



FACULTAD DE AGRONOMÍA
Universidad Nacional de La Pampa

***PANICUM VIRGATUM* EN RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO, UNA
ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS**

“Trabajo final de graduación presentado para obtener el título de: Ingeniero Agrónomo”

Autor: Godoy, Gabriela Anabel

Director: Molas, María Lía. Profesora-Adjunta (exclusiva) en Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía (UNLPam)

Co-Director: Aimar, Darío Cesar. Auxiliar-Jefe de Trabajos Prácticos (exclusivo) en Hidrología Agrícola, Facultad de Agronomía (UNLPam)

Evaluadores: Ferrari, Enzo; D. Riestra., Diego R.

**FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA
Santa Rosa (La Pampa) - Argentina 2021**

ÍNDICE:

1 RESUMEN:	2
2 INTRODUCCIÓN:	4
2.1 Hipótesis:	6
2.2 Objetivos:	7
3 MATERIALES Y MÉTODOS:	7
3.1 Ensayo de germinación y emergencia: <i>P.virgatum</i> cv Kanlow	7
3.2 Ensayo de germinación y emergencia de <i>P.virgatum</i> cv kanlow y <i>P. coloratum</i> cv Verde	8
3.3 Análisis estadísticos:	9
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4.1 Análisis de niveles de salinidad en <i>P. virgatum</i> cv Kanlow	10
4.2 Germinación y emergencia en <i>P. virgatum</i> cv Kanlow vs <i>P. coloratum</i> cv Verde	15
5 CONCLUSIONES:	23
6 BIBLIOGRAFÍA	24

1 RESUMEN:

El estrés salino es uno de los factores abióticos más importantes que limitan el crecimiento y productividad de las plantas, en especial en las regiones áridas y semiáridas. El uso de especies forrajeras adaptadas es un recurso clave para la recuperación de suelos salinos. El presente trabajo se propone evaluar y comparar la germinación y el desarrollo temprano de *P. virgatum* cv Kanlow respecto de *P. coloratum* cv Verde, con el objetivo de analizar el potencial de ambos genotipos bajo diferentes niveles de salinidad. Dos ensayos se realizaron en cámara de crecimiento utilizando recipientes con soporte de perlita embebida en soluciones de 0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl, durante 28 y 21 días. El ensayo comparativo demostró que las respuestas de los cultivares en las variables estudiadas no se diferenciaron en concentraciones menores a 150 mM NaCl. El porcentaje de germinación y largo de radícula en *P. virgatum* cv Kanlow fueron afectados negativamente a partir de 150 mM NaCl, mientras que *P. coloratum* cv Verde tuvo mejor comportamiento en ambas variables a 200 mM NaCl. Estos resultados indican que ambos cultivares evaluados tienen buen comportamiento en condiciones de moderada salinidad, y son una alternativa para la región semiárida.

Palabras clave: semiárida, salinidad, germinación, mijo perenne, pasto varilla

ABSTRACT

Salt stress is one of the most important abiotic factors that restrict plant growth and productivity in arid and semiarid regions. Adapted warm-season grasses are a key resource for recovering saline soils. The objectives of this work were to evaluate germination and the early growth of *P. virgatum* cv Kanlow compared to *P. coloratum* cv Verde, and to analyze their responses under

different salinity levels. Two tests were carried out in a growth chamber using containers filled with perlite imbibed with solutions of 0, 50, 100, 150 and 200 mM NaCl, for 28 and 21 days. The comparative test showed that studied variables did not differ in salt treatments below 150 mM NaCl. Germination and radicle length were negatively affected at 150 mM NaCl in *P. virgatum* cv Kanlow, while *P. coloratum* cv Verde had higher germination and radicle length at 200 mM NaCl. These results shows that both cultivars are a proper alternative to use in soils of moderate saline concentration of the semi-arid region.

Key words: semi-arid, salinity, germination, switchgrass

2 INTRODUCCIÓN:

El estrés salino es uno de los factores abióticos más importantes que limitan el crecimiento y productividad de las plantas, en especial en las regiones áridas y semiáridas. En la Región Pampeana se contabilizan 19 millones de hectáreas con algún grado de salinización (Taleisnik *et al.*, 2009).

La salinidad es una condición del suelo caracterizada por una alta concentración de sales, de las cuales el NaCl es la más soluble y generalizada (Munns y Tester, 2008). Gorgas y Bustos (2007) clasifican los suelos como no salinos (con menos de 0.15 % de sales solubles y conductividad eléctrica -CE- del extracto de saturación menor de 4 ds.m⁻¹), débilmente salinos (sales solubles entre 0.15 y 0.35 %, y CE entre 4 y 8 ds.m⁻¹), moderadamente salinos (sales solubles entre 0.35 y 0.65 %, y CE entre 8 y 15 ds.m⁻¹) y fuertemente salinos (más del 0.65 % de sales solubles y CE mayor a 15 ds.m⁻¹); en la región pampeana se encuentran casi todas estas situaciones (Imbellone *et al.*, 2010).

El uso de plantas forrajeras adaptadas es un recurso clave para la recuperación de suelos salinos debido a que reducen la evaporación del agua desde la superficie, frenan el ascenso (capilar) de los niveles freáticos y disminuyen la concentración salina superficial (Casas, 2013). La implantación de gramíneas tropicales o megatérmicas, en estos suelos, permite complementar en el tiempo recursos forrajeros de diferente producción estacional (Bandera *et al.*, 2013) al ofrecer forraje en el momento en el cual las especies templadas, como el Agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*), declinan su producción.

Si bien existen especies tolerantes a la salinidad en Argentina, por ejemplo Agropiro y Lotus, la disponibilidad de especies forrajeras tolerantes es más limitada en regiones semiáridas.

En la región semiárida pampeana la oferta forrajera de especies perennes está compuesta en mayor medida por pasto llorón (*Eragrostis curvula*) y, en menor medida, por mijo perenne (*Panicum coloratum*). *P. coloratum* cv Verde es el cultivar más difundido en esta región por su tolerancia a heladas, sequía y salinidad (Petruzzi *et al.*, 2003). Estudios en *P. coloratum* cv Verde realizados en Argentina bajo condiciones de salinidad a campo y en invernáculo confirman la tolerancia a la salinidad (Taleisnik *et al.*, 1998; Pittaro *et al.*, 2015).

Investigadores de la Facultad de Agronomía de la UNLPam estudiaron el comportamiento del pasto varilla (*Panicum virgatum*) en respuesta al estrés hídrico con el fin de ampliar la oferta forrajera en áreas marginales de la zona occidental de la Región Pampeana (Aimar *et al.*, 2011; Aimar *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2015). A partir de un screening de 13 cultivares, se identificó al cultivar Kanlow como el de mejor comportamiento bajo sequía y con mayor potencial de adaptación a la región semiárida (Aimar *et al.*, 2014); estos resultados están en concordancia con reportes de otros equipos de trabajo (Stroup *et al.*, 2003; Barney *et al.*, 2009).

El pasto varilla fue estudiado en su respuesta a la salinidad y se determinó una amplia base genética, desde genotipos tolerantes a genotipos sensibles. Algunas investigaciones abordaron la respuesta a nivel de germinación de la semilla y desarrollo temprano de plántulas en condiciones de laboratorio con el uso de NaCl como agente osmótico (Carson y Morris, 2012; Schmer *et al.*, 2012; Carson *et al.*, 2016); otras investigaciones lo hicieron a nivel de planta adulta (Fan *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014; Anderson *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2015).

El estrés hídrico suele ocurrir y compartir disparadores y respuestas comunes con estrés salino; la salinidad del suelo causa un efecto osmótico que impide la entrada de agua a la planta, al igual

que el estrés hídrico (Munns, 2002). Sin embargo, el exceso de sales en el suelo genera un efecto adicional de toxicidad (estrés iónico) que conduce a desequilibrios que afectan importantes procesos fisiológicos y bioquímicos en las células vegetales. El daño al tejido de la planta debido al ingreso de sal puede ser visualizado a nivel de toda la planta y también puede aparecer en todas las etapas de desarrollo, como la germinación, estadio de plántula, crecimiento vegetativo y etapas de producción de semillas (Munns y Tester, 2008). La implantación y el establecimiento definitivo de la pastura es una fase crítica debido a que es un proceso lento y riesgoso (Bandera *et al.*, 2013); el conocimiento sobre la germinación y crecimiento en etapa temprana bajo condiciones de salinidad es fundamental para una implantación exitosa en suelos salinos (Carson *et al.*, 2016).

En función de lo expresado, el presente trabajo se propone evaluar y comparar la germinación y el desarrollo temprano de *P. virgatum* cv Kanlow respecto de *P. coloratum* cv Verde, con el objetivo de analizar el potencial de ambos genotipos bajo diferentes niveles de salinidad.

2.1 Hipótesis:

- *P. virgatum* cv Kanlow presenta una base genética que le permite tolerar niveles de salinidad elevados
- *P. virgatum* cv Kanlow podría comportarse de manera similar en su tolerancia a salinidad comparado con *P. coloratum* cv Verde

2.2 Objetivos:

1. Evaluar la germinación y desarrollo temprano de *P. virgatum* cv Kanlow bajo diferentes niveles de salinidad
2. Comparar el comportamiento durante la germinación y desarrollo temprano de *P. virgatum* cv Kanlow respecto de *P. coloratum* cv Verde

3 MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 Ensayo de germinación y emergencia: *P. virgatum* cv Kanlow

El ensayo se llevó a cabo en la Facultad de Agronomía de la UNLPam (36°33'21.76''S; 64°18'05.75''O), Santa Rosa, La Pampa, Argentina. Las semillas de *P. virgatum* cv Kanlow proceden del Banco de Germoplasma de la EEA G. Covas (INTA Anguil), y las semillas de *P. coloratum* cv Verde proceden de parcelas experimentales de la Cátedra de Forrajicultura de la Facultad de Agronomía, UNLPam.

El experimento se realizó en recipientes transparentes de 8 cm de diámetro x 6 cm de alto con soporte de perlita estéril embebida con los distintos niveles de solución salina, en cámara de germinación programada con 16 hs de luz ($100 \mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) a 28 °C y 8 hs de oscuridad a 20 °C.

Los tratamientos de salinidad se prepararon en soluciones de 0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl para generar una conductividad eléctrica de 0.91, 5.91, 10.69, 15.48 y 21.78 $\text{ds}\cdot\text{m}^{-1}$ (Kim *et al.*, 2012).

El ensayo de germinación se realizó durante 28 días y los datos utilizados para los análisis estadísticos incluyeron hasta el día 16 (momento a partir del cual comenzaron a evidenciarse muertes por hongos). El recuento de germinación fue cada 48 hs, con renovación de la solución salina, para determinar los efectos de diferentes niveles de salinidad sobre esta variable. Las

semillas se consideraron germinadas cuando se detectó la aparición de la radícula. El porcentaje de germinación (PG) se calculó como la relación entre el número total de semillas germinadas y el número total de semillas incubadas (Cardamone *et al.*, 2018).

La longitud de la plúmula (LP) y la longitud de radícula (LR) se midieron en 20 individuos por tratamiento (5 plántulas por recipiente) obtenidos al azar de las plántulas sobrevivientes; la medición se realizó con regla graduada desde la base seminal hacia el extremo distal aéreo o radicular.

El peso fresco (PF) se obtuvo al final del ensayo sobre un pool de plántulas (total de crecidas vivas por tratamiento), y llevado a peso constante mediante estufa a 60°C para determinar el peso seco (PS) producido en cada tratamiento. Los pesos fresco y seco se expresaron como peso promedio por plántula.

El diseño experimental fue completo y al azar con cuatro repeticiones. En cada tratamiento se sembraron 25 semillas por repetición; es decir, 100 semillas por cada nivel de NaCl.

3.2 Ensayo de germinación y emergencia de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde

El comportamiento de *P. virgatum* cv Kanlow respecto a *P. coloratum* cv Verde fue evaluado en cámara de germinación bajo las condiciones y formas descritas en el apartado 3.1, pero sólo para los dos niveles mayores de concentración salina (150 y 200 mM NaCl) además del tratamiento control; se realizaron las mismas mediciones: porcentaje de germinación, longitud aérea y radicular, peso fresco y seco por planta.

El ensayo de germinación se realizó durante 21 días y los datos utilizados para los análisis estadísticos incluyeron hasta el día 14 debido a muertes por hongos. El largo de plúmula y el largo de radícula se midieron a un total de 20 individuos por tratamiento (5 plántulas por recipiente). Los pesos fresco y seco se determinaron sobre un pool de plántulas (total de crecidas vivas por tratamiento al momento de fin del ensayo).

3.3 Análisis estadísticos:

Los datos obtenidos de las variables bajo estudio se analizaron mediante Modelos Lineales Generales y Mixtos, con el uso del software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2018) que cuenta con una interfaz con el programa “R”. Esta herramienta permite considerar que la evaluación de porcentaje germinación (PG) se refiere a una variable con distribución binomial con mediciones repetidas y que los datos obtenidos de largo de radícula (LR), largo de plúmula (LP), peso seco (PS) y peso fresco (PF) no son independientes, dado que la proximidad de las semillas dentro de cada recipiente ejerce efecto unas sobre las otras. De esta manera se buscaron modelos que ajustaran en sus parámetros para lograr la mejor verosimilitud, homocedasticidad e independencia.

Con los modelos obtenidos se hicieron Análisis de Varianza para inferir sobre el comportamiento de las variables, con prueba LSD a un nivel de significación $\alpha=0.05$. Los parámetros de los modelos de ajuste junto con sus análisis de varianza se detallan en Anexo I.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis de niveles de salinidad en *P. virgatum* cv Kanlow

El porcentaje germinación, en *P. virgatum* cv Kanlow, no fue afectado por la interacción entre tiempo x nivel de sal ($p= 0.18$). Sin embargo, existió efecto del tiempo ($p<0.0001$) sobre la germinación y demostró que, para cualquier nivel de sal, hubo diferencias significativas entre los primeros 14 días; a partir de esta fecha ya no hubo diferencias entre días y alcanzó el PG máximo (Figura 1a). El efecto del nivel de sal también fue significativo ($p<0.0001$) sobre la germinación, sin diferencias entre niveles 0, 50 y 100 mM NaCl, pero con diferencias entre 150 y 200 y niveles anteriores (Figura 1b); este resultado dejó en evidencia que la germinación de este genotipo es afectada negativamente con el aumento de salinidad a partir de 150 mM NaCl (15.48 ds.m^{-1}).

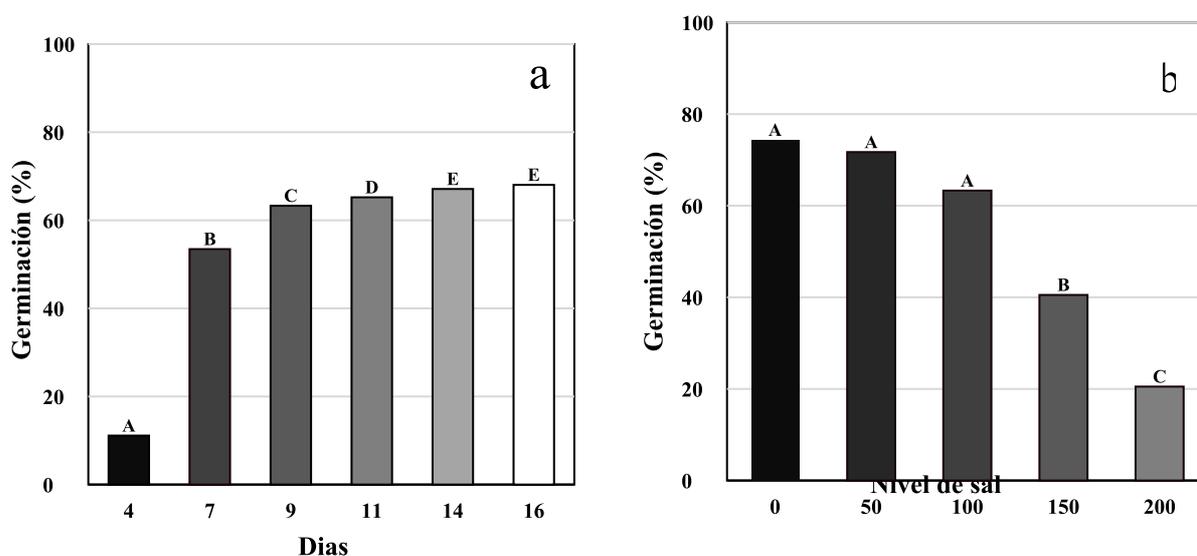


Figura 1. Germinación (PG) de semillas de *P. virgatum* cv Kanlow, sometidas a cinco niveles de salinidad (0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl, equivalentes a 0.91, 5.91, 10.69, 15.48 y 21.78 ds.m^{-1}) (a) Valores promedios alcanzados entre todos los tratamientos, para cada fecha de recuento, diferentes letras indican respuestas diferentes entre días de recuento ($\alpha \leq 0.05$) (b) Valores

promedios entre todas las fechas de conteo para cada nivel de sal, diferentes letras indican respuestas diferentes entre niveles salinos ($\alpha \leq 0.05$)

Las curvas de germinación (Figura 2) demostraron que ésta se retrasó a medida que los niveles de sal aumentaron. Carson y Morris (2012), explican que la tasa de germinación disminuye al aumentar la salinidad dado que las semillas tienen más dificultad para absorber el agua que se requiere para su imbibición, correspondiente a la fase I del proceso de germinación; esto se debe a que la presencia de sales en la solución disminuye el potencial osmótico y consecuentemente el potencial agua, lo cual impide el ingreso de ésta a la semilla.

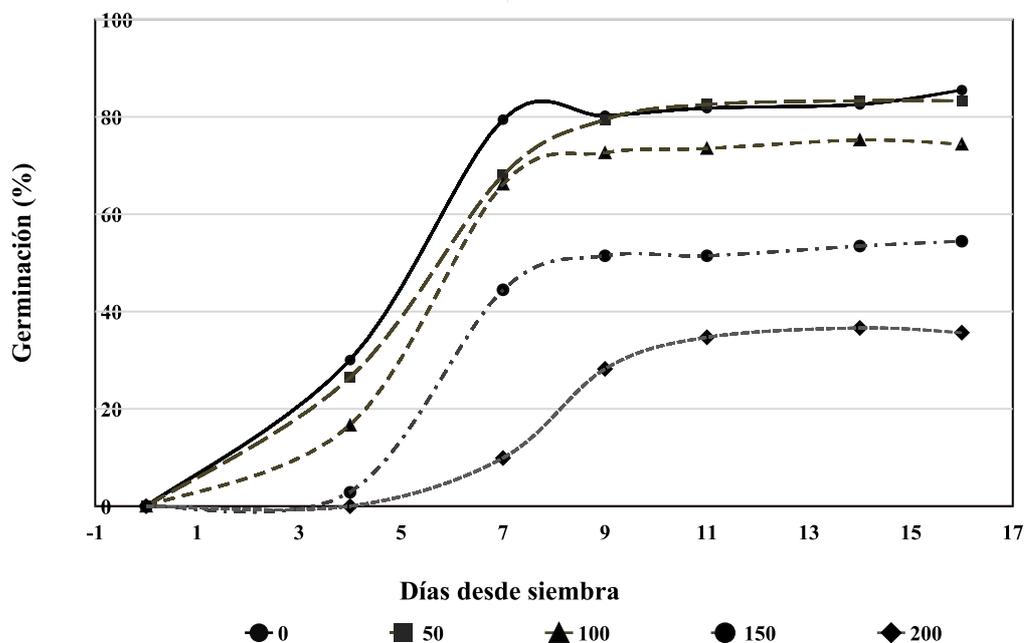


Figura 2. Curvas de germinación de semillas de *P. virgatum* cv Kanlow, en función del tiempo, sometidas a cinco niveles de salinidad (0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl equivalentes a 0.91, 5.91, 10.69, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Expresadas como porcentaje de germinación acumulado por fecha de recuento, respecto al número de semillas incubadas.

Los valores de germinación alcanzados a 150 y a 200 mM NaCl, para el día 16 del ensayo, fueron de 54.45% y 35.6% (Figura 2). El porcentaje de germinación acumulado respecto al tratamiento control, promedió en 64% y 41% para estos niveles de sal, a partir del día 7 (Tabla 1); es decir, el PG se redujo al 50% a un nivel de sal ubicado entre 150 y 200 mM NaCl. Estos resultados se aproximan a los encontrados por otros equipos de investigación, que clasifican al pasto varilla como moderadamente tolerante a salinidad: variables de germinación como PG (porcentaje de germinación), VG (velocidad de germinación) y GRI (índice de germinación) se reducen al 50% a niveles de sal con CE entre los 15 y 19 ds.m⁻¹ (Schmer *et al.*, 2012); y la biomasa se reduce al 50% ante nivel de sal de 178,6 mM NaCl (Fan *et al.*, 2012).

Tabla 1. Germinación (% del control) de semillas de *P. virgatum* cv Kanlow, sometidas a 150 y 200 mM NaCl (equivalentes a 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹), alcanzada a partir del día 7 desde siembra. Expresada como porcentaje de germinación acumulado por fecha de recuento en cada nivel, respecto al valor final obtenido en el tratamiento control.

	Ajuste: GERMINACION % del control				
	día 7	día 9	día 11	día 14	día 16
150 mM NaCl	52,02	60,19	60,19	62,53	63,69
200 mM NaCl	11,58	33,01	40,60	42,85	41,71

El análisis estadístico de los datos obtenidos en este ensayo reveló el efecto de nivel de sal ($p < 0.0001$) sobre la variable largo de plúmula y demostró que no existieron diferencias significativas de medias entre los niveles 0, 50 y 100 mM NaCl, pero sí diferencias entre 150 y 200 mM (Figura 3 a). También evidenció efecto del nivel de sal ($p < 0.0001$) sobre largo de radícula, con diferencias significativas entre los niveles 100, 150 y 200 mM NaCl (Figura 3 b).

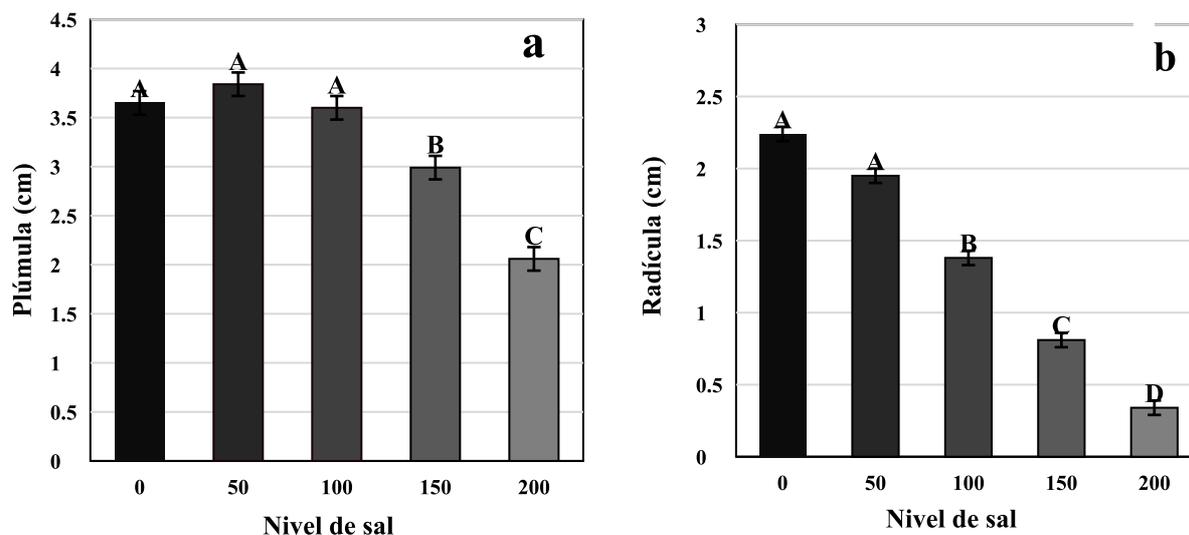


Figura 3. Largo de plúmula (a) y largo de radícula (b) promedio por plántula de *P. virgatum* cv Kanlow, de 28 días de crecimiento, sometida a cinco niveles de salinidad (0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl, equivalentes a 0.91, 5.91, 10.69, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Las diferentes letras indican respuestas diferentes entre niveles salinos ($\alpha \leq 0.05$). Las barras corresponden al error estándar.

La salinidad es una característica común en suelos áridos y semiáridos, en que las plantas desarrollan mecanismos de tolerancia a bajos potenciales agua. Munns y Tester (2008), definieron tres mecanismos en la estrategia de las plantas tolerantes a salinidad: tolerancia al estrés osmótico, exclusión de Na⁺ y tolerancia tisular. Entre las variables morfológicas que se afectan con mayor rapidez se destacan las de crecimiento; los genotipos sensibles recienten significativamente su crecimiento, mientras que aquellos con tolerancia resultan menos afectados. Por ello, las variables referidas al avance del crecimiento como longitud, peso y área foliar de plántulas o de órganos, son ampliamente utilizados para evaluar la respuesta de cada genotipo al estrés osmótico que ocasiona baja disponibilidad de agua en el medio (Cardamone *et al.*, 2018).

La respuesta de crecimiento bajo salinidad se diferencia en el tiempo en dos fases (Munns, 2002).

La primera está referida al estrés osmótico por efecto de la sal alrededor de las raíces que

dificulta el ingreso de agua a la planta y también provoca plasmólisis de las células de raíz en contacto con la sal. Esta fase es la más rápida y evidente, y se vincula principalmente a la disminución de la elongación celular. La fase II está referida a toxicidad iónica que ocurre en hojas que mayor transpiración realizan, al punto de que éstas senescen por la excesiva acumulación de iones. Generalmente, los daños en el crecimiento aéreo son mayores que los de la raíz (Munns y Tester, 2008; Cardamone *et al.*, 2018) en condiciones de alta transpiración en que se genera un exceso iónico en citoplasma o pared celular al saturarse la capacidad de compartimentalización de las vacuolas; por ello, la asignación preferencial de biomasa a las raíces asegura que la transpiración aérea sea menor y por tanto menor el flujo de solución salina desde las raíces (Munns, 2002).

El ambiente en que crecieron las plántulas en este ensayo, estaba saturado de humedad y por tanto crecieron con baja tasa de transpiración. El crecimiento radicular de *P. virgatum* cv Kanlow se redujo un 63.84% y un 84.82% respecto del control, para 150 y 200 mM NaCl; la altura de la plúmula se redujo un 18.08% y un 45.56 % del control, para 150 y 200 mM NaCl. Es decir, ante el aumento de nivel de sal, el crecimiento radicular fue más sensible que el de plúmula porque se diferenció del control a nivel más bajo de sal y el daño de raíz (reducción del crecimiento) fue mayor que el daño de plúmula.

El nivel de sal también evidenció tener un efecto significativo ($p=0.0005$) en el peso fresco (PF) promedio por plántula; la respuesta de las plántulas que crecieron a 50 mM fue significativamente mayor que la alcanzada en el resto de los niveles (Figura 4 a). Sin embargo, los datos obtenidos no demostraron una tendencia clara en el comportamiento de esta variable; en relación a esto, se observó que al momento de pesar el pool de plántulas por tratamiento (día 28,

fin de ensayo) varias de ellas mostraban signos de marchitamiento por ambiente saturado de humedad y esto pudo haber distorsionado las mediciones. El peso seco (PS) presentó una reducción de un 17.2% y 25.47% respecto del control a 150 y a 200 mM NaCl, y sólo la respuesta al nivel mayor de sal se diferenció significativamente de la alcanzada a 0 mM NaCl ($p=0.0776$), con un $\alpha \leq 0.10$ (Figura 4 b).

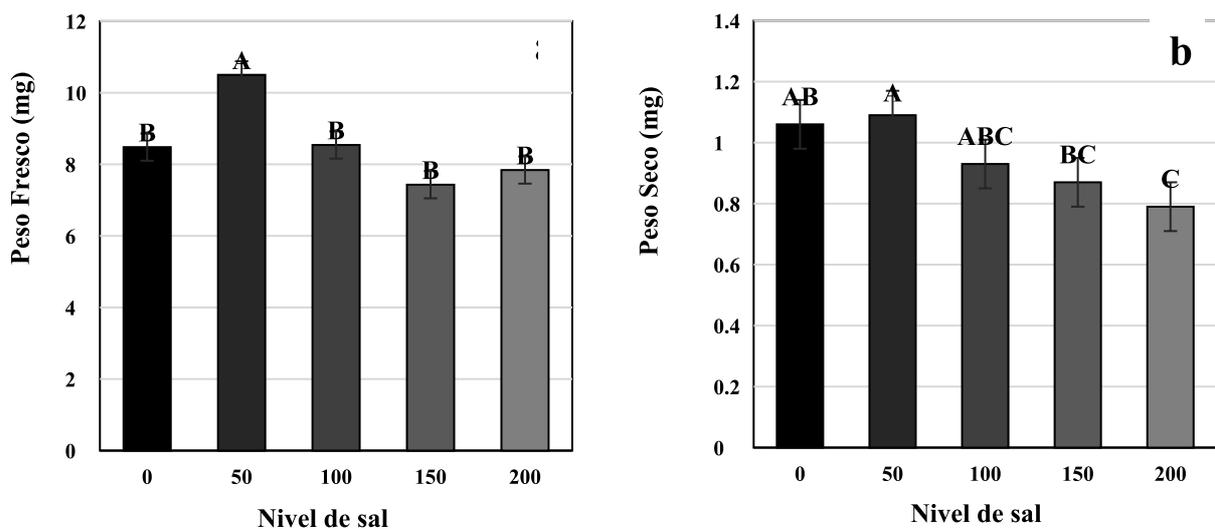


Figura 4. Peso fresco (a) y peso seco (b) promedio por plántula de *P. virgatum* cv Kanlow, de 28 días de crecimiento, sometidas a cinco niveles de salinidad (0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl, equivalentes a 0.91, 5.91, 10.69, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Las diferentes letras indican respuestas diferentes entre niveles salinos ($\alpha \leq 0.05$ en a, $\alpha \leq 0.10$ en b). Las barras corresponden al error estándar.

4.2 Germinación y emergencia en *P. virgatum* cv Kanlow vs *P. coloratum* cv Verde

El análisis estadístico de los datos obtenidos en este ensayo, demostró el efecto de la interacción nivel de sal x genotipo x tiempo ($p < 0.0001$) sobre el porcentaje de germinación en los genotipos evaluados (Figura 5). Al día 2 desde siembra, el PG de *P. coloratum* cv Verde para el tratamiento control fue mayor que el de los demás genotipos-nivel sal (8% vs 0%); y por tanto, germinó más rápido que *P. virgatum* cv Kanlow. Desde el día 4 desde la siembra, no hubo diferencias

significativas de PG entre genotipos a nivel 0 de sal (control) y alcanzaron germinaciones máximas similares en el día 14 para este nivel. El PG de *P. coloratum* cv Verde fue significativamente mayor ($p < 0.0001$) que el alcanzado por *P. virgatum* cv Kanlow hasta el día 4 desde siembra: 27.8% vs 12.75% a los 150 mM NaCl, y 12.11% vs 0% a los 200 mM NaCl. El PG, partir del día 7, no fue significativamente diferente entre genotipos a 150 mM NaCl, pero a 200 mM NaCl fue significativamente mayor en *P. coloratum* cv Verde que en *P. virgatum* cv Kanlow.

La salinidad retrasa y reduce la germinación (Taleisnik *et al.*, 1998). *P. coloratum*, así como *P. virgatum*, se ha descrito como especie relativamente tolerante a la salinidad (Pittaro *et al.*, 2015); es decir, el PG es afectado negativamente en ambos cultivares a partir de 150 mM NaCl. Sin embargo, el *P. coloratum* cv Verde presentó mejor respuesta en la primera semana del ensayo para ese nivel de sal y tuvo mejor comportamiento para el nivel de sal mayor en las dos semanas bajo análisis.

El PG de cada genotipo respecto a su control, a 150 y a 200 mM NaCl, representó el 67.7% y 38.28% en *P. virgatum* cv Kanlow, y el 77% y 59.21% en *P. coloratum* cv Verde, a partir del día 7 del ensayo y (Tabla 2); de esta manera, la germinación de cv Kanlow se redujo al 50% a nivel de sal entre 150 y 200 mM NaCl pero la germinación de cv Verde fue aun superior al 50% a 200 mM NaCl.

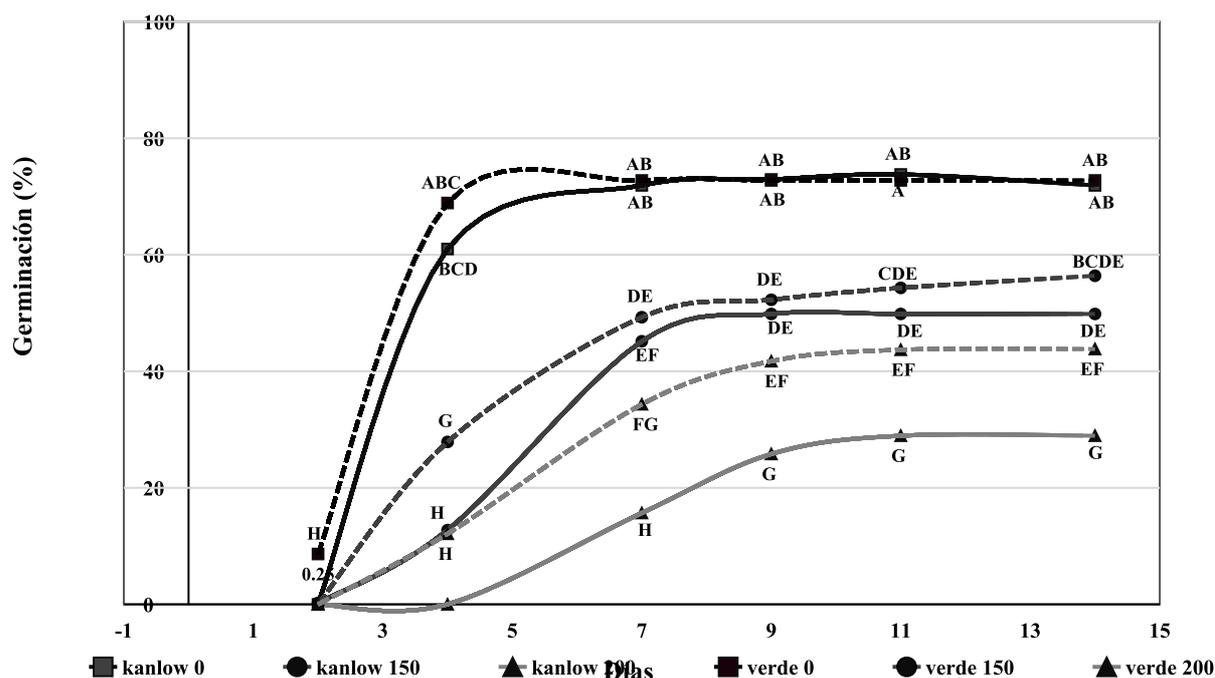


Figura 5. : Curvas de germinación de semillas de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde, en función del tiempo, sometidas a tres niveles de salinidad (0, 150 y 200 mM NaCl equivalentes a 0.91, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Expresadas como porcentaje de germinación acumulado por fecha de recuento, respecto al número de semillas incubadas. Las diferentes letras indican respuestas diferentes, con $\alpha \leq 0.05$.

Tabla 2: Germinación (% del control) de semillas de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde, sometidas a niveles de salinidad de 150 y 200 mM NaCl (equivalentes a 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹), alcanzada durante la segunda semana desde siembra. Expresada como el porcentaje de germinación acumulado por fecha de recuento en cada nivel, respecto al valor final obtenido en tratamiento control.

Ajuste: GERMINACION % del control

	día 7		día 9		día 11		día 14	
	Kanlow	Verde	Kanlow	Verde	Kanlow	Verde	Kanlow	Verde
150 mM NaCl	62,8	67,73	69,31	71,84	69,31	74,65	69,31	77,51
200 mM NaCl	21,81	47,2	35,89	57,35	40,25	60,05	40,25	60,23

El largo de la plúmula demostró no ser afectada ni por interacción genotipo x nivel de sal ($p=0.4875$) ni por genotipo ($p=0.4032$); pero sí fue afectada por nivel de sal ($p<0.0001$) (Figura 6 b), con diferencias significativas entre 0, 150 y 200 mM NaCl.

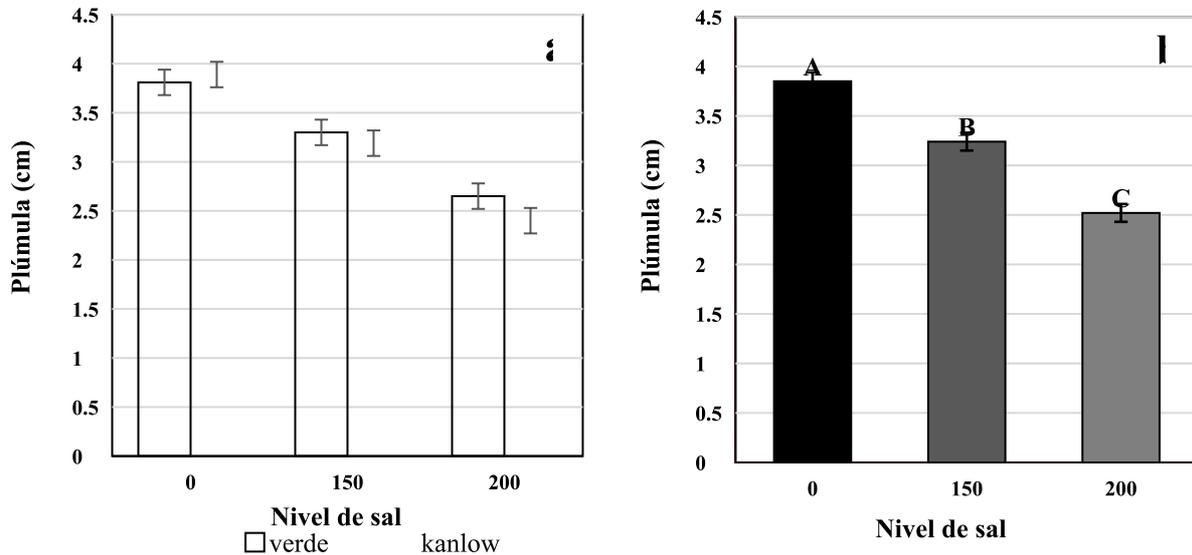


Figura 6. (a) Largo de plúmula promedio por plántula de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde a los 21 días de crecimiento, sometidas a tres niveles de salinidad (0, 150 y 200 mM NaCl equivalentes a 0.91, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Las diferentes letras indican respuestas diferentes ante nivel de sal (b), con $\alpha \leq 0,05$. Las barras corresponden al error estándar.

La interacción nivel de sal x genotipo afectó al crecimiento radicular ($p=0.0004$); el cv Kanlow tuvo un LR significativamente mayor (un 46% mayor) que el cv Verde a 150 mM NaCl, pero la respuesta de este genotipo fue significativamente superior (un 37% mayor) que cv Kanlow a 200 mM NaCl (Figura 7). Las reducciones del largo de radícula respecto del tratamiento control, a 150 y a 200 mM NaCl, fueron de 18.52% y 69.09% en cv Kanlow, y de 55.30% y 59.09% en cv Verde. Estas respuestas indicaron que el cv Kanlow es menos sensible al aumento de salinidad y menos tolerante a nivel superior de sal respecto del cv Verde.

Para mantener la productividad en un ambiente salino, las plantas tolerantes a la sal tienen mecanismos de defensa asociados a minimizar la entrada de sal en las plantas y a minimizar la concentración de sal en el citoplasma (Kim *et al.*, 2012). El menor daño a nivel de la raíz es crucial en áreas salinas porque la principal función de las raíces es absorber agua y nutrientes (Cardamone *et al.*, 2018).

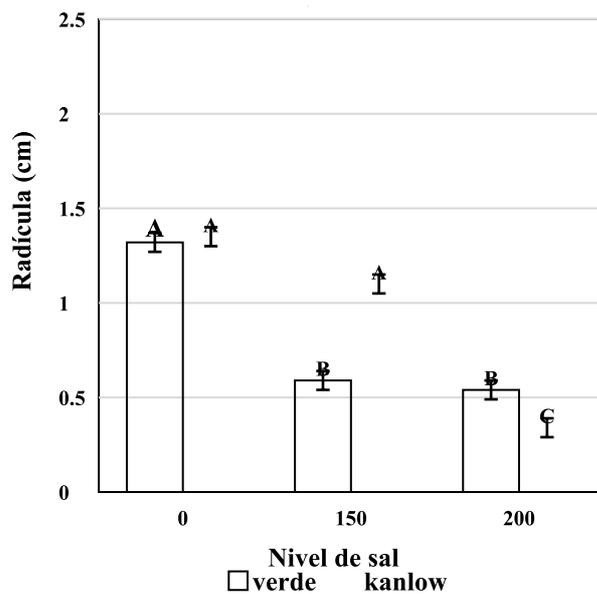


Figura 7: Largo de radícula (cm) promedio por plántula de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde, de 21 días de crecimiento, sometidas a tres niveles de salinidad (0, 150 y 200 mM NaCl equivalentes a 0.91, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Las diferentes letras indican respuestas diferentes entre genotipos, con $\alpha \leq 0,05$. Las barras corresponden al error estándar.

El nivel de sal también tuvo efecto sobre los pesos, con $p < 0.0001$ para PF y $p = 0.0297$ para PS (Figura 9a y 9c); para cualquiera de los dos genotipos evaluados, el peso fresco promedio por plántula se diferenció significativamente entre los tres niveles de sal pero el peso seco promedio por plántula no demostró ser diferente entre 150 y 200 mM NaCl. Los pesos fresco y seco fueron afectados por genotipo, con $p < 0.0001$ para PF y $p = 0.0008$ para PS (Figura 9b y 9d), y

demostraron que en *P. virgatum* cv Kanlow fueron significativamente mayores que los alcanzados por *P. coloratum* cv Verde, para cualquier nivel de sal. El PF del cv Verde, a 150 y a 200 mM NaCl, fue un 19% y 23,4% menor que el PS alcanzado por cv Kanlow a esos niveles de sal. El PS del cv Verde, a 150 y a 200 mM NaCl, fue un 21,5% y 26,5% menor que el PS alcanzado por cv Kanlow a esos niveles de sal.

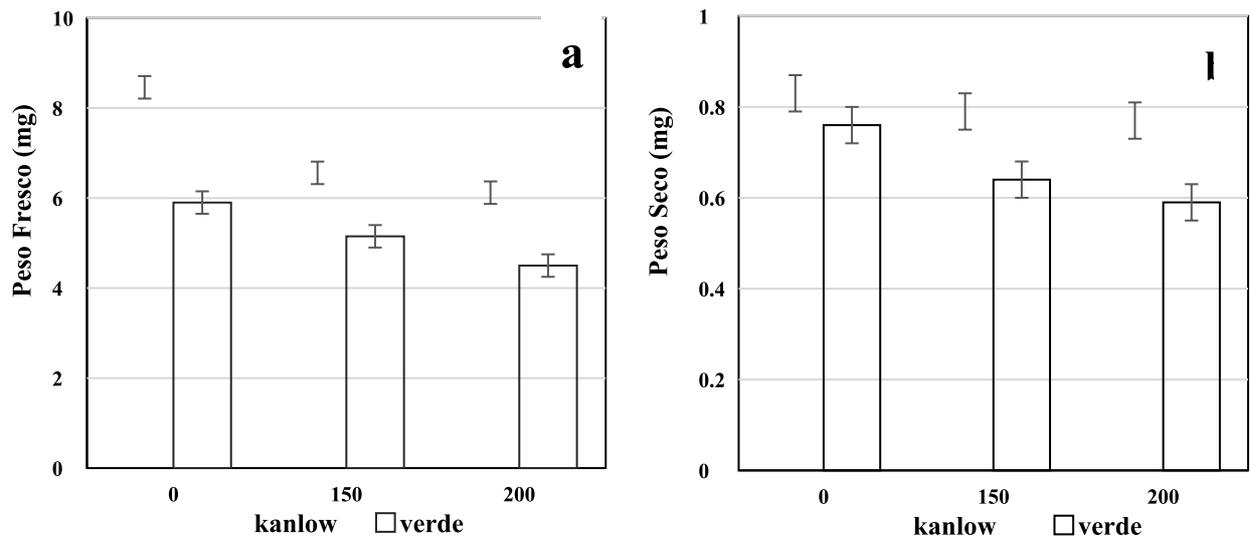


Figura 8: Peso fresco (a) y peso seco (b) promedio por plántula de *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde, de 21 días de crecimiento, sometidas a tres niveles de salinidad (0, 150 y 200 mM NaCl equivalentes a 0.91, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). Las barras corresponden al error estándar.

a

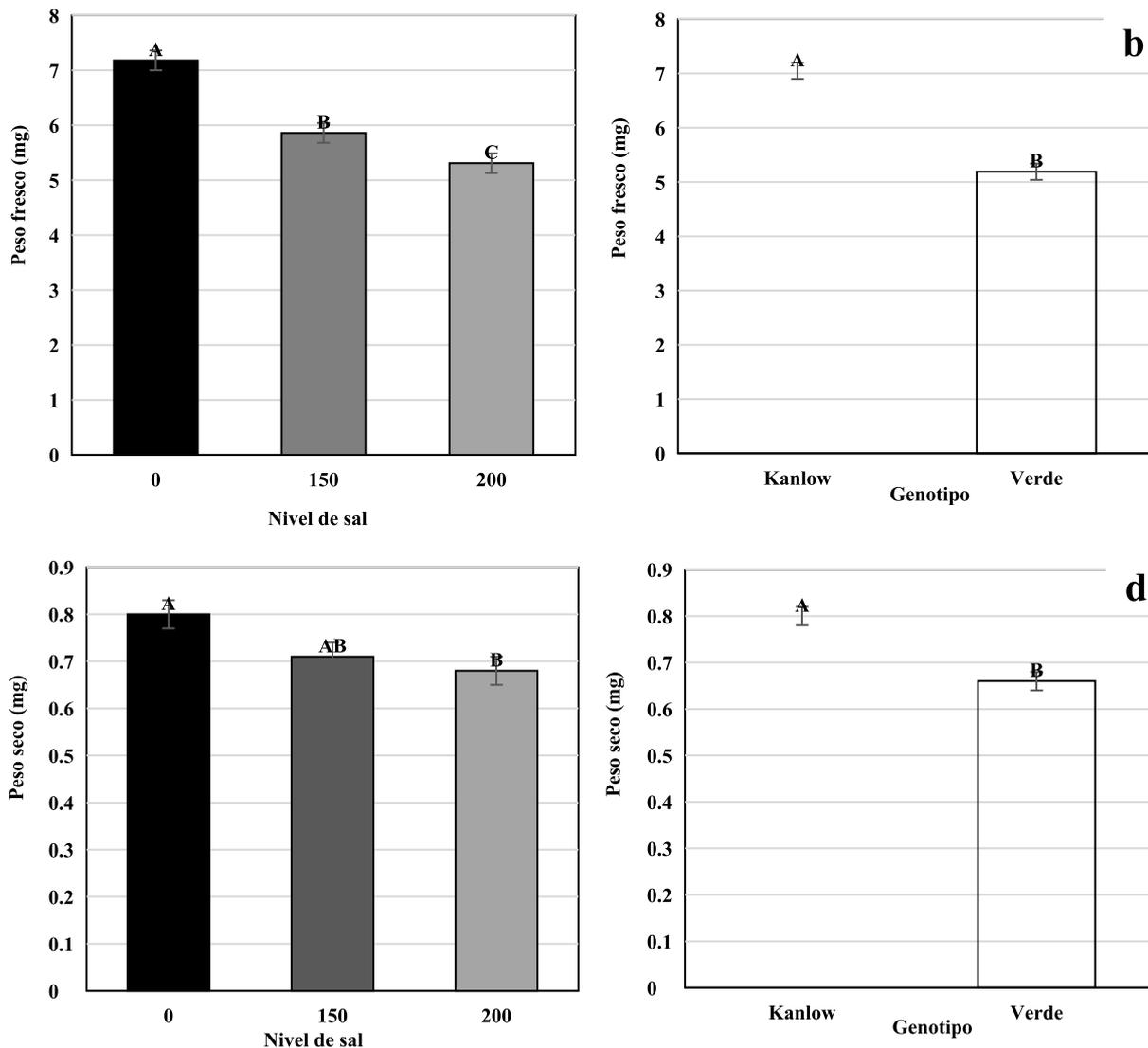


Figura 9: (a) Peso fresco promedio entre *P. virgatum* cv Kanlow y *P. coloratum* cv Verde., por plántula de 21 días de crecimiento, a 0, 150 y 200 mM NaCl (equivalentes a 0.91, 15.48 y 21.78 ds.m⁻¹). (b) Peso fresco promedio entre los 3 niveles de sal, por plántula de 21 días de crecimiento en cv Kanlow y en cv Verde. (c) Peso seco promedio entre los 2 genotipos, por plántula de 21 días de crecimiento, a distintos niveles de sal. (d) Peso seco promedio entre los 3 niveles de sal, por plántula de 21 días de crecimiento en cv Kanlow y en cv Verde. Las diferentes letras indican respuestas diferentes ($\alpha \leq 0,05$). Las barras corresponden al error estándar.

La tasa de germinación es un parámetro valioso al momento de evaluar el comportamiento frente a condiciones de estrés, pero no siempre es un buen predictor de supervivencia y crecimiento (Carson *et al.*, 2016). Este trabajo aporta información a las investigaciones ya publicadas por

otros equipos de trabajo, para seguir comprendiendo las diferencias entre genotipos en el comportamiento de variables relacionadas a germinación y crecimiento en etapas iniciales bajo condiciones de salinidad. Sin embargo, es de suma importancia evaluar el crecimiento de ambos genotipos durante la etapa inicial de desarrollo en condiciones ambientales que reflejen la situación a campo.

5 CONCLUSIONES:

Las respuestas a estrés hídrico y salino comparten vías metabólicas y estrategias de crecimiento, lo que con frecuencia permite pensar que los genotipos tolerantes a estrés hídrico tienen, también, un buen comportamiento en condiciones de salinidad. De allí la importancia de exponer el comportamiento de *P.virgatum* cv Kanlow a diferentes niveles de sal como avance a los estudios realizados por investigadores de la Facultad de Agronomía UNLPam, en vistas de ampliar la oferta forrajera para la región semiárida, y específicamente como posible estrategia de uso en áreas afectadas por sal. Como se esperaba, el cv Kanlow mostró una tolerancia intermedia a la salinidad, con respuesta de germinación y desarrollo temprano. Al comparar las respuestas de *P.virgatum* cv Kanlow respecto de *P. coloratum* cv Verde se observó:

- Ambos genotipos fueron afectados negativamente por la presencia de sales
- Su comportamiento fue similar hasta 150 mM NaCl, considerado como un nivel de sal moderado (15.5 ds.m⁻¹)
- *P. coloratum* cv Verde manifestó un mejor comportamiento que *P.virgatum* cv Kanlow a nivel de 200 mM NaCl (CE de 21.78 ds.m⁻¹)

Por tanto, en suelos moderadamente salinos (Gorgas y Bustos, 2007) se tendría una alternativa al cultivar más difundido comercialmente en la región semiárida, no así en suelos fuertemente salinos.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Aimar, D., Calafat, M., Andrade, A.M., Abdala, G. y Molas, M.L. (2011). Drought Tolerance and Stress Hormones: From Model Organisms to Forage Crops. *Plants and Environment*, ISBN 978-953- 308-121-2. Ed. Hemanth KN. Vasanthaiah and Devaiah Kambiranda.
- Aimar, D., Calafat, M., Andrade, A., Carassay, L., Bouteau, F., Abdala, G. y Molas, M.L. (2014). Panicum virgatum L. cv. Kanlow is a promising biomass source for semiarid regions. *Biomass and Bioenergy*. DOI 10.1016/j.biombioe.2014.03.004.
- Anderson, E. K., Voigt, T.B., Kim, S. y Lee, D. K. (2015). Determining effects of sodicity and salinity on switchgrass and Prairie cordgrass germination and plant growth. *Industrial Crops and Products*, 64: 79–87. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.11.016
- Bandera, R., Bertram, N., Bolleta, A., Chiacchiera, S., Ferri, J.M., Galíndez, G., Lauric, A., Malagrina, G., Otondo, J., Petruzzi, H., Stritzler, N. y Torres Carbonell, C. (2013) Megatérmicas-Publicación INTA. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_megatermicas.pdf
- Barney, J.N., Mann, J., Kyser, G., Blumwald, E., Van Deynze, A. y DiTomaso, J. (2009) Tolerance of switchgrass to extreme soil moisture stress: ecological implications. *Plant Sci.*, 177: 724-32. DOI:10.1016/j.plantsci.2009.09.003.
- Cardamone, L., Cuatrín, A., Grunberg, K. y Tomás, M.A. (2018). Variabilidad en tolerancia a la salinidad en una colección de Panicum coloratum var. makarikariense durante las etapas tempranas de crecimiento. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 6 (3): 134–147. DOI: 10.17138/TGFT (6)134-147.

- Carson, M.A. y Morris, A.N. (2012) Germination of *Panicum virgatum* cultivars in a NaCl gradient. *BIOS*, 83 (3): 90–96. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/41758053>
- Carson, M.A., Bachle, S. y Morris, A.N. (2016) Germination and Growth of *Panicum virgatum* Cultivars in a NaCl Gradient. *Sabkha Ecosystems Vol V: The Americas, Tasks for Vegetation Science*, 48. DOI 10.1007/978-3-319-27093-7_16
- Casas, R. (2013) Estrategias para recuperar la producción en suelos salinos. Sitio Argentino de Producción Animal. Recuperado de http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/suelos_salinos/19_Utilizacion_suelos_afectados_por_salas.pdf
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. (2018). InfoStat. Córdoba, Argentina. Grupo InfoStat.
- Fan, X., Hou, X., Zhu, Y. y Wu, J. (2012) Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Panicum virgatum* seedlings. *Chin J Appl Ecol* 23:1476–1480
- Ferri, C.M. (2014) Gramíneas forrajeras perennes de crecimiento estival (C4) para la región Pampeana semiárida. En el contexto de la intensificación ganadera y del cambio climático. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/283488261>
- Gorgas, J.A y Bustos, M.V. (2007). Dinámica y evaluación de los suelos de Córdoba con problemas de drenaje, salinidad y alcalinidad sódica. *La salinización de los suelos en la Argentina*, pp. 43-60. Córdoba: EDUCC, EEA INTA Manfredi.

- Hu, G., Liu, Y., Zhang, X., Yao, F., Huang, Y., Ervin, E.H. y Zhao, B. (2015) Physiological Evaluation of Alkali-Salt Tolerance of Thirty Switchgrass (*Panicum virgatum*) Lines. *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0125305.
- Imbellone, P.A., Giménez, J.E. y Panigatti, J.L. (2010) *Suelos de la Región Pampeana, Procesos de Formación*. Buenos Aires: Ediciones INTA.
- Kim, A., Rayburn, L., Voigt, T., Parrish, A. y Lee, D.K. (2012) Salinity Effects on Germination and Plant Growth of Prairie Cordgrass and Switchgrass. *Bioenerg. Res.*, 5: 225–235. DOI: 10.1007/s12155-011-9145-3.
- Liu, Y., Zhang, X., Miao, J., Huang, L., Frazier, T. y Zhao, B. (2014) Evaluation of salinity tolerance and genetic diversity of thirty-three Switchgrass (*Panicum virgatum*) Populations. *Bioenergy. Res.* DOI 10.1007/s12155-014-9466-0.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* (2002) 25, 239–250
- Munns, R. y Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651–681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- Petruzzi, H. J., Stritzler, N. P., Adema, E. O., Ferri, C. M. y Pagella J. H. (2003). Mijo perenne - *Panicum coloratum*. *Talleres gráficos de la E.E.A. Anguil INTA*. Recuperado de <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-publi51.pdf>
- Petruzzi, H.J., Rossi Frairie, M.E. y Babinec, F. 2011. Biomasa aérea total de materiales de *Panicum virgatum* (L) en la región semiárida. *Revista Argentina de Producción Animal* 31 (Sup. 1): 500

- Pittaro, G., Caceres, L., Bruno, C., Tomas, A., Bustos, D., Monteoliva, M., Ortega, L. y Taleisnik, E. (2015) Salt tolerance variability among stress-selected *Panicum coloratum* cv. Klein plants. *Grass and Forage Science*. DOI: 10.1111/gfs.12206.
- Sánchez, C., Rosello, P.L., Aimar, D., Moldes, C., Camiña, J., Calafat y M., Molas, M.L. (2014) Metabolites content in different ecotypes of *Panicum virgatum* L. XV CONGRESO LATINOAMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL- XXX REUNION ARGENTINA DE FISILOGÍA VEGETAL. Argentina.
- Sánchez, C., Aimar, D., Rosello, P., Calafat, M. y Molas, M.L. (2015) Comportamiento diferencial de genes frente a estrés hídrico en dos ecotipos de *Panicum virgatum* L. “II JORNADAS DE SUELOS DE AMBIENTES SEMIARIDOS”. Argentina. Septiembre 2015. (Resumen expandido).
- Schmer, M.R., Xue, Q. y Hendrickson, J.R. (2012) Salinity effects on perennial, warmseason (C₄) grass germination adapted to the northern Great Plains. *Can. J. Plant Sci*, 92: 873-881. DOI: 10.4141/CJPS2012-001.
- Stroup, J.A., Sanderson, M.A., Muir, J.P., McFarland, M.J. y Reed, R. (2003) Comparison of growth and performance in upland and lowland switchgrass types to water and nitrogen stress. *Bioresour Technol*, 86: 65-72. DOI: 10.1016/s0960-8524(02)00102-5.
- Taleisnik, E., Pérez, H., Córdoba, A., Moreno, H., García Seffino, L., Arias, C., Grunberg, K., Bravo, S. y Zenoff, A. (1998) Salinity effects on the early development stages of *Panicum coloratum*: cultivar differences. *Grass and Forage Science*, 53: 270–278.

Taleisnik, E., Rodriguez, A., Ortega, L., Bustos, D.A. y Senn, M.E. (2009) Leaf expansion in grasses under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 166: 1123-1140. DOI: 10.1016/j.jplph.2009.03.015.

ANEXO I

Análisis estadísticos:

Ensayo de germinación y emergencia: *P.virgatum* cv kanlow

MODELO:

Variable	Largo plúmula
Efectos fijos	Nivel de sal
Efectos aleatorios	Recipiente _ nivel de sal
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1
100	159,13	177,00	-72,56	0,47	0,66	0,69

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	80	3497,58	<0,0001
Nivel de sal	4	15	35,54	<0,0001

MODELO:

Variable	Log 10 largo radícula
Efectos fijos	Nivel de sal
Efectos aleatorios	Recipiente _ nivel de sal
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1
100	-30,11	-12,23	22,06	0,17	0,75	0,78

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	80	4,58	0,0353

Nivel de sal	4	15	50,66	<0,0001
--------------	---	----	-------	---------

MODELO:

Variable	Arcosen %G
Efectos fijos	Nivel de sal, día, nivel de sal*día
Efectos aleatorios	
Correlación	Sin estructura

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
120	-109,66	5,33	100,83	0,13	0,88

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	1096,69	<0,0001
Día	5	51,07	<0,0001
Nivel de sal	4	36,77	<0,0001
Día:Nivel de sal	20	1,32	0,1856

MODELO:

Variable	Pf (mg)
Efectos fijos	Nivel de sal
Efectos aleatorios	
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
20	53,26	57,51	-20,63	0,76	0,72

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
--	-------	---------	---------

(Intercept)	1	2535,98	<0,0001
Nivel de Sal	4	9,62	0,0005

MODELO:

Variable	Ps (mg)
Efectos fijos	Nivel de sal
Efectos aleatorios	
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
20	5,72	9,97	3,14	0,16	0,41

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	738,70	< 0,0001
Nivel de sal	4	2,61	0,0776

Germinación y emergencia en *P. virgatum* cv Kanlow vs *Panicum coloratum* cv Verde

MODELO:

Variable	Plúmula
Efectos fijos	Nivel de sal, genotipo, nivel de sal*genotipo
Efectos aleatorios	Recipiente _ nivel de sal _ genotipo
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1
120	209,15	231,04	-96,58	0,51	0,54	0,58

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	96	3581,11	<0,0001
Nivel de sal	2	18	51,16	<0,0001
Genotipo	1	18	0,73	0,4032
Nive de sal:genotipo	2	18	0,75	0,4875

MODELO:

Variable	Log 10 largo radícula
Efectos fijos	Nivel de sal, genotipo, nivel de sal*genotipo
Efectos aleatorios	Recipiente _ nivel de sal
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1
120	-9,87	12,02	12,93	0,20	0,57	0,59

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	96	34,81	<0,0001
Nivel de sal	2	18	56,65	<0,0001
genotipo	1	18	0,40	0,5354
Nivel de sal:genotipo	2	18	12,58	0,0004

MODELO:

Variable	Raíz cuadrada %g
Efectos fijos	Nivel de sal, día, genotipo, nivel de sal*día, genotipo*día, nivel de sal*genotipo
Efectos aleatorios	
Correlación	Sin estructura

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
144	227,81	367,28	-61,90	0,75	0,95

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	NumDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	475,78	<0,0001
Día	5	636,80	<0,0001
Genotipo	1	45,83	<0,0001
Nivel de sal	2	173,78	<0,0001
Día: genotipo	5	8,44	<0,0001
Día: Nivel de sal	10	20,32	<0,0001
Genotipo: Nivel de sal	2	10,91	<0,0001
Día: Genotipo: Nivel de sal	10	7,91	<0,0001

MODELO:

Variable	Pf (mg)
Efectos fijos	Nivel de sal, genotipo, nivel de sal*genotipo
Efectos aleatorios	
Correlación	Errores independientes

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
24	49,05	55,28	-17,53	0,51	0,89

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	3472,54	<0,0001
Genotipo	1	80,11	<0,0001
Nivel de sal	2	28,65	<0,0001
Genotipo: nivel de sal	2	2,89	0,0813

MODELO:

Variable	Ps (mg)
Efectos fijos	Nivel de sal, genotipo, nivel de sal*genotipo
Efectos aleatorios	

Correlación	Errores independientes
-------------	------------------------

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
24	-16,46	-10,22	15,23	0,08	0,60

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	1879,88	<0,0001
Genotipo	1	16,18	0,0008
Nivel de sal	2	4,30	0,0297
Genotipo: nivel de sal	2	1,11	0,3514