

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



RESPUESTA FISIOLÓGICA A SALINIDAD EN DOS GENOTIPOS DE MAÍZ

Tesis

Que presenta CARMEN ALICIA AYALA CONTRERAS
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

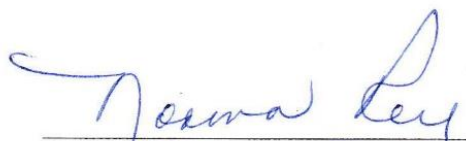
Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015


RESPUESTA FISIOLÓGICA A SALINIDAD EN DOS GENOTIPOS DE MAÍZ

Tesis

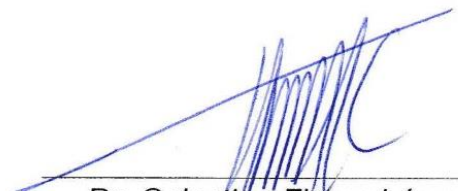
Elaborada por CARMEN ALICIA AYALA CONTRERAS como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría




Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal



Dr. Froylán Rincón Sánchez
Asesor



Dr. Celestino Flores López
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Agradecimientos

A Dios, por darme esta oportunidad, a mi familia por creer en mí y apoyarme siempre.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de la maestría, por acogerme como nacional y brindarme su apoyo; Al Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), por postularme para esta experiencia y ser el medio para llegar aquí.

A mi asesora principal, la Dra. Norma A. Ruiz Torres, por todo el apoyo brindado durante la investigación, por su dedicación y ser parte fundamental en su realización. A mi Comité Particular de Asesoría, integrado por el Dr. Froylán Rincón Sánchez y el Dr. Celestino López Flores, por sus aportes al presente trabajo.

A todos los maestros del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que fueron partícipes durante esta etapa. A la T.A Dra. Alma Patricia García Villanueva por su apoyo al presente proyecto.

Dedicatoria

Para iniciar un gran proyecto, hace falta valentía. Para terminar un gran proyecto, hace falta perseverancia (Anónimo).

A todos los que me apoyaron en este gran proyecto.

Índice de general

Agradecimientos	iii
Dedicatoria.....	iv
Índice de general	v
Lista de cuadros.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Resumen	ix
Abstract.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
La salinidad de los suelos.....	3
Efectos de la salinidad en las plantas.....	5
Efectos en la germinación y primeras etapas de desarrollo	5
Efectos en el crecimiento y desarrollo vegetativo.....	7
Efecto de la salinidad en los procesos fotosintéticos	9
Estrés hídrico, desbalance y toxicidad iónica.....	11
El maíz y su desarrollo en suelos salinos.....	12
Mecanismos de tolerancia y respuesta al estrés salino.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Material genético	17
Estudio preliminar de calidad fisiológica de los materiales genéticos.....	17
Prueba de germinación	17
Estudio I. Efecto de la salinidad en la tasa de asimilación de CO ₂	18
Potenciales osmóticos (Tratamientos) y muestreos	18
Labores culturales	19
Variables evaluadas	20
Análisis de la información.....	20
Estudio II. Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla	21
Potenciales osmóticos (Tratamientos)	21
Ensayo de germinación y vigor	22
Variables evaluadas	22

Análisis de la información.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
Estudio preliminar de la calidad fisiológica de los materiales genéticos	24
Estudio I. Efecto de la salinidad en la tasa de asimilación de CO ₂	25
Estudio II. Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla	36
CONCLUSIONES	43
LITERATURA CITADA	44

Lista de cuadros

Cuadro 1. Descripción de tratamientos utilizados en el estudio de germinación y vigor de la semilla.	22
Cuadro 2. Porcentaje de germinación para los materiales genéticos evaluados.	24
Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para el estudio de asimilación de CO ₂	26
Cuadro 4. Comparación de medias del análisis de varianza para el estudio de asimilación de CO ₂	28
Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza para caracteres de la planta.	31
Cuadro 6. Comparación de medias del análisis de varianza para caracteres de la planta.	33
Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables fisiológicas de las semillas.	37
Cuadro 8. Comparación de medias del análisis de varianza para las variables fisiológicas de las semillas.	39

Lista de figuras

Figura 1. Porcentaje de germinación para cada genotipo en los diferentes tratamientos.	42
Figura 2. Porcentaje de vigor para cada genotipo en los diferentes tratamientos.	42

Resumen

RESPUESTA FISIOLÓGICA A SALINIDAD EN DOS GENOTIPOS DE MAÍZ

POR

CARMEN ALICIA AYALA CONTRERAS

MAESTRÍA PROFESIONAL EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DRA. NORMA ANGELICA RUIZ TORRES - ASESORA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

Los procesos fisiológicos en las diferentes etapas de desarrollo del cultivo de maíz son especialmente sensibles a la salinidad. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar y documentar la respuesta germinativa y de vigor de una población de maíz criollo de San Martín de las Vacas en Ramos Arizpe, Coahuila y de un híbrido comercial Dupont Pioneer (P2948W), sometidos a diferentes niveles de salinidad, bajo condiciones de laboratorio; y evaluar la respuesta fotosintética de los genotipos, sembrados en suelos acondicionados con diferentes niveles de salinidad bajo condiciones de invernadero. Los tratamientos consistieron en la aplicación de soluciones con diferentes potenciales osmóticos, expresados en megapascales (MPa), utilizando como sal el Sulfato de Sodio (Na_2SO_4) y calculados de acuerdo a la ecuación de J. H. Van't Hoff. Se llevaron a cabo tres estudios: Estudio preliminar, diseñado para determinar la calidad fisiológica de los materiales genéticos; Estudio I: Efecto de la salinidad en la tasa de asimilación de CO_2 , con cuatro tratamientos -1, -2, -3 MPa y un testigo (agua destilada) en cuatro diferentes etapas fenológicas indicadas como unidades de muestreo (5^{ta}, 8^{va}, 12^{va} y hoja final), aplicados por medio de las soluciones de riego, se evaluó: tasa de asimilación de CO_2 , conductancia estomática, concentración de CO_2 intercelular, tasa de transpiración, longitud y diámetro de tallo, peso seco de tallo y de raíz; Estudio II: Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla, se evaluaron siete tratamientos (00, -0.25, -0.50, -0.75, -1.0, -1.25 y -1.50 MPa), se aplicaron por medio de riegos en ensayos de laboratorio; las variables evaluadas fueron: germinación, vigor, longitud y peso seco de plúmula y de radícula en todas las plántulas normales. En los resultados del estudio preliminar, se observó un porcentaje mayor a 97% para ambos genotipos. En el estudio I, se obtuvo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos y entre muestreos (hojas) para todas las variables. Entre genotipos para la tasa de asimilación de CO_2 y el CO_2 intercelular; entre tratamientos para altura de planta y peso seco de vástago ($P \leq 0.01$); entre genotipos ($P \leq 0.05$), para peso seco de vástago y de raíz; en general, los resultados indican que la fotosíntesis se reduce según disminuyen los potenciales osmóticos. En el Estudio II, se encontraron

diferencias ($P \leq 0.01$) entre tratamientos para todas las variables evaluadas; entre genotipos para vigor ($P \leq 0.05$) y en peso seco y longitud de radícula ($P \leq 0.01$), siendo el híbrido el que presentó un mejor comportamiento; respecto a la interacción tratamiento x genotipo, hubo diferencias significativas en vigor y en peso seco de plántula ($P \leq 0.05$), así como en peso seco y longitud de radícula ($P \leq 0.01$). Se observó que al incrementar la Conductividad Eléctrica de la solución, se reduce la capacidad germinativa y el vigor de la semilla. El estrés salino afecta la germinación de semillas mediante la reducción de la absorción de agua o por medio de la acumulación de sodio, causando un desequilibrio en la absorción de nutrientes y un efecto tóxico, que puede interferir en las secuencias metabólicas de la germinación.

Palabras clave: *Zea mays* L., potencial osmótico, efectos fisiológicos.

Abstract

PHYSIOLOGICAL RESPONSE TO SALINITY IN TWO MAIZE GENOTYPES

BY

CARMEN ALICIA AYALA CONTRERAS

PROFESSIONAL MASTER IN GRAIN AND SEED TECHNOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DRA. NORMA ANGELICA RUIZ TORRES – ADVISER

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

The physiological processes in different growth stages of the corn crop are especially sensitive to salinity. The objectives of this research work were to determine and to document the germination response and seed vigor of one blue maize landrace from San Martin de las Vacas in Ramos Arizpe, Coahuila, and a commercial Dupont Pioneer hybrid (P2948W), with different solution salinity levels, under laboratory conditions; and to evaluate the photosynthetic response of both genotypes, planted in soil watered with different saline solutions treatments, cultivated in a greenhouse. Treatments consisted in solutions with different osmotic potentials, expressed in Megapascals (MPa), using a sodium sulfate salt (Na_2SO_4) as a solute and calculated based in the J.H. Van't Hoff equation. Three different studies were carried out: Preliminary study: Designed to determine the genotypes physiological seed quality. Study I: The salinity effects in the CO_2 assimilation rate, with the application of four solution treatments (-1.0, -2.0, -3.0 MPa and a check with distilled water), in four different phenological stages (5th, 8th, 12th, and last leaves); the evaluated variables were: CO_2 assimilation rate, intercellular CO_2 , stomatal conductance, transpiration rate, stem length and diameter, and stem and root dry weight. Study II. Consisted in the evaluation of seven solution treatments (0.0, - 0.25, - 0.50, -0.75, -1.0, -1.25, -1.50 MPa), in a germination standard essay, to find out their effect in the seed vigor and germination; the evaluated variables were: seed vigor and germination, length and dry weight of stems and roots, in all normal seedlings. Results from the preliminary study showed 97 % germination for both genotypes. Study I. Significant differences ($P \leq 0.01$) or ($P \leq 0.05$) were found among treatments and among phenological stages (leaves) for all variables, results indicate that the photosynthetic rate diminishes with a decrease in the solution osmotic potentials. Study II. Significant differences ($P \leq 0.01$) were found among treatments for all variables; between genotypes ($P \leq 0.05$) for seed vigor and dry weight and root length ($P \leq 0.01$), having the hybrid the best performance. Significant treatment x genotype interactions were found for seed vigor and seedling dry weight ($P \leq 0.05$), as well as for root dry weight and length ($P \leq 0.01$). In general, it was observed that reducing the

solutions potentials, diminishes the germination capacity and the seed vigor. Salt stress affects seed germination by reducing water absorption or through accumulation of Na, causing an imbalance in nutrient uptake and a toxic effect that may affect metabolic sequences of germination.

Key words: *Zea mays* L., osmotic potential, physiological effects.

INTRODUCCIÓN

La salinidad de los suelos es un problema que incrementa en las regiones áridas y semiáridas del mundo, debido a las bajas precipitaciones y un mal manejo del agua de riego y fertilizantes. Según la FAO (2002), el problema de salinidad afecta aproximadamente el 25 % del área total irrigadas del planeta y un 10 % del total de la superficie terrestre. En México, del área total utilizada para actividad agrícola, un 12 % es afectado con problemas de salinidad, más de la mitad de estas áreas salinas se localizan en la parte norte del país, que corresponde a zonas áridas y semiáridas donde el problema se agudiza debido a la limitación de agua.

El efecto inicial causado por salinidad en las plantas es la reducción o interrupción completa del crecimiento, esto como consecuencia de la disminución del potencial osmótico, que inhibe la absorción de agua y nutrientes por las raíces. La alta concentración de sal provoca la acumulación de iones en las células que crean con frecuencia toxicidad, lo cual se manifiesta en plantas con clorosis y necrosis en los tejidos de las hojas; otros efectos son la reducción del área foliar y por ende se afectan los procesos fotosintéticos, contenido de clorofila y la conductancia estomática. La reducción del crecimiento de las plantas a causa de salinidad difiere entre especies e incluso entre variedades, debido a la variabilidad en la tolerancia a la salinidad entre los genotipos. En general, entre los factores que son relevantes para adaptarse al estrés salino se pueden citar el fisiológico, el bioquímico, el molecular y las características morfológicas y genéticas de las plantas.

En el caso específico del maíz, que representa uno de los cultivos más importantes por su valor en la alimentación animal y humana, se ha clasificado dentro de los cultivos que son sensibles a estrés salino, su producción en suelos con problemas de salinidad provoca disminución en su desarrollo vegetativo y reproductivo, así como es sus rendimientos productivos.

En la actualidad, con la finalidad de superar estos desafíos, se han realizado trabajos enfocados a la obtención de variedades tolerantes a la salinidad, además del manejo y modificación de los suelos que presentan estos problemas. Investigaciones realizadas muestran que el crecimiento de las plantas bajo condiciones de solución salina se reduce, pero el grado de reducción depende directamente del nivel de sal, las condiciones ambientales, tipo de planta y la etapa de crecimiento.

Considerando lo anteriormente señalado, se llevó a cabo el presente estudio, donde se evaluó la respuesta de una población de maíz de la raza Elotes Cónicos (Criollo) y un híbrido comercial P2948W (Híbrido), sometidos a diferentes concentraciones de salinidad, bajo condiciones de laboratorio e invernadero, con la finalidad de conocer su efecto en la germinación, comportamiento de algunos caracteres de la planta y en la actividad fotosintética de los dos genotipos, para lo cual se establecieron los siguientes objetivos e hipótesis:

Objetivos

Evaluar la respuesta fotosintética de una población de maíz criollo y de un híbrido comercial, sembrados en suelos acondicionados con diferentes niveles de salinidad bajo condiciones de invernadero.

Determinar y documentar la respuesta germinativa y de vigor de una población de maíz criollo y de un híbrido comercial, sometidos a diferentes niveles de salinidad, bajo condiciones de laboratorio.

Hipótesis

Las condiciones de salinidad afectan la fisiología de la germinación en la semilla maíz, asimismo afecta la capacidad fotosintética de las plantas.

REVISIÓN DE LITERATURA

La salinidad de los suelos

La salinidad del suelo se convierte en un problema importante en la agricultura mundial cuando el suelo y los factores ambientales contribuyen a la acumulación de sales. Aunado a lo anterior, la utilización de fertilizantes solubles y las sales presentes en el agua de riego, son algunos otros factores que determinan la degradación y la pérdida de valor agrícola de los suelos (Lamz y González, 2013).

El incremento de los suelos salinos en todo el mundo, restringe la producción de cultivos para la alimentación humana y animal, este factor en conjunto con las sequías, son limitantes ambientales que afectan el establecimiento y desarrollo de especies, así como la producción agrícola (González, 2009).

El problema de salinidad afecta aproximadamente el 25 % de las 230 millones de ha irrigadas del planeta, y un 10 % del total de la superficie terrestre (FAO, 2002). En México 29.3 millones de ha son utilizadas para actividad agrícola, de las cuales un 12 % son afectadas debido a las altas concentraciones de sales; el 64 % de estas áreas salinas se localizan en la parte norte del país, que corresponde a zonas áridas y semiáridas, donde el problema se agudiza a causa de la limitación de agua (SEMARNAT, 2005).

La salinidad tiene que ver con un incremento del contenido de sales en los suelos, lo cual se pueden determinar con base en su porcentaje de sodio intercambiable (PSI). La salinidad de un suelo, desde un punto de vista agronómico, se expresa en términos de conductividad eléctrica (CE), la cual indica la velocidad con la que la corriente eléctrica atraviesa una solución salina, siendo esta proporcional a la concentración de sales en la solución. Un suelo agrícola debe presentar una conductividad eléctrica inferior a 2 dS m^{-1} , lo que representa menos del 10 % de la salinidad del agua de mar, valor suficiente para que plantas tolerantes puedan desarrollarse en estas condiciones (Layne *et al.*, 2008).

La salinidad es un proceso de enriquecimiento del suelo con sales más solubles, generalmente con cloruros y sulfatos de sodio y de magnesio, con conductividad eléctrica en el extracto de saturación mayor a 4 dS m^{-1} , y un porcentaje de sodio intercambiable menor de 15, estos valores, influyen en la presión osmótica, interfiriendo en el crecimiento de la mayoría de los cultivos (Argentel *et al.*, 2013).

Las sales en términos generales, pueden ser de origen natural o de origen antropogénico. Rengasamy *et al.*, (2010) indican que las sales se forman naturalmente en los suelos cuando el material parental se disuelve, aunque en su acumulación excesiva participen otros mecanismos relacionados con el movimiento del agua, como es la evaporación y la evapotranspiración. Las sales de origen antropogénico se deben principalmente a la actividad agrícola y pecuaria, donde el riego ha provocado procesos graves de salinización. Por otra parte, la aplicación de fertilizantes en cantidades excesivas, ha llevado a cabo la contaminación de los acuíferos, influyendo después en las aguas de riego. Estas situaciones se dan en zonas áridas, que se encuentran bajo una actividad agrícola muy intensa.

Rengasamy (2006) menciona que la aceleración de los procesos de salinización se debe a la intensificación global de la desertificación, a la aplicación indiscriminada del agua para riego en zonas cercanas al mar y a la introducción masiva de sistemas de riego, sin asegurar que el destino final del drenaje sea el mar. Estos procesos provocan una disminución en el desarrollo y la producción de los cultivos, sin embargo, indica que, dentro de los rangos normales de salinidad, la sensibilidad de las plantas está determinada sobre todo por la composición de las sales y no por la concentración total de éstas.

De acuerdo a su reacción con la salinidad, las plantas pueden dividirse en dos grupos básicos, las halófitas y las glicófitas. Las primeras se desarrollan en concentraciones altas de sodio y se adaptan en hábitats salinos debido a sus características evolutivas y su capacidad de acumulación de sales, las halófitas tienen una presión osmótica muy alta a nivel celular y mecanismos para

eliminar las sales. Las glicófitas no pueden desarrollarse en hábitats salinos y su desarrollo depende de su habilidad para adaptarse durante su crecimiento individual (Poljakoff y Lerner, 1994).

Se debe considerar que todos los suelos contienen sales y que algunas de éstas se convierten en un problema cuando se concentran en la zona radical de los cultivos. Esto provoca valores muy altos de la presión osmótica en el agua del suelo, con evidentes repercusiones sobre el desarrollo fisiológico y metabólico de las plantas.

Efectos de la salinidad en las plantas

La salinidad es uno de los principales factores abióticos que afectan el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas a través del estrés que ocasionan en diferentes estados de crecimiento. Se ha demostrado que el crecimiento de las plantas se reduce bajo condiciones de solución salina, pero el grado de reducción depende del nivel de sal, condiciones ambientales, tipo de plantas y la etapa de crecimiento. El efecto por la salinidad difiere entre especies e incluso entre variedades y cultivares debido a la variabilidad de la tolerancia entre los genotipos (Torabi y Halim, 2013).

Para describir de manera sistemática los efectos de la salinidad, a continuación se presentan las diferentes etapas en las que se pueden ver afectadas las plantas:

Efectos en la germinación y primeras etapas de desarrollo

La germinación de las semillas es un factor importante en el establecimiento de los cultivos y se ve afectado por condiciones salinas; pueden causar una reducción significativa en la tasa y el porcentaje de germinación, que a su vez podría afectar el rendimiento de los cultivos (Carpici *et al.*, 2009). El proceso de germinación comprende varias fases, como son: imbibición de agua, activación y síntesis de enzimas, translocación de sustancias y el crecimiento activo, siendo estos procesos los principales candidatos a ser afectados por condiciones salinas del medio (Cortés *et al.*, 2014).

Según Martínez *et al.* (2011), la salinidad origina reducción del crecimiento de los cultivos al afectar negativamente la germinación y la capacidad de emergencia de las plantas debido a sus efectos en los procesos fisiológicos. González (2009), indica que los impactos de la salinización son la baja germinación, acumulación de iones en las células que crean toxicidad, problemas en la absorción de nutrientes y efecto osmótico.

La salinidad del suelo puede afectar la germinación de las semillas en dos formas: creando un potencial osmótico para evitar la absorción de agua y suministrando las condiciones para la entrada de iones, los cuales pueden ser tóxicos al embrión o a la plántula en desarrollo (Méndez y Merazo, 1997).

Niveles moderados de sales en el suelo generalmente retardan la germinación sin afectar el porcentaje de la misma, pero concentraciones elevadas si pueden retrasarla y además, afectan notablemente el porcentaje de emergencia, dependiendo del cultivo. Estudios sobre los efectos del estrés hídrico en la germinación han involucrado a menudo semillas imbibidas en soluciones de solutos osmóticamente activos de potenciales hídricos conocidos. Un mayor estrés hídrico retrasa la germinación o la reduce por completo, así como, retrasa la emergencia de la radícula (Chávez *et al.*, 2012).

Franca *et al.* (2007), indican que la evaluación de la germinación de las semillas en tratamientos salinos puede usarse como un indicador de la tolerancia de algunas especies y cultivares a la salinidad, además puede ser útil para evaluar la calidad fisiológica durante el estrés salino. Estas evaluaciones son importantes para estimar el potencial de rendimiento de los cultivos en el campo. Nicasio *et al.* (2011), mencionan que mientras las semillas de las halófitas están adaptadas a un ambiente salino, aquellas de plantas no halófitas tienen límites variables de tolerancia a la salinidad con respecto a la germinación.

Efectos en el crecimiento y desarrollo vegetativo

Los efectos del estrés salino en los cultivos agrícolas son significativos, causan un lento desarrollo vegetativo y posteriormente, efectos en el desarrollo reproductivo. La consecuencia primaria de la salinidad es la reducción en la formación de hojas nuevas y puntos de crecimiento, a esta fase se le conoce como la acumulación de sal en los puntos de crecimiento o fase osmótica; la segunda fase consiste en una lenta inhibición del crecimiento, que puede llevar de días a semanas, debido a la acumulación en el tiempo de sales, especialmente en las hojas más viejas causando una prematura senescencia, esta fase es conocida como la fase iónica o toxicidad por sal (Roy *et al.*, 2014).

Uno de los efectos más evidentes del estrés salino es la reducción en la capacidad de absorción de agua, que se puede manifestar como los efectos del estrés hídrico u osmótico, reduciendo el área foliar y provocando la pérdida de turgencia. Una célula vegetal expuesta a un medio salino equilibra su potencial hídrico perdiendo agua, lo que produce la disminución del potencial osmótico (Leidi y Pardo, 2002). La presencia en exceso de sales en la solución del suelo produce una disminución del potencial osmótico y, consecuentemente, del potencial hídrico. Por tanto, el balance hídrico de la planta en general se encuentra afectado, ya que se disminuye su capacidad de mantener el movimiento entre el suelo y la planta, que permita continuar con la absorción de agua, por lo que el estrés hídrico es el primer efecto.

Shtereva *et al.* (2015) mencionan que el estrés salino causa toxicidad por la acumulación de iones cloruro y sodio, algunos de los efectos de la toxicidad son la reducción de la síntesis de proteínas en las especies sensibles, conduce a estrés oxidativo a través de un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS), estas ROS pueden alterar el metabolismo celular normal a través de daño oxidativo a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, resultando en un retraso en los procesos metabólicos que dan origen al proceso germinativo. Esto conduce a un desbalance nutricional que a la vez afecta la absorción y el transporte de otros nutrientes influyendo de esta manera sobre la disponibilidad de los mismos.

Algunos síntomas de estrés salino sugieren que la toxicidad es consecuencia del daño de alguna membrana. Por ejemplo, efectos del sistema fotosintético por daño en la membrana cloroplástica o efectos en el sistema respiratorio por daños en la membrana mitocondrial o lesiones en el plasmalemma que resultan en pérdida de solutos de las células. Las concentraciones, a las cuales el efecto tóxico tiene lugar, difieren con la capacidad genética de la especie, el estado de crecimiento, las interacciones medioambientales y la especie iónica en cuestión (Yan *et al.*, 2013)

Por su parte Torabi y Halim (2013), definen que existe un problema de salinidad cuando las sales se acumulan en la zona radical a una concentración que ocasiona pérdidas en la producción. Si la absorción de agua por las raíces se reduce mucho, las plantas disminuyen su crecimiento y llegan a presentar síntomas de sequía, tales como marchitamiento o coloración verdeazulada oscura y, algunas veces, hojas cerosas de mayor espesor. Estos síntomas varían con los estados fenológicos de los cultivos, siendo más notable durante las primeras etapas del crecimiento. El efecto de la sal en el desarrollo de órganos y tejidos se refleja en los patrones alterados de crecimiento y desarrollo de las plantas, la exposición continua de la zona radicular a elevada salinidad, progresivamente, disminuye el tamaño de la hoja a través del tiempo, esto puede ser un efecto directo de la sal en la tasa de división celular (Volkmar *et al.*, 1997).

Akram *et al.* (2010) hacen referencia a que la salinidad afecta aspectos del metabolismo de las plantas, induce cambios en su anatomía, morfología y fisiología, los cuales a menudo se consideran como adaptaciones que incrementan las oportunidades de las plantas para sobrevivir al estrés salino, aunque también son signos del daño y alteración de su estructura y fisiología. Así mismo, la salinidad afecta el proceso y la tasa de germinación, ramificación, tamaño de las hojas, reduce altura de planta, disminuye la producción y causa retraso general en su ritmo de crecimiento.

Efecto de la salinidad en los procesos fotosintéticos

La toxicidad iónica es la precursora de los efectos en los procesos fotosintéticos, ya que estos se inhiben cuando altas concentraciones de sodio y de cloro se acumulan en los cloroplastos.

El crecimiento de las plantas en condiciones salinas, se retrasa a través de su influencia sobre varios procesos fisiológicos, tales como: fotosíntesis, conductancia estomática, ajuste osmótico, absorción de iones, síntesis de proteínas, síntesis de ácidos nucleicos, actividad enzimática y desbalance hormonal, lo que trae como resultado menos células en los meristemos y efecto severo en las variables de crecimiento; además puede afectar el proceso de transporte de agua e iones, lo que promueve toxicidad iónica y desbalance nutricional (Parés *et al.*, 2008; Chaves *et al.*, 2008).

Así mismo Parés *et al.* (2008) indican que la salinidad reduce la tasa de crecimiento y producción a través de la disminución de la eficiencia fotosintética, ya sea por disminución de la asimilación de fotosintetizado, por la reducción del conjunto de nucleótidos y el gasto adicional de energía, por descenso de la conductancia estomática o por altos niveles de los iones sodio y cloro en el tejido foliar. Por lo tanto, el efecto osmótico y tóxico no sólo causa una simple consecuencia física sobre la reducción de la presión de turgor de las células de la planta, sino que involucra alteraciones bioquímicas y fisiológicas.

Por su parte Salas *et al.* (2001), mencionan que la condición hídrica de la planta influye severamente en la fotosíntesis, a medida que el agua en las hojas se reduce, ya sea por estrés hídrico u osmótico, la tasa de fotosíntesis neta se reduce, debido a que las hojas cierran sus estomas, lo que impide la entrada de CO₂.

La respuesta más dramática y fácilmente medible a la salinidad es la disminución de la apertura de estomas, dicha respuesta es inducida por el efecto osmótico de la sal. La salinidad afecta la conductancia estomática de inmediato y de forma transitoria, debido a las relaciones hídricas afectadas y poco después a causa de la síntesis local de ácido abscísico (ABA). La

disminución de la conductancia estomática es seguida por la reducción de la tasa de asimilación de CO₂ y la respiración (Munns y Tester, 2008)

La salinidad, a niveles moderados o altos, interfiere con el intercambio de gases y, posteriormente, disminuye la tasa de fotosíntesis por lo que los síntomas son exactamente similares a las causadas por el estrés por sequía. Volkmar *et al.* (1997) indican que la tasa de reducción de la fotosíntesis y la translocación de asimilados bajo condición salina, depende de las especies y las concentraciones de sal, algunas pruebas mostraron que a bajos niveles de salinidad se estimula la tasa de fotosíntesis y en consecuencia la tasa de fotosíntesis aumentó.

De igual manera, Yan *et al.* (2013) indican que en ocasiones, la tasa de fotosíntesis por unidad de área foliar en las plantas que se desarrollan en condiciones salinas no tienen cambios significativos, a pesar de que la conductancia estomática se reduce. Esto se explica por los cambios en la anatomía de células, hojas más pequeñas y gruesas que dan como resultado una densidad de cloroplastos más alto por unidad de área foliar.

Las reacciones químicas de los sistemas fotosintéticos son iniciados por la asimilación y absorción de luz por las moléculas de clorofila dentro de las membranas fotosintéticas. Torabi y Halim (2013) mencionan que en general, los contenidos de clorofila y carotenoides de hojas disminuyen bajo condiciones salinas, debido al efecto clorótico de las hojas durante el estrés, sin embargo ese efecto varía según las especies y cultivares, ya que en ocasiones el efecto es contrario.

Una de las técnicas para la determinación del contenido del clorofila es el uso de un determinador portátil SPAD-502, que es un instrumento que permite evaluar indirectamente y en forma no destructiva el contenido de clorofila en la hoja. Existe una relación entre la unidad SPAD y el contenido de nitrógeno de la planta, ya que este nutriente es necesario en la síntesis de clorofila, así como para el crecimiento vegetativo y reproductivo en la planta; por lo tanto permite identificar posibles deficiencias nutricionales (Sainz y Echeverría, 1988).

El contenido de clorofila y la absorción de nitrógeno se han correlacionado con las unidades SPAD en diversas condiciones ambientales como la intensidad luminosa, temperatura, humedad relativa, plagas, densidad de población, fuente de nitrógeno y factores de estrés que pueden afectar el contenido de clorofila en la hoja (Rodríguez *et al.*, 1998).

Existe una relación entre el contenido de nitrógeno en hoja y la concentración de clorofila en la misma, ya que la mayoría del N de las hojas está contenido en las moléculas de clorofila y, por tanto, la capacidad fotosintética de las hojas es función de la concentración foliar de este elemento. El estrés causado por la salinidad tiene efecto directo en la absorción de nutrientes a la planta, originando un desequilibrio en el funcionamiento de los procesos generales y se refleja en la coloración de la planta, teniendo efecto en los contenidos de la clorofila (Suárez *et al.*, 2006).

Estrés hídrico, desbalance y toxicidad iónica

El exceso de sales puede ejercer efectos osmótico, toxicidad iónica, así como disturbios en la toma y translocación de iones necesarios para la nutrición de las plantas, lo cual, puede afectar adversamente su crecimiento.

El estado del agua es la principal razón de la reducción del crecimiento de las plantas bajo estrés salino. El aumento de la sal en la zona radicular reduce el potencial hídrico de la hoja y, posteriormente, la absorción de agua y nutrientes por las plantas son difíciles o imposibles (Torabi y Halim, 2013).

Para contrarrestar el estrés hídrico causado por la salinidad, la respuesta de la planta consiste en incrementar la producción intracelular de sustancias solubles como proteína, prolina, sacarosa, manitol, glicerol, etc., que disminuyen el potencial hídrico intracelular y facilitan la entrada del agua; de lo contrario, no solo entraría agua del medio exterior sino que esta podría salir de las células radiculares, y la planta se secaría (Yildiz y Terzi, 2013).

Los efectos iónicos que ocasionan las sales en la planta se presentan muy específicamente sobre el citoplasma y las membranas de las células; los sistemas enzimáticos de la glicólisis, ciclo de Krebs y la fotofosforilación son

especialmente sensibles a las soluciones salinas, y dan como resultado una menor disponibilidad de energía, adquisición de nutrientes y una disminución del crecimiento de la planta (Lamz y González, 2013).

De acuerdo con Munns (2002), en un suelo salino la elevada concentración de sodio y cloro, produce una interferencia en la absorción de nutrientes, impide la captación de los mismos, al tiempo que pueden alcanzar niveles tóxicos para el metabolismo celular. El mantenimiento del equilibrio iónico de la célula frente a los cambios del medio externo, esto es la homeostasis iónica, depende de las proteínas de membrana que regulan el flujo de iones, como las bombas de protones (ATPasas y pirofosfatasas), transportadores secundarios y canales iónicos.

Argentel y González (2006) indican que otra de las causas del exceso de iones tóxicos en la rizofera está dada por su interacción con los nutrientes minerales. La interacción de las sales puede resultar en considerable déficit y desbalance nutricional. El desbalance iónico reduce la captación de otros nutrientes minerales tales como potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}) y manganeso (Mn^{2+}); la relación elevada de sodio/potasio, debido a la acumulación de altas concentraciones de iones de sodio, inactiva enzimas y afecta procesos metabólicos en las plantas. La raíz, como principal órgano de absorción de agua e iones, tiene gran importancia en la respuesta a corto y largo plazo al estrés salino. En este órgano se sintetiza ácido abscísico, una de las señales tempranas de estrés capaz de producir cambios fisiológicos locales, tales como conductividad hidráulica y cambios a distancia como el cierre estomático (Safi *et al.*, 2010).

El maíz y su desarrollo en suelos salinos

El maíz representa uno de los principales cultivos agrícolas en México, por consiguiente es sembrado en una gran parte del territorio nacional bajo diferentes condiciones edafoclimáticas, siendo un producto principal en la dieta básica y de consumo masivo. Dentro de la zonas destinadas a la producción de maíz se encuentran las zonas áridas y semi áridas del norte del país, donde el

problema de salinidad en los suelos es inminente y el desarrollo de este cultivo se ve afectado por este factor (González, 2009).

El maíz, que pertenece a las plantas con metabolismo C4, también se clasifica como moderadamente sensible a la salinidad. La mayoría de las especies comestibles de granos y vegetales son glicófitas muy susceptibles a la salinidad del suelo, aun cuando la conductividad eléctrica sea menor de 4 dS/m, como es el caso del maíz. En este cultivo se observa reducción en caracteres de crecimiento y rendimiento, afectando procesos metabólicos y fisiológicos importantes para un buen desarrollo vegetativo y reproductivo (Carcipi *et al.*, 2009).

Diversas investigaciones en este tema y específicamente en el cultivo del maíz, se han conducido para identificar los efectos fisiológicos de suelos con altos contenidos de salinidad. Méndez y Merazo (1997) evaluaron los efectos de la salinidad sobre la germinación en maíz y frijol, donde encontraron que sí existe un efecto significativo en todas las fuentes de variación (cultivo, época y nivel de salinidad y todas sus interacciones) sobre la germinación, lo cual indica que si hay interferencia en la iniciación de los procesos de germinación y emergencia de las plántulas. Méndez *et al.* (2011) realizaron un estudio más específico sobre la germinación y desarrollo de plántulas de maíz híbrido bajo soluciones osmóticas de sulfato de sodio (Na_2SO_4), este trabajo sugiere la tolerancia de ciertos cultivares al estrés salino, causado por este tipo de sal, sin embargo, también reporta efectos negativos al utilizar potenciales osmóticos muy negativos.

Layne *et al.* (2008) estudiaron la influencia del tamaño de la semilla en la evaluación del efecto causado por salinidad y encontraron que existió superioridad en el crecimiento de la radícula de las plántulas originadas a partir de semillas grandes, aunque esta se perdió al disminuir el potencial osmótico, sugiriendo que el uso de semillas grandes no es significativo.

Mecanismos de tolerancia y respuesta al estrés salino

La tolerancia a la salinidad se define como la habilidad de una planta para crecer y completar su ciclo de vida en un medio que contiene altas concentraciones de sal, varía entre los sucesivos estados de crecimiento y el primer estadio, durante el cual el cultivo se establece, se considera particularmente difícil, incluso para cultivos tolerantes (Flowers, 2004). El concepto de estrés se encuentra íntimamente relacionado con el de tolerancia al estrés, el cual a su vez significa la fortaleza o capacidad de la planta para lidiar con un medioambiente no favorable. Para que una planta se adapte a las condiciones salinas, se deben activar múltiples mecanismos, como aumentar la capacidad de obtener y retener agua, y debe restituirse la homeostasis iónica (Roy *et al.*, 2014).

Los mecanismos de adaptación a condiciones de salinidad se reflejan macroscópicamente como un menor crecimiento, modificación de la relación parte aérea/raíz, limitación de la expansión foliar, y son consecuencia de cambios bioquímicos como el incremento de la síntesis de ácido abscísico y solutos osmoprotectores. Asimismo, cambios fisiológicos como la alteración de la permeabilidad de las membranas a los iones y al agua, cierre estomático, disminución de transpiración y fotosíntesis. Esta respuesta adaptativa está gobernada por señales moleculares que regulan la relación con el medio externo y por la activación y transcripción de genes entre cuyos efectos está la modificación de rutas biosintéticas que resultan en ajuste osmótico y la protección de las estructuras celulares (Chávez y González, 2009).

Según Munns (2002), la respuesta adaptativa de las plantas, para la tolerancia a la salinidad, debe interconectar tres aspectos en la actividad de la planta; el primero es prevenir o reparar el daño o la toxificación; el segundo es el control de la homeostasis, incluye la homeostasis iónica y la osmótica que deben ser restablecidas frente a las nuevas condiciones de estrés; en tercer lugar, el control del crecimiento debe reanudarse pero de manera paulatina.

La osmorregulación o ajuste osmótico que llevan a cabo las plantas al crecer en condiciones de salinidad, confiere a estas la capacidad de tolerar condiciones de escasez de agua y salinidad elevada. Para esto se expresan mecanismos adaptativos, que consisten en disminuir su potencial osmótico interno para compensar el potencial osmótico externo y, de esta manera, mantienen la actividad enzimática, evitan la disminución de la fotosíntesis, así como las alteraciones en la traslocación, la distribución de los fotoasimilados y las consecuentes pérdidas de rendimiento (Leidi y Pardo, 2002).

El establecimiento de la homeostasis iónica es un requerimiento esencial para que las plantas sobrevivan en condiciones de estrés salino. La regulación del flujo iónico es necesaria para que las células mantengan adecuada concentración de iones esenciales y baja la concentración de iones tóxicos (Munns, 2002). Bajo estrés salino, el mantenimiento de la homeostasis de potasio y sodio es de vital importancia en células vegetales, estas necesitan mantener altas concentraciones de potasio para realizar de forma adecuada las reacciones metabólicas, por lo que la tolerancia a la salinidad requiere no solo la adaptación a la toxicidad provocada por el sodio, sino también, a la adquisición de potasio, cuya toma por la planta se afecta debido a la semejanza química entre ambos iones. Por otro lado, los niveles de sodio, deben ser bajos en el citoplasma, cualquier exceso tiene que ser excluido fuera de la célula o almacenado dentro de la vacuola (Maathuis, 2014).

El papel del ión calcio en la respuesta de las plantas a salinidad resulta esencial, por su papel señalizador, su función estructural en la membrana y su efecto sobre la actividad de algunos transportadores iónicos. La presencia de Ca^{2+} puede reducir la magnitud del efecto negativo de la salinidad en el crecimiento, fenómeno que se ha atribuido al efecto estabilizador de la membrana y al mantenimiento de su capacidad selectiva (Akram *et al.*, 2010).

El estrés salino induce el déficit fisiológico de agua, cierre de los estomas, baja disponibilidad de CO_2 , sobre-reducción de la cadena de transporte de electrones y finalmente la generación de radicales libres o formación de especies reactivas del oxígeno; esta condición llamada estrés fotooxidativo o

estrés oxidativo, es también un término subrayado en la respuesta de las plantas a otros tipos de estrés como la sequía, temperaturas extremas y exceso de luz (Munns y Tester, 2008).

La mayoría de los cultivos toleran la salinidad a un nivel umbral y por encima del cual el rendimiento disminuye a medida que aumenta la salinidad. Diversas estrategias para superar la salinidad han sido propuestas, una de las más importantes es explotar la variabilidad genética del germoplasma disponible para identificar un genotipo tolerante que pueden sostener un rendimiento razonable sobre suelos afectados con salinidad (Basurto *et al.*, 2008)

La mejora genética se convierte en una herramienta que favorece un aumento tanto en la recuperación de áreas subutilizadas, como en los rendimientos en aquellas zonas donde la salinidad sea un factor limitante de la producción agrícola. En este sentido se realizan trabajos para la obtención de materiales genéticos que satisfagan esta necesidad, como la incorporación de genes procedentes de parentales silvestres tolerantes, la domesticación de plantas halófilas silvestres, la identificación de caracteres relacionados con tolerancia empleando marcadores moleculares que permiten la selección de genotipos tolerantes o bien la incorporación de genes cuya expresión modifica mecanismos bioquímicos y fisiológicos involucrados en la tolerancia y adaptación a ciertas condiciones que puedan causar estrés a las plantas (Lamz y González, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en tres diferentes estudios, los cuales se detallan a continuación:

Material genético

Se utilizaron dos materiales genéticos de maíz, un híbrido comercial (P2948W) de ciclo precoz, de color blanco, procedente de la empresa Pioneer Hi-Bred International, Inc. (mencionada en los estudios como híbrido) y una población nativa de maíz de grano harinoso de color azul de la raza Elotes Cónicos, procedente de la localidad San Martín de Las Vacas, Ramos Arizpe, Coahuila (mencionada en los estudios como criollo). Los dos materiales genéticos fueron empleados en cada uno los estudios.

Estudio preliminar de calidad fisiológica de los materiales genéticos

La prueba de calidad fisiológica de los materiales genéticos de maíz, se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Prueba de germinación

La germinación estándar se determinó de acuerdo a los procedimientos recomendados por ISTA (2009), con algunas modificaciones. El ensayo consistió de tres repeticiones de 25 semillas por material genético. Las semillas se colocaron en papel Anchor húmedo, enrolladas en forma de tacos, y posteriormente llevados a la cámara de germinación Marca Termo Scientific, modelo Precision, a una temperatura de 25 °C (± 1) por siete días, con ocho horas de luz y 16 horas de oscuridad.

Durante la prueba de germinación estándar se llevó a cabo dos conteos: el primero, considerado como una prueba de vigor, se hizo al cuarto día después de la siembra y se evaluó el número de plántulas normales. El segundo (prueba de viabilidad), se realizó al séptimo día, en él se contaron las plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar. Los resultados para ambos conteos se reportan en porcentaje.

Este estudio se llevó a cabo con la finalidad de verificar la calidad inicial de los materiales genéticos, los cuales fueron utilizados en la presente investigación, y así asegurar que los materiales contaban con germinación alta.

Estudio I. Efecto de la salinidad en la tasa de asimilación de CO₂

El experimento se llevó a cabo en el invernadero uno del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 4 x 4 (A x B x C) con cuatro repeticiones. El factor A corresponde a los materiales genéticos (híbrido y criollo), el factor B a los tratamientos (testigo, -1, -2 y -3 MPa), y el factor C corresponde a los muestreos (hoja 8, 12, 16 y la hoja final). La unidad experimental constó de una planta de maíz.

Potenciales osmóticos (Tratamientos) y muestreos

Los tratamientos fueron tres potenciales osmóticos expresados en megapascales (MPa) utilizando como sal el Sulfato de Sodio (Na₂SO₄) y calculados de acuerdo a la ecuación de J. H. Van't Hoff (Salisbury y Ross, 1978). $Y_{os} = - C i R T$, Donde: Y_{os} = potencial osmótico, C= concentración de la solución, expresada como molalidad (moles de soluto por Kg de H₂O), i= constante que indica la ionización del soluto, para el Na₂SO₄, (i=3), R= constante de los gases (0.0831 Kg, bar mol⁻¹, K⁻¹), T= temperatura absoluta (°K).

De esta manera los tratamientos consistieron en -1 MPa (17.47 dS/m^{-1}), -2 MPa (30.0 dS/m^{-1}), -3 MPa (40.6 dS/m^{-1}) y un testigo utilizando agua destilada para el riego.

Los muestreos fueron definidos por las etapas fenológicas, determinadas por el número de hojas (hoja 8, 12, 16 y la hoja final) al momento de realizar las determinaciones de la actividad fotosintética. En los muestreos, la hoja final, corresponde a la hoja con que contaba la planta al final de su ciclo y donde se realizó la última medición. Es importante señalar que no todas las plantas tenían igual número de hoja final.

Labores culturales

Siembra: En el experimento se utilizaron bolsas de polietileno de 10 L (macetas) para el establecimiento de las plantas de maíz. Como sustrato se empleó una combinación de Vermiculita, Perlita y Peat Moss en una proporción de 1:0.5:0.1 de cada componente. La siembra se realizó el 15 de mayo de 2014. Se sembraron dos semillas por bolsa para permitir el establecimiento de la unidad experimental, posterior a la germinación, se eliminó una de las plántulas para finalmente dejar una planta por maceta.

Las labores culturales consistieron en aplicaciones de fertilizantes y pesticidas para el control de plagas, las cuales se realizaron de acuerdo a las necesidades del cultivo.

Aplicación de tratamientos y riegos

Los tratamientos se aplicaron por medio de las soluciones de riego, aplicando los potenciales osmóticos correspondientes, y el testigo consistió en aplicación de agua destilada. Los riegos fueron aplicados dos veces por semana durante los primeros dos meses del cultivo y posteriormente, un riego por semana hasta la conclusión del experimento.

Variables evaluadas

La medición de la actividad fotosintética fue realizada con el determinador portátil marca LICOR-6400, previamente calibrado; la lectura fue tomada una vez que el valor permaneció constante en la pantalla del determinador. Se determinó la tasa de asimilación de CO₂ (A), expresado en $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; la conductancia estomática (g_s), expresada en $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; la concentración de CO₂ intercelular (C_i) en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ y la tasa de transpiración (E) expresada en $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, estas variables se evaluaron en cada muestreo (hoja 8, 12, 16 y final).

También se evaluaron en cada muestro la altura de planta, se midió la distancia desde la superficie del sustrato hasta el inicio de la parte ramificada de la espiga, la medición se expresa en centímetros (cm); el diámetro de tallo, se utilizó un vernier para medir el diámetro en la parte media del tallo expresándose en milímetros (mm). Al final del estudio se evaluó el peso seco de vástago y de raíz, ambos se evaluaron por separado, se colocaron en bolsas de papel de estraza y se secaron en una estufa a 75°C durante 48, posteriormente se pesaron en una balanza analítica y resultado se expresó en gramos por planta (g planta^{-1}).

Asimismo, se determinó el contenido de clorofila en la hoja, evaluándose en cada muestreo, usando un determinador SPAD-502 Plus (marca Konica Minolta), expresando en resultado en unidades spad.

La Radiación Fotosintéticamente Activa (PARi), utilizada en el estudio fue en promedio de $212.36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, el suministro de CO₂ en la cámara del determinador portátil fue de $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y la temperatura de la hoja vario de 30.60 a 32.57, 23.70 a 24.46, 32.83 a 34.57 y 29.22 a 32.63 para los muestreos a la 8, 12, 14, 16 y número de hoja final, respectivamente.

Análisis de la información

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias para genotipos, tratamientos y unidades de muestreo, a través de la

comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha= 0.05$), se usó el paquete estadístico SAS (2004).

El modelo lineal utilizado para el análisis de la información de la actividad fotosintética se describe a continuación:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + T_j + U_k + GT_{ij} + GU_{ik} + GTU_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Dónde:

Y_{ijkl} = Variable de respuesta; μ = Media general; G_i = Efecto del *i*-ésimo genotipo; T_j = Efecto del *j*-ésimo tratamiento; U_k = Efecto de la *k*-ésimo muestreo; GT_{ij} = Efecto del *i*-ésimo genotipo por el *j*-ésimo tratamiento; Efecto del *i*-ésimo genotipo por la *k*-ésimo muestreo; Efecto del *i*-ésimo genotipo por el *j*-ésimo tratamiento por la *k*-ésimo muestreo; ε_{ijkl} = Error experimental.

Estudio II. Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla

La prueba de germinación estándar y de vigor de la semilla de los materiales genéticos de maíz sometidos a condiciones salinas, se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 7 (A x B), con tres repeticiones. El factor A corresponde a los materiales genéticos (híbrido y criollo), el factor B a los tratamientos (potenciales osmóticos). La unidad experimental fue un taco de 25 semillas.

Potenciales osmóticos (Tratamientos)

Los tratamientos consistieron en seis potenciales osmóticos y un testigo utilizando agua destilada. Los potenciales osmóticos fueron determinados según la fórmula de J. H. Van't Hoff (Salisbury y Ross, 1978).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos de salinidad utilizados en el estudio de germinación y vigor de la semilla.

Tratamientos	Potencial osmótico (MPa)	Conductividad eléctrica (dS/m⁻¹)
1	Testigo	Testigo
2	-0.25	5.25
3	-0.50	9.62
4	-0.75	13.47
5	-1.00	17.47
6	-1.25	20.60
7	-1.50	24.20

Ensayo de germinación y vigor

La germinación se determinó de acuerdo a los procedimientos recomendados por ISTA (2009), con algunas modificaciones; el procedimiento fue el mismo empleado en el estudio preliminar. Los tratamientos se aplicaron mediante riegos con los potenciales osmóticos cada 48 horas.

Durante la prueba se llevó a cabo dos conteos: el primero considerado como una prueba de vigor, se hizo al cuarto día después de la siembra y se evaluó el número de plántulas normales; el segundo (prueba de viabilidad), se realizó al séptimo día, en él se contaron las plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar. Los resultados para ambos conteos se reportan en porcentaje.

Variables evaluadas

El material obtenido en el ensayo de germinación fue utilizado para determinar longitud de plúmula y de radícula en todas las plántulas normales, para lo cual se utilizó papel milimetrado en donde se midió desde el inicio del coleoptilo hasta el final de la plúmula y la radícula respectivamente, expresándose los resultados en milímetros. Se obtuvo también el peso seco de todas las plántulas normales, para lo que se introdujeron en bolsas de papel de estraza, las cuales

se colocaron en una estufa de secado a una temperatura de 75°C durante 24 horas, posteriormente se pesaron en una balanza de precisión expresando los datos en miligramos por plántula (mg planta⁻¹). La plúmula y la radícula se evaluaron por separado.

Análisis de la información

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante un análisis de varianza (SAS Institute, 2004), y se realizó una comparación de medias para genotipos y tratamientos, a través de la comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

El modelo lineal utilizado para el análisis de la información de la germinación y vigor de la semilla de maíz en condiciones de salinidad se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + GT_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta; μ = Media general; G_i = Efecto del *i*-ésimo genotipo; T_j = Efecto del *j*-ésimo tratamiento; GT_{ij} = Efecto del *i*-ésimo genotipo por el *j*-ésimo tratamiento; ε_{ijk} = Error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan los resultados y su interpretación para cumplir con los objetivos del presente trabajo y posteriormente aceptar o rechazar la hipótesis planteada. Dichos resultados se presentan de la siguiente manera: Estudio preliminar de calidad fisiológica de los materiales genéticos; Estudio I: Efecto de la salinidad en la tasa asimilación de CO₂; y Estudio II: Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla.

Estudio preliminar de la calidad fisiológica de los materiales genéticos

La evaluación de la calidad fisiológica inicial de los genotipos empleados en las diferentes fases de este estudio se muestran en el Cuadro 2. El porcentaje de germinación y vigor se presenta por encima del 96 por ciento para ambos genotipos. Esto indica que al inicio de este trabajo, los genotipos contaban con un porcentaje de germinación elevado, de acuerdo a los parámetros de germinación establecidos por ISTA (2009).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación para los materiales genéticos evaluados.

Genotipos	Vigor (%)	Germinación (%)
Híbrido comercial	95	98
Criollo	97	99

Estudio I. Efecto de la salinidad en la tasa de asimilación de CO₂

Los cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros relacionados a la tasa de asimilación de CO₂ se presentan en el Cuadro 3. Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos y entre muestreos (hojas) para todas las variables evaluadas. Lo anterior hace referencia al efecto de los diferentes potenciales osmóticos en las variables fisiológicas de la planta de maíz. Entre genotipos hubo significancia ($P \leq 0.01$) en la tasa de asimilación de CO₂ (A) y en el CO₂ intercelular (C_i), estas diferencias eran de esperarse debido a que se están comparando dos materiales genéticos contrastantes.

En la interacción tratamiento x genotipo hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) solamente en la variable C_i, mientras que en la interacción tratamiento x muestreo se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para la mayoría de las variables evaluadas, excepto en conductancia estomática (g_s). En lo correspondiente a la interacción genotipo x muestreo, se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en las variables A y C_i; mientras que para la interacción tratamiento x genotipo x muestreo solo hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en la variable contenido de clorofila. Lo anterior era de esperarse ya que en las interacciones se refleja la influencia, tanto de los potenciales osmóticos, como de los nuestros (número de hoja en la planta) y de los dos materiales genéticos contrastantes.

En el Cuadro 4 se presentan las medias de los caracteres asociados al estudio de tasa de asimilación de CO₂. Se observa que al disminuir (haciéndose más negativo) el potencial osmótico de la solución, se redujo la tasa de asimilación de CO₂.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para el estudio de tasa asimilación de CO₂.

Fuentes de variación	GL	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	GL	Clorofila (Spad)
Tratamiento (Trat)	3	83.84 **	0.00293 **	148.28 **	3.16 **	3	1297.98 **
Genotipo (Gen)	1	61.21 **	0.00013	95.82 **	1.06	1	45.71
Muestras (Mue)	3	117.03 **	0.00071 **	182.29 **	1.11 **	3	2454.44 **
Trat x Gen	3	10.18	0.00008	17.48 **	0.18	3	80.49
Trat x Mue	9	22.30 **	0.00022	39.68 **	1.70 **	9	289.77 **
Gen x Mue	3	24.94 **	0.00033	44.55 **	0.65	3	37.73
Trat x Gen x Mue	9	1.67	0.00017	2.55	0.42	9	87.00 *
Error	71	3.89	0.00020	6.46	0.29	316	45.27
CV (%)		30.83	45.34	0.64	36.11		15.12

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; GL= Grados de Libertad; A= Tasa de asimilación de CO₂; g_s= Conductancia Estomática; C_i= CO₂ Intercelular; E= Tasa de Transpiración; CV (%) = Coeficiente de variación.

La reducción en la tasa de asimilación de CO_2 (Cuadro 4) no se debe a la ausencia de C_i ya que se mantuvo en valores que oscilan entre 388.74 y 394.73 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sino que básicamente se debe a la afectación de las células del mesófilo que redujeron la tasa de fijación de CO_2 . Se observó también que la reducción en el potencial osmótico afecta la apertura de los estomas, reduciéndose a $0.023 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, lo cual repercute en una menor tasa de Transpiración ($1.16 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). El daño a las células del mesófilo se hace evidente en el contenido de clorofila, que se redujo en aproximadamente 8 unidades a consecuencia del incremento de sales en la solución del suelo.

En general, los resultados presentados anteriormente indican que la tasa de asimilación de CO_2 se reduce según disminuyen los potenciales osmóticos, y aunque la conductancia estomática es estadísticamente igual en los diferentes potenciales osmóticos, se observa que los valores tienden a reducir, sugiriendo que los estomas en la hoja están casi cerrados. Por otro lado, la concentración intercelular de CO_2 incrementa al disminuir el potencial osmótico, esto puede deberse a que el CO_2 que se encuentra en los espacios intercelulares no está siendo utilizado, indicando que el mesófilo se ve afectado a causa del estrés salino que está sufriendo la planta ya que no está fijando el CO_2 .

El mesófilo comprende la mayor parte del interior de una hoja, en ella se encuentran los cloroplastos donde se encuentra la clorofila, es conocido como el sistema de elaboración y reserva; tiene varias funciones importantes, siendo el sitio donde la planta absorbe la mayor parte del CO_2 y los espacios intercelulares permiten la circulación de aire, indispensable para el intercambio de gases para fotosíntesis, transpiración y respiración; también es responsable de almacenar la energía y nutrientes hasta que pueden ser enviados a otro lugar en la planta donde se necesitan; así mismo es un mecanismo de acumulación de CO_2 con el objeto de disponer con reservas que puedan satisfacer la capacidad de asimilación de la RUBISCO (enzima que reduce el CO_2) de forma suficiente y constante (Mediavilla y Escudero, 2008).

Cuadro 4. Medias de los caracteres asociados al estudio de tasa de asimilación de CO₂ bajo condiciones de invernadero.

	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Clorofila (Spad)
<u>Tratamientos (MPa)</u>					
Testigo	8.84 a	0.046 a	388.74 c	1.96 a	48.09 a
-1	6.20 b	0.027 b	392.28 b	1.34 b	47.17 a
-2	5.45 bc	0.026 b	393.23 ab	1.36 b	41.19 b
-3	4.31 c	0.023 b	394.73 a	1.16 b	40.93 b
Media	6.39	0.032	391.98	1.49	44.48
Tukey ($\alpha= 0.05$)	1.46	0.011	1.89	0.40	2.65
<u>Genotipos</u>					
Criollo	5.64 b	0.031	392.93 a	1.40	44.69
Híbrido	7.06 a	0.033	391.16 b	1.57	44.29
Media	6.39	0.032	391.98	1.49	44.48
Tukey ($\alpha= 0.05$)	0.78	0.005	1.00	0.21	1.42
<u>Muestras</u>					
Hoja 8	9.59 a	0.028 ab	387.99 b	1.22 b	47.65 a
Hoja 12	5.22 bc	0.038 a	393.53 a	1.33 ab	48.81 a
Hoja 16	6.08 b	0.027 b	392.45 a	1.70 a	36.84 c
Hoja Final	4.61 c	0.033 ab	394.04 a	1.73 a	34.26 c
Media	6.39	0.032	391.98	1.49	44.48
Tukey ($\alpha= 0.05$)	1.44	0.011	1.86	0.39	2.63

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$). A= Tasa de asimilación de CO₂; g_s= Conductancia Estomática; C_i= CO₂ Intercelular; E= Tasa de Transpiración.

Estos efectos en las variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO₂, hacen referencia a que el estrés causado por los potenciales osmóticos, tiene efecto directo en la eficiencia del mesófilo en la hoja. El estrés causado interfiere con la función del mesófilo, ya que se observa como el CO₂ intercelular se encuentra disponible en los espacios celulares del mesófilo, pero no se está aprovechando en el mismo, lo cual se refleja en la baja asimilación de CO₂.

Casierra *et al.* (2000) menciona que se han realizado algunos ensayos para analizar el efecto de la salinidad sobre la fotosíntesis, indican que la fotosíntesis se inhibió en hojas de plantas de espinaca, afectadas por salinidad con NaCl, como resultado de una disminución de la entrada de CO₂ a través de los estomas y su conducción en el mesófilo, situación que se puede revertir colocando las plantas en un medio libre de sales; sin embargo, cuando el contenido de Na⁺ en las hojas es superior al 3 % de la materia seca, el efecto dañino de las sales no es reversible.

El relación al efecto entre los genotipos, Escalante *et al.* (2008) indican que el mejoramiento genético de las especies aporta una variabilidad significativa en términos de fotosíntesis debido a la capacidad de éstas a adaptarse a diferentes medios y factores de estrés; a su vez mencionan que al estudiar variables fisiológicas en distintos genotipos, las diferencias encontradas pueden entenderse como la adaptación o la estabilidad que pueden presentar cada uno de los materiales a estos medios.

En lo que corresponde a los muestreos, los resultados de la comparación de medias, indican que la asimilación de CO₂ se reduce, lo que puede deberse a que existen diferencias en la capacidad fotosintética entre hojas y según la edad de la planta, así como el efecto del estrés salino, que al prolongarse en el tiempo, tiene mayor consecuencia. Yokoi *et al.* (2002) hacen referencia a que la fotosíntesis, generalmente, aumenta rápidamente durante el desarrollo de la hoja, alcanzando un máximo cerca de la expansión total. Estos cambios están asociados con cambios anatómicos y fisiológicos de las hojas en su desarrollo; el descenso gradual de la fotosíntesis tras la total expansión de la lámina foliar

ocurre simultaneo al descenso en la cantidad de la enzima RUBISCO, de la fosforilación y de la conductancia estomática.

El factor iónico de la salinidad radica en su toxicidad, los iones que más problemas inducen son el cloro y el sodio, aunque otros como el nitrato, sulfato, o el amonio también son tóxicos. Su acumulación en las hojas produce clorosis marginal de la hoja y, con ello, una disminución del área fotosintética, lo que determina reducciones en la fotosíntesis neta. Otros efectos de la toxicidad de sales son la disminución en la síntesis de proteínas, y con ello se afectan procesos tales como la fotosíntesis y el metabolismo de producción de energía y de lípidos (Sandoval *et al.*, 2010).

Algunos síntomas de estrés salino sugieren que la toxicidad es consecuencia del daño de alguna membrana. Por ejemplo, efectos en el sistema fotosintético por daño en la membrana cloroplástica o efectos en el sistema respiratorio por daños en la membrana mitocondrial; las concentraciones, a las cuales el efecto tóxico tiene lugar, difieren con la capacidad genética de la especie, el estado de crecimiento, las interacciones medioambientales (Ramírez, 2010).

El análisis de varianza para los caracteres de las plantas evaluadas en este estudio se presenta en el Cuadro 5. Se aprecia que existen diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para las variables altura de planta y peso seco de vástago entre los diferentes potenciales osmóticos. Para los genotipos únicamente hubo diferencias ($P \leq 0.05$) para las variables peso seco de vástago y peso seco de raíz (Cuadro 5).

Estas diferencias se pueden atribuir a que las variables de crecimiento vegetativo, como lo son materia seca, altura de planta y área foliar, entre otras, son severamente afectadas por la presencia de sales, la reducción en el crecimiento y en el desarrollo, pueden deberse al sufrir tres tipos de estrés: hídrico, causando dificultades para absorber agua y nutrientes; tóxicos, por el alto contenido de sodio que imposibilita los procesos metabólicos y por último el efecto de las deficiencias nutricionales a causa del desbalance general (Layne *et al.*, 2008).

Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza para caracteres de la planta.

Fuentes de variación	GL	AP (cm)	DT (mm)	PSV (g planta ⁻¹)	PSR (g planta ⁻¹)
Tratamientos (Trat)	3	17353.29 **	11.81	4177.18 **	1058.43
Genotipos (Gen)	1	1475.46	9.33	2318.42 *	3601.53 *
Gen x Trat	3	1487.22	4.73	339.47	621.89
Error	20	563.54	27.514	560.87	741.77
CV (%)		15.94	26.54	35.40	147.65

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 de niveles de probabilidad, respectivamente. GL= Grados de Libertad; AP= Altura de planta; DT= Diámetro de tallo; PSV= Peso seco de vástago; PSR= Peso seco de raíz; CV (%)= Coeficiente de variación.

La salinidad afecta el crecimiento de la planta por disminución en la absorción de agua, toxicidad de iones y desbalance nutricional. El sodio presente en las sales puede interferir en la absorción de nutrientes e interrumpir los procesos de división celular que se reflejan en la reducción de área foliar, materia seca y altura de la planta (Ojeda y Pire, 2011). Altas concentraciones de este ion, deterioran la selectividad de las membranas y favorecen la acumulación pasiva en raíces y tallos, ya que la elevada concentración de sales en el suelo, inhiben el crecimiento de las plantas de diferentes formas, causando disminución del contenido de agua en la planta, acumulación de iones en cantidades tóxicas y reducción de la disponibilidad de nutrientes (Lesmes *et al.*, 2007).

Las sales afectan el crecimiento al alterar la absorción de agua por las raíces, fenómeno que se denomina componente osmótico, y sería el efecto inicial que padecen las plantas, también se desencadenan desequilibrios iónicos por la excesiva absorción de sodio y cloruros (Yokoi *et al.*, 2002).

Cortés y Saavedra (2007) mencionan que en tomate la altura de las plantas disminuye con el incremento de la salinidad, se genera una reducción en el número de hojas y en área foliar, también se observa clorosis, necrosis y disminución de la densidad estomática. La disminución en el número de hojas, como consecuencia del incremento de la salinidad, es una respuesta variable que depende de la especie o cultivar de que se trate y también de los niveles de sales a los que son expuestas las plantas.

Ramos *et al.* (2003) realizaron un estudio con el objetivo de determinar el efecto de la salinidad sobre el crecimiento y desarrollo temprano del pimiento. Se utilizaron tres fuentes de sales: NaCl, Na₂SO₄ y alta concentración salina, manteniendo el equilibrio iónico de la solución nutritiva. La salinidad no afectó el número de hojas; en cambio, sí al área foliar que se redujo en hasta 43%, además, durante la etapa de desarrollo de los frutos, la salinidad redujo la biomasa fresca total en hasta 50 %.

En el Cuadro 6 se presentan las medias de los caracteres de la planta en el estudio de salinidad bajo condiciones de invernadero.

Cuadro 6. Medias de los caracteres de la planta en el estudio de salinidad en condiciones de invernadero.

	AP (cm)		DP (mm)	PSV (g planta⁻¹)		PSR (g planta⁻¹)
<u>Tratamientos (MPa)</u>						
Testigo	209.74	A	19.38	95.09	a	34.60
-1	151.47	B	19.71	70.89	ab	14.52
-2	123.51	Bc	18.60	57.95	b	14.11
-3	94.33	C	21.70	36.56	b	7.20
Media	148.88		19.76	66.89		18.44
Tukey ($\alpha= 0.05$)	35.72		7.88	34.91		40.15
<u>Genotipos</u>						
Criollo	158.69		19.13	57.01	b	6.17 b
Híbrido	140.39		20.31	76.11	a	29.90 a
Media	148.88		19.76	66.89		18.44
Tukey ($\alpha= 0.05$)	18.76		4.14	18.30		21.05

Medias con las mismas letras en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$). AP= Altura de planta; DP= Diámetro de planta; PSV= Peso seco de vástago; PSR= Peso seco de raíz.

Respecto a los tratamientos, la mayor altura de planta y peso seco la obtuvo el testigo, la menor altura de planta se presentó en el tratamiento de -3.0 MPa, así como el menor peso seco, aunque estadísticamente es igual a -2.0 MPa. Lo anterior indica que el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz se reduce por causa de los efectos causados por la salinidad. Lo anterior coincide con lo que mencionan Martínez *et al.* (2011), donde se reportan que existe disminución en el peso fresco y seco de plantas de pimiento, así como disminución en su tamaño por efecto de potenciales osmóticos con cloruro de sodio (cuadro 6).

En lo que corresponde a la comparación de medias por genotipo, el híbrido tiene el mayor peso de vástago y raíz, siendo la raíz del genotipo criollo el más afectado con un peso seco de 6.17 g por planta. Por consiguiente, se puede indicar que si existen diferencias entre genotipos para los efectos que ejerce la salinidad en estas variables, sugiriendo que el genotipo híbrido puede tolerar o desarrollarse mejor en condiciones de estrés salinos que el genotipo criollo, esto dado que los híbridos cuentan con un trabajo de fitomejoramiento, lo cual les permite ser seleccionados y mejorados para adaptarse a diferentes condiciones.

Los resultados que se presentan en este estudio muestran como los potenciales osmóticos tienen efecto directo en el crecimiento de las plantas de maíz y esto se refleja en un menor peso seco de vástago, la reducción de la altura de la planta en relación al testigo (209.74 cm) fue de un 55 % en el potencial de -3 MPa y de un 63% en peso seco.

Leidi y Pardo (2002) mencionan que el efecto evidente ante el estrés salino, al reducirse la capacidad de absorción de agua, se manifiesta en la disminución de la expansión foliar y pérdida de turgencia. Por su parte, Tester y Davenport (2003) indican que la presión de turgencia en las plantas es indispensable para el crecimiento celular en expansión, la presencia de sales en el suelo disminuye el potencial hídrico causando un estrés osmótico que lleva a una pérdida de dicha turgencia. Las plantas han desarrollado el mecanismo de ajuste osmótico

que les permite mantener la absorción de agua y la presión de turgencia bajo condiciones de estrés.

El estrés salino causa efectos fisiológicos en las plantas, reduciendo el crecimiento debido a una disminución en la capacidad de absorción de agua, lo que se agudiza conforme la acumulación de sales se va dando, lo que hace más difícil la extracción de agua por las raíces de la planta, incrementando la energía necesaria para su absorción. Es por esto que la planta enfoca sus procesos en mantenerse con vida ante el estrés y no en formar biomasa.

Los órganos del sistema aéreo también se alteran por efecto de las sales, los tallos alcanzan una menor altura, las hojas se reducen en número y presentan desecación en sus bordes de modo que hay menos producción de fotoasimilados. El número y peso de los frutos también se afectan negativamente de manera que su rendimiento comercial disminuye (Cortés y Saavedra, 2007).

El mecanismo por el cual la salinidad inhibe el crecimiento de la planta depende de si la exposición a la sal es a corto o largo plazo, es importante para separar los efectos en cada uno, ya que pueden diferir significativamente; consecuencias a corto plazo por lo general representan un efecto osmótico (déficit de agua) con poco o ningún efecto iónico (dependiendo del genotipo, composición de sal y concentración); el efecto a largo plazo indica síntomas de toxicidad debido a la acumulación de iones como sodio y cloro (Gil *et al.*, 2006). Se puede considerar que los efectos presentados en este estudio son consecuencia del factor osmótico, como de la toxicidad iónica, ya que su exposición a la sal fue prolongada y constante.

Estudio II. Efectos de la salinidad en la germinación y vigor de la semilla

Los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables fisiológicas de las semillas de maíz se presentan en el Cuadro 7. Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos para todas las variables evaluadas; entre genotipos en las variables vigor ($P \leq 0.05$) y en peso seco y longitud de radícula ($P \leq 0.01$). Respecto a la interacción tratamiento x genotipo, hubo diferencias significativas en vigor y peso seco de plántula ($P \leq 0.05$), así como en peso seco y longitud de radícula ($P \leq 0.01$). En relación a los genotipos, estas diferencias eran de esperarse, debido a que se están comparando dos materiales genéticos diferentes (criollo e híbrido), el híbrido ha sido sometido a un programa de mejoramiento genético, por lo tanto, presenta una mayor estabilidad bajo condiciones adversas, mientras que el material criollo es genotipo nativo. En la interacción se puede observar el efecto tanto de los genotipos como de los tratamientos.

El propósito de las pruebas de germinación es determinar la capacidad de germinación de las semillas y para calcular la cantidad de semillas necesarias para la siembra agrícola, cuanto más velocidad de germinación, mejor calidad y vigor de la semilla. Benderradji *et al.* (2011) menciona que la salinidad afecta la siembra, retrasa el desarrollo de la planta y reduce el rendimiento del cultivo; estos efectos son diferentes en las etapas de crecimiento, siendo la germinación la primera en verse afectada a menor o mayor escala según el tipo de planta.

Las medias de las variables fisiológicas de las semillas se presentan en el Cuadro 8. Se observa que para tratamientos en las variables vigor y germinación, el mayor porcentaje se obtuvo en el testigo, aunque no es estadísticamente diferente a los potenciales osmóticos -0.25, -0.50 y -0.75 MPa; a partir del potencial osmótico -1.0 MPa los porcentajes están por debajo de la media, correspondiendo el valor más bajo para -1.50 MPa.

Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables fisiológicas de las semillas.

Fuentes de variación	GL	V (%)	G (%)	PSP (mg planta ⁻¹)	PSR (mg planta ⁻¹)	GL	LP (mm)	LR (mm)
Tratamientos (Trat)	10	11055.51 **	11273.50 **	1382.52 **	2306.72 **	10	111820.70 **	269660.31 **
Genotipos (Gen)	1	630.54 *	176.72	0.27	777.39 **	1	844.33	18190.51 **
Trat x Gen	10	288.67 *	47.12	15.37 *	113.63 **	10	695.48	5845.99 **
Error	44	123.39	53.57	6.27	14.83	723	1614.06	1400.69
CV (%)		27.64	18.05	22.09	23.12		70.22	23.61

*, **= Significativo al 0.05 y 0.01 de niveles de probabilidad, respectivamente; GL= Grados de libertad; V= Vigor; G= Germinación; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; CV= Coeficiente de variación.

En lo que respecta a los genotipos (Cuadro 8), el híbrido obtuvo el mayor porcentaje de vigor y germinación, en comparación con el criollo, el cual se encuentra por debajo de la media. Lo anterior hace referencia a que si existe influencia de los tratamientos en el vigor y la germinación de la semilla de maíz y que el material híbrido se comporta mejor bajo condiciones de estrés salino, en comparación al genotipo criollo.

En lo correspondiente a la comparación de medias entre tratamientos, para las variables peso seco y longitud de plúmula y de radícula, los mayores valores se obtuvieron en el testigo, correspondiendo al potencial osmótico -1.5 MPa el valor más bajo; en la variable longitud de plúmula, los potenciales osmóticos -0.75, -1.0, -1.25 y -1.50 MPa son estadísticamente iguales. Por otro lado, en la comparación de medias para genotipos, el híbrido presentó los mayores valores para las variables peso seco y longitud de radícula. Lo señalado anteriormente hace referencia al efecto de los tratamientos en la reducción del peso seco y en la longitud de plúmula y de radícula, indicando que entre más negativo es el potencial osmótico, más severo es el efecto. Por otra parte, se observa que el genotipo híbrido tiene un mejor comportamiento bajo estrés salino, lo cual pone en evidencia el trabajo de fitomejoramiento que este ha llevado a cabo, volviéndolo más estable a diferentes ambientes.

En un estudio llevado a cabo por Begum *et al.* (2010), donde evaluaron el efecto de la salinidad en la absorción de agua, la absorción de iones y la eficiencia metabólica de semillas de trigo, indicó que la salinidad retardó y disminuyó el porcentaje de germinación a través de la menor absorción de agua y mayor acumulación de sodio y cloro.

Por su parte, Méndez *et al.* (2011), realizaron un estudio en donde el objetivo fue evaluar el efecto de cinco potenciales osmóticos, creados con sulfato de sodio en la germinación y crecimiento de plántulas de híbridos de maíz, encontraron que la altura de las plántulas se redujo en -0.6 y -0.9 MPa, la biomasa seca del vástago y de la raíz, número de hojas y longitud radicular decrecieron con la disminución del potencial osmótico.

Cuadro 8. Medias de los caracteres fisiológicos de la semilla en el estudio de salinidad en laboratorio.

Factores	V (%)	G (%)	PSP (mg planta ⁻¹)	PSR (mg planta ⁻¹)	LP (mm)	LR (mm)
<u>Tratamientos (MPa)</u>						
Testigo	96.00 a	97.33 a	46.40 a	56.13 a	126.07 A	223.58 a
-0.25	96.67 a	96.00 a	28.88 b	42.01 b	73.76 B	217.15 a
-0.50	89.33 a	90.66 a	21.73 c	31.81 c	49.66 Bc	171.74 b
-0.75	84.67 a	84.66 a	12.97 d	24.27 c	28.52 cd	149.99 b
-1.00	44.00 b	46.00 b	7.95 e	15.73 d	23.35 cd	111.38 c
-1.25	20.67 c	25.33 c	4.66 ef	11.31 d	19.45 cd	75.69 d
-1.50	10.67 c	6.00 d	2.08 f	1.94 e	25.63 cd	13.37 e
Media	40.18	40.54	11.33	16.65	57.20	158.46
Tukey ($\alpha= 0.05$)	21.67	14.33	4.90	7.54	37.66	35.08
<u>Genotipos</u>						
Criollo	37.09 b	38.90	11.27	13.22 b	56.17	134.37 b
Híbrido	43.27 a	42.18	11.40	20.08 a	58.29	183.81 a
Media	40.18	40.54	22.11	35.75	57.20	158.46
Tukey ($\alpha= 0.05$)	5.51	3.63	1.24	1.91	5.78	5.39

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$); V= Vigor; G= Germinación; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula.

Dadar *et al.* (2014), efectuaron un estudio donde se evaluó el efectos del estrés salino sobre índices de germinación de semillas de sorgo, incluyeron cinco niveles de salinidad (0, 3, 6, 9, y 12 dS/m⁻¹); los resultados mostraron que con el aumento de los niveles de salinidad, todos los parámetros medidos incluyendo el porcentaje de germinación, tasa de germinación, la longitud y peso de radícula y de plúmula disminuyeron. Ambos estudios concuerdan con los resultados encontrados en este estudio, donde todas la variables evaluadas disminuyeron según disminuían los potenciales osmóticos; a partir de -1.0 MPa (17.47 dS/m) el porcentaje de germinación y vigor se redujeron por debajo del 50 %.

Bazzigalupi *et al.* (2008) mencionan que la mayor parte de las plantas son más sensibles a la salinidad durante la germinación y emergencia, que durante los estadios de crecimiento y desarrollo posteriores. Las sales actúan en forma tóxica antes que como estímulo de la germinación de la semilla, la acción tóxica puede superar al efecto producido sobre la presión osmótica; además, al bajar los potenciales hídricos en el suelo, las sales bajan la tasa y la germinación total.

La tolerancia a la salinidad de las semillas en su germinación es una medida de la habilidad de éstas para soportar los efectos de altas concentraciones de sales solubles en el medio. La presencia de sales en el medio disminuye el potencial hídrico, provocando una menor disponibilidad de agua para las semillas, de manera que éstas deben generar suficiente potencial osmótico para mejorar el estatus hídrico de los embriones y permitir su crecimiento. La tolerancia a salinidad en la germinación de muchas especies no está consistentemente relacionada a la tolerancia durante la emergencia, crecimiento vegetativo, floración y fructificación; así, por ejemplo, cebada y algodón, cultivos tipificados como de alta tolerancia a las sales, son relativamente sensibles durante la germinación y en el estado de plántula, otras especies como el maíz, arvejas y habas son más sensibles durante estados más avanzados de desarrollo (Cortés y Saavedra, 2007).

En plantas sensibles y no sensibles a la salinidad, se reduce el número total de semillas germinadas y pospone el inicio de los procesos de germinación; sin embargo, dentro de cada grupo las respuestas son variables; la salinidad afecta la germinación de semillas mediante la reducción del potencial osmótico de la solución del suelo, suficientemente para retardar la absorción de agua por las semillas, por la toxicidad en el embrión, o por alteración de la síntesis de proteína. Los efectos de la salinidad varían dependiendo del estadio de crecimiento y de la duración del estrés. En algunas especies, la tolerancia a la salinidad en la germinación es independiente de la tolerancia a la salinidad en la emergencia, crecimiento vegetativo, floración y fructificación (Garibay *et al.*, 2009).

Los porcentajes de germinación y vigor se presentan en las Figuras 1 y 2 respectivamente. Se puede apreciar en la Figura 1 el comportamiento de los genotipos en relación a los tratamientos, donde se observa una tendencia a la reducción de la germinación, conforme disminuyen los potenciales osmóticos; hasta el potencial osmótico -1.25 MPa el criollo presenta porcentajes inferiores al híbrido, pero en el potencial osmótico -1.50 MPa esta tendencia cambia y es el genotipo criollo el que presenta el porcentaje de germinación superior al híbrido. Esto indica que, aunque el híbrido es un material mejorado, soporta hasta ciertos niveles de salinidad y aunque el criollo presenta porcentajes de germinación bajo, es más tolerante a niveles elevados de salinidad. Esta misma tendencia se observa en la Figura 2 en la variable vigor.

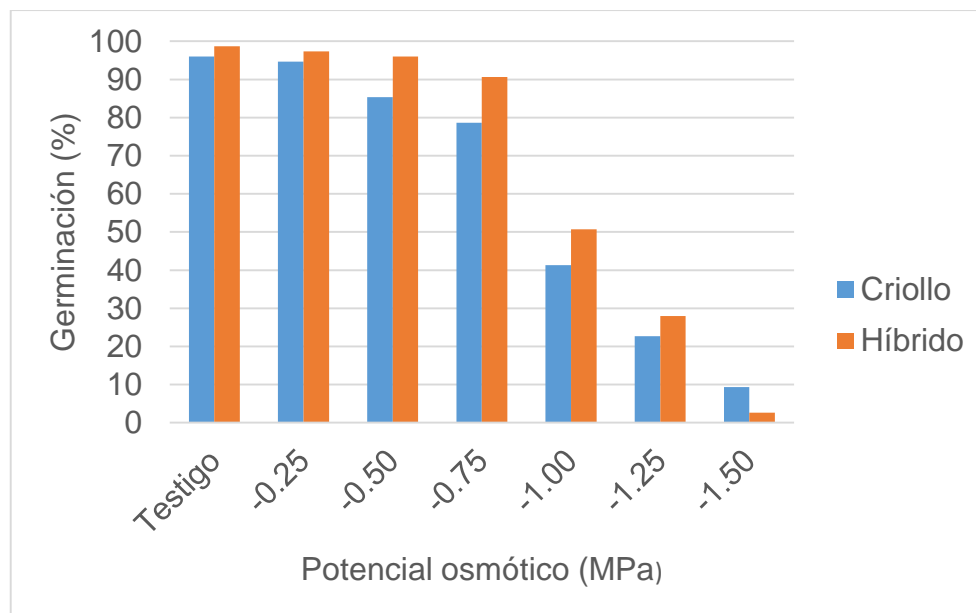


Figura 1. Porcentaje de germinación para cada genotipo en los diferentes tratamientos.

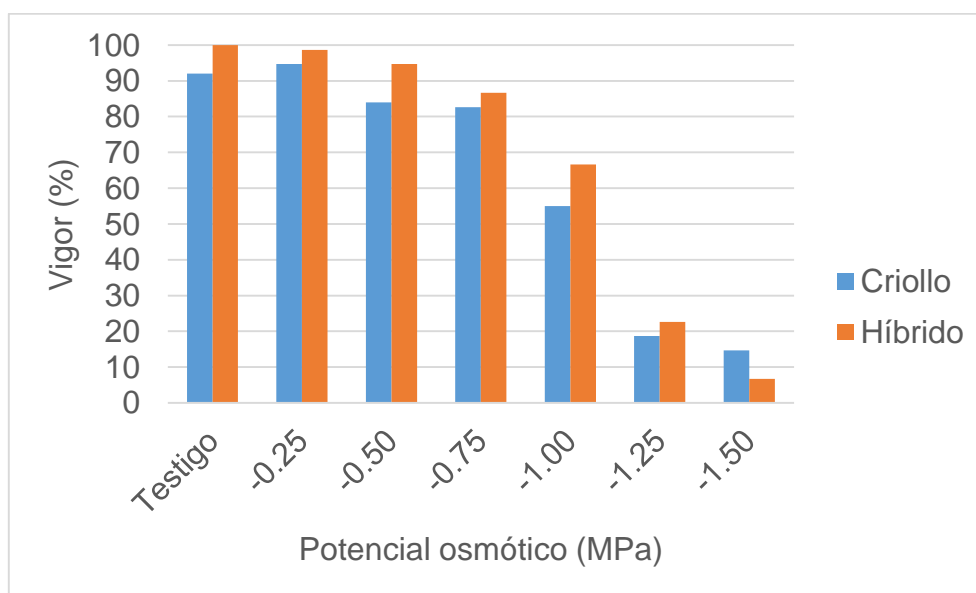


Figura 2. Porcentaje de vigor para cada genotipo en los diferentes tratamientos.

CONCLUSIONES

La salinidad afecta la respuesta fotosintética de los materiales genéticos evaluados (criollo e híbrido), la asimilación de CO₂ se reduce significativamente entre tratamientos (potenciales osmóticos), genotipos y muestreos (hojas), siendo -3.0 MPa el potencial osmótico que resulta ser más severo en todas las variables evaluadas.

La altura de planta y peso seco (vástago y raíz) se vieron afectadas por la salinidad, mostrando diferencias significativas entre tratamientos. Se observó que en potenciales osmóticos más negativos hubo reducción en los valores de estas variables, siendo el tratamientos con -3.0 MPa el que presentó los valores más bajos. Entre genotipos, las variables agronómicas que tuvieron efecto significativo por salinidad fueron peso seco de vástago y de raíz, siendo el híbrido el que presentó un mejor comportamiento, superando al material criollo en un 79 % para peso seco de raíz y en un 25 % para peso seco de vástago.

Los procesos fisiológicos de germinación y vigor, en las semillas de los genotipos evaluados, se vieron limitados por la salinidad. Tanto el híbrido como criollo, presentaron porcentajes de germinación y vigor superior al 80 % hasta potenciales osmóticos de -0.75 MPa, a partir de este potencial osmótico los valores se reducen por debajo del 50%. Entre genotipos, se presentaron diferencias en vigor, peso seco y longitud de radícula, siendo el híbrido el que tuvo mejor comportamiento.

Con los resultados obtenidos en este estudio se puede aceptar la hipótesis de que la salinidad afecta la fisiología de la germinación de la semilla, así como la capacidad de asimilación de CO₂ en los genotipos de maíz estudiados.

LITERATURA CITADA

- Akram, M., M. Yasin, R. Ahmad, E. Ahmed, J. Iqbal and M. Mohsan. 2010. Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pak. J. Bot.* 42(1): 141-154.
- Argentel, L., L. González, R. López e I. Fonseca. 2013. Efectos de la salinidad en las variables hídricas, potenciales hídrico y osmótico y ajuste osmótico en cultivares cubanos de trigo (*Triticum aestivum* L. y *T. durum* L.). *Cultivos Tropicales* 34(4):43-48.
- Argentel, L. y M. González. 2006. Respuesta interespecífica a la salinidad en dos especies del género *Triticum*. *Cultivos Tropicales* 27(2):51-52.
- Basurto, M., A. Nuñez, R. Pérez y O. Hernández. 2008. Fisiología del estrés ambiental en plantas. *Synthesis* 48(3):1-6.
- Bazzigalupi, O., S. Pistorale y A. Andrés. 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). *Ciencia e investigación agraria* 35(3):277-285.
- Begum, F., I. Ahmed, A. Nessa and W. Sultana. 2010. The effect of salinity on seed quality of wheat. *J. Bangladesh Agril. Univ.* 8(1):19–22.
- Benderradji, L., F. Brini, S. Ben Amar, K. Kellou, J. Azaza, K. Masmoudi, H. Bouzerzour and M. Hanin. 2011. Sodium transport in the seedlings of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes showing contrasting salt stress tolerance. *Australian Journal of Crop Science* 5(3):233-241
- Carpici, E., N. Celik and G. Bayram. 2009. Effects of salt stress on germination of some maize (*Zea mays* L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology* 8(19):4918-4922
- Casierra, F., G. Eberf y P. Lüdders. 2000. Efecto de la salinidad por cloruro de sodio sobre el balance de nutrientes en plantas de lulo (*Solanum quitoense* L.). *Agronomía Colombiana* 17:85-90.
- Chaves, M., J. Flexa and C. Pinheiro. 2008. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*. doi: 10.1093/aob/mcn125
- Chávez, L., A. Álvarez, Y. Camejo, R. Ramírez y D. Batista. 2012. Efecto del estrés salino en la absorción de agua por las semillas y el crecimiento en plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Granma Ciencia* 16(1):1-10.

- Chávez, L. y L. M. González. 2009. Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. *Producción Vegetal*. ITEA. 105(4):231-256.
- Cortés, V., P. Alanoca y M. Calle. 2014. Efecto de la salinidad sobre la germinación y crecimiento vegetativo de plantas de tomate silvestres y cultivadas. *Interciencia* 37(7):511-517.
- Cortés, V. y G. Saavedra. 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *IDESIA* 23(3):47-58.
- Dadar, A., A. Asgharzaded y M. Nazaric. 2014. Investigation effects of different salinity levels on sorghum bicolor seed germination characters. *Indian J.Sci.Res.* 7(1):1031-1034.
- Escalante. L., R. Trejo, O. Esquivel, J. Arreola y A. Flores. 2008. Comparación de tasas fotosintéticas en algunas plantas cultivadas y malezas. *Revista Chapingo, Serie Zonas Áridas* 7:165-172.
- Flowers, T. 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* 55(396):307-319.
- Franca, B., L. De Sa Ribeiros and C. Aragao. 2007. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes* 29(2):106-110.
- Food and Agricultural Organization. 2002. Global Network on integrated soil management for sustainable use of Salt effected soils. FAO, Rome.
- Garibay, A., E. Troyo, J. García, B. Murillo, F. Higinio and E. Pimienta. 2009. Efecto del estrés hídrico edáfico en emergencia y desarrollo de plántula en las especies de chile *Capsicum frutescens* L. y *Capsicum annuum* L. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10:405-413.
- Gil, J., R. Rodríguez, D. Jasso y A. Zermeño. 2006. Resistencia estomática, transpiración y potencial hídrico en sábila con diferentes condiciones ambientales. *TERRA Latinoamericana* 24(3):355-365.
- González, S. 2009. Germinación de diferentes cultivos en condiciones de salinidad cuantitativa y cualitativa. Tesis de Grado Doctoral. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Texcoco, México.
- International Seed Testing Association. ISTA. 2009. International Rules for Seed Testing. Chapter 5: The germination test. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.

- Lamz, A. y M. C. González. 2013. La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales* 34(4):31-42.
- Layne, J., J. R. Méndez, y J. Mayz. 2008. Efecto de la salinidad y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 11(1):17-25.
- Leidi, E. y J. Pardo. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino: qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias* 2(2):69-90.
- Lesmes, R., A. Molano, D. Miranda y B. Chaves. 2007. Evaluación de concentraciones de sal (NaCl) en el agua de riego sobre el crecimiento de lechuga 'Batavia' (*Lactuca sativa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(2):222-235.
- Maathuis, F. 2014. Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany* 65(3):849–858.
- Martínez, N., C. López, M. Basurto, y R. Pérez. 2011. Efectos por salinidad en el desarrollo vegetativo. *Tecnociencia Chihuahua* 5(3):156-161.
- Mediavilla, G. y A. Escudero. 2008. Limitaciones estomáticas y mesofílicas de la fotosíntesis en plántulas y árboles maduros de *Quercus faginea*. *Sociedad Española de Ciencias Forestales* 28:291-296.
- Méndez, J., F. Ybarra y J. Merazo. 2011. Germinación y desarrollo de plántulas de tres híbridos de maíz (*Zea mays* L.) bajo soluciones osmóticas. II. Na₂SO₄. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 28(1):421-433.
- Méndez, J. y J. Merazo. 1997. Efecto de la salinidad sobre la germinación de semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. *SABER* 9(1):54-61.
- Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *The Annual Review of Plant Biology* 59(6):51-81.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25:239–250.
- Nicasio, S., E. Sánchez, A. Orozco y A. Gamboa. 2011. Efecto del precondicionamiento y el sustrato salino en la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*) raza chalqueño. *Agrociencia* 45(2):195-205.

- Ojeda, M. y R. Pire. 2011. Efecto de la salinidad en dos portainjertos de vid cultivados a pie franco o injertados. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(1):43 – 52.
- Parés, J., M. Arizaleta, M. Sanabria y G. García. 2008. Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomático y el grosor foliar en plantas de *Carica papaya* L. *Acta Botánica Venezolana* 31(1):27-34.
- Poljakoff, M. A. and H J. Lerner. 1994. Plants in saline environments. In: *Handbook of plant and crop stress*. M. Pessarakli (Ed). New York. USA. pp. 65-96.
- Ramírez, L. 2010. Tolerancia a salinidad de *Persea americana* en cultivo *in vitro*. Tesis de Grado Doctoral. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Texcoco, México.
- Ramos, J., M. Guzmán y J. Castellanos. 2003. Salinidad sódica en el desarrollo vegetativo y reproductivo del pimiento. *TERRA Latinoamericana* 22(2):187-196.
- Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany* 57:1017–1023.
- Rengasamy, P., S. North and A. Smith. 2010. Diagnosis and management in soil and water in the murray irrigation region sodicity & salinity. Ed. Arris Pty Ltd. The University of Adelaide. Australia. 83 p.
- Rodríguez, M., G. Alcántar, A. Aguilar, J. Etchevers y J. Santizó. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *TERRA* 6(2):135-141.
- Roy, S., S. Negrao and M. Tester. 2014. Salt resistant crop plants. *Plant biotechnology* 26:115-124.
- Safi, M., Z. Guoping, J. Bakht, M. Kham, E. Islam, M. Dawood and A. Raziuddin. 2010. Effect of cadmium and salinity stresses on root morphology of wheat. *Pak. J. Bot.* 42(4):2747-2754.
- Sainz, H. y E. Echeverría. 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103(1):37-44.
- Salas, J., M. Sanabria y R. Pire. 2001. Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sometidos a tratamientos salinos. *Bioagro* 13(3):99-104.

- Salisbury, F., and C. Ross. 1978. Plant physiology. Calif Wadsworth Pub. Co. 2da ed. California, USA. 422 p.
- Sandoval, F., J. Arreola, Á. Lagarda, R. Trejo, O. Esquivel y G. García. 2010. Efecto de niveles de NaCl sobre fotosíntesis y conductancia estomática en nogal pecanero (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch). Revista Chapingo, Serie Zonas Áridas 9:135-141.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT ® 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 1521 p.
- Secretaria del Medio ambiente y Recursos Naturales. 2005. Situación del medio ambiente en México. Inventario Nacional de suelos. SEMARNAT, México.
- Shtereva, L., R. Vassilevska and T. Karceva. 2015. Effect of salt stress on some sweet corn (*Zea mays* L. var. *Saccharata*) genotypes. Arch. Biol. Sci., Belgrade. 67(3):993-1000.
- Suárez, E., M. Carrión, R. Leyva, M. Romero, L. Pérez, T. Soriano, N. Castilla y J. Hernández. 2006. Evaluación del SPAD para el asesoramiento del abonado nitrogenado. Actas de Horticultura 60:847-853.
- Tester M. and R. Davenport. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in plants. Ann. Bot. 91:503-527.
- Torabi, M. and R. A. Halim. 2013. Physiological and biochemical responses of plants in saline environment. Roychowdhury, R. (Ed.). Crop Biology and Agriculture in Harsh Environments. Lambert Academic Publishing. pp. 48-80.
- Volkmar, K., Y. Hu and H. Steppuhn. 1997. Physiological responses of plants to salinity: A review. Canadian Journal of Plant Science. doi: 189.156.116.31
- Yan, K., H. Sho, C. Shao, P. Chen, S. Zhao, M. Brestic and X. Chen. 2013. Physiological adaptive mechanisms of plants grown in saline soil and implications for sustainable saline agriculture in coastal zone. Acta Physiologiae Plantarum 35:2867 – 2878.
- Yildiz, M., and H. Terzi. 2013. Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. Journal of Agricultural Sciences 19:78-88.
- Yokoi, S., R. Bressan and P. Hasegawa. 2002. Salt Stress Tolerance of Plants. JIRCAS Working Report 1:25-33.