

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE AGRONOMIA**



**Efecto del Ácido Salicílico y Peróxido de Hidrógeno en
la Germinación y Biomasa de Cebolla y Tomate en
Medio Salino**

Por:

JUANA MARIA LOPEZ FLORES

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

**Buenavista, Saltillo, Coahuila; México.
Diciembre del 2001**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

**Efecto Del Ácido Salicílico y Peróxido de Hidrógeno en la
Germinación y Biomasa de Cebolla y Tomate en Medio Salino.**

TESIS

Presentada por:

JUANA MARIA LOPEZ FLORES

**Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como
requisito parcial para obtener el título de:
Ingeniero Agrónomo en Horticultura**

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor principal

Dr. Valentín Robledo Torres
Sinodal

M.C. José Hernández Dávila
Sinodal

M.C. Reynaldo Alonso Velasco
Sinodal suplente

M.C. Reynaldo Alonso Velasco

Buenavista, Saltillo, Coahuila; México

Diciembre del 2001

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Porque siempre está conmigo iluminando mi camino y por darme fuerzas para tomar decisiones aún en los peores momentos de mi vida.

A MI ALMA MATER: Por brindarme las herramientas de aprendizaje y formarme como profesionalista para participar en el desarrollo de mi país.

AL DR. ADALBERTO BENAVIDES MENDOZA: Con admiración, por su valiosa asesoría, acertadas correcciones y sugerencias en la realización de este trabajo, y además por su amistad.

AL DR. VALENTIN ROBLEDO TORRES: Por ser un buen maestro, y por la amistad y confianza que siempre me ha brindado, así mismo, por la ayuda que me brindó en la revisión de este trabajo.

AL M.C. JOSE HERNÁNDEZ DAVILA: Por su amistad y asesoramiento para llevar a cabo este trabajo.

AL M.C. REYNALDO ALONSO VELASCO: Por ser mi sinodal suplente.

Al Sr. Alfonso Delgado Pérez por su gran ayuda en la realización de el trabajo de campo y laboratorio y por ser un gran “amigo”.

A las laboratoristas Beatriz Jaime Gil, Ursula Elba Casar, Mildred y Dorita por sus valiosos comentarios para la realización de este trabajo.

A todos y cada uno de mis mejores maestros que con su confianza y consejos ayudaron a culminar mis estudios.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a todas aquellas personas que me ayudaron en mi formación tanto de estudiante como en mi vida personal.

A mis padres Margarito López Valdez y Teresa Flores Rivera: por darme la vida, por el buen ejemplo que me han dado para ser una persona de bien y porque a pesar de los obstáculos, me han dieron la oportunidad de educarme para enfrentar la vida con mas facilidad; de quienes estoy orgullosa de ser su hija.

Al lo mas preciado que Dios me ha dado, **mi hijo Israel X. Morales López**, quien trajo alegría y paz a mi corazón y por quien luchare siempre dándole todo mi amor, cariño y comprensión.

A mis hermanos Benjamín, María Sarahí, Lorenzo, Adela, Víctor, Rito, Marciana Angelina y muy especialmente a Hilario. A quienes les deseo lo mejor de la vida.

A mis sobrinos: esperanza del mañana

A mi abuelita Paula Rivera Rivera (q.e.p.d.) **y a mis tías** por su dulzura y consejos y por enseñarme a expresar cariño.

A ti Ricardo, por enseñarme a vivir en paz, por tu amor y por el gran apoyo moral que siempre me has brindado desde que te conocí.

A mis cuñados y cuñadas especialmente a María Perfecta por creer en mi y por el apoyo que me ha dado.

A mis amigas María de Jesús y Saret Alonso Corona con las que he vivido momentos de tristezas y alegrías; por su comprensión y ayuda incondicional. Y muy especialmente para **Lupita, su beba y su esposo Alfonso López** a quienes considero mis hermanos por tener un corazón tan humilde y porque sin conocerme me ayudaron a cumplir mis metas, la verdad, no sabría como pagar todo lo que han hecho por mi.

A todos mis compañeros y amigos de la Generación XCII de Horticultura por todos los momentos que compartimos juntos.

A las familias Vega Santiago, Gómez Morales, Valdez Carrizales y Ramos Morales.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE CUADROS.....	IV
INDICE DE FIGURAS.....	V
INTRODUCCIÓN.....	8
Objetivos e hipótesis.....	10
REVISIÓN DE LITERATURA.....	11
Estrés.....	11
Ambientes Estresantes.....	11
Estrés salino.....	12
Salinidad.....	12
Suelo Salino.....	13
Efecto de la Salinidad Sobre las Plantas.....	13
Efecto de la Salinidad en la Germinación.....	14
Efecto de la Salinidad en el Desarrollo.....	15
Efecto del Cation Sodio (Na) ⁺	16
Clasificación de las Plantas en su Respuesta a la Salinidad.....	16
Salinidad y pH en Tomate.....	17
Salinidad y pH en Cebolla.....	18
Ácido Salicílico y Peroxido de hidrogeno.....	19
MATERIALES Y METODOS.....	23
Localización del Experimento.....	23
Material utilizado.....	23
Preparación del Peróxido de Hidrogeno.....	23
Preparación del Ácido Salicílico.....	24
Cloruro de Sodio.....	24
Método.....	24
Diseño Experimental.....	24
Tratamiento de la semilla.....	25
Transplante.....	26
Descripción de los pretratamientos y tratamientos.....	27
Muestreos.....	27
Análisis de biomasa.....	27
Variables Medidas en este Experimento.....	28
Peso fresco.....	28
Peso seco.....	28

RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 29
Germinación en Cebolla..... 29
Germinación en tomate..... 34
Biomasa..... 38

CONCLUSIONES..... 41

REVISIÓN DE LITERATURA..... 43

INDICE DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Número promedio de semillas de cebolla por caja petri para los diferentes pretratamientos y tratamientos aplicados.	29
Cuadro 2. Número promedio de semillas de tomate por caja petri para los diferentes pretratamientos y tratamientos aplicados.	34
Cuadro 3. Valores promedio de los diferentes pesos obtenidos en gramos de biomasa en tomate	39

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Valores promedio del número de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 0 mM de NaCl	30
Figura2. Valores promedio del número de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 100 mM de NaCl	31
Figura3. Valores promedio del número de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 150 mM de NaCl	32
Figura 4. Valores promedio del número de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 200 mM de NaCl	33
Figura 5. Valores promedio del número de semillas de tomate germinadas para cada pretratamiento en el nivel 0 mM de NaCl	35
Figura 6. Valores promedio del número de semillas de tomate germinadas para cada pretratamiento en el nivel100 mM de NaCl	36
Figura 6. Valores promedio del número de semillas de tomate germinadas para cada pretratamiento en el nivel150 mM de NaCl	37

RESUMEN

Esta investigación se llevó a cabo dentro de las instalaciones del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que está situado entre los 25° 22" Latitud Norte y 100° 05" 5' Longitud Oeste, con una Altitud de 1743 msnm, durante el periodo Enero -Junio del 2001. Se evaluó el efecto del ácido salicílico y el peroxido de hidrogeno aplicados como pretratamientos a la semilla en forma exógena a diferentes concentraciones (H_2O_2 a 0.5 y 1 mM; y AS a 10^{-5} y 10^{-4} M) y se determinó si estos tienen algún efecto en la germinación y biomasa de cebolla y tomate sometidos a estrés salino (100, 150 y 200 mM de NaCl).

Las semillas fueron pretratadas con el AS y H_2O_2 y después se sembraron en cajas petri utilizando el NaCl como medio de germinación, cuando lograron germinar se sembraron en charolas y se pasaron al invernadero para finalmente determinar la biomasa. El diseño experimental utilizado fue el completamente al azar y las variables evaluadas fueron número de semillas germinadas, peso fresco aéreo, peso fresco raíz, peso seco aéreo y peso seco raíz.

En la germinación de cebolla el H_2O_2 en sus dos concentraciones presentó diferencias estadísticamente significativas sobre el testigo en 100 mM de NaCl y el AS 10^{-4} M mostró diferencias positivas en 150 mM NaCl y significativas en NaCl 200 mM; en la germinación en tomate en 100 mM NaCl el H_2O_2 0.5 mM tuvo mejores efectos sobre el testigo y para 150 mM NaCl el AS 10^{-5} presentó diferencias altamente significativas sobre todos los demás pretratamientos. En la biomasa no se obtuvieron plántulas de cebolla debido a un mal manejo en el invernadero, y en las plántulas de tomate no hubo diferencias significativas respecto al testigo.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción de hortalizas ha tomado gran importancia para nuestro país por la amplia superficie sembrada, la generación de divisas y además por ser una fuente de empleo para los productores ayudando a su economía familiar.

Lo anterior permite ver la necesidad de estudiar los factores bióticos y abióticos que limitan su producción. Dentro de los factores abióticos se encuentran los edáficos e hídricos.

Debido al uso excesivo de riego, se tienen problemas de acumulación de sales en los suelos, trayendo como consecuencia un mal desarrollo de la planta y poco rendimiento. La germinación irregular de semillas es uno de los procesos más afectados por condiciones adversas, como el estrés de humedad, exceso de salinidad y ataque de patógenos; haciendo que se presente un retraso en la producción de plántula afectando todo el programa de producción, por esto se han hecho algunas investigaciones para lograr la máxima uniformidad mediante la aplicación de diversas técnicas como el choque osmótico, el cubrimiento de la semilla con polímeros, etc. En el trabajo aquí descrito se aplicó ácido salicílico (AS) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como tratamientos para mejorar la germinación bajo condiciones salinas.

Estas sustancias son compuestos que se encuentran en todos los tejidos de las plantas, aumentando su concentración cuando la planta o parte de ella es sometida a estrés bajo condiciones ambientales adversas que involucran daño oxidativo como es la patogénesis, el estrés por baja temperatura o el inducido por salinidad.

El AS es un compuesto aromático que en las plantas funciona como señalizador, generando la adaptación en ambientes extremos de salinidad, controla el daño oxidativo e induce la resistencia sistemática adquirida en el caso de patogénesis.

El H_2O_2 se produce continuamente en las plantas, y en bajas concentraciones parece relacionarse con la inducción de las respuestas de adaptación al estrés; por lo que las plantas al entrar en estrés producen O_2 y H_2O_2 que sirven como defensa celular a los patógenos.

Se ha observado que la acumulación de AS depende de la presencia de H_2O_2 , y que el AS controla la actividad de generación del H_2O_2 que causa estrés oxidativo.

El AS y el H_2O_2 producen cierta resistencia al estrés por frío, pero en lo que se refiere al efecto de la salinidad sobre la semilla aún no se ha investigado ampliamente.

Objetivo

Determinar el efecto del AS y el H_2O_2 sobre la germinación y la biomasa en semilla y plántula de tomate y cebolla en condiciones de estrés salino.

Hipótesis

Se sabe que el AS y el H_2O_2 son señalizadores del estrés. Por lo tanto se espera que:

(1). Estos compuestos aplicados como pretratamiento a la semilla, ejerzan un efecto positivo sobre la germinación de tomate y cebolla en medio salino.

(2). Estos compuestos aplicados en la semilla modifiquen la biomasa de las plántulas.

REVISION DE LITERATURA

Estrés

Salisbury, (1999) dice que el estrés biológico reside en cualquier alteración en las condiciones ambientales que pueden reducir o influir de manera adversa en el crecimiento o desarrollo de una planta (en sus funciones normales). Cuando las condiciones ambientales son tales que la planta responde de manera máxima a algún factor, este factor no la estresa. Cualquier cambio de las condiciones ambientales que resulte en una respuesta de la planta que sea menor a la óptima puede considerarse como estresante.

Ambientes Estresantes

Salisbury, (1999) afirma que un estrés ambiental significa que parte del potencial del ambiente difiere del potencial del organismo, de tal manera que existe una forma conducente para transferir energía o materia, hacia adentro o hacia fuera del organismo, que podría dar lugar a una respuesta a estrés. Las bajas temperaturas, por ejemplo, pueden dar lugar a la pérdida de calor.

Salisbury (1999), afirma que existe una variedad de ambientes estresantes sobre la tierra, como por ejemplo, hay muchos puntos en donde los suelos son o muy ácidos o muy alcalinos, o donde hay deficiencia de varios nutrientes (como arenas o algunos materiales volcánicos) o de nutrientes específicos (especialmente el nitrógeno).

Estrés salino.

La presencia de concentraciones de sal elevadas en el suelo es un factor de estrés común e importante en los desiertos pero no solo en ellos, la salinidad del suelo también restringe el crecimiento en muchas regiones templadas. Millones de hectáreas utilizadas para la producción se han perdido a medida que la sal del agua de riego se acumula en el suelo. En estas áreas, una planta enfrenta dos problemas: tener que obtener agua de un suelo que tiene un potencial osmótico negativo y tener que vérselas con las elevadas concentraciones, potencialmente tóxicas, de iones de sodio, carbonato y cloro. Algunas plantas cultivadas (por ejemplo, remolachas, jitomates, centeno) son más tolerantes a sales que otras (por ejemplo, cebollas y chícharos) y muchos cultivos tienen variedades que son relativamente tolerantes a las sales. (Salisbury, 1999).

Salinidad

Recientemente en México, los estudios sobre salinidad han adquirido mucha importancia, debido a que en las áreas que inicialmente se abrieron a la agricultura, no se cuidó el manejo del agua, suelo y cultivo, para garantizar niveles permisibles de salinidad a largo plazo, originando que en la actualidad, del total de hectáreas de riego abiertas al cultivo, más del 30 % tengan problemas de sales en diferentes grados, con las consecuentes bajas en la productividad (Froto, 1987; citado por Guerra, 1993).

Suelo Salino

El termino “salino” se aplica a suelos cuya conductividad del extracto de saturación es mayor de 4 mmhos/cm a 25 °C, con un porcentaje de sodio intercambiable menor de 15, siendo generalmente el pH menor de 8.5. Las características químicas de los suelos salinos quedan determinadas principalmente por el tipo y cantidad de sales presentes. La cantidad de sales presentes controla la presión osmótica de la solución del suelo y casi siempre los suelos salinos se encuentran floculados debido a la presencia de un exceso de sales y a la ausencia de cantidades significantes de sodio intercambiable. En consecuencia la permeabilidad es igual o mayor a la de suelos similares no salinos (Guerra, 1993).

Efecto de la Salinidad sobre las Plantas

Los suelos salinos por lo general, contienen más del 2% de sales solubles que originan presiones osmóticas, que afectan negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas. La concentración osmótica de las partículas del soluto en la solución, afecta la absorción de agua por las raíces. Además, la tensión de la humedad del suelo aumenta cuando el suelo se va secando y la película de agua alrededor de las raíces de la planta disminuye. Los efectos de las sales sobre las plantas y los suelos son muy variados, manifestándose en forma diferente, de acuerdo con el cultivo y el tipo de sales,

de las cuales las principales están formadas por iones de calcio, magnesio, sodio, potasio, cloruro, sulfato, carbonatos y bicarbonatos (Guerra, 1993).

Efecto de la Salinidad en la Germinación.

La salinidad produce una disminución en el porcentaje de semillas germinadas y un aumento en el tiempo de germinación y emergencia, así como una disminución de la tasa de absorción de agua por las semillas en germinación (Guerra, 1993).

En general, la mayoría de las plantas son más susceptibles a la salinidad durante la germinación, que en las últimas etapas de desarrollo (Guerra, 1993).

Según Aceves, (1979) bajo condiciones de salinidad, uno de los principales problemas es obtener un porcentaje de germinación adecuado. estas condiciones deben considerarse ya que si el porcentaje de germinación es bajo, el cultivo puede fracasar.

Niveles moderados de sales en el suelo generalmente retardan la germinación sin afectar el porcentaje de la misma, pero concentraciones elevadas retardan la germinación y además afectan notablemente el porcentaje de emergencia, dependiendo del cultivo. A menudo la germinación se ve afectada porque las sales se acumulan en la capa superficial del suelo y las semillas pueden verse expuestas a concentraciones varias veces mayores

a las que se encuentran en la zona de las raíces en etapas posteriores del desarrollo (Aceves, 1979).

Efecto de la Salinidad en el Desarrollo.

La forma en que las plantas responden a las condiciones de un suelo salino es variable y también depende de su estado de desarrollo. En ciertas ocasiones una planta puede ser no tolerante a cierta clase específica de ion cuando este se acumula y sufre una reducción en su crecimiento debido a la toxicidad que le produce el ion (Curso de Edafología, 1990).

Aceves, (1979) propone la siguiente hipótesis: “Las plantas bajo condiciones de salinidad no crecen ya que la división celular se ve afectada y la pared celular pierde prematuramente su plasticidad debido a que las sales propician la aparición en ella, de sustancias que le dan rigidez e impiden el crecimiento. Esto trae como consecuencia que bajo estas condiciones se tengan plantas con menos células y además de tamaño reducido, por lo que las plantas tienen menor área foliar y como consecuencia una menor transpiración, menor área fotosintetizante, un tallo reducido y como resultado menor rendimiento de materia seca por planta”.

Efecto del Cation Sodio (Na)⁺

Es un ion de lo más difícil y problemático, algunas veces toxico y puede romper el balance nutricional de las plantas y ser causante de la deficiencia de

calcio afecta las condiciones físicas del suelo y de esta manera causa indirectamente crecimiento pobre en las plantas debido a una disminución directa de aeración y pobre transmisión de agua, uno o más de estos efectos del sodio puede ocurrir en el crecimiento de las plantas (Michael, 1992).

En el lado positivo, el sodio es benéfico para el crecimiento de algunas plantas. Para el tomate el sodio es esencial, se requieren cantidades inferiores a 0.1 microgramos de átomos de sodio por gramo de peso seco de una planta. Es de interés mencionar que el tomate mostró un incremento del 12% en el peso seco al adherirle un milimol de cloruro de sodio por litro (Champán, 1973).

Clasificación de las Plantas en su Respuesta a la Salinidad

De acuerdo a su reacción a la salinidad, las plantas pueden dividirse en dos grupos básicos: halofitas y glicofitas. Las halofitas son plantas que se desarrollan en hábitats salinos a los cuales se han adaptado durante su autogénesis debido a las características y propiedades desarrolladas durante el proceso evolutivo en respuesta a las condiciones prevalecientes. Las glicofitas son plantas que se desarrollan en hábitats no salinos y su desarrollo está limitado a su habilidad de adaptación a la salinidad durante su crecimiento individual, ya que las condiciones prevalecientes durante su evolución no favorecieron el desarrollo de propiedades para tolerar la salinidad (Aceves, 1979).

Salinidad y pH en Tomate

El tomate bajo condiciones de salinidad muestra una reducción de la tasa de crecimiento inicial lo que da por resultado plantas pequeñas que no soportan una fructificación temprana. El efecto de la salinidad sobre el crecimiento puede deberse a una inhibición de la acción enzimática y a una reducción de la velocidad de translocación de azúcares, ya que la salinidad provoca un estrés hídrico. La sensibilidad a la sal cambia considerablemente durante el desarrollo de una planta. Tres etapas de desarrollo pueden distinguirse con respecto a la tolerancia o sensibilidad a la sal: germinación, crecimiento vegetativo, y periodo reproductivo. Muchas especies de plantas sensibles a la sal germinan con facilidad aún en altas concentraciones; esto ha sido documentado para maíz y tomate (Tavera, 1995).

Valadez, (1998) nos dice que el tomate es tolerante a la acidez con valores de pH 5.0-6.0, en cuanto a salinidad, se clasifica como medianamente tolerante, teniendo valores máximos de 6400 ppm (10 mmhos).

Folquer, (1976), menciona que la semilla de tomate, en condiciones normales, conserva su poder germinativo durante más de 4 años y no tiene periodo de latencia; es decir, que puede germinar poco después de ser cosechada. Las temperaturas mínimas y máximas para la germinación son de 10°C y 35°C, respectivamente.

Salinidad y pH en Cebolla

Valadez, (1998) afirma que es ligeramente tolerante a la acidez, teniendo un rango de pH 5.8-6.0 en lo que se refiere a la salinidad la cebolla esta catalogada como medianamente tolerante a la salinidad con valores de 6400 a 2560 (10 a 4 mmhos).

El pH más conveniente para el cultivo de la cebolla debe ser entre el 6 o 7, la productividad disminuye en suelos más ácidos (Japón, 1982).

ISTA, (1979), afirma que para las pruebas de germinación en cebolla la temperatura óptima es de 15 a 20 °C y los conteos y evaluaciones de plántulas se realizan a los 6 y 12 días respectivamente.

Cassares, (1981) nos dice que la germinación óptima se obtiene a 24°C en el suelo aunque soporta mínimas de 1 a 6°C y máximas de 35°C, y emerge de 4 a 5 días después de la siembra.

Ácido Salicílico y Peroxido de Hidrógeno

El AS es muy conocido gracias al extenso uso clínico de la aspirina o ácido acetilsalicílico. El nombre del AS proviene de *Salix*, el árbol cuyas hojas y

corteza tradicionalmente se utilizaban como cura para el dolor de fiebre, y de donde Johann Buchner en 1828 aisló la salicina. En 1874 se inició la producción comercial de AS en Alemania, mientras que el nombre comercial de aspirina, aplicado al ácido acetilsalicílico fue introducido en 1898 por la Bayer Company (Raskin, 1992)

El AS es un polvo cristalino con un punto de fusión de 158°C, es moderadamente soluble al agua comportándose como un ácido débil. Su peso molecular es de 138.1 gr/mol y su fórmula es $C_7H_6O_3$ (Raskin, 1992)

El AS es un compuesto fenólico derivado del ácido benzoico y está involucrado en el metabolismo secundario de las plantas. Los fenoles juegan un papel esencial en el crecimiento, desarrollo y en la interacción de la planta con el ambiente y otros organismos. Su concentración se eleva cuando las células, órganos o plantas completas son sometidas a algún tipo de estrés ya sea biótico o abiótico. En estas situaciones el AS y el H_2O_2 participan como señalizadores dando lugar a las respuestas de adaptación en ambientes extremos, a la expresión de los sistemas de control de daño oxidativo, así como a la inducción de la resistencia sistemática adquirida en el caso de la patogénesis (Raskin, 1992).

El AS se ha encontrado en todos los tejidos de las especies que han sido analizadas. Entre estas se encuentra la soya, el arroz y la cebada que contienen hasta $1\mu\text{gg}^{-1}$ de peso fresco (Raskin, 1992)

El AS aplicado en forma exógena en concentración de 10^{-2} y 10^{-8} aumentó la biomasa de plantas de soya (Gutiérrez – Coronado *et al.*, 1998) y el rendimiento de trigo (López Tejada *et al.*, 1998).

La aplicación exógena o producción endógena de H_2O_2 induce la síntesis de AS así como las posteriores respuestas de resistencia; sin embargo la aplicación de AS da también lugar a la síntesis de H_2O_2 y a la inducción de resistencia (Van Camp *et al.*, 1998).

Las enzimas llamadas catalasas están involucradas en la regulación de los niveles celulares de las especies activas de oxígeno; se encuentran en todos los organismos aeróbicos convirtiendo el H_2O_2 en H_2O y O_2 protegiendo así a las células de los efectos dañinos del H_2O_2 . Si bien los niveles altos de este compuesto son tóxicos, el H_2O_2 en baja concentración juega un papel importante en la transducción de señales ambientales en las plantas (Prasad *et al.*, 1994).

El tratamiento de hojas de tabaco con AS dio lugar a niveles elevados de H_2O_2 in Vitro (Chen *et al.*, 1993). Observándose el mismo incremento endógeno de H_2O_2 al aplicar AS en hojas de Sinapsis Alba (Dat *et al.*, 1998).

Willekens *et al.*, (1997) estudiaron el papel de la catalasa y el H_2O_2 en plantas bajo estrés. Para ello utilizaron plantas transgénicas de tabaco con un 10% de actividad de catalasa en relación con las plantas silvestres. Las plantas

deficientes en catalasa no mostraron desordenes visibles al crecer en condiciones visibles de baja irradiancia, sin embargo, bajo alta irradiancia las hojas desarrollaron lesiones necróticas, no se detecto acumulación de H_2O_2 durante el desarrollo de la necrosis. La necrosis foliar mostró correlación positiva con el contenido de glutatión oxidado y correlación negativa con el nivel de ascorbato foliar, indicando que la catalasa es crítica para mantener el balance rédox durante el estrés oxidativo. Las plantas deficientes en catalasa revelaron mayor susceptibilidad al paracuat y a la salinidad, pero no a las bajas temperaturas.

La aplicación foliar de AS en concentraciones de 10 a 100 μM aumento la tolerancia al choque térmico ($55^\circ C$ por 1.5 h) en plántulas de *Sinapsis Alba*. Esta respuesta fue análoga a la obtenida con un tratamiento de aclimatación a $45^\circ C$ previa al choque térmico. Ambos tratamientos indujeron un aumento transitorio en la concentración endógena de H_2O_2 , seguida de una caída en la concentración del mismo debajo del testigo, así como disminución en actividad de la catalasa (Dat *et al.*, 1998)

Orphanos and Walter (1968), hallaron que las semillas de *Phaseollus vulgaris* a menudo mueren o muestran severos daños posteriores al remojo en agua por periodos de tiempo que van mas allá de unas cuantas horas (16 horas ó más), pero que pueden reducirse o evitarse totalmente al tratar las semillas antes, durante o después del remojo con H_2O_2 , ya que suministra el

oxígeno hacia el interior de la semilla que se encuentra bloqueada a éste por el exceso o saturación de agua hacia el interior entre los cotiledones.

La sobre-expresión de la enzima peroxidasa en semillas transgénicas de tabaco bajo concentraciones altas de salinidad o estrés hídrico indujo a que los poros de las paredes celulares redujeran sus tamaños; reteniendo así el agua suficiente para permitir en las semillas una mayor tasa de germinación en condiciones donde la disponibilidad de agua es restringida (Amaya *et al.*, 1999).

MATERIALES Y METODOS

Localización del Experimento

El presente trabajo se llevó a cabo durante el periodo Enero - Junio del 2001 en el Laboratorio de Fisiología y en el invernadero 3 del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que está situado entre los 25° 22" Latitud Norte y 100° 05' 5" Longitud Oeste, con una Altitud de 1743 msnm, presentando una precipitación media anual de 298.5 mm y una temperatura media anual de 20 °C.

Material Utilizado

Preparación de solución de peróxido de hidrogeno, ácido salicílico y cloruro de sodio.

Preparación de Peróxido de Hidrógeno.

Se preparó la cantidad correspondiente a 1mM = 1 ml de peróxido de hidrógeno al 3% grado reactivo y se aforó a un litro de agua, se hizo lo mismo para la concentración de 0.5 mM = a 0.50 ml

Preparación del Ácido Salicílico.

Se pesaron 0.0138 gr. de ácido salicílico grado reactivo (ALQUIME industrial) para obtener la cantidad correspondiente a 1×10^{-4} M y para 1×10^{-5} M se pesaron 0.00138 gr. del mismo producto.

Cloruro de Sodio.

Siguiendo el mismo procedimiento se pesó la cantidad correspondiente a 100 mM de cloruro de sodio = 5.8 gramos (C.E. 15.88 mS cm^{-1}) aforando a un litro, se hizo lo mismo para la concentración 150 mM (C.E. 23.80 mS cm^{-1}) y 200 mM (C.E. 31.73 mS cm^{-1}) correspondiendo a 8.77 gr. por litro y 11.68 gr. por litro respectivamente.

Método

Diseño experimental.

El diseño experimental utilizado fue el completamente al azar con 5 pretratamientos, 4 tratamientos y 3 repeticiones dando un total de 60 unidades experimentales por cada especie vegetal. Sobre los datos se aplicó un ANVA y la separación de medias con la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Tratamiento de la semilla.

Se utilizaron 5 vasos de precipitado, depositando en cada uno 400 semillas de cebolla variedad "Barletta" y variedad "Río Grande" para tomate, posteriormente se les agregó solución de H₂O₂ y AS en diferentes concentraciones, llevándose a cabo esta práctica el día 24 de febrero del 2001 en la cebolla y para el tomate se hizo el 21 de marzo del mismo año.

Las semillas estuvieron en la solución por nueve horas, después se enjuagaron con agua destilada, se colocaron 30 semillas en cajas petri y se humedecieron con la solución de NaCl en diferentes concentraciones, de tal forma que el agua salina funcionara como medio de germinación; el testigo fue tratado de la misma manera pero solo se utilizó agua destilada.

Las cajas petri fueron colocadas en una cámara de crecimiento a temperatura constante de 26°C; realizando el conteo de semillas germinadas cada 2 días, considerando como semilla germinada aquella que había logrado la emergencia de la radícula (germinación fisiológica).

Transplante.

El transplante de la cebolla se hizo el día 8 de marzo del 2001, utilizando 4 charolas de poliestireno con 338 cavidades, las cuales se llenaron con sustrato (peat moss Premier No.3) y se colocó una semilla pregerminada por

cavidad dejando libre la hilera de la orilla y otra entre cada pretratamiento; se utilizó una charola por tratamiento incluyendo el testigo.

Para el tomate se realizó el mismo procedimiento, a diferencia que las charolas fueron de 200 cavidades, comenzando a sembrar el testigo el 25 de marzo para terminar con tres tratamientos el 4 de abril, solo logrando obtener una semilla germinada en el tratamiento cuatro al que se le aplicó mayor cantidad de solución de NaCl.

Las charolas fueron marcadas en los costados con cada tratamiento y pretratamiento respectivamente.

Después se colocaron en una cama flotante, construida con marcos de madera y plástico. En estas camas flotantes se agregó solución nutritiva Douglas durante el desarrollo de la plántula.

Descripción de los pretratamientos y tratamientos.

P1. Testigo (agua)

P2. H₂O₂ 0.5 mM

P3. H₂O₂ 1 mM

P4. AS 10⁻⁵ M

P5. AS 10⁻⁴ M

T1. Testigo (agua)

T2. 100 mM NaCl

T3. 150 mM NaCl

T4. 200 mM NaCl

Muestreos.

Análisis de biomasa

Se seleccionaron 6 plántulas al azar por pretratamiento originando un total de 30 plantas por charola o tratamiento, y se llevaron al laboratorio en bolsas marcadas.

Variables medidas en este experimento

- Numero de semillas germinadas
- Peso Fresco Aéreo

- Peso Fresco Raíz
- Peso Seco Aéreo
- Peso Seco Raíz

Peso fresco

Para determinar el peso fresco se procedió a lavar perfectamente las raíces hasta eliminar partículas adheridas del sustrato separando la parte aérea de la raíz para pesarlas planta por planta de cada tratamiento, en una balanza analítica (OAHUS).

Peso seco

Para la determinación de peso seco, las muestras utilizadas para el peso fresco se colocaron por separado en bolsas de papel y fueron secadas a 60°C en una estufa MAPSA modelo HDP334. Siguiendo el mismo procedimiento que en el peso fresco, se pesaron por separado parte aérea y raíz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Enseguida se presentan los resultados de las variables evaluadas en los dos cultivos con su interpretación y discusión respectiva:

Germinación en Cebolla

Cuadro 1. Numero promedio de semillas de cebolla por caja petri para los diferentes pretratamientos y tratamientos aplicados.

Pretrat / Trat	Testigo	100 mM NaCl	150 mM NaCl	200 mM NaCl
Testigo	18.60 ab [¶]	20.00 ab	16.53 a	13.87 ab
H ₂ O ₂ 0.5 mM	22.23 b	21.13 b	14.53 a	17.60 b
H ₂ O ₂ 1 mM	18.67 ab	14.93 a	13.80 a	11.40 a
AS 10 ⁻⁵ M	15.47 a	17.00 ab	13.93 a	10.93 a
AS 10 ⁻⁴ M	15.40 a	18.40 ab	18.67 a	17.67 b

[¶] Los promedios seguidos de la misma literal no son estadísticamente diferentes de acuerdo a una prueba de Duncan ($\alpha=0.05$).

En el Cuadro 1 se presenta un resumen del efecto de los pretratamientos sobre cada tratamiento; sin embargo para mayor claridad, también se explica por día muestreado como se observa en las siguientes figuras:

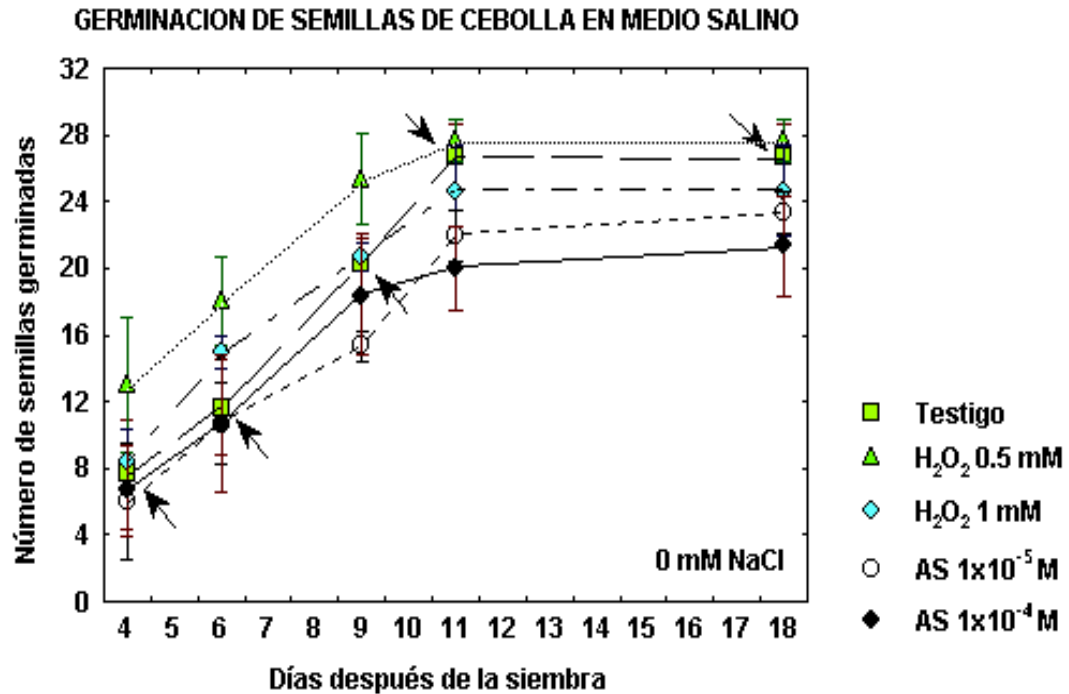


Figura 1. Valores promedio del numero de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 0 mM de NaCl

En la Figura 1 se puede observar que el H₂O₂ en sus dos concentraciones, (0.5 y 1 mM) desde el primer muestreo presentó mayor germinación que el testigo aunque en el último muestreo el efecto es casi igual. El peor tratamiento fue el AS 10⁻⁴ M.

Esto concuerda con los resultados obtenidos por Cañaverall G. J (datos no publicados) quien observó que el pretratamiento de semillas de lechuga con H₂O₂ 0.5 mM dio lugar a más rápida y mejor germinación en medio con NaCl 50 y 100 mM. Y es muy favorable, pues lo que en realidad nos interesa

es que las plantas tratadas sometidas a cualquier estrés, den una respuesta de defensa más rápida en los primeros días en el campo.

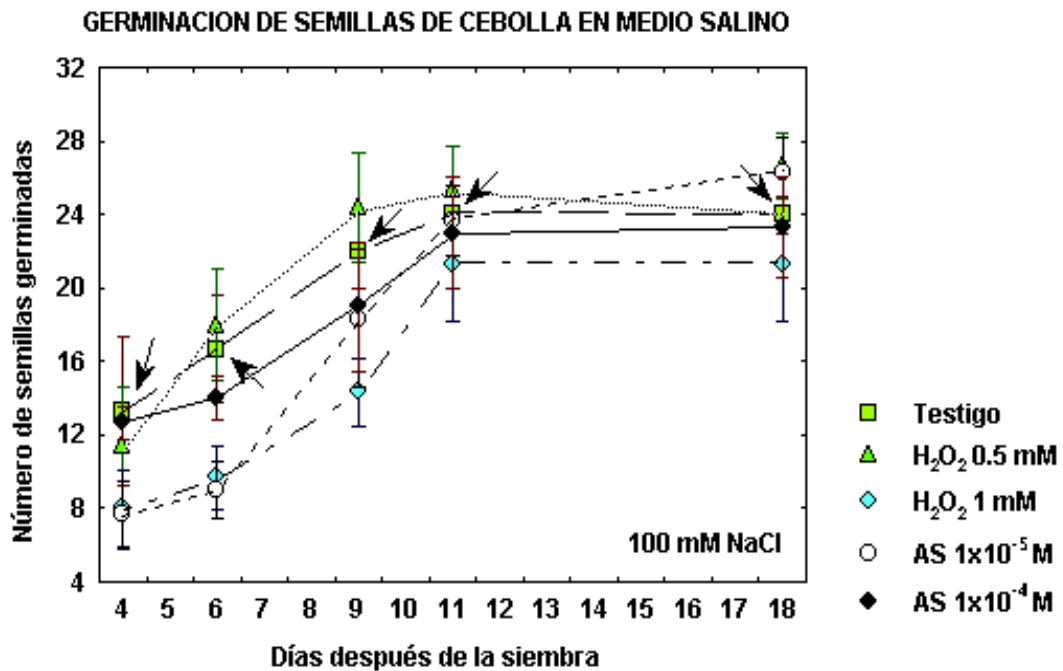


Figura 2. Valores promedio del numero de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 100 mM de NaCl

En el tratamiento de 100 mM de NaCl (Figura 2) se muestra que en los primeros dos muestreos el testigo arrojó mayor numero de semillas germinadas y posteriormente el H₂O₂ 0.5 mM lo rebasa siendo mejor hasta el final.

Prasad *et al.* (1994) nos dicen que las enzimas llamadas catalasas están involucradas en la regulación de los niveles celulares de las especies activas

de oxígeno; se encuentran en todos los organismos aeróbicos convirtiendo el H_2O_2 en H_2O y O_2 protegiendo así a las células de los efectos dañinos del H_2O_2 . Si bien los niveles altos de este compuesto son tóxicos, el H_2O_2 en baja concentración juega un papel importante en la transducción de señales ambientales en las plantas, ya que en el presente experimento no afecta la germinación.

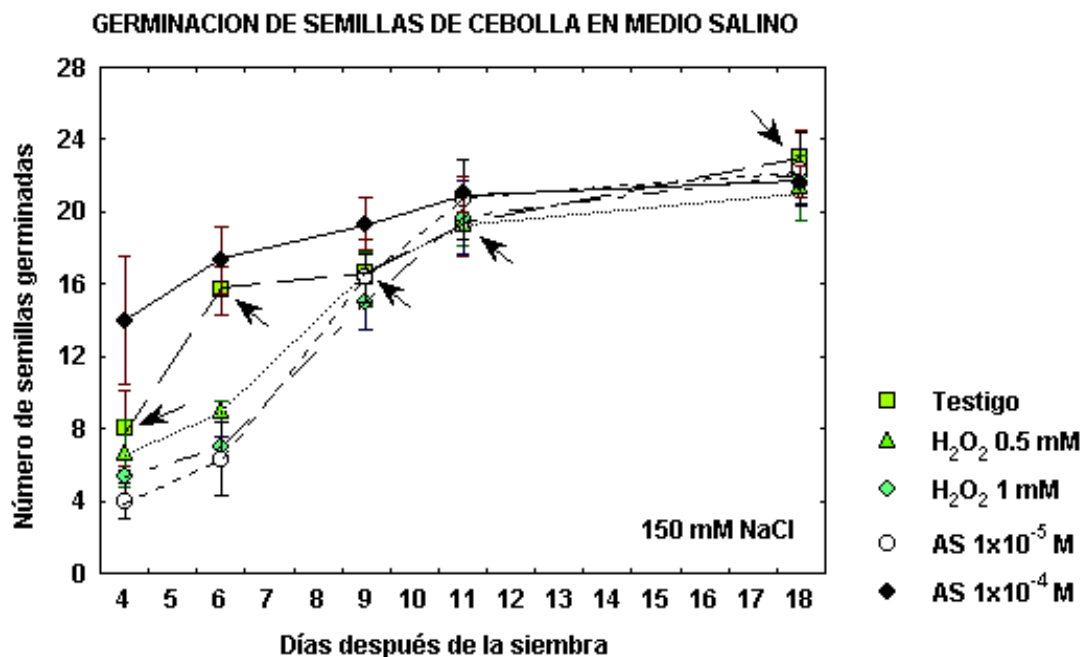


Figura 3. Valores promedio del numero de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 150 mM de NaCl

En la Figura 3 se ve claramente que el AS 10^{-4} adelantó la germinación de una manera muy significativa y finalmente el efecto de todos los pretratamientos es el mismo.

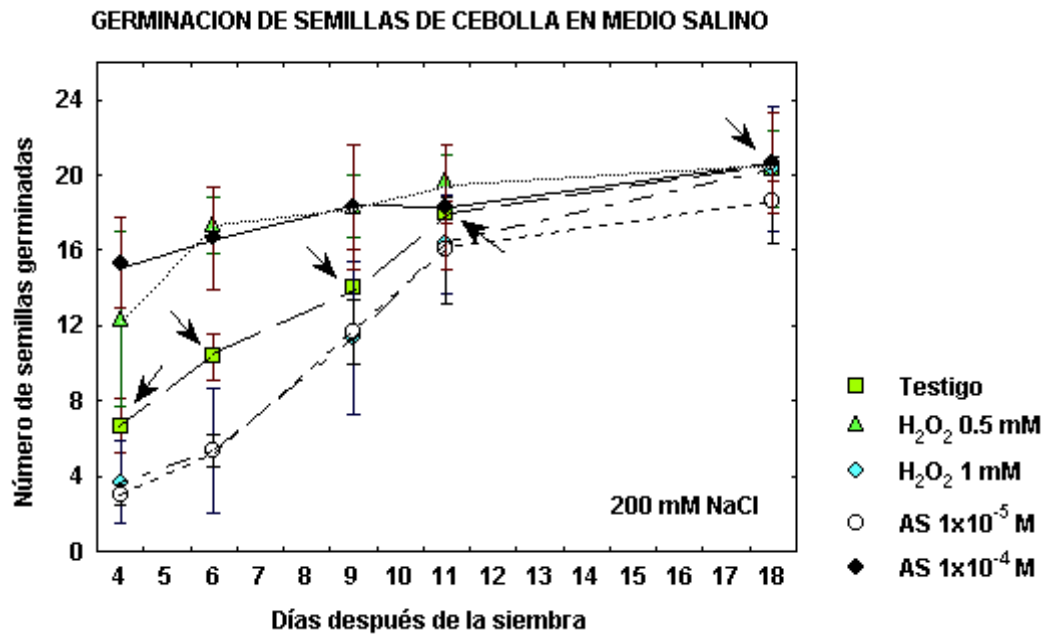


Figura 4. Valores promedio del numero de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 200 mM de NaCl.

Similar a la figura anterior en la concentración de 200 mM de NaCl (figura 4) el AS 10^{-4} M adelantó la germinación de una manera muy significativa y finalmente el testigo se alinea.

En otros trabajos al aplicar el AS en forma exógena en concentración de 10^{-2} y 10^{-8} M aumento la biomasa de plantas de soya (Gutiérrez – Coronado *et al.*, 1998) y el rendimiento de trigo (López Tejada *et al.*, 1998). Parecido al resultado que se presenta en la Figura 1.

Germinación en tomate

En este cultivo el NaCl determinó diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos, ya que a mayor concentración, se obtuvieron menor número de semillas germinadas, como es el caso de 200 mM de NaCl donde solo brotaron 2 semillas.

Cuadro 2. Numero promedio de semillas de tomate por caja petri para los diferentes pretratamientos y tratamientos aplicados.

Preat / Trat	Testigo	100 mM NaCl	150 mM NaCl	200 mM NaCl
Testigo	30.00 b [¶]	22.67 b	0.53 a	0.40 a
H ₂ O ₂ 0.5 mM	30.00 b	22.80 b	2.06 a	0.00 a
H ₂ O ₂ 1 mM	30.00 b	23.67 b	1.13 a	0.00 a
AS 10 ⁻⁵ M	30.00 b	20.93 b	6.13 b	0.00 a
AS 10 ⁻⁴ M	20.40 a	11.20 a	0.33 a	0.00 a

[¶] Los promedios seguidos de la misma literal no son estadísticamente diferentes de acuerdo a una prueba de Duncan ($\alpha=0.05$).

De la misma manera que en cebolla, en el Cuadro 2 se presenta un resumen del efecto de los pretratamientos sobre cada nivel de salinidad; sin embargo para mayor claridad, también se explica por día muestreado como se observa en las figuras siguientes:

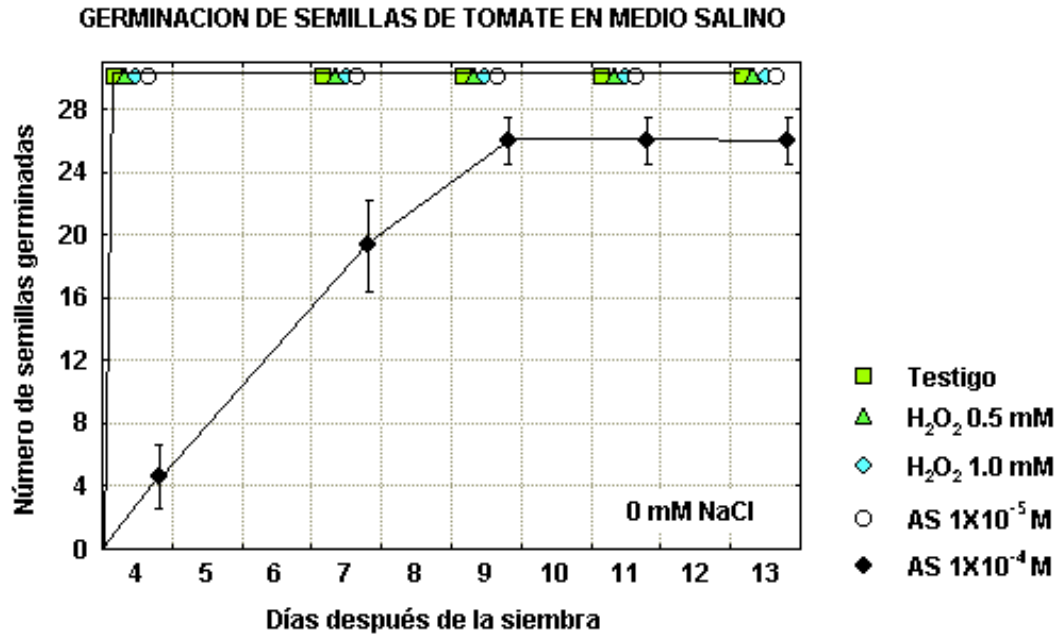


Figura 5. Valores promedio del numero de semillas de tomate germinadas para cada pretratamiento en el nivel 0 mM de NaCl

Como podemos observar en la Figura 5, no se detectaron diferencias significativas de los pretratamientos con respecto al testigo, teniendo una completa germinación en los primeros 4 días; también se puede ver que el peor tratamiento fue el AS 1×10^{-4} M que tuvo efectos negativos respecto a todos los demás pretratamientos.

GERMINACION DE SEMILLAS DE TOMATE EN MEDIO SALINO

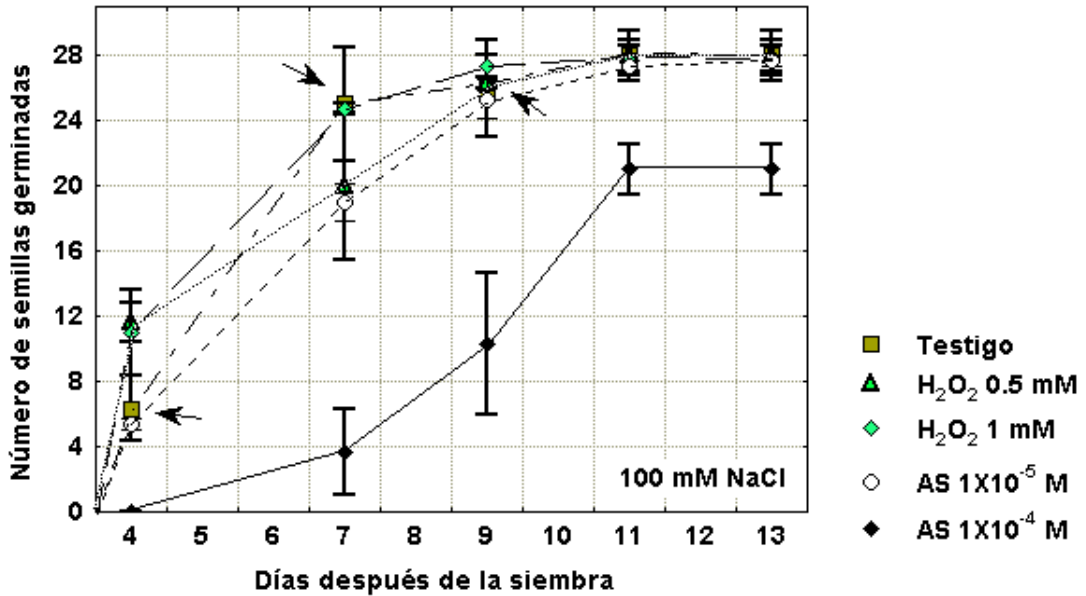


Figura 6. Valores promedio del numero de semillas de tomate germinadas para cada pretratamiento en el nivel 100 mM de NaCl

En la Figura 6 se puede ver que el AS 1×10^{-4} M sigue siendo el peor pretratamiento. Respecto a los demás se observa que el H₂O₂ en sus 2 concentraciones tuvo mayor germinación respecto al testigo en el primer muestreo, aunque en los siguientes muestreos el testigo es igual y al final todos logran el mismo efecto.

Esto concuerda nuevamente con los resultados obtenidos por Cañaverall G. J. (datos no publicados), quien observó que el pretratamiento de semillas de lechuga con H₂O₂ 0.5 mM dio lugar a más rápida y mejor germinación en medio con NaCl 50 y 100 mM. Asimismo, Olvera A. F.

(Comunicación personal) obtuvo los mismos resultados en semillas de melón con H_2O_2 1 mM.

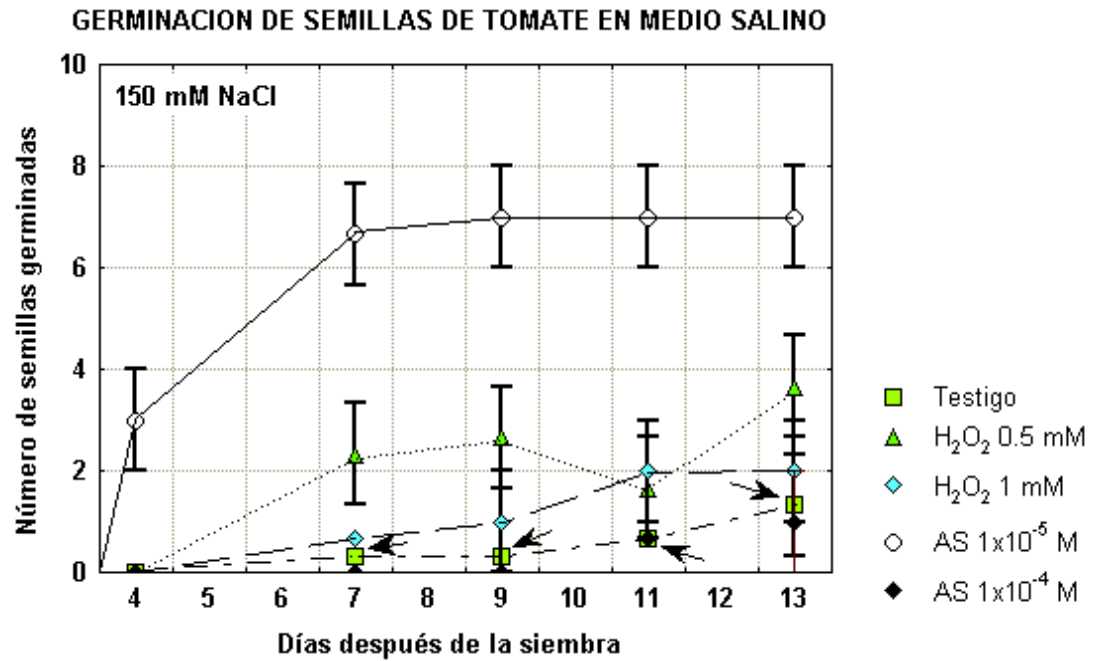


Figura 7. Valores promedio del numero de semillas de cebolla germinadas para cada pretratamiento en el nivel 150 mM de NaCl

Para 150 mM de NaCl (Figura 7) hubo muy pocas semillas germinadas, aun así, se da una gran diferencia significativa del pretratamiento AS 1×10^{-5} M siendo este el más alto de todos los pretratamientos, siguiéndole el H_2O_2 que tuvo mejores resultados pero no significativos referente al testigo.

En otros trabajos con aplicaciones al sustrato se encontró que el AS 10^{-4} M favoreció significativamente la germinación y emergencia en condiciones de baja temperatura. En cambio, a una concentración de 10^{-3} M no presentó diferencia significativa frente al testigo.

En el nivel de 200 mM de NaCl no se lograron obtener las suficientes semillas germinadas, por lo tanto, no se cuenta con datos para formar la grafica que corresponde a este tratamiento

Biomasa

Respecto a la cebolla no se obtuvieron datos de biomasa debido a un problema de manejo en el invernadero.

En el tomate no se tuvieron resultados en el tratamiento de 200 mM de NaCl debido a que fue un nivel muy alto de salinidad y los pretratamientos no tuvieron efecto significativo sobre el testigo.

En el cuadro 3 se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas de los pretratamientos en la biomasa respecto al testigo, pero si hay diferencias positivas como se muestra a continuación:

Peso fresco aéreo: El H₂O₂ 1 mM fue el mas alto siguiéndole el testigo.

Peso seco aéreo: En esta variable el AS 10⁻⁴ M fue el que tuvo mayor efecto que todos los demás pretratamientos incluyendo el testigo.

Peso fresco raíz: Al igual que el peso fresco aéreo, el H₂O₂ 1 mM fue el más alto siguiéndole el testigo.

Peso seco raíz: Aquí se observa que el H₂O₂ 0.5 Mm fue el mejor aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas con los demás pretratamientos.

Cuadro 3. Valores promedio de los diferentes pesos obtenidos en **gramos de biomasa en tomate**

Pretatamiento	PFA [§]	PSA	PFR	PSR
Testigo	1.4350 a [¶]	0.1803 a	0.8282 b	0.0750 a
H ₂ O ₂ 0.5 mM	1.3149 a	0.1723 a	0.7464 ab	0.0937 a
H ₂ O ₂ 1 mM	1.5657 a	0.1990 a	0.8446 b	0.0779 a
AS 10 ⁻⁵ M	1.0603 a	0.1366 a	0.3252 a	0.0408 a
AS 10 ⁻⁴ M	1.4130 a	0.1953 a	0.7282 ab	0.0783 a

[§] PFA es peso fresco aéreo, PSA es peso seco aéreo, PFR es peso fresco raíz y PSR es peso seco raíz.

[¶] Los promedios seguidos de la misma literal no son estadísticamente diferentes de acuerdo a una prueba de Duncan ($\alpha=0.05$).

Amaya *et al.* (1999) indujeron sobre-expresión de peroxidasa en semillas transgénicas de tabaco bajo concentraciones altas de salinidad o estrés hídrico la cual indujo a que los poros de las paredes celulares redujeran sus tamaños; reteniendo así, el agua suficiente para provocar en las semillas una mayor tasa de germinación en condiciones donde la disponibilidad de agua es restringida. Es probable que parte de la explicación de los resultados obtenidos en el experimento aquí reportado se relacione con una respuesta de esta clase.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que:

Germinación en cebolla

La aplicación exógena de H_2O_2 0.5 y 1 mM a las semillas presentó diferencias estadísticamente significativas sobre el testigo en las más bajas concentraciones de sal (0 y 100 mM de NaCl).

La aplicación exógena de AS 10^{-4} M a las semillas mostró diferencias positivas sobre el testigo en 150 mM NaCl y significativas en NaCl 200 mM.

Germinación en tomate

En el nivel de 100 mM NaCl el H_2O_2 0.5 mM tuvo mejores efectos sobre el testigo.

Para 150 mM NaCl el AS 10^{-5} presentó diferencias altamente significativas sobre todos los demás pretratamientos incluyendo el testigo.

En concentraciones más altas o más bajas de salinidad no se observó efecto alguno.

Biomasa en tomate

En el peso fresco aéreo y peso fresco raíz el H_2O_2 1 mM tuvo efecto positivo con relación al testigo.

Respecto al peso seco aéreo el AS 10^{-4} M fue el más eficiente, en cambio, en el peso seco raíz el H_2O_2 0.5 mM fue el que presentó mejores resultados pero no significativos respecto al testigo.

LITERATURA CITADA

- Aceves, N. E. 1979. El Ensalitramiento de los Suelos bajo Riego (Identificación, Control, Combate y Adaptación). Colegio de Postgrado. Chapingo. Edo. de México.
- Amaya I., Botella M. A., De la Calle M. Medina M. I., Heredia A., Bressan R. A., Hasegawa P. M., Quesada M. A., Valpuesta V. 1999. Improved Germination Under Osmotic Stress of Tobacco Plants Overexpressing a Cell Wall Peroxidase. FEBS Letters 457: 80-84.
- Cassares, E. 1981. Producción de Hortalizas. 3ra Edición. San José Costa Rica. Ed. IICA. Pág. 238-255.
- Champan, D. H. 1973. Diagnostic Criteria for Plants and Soils. Department of Soils and Plant Nutrition. University of California Citrus Research Center and Agricultural Experiment Station. Riverside, California, E. U. A. Pág. 409- 432.
- Chen, Z., H. Silva, and R.F. Klessing. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systematic acquired resistance by salicylic acid. Science 262:1883-1886.

- Crawford, R. M. 1989. *Studies in Plants Survival. Ecological Case Histories of Plant Adaptation to Adversity.* Blackwell, Oxford.
- Curso de Edafología. 1990. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Dat, J.F., H. Lopez-Delgado, C. H. Foyer, and I.M. Scott. 1998. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology.* 116:1351-1357.
- Folquer, F. 1976. *El Tomate. Estudio de la Planta y su Producción Comercial.* Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. Pág. 5-29.
- Guerra, H. M. 1993. Tolerancia a la Salinidad en el Mejoramiento y la Producción Agrícola. Seminarios de Postgrado, Especialidad Fitomejoramiento, Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. Pág. 64-77.
- Gutiérrez-Coronado, M. A., C. Trejo-López, and A. Larque - Saavedra. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. Biochem.*36:563-565.
- ISTA, 1979. *Handbook of Seedling Evaluation . Seed Science Technology Vol. 7 (Traducción al Español Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid 1980).*
- Japón Q. J. 1982. *Cultivo Extensivo de la Cebolla. Hoja Divulgadora (18). 20* Pág. Ministerio de Agricultura, Madrid.

- López T. R., Camacho R. V. y Gutiérrez C. M. 1998. Aplicación de ácido salicílico para incrementar el rendimiento agronómico en tres variedades de trigo. *Terra* 16:43-48.
- Michael L. S. 1992 . Respuesta del *Atriplex lentiformis* a cuatro tipos de sales y cinco valores de presión osmótica durante la etapa de la germinación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Prasad, T. K., M. D. Anderson, B. A. Martín, C. R. Srewaer. 1994. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell* 6: 65-74.
- Orphanos, P. I. and Walter H. (1968). On the Nature of the Soaking Injury of *Phaseollus vulgaris* Seeds. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 19. No. 61. pp. 770-784.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiology. Plant. Mol. Biol.* 43: 439- 463.
- Salisbury, B. F. And Ross C. W. 1999. *Fisiología Vegetal*. Editorial Iberoamericana. México, D. F. Pág. 639-649.
- Tavera L. M. 1995. Respuesta de 3 especies de tomate a 3 tipos de sales y tres niveles de salinidad durante la germinación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.
- Valadez, A. 1998. producción de hortalizas. Editorial Limusa. 7ma Reimpresión. México, D. F.

Van Camp, W., M. Van Montagu, and D. Inés. 1998. H_2O_2 and NO_3^- : redox signals in disease resistance. Trends Plants Science. 3:330-334.

Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schraudner, C. Langebartels, M. Van Montagu, D. Inze, W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defense in C_3 plants. EMBO J. 16:4806-4816.