. ; Tritto, V. 1990 Ageing and osmotic priming in wheat seeds: effects upon certain components of seed quality. *Annals of Botany* 65:21-26
- Dell'Aquila, A 1994 Wheat seed ageing and embryo protein degradation. *Seed Science Research* 4: 293-298
- Dell'Aquila, A. ; Turi, M. di 1996The germination response to heat and salt stress in evaluating vigour loss in aged wheat seeds. *Seed Science and Technology* 24: 309-319
- Díaz D.P.; Dalla R.M.; Vázquez D. & Castro M. 2006 Elementos de análisis cualitativo y cuantitativo en proteínas del gluten de trigo. *Agricultura Técnica, . 66: 363-369*
- Fernandez B., J. M., 1984 Influences of seed protein content in germination and subsequent growth of spring wheat (*triticum aestivum* L. Cv. Anza) under salinity and nitrogen limiting conditions. University of California, Davis, 116 pages; AAT 8416891
- Figuroa V. U., Flores O. M.A., Palomo R. M. 2005. Metodología para evaluar la tolerancia a salinidad de cultivos en etapas tempranas de desarrollo. *Agrofaz: publicación semestral de investigación científica*. 5: 133-140
- Fitter A.H. & Hay M.P.K, 1981. *Environmental Physiology of Plants*. Academic Press Inc, New York.
- Flowers, T.J, & Yeo A.R. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: Where nex? *Aust. J. Plant Physiol.* 22:875-884.
- Ghana S. Giri & William F. Schillinger 2003 Seed Priming Winter Wheat for Germination, Emergence, and Yield *Crop Sci.* 43:2135-2141.
- García P., H.M. 2000 Electroforesis en geles de poli(acrilamida): fundamentos, actualidad e importancia. *UNIV DIAG* 1(2):31-41
- Grieve C.M. & Francois L.E. 1992. The importance of initial seed size in wheat plant response to salinity. *Plant and Soil* .147(2).

- Gupta R.B. & MacRitchie F (1991) A rapid One-step One-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin in wheat. *Journal of Cereal Science* 14: 105-109
- Hameed, A., Basra, S.M.A., Irfan Afzal, Rashid, R. A. 2005. Inducing salt tolerance in wheat by seed vigor enhancement techniques. *International Journal of Biology and Biotechnology*. 2: 173-179
- Hewit G.P. 1996. Física conceptual. 1era edición. Editorial Trillas, Mexico. pp 50.
- Iglesias & Gonzalez 1995. Variation in total protein composition of race varietal group submitted to saline stress *Cultivos Tropicales (Cuba)* 16(1): 81-83
- Isla C., R. 1996. Efecto de la salinidad sobre la cebada (*Hordeum vulgare* L.). Análisis de caracteres morfo-fisiológicos y su relación con la tolerancia a la salinidad. Tesis de doctoral. Unidad de Suelos y Riegos. Universidad de Lleida.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2004. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 21. Supplement.
- Jackson E.A., Morel M.H., Sontag-Strohm T., Branlard G., Metakovsky E.V. & Redaelli R. 1996. Proposal for combining the classification systems of alleles of Gli-1 and Glu-3 loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Genet. & Breed.* 50: 321-336
- Jarat, A.A., M. Shahid, & A. Al-Maskri. 2004. Genetic diversity in the Batini Barley Landrace from Oman: II. Response to salinity stress. *Crop Sci.* 44: 007-1007.
- Jeannette S.B.J., R. Craig & J.P. Lynch. 2002. Salinity tolerance of Phaseolus species during germination and early seedling growth. *Crop Sci.* 42:1584-1504.
- Khan M. A. and Ungar I. A.. 1996. Influence of salinity and temperature on the germination of *Haloxylon recurvum* Bunge ex. Boiss. *Annals of Botany* 78: 547-551.
- Kemal-U-R, K, 1988. The effects of salinity on photosynthesis and other physiological processes in spring wheat varieties. The University of Wales (United Kingdom), 328 pages.
- Mahalati, M.N., Kafi, M., Kamkar, B. 2005. Determination of the most sensitive developmental period of wheat (*Triticum aestivum*) to salinity using path analysis for optimal saline water utilization. *Agricultural Sciences and Technology*, 19: 25-34
- Mara M.L.; Carvalho L.P.; Lucca B.A.; Alberto S.C. 2006. Germination of seeds and seedling growth of popcorn cultivars under water and salinity stress *Rev. bras. Sementes*. 28(3).

- Méndez-N., J.R.; Ibarra-P., F.T. y Merazo-P., J.F. (1997) Germinación de semillas y desarrollo de plántulas de tres híbridos de maíz (*zea mays* L.) bajo soluciones osmóticas. ii. sulfato de sodio. Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente, Maturín, 6201, estado Monagas, Venezuela.
- Musito-R.N., Vega-S. M.C., Rodríguez-V. J.G. 2004. Genotipos de Maíz Tolerantes a Salinidad; un Estudio Preliminar para iniciar un Programa de Selección. Revista Agraria -Nueva Epoca-1: 18-23.
- Nath, S. ; Coolbear, P. ; Hampton, J. G 1991 Hydration-dehydration treatments to protect or repair stored 'Karamu' wheat seeds. Crop Science 31: 822-826
- Nisi, L.M. Vanzetti, C. Bainotti, B. Formica, J. Nisi. s/a. Utilización de Marcadores Moleculares en el Mejoramiento de Trigo - Genes de Calidad y Resistencia a Enfermedades.  
([www.ergonomix.com/utilización\\_marcadores\\_moleculares](http://www.ergonomix.com/utilización_marcadores_moleculares))
- Odiemah, M. 1987 Germinability and vigour of wheat seed compartment at different periods of storage. Acta Agronomica Hungarica 36: 303-308
- Peña R.J. 2007. Comunicación directa
- Perry D.A., 1977. A vigor test for seeds of barley (*Hordeum vulgare*) based on measurement of plúmula grow. Seed Science and Technology 5, 709-719.
- Pasternak, D. 1987. Tolerance and crop production. A comprehensive approach. Ann. Rev. Plant Phytopathol. 25: 271-291.
- Petruzzelli, L. ; Taranto, G. 1984 Phospholipid changes in wheat embryos aged under different storage conditions. Journal of Experimental Botany VL: 35 SS: 153 PP: 517-520.
- Rana M. & Richard A.J., 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil 253: 201–218.
- Rodríguez H.F & Rodríguez A.J. 2002 Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. 1 era ed. Editorial Trillas. México.
- Rodríguez P., L. 2006. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. Agronomía Colombiana 24(1): 28-37.
- San Miguel-Chávez, R. ; Gavilanes-Ruíz, M 1994 Effect of seed deterioration on nitrate uptake by roots. Plant Varieties & Seeds 7: 199-204
- Naylor, R. E. L. ; Gurmu, M. 1990 Seed vigour and water relations in wheat. Annals of Applied Biology 117: 441-450

- Salinas A R, Yoldjian A M, Dietrich M L, Craviotto R M y Bisaro V 2002 Comportamiento de glicinina,  $\beta$ -conglucina y  $\alpha$ -amilasa en semillas de soja deterioradas y no deterioradas(1) *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 37 (8): 1175-1181.
- Schaller, C.W., Berdegue, J.A., Dennett, C.W., Richards, R.A., & Winslow, M.D. 1981. Screening the world barley collection for salt tolerance. *Proc. 4th Intern. Barley Gen. Symp.* 389-393.
- Soltani A., Gholipour M. & Zeinali E. 2006 Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany* 55: 195-200
- Spanò, C.; Castiglione, M. R.; Bottega, S.; Grilli, I. 2004 Natural ageing of wheat seeds. *Current Topics in Plant Biology* 5: 89-94
- Stewart B. Wuest, Stephen L. Albrecht, and Katherine W. Skirvin (1999). Vapor Transport vs. Seed-Soil Contact in Wheat Germination *Agron. J.* 91:783-787
- Szabolcs, I. 1989. Salt-affected soils. CRC Press, Boca Ratón, FL.
- Medidas de presión <http://www.monografias.com/trabajos11/presi/presi.shtml>
- Boletín de salud informa [www.geocities.com/cesnchile/salud/salnatinf14.html](http://www.geocities.com/cesnchile/salud/salnatinf14.html)  
([www.eiita.upv.es](http://www.eiita.upv.es)).
- Lomonte B. s/a Electroforesis en Gel de Poliacrilamida  
([www.micro.ucr.ac.cr/13\\_PAGE.pdf](http://www.micro.ucr.ac.cr/13_PAGE.pdf))

## ANEXO

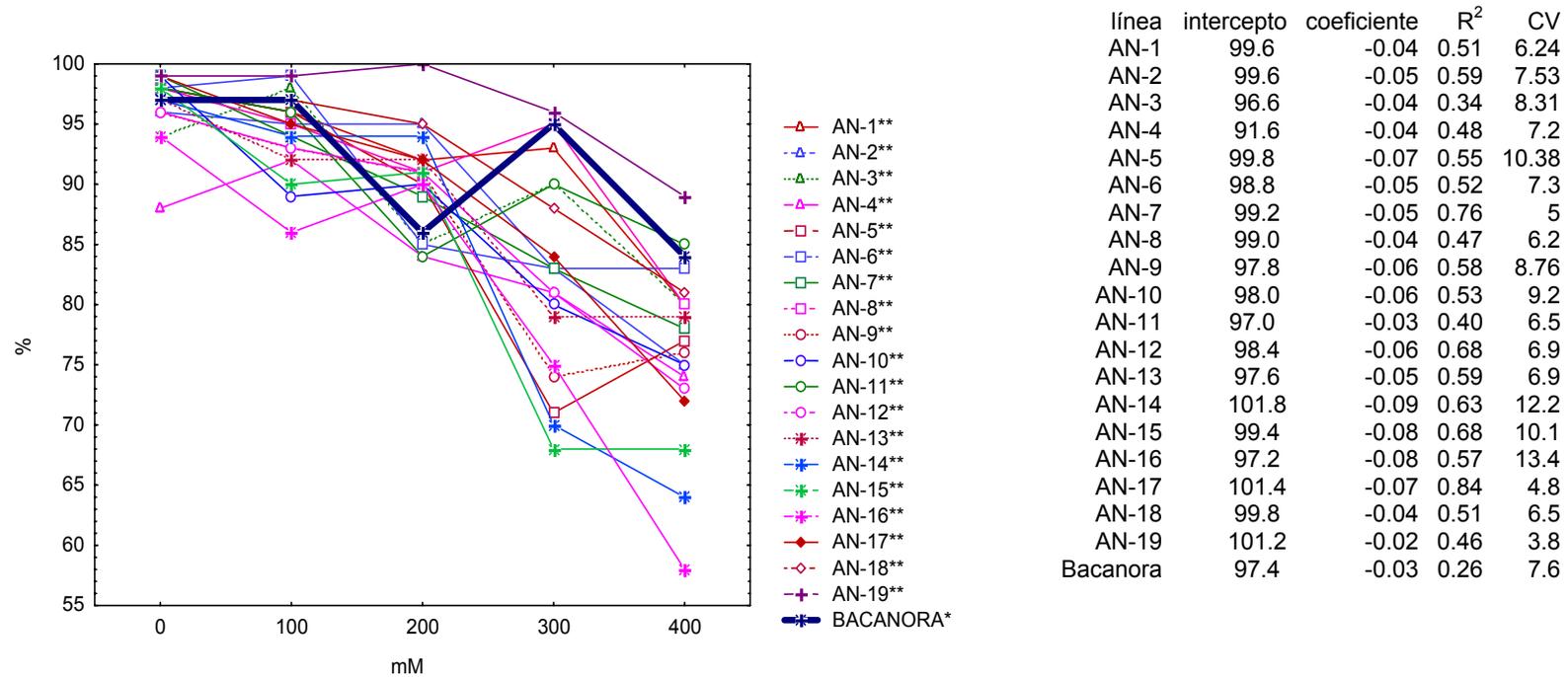


Figura A1. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$

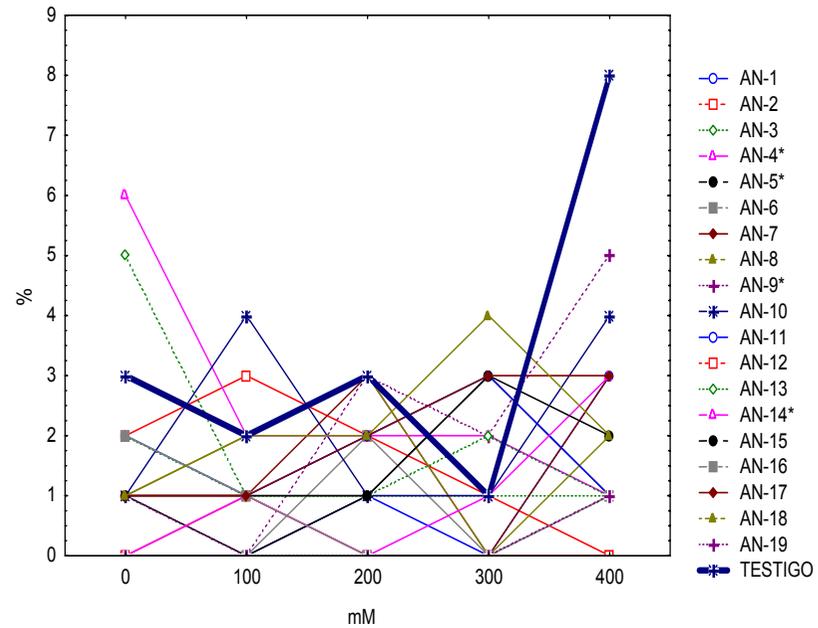


Figura A2. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas anormales en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01

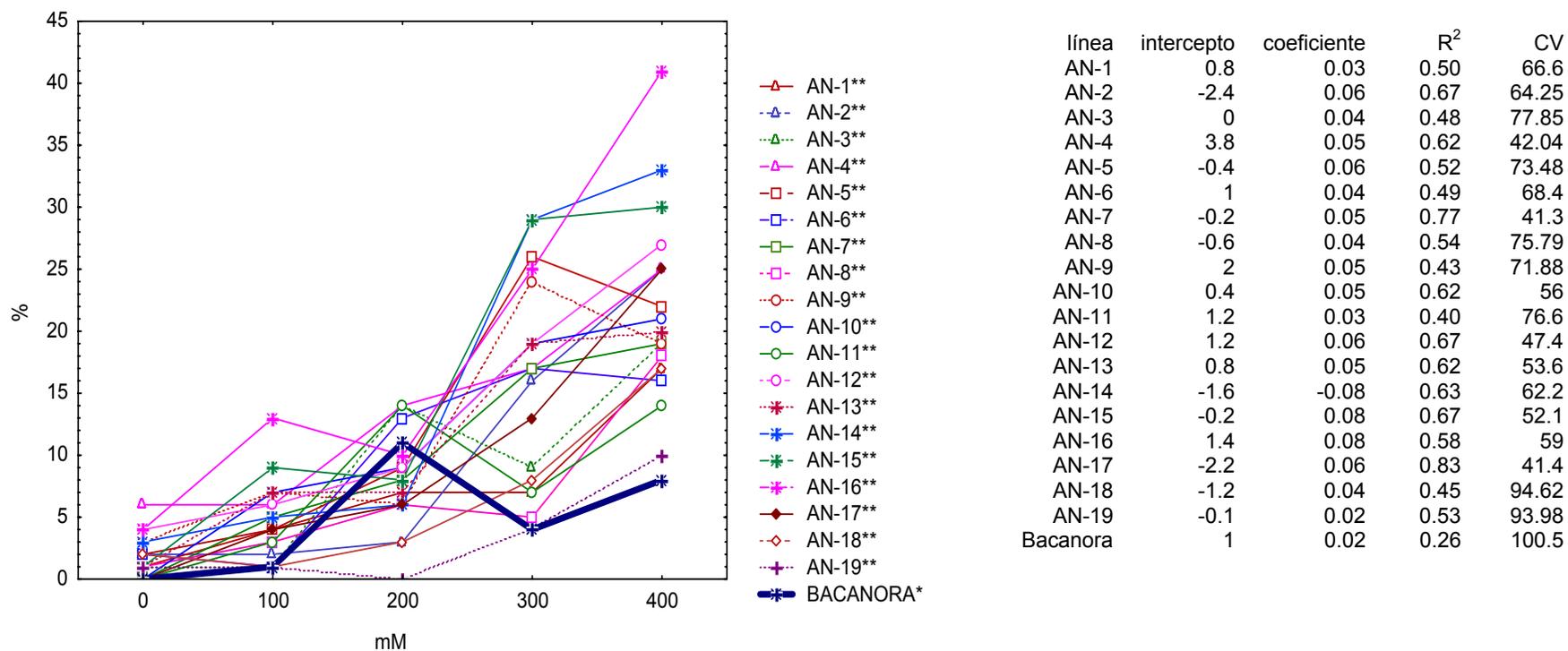


Figura A3. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las semillas sin germinar en la prueba de capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

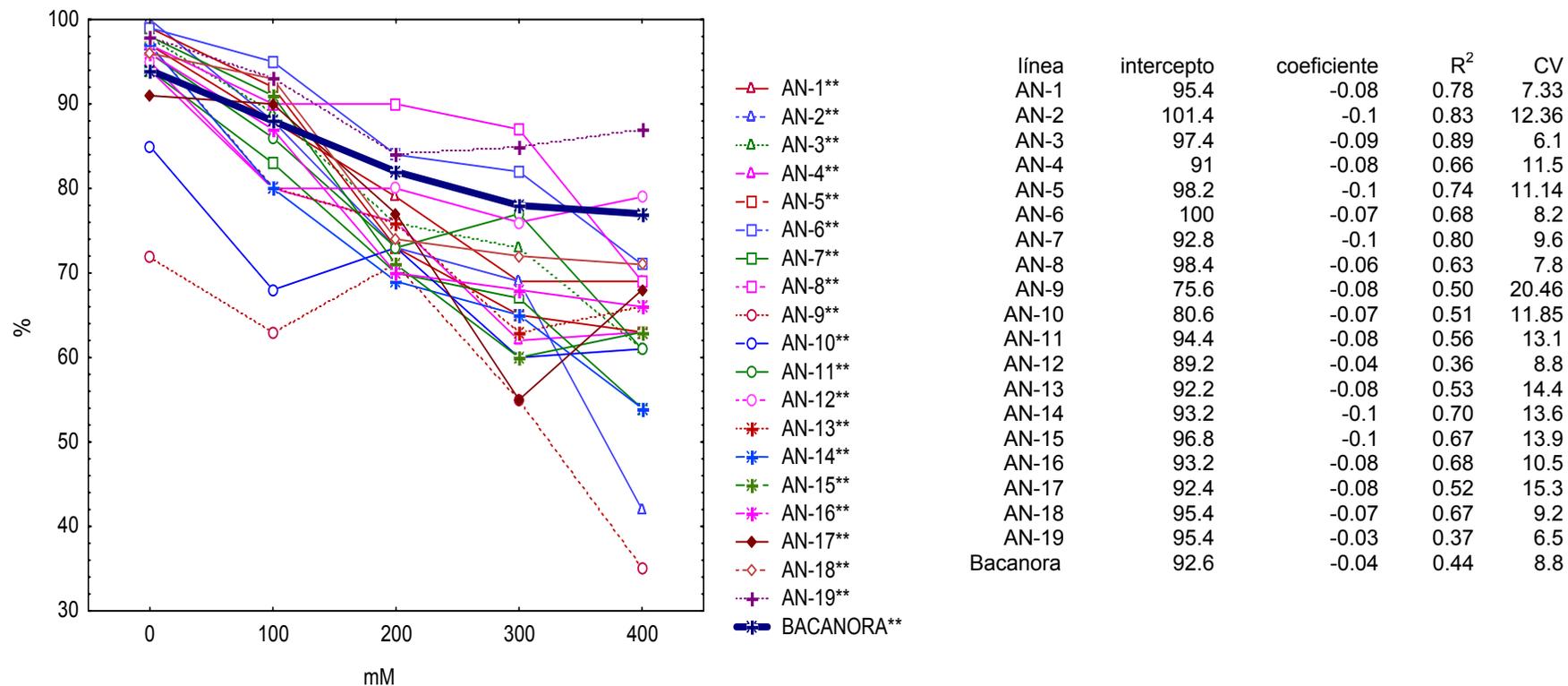


Figura A4. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas normales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

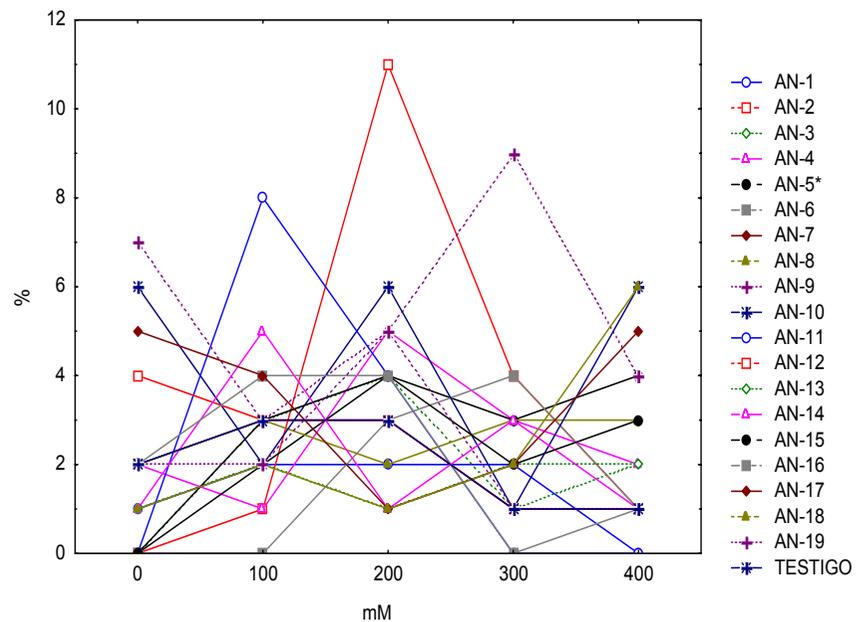


Figura A5. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las plántulas anormales después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$ .

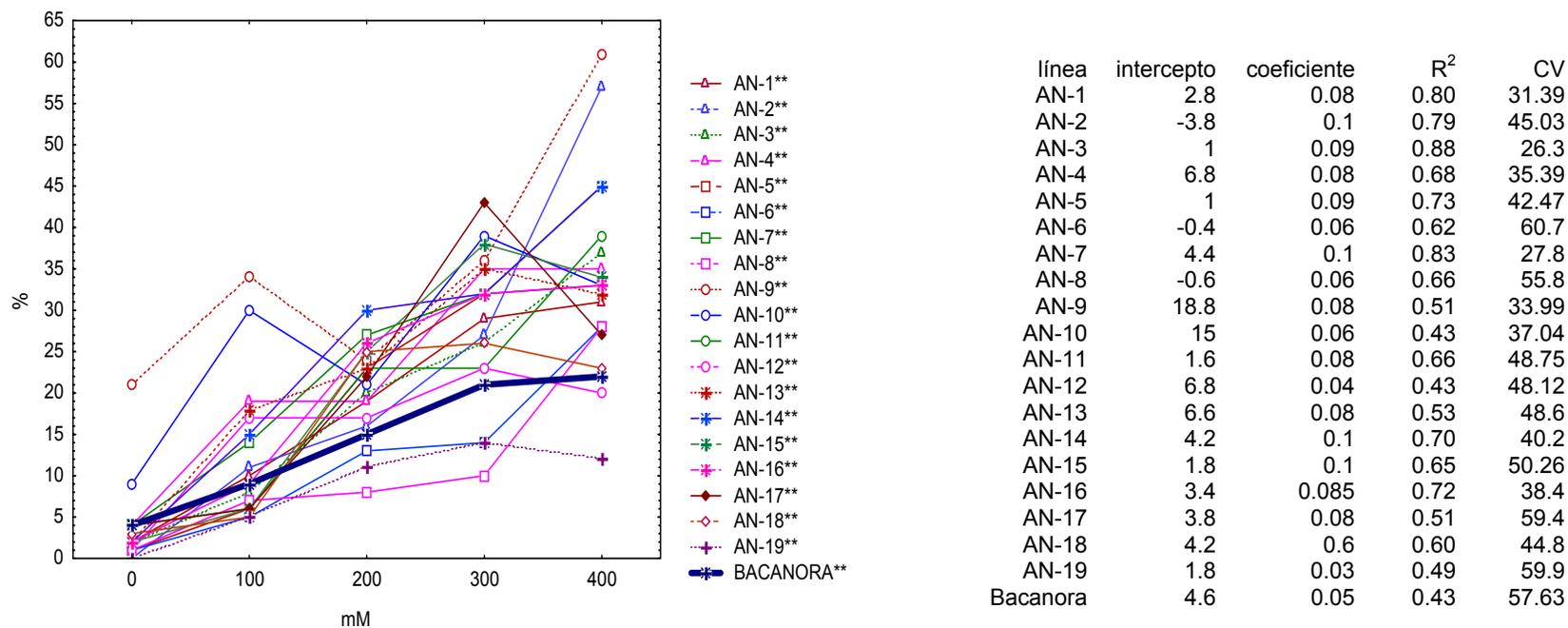


Figura A6. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre las semillas sin germinar después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

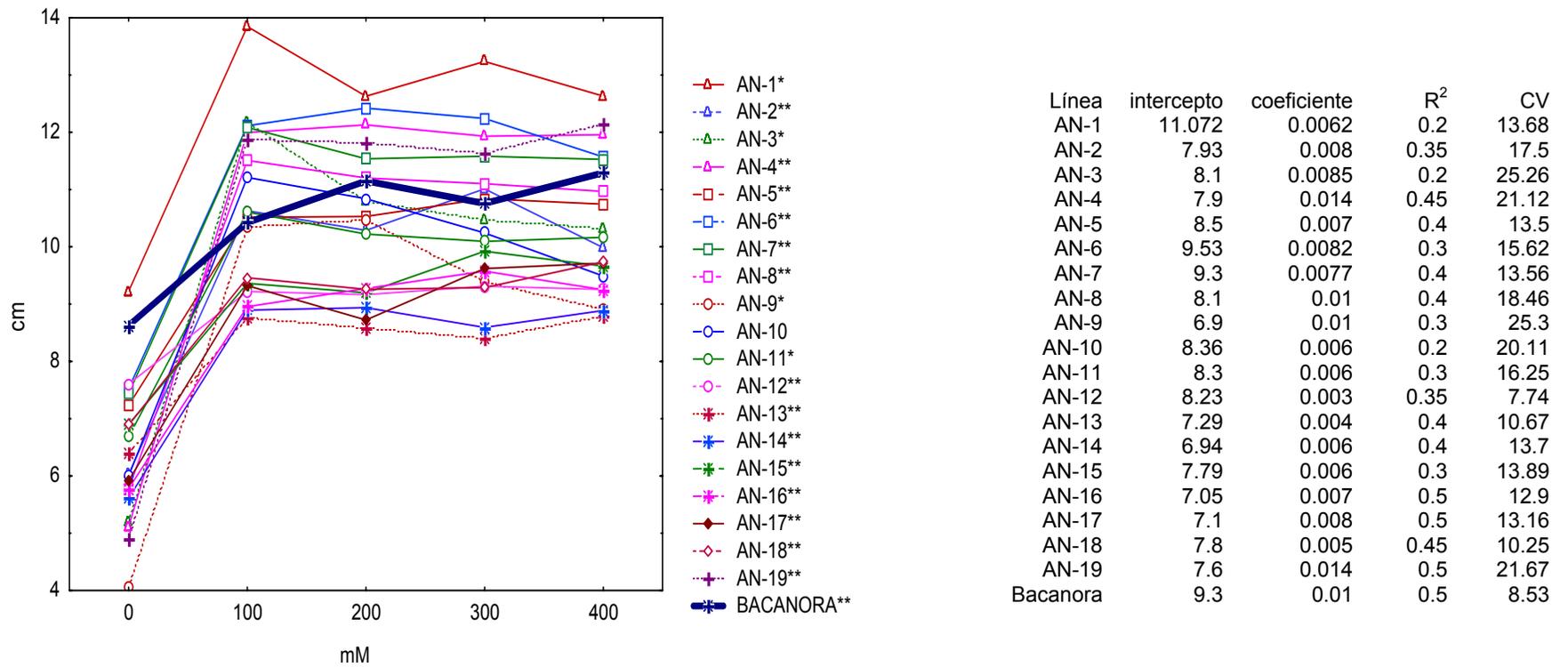


Figura A7. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de plúmula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

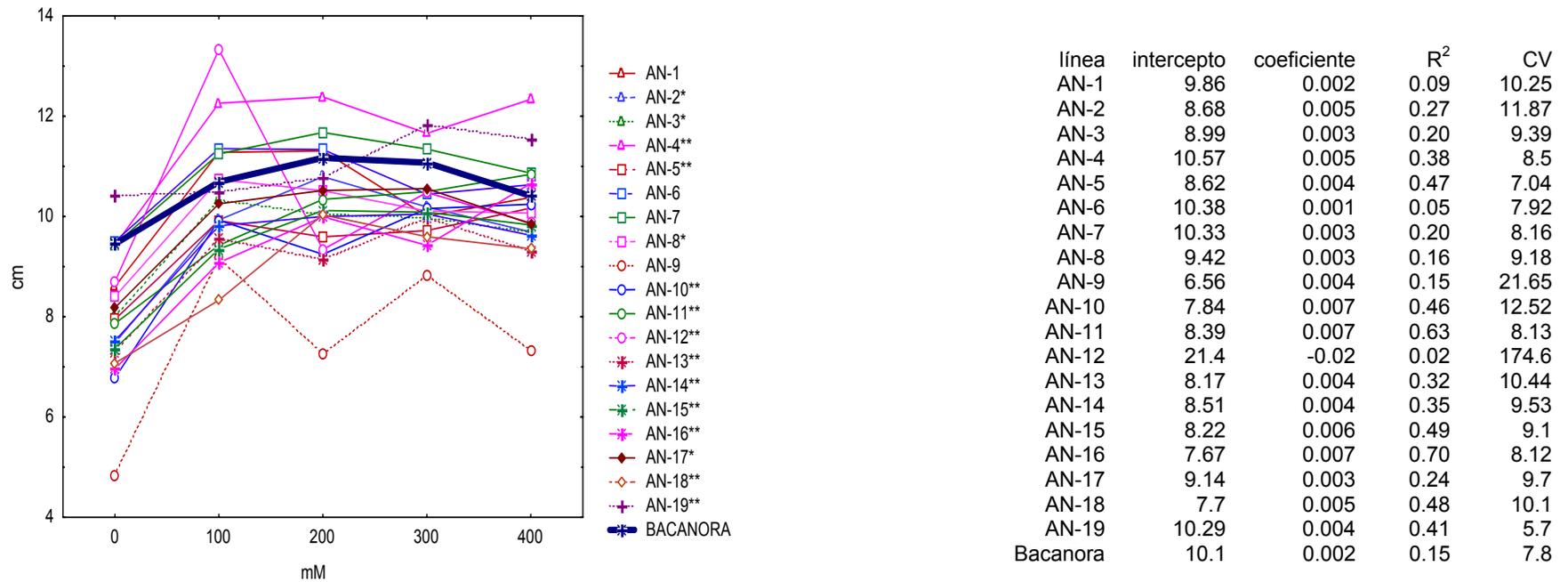


Figura A8. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de plúmula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

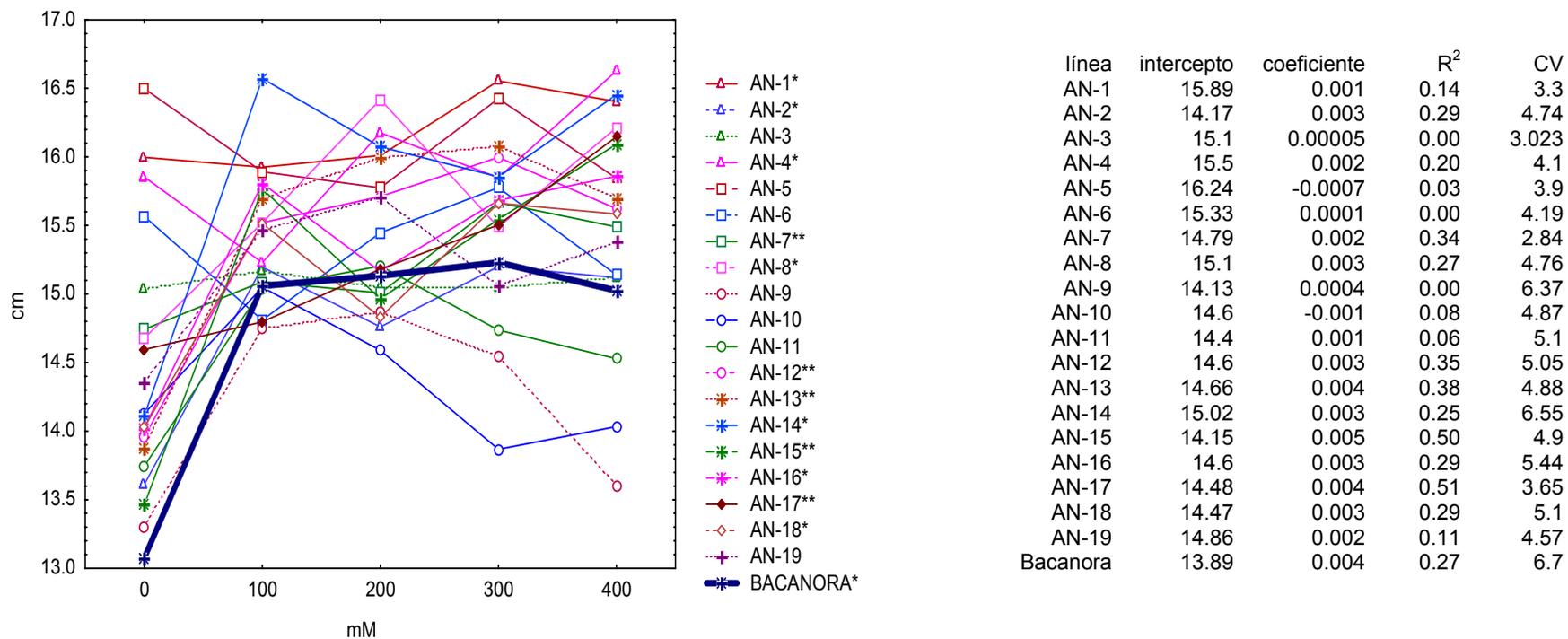


Figura A9. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud media de radícula de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

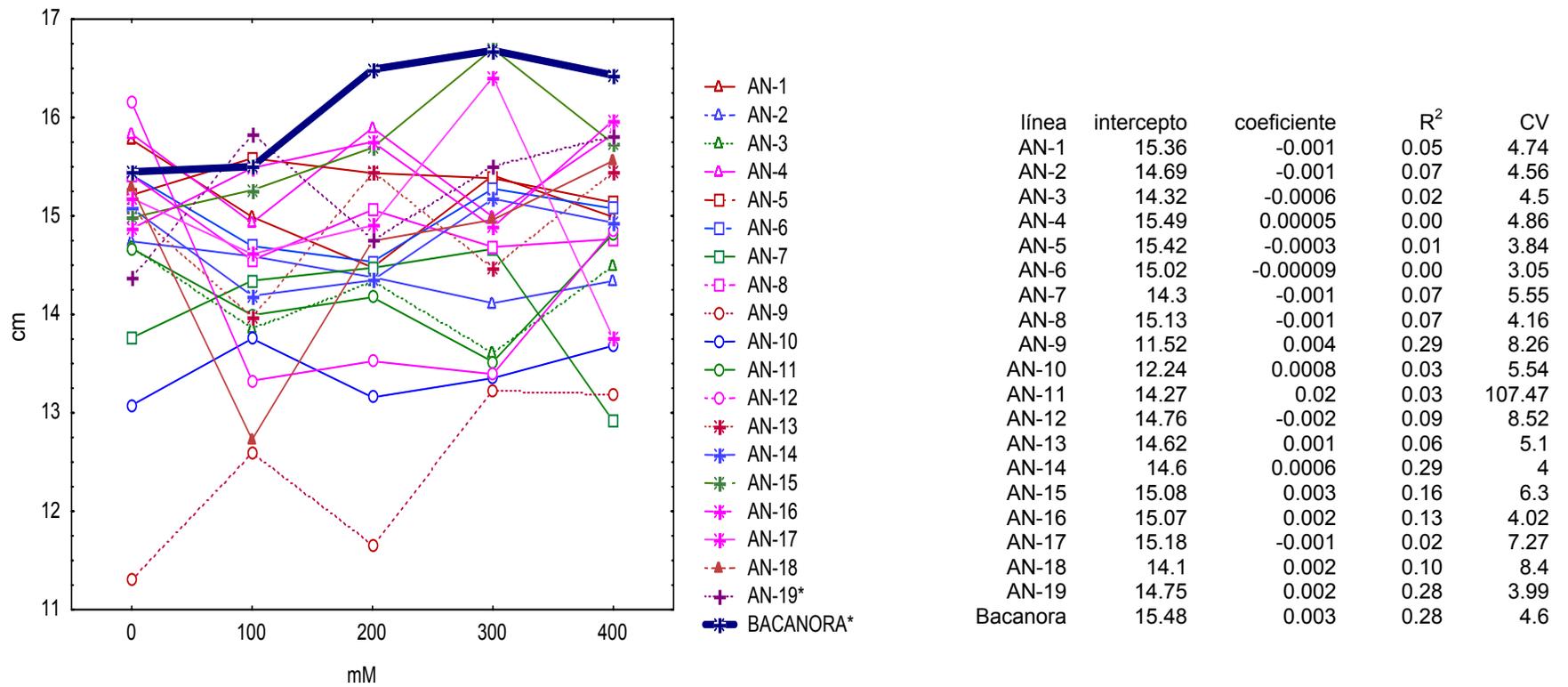


Figura A10. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre la longitud promedio de radícula después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

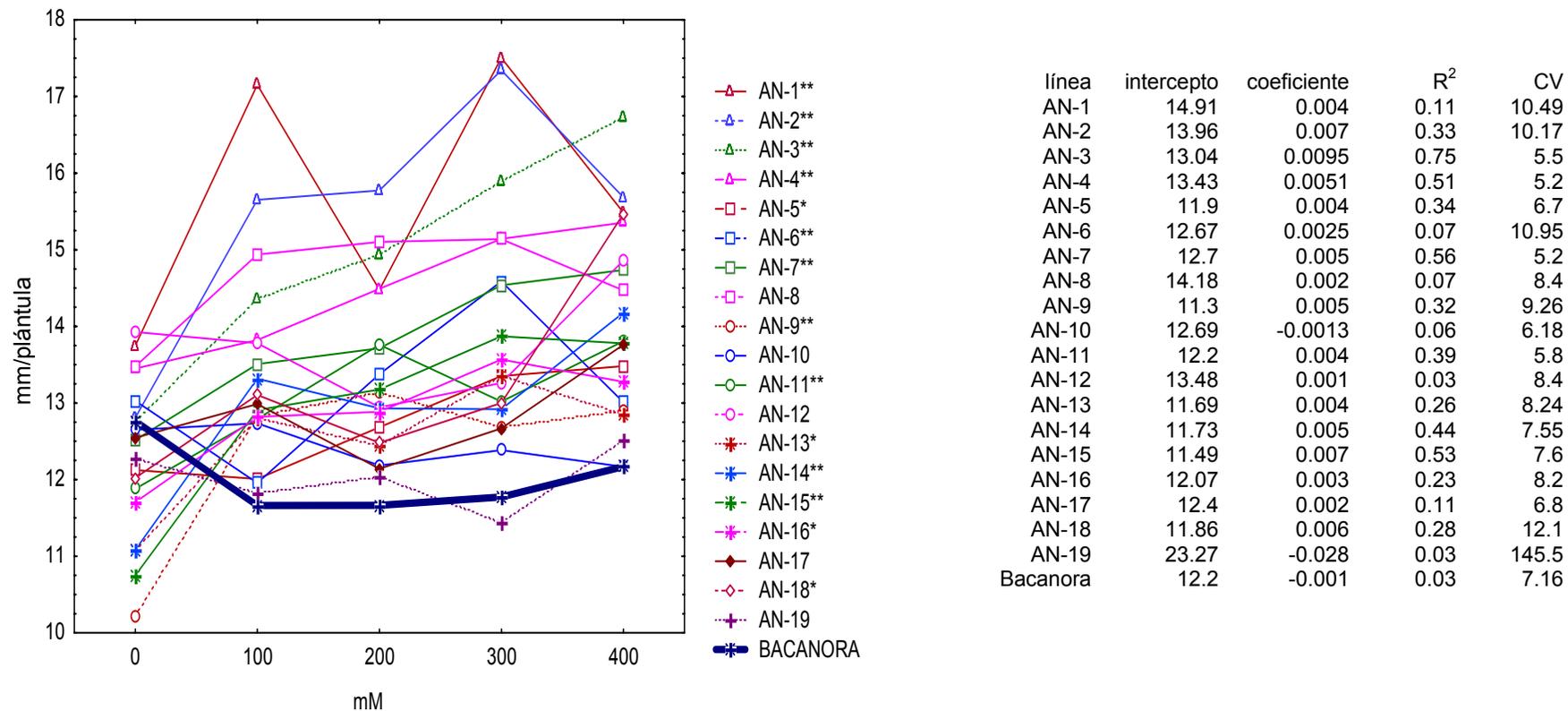


Figura A11. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco de 20 genotipos trigo tolerantes a salinidad. \*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$ .

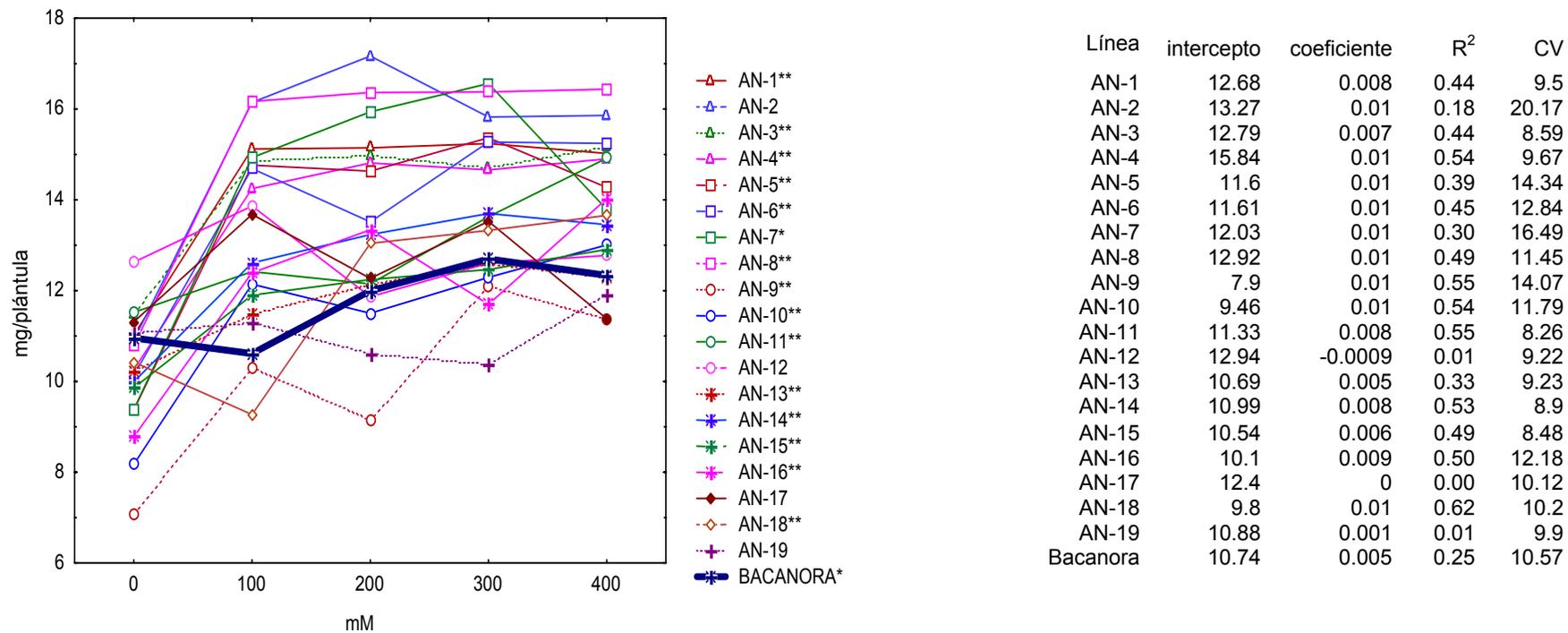


Figura A12. Efecto de cuatro concentraciones de NaCl sobre el peso seco después de 48 horas de envejecimiento de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad. \*=P<0.05 \*\*=P<0.01.

Cuadro A1. Medias Tukey de las variables evaluadas después de la prueba de Capacidad de germinación de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

LÍNEA	PN	PA	SSG	LMR	LMP	PS
1	91.8 ab	0.8 ab	7.4 chef	16.178 a	12.31 a	15.673 a
2	88.8 bcd	1.6 ab	9.6 bcdef	14.778 fgh	9.59 efgh	15.452 ab
3	89.4 abcd	1.8 ab	8.8 bcdef	15.086 efg	9.79 defg	14.938 ab
4	83.8 cde	2.6 ab	13.6 abc	15.947 abc	10.63 bcd	14.452 bc
5	86.4 bcde	1.2 ab	12.4 abcd	16.087 ab	9.97 cdef	12.730 def
6	89.6 abcd	0.6 ab	9.8 bcdef	15.348 cdef	11.18 b	13.191 de
7	88.6 bcd	1.6 ab	9.8 bcdef	15.200 defg	10.83 bc	13.802 cd
8	91.8 ab	1.6 ab	6.6 def	15.664 abcde	10.11 cde	14.625 abc
9	86.0 bcde	2.2 ab	11.8 abcd	14.212 h	8.64 hi	12.356 ef
10	86.6 bcde	2.2 ab	11.2 bcde	14.334 h	9.56 efgh	12.425 ef
11	90.6 abc	1.8 ab	7.6 cdef	14.651 gh	9.56 efgh	13.052 def
12	86.8 bcde	0.2 b	13.0 abcd	15.362 cdef	8.91 ghi	13.754 cd
13	87.8 bcde	1.4 ab	10.8 bcde	15.467 bcde	8.18 i	12.506 ef
14	83.8 cde	1.0 ab	15.2 ab	15.813 abcd	8.19 i	12.885 def
15	83.0 de	1.6 ab	15.4 ab	15.166 defg	9.01 fghi	12.897 def
16	80.6 e	0.8 ab	18.6 a	15.307 cdefg	8.57 i	12.851 def
17	88.4 bcd	2.0 ab	9.6 bcdef	15.245 defg	8.66 hi	12.821 def
18	91.6 ab	2.2 ab	6.2 def	15.124 efg	8.93 ghi	13.215 de
19	96.6 a	0.2 b	3.2 f	15.194 defg	10.47 bcde	12.018 f
Bacanora	91.8 ab	3.4 a	4.8 ef	14.705 fgh	10.45 bcde	12.006 f

**PN**=Plantulas normales; **PA**=Plantulas anormales; **SSG**=Semillas sin germinar; **LMR**=Longitud media de radícula; **LMP**=Longitud media de plúmula y **PS**=Peso seco. Valores con la misma letra no son diferentes estadísticamente ( $\alpha=0.05$ )

Cuadro A2. Medias Tukey de las variables evaluadas después del envejecimiento acelerado de 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

LÍNEA	PNEA	PAEA	SSGEA	LMREA	LMPEA	PSEA						
1	80.4	abcd	1.4	b	18.2	bcdefg	15.129	bcde	10.316	cde	14.310	ab
2	74.4	de	3.4	ab	22.2	bcde	14.433	efgh	9.617	fghi	15.181	a
3	79.4	bcd	2.0	b	18.6	bcdefg	14.194	gh	9.610	fghi	14.241	ab
4	75.0	cde	2.6	ab	22.4	bcde	15.497	abc	11.614	A	13.775	bcd
5	78.4	bcde	2.6	ab	19.0	bcdefg	15.351	abcd	9.469	fghi	13.680	bcde
6	86.2	ab	1.6	b	12.2	fgh	14.999	bcdef	10.654	bc	13.770	bcd
7	73.6	de	2.0	b	24.4	bcd	14.031	hi	10.915	bc	14.120	abc
8	86.6	ab	2.6	ab	10.8	gh	14.896	cdefg	9.966	def	15.226	a
9	59.2	f	5.6	a	35.2	a	12.392	j	7.490	K	9.994	i
10	69.4	e	4.2	ab	26.4	ab	13.405	i	9.269	ghi	11.423	gh
11	78.6	bcde	2.4	ab	19.0	bcdefg	14.235	fgh	9.793	efgh	12.926	cdef
12	82.0	abcd	2.4	ab	15.6	defgh	14.251	fgh	9.919	defg	12.746	def
13	76.4	cde	1.6	b	22.0	bcde	14.877	cdefg	9.055	lj	11.735	fgh
14	73.0	de	2.2	b	24.8	bc	14.744	cdefgh	9.401	fghi	12.597	defg
15	76.6	cde	2.4	ab	21.0	bcdef	15.675	ab	9.349	fghi	11.876	fgh
16	77.4	bcde	2.2	b	20.4	bcdef	15.394	abcd	9.222	hij	12.048	fgh
17	76.2	cde	3.4	ab	20.4	bcdef	14.973	bcdef	9.872	efgh	12.434	efg
18	81.2	abcd	2.4	ab	16.4	cdefgh	14.658	defgh	8.878	J	11.944	fgh
19	89.4	a	2.2	b	8.4	h	15.256	bcd	11.009	ab	11.049	hi
Bacanora	83.8	abc	2.0	b	14.2	efgh	16.111	a	10.559	bcd	11.720	fgh

**PNEA**=Plántulas normales después de envejecimiento acelerado (EA); **PAEA**=Plántulas anormales después de EA; **SSGEA**=Semillas sin germinar después de EA; **LMREA**=Longitud media de radícula después de EA; **LMPEA**=Longitud media de plúmula después de EA y **PSEA**=Peso seco después de EA. Valores con la misma letra no son estadísticamente diferente ( $\alpha=0.05$ )

Cuadro A3. Medias Tukey de contenido de gluteninas y gliadinas en 20 genotipos de trigo tolerantes a salinidad.

Línea	Gluteninas ( $\mu\text{g/ml}$ )	Gliadinas ( $\mu\text{g/ml}$ )		
AN-1	328.575	ghi	611.23	g
AN-2	328.775	ghi	774	de
AN-3	317.85	i	864.68	abcd
AN-4	320.075	hi	813.6	cde
AN-5	319.475	hi	850.98	abcde
AN-6	327.15	ghi	814.43	cde
AN-7	334.425	fghi	796.23	de
AN-8	337.45	defgh	666.83	fg
AN-9	344.325	cgdef	767.75	de
AN-10	349.575	cdef	822.9	bcde
AN-11	358.075	C	777.08	de
AN-12	356.575	cd	854.23	abcde
AN-13	363.3	Bc	902.8	abc
AN-14	354.425	cde	845.35	abcde
AN-15	358.775	C	916.05	ab
AN-16	335.825	efghi	936.83	a
AN-17	380.875	b	762.5	ef
AN-18	442.525	a	848.98	abcde
AN-19	295.2	j	861.3	abcd
Bacanora	296.85	j	833.43	bcde

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferente ( $\alpha=0.05$ )