

Pestalardo, Carlos

Influencia de las condiciones del estrés salino sobre un cultivar resistente y un cultivar susceptible de Lotus tenuis al estado vegetativo

**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:

Pestalardo, C. 2015. Influencia de las condiciones del estrés salino sobre un cultivar resistente y un cultivar susceptible de Lotus tenuis al estado vegetativo [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/influencia-estres-salino-pestalardo.pdf> [Fecha de consulta:.....]



Facultad de Ciencias Agrarias - Pontificia Universidad Católica Argentina

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Ingeniería en Producción Agropecuaria

“Influencia de las condiciones del estrés salino sobre un cultivar resistente y un cultivar susceptible de *Lotus tenuis* al estado vegetativo”

**Trabajo Final de Graduación para optar por el título de:
Ingeniero en Producción Agropecuaria**

Autor: Pestalardo Carlos.

Profesor Tutor: Ing. P.A. María Elena Vago Msc.

Profesor cotutor: Dra. Marina Ciancia

Profesor cotutor: Dr. Jorge Zavala

Modalidad: Experimental

Fecha: 2015

Índice

Resumen	3
Capítulo 1 “Introducción General”	
1.1 Introducción	5
1.2. Su importancia y distribución geográfica	7
1.3. El estrés salino: Su importancia, incidencia y repercusión	10
Capítulo 2	
2.1. Objetivos	14
2.2. Hipótesis	14
2.3. Materiales y Métodos	15
Resultados y discusión	18
Conclusiones	25
Bibliografía	27
Anexo	32

RESUMEN

Influencia de las condiciones del estrés salino sobre un cultivar resistente y un cultivar susceptible de *Lotus tenuis* al estado vegetativo

Lotus tenuis es una leguminosa perenne, naturalizada en los campos bajos de la Cuenca del Salado. Es una especie alógama y presenta una alta variabilidad genética (Andrés A., and Rosso 2007), que le permite crecer y desarrollarse en distintas condiciones ambientales (Goldberg, E.E. et al 2010). Son pocas las especies de relevancia agrícola capaces de crecer bajo condiciones que combinan inundación y salinidad (Escaray 2007). Se ha demostrado la existencia de poblaciones de *L. tenuis* con diferentes niveles de tolerancia a distintos niveles de inundación y salinidad (Teakle, N.L. et al 2010; Striker *et al.* 2012). 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. Debido a esto surgió mi interés por profundizar en el estudio de esta especie y su posible adaptación a suelos con problemas de salinidad. Se trabajo con dos familias de medios hermanos (FMH) de *L. tenuis* caracterizadas como tolerantes o susceptibles a salinidad provenientes del programa de mejoramiento genético del INTA Pergamino. Se utilizaron 550 plantas de cada genotipo que fueron sometidas a dos tratamientos salinos. Las plantas se colocaron de a cinco en macetas (20 cm. de diámetro) en invernáculo, se las dividió en: dosis 1 (9 repeticiones), fueron regadas con una solución 75mM de cloruro de sodio (NaCl), dosis 2 (9 repeticiones) regadas con una solución 150 mM NaCl, y un grupo testigo control

para cada genotipo (4 repeticiones) regado sin NaCl. El tratamiento salino se aplicó durante 62 días hasta la aparición de la primera flor. Se determinó producción de biomasa de parte aérea (tallos mas hojas). También se determinó porcentaje de materia seca, por secado a 65°C hasta peso constante de tallo más hojas, corona más raíz, longitud de tallo y raíz, y número de ramificaciones del tallo.

Los resultados analizados muestran que la FMH 490 o tolerante posee mayor desarrollo en todas las variables analizadas y en todas las condiciones ensayadas excepto en longitud de raíz y corona. Pero, al sufrir el estrés los porcentajes de reducción en esta FMH que se observan son similares a los porcentajes de reducción observados en la FMH 2241 e incluso, para algunas variables el genotipo susceptible 2241 presentaba menores pérdidas frente al estrés recibido (MS por planta corona y raíz, Biomasa por planta corona y raíz, largo de tallo y Grs de tallo por planta.). El efecto de la salinidad fue igual o similar entre ambas isólineas, por lo que la que presentaba mayor crecimiento produjo mayor biomasa en condiciones de estrés salino que la de menor crecimiento. La tolerancia al estrés salino fue similar en ambos genotipos, solo que una presentó más desarrollo que la otra.

El análisis de las variables estudiadas mostró que en este ensayo el crecimiento de las plantas tiende a disminuir al aumentar la dosis de NaCl y que, a igualdad de dosis, los parámetros de crecimiento evaluados fueron mayores en el genotipo tolerante.

1. Capítulo I. Introducción General

1.1 Introducción

La Argentina es un país extenso (2.795.700 km²) con una gran variedad de suelos, climas y paisajes que conforman ambientes diferentes para diversos desarrollos agropecuarios, ya sean agrícolas, ganaderos o mixtos. La variada cantidad de especies forrajeras en su flora nativa, y la favorable adaptación de otras especies que no lo son, hace que el país posea una gran producción de pastos adaptables a cada región en particular, destacándose las leguminosas y gramíneas por sobre el resto de las especies.

La gran diversidad de regiones ecológicas o ecosistemas presentes en la Argentina, a su vez se subdividen en zonas o ambientes particulares, con sus características propias (Maddaloni-Ferrari, 2005). En la provincia de Buenos Aires se encuentra una zona denominada Pampa Deprimida o Cuenca del Salado, donde se ubica una de las principales zonas de cría de ganado vacuno, en la cual existen problemas de salinidad y alcalinidad en las partes más bajas.

La vegetación natural dominante es la estepa graminosa, alternando matas bajas y altas. Las especies que se encuentran son *Paspalum quadrifarium*, *Hordeum pusillum*, *Distichilis scoparia* y *Ambrosia tenuifolia* entre otras. En las zonas lagunosas, se destacan los juncos (*Scirpus riparius*) acompañado por totora (*Typha* sp) y espadaña (*Zizaniopsis bonariensis*).

Una característica de este ambiente para sus zonas más bajas, es la presencia de sales, en algunos casos en porcentajes tóxicos, altos niveles de sodio intercambiable en el complejo de intercambio de los suelos y el consiguiente

elevado pH. Esto se debe a los problemas de drenaje que tiene la zona. Al eliminarse el agua y comenzar la desecación de las capas superiores del suelo, tienen lugar la alcalinización y salinización con una intensidad relacionada a la composición y concentración salina de la napa freática. (Zamolinski, 2000).

Estas características del ambiente hacen que las especies forrajeras adaptadas a estas zonas, ya sean nativas o introducidas, sean muy valoradas agronómicamente. Dentro de estas especies se destaca el aporte de las especies pertenecientes a la Familia Leguminosas.

Las leguminosas muestran una enorme diversidad biológica y son capaces de asociarse simbióticamente con micorrizas. Además, las especies de esta familia se caracterizan por su habilidad para establecer interacciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno. Esta asociación las vuelve más competitivas en suelos con deficiencias de nutrientes y es por ello que usualmente se las reconoce como “plantas pioneras”. Estas ventajas estimularon su adopción en los orígenes de la agricultura y se han vuelto una parte importante de los sistemas agrícolas sustentables (Escaray 2012) ya que aumentan el valor nutricional promedio de la oferta forrajera, mejoran las condiciones del suelo y fijan nitrógeno atmosférico (Teakle, 2010) que puede ser utilizado por otras especies presentes del tapiz vegetal.

El continuo crecimiento de la agricultura sobre la zona ganadera de invernada y de cría en la Cuenca del Salado, ha provocado una búsqueda de incremento de productividad en zonas marginales para continuar con estas producciones ganaderas. Las forrajeras que se adaptaban a las mejores zonas de ganadería no son generalmente adaptables a las zonas ganaderas actuales, por lo que se ha profundizado la búsqueda, caracterización y selección de especies

forrajeras que aumenten la productividad para esas zonas más marginales. Dentro de éstas especies se destaca el *Lotus tenuis*, también conocido como *Lotus glaber* var *Mill.* o *Lotus pata de pájaro*, por su adaptabilidad y tolerancia a diversos estreses ambientales que le otorgan una elevada potencialidad de utilización en la restauración de ambientes degradados y/o contaminados (Escaray *et al.* 2012).

1.2 Lotus tenuis: Su importancia y distribución geográfica

Lotus tenuis, es una especie herbácea perenne que posee el potencial para desarrollarse en suelos salinos, pertenece al género *Lotus* de la familia de las leguminosas, y comprende alrededor de 200 especies anuales o perennes, ampliamente distribuidas en todo el mundo.

La mayoría de las especies de *Lotus* son nativas de Europa, Asia, África, Australia y algunas islas del océano Atlántico y Pacífico. En la actualidad presentan una distribución mundial, excepto en regiones muy frías y algunas áreas tropicales del sudeste de Asia y América Central. Esto se debe a que el hombre la fue introduciendo debido a sus cualidades y adaptabilidad a diferentes ambientes. Es ampliamente utilizada como planta forrajera en zonas templadas.

En la Argentina, *Lotus tenuis* es una especie que fue introducida y presenta una muy buena adaptación a los campos bajos y especialmente los bajos salino-alcalinos de la Pampa Deprimida de la Provincia de Buenos Aires, constituyendo un caso particular de invasión biológica positiva. Es muy valorada como especie forrajera por su aporte proteico a la dieta en los sistemas ganaderos de la región y debido a su buena adaptación en áreas con predominancia de gramíneas y pobre presencia de leguminosas.

Lotus tenuis es una especie de ciclo primavera-estivo-otoñal (PVO) y su floración en la zona de la Cuenca del Salado se extiende desde noviembre hasta marzo. Presenta hábito de crecimiento postrado, y ramificaciones desde las yemas axilares, cuya densidad varía de acuerdo al genotipo y a las condiciones ambientales. Es una especie diploide ($2n=2x=12$) y presenta una raíz pivotante con una zona engrosada, leñosa llamada corona, a partir de la cual también ocurren brotaciones. (Valencia, 2008).

Entre los atributos que pudieron haber contribuido a su propagación en los pastizales de la Pampa Deprimida, se destacan:

- Alta variabilidad genética, dentro y entre las poblaciones. Esta diversidad puede haber ayudado a aumentar su posibilidad de establecimiento en diferentes ambientes.
- Alta plasticidad fenotípica (morfológica y fisiológica) que le permiten superar diferentes contingencias ambientales que acontecen durante su ciclo de vida.
- Semillas duras, impermeables al agua, que permiten formar un banco persistente en el suelo. Buena tolerancia al anegamiento y al paso por el tracto digestivo de los herbívoros facilitando su distribución como así también, su restablecimiento a partir del banco de semillas del suelo después de una quema o sobrepastoreo.
- Posibilidad de desarrollarse en suelos con un rango de pH entre 4-8 (Correa et al. 2001), presentando un eficiente uso del fosforo, baja a media concentración de taninos (Strttmater et al. 2006) y una alta calidad nutricional (biomasa, digestibilidad y proteína). No produce empaste. Altas concentraciones de sales no sólo afectan a las plantas directamente, sino que también producen un

efecto dispersante y deterioro de la estructura del suelo, disminuyendo la porosidad y la permeabilidad del agua. *Lotus tenuis* podría favorecer al aumento de la macroporosidad del suelo, mejorando la porosidad y permeabilidad del agua a través de su raíz pivotante.

Puede establecer asociaciones simbióticas con rizobios (gen *Rhizobium*, *Mesorhizobium* y *Bradyrhizobium*) y micorrizas, que la vuelven más competitiva en suelos con deficiencias de nutrientes debido a la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, aún bajo condiciones de inundación (Escaray 2007).

El *Lotus tenuis* además de poseer una capacidad de incorporar nitrógeno atmosférico al suelo en simbiosis con bacterias fijadoras, interfiere en el establecimiento de malezas o especies de pobre valor forrajero, mejorar la calidad y digestibilidad del forraje e incrementar la productividad primaria de los pastizales (Cahuepe, 2004), también posee la capacidad de tolerar bajas temperaturas, conservando biomasa aérea verde durante el invierno como también mayores temperaturas estivales.

El principal mecanismo del *Lotus tenuis* para ser tolerante a la salinidad se centra en el control del Na⁺ absorbido por las raíces y su subsecuente distribución a los diferentes tejidos de la planta, buscando que llegue la menor cantidad a las hojas (Plett- Moller 2010). En estudios anteriores, como son los de García y Mendoza (García y Mendoza, 2007), se observa que siempre hay una mayor concentración de Na⁺ en las raíces que en las hojas.

Un estudio reciente demostró que entre 12 especies de leguminosas perennes, *Lotus tenuis* fue la única que sobrevivió en un suelo salino con alta frecuencia e intensidad de inundaciones. (Nichols et al. 2008)

1.3 El estrés salino: Su importancia, incidencia y repercusión

Más de 800 millones de hectáreas en el mundo presentan un alto contenido de sales. Esto corresponde a más del 6% del total de tierras del mundo. Esto se produjo por causas naturales, debido a la acumulación de sales a lo largo de los años en zonas áridas y semiáridas. La meteorización de rocas parentales fue liberando a través del tiempo sales solubles de distinto tipo, fundamentalmente cloruros de sodio, calcio y magnesio y en menor proporción sulfatos y carbonatos. El cloruro de sodio es la más soluble y la que se ha liberado en forma más abundante de las sales mencionadas. Otra de las formas por las cuales se produce la acumulación de sales es por la deposición de sal oceánica llevada por vientos o por lluvias. La lluvia normalmente posee de 6-50 mg/kg de NaCl, decreciendo la concentración a medida que se aleja de la costa. Una lluvia que contenga 10 mg/kg de NaCl va a depositar cerca de 10 kg/ha de sal con una lluvia de 100 mm. (Ranna Munns, 2008). Aparte de la salinidad originada naturalmente, existe en la actualidad un aumento significativo de hectáreas afectadas por estrés salino debido al desmonte, deforestación y riego, que producen un aumento y concentración de sales. De las 1500 millones de hectáreas cultivadas sin irrigación, aproximadamente un 2% o sea 32 millones de hectáreas se encuentran afectadas con distinto grado de estrés salino por efecto antrópico. De las 230 millones de hectáreas del mundo que se cultivan utilizando riego, 45 millones de hectáreas, o sea un 20% se ven afectados por salinidad secundaria. Hoy el riego es causante de salinidad, ya que al aumentar la cantidad de agua sobre las tierras, si a estas no se les hace el estudio necesario para saber su concentración de sales y se usa en

mayor cantidad que lo recomendado, terminaran aumentando la concentración, perjudicando los suelos.

En la Pampa Deprimida, como se mencionó al comienzo de la introducción, interactúan procesos vinculados al halomorfismo como la salinización, la sodificación y la alcalinización. La salinización es el proceso por el cual se produce la acumulación de sales solubles en el suelo. Esto se debe a la presencia de una fuente de sales solubles (en este caso el agua subterránea o napa freática) y a condiciones que hacen que los procesos de acumulación predominen sobre los de eliminación de estas sales solubles. Un suelo es considerado salino cuando su conductividad eléctrica es igual o mayor a 4 dS/m que equivale a aproximadamente 40 mM NaCl y genera una presión osmótica aproximada de 0,2 MPa. . Las principales sales involucradas en este proceso son los cloruros (Cl^-) y sulfatos (SO_4^-), en especial de Na^+ y en menor medida Ca^{+2} y Mg^{+2} . La sodicidad o alcalinización se desarrolla cuando en la solución del suelo existe una concentración elevada de sales sódicas capaces de sufrir hidrólisis alcalina, de tipo carbonato y bicarbonato de sodio.

A medida que va aumentando el nivel de sales y sus consecuencias sobre las plantas, podemos determinar que hay dos niveles: uno primero, el llamado suelo salino, con altas concentraciones de diferentes sales con un pH entre 7-9 y al incrementarse la salinidad, aumentando las concentraciones de Na^+ , se transforma en un suelo sódico. También la salinidad puede estar compuesta por la presencia de sales como el Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^+ , como así también de SO_4^{-2} . Una alta sodificación afectaría a las plantas directamente (adaptación al ambiente, sobrevivencia y productividad) y afectaría la estructura del suelo, disminuyendo la porosidad y permeabilidad del agua.

El efecto perjudicial de la salinidad en el crecimiento de las plantas está asociado al bajo potencial osmótico de la solución del suelo, a un desbalance nutricional y a un efecto iónico.

Hay una variación en la tolerancia al estrés salino evidenciada en las plantas. Por ejemplo entre monocotiledóneas y dicotiledóneas se observa una mayor tolerancia de las dicotiledóneas frente a las monocotiledóneas. A su vez, dentro de éstas, aquellas plantas que sean halófilas (adaptadas a la salinidad) tienen mayor tolerancia, mientras que las denominadas glicófitas, por el contrario no son capaces de resistir las sales del suelo en el grado en que lo hacen las halófitas. Normalmente hay una concentración umbral de sal por arriba de la cual las glicófitas empiezan a mostrar signos de inhibición del crecimiento, decoloración de sus hojas y pérdida de materia seca.

Las halófitas son plantas que toleran una notable concentración de sales que matarían al 99% de otras especies. Tienen la capacidad de poder completar su ciclo de vida en una concentración de sal de 200 mM de NaCl en condiciones similares a las que se podrían encontrar en el medio natural. Pero no todas las plantas halófitas se comportan de la misma forma ante la salinidad. Algunas de ellas son capaces de tolerarla, mientras que otras la necesitan para su correcto funcionamiento (Parra Boronat, 2012). La respuesta vegetal al estrés salino puede dividirse en dos fases. Una rápida, la fase osmótica, que inhibe el crecimiento de las hojas jóvenes, y una fase más lenta, la fase iónica, que acelera la senescencia de las hojas maduras.

La primer fase, arranca luego de que la concentración de sales que rodea a las raíces supera el nivel de umbral (40 mM NaCl para la mayoría de las plantas), cayendo significativamente el nivel de crecimiento de los brotes. Esta produce la

inmediata reducción de la expansión celular en la punta de las raíces, detiene el crecimiento de nuevas hojas (haciendo que las hojas con el tiempo se hagan más chicas y finas) y se produce cierre de los estomas. Curiosamente, el crecimiento de nuevos brotes cae mas sensiblemente que el crecimiento de las raíces, algo que ocurre también en suelos secos, y sobre lo cual no hay todavía una explicación fisiológica.. (Rana Munns, 2008).

La segunda fase, o fase iónica, comienza cuando la concentración de sales es alta en la planta y ya es tóxica en las hojas viejas (se observa que estas senescen). Si la diferencia de hojas viejas que mueren es mayor que la producción de hojas nuevas, la capacidad fotosintética de la planta no podrá cubrir los requerimientos de hidratos de carbono, lo que hará que frene en gran medida su crecimiento. (Rana Munns, 2008).

El impacto de la fase iónica se produce mas tarde que la fase osmótica y afectará en menor medida al crecimiento de la planta, especialmente en niveles bajos de salinidad. En estos casos las consecuencias se ven en semanas o incluso meses, pero hay efectos en el desarrollo reproductivo de las plantas, floreciendo tempranamente o teniendo menor cantidad de flores por planta.

Son pocas las especies de relevancia agrícola capaces de crecer bajo condiciones que combinan inundación y salinidad (Escaray 2007). Se ha demostrado la existencia de poblaciones de *L. tenuis* con diferentes niveles de tolerancia a distintos niveles de inundación y salinidad (Teakle, N.L. et al 2010; Striker *et al.* 2012). 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.

Debido a los puntos expuestos anteriormente y sabiendo de la existencia de poblaciones de *Lotus tenuis* que presentan diferencias respecto a su tolerancia al estrés surgió mi interés de sumarme a este proyecto de la facultad y evaluar la respuesta frente a este estrés de acuerdo a los objetivos que se detallan a continuación:

2.1. Objetivos

El objetivo del presente proyecto será el de evaluar la respuesta de la influencia de las condiciones del estrés salino sobre un cultivar resistente y un cultivar susceptible de *Lotus tenuis* al estado vegetativo.

2.2 Hipótesis

Ho) El estrés salino en el estado vegetativo podría producir cambios que producirían un efecto diferencial entre genotipos tolerantes y susceptibles de *Lotus tenuis*

H1) Estos cambios podrían evidenciarse por una menor producción de materia seca (MS), menor producción de biomasa aérea y radicular, diferente relación tallo – hoja y un menor promedio de ramificaciones entre los genotipos tolerantes y susceptibles sometidos al estrés salino

2.3. Materiales y métodos:

- Genotipos utilizados:

Las semillas de *L. tenuis* que se utilizaron en el presente proyecto fueron recolectadas entre los años 2004 y 2006 en campos bajos de la Provincia de Buenos Aires, con un rango de latitud de 33°47' a 37°39' y de longitud de 59°02' a 60°52' y caracterizadas posteriormente morfo-fisiológicamente (Franco 2011). Posteriormente se seleccionaron genotipos tolerantes y susceptibles a la salinidad, los cuales fueron re-cultivados en condiciones de plantas aisladas. En el mes de febrero de 2008 se realizó la cosecha de semillas de cada planta, siendo éstas conservadas en la unidad de Mejoramiento de forrajeras de INTA - Pergamino. La estación Experimental INTA Pergamino nos suministró gentilmente las semillas de las dos familias de medios hermanos caracterizadas como tolerantes y susceptibles a salinidad.

Durante la segunda mitad del año 2012 se llevó adelante el cultivo de los genotipos de *L. tenuis* suministradas por el INTA en condiciones de invernáculo en las instalaciones de la UCA Fac. de Cs. Agrarias. El mismo implicó el escarificado de las semillas, la siembra en cajas de petri y la utilización de estufas de cultivo para la obtención de plántulas. Las plántulas luego se trasplantaron en bandejas de germinación sobre un sustrato de tierra mejorada y perlita. Una vez obtenido un buen desarrollo radicular, las plantas se trasplantaron a las macetas definitivas que se encontraban distribuidas en bandejas, de a cinco macetas por bandeja. Dentro de cada maceta en un sustrato de tierra mejorada y perlita se colocaron 5 plantas. Las plantas logradas de las variedades tolerante y susceptible, fueron divididas en tres grupos cada una. Un grupo testigo control, sin aplicación

de cloruro de sodio en el riego. Un grupo llamado “dosis 1” que fue regado con una solución 75 mM NaCl y un grupo llamado “dosis 2” que fue regado con una solución 150 mM NaCl. (Ver Foto 1 en Anexo)

- **Tratamientos:**

- Tolerantes:

- ✓ Testigo 20 macetas (cinco plantas cada una) en cuatro bandejas

- ✓ Dosis 1(75 mM NaCl): 45 macetas (cinco plantas cada una) en nueve bandejas

- ✓ Dosis 2(150mMNaCl): 45 macetas (cinco plantas cada una) en nueve bandejas

- Susceptibles:

- ✓ Testigo 20 macetas (cinco plantas cada una) en cuatro bandejas

- ✓ Dosis 1 (75 mM NaCl): 45 macetas (cinco plantas cada una) en nueve bandejas

- ✓ Dosis 2 (150mMNaCl): 45 macetas (cinco plantas cada una) en nueve bandejas

Las 550 plantas obtenidas de cada genotipo fueron sometidas a los tratamientos ya mencionados con las dosis 1 y dosis 2 con 9 repeticiones mientras que la control solo con 4 repeticiones. El tratamiento salino se aplico durante 62 días. (Ver Foto 2 en Anexo)

Las plantas fueron cosechadas al momento de la aparición de la primera flor. Se separaron biomasa de tallo y hojas y biomasa de corona y raíz. Se determinó porcentaje de materia seca, por secado a 65°C hasta peso constante en estufa a aire forzado de tallo más hojas y corona más raíz. (Ver Foto 3 en Anexo)

Se midió longitud de tallo y raíz, y número de ramificaciones. (Ver Foto 4 en Anexo)

Se procedió a la digitalización de datos y se utilizó el programa INFOSTAT para realizar el análisis estadístico de los mismos, utilizando el análisis de varianza “ANOVA” de dos factores para poder analizar la variación entre dosis y variedades. La comparación de las variables se realizó utilizando el método de comparación de LSD Fischer.

Durante el ensayo se registró la temperatura y contenido hídrico del suelo (macetas) dentro del invernáculo con un equipo logger de 16 canales. También se llevaron a cabo mediciones con un conductímetro (Hanna HI 993310) a nivel maceta.

3. Resultados y discusión:

Para poder comparar los resultados obtenidos respecto al estrés salino y su efecto sobre cada genotipo utilizado, se procedió primero al armado de gráficos en porcentaje considerando los resultados encontrados para los testigos como el 100% y refiriendo la respuesta respecto al tratamiento dosis 1 y dosis 2 a ese testigo, en cada una de las variable analizadas: producción de biomasa y materia seca de tallo-hoja y corona-raíz, longitud de raíz y corona, longitud del tallo y el número de ramificaciones por planta. (Ver gráficos 1 a 9)

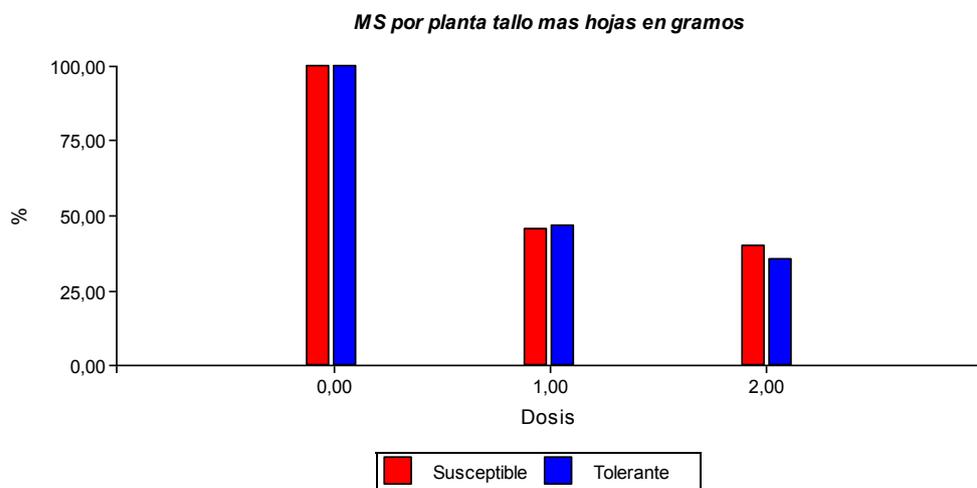


Grafico n°1 Producción de materia seca por planta de hoja mas tallo, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

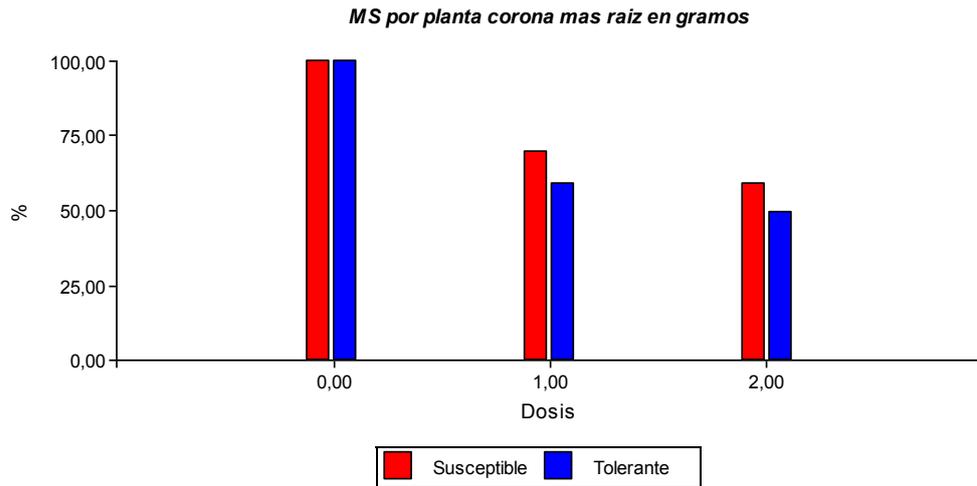


Grafico n°2 Producción de materia seca por planta de corona mas raiz, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

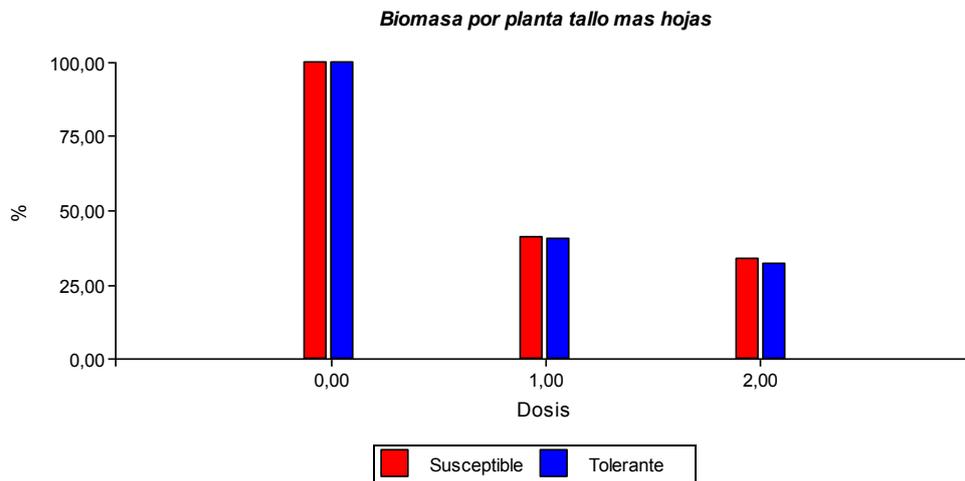


Grafico n°3 Producción de biomasa por planta de tallo mas hojas, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

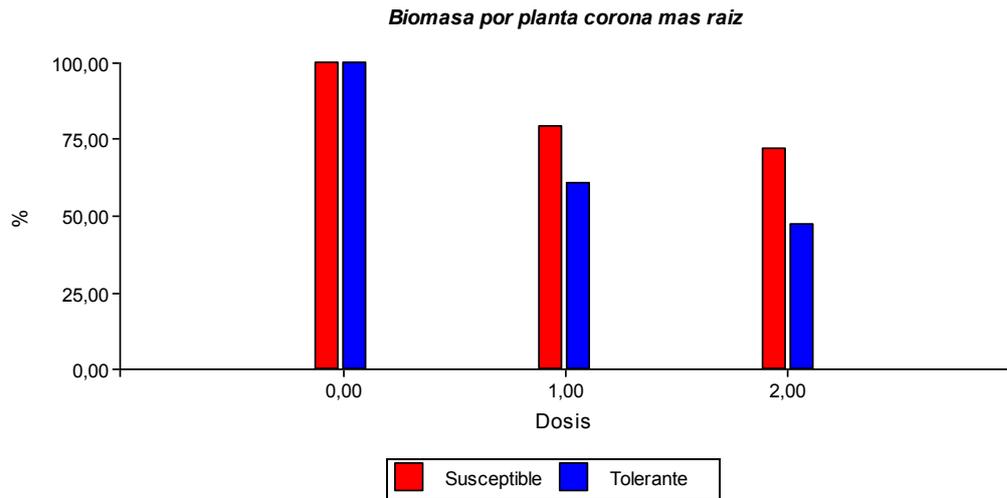


Grafico n°4 Producción de biomasa por planta de corona mas raiz, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

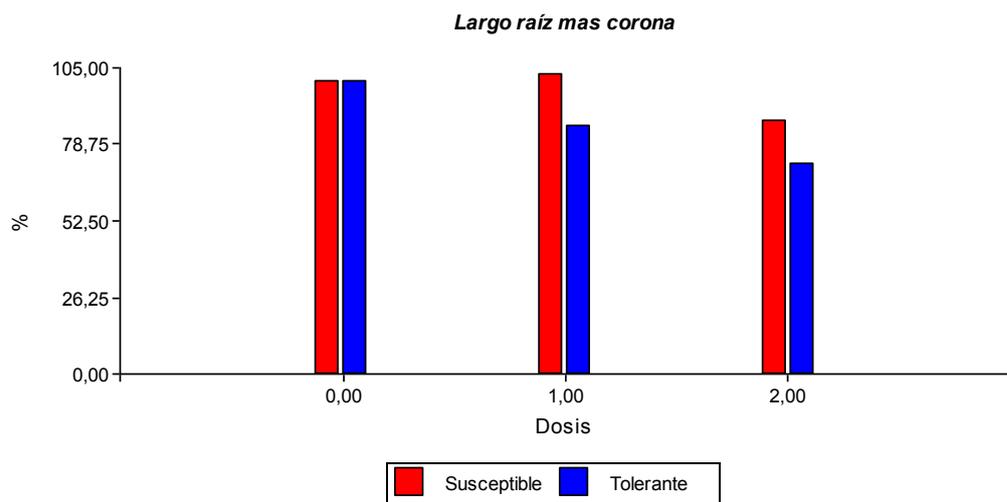


Grafico n°5 Largo de raíz mas corona, los valores expresados están en cm y se refiere a la testigo como el 100%.

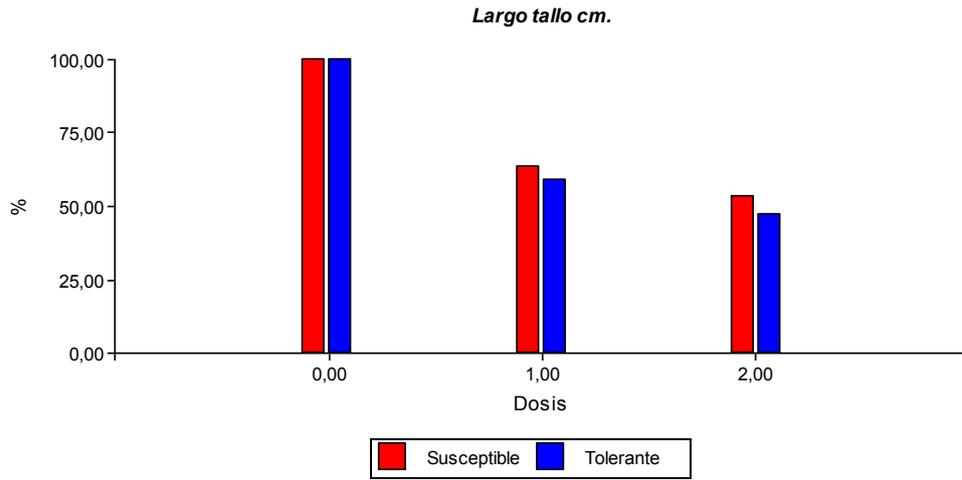


Grafico n°6 Largo de tallo, los valores expresados están en cm y se refiere a la testigo como el 100%.

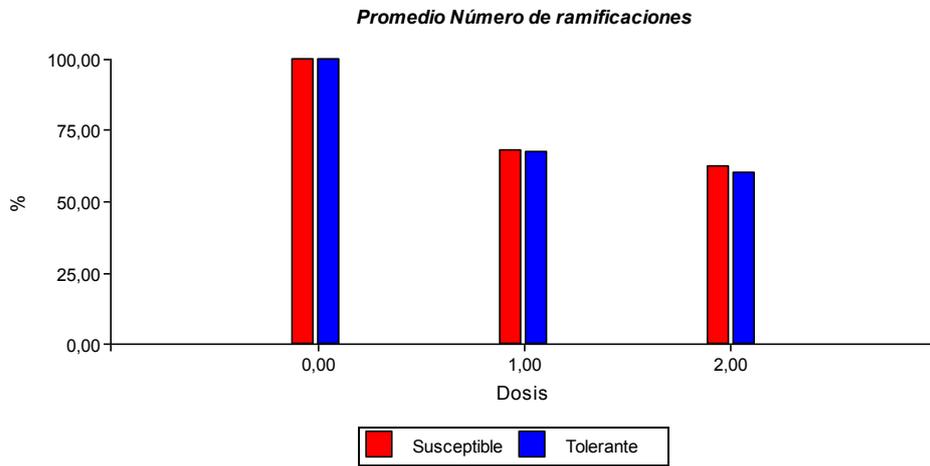


Grafico n°7 Promedio de numero de ramificaciones y se refiere a la testigo como el 100%.

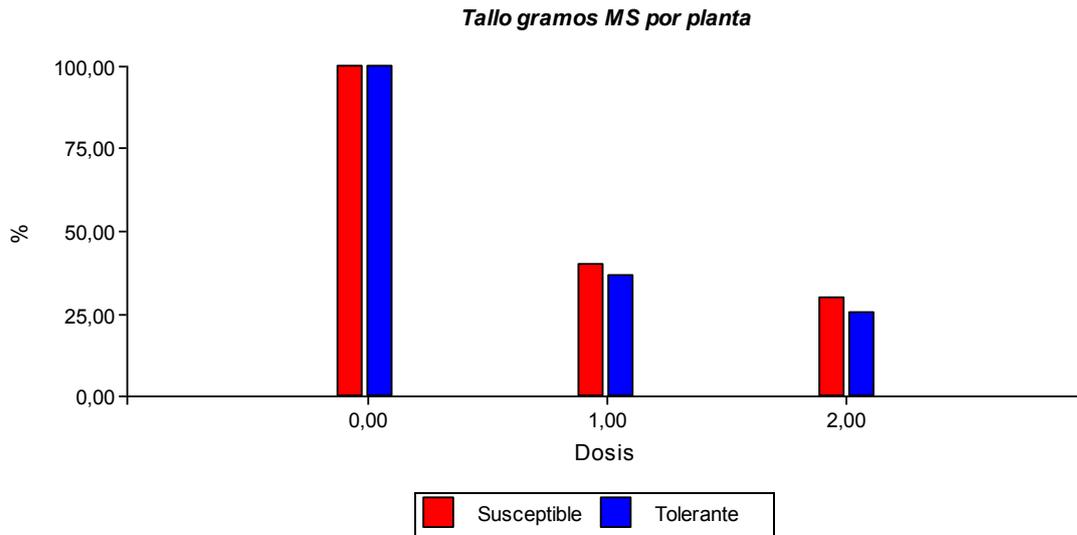


Grafico n°8 Producción de MS de tallo por planta, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

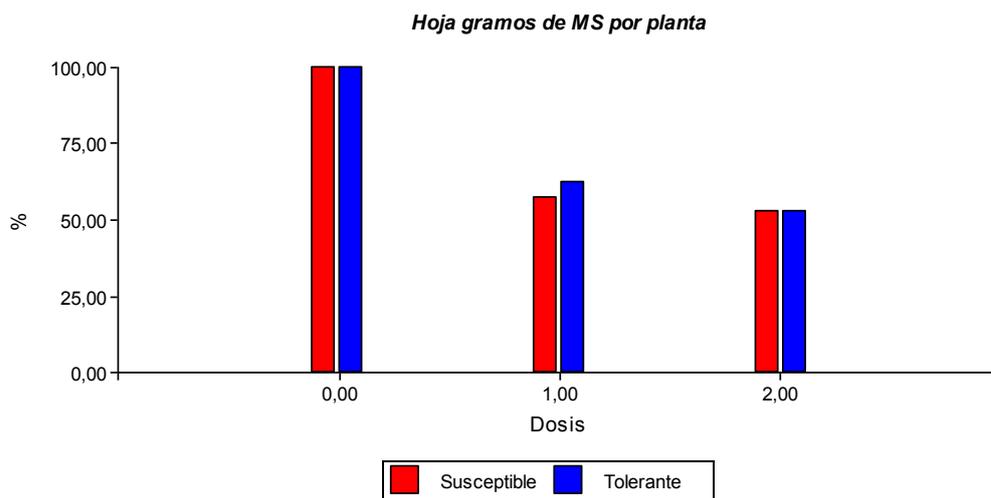


Grafico n°9 Producción de MS de hojas por planta, los valores expresados están en gramos/planta y se refiere a la testigo como el 100%.

Al hacer la comparación de este modo se observó que si bien las familias de medios hermanos 490 y 2241 habían sido clasificadas por estudios previos como tolerante y susceptible al estrés salino (Franco M.E. 2011)), en este ensayo frente al estrés presentaban un comportamiento similar e incluso, para algunas variables el genotipo susceptible 2241 presentaba menores pérdidas frente al estrés recibido

(MS por planta corona y raíz, Biomasa por planta corona y raíz, largo de tallo y Grs de tallo por planta.)

Los resultados analizados muestran que la FMH 490 o tolerante posee mayor desarrollo en todas las variables analizadas y en todas las condiciones ensayadas, pero al sufrir el estrés los porcentajes de reducción que se observan son similares a los porcentajes de reducción observados en la FMH 2241.

Luego se realizó el análisis de varianza de las seis variables en estudio y se observó que no había interacción significativa entre genotipos y dosis, por lo que se procedió al estudio de cada variable por separado. (Ver en Cuadro n°1)).

En el siguiente cuadro se resumen las comparaciones realizadas de genotipos y dosis de las 6 variables en estudio, pudiendo observar los promedios y la diferencia significativa entre las variables. (Ver Foto 5 en Anexo)

Cuadro n°1: “Comparación de genotipos y dosis para las variables analizadas”

Variable		Genotipo		Dosis			p interacción
		Tolerante	Susceptible	0	1	2	
MS por planta tallo+hoja	Media	1,72 b	1,27 a	2,93 d	1,37 c	1,09 c	
	EE	0,17	0,17	0,27	0,16	0,16	
	p(Factor)	0,034			0,0001		0,5336
MS por planta corona+raiz	Media	0,87 a	0,72 a	1,19 c	0,78 d	0,66 d	
	EE	0,09	0,09	0,15	0,09	0,09	
	p(Factor)	0,0813			0,0159		0,513
Biomasa x planta tallo + hoja	Media	9,63 b	7,26 a	14,48 d	6,03 c	4,82 c	
	EE	0,8	0,8	1,31	0,78	0,78	
	p(Factor)	0,0573			0,0005		0,7584
Largo de raíz y corona (cm)	Media	33,69 a	31,47 a	36,13 c	33,36 c	28,25 d	
	EE	0,93	0,93	1,59	0,94	0,94	
	p(Factor)	0,1006			0,0001		0,1867
Largo Tallo (cm)	Media	35,01 a	28,85 b	45,18 c	27,87 d	22,73 e	
	EE	1,26	1,26	2,04	1,2	1,2	
	p(Factor)	0,0015			0,0001		0,1712
Número de ramificaciones	Media	20,26 a	16,42 b	23,49 c	19,08 d	12,44 e	
	EE	1,07	1,07	1,73	1,03	1,03	
	p(Factor)	0,0156			0,0002		0,3302

Se observó que el genotipo tolerante tuvo en promedio, mayor crecimiento en todas las variables analizadas que el genotipo susceptible, salvo en longitud de raíz y corona. El análisis de las variables estudiadas mostró que en este ensayo el crecimiento de las plantas tiende a disminuir al aumentar la dosis de NaCl y que, a igualdad de dosis, los parámetros de crecimiento evaluados fueron mayores en el genotipo tolerante.

Debido al estrés salino disminuyó la producción de la materia seca aérea coincidiendo con lo publicado por Munns en uno de sus estudios en donde refería que el crecimiento de la biomasa aérea se ve más afectado por la salinidad que el crecimiento radicular (Rana Munns, 2008). A su vez, Kurt Deifel enunció que después de cierta concentración de sales, la producción de biomasa cae abruptamente, pudiendo explicar lo observado en este ensayo (K.S. Deifel, 2006). Del mismo modo Teakle observó un menor crecimiento en aquellas plantas que sufrieron estrés salino (Teakle, 2010).

Munns en su estudio sobre los mecanismos de tolerancia a la salinidad, explica el efecto osmótico causado por la concentración salina, observando que retrasa el crecimiento radicular en una primera fase, debido a que se reduce la expansión celular en la punta de las raíces

Conclusiones

Lotus tenuis es una leguminosa perenne, naturalizada en los campos bajos de la Cuenca del Salado. Son pocas las especies de relevancia agrícola capaces de crecer bajo condiciones de salinidad, En este trabajo se pudo observar, la mayor o menor tolerancia de dos familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* respecto a producción de biomasa de parte aérea (tallos mas hojas), porcentaje de materia seca de tallo más hojas y de corona más raíz, longitud de tallo y raíz, y número de ramificaciones del tallo frente a un estrés salino.

En el presente trabajo se logro observar que si bien las familias de medios hermanos 490 y 2241 habían sido clasificadas por estudios previos como tolerante y susceptible al estrés salino(Franco M.E. 2011), en este ensayo frente al estrés presentaban un comportamiento similar e incluso, para algunas variables el genotipo susceptible 2241 presentaba menores pérdidas frente al estrés recibido (MS por planta corona y raíz, Biomasa por planta corona y raíz, largo de tallo y Grs de tallo por planta.)

El genotipo tolerante posee mayor desarrollo en todas las variables analizadas y en todas las condiciones ensayadas, pero al sufrir el estrés los porcentajes de reducción que se observan son similares a los porcentajes de reducción observados en el genotipo susceptible.

La alimentación de rodeos de cría en campos bajos de cuenca del Salado se encuentra limitada por la cantidad y calidad de la biomasa de especies forrajeras que desarrollan en esas zonas. La introducción de genotipos de *Lotus tenuis* tolerantes a las situaciones de estrés salino que imperan en esas zonas se puede

convertir en una herramienta con un altísimo potencial para mejorar la alimentación de esos rodeos.

Sería interesante continuar con el estudio del estrés salino sobre estas familias de medios hermanos y su comportamiento respecto a su digestibilidad y consumo voluntario por rumiantes en pastoreo.

Bibliografía

- Zamolinski. A. (2000). Experiencias En Recuperación de Suelos Salinizados. INTA General Villegas.
- Pesqueira (2008) Cambios Bioquímicos, Morfológicos y Ecofisiológicos En Plantas Del Género Lotus Bajo Estrés Salino. Universidad Politécnica de Valencia
- Teakle, N.L., Snell, A.(2010) Variation in salinity tolerance, early shoot mass and shoot ion concentrations within *Lotus tenuis*: towards a perennial pasture legume for saline land. *Crop and pasture science*, 61, pp.379–388.
- Striker, G.G., 2012. Different strategies of *Lotus japonicus*, *L. corniculatus* and *L. tenuis* to deal with complete submergence at seedling stage. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 14(1), pp.50–5.
- Andrés A., and Rosso B. (2007) Characterization of *Lotus glaber* germplasm from Buenos Aires province – Argentina. *Lotus Newsletter* 37:24.
- Escaray F.J. (2007) *Taninos condensados en leguminosas del género Lotus: Estudio de sus funciones biológicas y evaluación de su utilidad en el mejoramiento de la calidad forrajera de especies de importancia agronómica*. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
- Franco M.E. (2011) *Estudio de la variabilidad genética en familias de medios hermanos de Lotus tenuis sometido a estress salino*. INTA Pergamino UNRosario
- Goldberg, E.E.R., Kohn, J.R., Lande, R., Robertson, K.A., Smith, S.A., Igic B. (2010) Species Selection Maintains Self-Incompatibility. *Science* 330:493–495.
- Striker G.G., Izaguirre R.F., Manzur M.E., Grimoldi a a (2012) Different strategies of *Lotus japonicus*, *L. corniculatus* and *L. tenuis* to deal with complete submergence at seedling stage. *Plant biology (Stuttgart, Germany)* 14:50–5. [online] URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21972978> (accessed 14 February 2013).
- Striker, G.G., Manzur, M.E. & Grimoldi, A., 2011. Increasing defoliation frequency constrains regrowth of the forage legume *Lotus tenuis* under flooding. The role of crown reserves. *Plant and Soil*, 343(1-2), pp.261–272.
- Teakle, N.L., Tyerman S.. (2010) Mechanisms of Cl⁻ transport contributing to salt tolerance. *Plant, cell & environment* 33:566–589.
- Jose Maddaloni, Liliana Ferrari (2005) Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. INTA y Facultad de Cs. Agrarias.
- Correa OS, Richards RA, Rebetzke GL, Farquhar GD (2004) Breeding for high wáter-use efficiency. *Journal of experimental Botany* 55, 2447-2460.

- Strittmater CD, Ricco RA, Kade M, Wagner ML, Gurni AA (1994) Condensed tannins in *Lotus tenuis*. *Lotus Newsletter* 25, 41-44.
- Bennet SJ, Barret-Lennard EG, Colmer TD (2009) Salinity and waterlogging as constraints to saltland pasture production: a review. *Agriculture and Ecosystems and Environment* 129, 349-360.
- Plett D.C., Moller I.S. (2010) Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant, Cell and Environment*, **33**, 612-626.
- Ruiz Lozano JM, Azcon R y Gomez M (1996) Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizas *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiol Plants* **98**; 767-772
- Buxton, D.R., 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology*, 59(1-3), pp.37-49.
- Aquino, R.S., Grativol, C. & Mourão, P. a S., 2011. Rising from the sea: correlations between sulfated polysaccharides and salinity in plants. *PLoS one*, 6(4), p.e18862.
- Deifel, K.S., Kopittke, P.M. & Menzies, N.W., 2006. Growth Response of Various Perennial Grasses to Increasing Salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 29(9), pp.1573-1584.
- García, I. V & Mendoza, R.E., 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza*, 17(3), pp.167-74.
- García, I. & Mendoza, R., 2012. Impact of defoliation intensities on plant biomass, nutrient uptake and arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus tenuis* growing in a saline-sodic soil. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 14(6), pp.964-71.
- García, I. V & Mendoza, R.E., 2008. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS microbiology ecology*, 63(3), pp.359-71.
- García, I., Mendoza, R. & Pomar, M.C., 2007. Deficit and excess of soil water impact on plant growth of *Lotus tenuis* by affecting nutrient uptake and arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 304(1-2), pp.117-131.
- Leonforte, A. et al., 2012. Sources of high tolerance to salinity in pea (*Pisum sativum* L.). *Euphytica*, 189(2), pp.203-216.
- Munns, R. & Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59, pp.651-81.
- Valencia, U.P.D.E., 2008. Cambios bioquímicos, morfológicos y ecofisiológicos en plantas del género *Lotus* bajo estrés salino.
- Teakle, N.L.A. et al., 2010. Variation in salinity tolerance, early shoot mass and shoot ion concentrations within *Lotus tenuis*: towards a perennial pasture legume for saline land. *Crop and pasture science*, 61, pp.379-388.
- Ashraf, M. & Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166(1), pp.3-16.

- Cambareri, G., Castaño, J., Fernandez, O., Maceira, N. & Vignolio, O., 2012. Lotus Tenuis: un recurso forrajero estratégico para la ganadería de la Pampa Deprimida. *Ediciones INTA*.
- Vignolo, O.R. y Fernandez, O.N., 2006. Bioecología de Lotus glaber Mill. (Fabaceae) en la Pampa Deprimida (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Revista Argentina de Producción Animal* 26: 113-130
- Uddin, M.N. et al., 2013. Leaf Cell-Wall Components as Influenced in the First Phase of Salt Stress in Three Maize (Zea mays L.) Hybrids Differing in Salt Resistance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(6), pp.405–415.
- Paz, R.C. et al., 2014. Alkaline, saline and mixed saline-alkaline stresses induce physiological and morpho-anatomical changes in Lotus tenuis shoots. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 16(6), pp.1042–9.

Anexo

Foto n°1: Las dosis de aplicación en el experimento: Dosis Control (sin cloruro de sodio), Dosis 1 (solución 75 mM NaCl) y Dosis 2 (solución 150 mM NaCl)



Foto n°2: Los 6 tratamientos realizados en el invernadero de la Facultad de Cs. Agrarias de la UCA.









Foto n°3: Las plantas fueron cosechadas al momento de la aparición de la primera flor. Se separaron biomasa de tallo y hojas y biomasa de corona y raíz. Se determinó porcentaje de materia seca, por secado a 65°C hasta peso constante en estufa a aire forzado de tallo más hojas y corona más raíz.









Foto n°4: Se midió longitud de tallo y raíz, y número de ramificaciones





Foto n°5: Fotos comparativas de los 6 tratamientos realizados



Genotipo Susceptible Dosis 0



Genotipo Tolerante Dosis 0



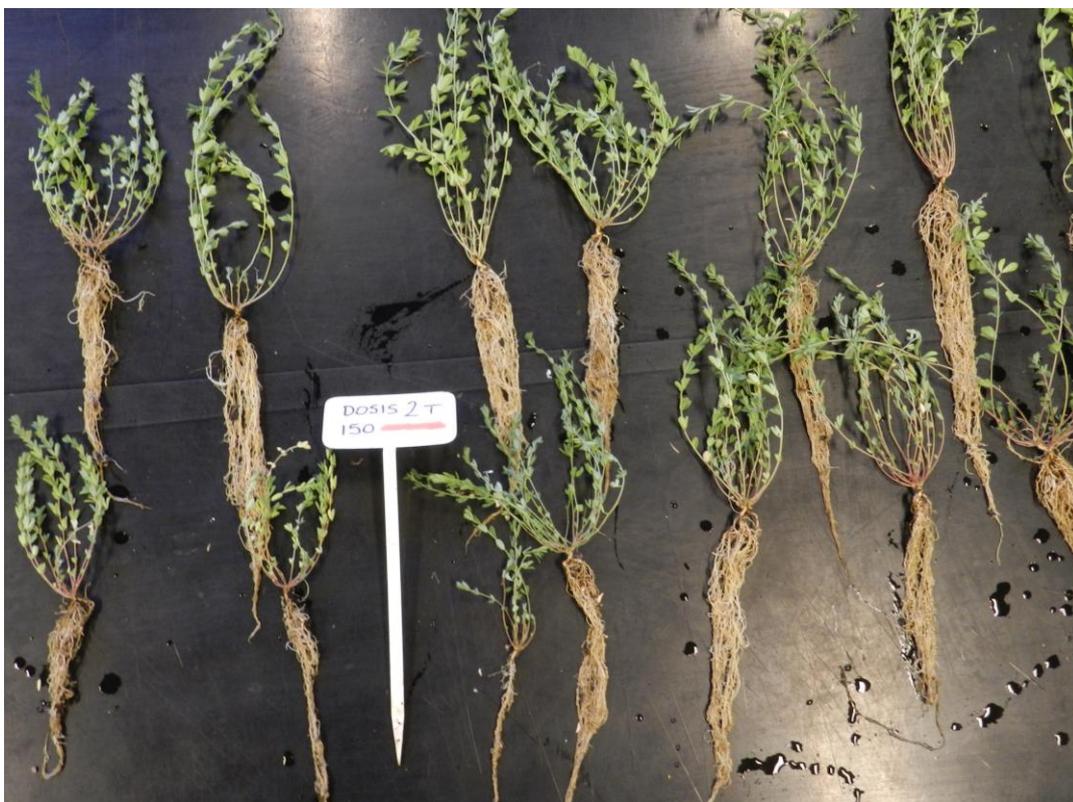
Genotipo Susceptible Dosis 1



Genotipo Tolerante Dosis 1



Genotipo Susceptible Dosis 2



Genotipo Tolerante Dosis 2