

Avaca, Federico Martín

Efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre la germinación y el crecimiento vegetativo temprano de Chloris gayana Kunth

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Avaca, F. M. 2015. Efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre la germinación y el crecimiento vegetativo temprano de Chloris gayana Kunth [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en:
<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/efectos-salinidad-alcalinidad-germinacion.pdf> [Fecha de consulta:.....]



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA
ARGENTINA**

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

*“Efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre la germinación y el
crecimiento vegetativo temprano de Chloris gayana Kunth.”*

*Tesis de grado presentada para optar al título de Ingeniero en
producción Agropecuaria en Pontificia Universidad Católica
Argentina.*

Autor: Avaca, Federico Martín

Profesor tutor: García, María Dina

Profesor co-tutor: Pesqueira, Julieta

Fecha: 26 de mayo de 2015

Modalidad: Experimental

Agradecimientos

- ✓ A la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (UNLZ) por permitirme realizar los ensayos experimentales en sus establecimientos.
- ✓ A las Doctoras María Dina García y Julieta Pesqueira por su orientación, supervisión, y disposición para llevar adelante el proyecto.
- ✓ A mi familia y amigos por apoyarme en todo momento a lo largo de la carrera.

Resumen

Los objetivos de este trabajo fueron: i) determinar el efecto de la salinidad y la alcalinidad sobre la germinación final y el tiempo al 50% de germinación (T_{50}) de 4 cultivares de *C. gayana* y ii) estudiar las respuestas de plantas de *C. gayana* cv. Finecut a la salinidad y alcalinidad. Las semillas se incubaron durante 21 días en soluciones que contenían (mM) 0, 100 y 200 de NaCl combinadas con dos niveles de pH: 5,8 y 9,5. Las plantas se cultivaron en soluciones nutritivas que contenían (mM) 0 y 200 de NaCl y dos niveles de pH: 5,8 y 8,5. La combinación 0 mM de NaCl-pH=5,8 se consideró el control en ambos experimentos. La germinación final y el T_{50} de todos los cultivares mostraron valores similares a los del control con 100 mM de NaCl y pH 9,5. Todos los cultivares cuadruplicaron el T_{50} en 200 mM de NaCl respecto del control, excepto Tolgar que sólo lo duplicó. En las mismas condiciones, el incremento del pH de 5,8 a 9,5 incrementó aún más el T_{50} de los cultivares Finecut, Tolgar y Katambora. El cultivo de plantas de *C. gayana* en una solución nutritiva con 200 mM de NaCl indujo la disminución del peso seco del vástago (29 %) y la raíz (49%), del contenido relativo de agua (6%), del contenido de K^+ y Ca^{2+} y de la relación $[K^+] / [Na^+]$ y el aumento de la relación V/R y del contenido de Na^+ y Cl^- , en relación a los valores de las plantas control. En cambio, el incremento del pH de 5,8 a 8,5 solamente indujo el aumento de la MFE (24%) y del contenido de Na^+ del vástago de las plantas cultivadas en las soluciones sin agregado de NaCl. En conclusión, para condiciones similares a las existentes en las zonas marginales de la Cuenca del Salado (10 dSm^{-1} y $pH \geq 8,5$), todos los cultivares de *C. gayana* evaluados mostraron porcentajes de germinación similares al control. La alcalinidad tuvo poco efecto sobre el crecimiento de las plantas de *C. gayana* cv. Finecut, ya sea en ausencia o presencia de NaCl en la solución nutritiva (0 y 200 mM, respectivamente). Por lo tanto, desde el punto de vista de la tolerancia a la alcalinidad, *C. gayana* podría mostrar un nivel de crecimiento adecuado en los suelos salino/alcalinos de la Cuenca del Salado.

INDICE

Resumen	III
1 INTRODUCCION.....	1
2 OBJETIVOS.....	6
3 MATERIALES Y METODOS	6
3.1 Material Vegetal.....	6
3.2 Germinación de <i>C. gayana</i> en condiciones de alcalinidad y salinidad	7
3.2.1 Peso de las semillas	7
3.2.2 Viabilidad de las semillas y efecto del buffer Tris 10 mM sobre la germinación final.	7
3.2.3 Efecto de la salinidad y alcalinidad	8
3.2.3.1 Porcentaje de germinación final	9
3.2.3.2 Tiempo hasta el 50% de germinación (T_{50})	9
3.2.4 Cultivo de plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut en condiciones controladas	10
3.2.4.1 Preparación del sustrato.....	10
3.2.4.2 Obtención de las plántulas y condiciones de cultivo	11
3.2.4.3 Tratamientos y condiciones de cultivo	12
3.3 Determinaciones	13
3.3.1 Cuantificación del peso seco (Ps) y relación vástago-raíz (V/R)	13
3.3.2 Contenido relativo de Agua (CRA) y masa foliar específica (MFE)	14
3.3.3 Contenido de iones.....	14
3.4 Análisis estadístico	15
4 RESULTADOS.....	15
4.1 Germinación de <i>C. gayana</i> en condiciones de alcalinidad y salinidad. .	15
4.1.1 Peso de las semillas	15
4.1.2 Viabilidad de las semillas y efecto de 10 mM de Tris sobre la germinación final.	16
4.1.3 Efectos de la salinidad y la alcalinidad	16
4.1.3.1 Porcentaje de germinación final	16
4.1.3.2 Tiempo hasta el 50% de germinación (T_{50})	18
4.2 Efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut bajo condiciones controladas	212
4.2.1 Peso seco del vástago (PSV), peso seco de la raíz (PSR), y relación peso seco vástago-raíz (V/R)	213
4.2.2 Contenido relativo de agua (CRA) y masa foliar específica (MFE)	223
4.2.3 Contenido de iones.....	234
4.2.3.1 Contenido de Na^+	234
4.2.3.2 Contenido de K^+	245
4.2.3.3 Relación $[K^+]/[Na^+]$	256
4.2.3.4 Contenido de Ca^{2+}	267
4.2.3.5 Relación de los contenidos de Ca^{2+} del vástago y la raíz.....	268

4.2.3.6	Contenido de Cl^-	27
4.2.3.7	Relación de los contenidos de Cl^- del vástago y la raíz	278
5	<i>DISCUSION</i>	289
6	<i>CONCLUSIONES</i>	313
7	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	314

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

ANVA	Análisis de la varianza
°C	Grado centígrado
CE _e	Conductividad eléctrica del extracto de pasta saturado
CRA	Contenido relativo de agua
DDS	Días después de la siembra
DFFF	Densidad de flujo fotónico fotosintético
g	Gramo
h	hora
L	Litro
MFE	Masa Foliar específica
mg	miligramo
ml	mililitro
mM	miliMolar
Pf	Peso fresco
Ps	Peso seco
PSR	Peso seco de la raíz
PSV	Peso seco del vástago
Pt	Peso turgente
T ₅₀	Tiempo hasta el 50% de germinación
Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
PM	Peso molecular

Índice de tablas

Tabla 1. Caracterización de diferentes tipos de suelos afectados por la salinidad y sus niveles de severidad (promedio para 1 m de profundidad del suelo) (adaptado de Wicke <i>et al.</i> , 2011).	Pag 2
Tabla 2. Contenido de NaCl, de Tris(hidroximetil)aminometano (Tris) y pH de las soluciones de imbibición.	Pag 8
Tabla 3. Concentración de sales de la solución nutritiva básica (adaptada de la solución nutritiva N6, Chu <i>et al.</i> , 1978).	Pag 10
Tabla 4. Concentración de macro y micronutrientes de la solución nutritiva básica de crecimiento (adaptada de la solución nutritiva N6, Chu <i>et al.</i> , 1978).	Pag 12
Tabla 5. Contenido de NaCl, pH y Conductividad eléctrica de los tratamientos aplicados a plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut.	Pag 14
Tabla 6. Peso de 1000 semillas de diferentes cultivares de <i>C. gayana</i> . Media $\pm$ EEM.	Pag 16
Tabla 7. Peso seco del vástago (PSV), raíz (PSR) y relación V/R de plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.	Pag 23
Tabla 8. Variación del CRA y la MFE de plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.	Pag 24
Tabla 9. Variación en la relación $[K^+] / [Na^+]$ en vástago y raíz de plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.	Pag 26
Tabla 10. Variaciones de los contenidos Cl^- en el vástago, la raíz, y la relación de concentraciones entre el vástago y la raíz de plantas de <i>C. gayana</i> cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.	Pag 28

Índice de figuras

Figura 1. Suelos afectados por salinidad a nivel global, discriminados por tipo y severidad. Adaptado de Wicke *et al.*, 2011.

Pag 1

Figura 2. Semillas de los cultivares de *C. gayana* utilizados en los experimentos

Pag 6

Figura 3. Plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en hidroponia, bajo 16 h de fotoperiodo.

Pag 12

Figura 4. Efecto del buffer Tris sobre la germinación de diferentes cultivares de *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

Pag 17

Figura 5. Efecto del cultivar (Katambora, Toro, Tolgar y Finecut) sobre el porcentaje final de germinación *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

Pag 18

Figura 6. Efectos del contenido de 0, 100 y 200 mM de NaCl sobre el porcentaje de germinación de diferentes cultivares de *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

Pag 18

Figura 7. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl (0,100 y 200 mM) y pHs (5,8 y 9,5) sobre la evolución diaria de la germinación de diferentes cultivares de *C. gayana* cv. Finecut (A), Toro (B), Tolgar (C) y Katambora (D). Media $\pm$ EEM.

Pag 19-20

Figura 8. Efectos de la concentración de NaCl (0, 100 y 200 mM) y el pH (5,8 y 9,5) sobre el tiempo al 50% de germinación (T_{50}) de semillas de los cultivares de *C. gayana* Finecut (A), Toro (B), Tolgar (C) y Katambora (D). Barras $\pm$ EEM, letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para cada cultivar.

Pag 22

Figura 9. Contenido de Na^+ del vástago y la raíz de plantas de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM

Pag 25

Figura 10. Contenido de K^+ en vástago y raíz de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM.

Pag 26

Figura 11. Variación del contenido de Ca^{2+} en vástago y raíz en de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM.

Pag 27

1 INTRODUCCION

Según la Fao/Unesco se estima que la superficie global afectada por la salinidad y la alcalinidad supera las 900 millones de hectáreas (Wicke *et al.*, 2011). Para el año 2050, se calcula que la producción de alimentos a nivel mundial deberá crecer un 57% para abastecer al mundo. Esto introducirá en el contexto agropecuario un intenso debate por la cantidad de superficie cultivable, al mismo tiempo que la necesidad de un mejor aprovechamiento de los suelos que hoy sufren algún tipo de degradación, ya sea por salinidad/sodicidad y/o por erosión (Mahjoory, 2011).

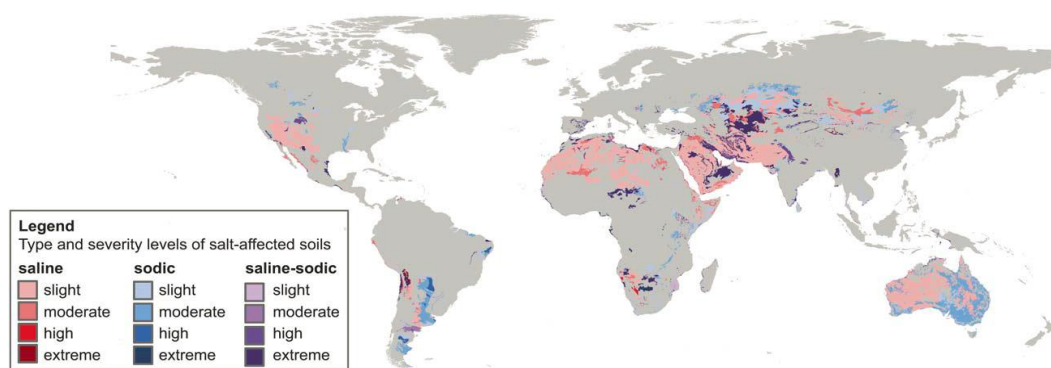


Figura 1. Suelos afectados por salinidad a nivel global, discriminados por tipo y severidad. Adaptado de Wicke *et al.*, 2011.

En Argentina, solamente en la provincia de Buenos Aires, 7 Millones de ha (24% de la superficie de la provincia) están ocupadas por suelos con problemas de hidrohalomorfismo (Miaczynski, 1995). La gran mayoría de estos suelos se ubican en la Cuenca del Salado, donde también existen condiciones de alcalinidad, y su aprovechamiento algunas veces representa todo un desafío (Sanmartino, 2010). Esta región se caracteriza por un relieve llano con pendiente menor a 0,5 % y con sistemas fluviales poco desarrollados (Damario y Pascale, 1988). Dentro de los suelos que predominan en esta cuenca se encuentran los Natracualfes y Natralcuoles típicos, que a nivel provincial totalizan un área de más de 4,7 millones de ha (aproximadamente un 16% de la superficie total). Estos suelos poseen típicamente un horizonte arcilloso, baja permeabilidad y alto contenido de sales sódicas (Miaczynski, 1995). El régimen hídrico regional se caracteriza por un déficit de lluvias en verano y un exceso durante el invierno. Esto, sumado a una pendiente reducida, un desagüe insuficiente y al carácter alcalino-sódico de los suelos (Crescimanno *et al.*, 1995), determina que sea frecuente la alternancia de anegamiento y sequía. Los suelos salinos suelen presentar distintas combinaciones de sales. Los iones más comúnmente encontrados son el Cl^- y los sulfatos de Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . Las sales mencionadas se consideran neutras debido a que no alcalinizan el suelo. Por el contrario, la presencia de carbonato y

bicarbonato de Na^+ causa un incremento del valor del pH de la solución edáfica. “Suelos halomórficos” es el término general para referirse a los suelos formados bajo condiciones de exceso de sales neutras o alcalinas. La sodicidad o alcalinización se desarrolla cuando en la solución del suelo existe una concentración elevada de sales sódicas, de tipo carbonato y bicarbonato de sodio, capaces de sufrir hidrólisis alcalina (Etcheverhere, 1976). La salinidad de la solución del suelo se cuantifica en términos de conductividad eléctrica o de potencial osmótico. Cuanto más alta es la concentración salina, mayor es la conductividad y menor el potencial osmótico. La alcalinización del suelo se produce si el porcentaje de Na^+ intercambiable (PSI, porcentaje de Na^+ respecto a los demás cationes adsorbidos) supera el 15 % (Miaczynski, 1995). Si bien existen diversas clasificaciones de los suelos afectados por sales, comúnmente se acepta la siguiente clasificación: a) suelo salino ($\text{pH} < 8,2$; $\text{PSI} < 15$, $\text{CE}_e > 4 \text{ dSm}^{-1}$), sin carbonatos en el extracto de la pasta del suelo saturado, y b) suelo alcalino ($\text{pH} \geq 8,2$; $\text{PSI} \geq 15$, CE_e variable, frecuentemente $< 4 \text{ dSm}^{-1}$), con presencia de bicarbonato y carbonato de Na^+ en el extracto de la pasta del suelo saturado (Villafañe, 2000). Además, la salinidad y la alcalinidad o sodicidad pueden afectar a los suelos en diversas combinaciones y niveles de severidad (Wicke *et al.*, 2011, Figura 1 y Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de diferentes tipos de suelos afectados por la salinidad y sus niveles de severidad (promedio para 1 m de profundidad del suelo) (adaptado de Wicke *et al.*, 2011).

Tipo de suelo salino	Indicador	Nivel de severidad			
		Leve	Moderado	Alto	Extremo
Sódico	PSI (%)	15 - 20	20 - 30	30 - 40	> 40
	$\text{CE}_e \text{ (dSm}^{-1}\text{)}$	< 4	< 4	< 4	< 4
Salino	PSI (%)	< 15	< 15	< 15	< 15
	$\text{CE}_e \text{ (dSm}^{-1}\text{)}$	2 - 4	4 - 8	8 - 16	> 16
Salino-sódico	PSI (%)	15-20/4-8	15-20/4-16	15-20/ >25	20-30/ >25
	$\text{CE}_e \text{ (dSm}^{-1}\text{)}$		30-40/4-8 30-40/8-16	20-30/ 16-25 40-50/4-8	30-40/ >16 40-50/ >8 >50/ >4

El contenido de sales en los suelos, especialmente cloruro y sulfato de Na^+ ,

afecta el crecimiento de las plantas y modifica sus características morfo-anatómicas y fisiológicas (Kalaji *et al.*, 1993). Tales alteraciones se deben a efectos osmóticos y a desbalances iónicos inducidos por la salinidad (Rodríguez Pérez, 2006; Munns *et al.*, 2008).

En los últimos años se incrementaron los estudios sobre los efectos de la alcalinidad sobre la germinación y el crecimiento de las plantas. La alcalinización y estabilización del pH de la solución nutritiva normalmente se ha logrado mediante el agregado del tampón Tris(hidroximetil)aminometano (lo cual permite independizar completamente el pH de la concentración de sal) (Singh *et al.*, 2002) o mediante la combinación de diferentes proporciones y concentraciones de bicarbonato y carbonato de Na^+ (lo cual genera soluciones con distintos niveles de alcalinidad y salinidad) (Liu *et al.*, 2014). Estas investigaciones, usualmente realizadas con especies poáceas o leguminosas, han mostrado que las sales alcalinas producen un efecto más perjudicial que las sales neutras sobre la germinación y el crecimiento de especies tales como *Medicago sativa*, *Triticum aestivum*, *Oriza sativa*, *Vicia faba* L., *Panicum virgatum*, *Chloris virgata*, entre otras (Li *et al.*, 2010, Guo *et al.*, 2010, Wang *et al.*, 2011, Radi *et al.*, 2012, Liu *et al.*, 2014, Yang *et al.*, 2008). En *Panicum virgatum* (Liu *et al.*, 2014) y *Chloris virgata* (Yang *et al.*, 2008) se comprobó que las sales alcalinas (NaHCO_3 y Na_2CO_3) producen un efecto más negativo que las sales neutras (NaCl y Na_2SO_4) sobre parámetros tales como la germinación, el área foliar y la fotosíntesis neta. Al igual que en *Setaria viridis* (Guo *et al.*, 2011) las sales alcalinas son más perjudiciales que las sales neutras en el porcentaje de germinación, el crecimiento relativo y el contenido de agua, y modifican las actividades iónicas dentro de la planta (disminuye el contenido de K^+ y aumenta el de Na^+).

En condiciones de estrés por salinidad, el mantenimiento de la homeostasis de los iones K^+ y Na^+ es de vital importancia para la célula vegetal. Muchas de las enzimas presentes en el citosol dependen de este equilibrio para mantener el potencial de membrana, muy importante para el transporte de iones (Bartels y Ramanjulu, 2005; Munns, 2002). Un nivel elevado de Na^+ en el suelo limita el suministro de K^+ a las células de la raíz y, a nivel celular, afecta las funciones enzimáticas (Tester y Davenport, 2003; Shi *et al.*, 2003). Algunos de los mecanismos responsables de mantener niveles bajos de Na^+ citoplasmático son la compartimentalización en la vacuola (Munns, 2002), la exclusión del Na^+ a nivel de la raíz, la discriminación eficiente entre Na^+ y K^+ , entre otros (Rodríguez Pérez, 2006). Los transportadores de alta afinidad de K^+ o HKT, presentes en la membrana celular, contribuyen a la absorción del ion Na^+ en suelos salinos y, en presencia de niveles elevados de Na^+ , estos transportadores podrían tener más importancia en el transporte de Na^+ que de K^+ (Rus *et al.*, 2004; Máser *et al.*, 2002; Fu y Luan, 1998).

El Ca^{2+} es un ion importante para la osmoregulación, así como también

cumple funciones estructurales y funcionales, tanto en las membranas como en la pared celular (Kopittke & Menzies, 2005, Grattan and Grieve, 1999). La absorción de Ca^{2+} desde la solución del suelo disminuye en condiciones de salinidad debido a interacciones iónicas, precipitación e incremento de iones que disminuyen la actividad del Ca^{2+} (Grattan and Grieve, 1999).

La masa foliar específica, expresada generalmente en g cm^{-2} , determina la cantidad de biomasa por unidad de área foliar. A nivel de la hoja, junto con el contenido de clorofila determinan la capacidad de intercepción de la luz. El contenido relativo de agua expresa la cantidad de agua que contiene un tejido vegetal en relación al contenido máximo posible para ese tejido (Taiz y Zeiger, 2006). Debido a que la salinidad en primera instancia induce un estrés osmótico, la respuesta de la masa foliar específica y del contenido relativo de agua, es cualitativamente la misma que la inducida en condiciones de estrés hídrico (Taiz y Zeiger, 2006; Munns, 2002). En diferentes especies del género *Brachiaria* (Trin.) se observó que el estrés hídrico normalmente induce una disminución del contenido de agua y de la masa foliar (Guenni *et al.*, 2006). Entre otros factores ambientales que también afectan la MFE se encuentran la irradiancia, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes (Munns, 2002). La disminución del contenido relativo de agua de 100 % a 90 % está relacionada con la reducción de la expansión celular y el cierre del poro estomático de la hoja, mientras que contenidos entre 90 % y 80 % están relacionados con modificaciones en la composición de los tejidos y algunas alteraciones en las tasas relativas de fotosíntesis y respiración (González y González-Vilar, 2001; Soares-Cordeiro *et al.*, 2009).

Chloris gayana Kunth. es una forrajera originaria del este de África, alógama, perenne, la cual posee muchos ecotipos naturales que difieren en gran medida entre sí respecto a un rango de características morfológicas, agronómicas y de calidad nutricional. Esta especie, ampliamente cultivada en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, se implanta fácilmente, produce gran número de semillas y resiste condiciones de sequía y salinidad (Boonman, 1993). Sin embargo, en un estudio que compara *C. gayana* con *Cynodon dactylon*, *Leptochloa fusca*, *Distichlis spicata*, *Paspalum vaginatum* y *Medicago sativa*, la clasifica como tolerante a condiciones de salinidad intermedia (Pasternak *et al.*, 1993). En Argentina, *C. gayana* se introdujo inicialmente en Tucumán y actualmente presenta una amplia distribución en el país debido a su gran adaptación, tanto a climas subtropicales como climas templados, sean éstos semiáridos o subhúmedos (Martín, 2010).

Los cultivares de *C. gayana* se clasifican en dos grandes grupos: diploides y tetraploides (Boonman, 1993). Los cultivares Finecut, Katambora (Loch y Harvey, 1999) y Tolgar son diploides, y el cultivar Toro es tetraploide (Ribotta *et al.* 2013). El cultivar Finecut, desarrollado a partir del cv. Katambora, se destaca por presentar

tolerancia a la salinidad y al anegamiento, por lo que su implantación en ambientes con problemas de hidrohalomorfismo (como es el caso de la Cuenca del Salado) permitiría aumentar considerablemente la productividad de los mismos (Bertello, 2010). Taleisnik *et al.* (1997) encontraron una amplia variabilidad en las respuestas a la salinidad en función de los cultivares de *C. gayana*, así como también en las productividades de cultivares tetraploides. Las reducciones en los rendimientos de estos cultivares bajo un estrés por salinidad se explican por disminuciones de la germinación y del peso seco del tallo y la raíz, y un aumento de la relación vástago/raíz (Céccoli *et al.*, 2011). También se ha informado un mayor número de hojas senescentes, menor área foliar y menos estolones por planta (De Luca *et al.*, 2001).

Los niveles de incremento del Na^+ y disminución del K^+ en los tejidos vegetales en respuesta a la salinidad dependen del genotipo. La presencia de NaCl en la solución del suelo en contacto con las raíces induce un incremento del contenido de Na^+ y una disminución del contenido de K^+ en hojas y raíces, lo cual se traduce en una disminución de la relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$, en comparación con las plantas cultivadas en ausencia de NaCl. La relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$ de las hojas frecuentemente se ha asociado con la tolerancia relativa a la salinidad en genotipos emparentados. Sin embargo, especies o genotipos diferentes muestran distintos grados de asociación entre la tolerancia a la salinidad y la capacidad de mantener un nivel foliar de Na^+ relativamente bajo (Munns y Tester, 2008). La relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$ encontrada en *C. gayana* está dentro de las observadas en monocotiledóneas halófitas (Céccoli *et al.*, 2011).

Si bien existen numerosos estudios sobre los efectos de la salinidad en la germinación y el crecimiento de las plantas, los estudios sobre los efectos de la alcalinidad son mucho más limitados, lo cual podría explicarse por las dificultades prácticas que representa mantener valores altos de pH en el medio en contacto con las raíces (Singh *et al.*, 2002).

Hasta hoy, la mayoría de los estudios para examinar los efectos de la salinidad sobre la germinación de las semillas y el crecimiento vegetativo de *C. gayana* se llevó a cabo con sales individuales neutras (especialmente NaCl) (Keiffer y Ungar, 1997; Khan *et al.*, 2000; Taleisnik *et al.*, 1997). Por lo tanto, hay poca información sobre el efecto de la alcalinidad sobre la germinación de las semillas y el crecimiento y desarrollo de plantas de *C. gayana*. Evaluar la respuesta de *C. gayana* a condiciones de salinidad y alcalinidad en los estadios de germinación y crecimiento vegetativo temprano aportaría información útil para discriminar genotipos potencialmente útiles como fuente de forrajes para la región.

2 OBJETIVOS

- **Objetivo general:** Estudiar los efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre la germinación y el crecimiento vegetativo temprano de *Chloris gayana* Kunth.
- **Objetivos específicos:**

I. Determinar el porcentaje de germinación final y el tiempo hasta el 50% de germinación (T_{50}) de semillas de diferentes cultivares de *Chloris gayana* Kunth. en condiciones de salinidad y alcalinidad.

II. Evaluar los efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre el crecimiento, el desarrollo, el contenido relativo de agua, el contenido de cationes (K^+ , Na^+ y Ca^{2+}) y del anión Cl^- de plantas de *Chloris gayana* Kunth. cv. Finecut cultivadas bajo condiciones controladas.

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Material Vegetal

En los dos experimentos realizados se utilizó semilla comercial de *C. gayana*, la cual está compuesta por unidades de dispersión que comprenden el cariopse encerrado en (de adentro hacia afuera) las glumelas, las glumas y una cubierta agregada por la empresa que la comercializa. De aquí en adelante las unidades de dispersión se denominarán semillas.

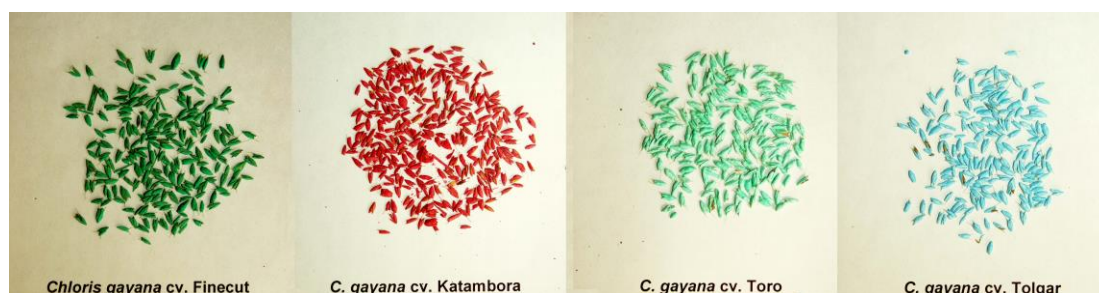


Figura 2. Semillas de los cultivares de *C. gayana* utilizados en los experimentos.

Las semillas del cv. Finecut se obtuvieron de la empresa “Oscar Peman &

Asociados S.A.” cosecha del año 2009, mientras que las de los cvs. Katambora, Tolgar y Toro se obtuvieron de la compañía “Premium Seeds-Agri & Turf Solutions” de cosecha 2011 (Figura 2). Las semillas se conservaron en bolsas de polietileno en heladera a 4°C hasta su utilización.

Para evaluar los efectos de la salinidad y alcalinidad sobre la germinación de *C. gayana* (objetivo 1) se utilizaron semillas de tres cultivares diploides (Katambora, Finecut, Tolgar) y uno tetraploide (Toro) de *C. gayana*. La evaluación de los efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre el crecimiento y desarrollo de *C. gayana* (objetivo 2) se realizó en plantas del cv. Finecut.

3.2 Germinación de *C. gayana* en condiciones de alcalinidad y salinidad

3.2.1 Peso de las semillas

Para determinar el peso de las semillas se pesaron 6 repeticiones de 100 semillas de cada cultivar. Los valores obtenidos se multiplicaron por el factor 10 para lograr el peso de mil semillas (P1000).

3.2.2 Viabilidad de las semillas y efecto del buffer Tris 10 mM sobre la germinación final.

Semillas de los cuatro cultivares de *C. gayana* se incubaron en una cámara de cultivo durante 10 días bajo un fotoperiodo de 12 h. Las semillas (0,1 g por caja para todos los cultivares y 6 repeticiones por tratamiento) se hidrataron con 2 ml de agua destilada (Control) o solución 10 mM del buffer Tris(hidroximetil)aminometano (Tris). El pH del agua y la solución 10 mM de Tris se ajustó a 5,8 utilizando HNO₃ o KOH. Diariamente se registraron las semillas germinadas, las temperaturas (media $\pm$ EEM, en °C) máxima ($25,7 \pm 0,26$) y mínima ($24,3 \pm 0,23$), y cada 48 h se reemplazaron tanto la solución de Tris como el agua.

Las semillas germinadas (aquellas que mostraban una radícula ≥ 2 mm longitud) se contaron y descartaron diariamente hasta los 10 días después de la siembra (DDS). Con el fin de evaluar el nivel de dormición (semillas viables no germinadas), se determinó la viabilidad de las semillas incubadas en agua que no habían germinado al final del experimento. Para esto se utilizó cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1% en solución buffer. El buffer fosfato utilizado para disolver la

sal de tetrazolio fue constituido a partir de la mezcla en proporción 2:3 de dos soluciones que llamamos A y B. La solución A, una dilución de 9,078 g de KH_2PO_4 en 1000 ml de agua destilada, y la solución B una dilución de 11,876 g de Na_2HPO_4 en 1000ml de agua destilada. Las mismas se mezclaron según las proporciones mencionadas anteriormente y luego a 100 ml de solución buffer se le agregó 1g de sal de tetrazolio para obtener la solución al 1% (Peretti, 1994; ISTA, 2007). Las semillas sin germinar de cada cultivar se enjuagaron 3 veces con agua destilada y se colocaron en cajas de Petri limpias con doble papel de filtro. Luego se separaron las semillas vanas de las que poseían cariopse desarrollado. Las últimas se incubaron en agua destilada bajo las mismas condiciones de temperatura y fotoperiodo durante otros 7 días. Luego se retiró el exceso de agua de las cajas, se agregaron 5 ml de solución de tetrazolio por caja de Petri y se incubaron 4 horas a 30°C. Luego se clasificaron como semillas viables o no viables tomando como criterio positivo que $\frac{3}{4}$ partes del embrión estuviera teñido de rojo. La viabilidad final se determinó mediante la suma de las semillas germinadas y remanentes viables.

3.2.3 Efecto de la salinidad y la alcalinidad

Para determinar los efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre diferentes cultivares de *C. gayana* se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado (DCA) de 3 niveles de NaCl (0, 100 y 200 mM), dos niveles de pH (5,8 y 9,5) y 4 cultivares (Finecut, Katambora, Tolgar y Toro) con seis repeticiones. El tratamiento 0 mM de NaCl y pH 5,8 se consideró el control. Las semillas se colocaron sobre dos discos de papel de filtro en cajas de Petri y se embebieron con 5 ml del tratamiento correspondiente (Tabla 2). El pH se ajustó con soluciones de HNO_3 o KOH.

Tabla 2. Contenido de NaCl, de Tris(hidroximetil)aminometano (Tris) y pH en las soluciones de imbibición.

Tratamientos	NaCl (mM)	NaCl (g L ⁻¹)	Tris (mM)	pH
NaCl 0 - pH=5,8 (Control)	0	0	10	5,8
NaCl 0 - pH=9,5	0	0	10	9,5
NaCl 100 - pH=5,8	100	5,85	10	5,8
NaCl 100 - pH=9,5	100	5,85	10	9,5
NaCl 200 - pH=5,8	200	11,7	10	5,8
NaCl 200 - pH=9,5	200	11,7	10	9,5

Durante el transcurso del experimento (21 días desde el comienzo de la imbibición), las semillas se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 12 h y temperaturas máxima (a la luz) y mínima (en oscuridad), al nivel de las cajas de Petri, de $26,6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,24$ y $24,2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,23$, respectivamente.

Las soluciones de imbibición se reemplazaron por solución fresca a las 24 h del comienzo de la imbibición y luego cada 48 h. Las cajas de Petri se cubrieron con polietileno transparente para evitar la evaporación. Diariamente se contaron y extrajeron las semillas germinadas (aquellas que mostraban una radícula ≥ 2 mm de longitud).

3.2.3.1 Porcentaje de germinación final

El porcentaje de germinación final se calculó el día 21 después del comienzo de la imbibición mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de germinación final} = (\text{NSGT}_i / \text{NSGA}_i) \times 100$$

Donde,

NSGT_i = Número de semillas del cultivar i germinadas en un tratamiento

NSGA_i = Número de semillas del cultivar i germinadas en el control

3.2.3.2 Tiempo hasta el 50% de germinación (T_{50})

Para determinar el T_{50} de cada cultivar se utilizó el modelo de regresión no lineal. Este modelo estadístico trabaja con curvas de tipo sigmoideas. Debido a que la germinación no fue lineal para cada tratamiento, se consideró que este modelo tendría un ajuste más preciso. Dentro de los modelos posibles en el programa estadístico Infostat, se utilizó el de Gompertz.

El modelo utilizado en esta función fue:

$$\text{Modelo Germinación} = \alpha * \exp(-\beta * \exp(-\gamma * \text{Día}))$$

Para determinar el T_{50} de la población se utilizaron los datos de salida (α , β , y γ) de cada repetición y se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Tiempo medio de germinación (T}_{50}) = +((\ln(\beta) - \ln(\ln(\alpha/50))) / \gamma$$

Donde, T₅₀ es el tiempo (en días) de germinación en el que germinaron el 50% de las semillas de *C. gayana* en cada tratamiento.

3.2.4 Cultivo de plantas de *C. gayana* cv. Finecut en condiciones controladas

3.2.4.1 Preparación del sustrato

El sustrato, mezcla de perlita-vermiculita (3:1), se lavó con agua corriente durante 30 minutos, se trató con 15 mM de Ca(NO₃)₂ durante 2 horas, se enjuagó 2 veces con agua destilada y se sumergió durante otras 2 horas en la solución nutritiva básica (Tabla 3) al 10%.

Tabla 3. Concentración de sales de la solución nutritiva básica (adaptada de la solución nutritiva N6, Chu *et al.*, 1978).

Macronutrientes	mg L ⁻¹	mM
MgSO ₄ 7H ₂ O	185	0,751
KH ₂ PO ₄	400	3,476
KNO ₃	707,5	6,997
(NO ₃) ₂ Ca 4H ₂ O	1000	4,234
(NH ₄) ₂ SO ₄	463	3,505
Micronutrientes		
H ₃ BO ₃	1,6	0,02
MnSO ₄ H ₂ O	3,3	0,02
ZnSO ₄ 7H ₂ O	1,5	0,02
KI	0,8	0,02
FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	0,1
Na ₂ EDTA	37,3	0,1
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,1	4,1 x 10 ⁻⁴
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,1	4,0 x 10 ⁻⁴

Cl ₂ Ca 2H ₂ O	20	0,136
Sodio		
Na ₂ HPO ₄	70,98	0,5

3.2.4.2 Obtención de las plántulas y condiciones de cultivo

Previo a la siembra, las semillas de *C. gayana* cv. Finecut se sumergieron en una solución que contenía 2 mmol L⁻¹ de KCl y 1 mmol L⁻¹ de CaCl₂ y se mantuvieron sobre un agitador orbital durante 4 horas. Luego se enjuagaron dos veces con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Las semillas se sembraron en macetas de plástico de 1 L de volumen rellenas con sustrato. Las macetas se cubrieron con polietileno negro y se mantuvieron en oscuridad a una temperatura de 24 °C ± 1 °C durante 4 días. Desde los 5 días después de la siembra (DDS) hasta los 30 DDS (finalización del experimento) las plantas se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 16 h con una densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) de 300 µmol m⁻² s⁻¹ al nivel superior de las plantas, un promedio de temperaturas (media ± EEM en °C) máxima y mínima de 28,7 ± 1,4 y 21,5 ± 0,32, respectivamente, y la humedad relativa se mantuvo entre el 70 % y 80 % (Figura 3).



Figura 3. Plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en hidroponia, bajo 16 h de fotoperiodo.

A los 5 DDS se realizó un raleo y otro a los 11 DDS. En el primer raleo se dejaron en cada punto de siembra (4 puntos de siembra equidistantes por maceta) 2 plantas lo más parejas posible en cuanto a altura y cantidad de hojas emergidas. En el

segundo raleo se dejaron 4 plantas de 3 a 4 cm de altura por maceta, más o menos equidistantes.

3.2.4.3 Tratamientos y condiciones de cultivo

A los 13 DDS, las plantas con al menos dos hojas emergidas se pasaron a la solución de crecimiento (Tabla 4) y se comenzaron a aplicar los tratamientos. El diseño experimental consistió en un factorial completamente aleatorizado (DCA) de dos niveles de NaCl (0 y 200 mM) y 2 niveles de pH (5,8 y 8,5), con seis repeticiones. La solución 0 mM de NaCl y pH = 5,8 se consideró el control. La concentración final de NaCl se alcanzó en cuatro etapas (50 mM, 100 mM, 150 mM y 200 mM los días 13, 15, 17 y 19 DDS, respectivamente).

Tabla 4. Concentración de macro y micronutrientes de la solución nutritiva básica de crecimiento (adaptada de la solución nutritiva N6, Chu *et al.*, 1978).

Macronutrientes	mg L ⁻¹	mM	P.M (g)
N (Nitrato de potasio)	100,22	7,15	14,01
N (Nitrato de calcio)	118,63	8,47	14,01
N (Amonio)	98,22	7,01	14,01
P	91,15	2,94	30,97
S	48,1	1,50	32,066
K	297,36	7,61	39,09
Mg	18,25	0,75	24,30
Ca (del CaCl)	5,44	0,14	40,08
Ca (del Ca(NO ₃) ₂)	169,68	4,23	40,08
Micronutrientes			
Cl (del ClCa)	9,66	0,24	40,08
Cl (del ClCo ₆ H ₂ O)	0,0075	0,0002	40,08
Fe	5,6	0,10	55,85
B	0,28	0,03	10,81
Mn	1,07	0,02	54,94
Zn	0,34	0,01	65,39
I	0,612	0,00	126,90
Cu	0,025	0,00	63,55
Mo	0,02	0,00	95,94

Na (del NaEDTA)	4,6	0,20	22,99
Na (del Na ₂ HPO ₄)	22,99	1,00	22,99

La solución de crecimiento control (Tabla 5) estaba compuesta por la solución nutritiva básica (N6 modificada, tablas 3 y 4) pero con la concentración de los macronutrientes reducida al 25 %, los micronutrientes al 50 % (excepto el Fe que se mantuvo al 100%) y 5 mM de Tris. La concentración de Na⁺ en el tratamiento control fue de 1,2 mmol L⁻¹ debido al agregado de 0,5 mmol L⁻¹ de Na₂HPO₄ y a la presencia de 0,1 mmol L⁻¹ de Na₂EDTA en la solución nutritiva. El Na₂HPO₄ se agregó para cubrir los requerimientos mínimos de Na⁺ de las plantas, ya que *C. gayana* es una especie con metabolismo fotosintético C4, en la cual el Na⁺ cumple una función metabólica crítica. El pH se ajustó a 5,8 con soluciones de HNO₃ o KOH. La salinidad de los tratamientos se obtuvo mediante el agregado de NaCl. En todos los tratamientos se mantuvo la concentración 10 mM de Tris desde el comienzo del experimento hasta la cosecha. Las plantas se pulverizaron diariamente con FeSO₄ (0,2 %) y ZnSO₄ (0,1 %) para evitar deficiencias de estos nutrientes. El recambio de solución se realizó cada 3 o 4 días. El pH de las soluciones se ajustó con KNO₃ o KOH en el momento de la preparación de las mismas. Para evaluar si la presencia de 10 mmol L⁻¹ de Tris en la solución de cultivo afectó las plantas, un grupo de plantas se mantuvo en la solución nutritiva de crecimiento sin Tris y con un pH 5,8 (Tabla 5).

Tabla 5. Contenido de NaCl, pH y conductividad de los tratamientos aplicados a plantas de *C. gayana* cv. Finecut.

Tratamiento	NaCl (mM)	pH	Conductividad (dS m ⁻¹)
Control sin Tris	1,20	5,8 ± 0,05	0,83 ± 0,10
Control	1,20	5,8 ± 0,05	1,15 ± 0,10
Alcalinidad	1,20	8,5 ± 0,20	0,80 ± 0,05
Salinidad	200,00	5,8 ± 0,05	10,30 ± 0,30
Alcalinidad + Salinidad	200,00	8,5 ± 0,20	10,10 ± 0,90

3.3 Determinaciones

3.3.1 Cuantificación del peso seco y relación vástago-raíz (V/R)

A los 30 DDS, las plantas intactas se removieron de las macetas. Las raíces se lavaron para eliminar restos del sustrato, se separaron de los vástagos y se registró el peso fresco (mg) de ambas partes. Posteriormente, las raíces y los vástagos, por

separado, se secaron en estufa a 70 °C hasta peso constante, para tomar el peso seco. La relación vástago/raíz, surgió del cociente de ambos valores.

3.3.2 Contenido Relativo de Agua (CRA) y Masa Foliar Específica (MFE)

El día de la cosecha se cortaron 3 círculos de la quinta hoja (o de la última hoja totalmente expandida) de cada planta, se tomó el peso fresco (Pf) y, a continuación, se sumergieron en agua destilada y se mantuvieron a 25°C y baja intensidad de luz durante 6 horas, transcurridas las cuales se pesaron nuevamente para determinar el peso turgente (Pt). Después se llevaron a estufa a 70°C hasta peso constante para determinar el peso seco (Ps). Todas las unidades de peso se midieron en mg. El contenido relativo de agua (CRA) medido en porcentaje se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CRA} = (\text{Pf} - \text{Ps} / \text{Pt} - \text{Ps}) \times 100$$

Para calcular la masa foliar específica (MFE) se cortaron 3 círculos (de superficie conocida, medida en cm²) de la quinta hoja (o de la última hoja totalmente expandida) y se llevaron a estufa a 70 °C hasta peso constante para determinar el peso seco (Ps), medido en mg. La masa foliar específica (MFE) se calculó mediante la siguiente formula:

$$\text{MFE} = \text{Masa Foliar} / \text{Superficie Foliar}$$

3.3.3 Contenido de iones

Para la determinación de las concentraciones iónicas (Na⁺, K⁺ y Ca²⁺), expresadas en mg g⁻¹ de peso seco, se digirieron 50 mg del material seco y molido con 5 ml de HCl 0,1 N en un baño térmico a 60 °C durante 2 horas. Luego de enfriados a temperatura ambiente, los tubos se centrifugaron por 5 minutos a 10.000 rpm. El sobrenadante se recuperó en tubos Eppendorf y se mantuvo refrigerado en heladera hasta el momento de la determinación. Las concentraciones de Na⁺ y K⁺ se

determinaron en un fotómetro de llama (Metrolab 315) y las de Ca^{2+} en un espectrofotómetro de absorción atómica (marca Metrolab, modelo AA250). Los valores obtenidos se interpolaron en curvas de calibración, correspondientes a cada elemento.

Para la extracción de los cloruros (Cl^-) se agregaron 100 mg de materia seca y molida, 1 ml de peróxido de hidrógeno 30% (100 volúmenes), 1 ml de HNO_3 concentrado y una gota de alcohol isoamílico en tubos pírex con tapa a rosca. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego cada muestra se diluyó con agua destilada hasta alcanzar un volumen de 10 ml y se centrifugó durante 10 minutos a 10.000 rpm. El sobrenadante se recuperó en tubos de plástico y se mantuvo a -16°C hasta el momento de la medición.

Una alícuota de 1 ml de cada muestra se analizó colorimétricamente por el método del tiocianato de mercurio (II). En este método, un complejo del tiocianato férrico rojo-amarillento se forma cuando los iones cloruro son secuestrados por los iones mercurio del tiocianato de mercurio en presencia de nitrato férrico en exceso. El color se midió mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 480 nm y los valores obtenidos se interpolaron en una curva de calibración. Todo el material de vidrio utilizado para la preparación de las muestras y las soluciones estándares se lavó previamente con ácido nítrico al 10% y se enjuagó con agua destilada.

3.4 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con el programa estadístico InfoStat (DiRenzo *et al.*, 2008). Los resultados se analizaron mediante el análisis de la varianza (ANVA) y cuando éste mostró diferencias significativas las medias se separaron mediante la prueba de LSD Fisher ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Germinación de *C. gayana* en condiciones de alcalinidad y salinidad.

4.1.1 Peso de las semillas

Las semillas del cv. Finecut fueron las más livianas, las del cv. Toro fueron las más pesadas y los cultivares Katambora y Tolgar mostraron pesos intermedios (Tabla 6).

Tabla 6. Peso de 1000 semillas de diferentes cultivares de *C. gayana*. Media $\pm$ EEM.

Cultivar	Peso de 1000 semillas (g)
Finecut	0,55 $\pm$ 0,02 a
Katambora	1,06 $\pm$ 0,05 b
Tolgar	1,24 $\pm$ 0,04 c
Toro	1,69 $\pm$ 0,05 d

4.1.2 Viabilidad de las semillas y efecto de 10 mM de Tris sobre la germinación final.

Todos los cultivares evaluados mostraron 100 % de germinación de las semillas viables incubadas en agua, lo cual indica que las semillas no presentaban dormición al momento de comenzar los experimentos.

La presencia de 10 mM de buffer Tris no afectó la germinación de las semillas de los cultivares de *C. gayana* evaluados, con respecto a la de las semillas de cada cultivar incubadas en agua (Figura 4).

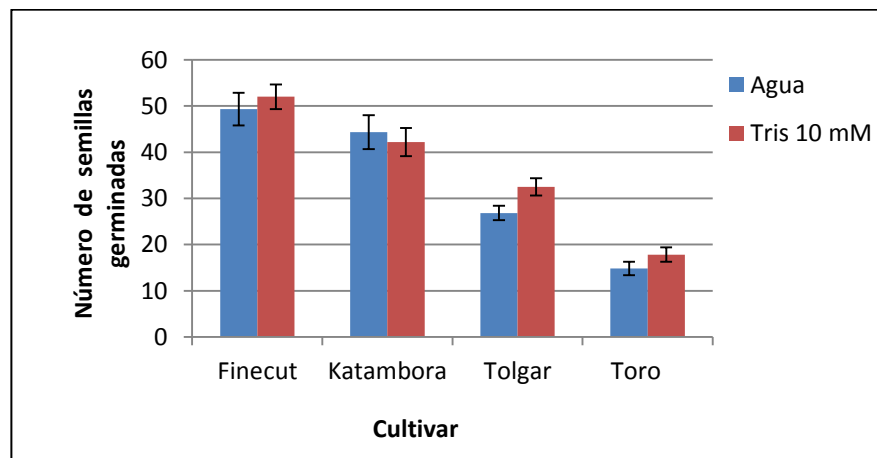


Figura 4. Efecto del buffer Tris sobre la germinación de diferentes cultivares de *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

4.1.3 Efectos de la salinidad y la alcalinidad

4.1.3.1 Porcentaje de germinación final

Dos de los tres factores principales, el cultivar ($p = 0,0084$) y la salinidad ($p <$

0,0001) produjeron diferencias significativas en el porcentaje de germinación final (figuras 5 y 6). La interacción entre los factores analizados no fue significativa ($p = 0,0903$).

Los porcentajes de germinación de los cvs. Katambora y Toro superaron al del cv. Finecut, y el cv. Tolgar mostró valores intermedios (Figura 5).

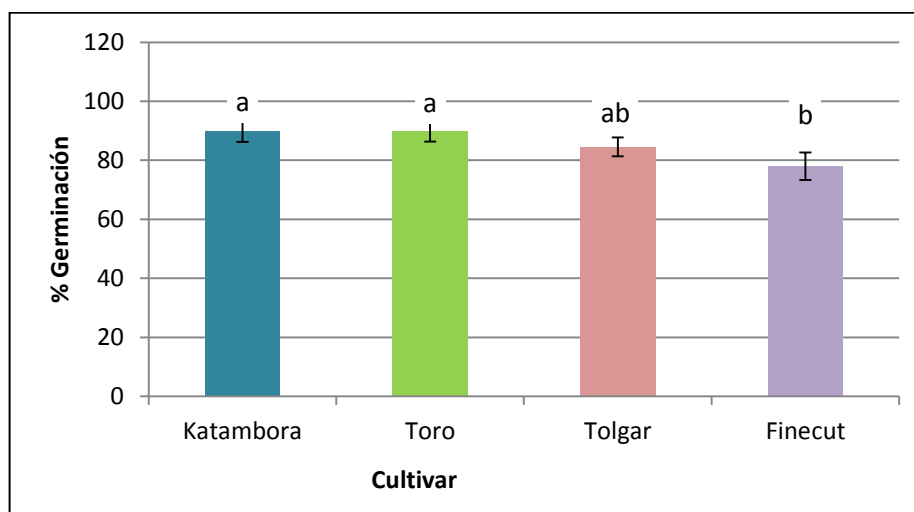


Figura 5. Efecto del cultivar (Katambora, Toro, Tolgar y Finecut) sobre el porcentaje final de germinación *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

Los porcentajes de germinación final de las semillas incubadas en soluciones que contenían 0 y 100 mM de NaCl no se diferenciaron estadísticamente. En cambio, las semillas incubadas en 200 mM de NaCl germinaron un 34,3% menos que las incubadas en la solución control (Figuras 6).

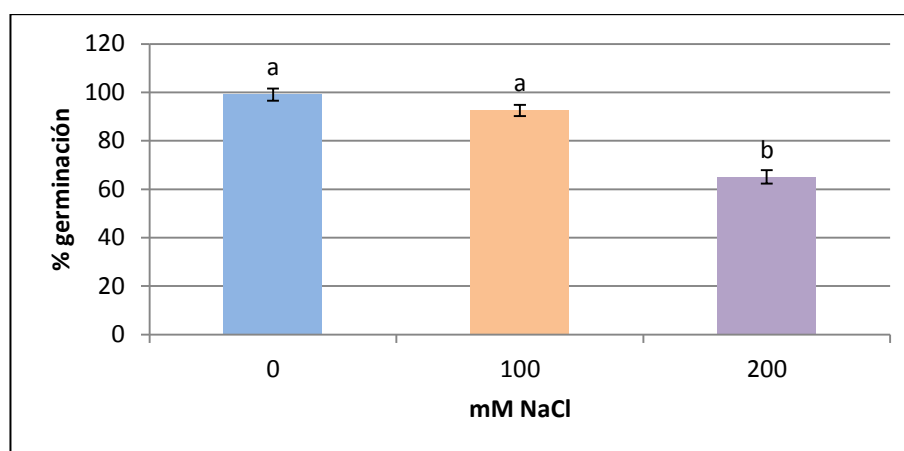
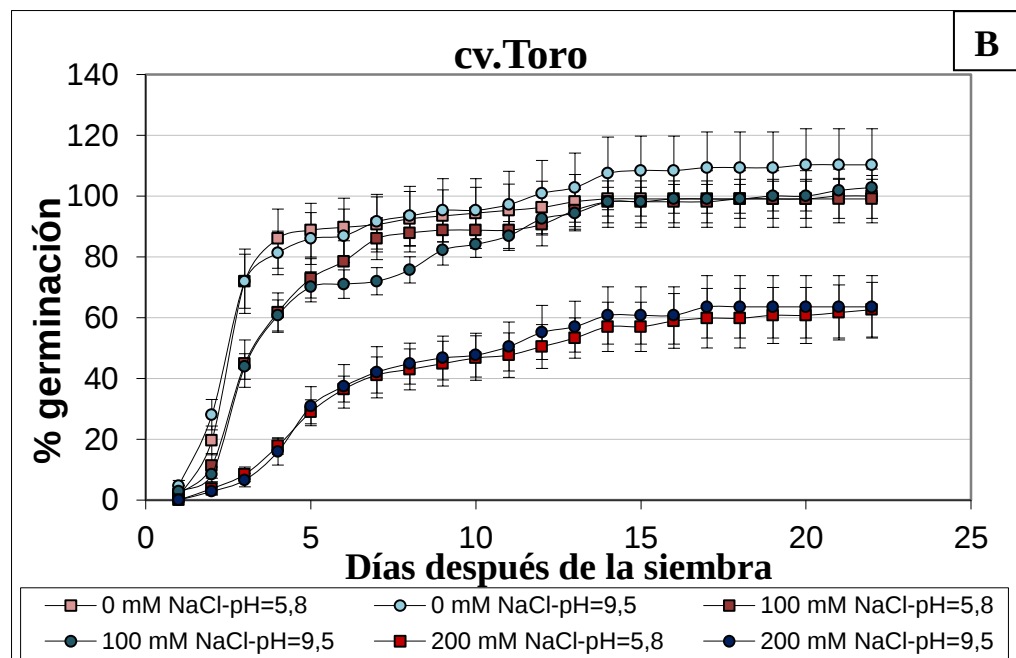
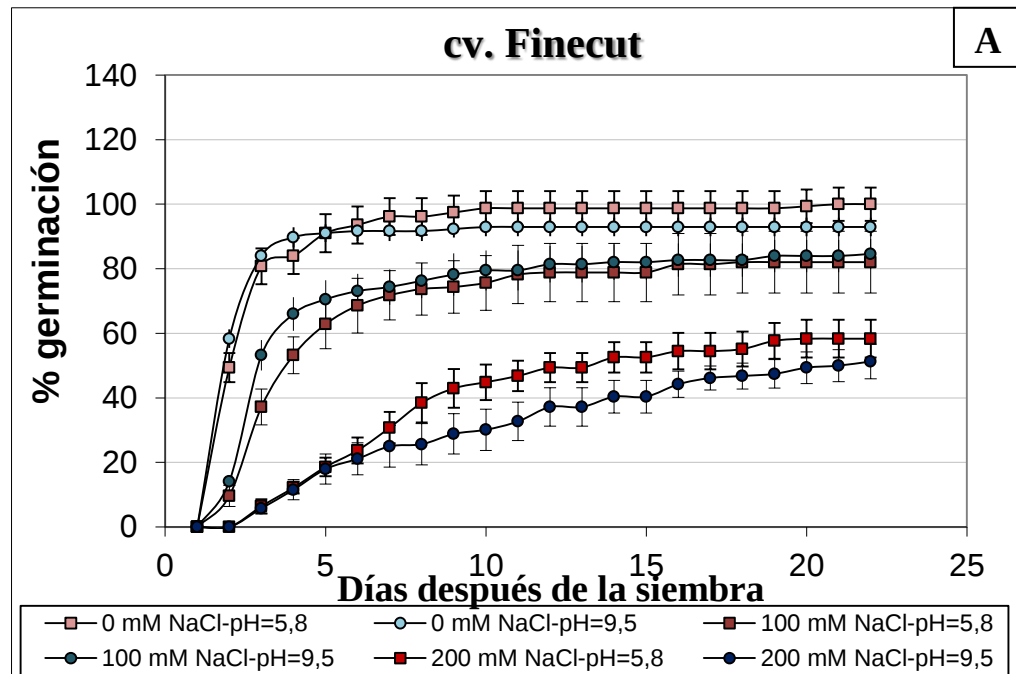


Figura 6. Efectos del contenido de 0, 100 y 200 mM de NaCl sobre el porcentaje de germinación de diferentes cultivares de *C. gayana*. Barras $\pm$ EEM.

4.1.3.2 Tiempo hasta el 50% de germinación (T_{50})

Los tres factores evaluados, cultivar ($p = 0,006$), salinidad ($p < 0,0001$) y pH ($p < 0,0001$) afectaron significativamente el T_{50} ; y la interacción entre los factores fue significativa ($p = 0,0001$).



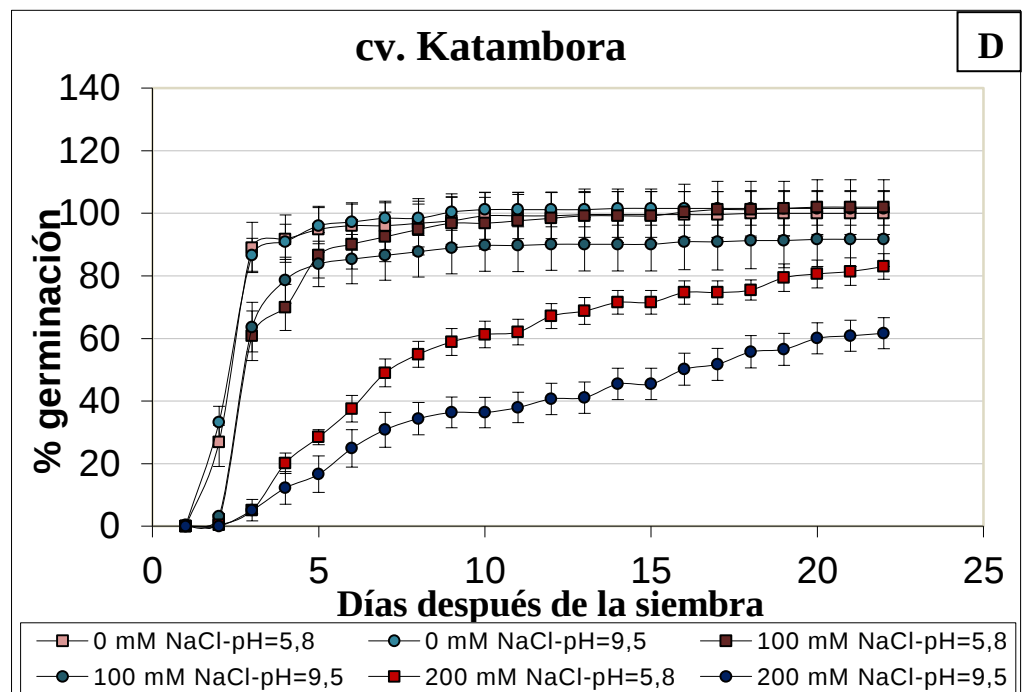
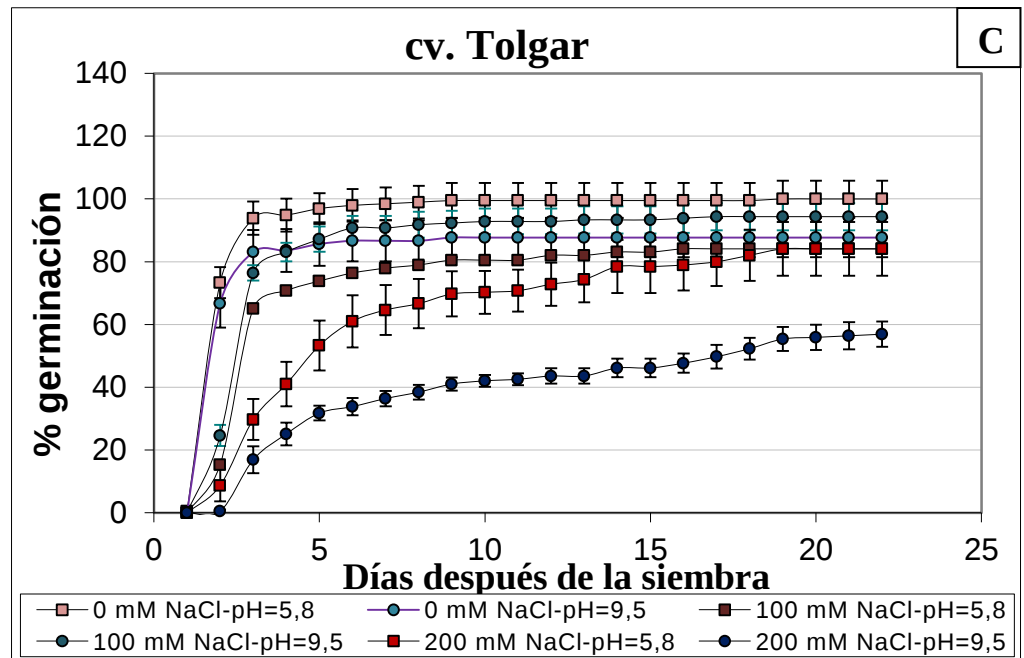


Figura 7. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) y pHs (5,8 y 9,5) sobre la evolución diaria de la germinación de diferentes cultivares de *C. gayana* cv. Finecut (A), Toro (B), Tolgar (C) y Katambora (D). Media $\pm$ EEM.

Las semillas de todos los cultivares evaluados incubadas en soluciones con 100 mM y pH 5,8 ó sin el agregado de NaCl y pH 9,5 mostraron valores del T_{50} similares a las incubadas en la solución control (0 mM de NaCl-pH 5,8) (Figuras 7 y 8). Los valores de T_{50} no difirieron entre los cultivares evaluados en las condiciones mencionadas arriba. En presencia de un nivel moderado de NaCl y pH alcalino (100 mM de NaCl-pH 9,5), los valores del T_{50} tampoco difirieron entre los cultivares evaluados. En el tratamiento mencionado, solamente el cv. Tolgar mostró un incremento del T_{50} con respecto al respectivo control (Figuras 7 y 8). Las semillas de todos los cultivares incubadas en soluciones con salinidad elevada (200 mM de NaCl-pH 5,8) mostraron un aumento del T_{50} con respecto al control. En estas condiciones, el incremento del T_{50} con respecto al control fue menor para el cv. Tolgar ($\cong 3$ veces), que para los cvs. Finecut, Katambora y Toro ($\cong 4$; 3,4 y 3,3 veces, respectivamente) (Figuras 7 y 8). En presencia de una salinidad elevada (200 mM de NaCl), la respuesta del T_{50} al incremento del pH de 5,8 a 9,5 difirió entre los cultivares evaluados. El incremento del pH no produjo efectos en el cv. Toro pero incrementó los valores de T_{50} 2,2; 1,7 y 2,4 veces en los cvs. Finecut, Katambora y Tolgar, respectivamente (Figuras 7 y 8).

En condiciones de salinidad moderada y pH 9,5, (condiciones típicas de los suelos marginales de la Cuenca del Salado, provincia de Buenos Aires), los valores de germinación final no difirieron con los controles y los valores de T_{50} no difirieron entre los cultivares evaluados.

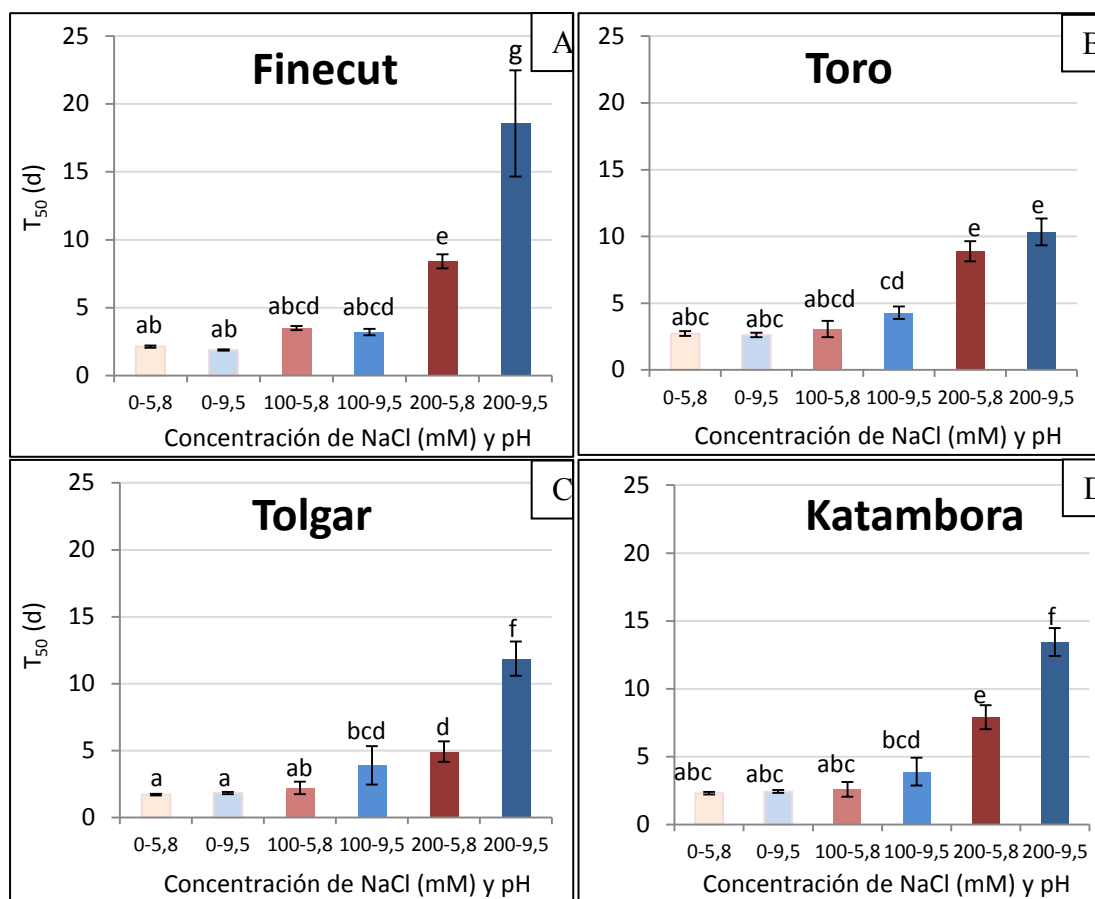


Figura 8. Efectos de la concentración de NaCl (0, 100 y 200 mM) y el pH (5,8 y 9,5) sobre el tiempo al 50% de germinación (T_{50}) de semillas de los cultivares de *C. gayana* Finecut (A), Toro (B), Tolgar (C) y Katambora (D). Barras $\pm$ EEM, letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para cada cultivar.

4.2 Efectos de la salinidad y la alcalinidad sobre plantas de *C. gayana* cv. Finecut bajo condiciones controladas

4.2.1 Peso seco del vástago (PSV), peso seco de la raíz (PSR), y relación peso seco vástago-raíz (V/R)

La salinidad afectó negativamente el PSV y el PSR de las plantas de *C. gayana* ($p = 0,0001$; $p < 0,0001$, respectivamente). La alcalinidad no afectó el PSV ($p = 0,1115$) ni el PSR ($p = 0,3228$). La interacción entre ambos factores no fue significativa para el PSV ($p = 0,1549$) ni para el PSR ($p = 0,0764$). En presencia de

200 mM de NaCl, el PSV y el PSR mostraron disminuciones del 29,26 % y 48,85 %, respectivamente, con respecto al control (Tabla 7).

La salinidad y el pH afectaron significativamente la relación V/R ($p < 0,0001$, $p = 0,0090$, respectivamente). La interacción entre ambos factores fue significativa ($p = 0,0128$). Bajo condiciones no salinas, la relación V/R de las plantas cultivadas con pH 8,5 no fue estadísticamente diferente al de las plantas control ($3,31 \pm 0,15$ y $3,29 \pm 0,15$, respectivamente). En cambio, bajo condiciones salinas, la relación V/R aumentó más con pH 5,8 que con pH 8,5 (43,50 % y 19,63 % con respecto al control, respectivamente) (Tabla 7).

Tabla 7. Peso seco del vástago (PSV), raíz (PSR) y relación V/R de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.

Cultivar	NaCl (mM)	pH	Peso Seco (mg)		
			PSV	PSR	V/R
Finecut	0	5,8	417,50 $\pm$ 31,90	138,59 $\pm$ 14,89	3,31 $\pm$ 0,15 a
		8,5	333,39 $\pm$ 31,44	109,26 $\pm$ 11,28	3,29 $\pm$ 0,15 a
	200	5,8	267,94 $\pm$ 23,72	59,19 $\pm$ 5,98	4,75 $\pm$ 0,16 c
		8,5	263,18 $\pm$ 18,96	67,57 $\pm$ 4,64	3,96 $\pm$ 0,15 b
Significación					
NaCl			**	**	**
pH			NS	NS	**
pH*NaCl			NS	NS	**
($p < 0,05$)					
NS: No significativo			**: Significativo		

4.2.2 Contenido relativo de agua (CRA), masa foliar específica (MFE)

El CRA de las plantas de *C. gayana* cultivadas en presencia de 200 mM de NaCl disminuyó el 6,65 % con respecto al de las plantas control ($p < 0,0001$). El pH no afectó el CRA (%) ($p = 0,3336$) y la interacción entre la salinidad y el pH no fue significativa ($p = 0,5170$) (Tabla 8).

El incremento del pH de 5,8 a 8,5 indujo un incremento del 24,2 % de la MFE con respecto al control ($p < 0,0001$) (Tabla 8). La salinidad no afectó la MFE ($p = 0,2180$) y la interacción entre salinidad y pH no fue significativa para este factor ($p = 0,0529$) (Tabla 8).

Tabla 8. Variación del CRA y la MFE de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.

Cultivar	NaCl	pH	CRA (%)	MFE (mg cm ²)
Finecut				
	0 mM	5,8	93,54 $\pm$ 0,86	1,95 $\pm$ 0,11
		8,5	91,83 $\pm$ 1,00	2,66 $\pm$ 0,06
	200 mM	5,8	86,69 $\pm$ 0,95	2,28 $\pm$ 0,07
		8,5	86,35 $\pm$ 1,30	2,59 $\pm$ 0,10
Significación				
NaCl(S)			**	NS
pH			NS	**
pH*NaCl			NS	NS
(p: 0,05)				
NS: No significativo **: Significativo				

4.2.3 Contenido de iones

4.2.3.1 Contenido de Na⁺

Ambos factores, la salinidad y el pH, afectaron el contenido de Na⁺ del vástago ($p < 0,0001$ y $p = 0,0181$, respectivamente). La interacción entre los factores no fue significativa ($p = 0,5553$) (Figura 9). La salinidad (200 mM de NaCl) indujo un incremento de $\cong 5,2$ veces el contenido de Na⁺ del vástago, con respecto el control y el incremento del pH lo redujo un 16,07 % (Figura 9).

El contenido de Na⁺ de la raíz (mg Na⁺ g⁻¹ Ps) aumentó casi seis veces ($p < 0,0001$) en presencia de 200 mM de NaCl, en relación al control (media $\pm$ EEM en mg g⁻¹ PS) (39,49 $\pm$ 2,49 vs 7,27 $\pm$ 2,61) (Figura 9), pero no varió por efecto del pH ($p = 0,7548$). La interacción entre salinidad y pH no fue significativa ($p = 0,3536$).

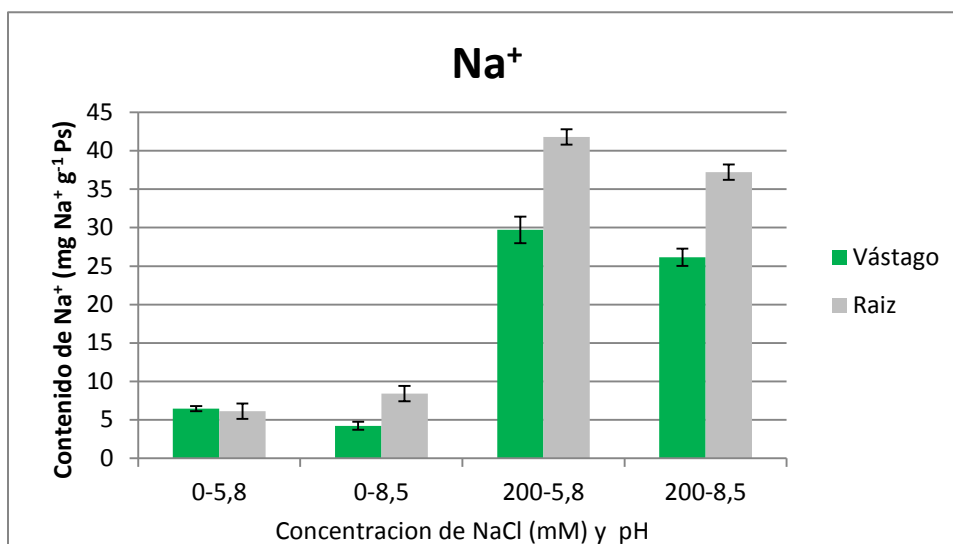


Figura 9. Contenido de Na⁺ del vástago y la raíz de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM.

4.2.3.2 Contenido de K⁺

La salinidad indujo la disminución del contenido de K⁺ (mg K⁺ g⁻¹ Ps) tanto del vástago como de la raíz ($p < 0,0001$ y $p < 0,0001$). La concentración de K⁺ disminuyó un 40% en el vástago ($10,34 \pm 0,45$) y un 43% en la raíz ($14,94 \pm 1,23$), con respecto a los controles ($17,31 \pm 0,48$ y $26 \pm 1,29$, respectivamente) (Figura 10).

El pH no afectó el contenido de K⁺ del vástago (mg K⁺ g⁻¹ Ps) ($p = 0,9282$) ni de la raíz ($p = 0,5356$). La interacción entre salinidad y pH no fue significativa para el contenido de K⁺ del vástago ($p = 0,4003$) ni de la raíz ($p = 0,3975$).

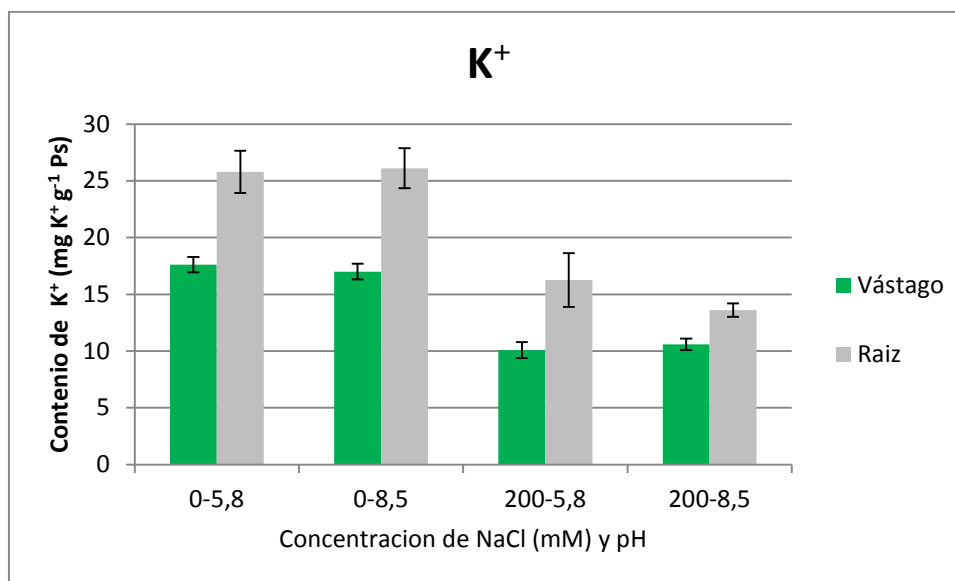


Figura 10. Contenido de K⁺ en vástago y raíz de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM.

4.2.3.3 Relación [K⁺] / [Na⁺]

Ambos factores, la salinidad y el pH, afectaron la relación [K⁺] / [Na⁺] del vástago ($p < 0,0001$ y $p = 0,0099$, respectivamente) y la interacción entre factores fue significativa ($p = 0,0162$). En 0 mM de NaCl y pH 8,5, la relación [K⁺] / [Na⁺] aumentó un 155% con respecto al control, mientras que en 200 mM de NaCl y ambos pHs (5,8 y 8,5) los descensos fueron similares (87,31 y 85,14%) (Tabla 9).

La salinidad produjo una disminución del 93,90% (Tabla 10) de la relación [K⁺] / [Na⁺] de la raíz ($p < 0,0001$) pero el pH no tuvo un efecto significativo ($p = 0,06$). La interacción entre los factores no fue significativa ($p = 0,0668$).

Tabla 9. Variación en la relación [K⁺] / [Na⁺] en vástago y raíz de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.

Relación [K ⁺] / [Na ⁺]			
NaCl	pH	Vástago	Raíz
0 mM	5,8	2,76 $\pm$ 0,30 a	6,07 $\pm$ 0,76 a

	8,5	4,29 ± 0,27 b	3,25 ± 0,70 a
200 mM	5,8	0,35 ± 0,27 c	0,24 ± 0,70 b
	8,5	0,41 ± 0,27 c	0,37 ± 0,70 b

4.2.3.4 Contenido de Ca^{2+}

El contenido de Ca^{2+} del vástago disminuyó $\cong 60\%$ por efecto de la salinidad ($p < 0,001$), pero no varió por efecto del pH ($p = 0,2390$). La interacción entre ambos factores no fue significativa ($p = 0,5651$) (Figura 11).

El contenido de Ca^{2+} de la raíz, no se modificó por efecto de la salinidad ($p = 0,6907$), ni el pH ($p = 0,2598$) (Figura 11).

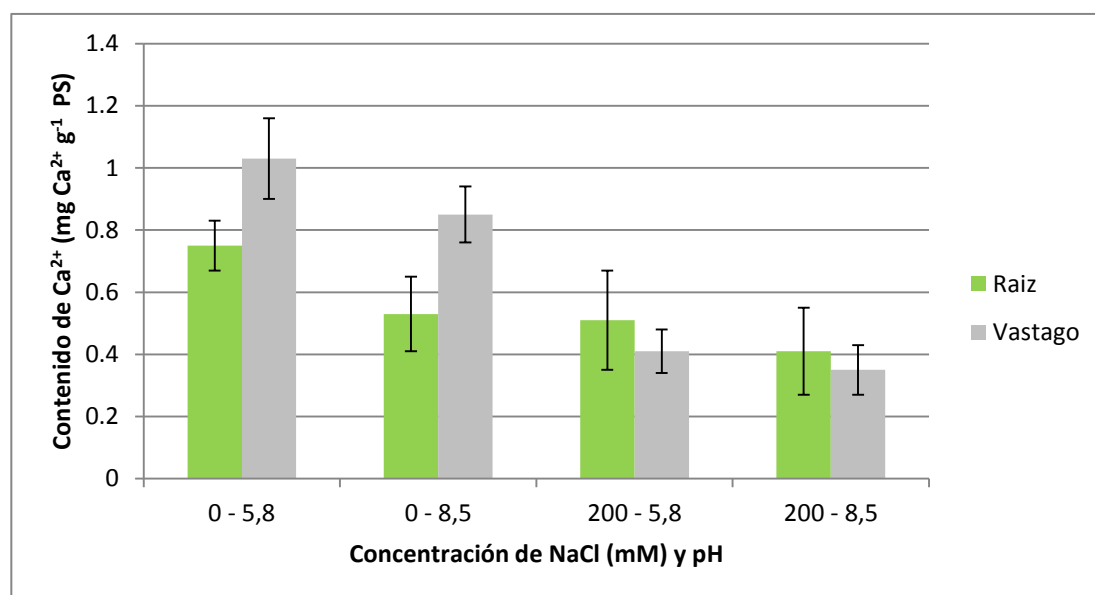


Figura 11. Variación del contenido de Ca^{2+} en vástago y raíz en de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Barras $\pm$ EEM.

4.2.3.5 Relación de los contenidos de Ca^{2+} del vástago y la raíz

Ni la salinidad ni el pH modificaron la relación entre los contenidos de Ca^{2+} del vástago y la raíz ($p = 0,0881$ y $p = 0,1105$, respectivamente). La interacción entre salinidad y pH, no fue significativa ($p = 0,0881$).

4.2.3.6 Contenido de Cl⁻

La salinidad y el pH afectaron el contenido de Cl⁻ del vástago (mg Cl⁻ g⁻¹ Ps) ($p < 0,0001$, $p = 0,0083$, respectivamente), y la interacción entre ambos factores fue significativa ($p = 0,0137$). Las plantas cultivadas en soluciones que contenían 200 mM de NaCl mostraron un contenido de Cl⁻ del doble del control (Tabla 10). Variaciones en el pH de 5,8 a 8,5 en presencia de 200 mM de NaCl, no modificaron significativamente el contenido de Cl⁻ del vástago. En cambio, las plantas que crecieron en soluciones sin el agregado de NaCl mostraron un valor intermedio (incremento del 60%) del contenido de Cl⁻ por efecto del aumento del pH de 5,8 a 8,5 (Tabla 10).

El contenido de Cl⁻ de la raíz aumentó casi 3 veces ($8,13 \pm 0,56$) en presencia de 200 mM de NaCl, con respecto al control ($p < 0,0001$), pero no se modificó por efecto del pH ($p = 0,2990$). La interacción entre los factores no fue significativa ($p = 0,1011$) (Tabla 10).

4.2.3.7 Relación de los contenidos de Cl⁻ del vástago y la raíz

La relación entre el contenido de Cl⁻ del vástago y de la raíz no se modificó por efecto de la salinidad ($p = 0,1296$), ni por la alcalinidad ($p = 0,1693$). En promedio, dicha relación fue de $\approx 1,45$ (Tabla 11).

Tabla 10. Variaciones de los contenidos de Cl⁻ del el vástago, la raíz, y la relación de concentraciones entre el vástago y la raíz de plantas de *C. gayana* cv. Finecut cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de NaCl (0 y 200 mM) y pHs (5,8 y 8,5). Media $\pm$ EEM.

Tratamiento		Contenido de cloruros (mg Cl ⁻ g ⁻¹ Ps)		
NaCl	pH	Vástago	Raíz	V/R
0	5,8	3,20 $\pm$ 0,42 a	1,60 $\pm$ 0,97 a	3,01 $\pm$ 0,76 a
	8,5	5,12 $\pm$ 0,31 b	4,00 $\pm$ 0,86 a	0,97 $\pm$ 0,68 a
200	5,8	6,54 $\pm$ 0,32 c	8,42 $\pm$ 0,79 b	0,87 $\pm$ 0,62 a
	8,5	6,61 $\pm$ 0,36 c	7,85 $\pm$ 0,79 b	0,96 $\pm$ 0,62 a

5 DISCUSION

La solución edáfica de los suelos salino/alcalinos de la zona de la Cuenca del Salado en general muestra valores muy altos de pH (9 a 9,5) y moderados de CE_e (4 a 5 $dS\ m^{-1}$) (Myazinsky, 1995). Sin embargo, la concentración de sales de la solución edáfica por cambios en el estado hídrico, hace que los valores de conductividad sean mayores a los medidos en el extracto saturado del suelo. Cuando las semillas de los cultivares de *C. gayana* se expusieron a condiciones similares a las decriptas (pH 9,5 y 100 mM de NaCl), la germinación final no difirió de la situación control. Con respecto al T_{50} , bajo las mismas condiciones, tres cultivares mostraron un comportamiento similar al control, excepto Tolgar, cuyo T_{50} aumentó 127% con respecto al control.

En presencia de 200 mM de NaCl todos los cultivares cuadruplicaron sus T_{50} con respecto al control, excepto Tolgar que sólo lo duplicó. El incremento del pH de las soluciones salinas incrementó aún más el T_{50} de los cultivares Finecut, Tolgar y Katambora (8,41d vs. 18,57d; 7,90d vs. 13,44d y 4,92d vs. 11,86d, respectivamente), mientras que el cultivar Toro (8,89d vs. 8,32d) no mostró diferencias. En varias especies se ha demostrado que la alcalinidad (pH 8,5 - 10) de la solución de incubación inhibe fuertemente la germinación de las semillas. Por ejemplo, la alcalinidad indujo disminuciones de la germinación del 50% en trigo (Yang *et al.*, 2010), 70% en arroz (Wang *et al.*, 2011), y la inhibición total en alfalfa (Li *et al.*, 2010). En otros trabajos se ha informado que la velocidad de germinación, disminuye cuanto mayor es la salinidad (Debez *et al.*, 2004; Taleisnik *et al.*, 1997) y la alcalinidad del medio (Derakshan y Herekhloo, 2013; Liu *et al.*, 2014).

Las plantas de *C. gayana* en condiciones de salinidad (200 mM de NaCl) mostraron disminuciones de los PSV y PSR del 29,3% y 48,8%, respectivamente, con respecto al control. Céccoli *et al.* (2011) obtuvieron resultados similares en plantas de *C. gayana* cv. Boma. Estos autores informaron que en presencia de 250 mM de NaCl, los PSV y PSR disminuyeron 32,6% y 50% del control, respectivamente. Plantas de *Panicum antidotale* Retz cultivadas en hidroponia bajo condiciones de salinidad (20 $dS/m \cong 200mM$ de NaCl) mostraron disminuciones del PSV y del PSR del 65% y 58% con respecto al control, respectivamente (Rasul *et al.*, 1994). La relación de los pesos secos del vástago y de la raíz (V/R) de *C. gayana* en condiciones de salinidad (200 mM de NaCl), aumentó un 43% respecto al control, mientras que en condiciones combinadas de salinidad con pH alcalino, el incremento fue solo del 20%. Céccoli *et al.* (2011) determinaron que la disminución de la relación V/R de *C. gayana* podría estar relacionado con un menor efecto de la salinidad sobre el mecanismo encargado

del crecimiento del vástago en contraste con el responsable del crecimiento de la raíz. En presencia de 250 mM de NaCl las relaciones V/R de *C. gayana* cv. Boma (Céccoli *et al.* 2011) y *Panicum antidotale* Retz (Rasul *et al.*, 1994) aumentaron en un 32% y 30%, respectivamente, con respecto al control. Las diferencias encontradas en la relación V/R de *C. gayana* entre condiciones de salinidad y condiciones combinadas salinidad y alcalinidad, se asemejan a lo informado para plántulas de *Panicum virgatum* L. (Liu *et al.*, 2014), donde el largo de la radícula disminuyó más en condiciones de salinidad (160 mM de mezcla de sales neutras) o de pH elevado (9,95), que bajo el efecto combinado de ambas restricciones. Sin embargo, en un ensayo realizado sobre plantines de *Aneurolepidium chinense* (Shi y Wang., 2005), se demostró que la reducción de la tasa de crecimiento relativo es mayor en condiciones combinadas de salinidad y pH, que cuando los factores se presentan en forma individual.

El contenido relativo de agua es una medida del estado hídrico de la planta y en este trabajo, *C. gayana* en presencia de 200 mM de NaCl mostró una disminución del CRA del 6% en relación al control. Según Taleisnik *et al.* (1997), *C. gayana* en condiciones de mayor salinidad (400 mM de NaCl) disminuyó dicho porcentaje en un $\pm 10\%$, con respecto al control. Normalmente, disminuciones del CRA en las plantas de 0 a 10% indican un estrés hídrico leve, solamente afectan la reducción de la expansión celular y pueden inducir el cierre parcial del poro estomático en la hoja (González y González-Vilar, 2001; Soares-Cordeiro *et al.*, 2009).

La MFE de *C. gayana* cv. Finecut en este trabajo se incrementó 25% cuando el pH del medio de incubación se incrementó de 5,8 a 8,5; y no varió bajo condiciones de salinidad. Sin embargo, en otras especies se ha informado un incremento similar por efecto de la salinidad, por ejemplo *Vigna unguiculata* (Lacerda *et al.*, 2006), *Glicine max* (Wang *et al.*, 2002) y *Flaveria sp.* (Apel *et al.*, 1995). La MFE varía en gran medida en función de la especie (Poorter *et al.*, 2009), el estadio fenológico y del desarrollo del órgano, su ubicación dentro de la arquitectura de la planta (Drouet *et al.*, 2005), así también de condiciones ambientales tales como la irradiancia, la temperatura y la inmersión. Otros factores ambientales, tales como la concentración de CO₂, el aporte de nutrientes y el nivel hídrico, afectan moderadamente la MFE y el resto de los factores ambientales sólo tienen un efecto marginal sobre la MFE (Poorter *et al.*, 2009). Particularmente en plantas halófitas, el incremento de la MFE, es menor al experimentado por plantas glicofitas, debido a que tienen la capacidad de compartimentalizar el NaCl en la vacuola y esta es una respuesta adaptativa específica de las plantas halófitas al estrés salino (Poorter *et al.*, 2009).

Normalmente, en presencia de salinidad, los elevados niveles de Na⁺ y Cl⁻ en la planta causan la muerte prematura de tejidos jóvenes y producen clorosis marginal de las hojas adultas. Esto modifica el área fotosintética efectiva de la planta, el

crecimiento del vástago y la raíz, y el contenido de iones en la planta (Rodríguez Pérez, 2006). En el presente trabajo, el contenido de Na^+ en el vástago de *C. gayana* en presencia de 200 mM de NaCl aumentó 5,2 veces con respecto al control, y en condiciones no salinas, el aumento del pH de 5,8 a 8,5 disminuyó (16%) dicho contenido con respecto al control. El contenido de K^+ en el vástago en presencia de salinidad disminuyó un 40% respecto del control, y no se modificó por el incremento del pH. Las variaciones de los contenidos de Na^+ y K^+ en la raíz inducidos por la salinidad fueron similares a las observadas en el vástago. Las plantas de otros cultivares de *C. gayana* (Callide, Pioneer, Katambora, Bell y Boma) en presencia de 200 mM de NaCl, mostraron un incremento de aproximadamente 2 veces el contenido de Na^+ y una disminución del 20% del contenido de K^+ , respecto al control (Taleisnik *et al.*, 1997). En plantas de *Chloris virgata*, condiciones de salinidad de 200 mM, produjeron un aumento del contenido de Na^+ en el vástago de aproximadamente 4 veces con respecto al control; y en condiciones de salinidad (200mM) y alcalinidad (pH 9,95), el contenido de Na^+ del vástago aumentó 16 veces, con respecto al control (Yang *et al.*, 2010). Diversos trabajos demuestran que el daño de la alcalinidad (>8,3) es mayor que el producido por la salinidad (Yang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2014), y que en plantas sensibles, el contenido de Na^+ en condiciones de pH (8-10) se incrementa, al contrario de lo observado en nuestro trabajo (Guo *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

La relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$ en el vástago de plantas de *C. gayana*, en condiciones de salinidad y en combinación con pH alcalino, disminuyó en forma similar (88% y 85%, respectivamente). En el caso de la raíz, la relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$ afectada únicamente por la salinidad, disminuyó en forma similar a como lo hizo el vástago. En plantas de arroz (especie sensible a la salinidad), cultivadas con salinidad moderada (50 mM de NaCl), el contenido de Na^+ de la raíz aumentó $\cong 3$ veces y la relación $[\text{K}^+] / [\text{Na}^+]$ disminuyó $\cong 4$ veces, con respecto al control; mientras que el contenido de K^+ en las mismas condiciones disminuyó un 50%, con respecto al control (Liang *et al.*, 2013). En condiciones de estrés por salinidad se produce un desbalance en la homeostasis de los iones K^+ y Na^+ en las plantas, afectando las funciones de las enzimas presentes en el citosol, responsables de mantener el potencial de membrana (Bartels y Ramanjulu, 2005; Munns, 2002, Tester y Davenport, 2003; Shi *et al.*, 2003) y afectando la relación K^+ / Na^+ de la planta (Rodríguez Pérez, 2006; Munns, 2002).

En el presente trabajo la salinidad indujo una disminución del 60% del contenido de Ca^{2+} en el vástago pero no afectó el de la raíz, ni la relación entre los contenidos de Ca^{2+} del vástago y la raíz. En plantas de *C. virgata* cultivadas en soluciones salinas de 200 mM y pH 9,95, el contenido de Ca^{2+} del vástago se incrementó 3 veces con respecto al control mientras que las cultivadas con salinidad y

pH neutro disminuyeron dicho contenido un 30% en relación al control (Yang *et al.*, 2010). La absorción de Ca^{2+} desde la solución del suelo disminuye con la salinidad debido a interacciones iónicas, precipitación e incremento de iones que disminuyen la actividad del ion Ca^{2+} (Grattan and Grieve, 1999). Aun en soluciones de suelo con niveles adecuados de Ca^{2+} , cuando el pH es elevado (8-10) la competencia en la absorción de iones afecta la selectividad de la membrana de la raíz para absorber Ca^{2+} por sobre Na^+ , produciendo un déficit del mismo (Kopittke & Menzies, 2005).

Las plantas de *C. gayana* cultivadas en soluciones con 200 mM de NaCl, y en combinación con pH 8,5, mostraron un aumento del contenido de Cl^- del vástago del 100%, respecto del control. El contenido de Cl^- de la raíz, aumentó 5 veces con respecto al control y la relación entre los contenidos de Cl^- del vástago y la raíz no fue afectada por la salinidad, ni la alcalinidad. Se ha demostrado que en plantas de *Lathyrus quinquenervius*, *Triticum aestivum* y *Panicum antidotale* cultivadas en condiciones de salinidad moderadas a elevadas (80 a 200 mM de NaCl) el contenido de Cl^- del vástago con respecto del control, aumentó trece (Zhang y Mu, 2009), cinco (Guo, *et al.*, 2010) y tres veces (Rasul *et al.*, 1994), respectivamente; al contrario de lo de lo observado en condiciones combinadas de salinidad y pH (8 a 9), donde no se modificó el contenido de Cl^- (Zhang y Mu, 2009) o este disminuyó levemente (Guo, *et al.*, 2010). Normalmente, la acumulación de aniones inorgánicos, tales como el Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- y la síntesis de aniones orgánicos es vital para mantener el balance de iones en la planta. Cabe destacar, que no se encontraron antecedentes del efecto de la alcalinidad sobre los contenidos tisulares de Cl^- en *C. gayana* ni en especies emparentadas.

Aunque es amplio el conocimiento del comportamiento de *C. gayana* en condiciones de salinidad, aun no hay suficiente información de su comportamiento en condiciones de alcalinidad. Existen diversas especies para suelos con problemas de hidro-halomorfismo y por lo tanto, conocer en mayor detalle el comportamiento de *C. gayana* y sus cultivares, permitiría diferenciar aquellos que poseen mayor tolerancia a la salinidad y alcalinidad. Esto permitiría una mayor difusión de la especie, que posee potencial agronómico para las zonas de Cuenca del Salado.

6 CONCLUSIONES

Una concentración de 200 mM de NaCl ($\cong 20 \text{ dSm}^{-1}$) en la solución de incubación indujo la disminución de la germinación y el incremento del T_{50} de las

semillas de todos los cultivares evaluados de *C. gayana*. Además, en las soluciones que contenían 200 mM de NaCl, el incremento del pH de 5,8 a 9,5 indujo un incremento adicional del T₅₀. En condiciones similares a las existentes en las zonas marginales de la Cuenca del Salado (10 dSm⁻¹ y pH ≥ 9), todos los cultivares de *C. gayana* evaluados mantuvieron el porcentaje y la velocidad de germinación con respecto a un medio no salino y de pH neutro.

El incremento de la concentración de NaCl de 0 a 200 mM indujo una disminución moderada del peso seco del vástago (29%) y una disminución marcada del peso seco de la raíz (49%). La disminución del contenido (6 %) relativo de agua inducido por la salinidad fue leve. La salinidad no afectó la MFE, lo cual es consistente con la respuesta de una planta halófito. En cambio, la alcalinidad indujo el incremento de la MFE (24%). La alcalinidad tuvo poco efecto sobre el crecimiento de las plantas de *C. gayana* cv. Finecut, ya sea en ausencia o presencia de NaCl en la solución nutritiva (0 y 200 mM, respectivamente). Por lo tanto, desde el punto de vista de la tolerancia a la alcalinidad, *C. gayana* podría mostrar un nivel de crecimiento adecuado en los suelos salino/alcalinos de la Cuenca del Salado. Sin embargo, se requiere más investigación para determinar el efecto de niveles más severos de alcalinidad (>8,5), combinados con condiciones moderadas de salinidad, lo cual puede lograrse con el agregado de sales de Na alcalinas (carbonato y bicarbonato de Na) a la solución nutritiva.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Apel, P., Peisker, M., Pfündel, E., Mühle, K. (1995) *Flaveria pringlei* (C3) and *Flaveria trinervia* (C4), *Biologia plantarum*, 37(1): 65 – 70.

2. Bartels, D., Ramanjulu, S. (2005) Drought and salt tolerance in plants, *Plant Sciences*, (24): 23-58.
3. Bertello, F., Nueva revolución verde. Entrevista. *La Nación*, Suplemento Campo (10 de Abril de 2010).
4. Boonman, J.G., East Africa's grasses and fodders: Their ecology and husbandry, Netherland, Kluger Academic, 1993, pag 105 – 110.
5. Ceccoli, G., Ramos, J.C., Ortega, I.L., Acosta, M.J., Perreta, M.G. (2011) Salinity induced anatomical and morphological changes in *Chloris gayana* Kunth. roots, *Biocell* 35:(1):9-17
6. Crescimanno, G., Iovino, M., Provenzano, G. (1995) Influence of salinity and sodicity on structural and hydraulic characteristics, *Soil Sci. Soc. Am J.*, 59: 1701-1708.
7. Damario, E. A., Pascale, A. J. (1988) Características agroclimática de la Región Pampeana Argentina. *Rev. Facultad de Agronomía*, Buenos Aires, 9(1-2):41-64.
8. Davenport, R., Tester, M. (2003) Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants, *oxford journals, annals of botany*, 91(5): 503-527
9. De Luca, M., García Seffino, L., Grumberg, K., Salgado, M., Córdoba, A., Luna, C., Ortega, L., Rodríguez, A., Castagnaro, A., Taleisnik, E. (2001) Physiological causes for decreased productivity under high salinity in Boma, a tetraploid *Chloris gayana* cultivar, *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: Pág. 903-910.
10. Debez, A., Hamed, K.B, Grignon, C., Abdelly, C. (2004) Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritime*, *Plant and soil*, 262:179-189
11. Derakhshan, A., Gherekhloo, J. (2013) Factors affecting *Cyperus difformis* Germination and seedling emergence, *Planta daninha*, Vicosa MG, 4: 823-832

12. Drouet, J.L., Pagès, L., Serra, V. (2005) Dynamics of leaf mass per unit leaf area and root mass per unit root volume of young maize plants: implications for growth models, *Eur. J. Agron*, 22: 185-193.
13. Etchevehere, P.H. (1976) Normas de Reconocimiento de suelos, 2da.Edición actualizada INTA, CIRN, Dept. de Suelos de Castelar, Castelar, Colección Suelos Nro. 52.
14. Fu, H., Luan, S. (1998) AtKUP1: a dual affinity transporter from *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 10: 63-73.
15. González, L., González-Vilar, M. (2001) Determination of relative water content. En: "Handbook of Plant Ecophysiology Techniques", ed. Reigosa, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, chapter 14.
16. Grattan, S.R., Grieve, C.M. (1999) Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops, *Scientia horticulturae*, 78: 127-157
17. Guenni, O. (2006) Respuestas al déficit hídrico en especies forrajeras de *Brachiaria* (Trin.) Griseb.(POACEAE) En: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000700008&lng=es&nrm=iso
18. Guo, R., Shi, L.X., Ding, X.M., Hu, Y., Tian, S.Y., Yan, D.F., Shao, S., Gao, Y., Liu, R., Yang, Y.F. (2010) Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and ion balance in wheat, *Agron. J.*, 102: 1252 -1260.
19. Guo, R., Zhou, J., Hao, W., Gong, D., Zhong, X.,Gu, F., Liu, Q., Xia, X., Tian, J., Li, H. (2011) Germination, growth, photosynthesis and ionic balance in *Setaria viridis* seedlings subjected to saline and alkaline stress, *Can. J. Plant Sci.*,91:1077-1088
20. Kalaji, M.H., Pietkewicz, S. (1993) Salinity effects on plant growth and other physiological processes, *Physiologiae Plantarum*, 15(2):89-124.
21. Keiffer, C.H.; Ungar, I.A. (1997) The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species. *Am. J. Bot.*, 84: 104-111.

22. Khan M.A., Gul B., Weber, D.J. (2000) Germination responses of *Salicornia rubra* to temperature and salinity. *Journal of Arid Environments*, 45: Pág. 207–214.
23. Koppitke, P.M., Menzies, N.W. (2005) Effect of pH on Na⁺ induced Ca²⁺ deficiency, *Plant and Soil*, 269: 119-129.
24. Lacerda, C.F., Assis Júnior, J.O., Lemos Filho, L.C.A., De Oliveira, T.S. (2006) Morpho-physiological responses of cowpea leaves to salt stress, *Braz. J. Plant Physiol.*, (18)4: 455-465.
25. Li R, Shi F, Fukuda K (2010) Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth, organic solutes, and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Environm Experim Botany* 68: 66–74.
26. Li R., Shi, F., Fukuda, K., Yang, Y. (2010) Effects of salt and alkali stresses on germination, growth, photosynthesis and ion accumulation in alfalfa (*Medicago sativa* L.), *Soil Sci. Plant Nutr*, 56: 725-733.
27. Liang, Z.W, Jiang, C.J, Wei, L.X, Sun, Y., Ma, H.Y., Li, X.W., Lv, B.S. (2013) Differences in growth and physiology of rice in response to different saline-alkaline stress factors, *Agronomic journal*, 105: 1119-1128.
28. Liu, Y., Wang, Q., Zhang, Y., Cui, J., Chen, G. (2014) Synergistic and antagonistic effects of salinity and pH on germination in switchgrass (*Panicum virgatum* L.), *PLoS ONE*, 9(1): 1-10.
29. Liu, Y., Wang, Q., Zhang, Y.; Cui, J., Chen, G. (2014) Synergistic and antagonistic effects of salinity and pH on germination in switchgrass (*Panicum virgatum* L.), *PLoS ONE*, 9(1): 1-10.
30. Loch, D.S; Harvey, G.L. (1999) *Chloris gayana* in Australia. En: *Forage seed Production: Tropical and subtropical species*, New York, Cabi publishing, pag 344.
31. Mahjoory, A.R (2011) The salt-soil system placement (Taxonomy) in relation to global changes and challenges en: *Proceedings of the global forum salinization and climate change*, Roma, Fao, World Soil Resources Reports, (105):15-16.

32. Martín, G.O. (2010) Pasturas cultivadas para el NOA: Grama Rhodes. *Revista Producir XXI*, Bs. As., 18(219):48-52.
33. Máser, P., Eckelman, B., Vaidyanathan, R., Horie, T., Fairbairn, D., Kubo, M., Yamagami, M., Gamaguchi, K., Nishimura, M., Uozumi, A. (2002) Altered shoot/root Na^+ distribution and bifurcating salt sensitivity in *Arabidopsis* by genetic disruption of the Na^+ transporter AtHKT1, *Febs. Lett*, 531: 157-161.
34. Miaczynski, C. (1995) Los suelos hidromórficos e hidrohalomórficos de la provincia de Buenos Aires, *Rev. Fac. Agr. UBA*, 15: 23-36.
35. Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress, *Plant Cell Environ.*, 25: 239-250.
36. Munns, R., Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 651-81.
37. Pasternak, D., Nerd, A., De Malach, Y. (1993) Irrigation with brackish water under desert conditions IX. The salt tolerance of six forage crops, *Agricultural Water Management*, 24, 321–334.
38. Peretti, A. (1994) Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, pag. 109-133.
39. Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wrigh, I.J., Villar, R. (2009) Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis, *New Phytol* 182: 565-588.
40. Radi, A.A, Abdel-Wahab, D.A, Hamada, A.M. (2012) Evaluation of some bean lines tolerance to alkaline soil. *Journal biology earth*, 2 (1):17-18
41. Ribotta, A., Bollati, G., Griffa, S., López Colomba, E., Carloni, E., Quiroga, M., Grunberg, K. Mejoramiento genético para tolerancia a la salinidad en Grama Rhodes diploide. En: INTA, Jornadas forrajeras tropicales 2013, EEA Rafaela, 58: 49-53.
42. Rodriguez Perez, L. (2006) Implicaciones fisiológicas de la osmoregulación en plantas, *Agronomía Colombiana*, 24(1): 28-37.

43. Rus, A., Lee, B., Muñoz, A., Sharkhuu, J., Zhu, R. Bressan, E., Hasegawa, P. (2004) AtHKT1 facilitates Na^+ homeostasis and K^+ nutrition in planta. *Plant Physiol.* 136, 2500-2511.
44. Sammartino, F. (2010) Una revolución en la cuenca del Salado. *Diario la Nacion*. <http://www.lanacion.com.ar/1245011-una-revolucion-en-la-cuenca-del-salado>
45. Shi, D.C., Wang, D.L. (2005) Effects of various salt-alkaline mixed stresses on *Aneurolepidium chinense* (Trin.) Kitag, *Plant and soil*, 271: 15-16.
46. Shi, H., Lee, B., Wu, S., Zhu, J. (2003) Overexpression of a plasma membrane Na^+/H^+ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Nat Biotechnol.*, 21: 81-85.
47. Singh, R.K., Mishara, B., Chauhan, M.S., Yeo, A.R., Flowers, S.A., Flowers, T.J. (2002) Solution culture for screening rice varieties for sodicity tolerance. *J. Agr. Sci.* 139: Pág. 327-333.
48. Soares-Cordeiro, A.S., Carmo-Silva, A.E., Bernardes Da Silva, A., Marques Da Silva, J., Keys, A.J., Arrabaça, M.C. (2009) Effects of rapidly imposed water deficit on photosynthetic parameters of three C4 grasses, *Photosynthetica*, 47: 304-308.
49. Taiz, L., Zeiger, E. (2006) *Fisiología Vegetal*, Universitat de Jaume I, Castelló de la plana, tercera edición, (2)3: pag.1131-1180.
50. Taleisnik, E., Peyrano, G., Arias, C. (1997) Response of *Chloris gayana* cultivars to salinity: Germination and early vegetative growth, *Tropical grassland*, 31: Pág 232-240.
51. Villafañe, R. (2000) Calificación de los suelos por sales y dispersión por sodio y su aplicación en la evaluación de tierras, *Agronomía tropical*, Venezuela, 50 (4): 645-658.
52. Wang, D., Wilson, C., Shannon, M.C. (2002) Interpretation of salinity and irrigation effects on soybean canopy reflectance in visible and near-infrared spectrum domain, *Int.J. R. Sensing*, 23 (5): 811-824

- Wang, H., Wu, Z., Chen, Y., Yang, C., Shi, D. (2011) Effects of salt and alkali stresses on growth and ion balance in rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Soil Environ.*, 57: 286-294.
53. Wicke, B., Edward, S., Dornburg, V., Vashev, B., Gaiser, T., Turkenburg, W., Faaij, A. (2011) The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils, *energy & environmental science*, 4: 2669-2681.
54. Yang, C., Guo, W., Shi, D. (2010) Physiological roles of organic acids in alkali-tolerance of the alkali-tolerant halophyte *Chloris virgata*, *Agron.J.* 102: 1089-1089.
55. Yang, C.W., Jianaer, A., Li, C.Y., Shi, D.C., Wang, D.L. (2008) Comparison of the effects of salt-stress and alkali-stress on photosynthesis and energy storage of an alkali-resistant halophyte *Chloris virgata*, *Photosynthetica*, 46: 273–278
56. Yang, Y., Guo, R., Shi, L., Ding, X., Hu, Y., Tian, S., Yan, D., Shao, S., Gao, Y., Liu, R. (2010) Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and ion balance in wheat, *Agron. J.*, 102 (4) 1252-1260.
57. Yang, C.W., Chong, J.N., Kim, C.M., Li, C.Y., Shi, D.C., Wang, D.L. (2007) Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions. *Plant Soil*, 294, 263–276.