

ESTUDIO SOBRE LA TOLERANCIA A SALINIDAD EN  
CULTIVARES DE ALGODON.

Ing. José Francisco Saiz Machado

Dirección: Dr. E.O. Leidi Montes

XXXI CURSO INTERNACIONAL DE EDAFOLOGIA Y BIOLOGIA VEGETAL

SEVILLA, Julio 1994.

N.º R. ALEPH <u>482703</u>
N.º R. Bib. <u>4339</u>
Signat. <u>H/C#-38 SAJZ</u>

INSTITUTO DE RECURSOS  
NATURALES Y AGROBIOLOGIA  
BIBLIOTECA  
Reg. Núm 4339

## Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento al Gobierno Cubano, al Ministerio de la Agricultura, al Instituto de Suelos y al Centro de Investigación de Suelos Salinos de Guantánamo, que mancomunadamente han hecho posible mi estadía en Sevilla (España).

A las Instituciones que facilitaron la participación en el XXXI Curso Internacional de Edafología y Biología Vegetal: Instituto de Cooperación Iberoamericana (I.C.I.), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.), Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO).

Mi especial agradecimiento al Dr. Eduardo O. Leidi Montes, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, adscrito al Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, supervisor del presente estudio, por su valiosa enseñanza profesional tanto teórica como práctica y por sus sabias y oportunas recomendaciones durante el tiempo de realización de este trabajo.

Al colectivo del Departamento de Biología Vegetal del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla por todo el afecto y la amistad que me han brindado así como por su valiosa colaboración diaria en el trabajo, en particular la Dra. Carmen Mazuelos Vela y D<sup>a</sup>. Asunción de Castro Pérez.

A todos los profesores del curso, en particular a los Dres. Luis Clemente Salas y José Luis Mudarra Gómez, por los valiosos y actualizados conocimientos aportados a lo largo de la realización de la presente especialización.

Al Jefe del Departamento de Algodón del Centro de Investigación y Desarrollo Agrario Las Torres-Tomejil, Dr. Juan C. Gutiérrez Más, por su valiosa colaboración en el suministro de semillas de las variedades estudiadas y en la utilización de los medios disponibles.

A la Dirección, Secretaría y Departamentos del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, por las facilidades dadas en la realización del presente estudio.

A todos mi más profundo agradecimiento.

## Dedicatoria

Al XXXV Aniversario del Triunfo de nuestra Revolución Socialista.

A mis padres y hermanos. A mi esposa e hija que con su gran cariño y aliento me permiten convertir cada objetivo a cumplir en provechosas realidades.

El presente trabajo ha sido realizado por José Francisco Saiz Machado, Ingeniero Pecuario, Investigador Agregado del Centro de Investigación de Suelos Salinos, Instituto de Suelos, Ministerio de Agricultura, Cuba. El mismo fue desarrollado durante el XXXI Curso Internacional de Edafología y Biología Vegetal, Especialidad Edafología, dictado en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla y patrocinado por la UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura), I.C.I. (Instituto de Cooperación Iberoamericano), C.S.I.C. (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), y Universidad de Sevilla.

La dirección del presente trabajo estuvo a cargo del Dr. D. Eduardo O. Leidi Montes.



Ing. José Francisco Saiz Machado



Dr D. Eduardo O. Leidi Montes

INDICE.

	Pag.
INTRODUCCION.....	5
- Generalidades.....	5
- Búsqueda de variedades tolerantes.....	7
- Selección en ambientes controlados.....	7
- Criterios de selección.....	8
MATERIAL Y METODOS. ....	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	27
REFERENCIAS.....	32

## INTRODUCCION.

### Generalidades.

La salinidad, como situación de exceso de sales solubles en el suelo, afecta el crecimiento de las plantas al disminuir el potencial osmótico de la solución del suelo, al interferir con la absorción de nutrientes y al inducir toxicidad iónica y desequilibrios nutritivos (Greenway y Munns, 1981).

La posibilidad de mejorar la tolerancia de los cultivos al estrés salino ha sido objeto de investigación en los últimos 30 años pero son escasos los ejemplos donde una variedad mejorada haya sido empleada para la producción económica en ambientes salinos. Probablemente esto podría deberse al desconocimiento de los factores que proporcionan resistencia, y a la ausencia de un cálculo económico del rendimiento esperado en los genotipos mejorados (Blum, 1988). Considerando la gran variabilidad que presentan los suelos salinos, algunos investigadores indican que la mejor forma de mejorar la producción en ambientes salinos es elevando el potencial de producción y no mejorando la resistencia a salinidad (Richards, 1983). Esta conclusión se basa en el hecho de que la mayor proporción de producción en suelos salinos procede de las partes menos afectadas por salinidad. Richards (1992) observó que en suelos salinos con escaso riego, variedades comerciales de trigo, cebada y girasol tienen mayor productividad que las variedades más tolerantes, que sobreviven más pero producen menos en tales condiciones.

Si bien hay muchas y buenas razones para intentar la mejora por resistencia al estrés salino, también existen motivos para escoger otra solución debido a la elevada inversión en tiempo y alto costo del proceso (Blum, 1988). Cuando la salinidad afecta la productividad en una región determinada, la primera aproximación debería seleccionar el cultivo más tolerante, antes de iniciar la mejora de la resistencia de un cultivo sensible. Podría justificarse el inicio de un proyecto de mejora en

resistencia a salinidad cuando no quedaran otras alternativas económicas.

La selección es uno de los aspectos más importantes de la mejora genética para incrementar la producción de un cultivo en ambientes extremos. Es muy importante identificar el estado de crecimiento de la planta, en el cual una selección por tolerancia produzca individuos que sean más tolerantes para el resto de su ciclo de crecimiento (Blum, 1988).

La tolerancia de un cultivo expresa generalmente la disminución de producción esperada a un nivel determinado de salinidad en el medio comparado con la producción bajo condiciones no salinas. Por lo tanto, la tolerancia es un valor relativo basado en las condiciones de crecimiento del cultivo. La producción es un carácter cuantitativo que está influenciado por otros muchos factores aparte de la salinidad. Para el mejorador, la producción es un carácter fenotípico y la salinidad se considera un componente del ambiente. Pero hay dos tipos de interacción que pueden complicar esta relación aparentemente sencilla: otros factores ambientales pueden modificar positiva o negativamente el efecto del estrés salino, y por otro lado, la interacción genotipo-ambiente, por lo que el mejor genotipo a una concentración salina puede no ser el mejor a otra concentración (Shannon, 1985).

Las condiciones ambientales pueden modificar de un modo importante la tolerancia: temperatura, precipitaciones y humedad relativa pueden afectar directamente la acumulación de iones o las relaciones hídricas del cultivo (Maas y Hoffman, 1977; O'Leary, 1975; Salim, 1989). Alta humedad relativa y temperaturas medias disminuyen los daños por salinidad en los cultivos (O'Leary, 1975; Sinha y Singh, 1976) al reducirse en estas condiciones el gradiente de potencial hídrico suelo-planta-atmósfera y la concentración iónica en la parte aérea. La fertilidad del suelo también puede afectar la respuesta del cultivo a la salinidad (Kafkafi, 1984). El estrés salino inhibe

la absorción y el transporte de nitrógeno (Aslam *et al.*, 1984; Leidi *et al.* 1991), de fósforo (Martínez y Läuchli, 1994), calcio (Lynch y Läuchli, 1985) y potasio (Lynch y Läuchli, 1984; Leidi *et al.*, 1992).

Búsqueda de variedades tolerantes:

La salinidad del suelo puede ser muy variable, en sentido horizontal y vertical del mismo, y cambia temporalmente entre estaciones y dentro de una misma estación, según las lluvias y la evaporación, y verse modificada además por riego. Debido a esta variabilidad es muy difícil evaluar líneas de germoplasma en condiciones de campo. La variación de la concentración salina en el campo y las interacciones entre los factores ambientales pueden determinar grandes errores estándar e impedir las comparaciones entre individuos de generaciones segregantes y entre poblaciones con alta variabilidad natural o inestabilidad ambiental (Shannon, 1985).

Un método alternativo es el de ensayos a campo bajo condiciones relativamente controladas, empleando suelos franco-arenosos no salinos que se riegan con distintos niveles de agua salinizada (por adición de NaCl y CaCl<sub>2</sub>), generando distintos niveles de salinidad de un modo relativamente uniforme (Maas y Hoffman, 1977). Con riegos frecuentes y aplicando volúmenes altos se evita la acumulación de sales, y se emplea un control sin salinidad para cada genotipo para determinar diferencias de crecimiento y producción potencial. De este modo, los genotipos pueden estudiarse a diferentes niveles de salinidad en base al rendimiento relativo al control.

Selección en ambientes controlados:

Para una prueba más rigurosa, con control de las condiciones ambientales, se puede hacer el estudio en cámaras de cultivo o en invernaderos, aunque esto suele llevar a reducir el número de líneas a estudiar. Pero un estricto control del medio de cultivo



nos permite minimizar la varianza ambiental al tiempo que podemos maximizar la expresión de la varianza genética.

El cultivo de las plantas se realiza en contenedores (bandejas, cubos, etc.) con medios salinizados, donde la concentración de sal depende de la sensibilidad del cultivo, variando entre 50 mM de NaCl para arroz hasta 300 mM para cebada (Blum, 1988). En experimentos de gran escala para seleccionar germoplasma se puede emplear un sistema hidropónico, en el que se deben cuidar importantes detalles como: aireación adecuada, balance de nutrientes, control de pH y de la concentración salina a lo largo del período, e incremento paulatino de la salinización hasta llegar a la concentración deseada, para evitar un choque osmótico. En alfalfa, McKimmie y Dobrenz (1987) emplearon un método de selección basado en tolerancia a salinidad durante germinación, emergencia y crecimiento de plantas (hasta 6 semanas) empleando cajas con vermiculita e irrigadas con solución nutritiva salinizada. Se han empleado distintos sistemas controlados para la selección por tolerancia a salinidad en arroz (Aslam et al., 1993), cultivos forrajeros (Ashraf et al., 1986ab; Johnson et al., 1992; Al-Khatib et al., 1993).

Criterios de selección.

En mejora vegetal, los criterios más empleados para la selección son: producción, estabilidad y adaptabilidad.

La selección del material vegetal por tolerancia a condiciones de estrés salino debe hacerse observando y midiendo algún parámetro que represente, de la mejor forma, la tolerancia del cultivo en términos productivos. Se puede medir inhibición de la germinación, evaluar daño foliar, determinar supervivencia, o cuantificar crecimiento vegetativo y/o producción. Los caracteres de comportamiento agronómico como producción y supervivencia integran los distintos mecanismos fisiológicos responsables de la tolerancia. Muchos mecanismos fisiológicos como exclusión o acumulación de iones, producción de solutos

compatibles y ajuste osmótico se han asociado con tolerancia, pero no han podido emplearse satisfactoriamente en mejora (Noble y Rogers, 1992). Los criterios agronómicos ofrecen generalmente la aproximación más rápida e integrada para el desarrollo de la selección y la mejora por tolerancia, pero los criterios fisiológicos pueden ofrecer más posibilidades en la mejora si identifican mecanismos bien relacionados con la tolerancia a estrés. Una dificultad que pueden presentar al momento de ser empleados es el tiempo necesario para su evaluación y los recursos necesarios para su medida.

La selección basada en análisis de germinación puede que no sea muy provechosa para mejorar la tolerancia de un cultivo en estadios de crecimiento posteriores (Dewey, 1962). Pero podría ser útil en un supuesto en el que la concentración de sales en el suelo sea el factor crítico y se debe obtener un adecuado número de plantas.

El criterio de supervivencia a altos niveles salinos, sin considerar la tasa de crecimiento y la productividad a niveles moderados, fue propuesto como criterio de selección en tomate, cebada y trigo (Rush y Epstein, 1976; Epstein y Norlyn, 1977; Rush y Epstein, 1981). En este caso se trataría de detectar tolerancia separándola de la capacidad de producción, considerando que son caracteres independientes. La capacidad de supervivencia de un genotipo, completando su ciclo en condiciones de alta salinidad, independientemente de su producción potencial en salinidades moderadas, se considera como tolerancia en sentido estricto. El rendimiento está regulado por un conjunto de factores genéticos que no contribuyen directamente a la tolerancia. Así, una vez identificado un alto grado de tolerancia, podría intentarse combinarse este carácter con alto potencial productivo a través de métodos tradicionales de mejora.

Por encima de un nivel de salinidad, se manifiesta el efecto de daño en hojas, como una necrosis o blanqueado, por efecto de toxicidad iónica, acumulación excesiva de iones tóxicos ( $\text{Cl}^-$  y/o

Na<sup>+</sup>. La selección contra la presencia de daño foliar permitiría identificar genotipos con mayor eficiencia en la absorción, transporte y compartimentación iónica, junto a otros mecanismos que contribuyen a proporcionar mayor tolerancia. En alfalfa, empleando este criterio, y seleccionando las plantas que presentaban menos de 10% de daño foliar, permitió una rápida mejora de la tolerancia del cultivo (Noble et al., 1984).

Normalmente, la tolerancia de un cultivo se determina en base a crecimiento y/o rendimiento en términos absolutos o relativos. El rendimiento en términos absolutos, bajo condiciones de salinidad, tiene valor práctico, pero puede llevar a conclusiones erróneas si es el único parámetro que se considera. Si existen diferencias genotípicas en tasas o hábitos de crecimiento, esta circunstancia no permite determinar de forma válida la tolerancia relativa expresándola en términos absolutos de crecimiento o producción. Por ejemplo, un genotipo puede sufrir una severa disminución de la producción por efecto de la salinidad, pero todavía producir más que otro genotipo cuyo rendimiento no resulta afectado por el estrés salino (Rawson et al., 1988).

La comparación entre los comportamientos de un genotipo bajo condiciones de salinidad y un control no salinizado permite una determinación de tolerancia libre de factores interfirientes. Esta forma de expresión nos permite comparar además tolerancias de cultivos muy diferentes, o cuya producción es expresada de un modo distinto. De todos modos, la validez de los datos de tolerancia relativa dependerán del grado de influencia de otros factores: si las reducciones en crecimiento relativo son independientes de las diferencias en crecimiento absoluto causadas por el riego, el clima, la fertilidad, u otras variables, entonces, la relación crecimiento-salinidad constituye una expresión real de la tolerancia del cultivo a salinidad.

La respuesta de un cultivo (R) a la salinidad puede describirse por la siguiente función:

$$R/R_{\max} = 1 - b(CE_e - a)$$

siendo:

R, rendimiento

$R_{\max}$ , rendimiento del control no salino

b, pendiente de la recta, o reducción producida por aumento unitario de la salinidad desde el valor umbral.

$CE_e$ , conductividad eléctrica del extracto de saturación ( $dS\ m^{-1}$ ).

a, valor umbral de salinidad, en unidades de CE ( $dS\ m^{-1}$ ), que representa el máximo nivel de salinidad que la planta puede soportar sin reducir el rendimiento en relación al  $R_{\max}$ .

Maas y Hoffman (1977) clasificaron a los cultivos más importantes en una escala de sensibles a tolerantes basándose en los valores del umbral (a), de la pendiente (b) y de la concentración en la cual no se obtiene crecimiento ( $R=0$ ).

Los genotipos de una especie particular podrían evaluarse según este modelo de respuesta lineal, pero se necesitan muchos valores por encima y por debajo del nivel umbral para definir este valor con cierta exactitud y determinar la pendiente (Subbarao y Johansen, 1994). Pero el valor umbral es especialmente sensible a la interacción con otros factores ambientales (Shannon, 1985).

Según Subbarao y Johansen (1994), el modelo lineal de Maas y Hoffman podría constituir el marco conceptual para la mejora genética en la tolerancia a salinidad. Para mejorar el comportamiento del cultivo en condiciones de salinidad, es necesario aumentar el umbral al máximo, reducir la pendiente para dar estabilidad en el comportamiento del cultivo frente a un rango de concentraciones salinas, y aumentar la concentración en la que la producción es nula ( $R=0$ ). Cada uno de estos atributos sería independiente, ya que se refieren a la respuesta en niveles determinados de salinidad. Si esto se asume, se debería mejorar independientemente para cada atributo. Una vez identificadas las fuentes de tolerancia para cada atributo, podrían combinarse en

un genotipo por cruzamientos. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que esta vía necesita de mucho tiempo y es muy laboriosa, y además sólo se puede mejorar la tolerancia hasta un cierto grado. El nivel de mejora va a depender de la disponibilidad de variabilidad genética en las colecciones de germoplasma y la tolerancia ya presente en el cultivo. Hay que ser realista a la hora de estimar las ventajas potenciales de la mejora. El aumentar la resistencia a estrés puede llevarnos probablemente a genotipos sólo para suelos salinos, ya que su capacidad de producción sería baja, que no podrían competir con genotipos comerciales en condiciones no salinas.

Antes de iniciar un programa de mejora genética deberían tenerse en cuenta varios aspectos, como definir el ambiente para el que se va a mejorar un genotipo, el grado de mejora que se pretende, y el estado de crecimiento más crítico para el ambiente determinado. Ya definidos esos aspectos comenzaría la búsqueda de germoplasma y el elegir la metodología de selección de germoplasma más apropiada, buscando caracteres para la selección e identificando fuentes de genes para los distintos caracteres asociados a tolerancia. El conocimiento de la base genética de los caracteres y la estima de la heredabilidad de los caracteres, nos permitiría iniciar el programa de mejora, en el que se podrían combinar caracteres procedentes de distintas fuentes en una variedad local bien adaptada. La prueba final consistiría en la prueba del genotipo obtenido en varias localidades, en un rango de suelos salinos, para estimar la adaptabilidad del genotipo.

La definición del ambiente para el que se va a mejorar tiene extraordinaria importancia, ya que de esto dependerá en gran parte la aplicabilidad del resultado final. El tipo de salinidad, determinado por las sales predominantes en el suelo, y la variabilidad en tiempo y espacio durante la estación de crecimiento del cultivo deben conocerse a priori para saber los solutos a emplear y estimar las concentraciones necesarias para la determinación experimental de la tolerancia. Existen

diferencias entre sales en cuanto al nivel en que producen daño en los tejidos, y además, la toxicidad relativa de una sal en particular puede variar entre cultivos (Levitt, 1980).

La selección de germoplasma debe realizarse empleando criterios adecuados de selección. Los criterios para evaluar la tolerancia de un cultivo a salinidad varían dependiendo del nivel de estrés salino. En salinidad baja ó moderada, la capacidad de producción del genotipo sería el carácter más importante, mientras que para alta salinidad, el criterio de supervivencia prevalecería (Epstein *et al.*, 1980). Es probable que los mecanismos fisiológicos que juegan un papel importante en mantener la capacidad de producción bajo ciertas condiciones de estrés no sean los mismos a los que dan mayor capacidad de supervivencia a altas concentraciones de sal (Shannon, 1985).

Estudiando la variabilidad genética para el carácter de selección de interés en una colección de germoplasma podremos determinar el grado de mejora que cabe de esperar. Las pruebas de tolerancia entre variedades suelen detectar poca variabilidad, como se ha observado en lechuga (Shannon *et al.*, 1983), melón (Mangal *et al.*, 1988), vid (Groot Obink y Alexander, 1973) y algodón (Leidi, 1994). Se debe intentar, por tanto, recurrir a un banco de germoplasma donde esté representada la máxima diversidad genética de la especie a mejorar. Así, con el fin de seleccionar genotipos capaces de producir empleando agua de mar se ha hecho una búsqueda sistemática a gran escala en germoplasma de trigo y cebada (Epstein y Norlyn, 1977; Kingsbury y Epstein, 1984; Sayed, 1985). En arroz, el IRRI (International Rice Research Center, Filipinas) (IRRI, 1981) ha conseguido variedades capaces de producir en áreas donde las variedades tradicionales no podrían sobrevivir. También se ha demostrado que por cruzamiento entre cultivares tolerantes se pueden desarrollar variedades con mayor tolerancia que los parentales. Cuando se efectuaron cruzamientos entre los dos cultivares más tolerantes se observó sobredominancia para la tolerancia a sal en  $F_1$ , y muchas líneas de  $F_2$  eran mucho más tolerantes que los parentales

(Moeljopawiro y Ikehashi, 1981). Otros investigadores (Aslam et al., 1993) también han empleado con éxito el sistema hidropónico para identificar tolerancia a salinidad en esta especie, empleando como criterios de selección peso fresco y seco total y mortalidad de plantas.

La evaluación de genotipos desde germinación a madurez empleando sistemas hidropónicos en gran escala podría ser la mejor opción para identificar material tolerante a salinidad en todos los estados de crecimiento (Subbarao y Johansen, 1994). Si los genotipos responden de un modo diferente según el estado de crecimiento, esto indicaría que la tolerancia está bajo distinto control genético y deben considerarse por tanto como caracteres independientes. Si se considera la tolerancia para un estado de crecimiento específico habría menos componentes genéticos para analizar (Jones y Qualset, 1984) facilitándose el análisis genético, al reducir el número de loci segregantes, y la identificación de las bases fisiológicas de la tolerancia. Identificados los mecanismos de tolerancia para cada estado de crecimiento específico posibilitaría la incorporación de tolerancia a un cultivar con alto potencial de producción (Subbarao y Johansen, 1994).

El algodón, si bien es un cultivo considerado tolerante a salinidad (Maas, 1986), también se afecta por concentraciones crecientes de sales en el medio, con disminución de germinación y crecimiento vegetativo (Läuchli et al., 1981; Leidi et al., 1992) e inhibición en la absorción de nutrientes (Leidi et al., 1991; Martínez y Läuchli, 1994), efectos que finalmente se traducen en una disminución en la producción y calidad de la fibra (Thomas, 1980; Razzouk y Whittington, 1991). Existen pocas referencias sobre diferencias genotípicas en respuesta al estrés salino (Läuchli et al., 1981; Läuchli y Bigman, 1983; Leidi, 1994) por lo que resulta de gran interés evaluar comparativamente los comportamientos de genotipos señalados como tolerantes o sensibles con otras variedades introducidas a la colección de germoplasma, con el propósito adicional de detectar mecanismos

fisiológicos que puedan explicar las diferencias de tolerancia al estrés salino.

En este trabajo se analiza el comportamiento de cultivares de algodón bajo salinidad en condiciones controladas con el objeto de detectar los caracteres mejor relacionados con tolerancia del cultivo en estado vegetativo.

## MATERIAL Y METODOS.

Material vegetal:

Se emplearon semillas de cultivares de algodón (Gossypium hirsutum L.) señalados como tolerantes (T) o sensibles (S) según Läubli et al. (1981), Millhollon et al. (1993) y Leidi (1994). Los cultivares empleados fueron Deltapine 50 (DPine50, T), Stoneville 825 (Stv825, S), Acala 1517-88 (Acala88, T), Acala 1517-SR2 (AcalaSR2, T), Paymaster 792 (Pym792, S) Guazuncho INTA (GuazINTA, S), Precoce 1 (Precl, T) y Zaire 407/1157 (Zai407, T).

Se estudió el efecto de la salinidad en dos estados de crecimiento diferentes: de plántula joven (7 días) y estado vegetativo inicial (aproximadamente 16 días).

### Experimento 1.

En este experimento se estudió el efecto de salinidad en el crecimiento de plántulas jóvenes. A tal efecto, se germinaron semillas de los cultivares indicados en papel de filtro humedecido con solución Long Ashton (Hewitt, 1966) en cámara de incubación (30°C). A las 48 h, se seleccionaron plántulas por uniformidad de longitud radical, y se transplantaron a nuevas hojas de papel de filtro humedecido con solución control (Long Ashton) y solución salinizada (Long Ashton + 200 mM NaCl). La concentración de calcio de la solución Long Ashton original se incrementó por adición de  $\text{CaCl}_2$ , para dar 7 mM  $\text{Ca}^{2+}$  de concentración final, tanto en la solución control como en la salinizada. El conjunto de papel de filtro y plántulas se colocó



en bolsas plásticas, y se incubó en posición vertical por 5 días a 25°C. Al final de este período se determinó el peso fresco y seco de parte aérea y raíces, la longitud de la raíz principal, y el número de raíces secundarias, y se analizó la concentración de Na y K en parte aérea.

#### Experimento 2a.

En este experimento se estudió el efecto de salinidad en el crecimiento vegetativo de los cultivares Stv825 y Acala88. Las semillas de los cultivares se germinaron en condiciones similares a las indicadas anteriormente, seleccionando plántulas que se transplantaban a papeles de filtro humedecido con solución nutritiva y bolsas de plástico, y se mantenían hasta que los hipocótilos tuvieran suficiente longitud (2-3 cm) para permitir el trasplante a un sistema hidropónico. La composición de la solución nutritiva empleada era similar a la utilizada en el experimento anterior. En el tratamiento salino, la adición de NaCl fue progresiva, para alcanzar 200 mM NaCl en 4 días, y evitar un shock salino. La aireación se suministró con bomba de aire de pecera. Las plantas se cultivaron con 14 horas de luz (PAR: 500  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). La temperatura durante el período de cultivo osciló entre 21 y 30°C respectivamente. La humedad relativa varió entre 20-30%.

Se realizaron 3 cosechas de plántulas: una inicial antes de la imposición de los tratamientos, una segunda a los 7 días y una tercera a los 14 días desde el trasplante. Se determinó el peso fresco y seco de hojas, tallos y raíces separadamente. El material seco se molió, y después de una extracción acuosa en caliente (98°C), se determinó Na y K por fotometría de llama y Cl con electrodo selectivo.

#### Experimento 2b.

Experimento similar al descrito anteriormente pero empleando los cultivares Pym792 y Zai407. La temperatura durante el período de cultivo estuvo entre 30-34°C y la humedad relativa entre 20-

25%. Se realizaron similares determinaciones al expto. anterior.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza según un diseño completamente aleatorizado.

## RESULTADOS.

### Experimento 1.

El porcentaje de inhibición de crecimiento (Fig.1) producido por el estrés salino en relación al control en ocho genotipos de algodón indica en todos los casos mayor inhibición en la parte aérea (siempre superior al 45%), mientras que en raíces el genotipo más inhibido por efecto del tratamiento salino no superó el 40% con relación al control. Esto confirma el efecto depresivo que ejerce una elevada concentración salina en estadíos iniciales del desarrollo de cultivos, mostrando mayor sensibilidad la parte aérea con relación a las raíces.

Los genotipos AcalaSR2 y Stv825 fueron los más sensibles al estrés salino al reducir el crecimiento con relación a sus respectivos controles en más del 50% (Fig. 1), mientras que sus raíces fueron de las menos sensibles al tratamiento salino. La mayor inhibición de raíces ocurrió en el genotipo GuazINTA, seguido por DPine50 y Pym792.

### Experimento 2a.

Los genotipos Stv825 y Acala88 han sido reportados (Läuchli et al., 1981; Millhollon et al., 1993) como sensible y tolerante respectivamente bajo condiciones salinas. Estos antecedentes condujeron a este experimento, donde su evaluación se prolongó hasta un posterior estadio de desarrollo vegetativo.

Los resultados obtenidos (Fig. 2 y 3) muestran al cultivar

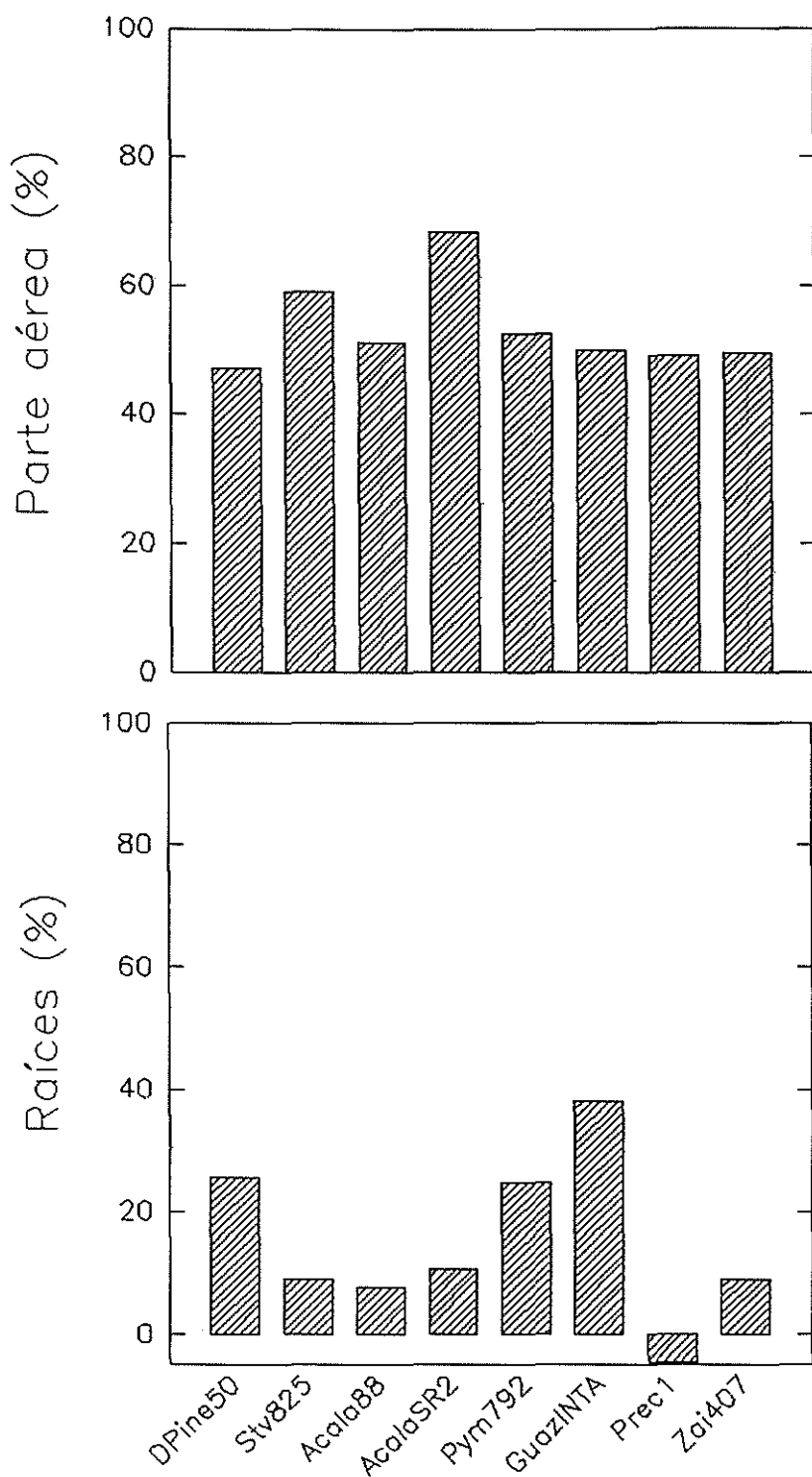


Fig. 1. Inhibición del crecimiento de parte aérea y raíces en plántulas de genotipos de algodón por efecto del estrés salino (200 mM NaCl). Valores relativos respecto al control.

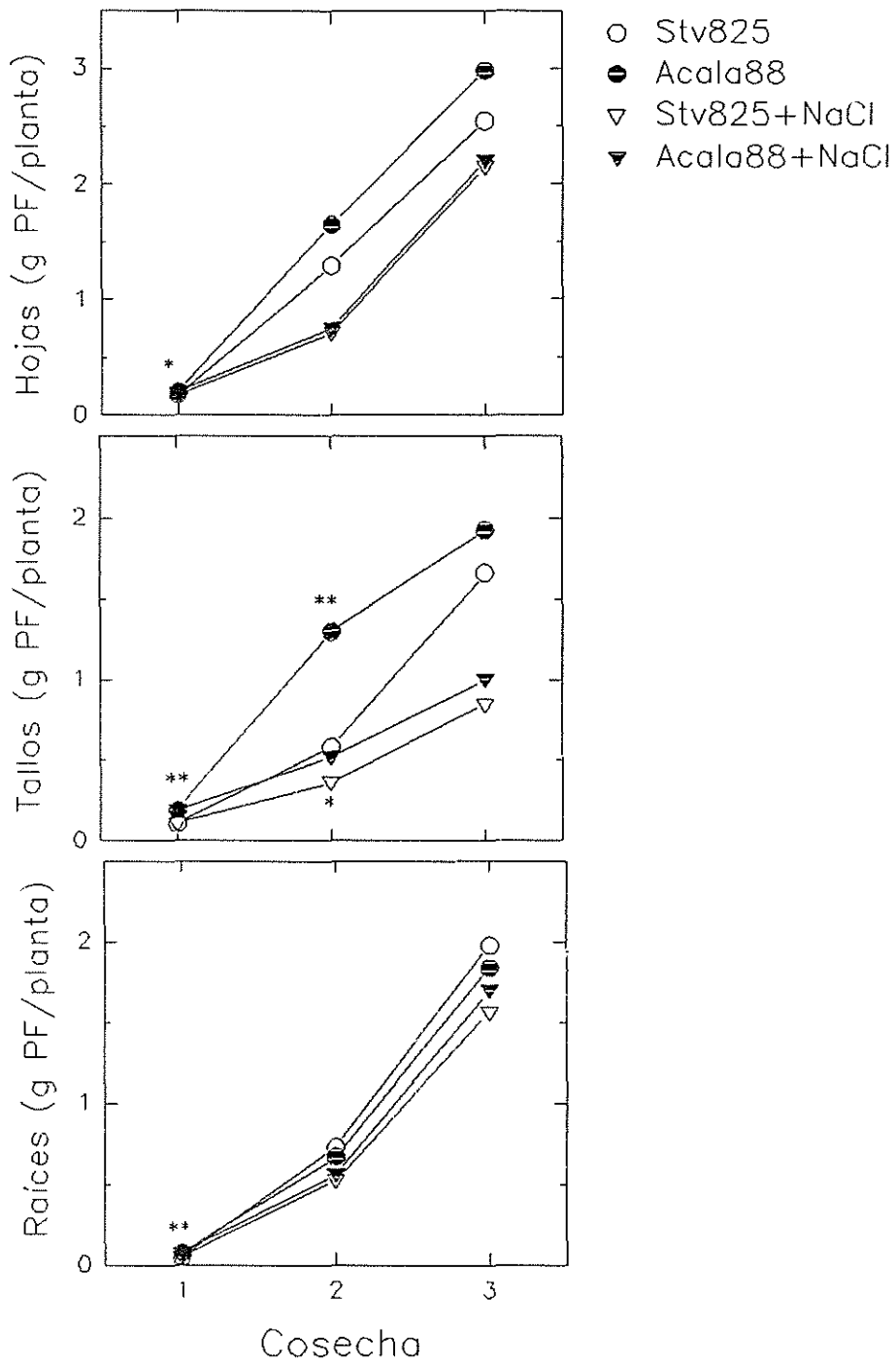


Fig. 2. Evolución del peso fresco de hojas, tallos y raíces de los genotipos Stv825 y Acala88 cultivados en solución control y salinizada (200 mM NaCl). Se señala la significación estadística de la comparación entre genotipos para cada tratamiento (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). Sin asteriscos: diferencias no significativas.

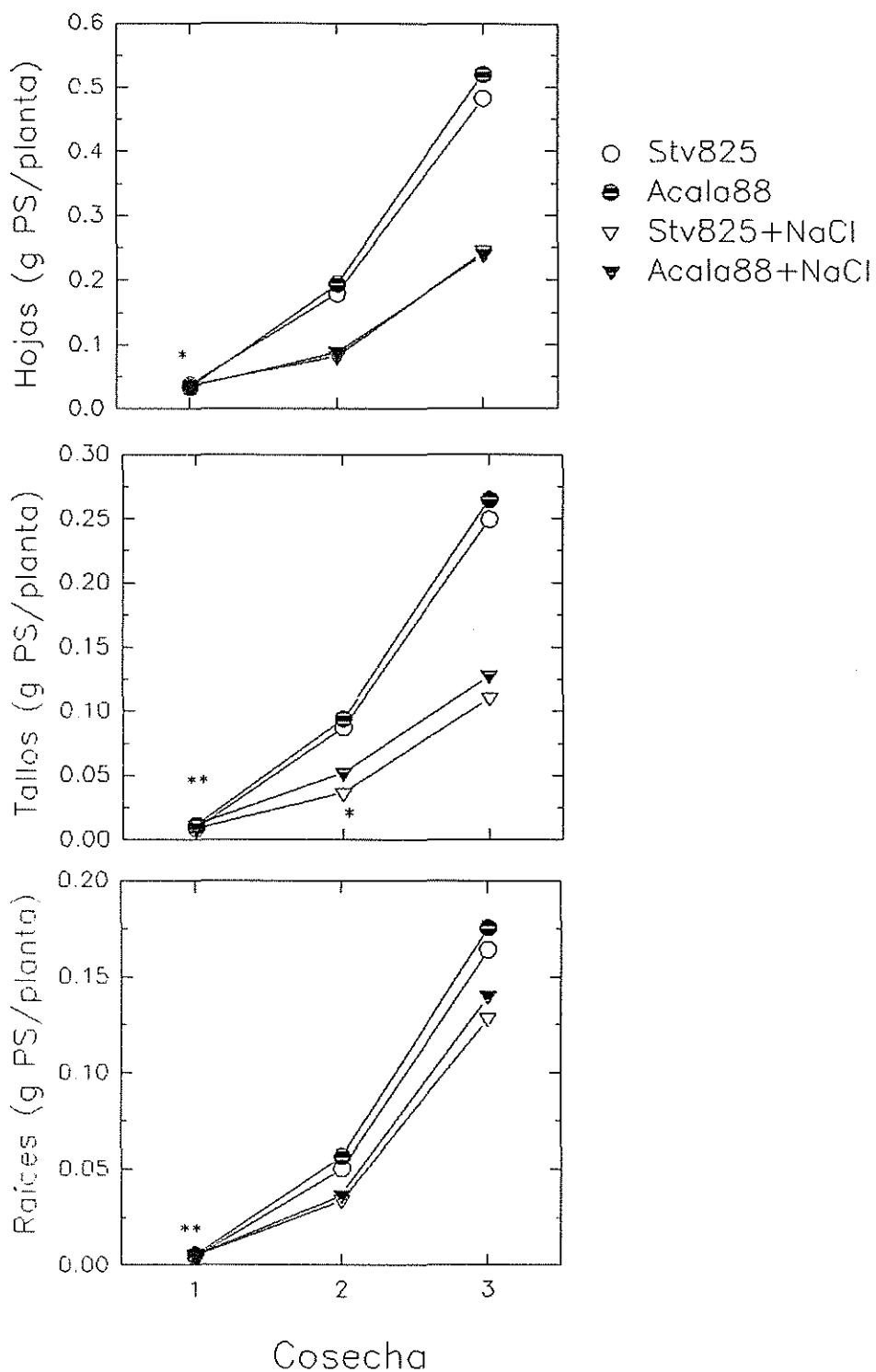


Fig. 3. Acumulación de materia seca en hojas, tallos y raíces de los genotipos Stv825 y Acala88 cultivados en solución control y salinizada (200 mM NaCl). Se señala la significación estadística de la comparación entre genotipos para cada tratamiento (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). Sin asteriscos: diferencias no significativas.

Acala88 con una mayor tasa de crecimiento, si bien no significativa, en el tratamiento control. En términos absolutos, el comportamiento de Acala88 y Stv825 en estrés salino fue similar, tanto en peso fresco como seco de hojas, tallos y raíces. En términos relativos, refiriendo el crecimiento en estrés en relación al control, la mayor inhibición del crecimiento de hojas (en base a peso fresco o seco) por efecto de salinidad en la última cosecha se observó en el cultivar Acala88. No existieron diferencias importantes entre cultivares en la sensibilidad de tallos y raíces al estrés salino.

#### Experimento 2b.

El experimento, realizado en similitud de condiciones al anterior, pero empleando los genotipos Pym792 y Zai407, sensible y tolerante respectivamente a salinidad (Leidi, 1994) permitió observar que, bajo condiciones de estrés salino, el cultivar Zai407 logró un mayor desarrollo en hojas, tallos y raíces en relación a Pym792, que alcanzó menores pesos en los distintos órganos medidos (Figs. 4 y 5). En términos relativos, el crecimiento de hojas, tallos y raíces (en base a peso fresco y seco) de Zai407 resultó menos inhibido por el estrés salino que el cultivar Pym792.

Las concentraciones de Na, K y Cl en hojas, tallos y raíces de los cultivares Pym792 y Zai407 en el tratamiento salino a lo largo del período experimental se presentan en las Figs. 6, 7 y 8. Los resultados obtenidos muestran como el cultivar Zai407 presentó la mayor concentración de Na y Cl en hojas. Sin embargo, la concentración foliar de K fue superior en Pym792.

Resulta interesante comprobar que en tallos ocurrió lo contrario, pues en este caso fue el cultivar Pym792 el que presentó la mayor concentración de Na. La concentración de K fue bastante similar entre ambos cultivares, mientras que la concentración de Cl fue algo superior en Pym792 en la segunda cosecha.

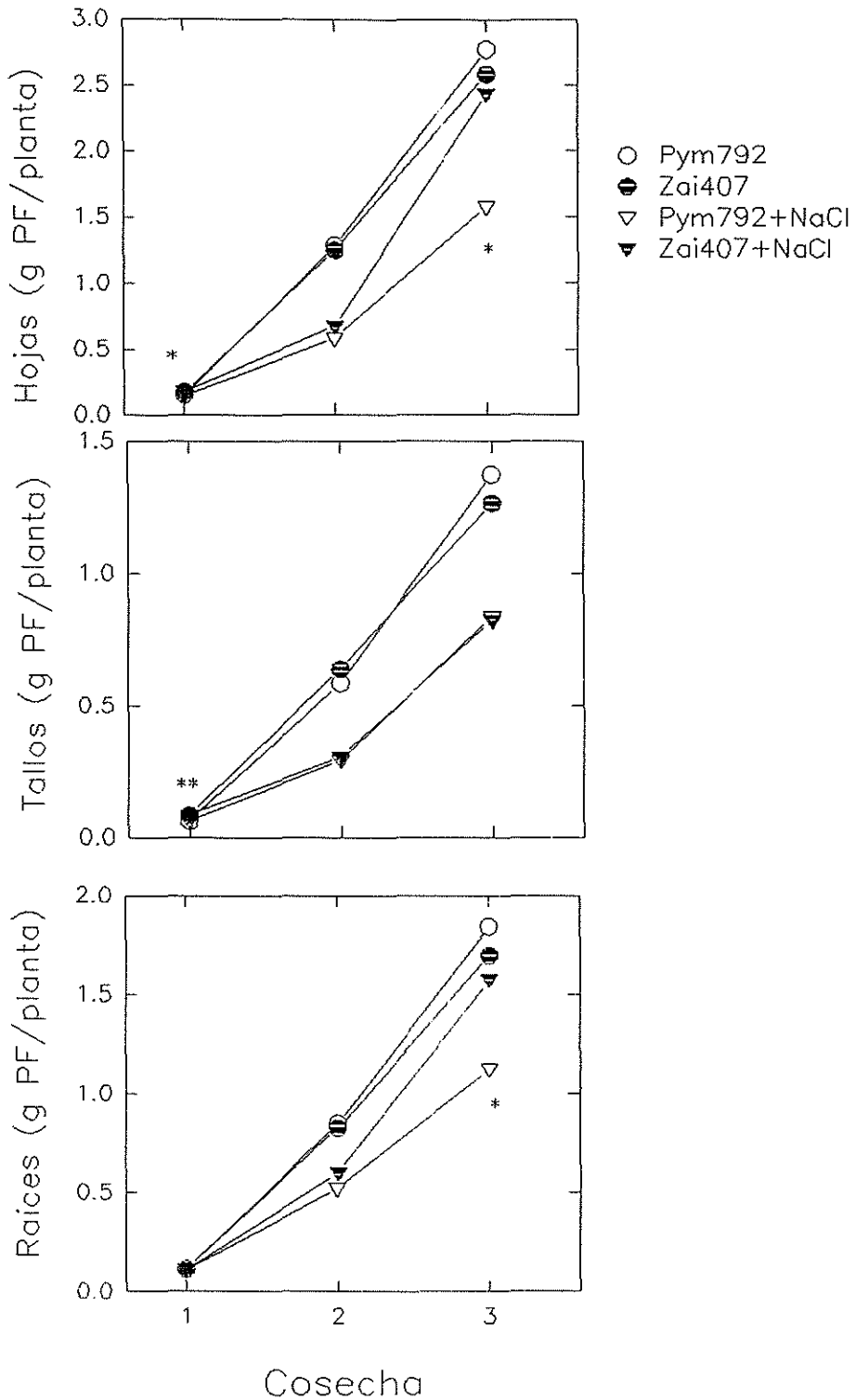


Fig. 4. Evolución del peso fresco de hojas, tallos y raíces de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en solución control y salinizada (200 mM NaCl). Se señala la significación estadística de la comparación entre genotipos para cada tratamiento (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). Sin asteriscos: diferencias no significativas.

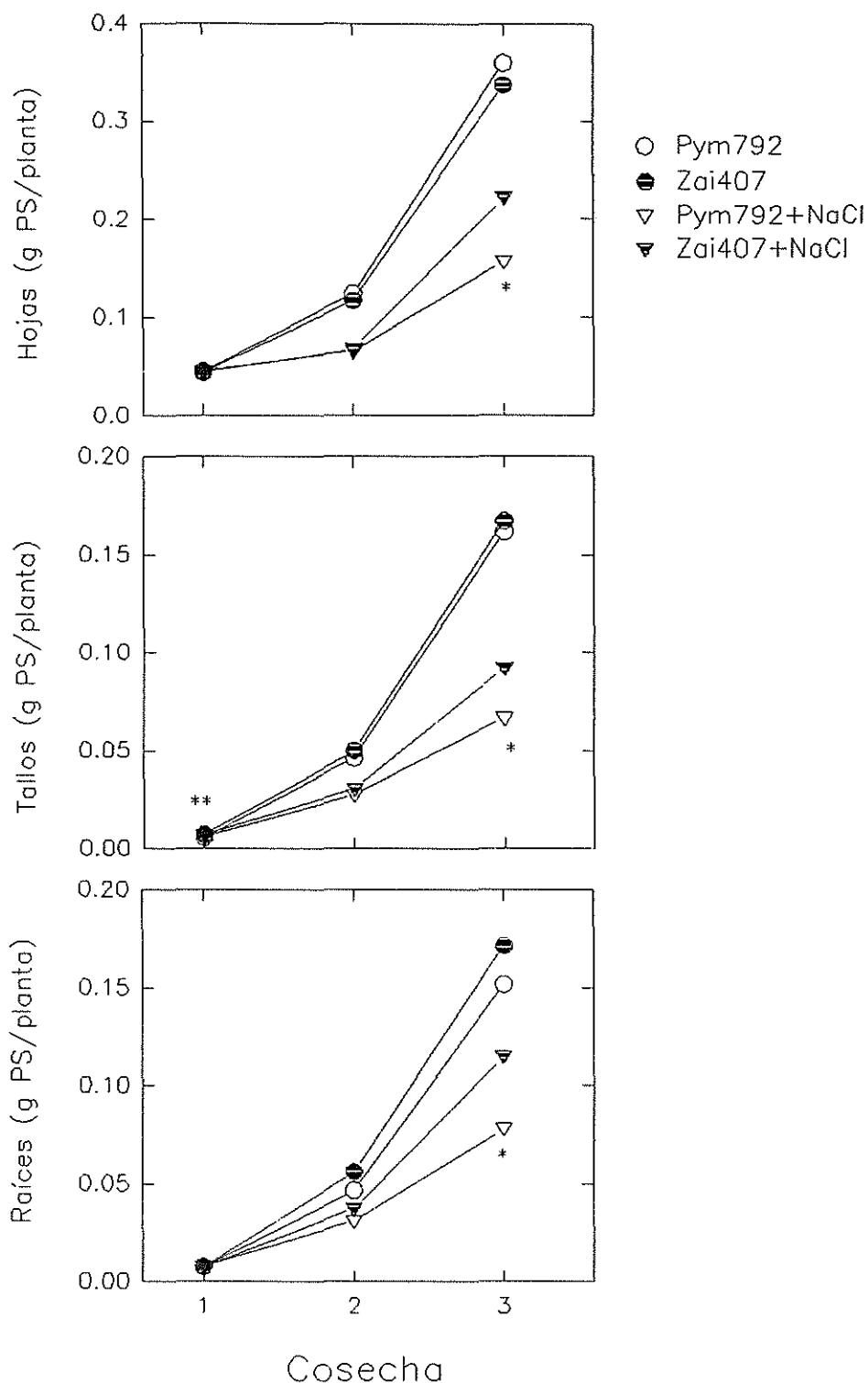


Fig. 5. Acumulación de materia seca en hojas, tallos y raíces de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en solución control y salinizada (200 mM NaCl). Se señala la significación estadística de la comparación entre genotipos para cada tratamiento (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ). Sin asteriscos: diferencias no significativas.



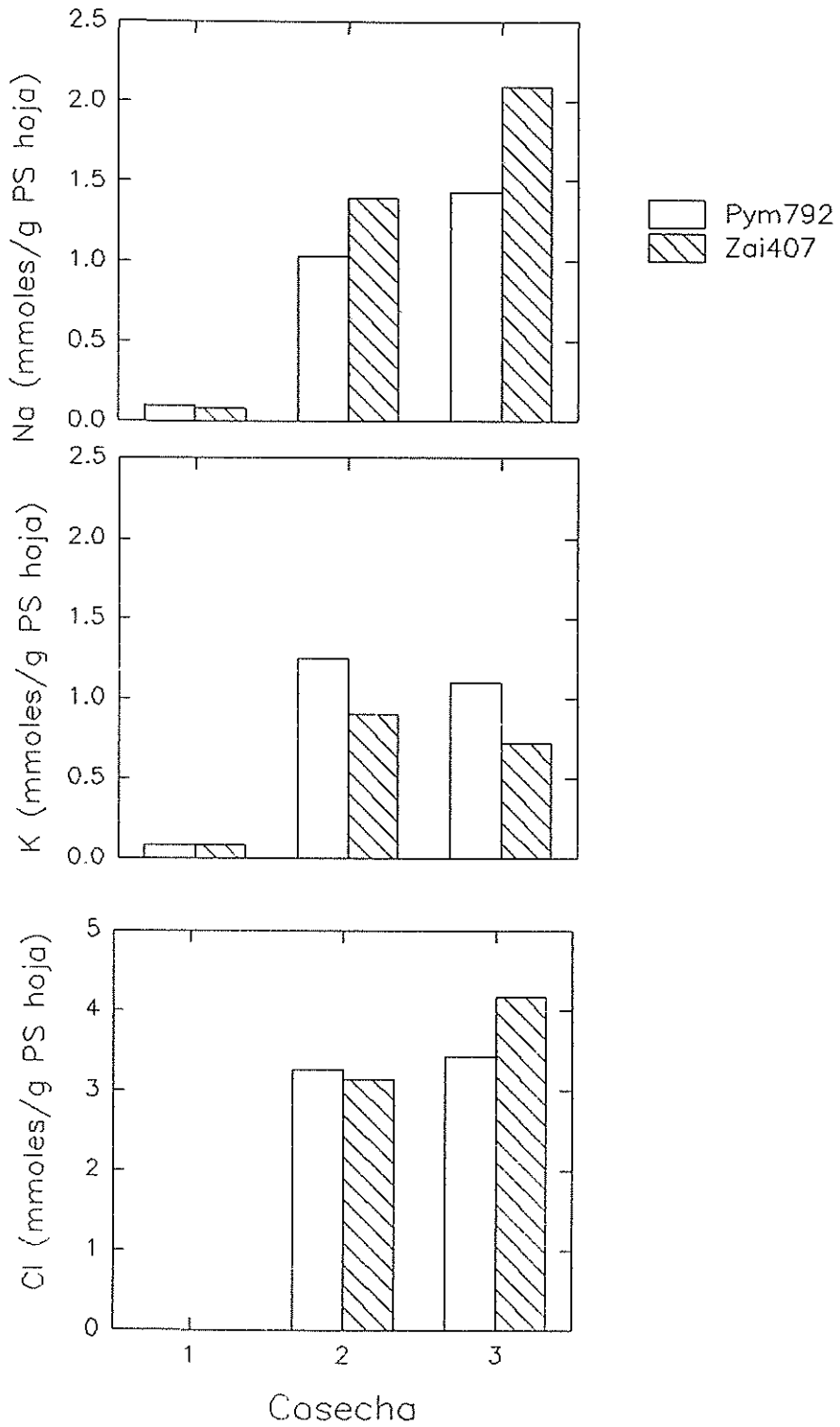


Fig. 6. Evolución en la concentración de Na, K y Cl en hojas de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl).

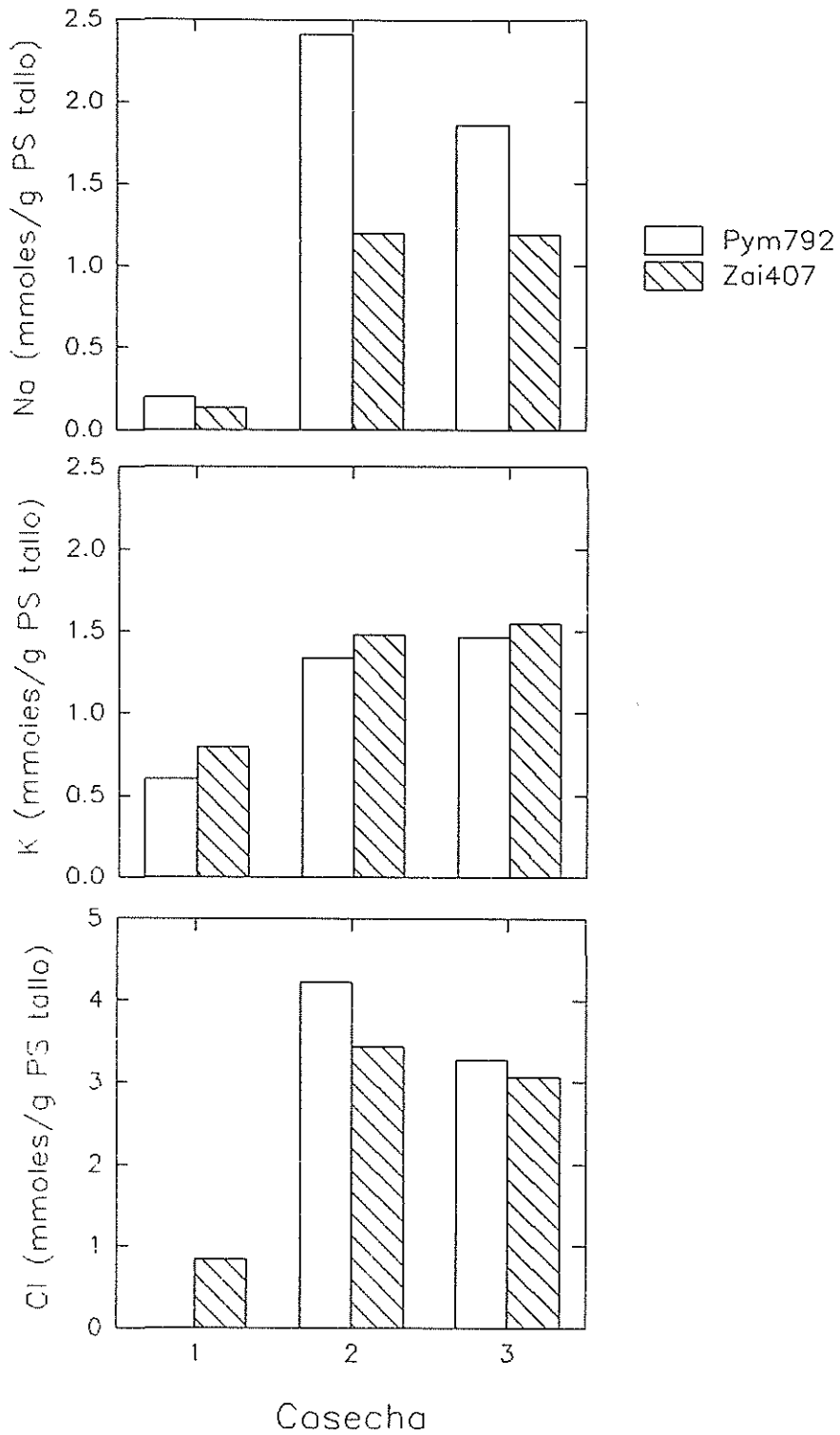


Fig. 7. Evolución en la concentración de Na, K y Cl en tallos de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl).

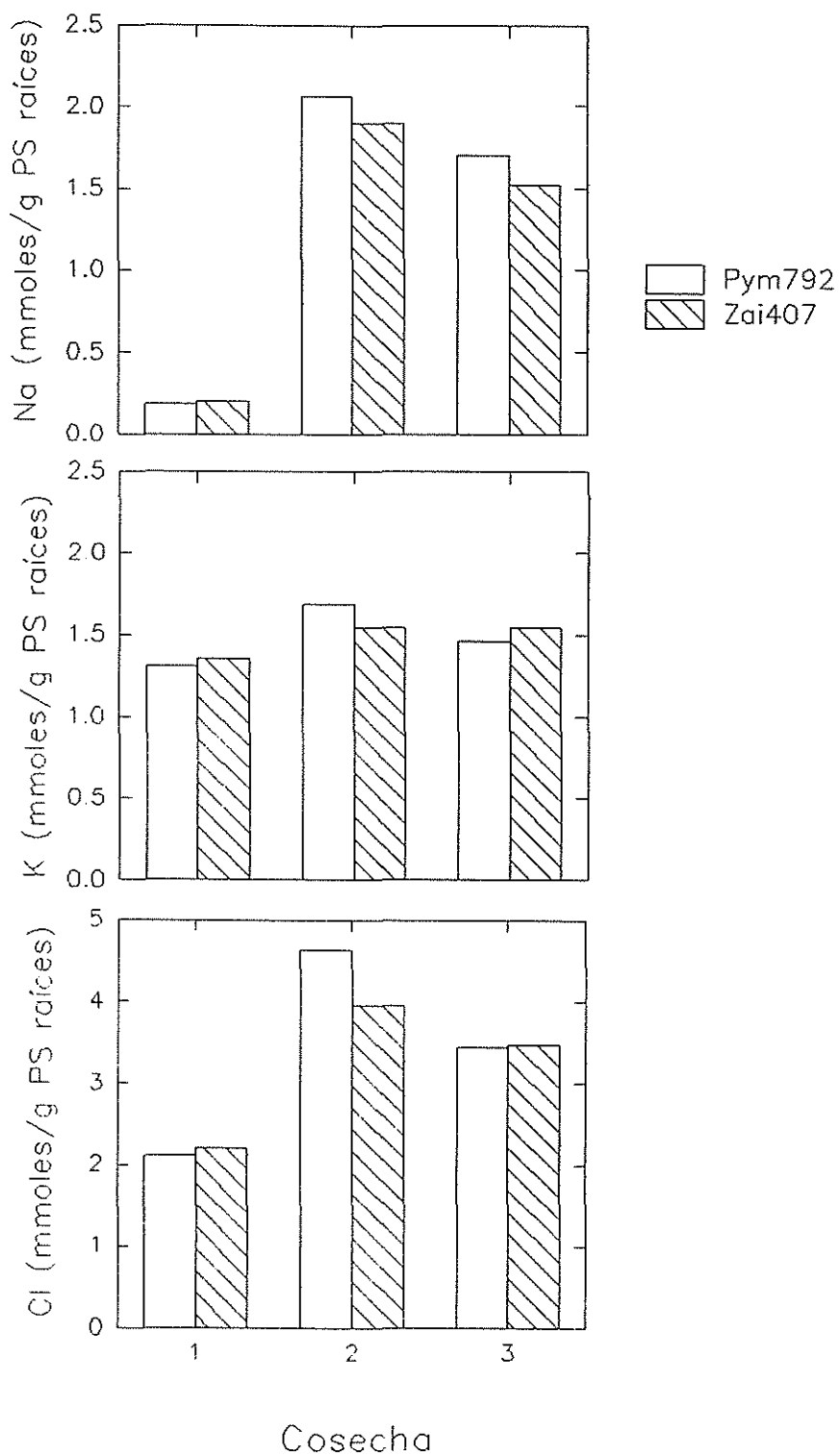


Fig. 8. Evolución en la concentración de Na, K y Cl en raíces de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl).

En raíces, las concentraciones de los tres elementos analizados fue bastante similar, siendo algo superior el nivel de Na en Pym792. Los niveles de Na y Cl tendieron a disminuir en el tiempo.

Al analizar el contenido de cada uno de los elementos y su distribución en las plantas de los dos genotipos estudiados, observamos que la tendencia general fue a aumentar a medida que transcurrieron las cosechas.

El cultivar Zai407 presentó el mayor contenido de Na y Cl en hojas mientras que el K no presentó mayor diferencia entre cultivares. Cuando analizamos el cultivar Pym792 encontramos que el contenido de Cl en hojas es aproximadamente la mitad del presentado por el cultivar Zai407. El cultivar Zai407 presentó el mayor contenido de K y Cl en tallos y raíces en la última cosecha en relación al cultivar Pym792.

#### DISCUSION.

La variabilidad genotípica observada en respuesta al estrés salino al estado de plántula no se corresponde con el comportamiento en estadíos posteriores de crecimiento. Así, los cultivares Stv825 y Acala88 que presentaron diferencias de sensibilidad al estrés salino al estado de plántula (Fig. 1) no mantuvieron esas diferencias en estadíos posteriores de crecimiento (Figs. 2 y 3). Por otra parte, los cultivares Pym792 y Zai407, que mostraron porcentajes de inhibición similares en plántula (Fig. 1), presentaron una capacidad muy distinta de tolerar el estrés salino al estado vegetativo (Figs. 4 y 5).

El cultivar Zai407 fue el destacado por su tolerancia a las condiciones de estrés salino impuestas durante el estado vegetativo, y el que presentó mayor concentración y contenido de Na en hojas. La absorción de K en ambos cultivares fue inhibida por efecto de la salinidad: al comparar los tratamientos control y salino, se observó una importante

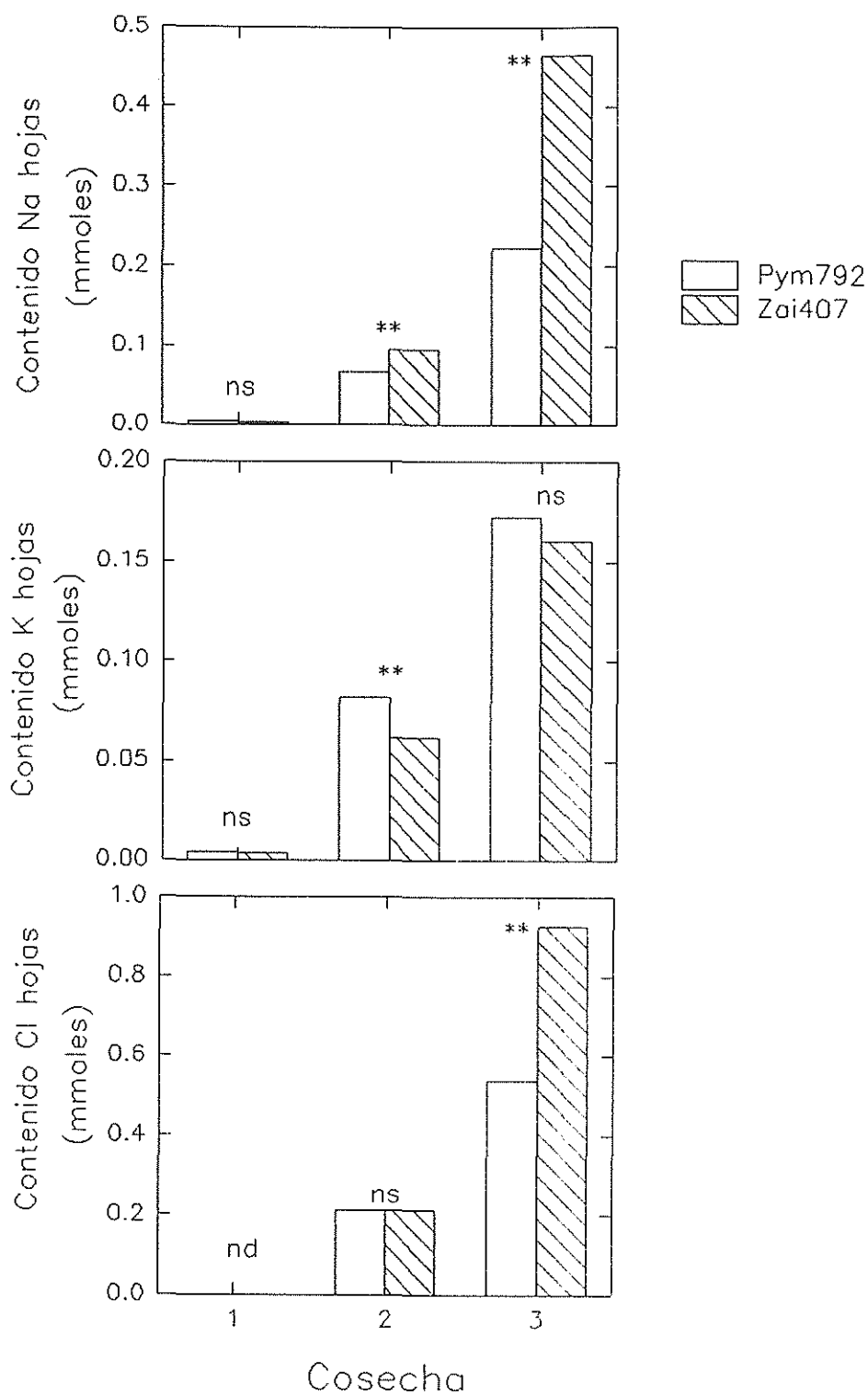


Fig. 9. Cambio en el contenido de Na, K y Cl en hojas de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl). Para cada cosecha, se indica la significación estadística de la comparación entre genotipos (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; ns, no significativo).

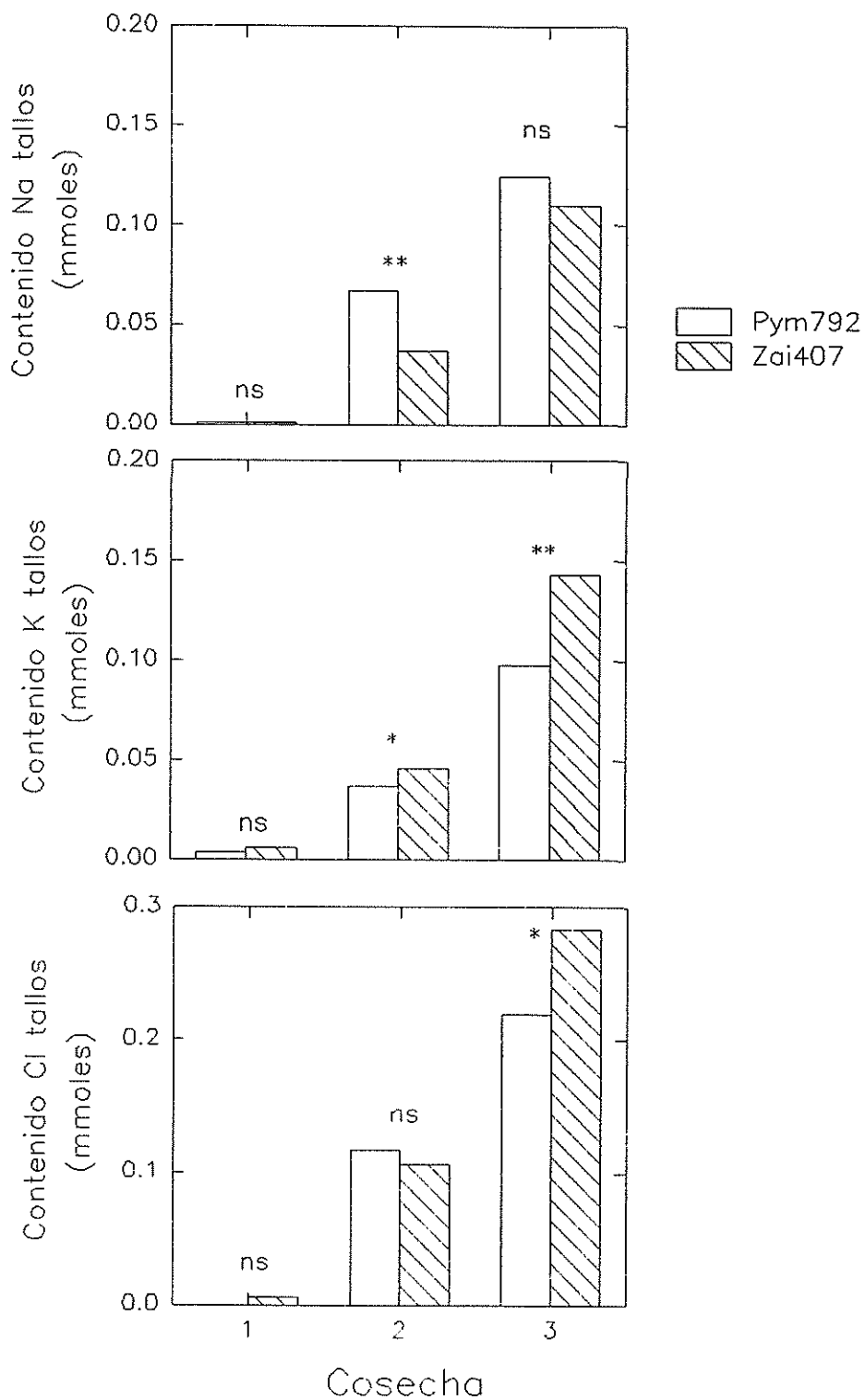


Fig. 10. Cambio en el contenido de Na, K y Cl en tallos de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl). Para cada cosecha, se indica la significación estadística de la comparación entre genotipos (\*, P<0.05; \*\*, P<0.01; ns, no significativo).

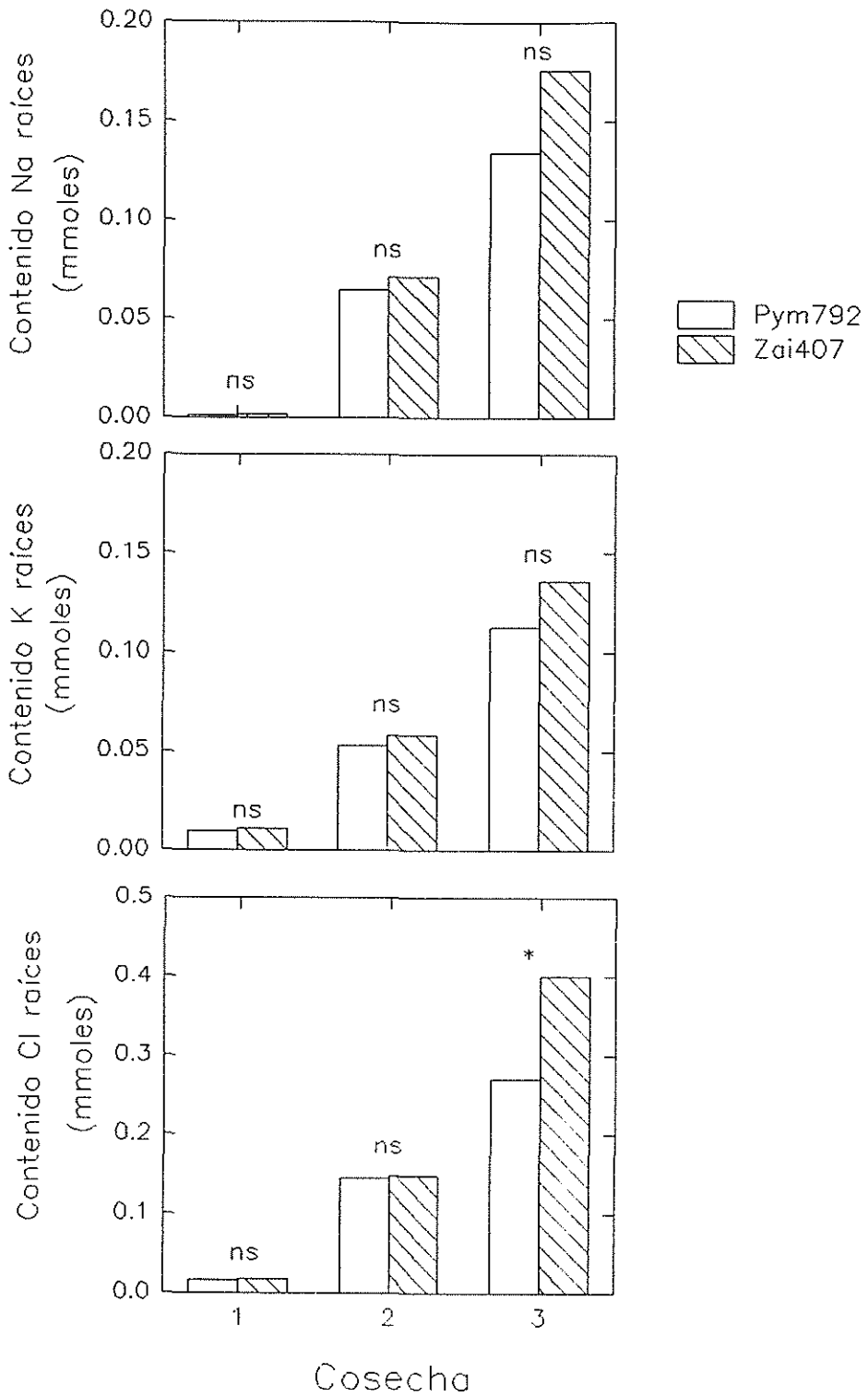


Fig. 11. Cambio en el contenido de Na, K y Cl en raíces de los genotipos Pym792 y Zai407 cultivados en soluciones salinizadas (200 mM NaCl). Para cada cosecha, se indica la significación estadística de la comparación entre genotipos (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; ns, no significativo).

reducción en la concentración y contenido de K en las plantas cultivadas en el medio salinizado (datos no presentados) en coincidencia con trabajos previos de otros autores (Kent y Läuchli, 1985; Leidi et al., 1991). En condiciones de salinidad, las diferencias de concentración de K entre cultivares no fueron muy significativas, destacando sólo una mayor concentración en hojas en Pym792.

Estos resultados nos permiten sugerir que la capacidad del cultivar Zai497 de tolerar altas concentraciones salinas se produce al comportarse como una especie inclusiva (Greenway y Munns, 1981), es decir acumulando iones que le permiten reducir el potencial hídrico del simplasto y poder crecer en un medio donde la salinización con NaCl produce un potencial osmótico aproximado a 0.92 MPa (Wyn Jones y Gorham, 1983). En otras palabras, la inclusión de iones le permitiría el ajuste osmótico, situación que estaría acompañada probablemente de una efectiva compartimentación de esos iones en vacuolas para evitar efectos tóxicos en el citoplasma (Flowers y Yeo, 1986). No se aprecia un papel importante de la acumulación de K en relación a una mayor tolerancia: el cultivar Pym792, que presentó mayor nivel foliar de K, fue el más sensible al estrés salino. En otras especies, se considera que la acumulación preferencial de K sobre Na es principal factor determinante de la mayor tolerancia a salinidad (Jeschke, 1984). En distintas especies de leguminosas (Läuchli, 1984; Subbarao et al., 1990) y gramíneas (Gorham et al., 1985; Schachtman y Munns, 1992) se cita con frecuencia la exclusión de iones (Na y Cl) y la absorción preferencial de K sobre Na como los principales mecanismos de tolerancia al estrés salino. De acuerdo con nuestros resultados, el algodón tendría un comportamiento más cercano a las halófitas (Gorham et al., 1985; Glenn et al., 1994) en las que la acumulación de iones y no la exclusión determinan una mayor tolerancia al estrés salino.

Los cultivares Stv825 y Acala88 no presentaron marcadas diferencias en tolerancia como se esperaba según lo indicado en la bibliografía (Läuchli et al., 1981; Millhollon et al., 1993).



Esto podría deberse posiblemente a las diferentes condiciones de ensayo empleadas en este estudio.

En conclusión, la determinación de tolerancia con ensayos en plántulas no se relacionó con el comportamiento en etapas posteriores del crecimiento vegetativo. En un proceso de selección de germoplasma deberían prolongarse los ensayos hasta un estado vegetativo donde los fenómenos inducidos por el estrés salino (efecto osmótico y toxicidad iónica) permitieran la expresión de las diferencias genotípicas en tolerancia al estrés. Quedaría por demostrar que la mayor acumulación de Na y Cl, como se observó en el genotipo Zai407, contribuye efectivamente a un mejor comportamiento frente al estrés salino, estudiando otros procesos que pueden proporcionar tolerancia, como la síntesis de compuestos osmo-protectores y la compartimentación intracelular del Na y Cl absorbidos.

#### REFERENCIAS.

- AL-KHATIB M., McNEILLY T., COLLINS J.C. 1993. The potential of selection and breeding for improved salt tolerance in lucerne (Medicago sativa L.). *Euphytica* 65: 43-51.
- ASHRAF M., McNEILLY T., BRADSHAW A.D. 1986a. The response of selected salt-tolerant and normal lines of four grass species to NaCl in sand culture. *New Phytol.* 104: 453-462.
- ASHRAF M., McNEILLY T., BRADSHAW A.D. 1986b. The response to NaCl and ionic content of selected salt-tolerant and normal lines of three legume forage species in sand culture. *New Phytol.* 104: 463-4
- ASLAM M., HUFFAKER R.C., RAINS D.W. 1984. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant Physiol.* 76: 321-325.
- ASLAM M., QURESHI R.H., AHMED N. 1993. A rapid screening technique for salt tolerance in rice (Oryza sativa L.). *Plant Soil* 150: 99-107.
- BLUM A. 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- DEWEY D.R. 1962. Breeding crested wheat grass for salt tolerance. *Crop Sci.* 2: 403-407.

- EPSTEIN E., NORLYN J.D. 1977. Seawater based crop production: A feasibility study. *Science* 197: 249-251.
- EPSTEIN E., NORLYN J.D., RUSH D.W., KINGSBURY R.W., KELLEY D.W., CUNNINGHAM G.A., WRONA A.F. 1980. Saline culture of crops: A genetic approach. *Science* 210: 399-404.
- FLOWERS T.J., YEO A.R. 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 75-91.
- GLENN E.P., OLSEN M., FRYE R., MOORE D., MIYAMOTO S. 1994. How much sodium accumulation is necessary for salt tolerance in subspecies of the halophyte *Atriplex canescens*? *Plant Cell Environ.* 17: 711-719.
- GORHAM J., WYN JONES R.G., McDONNELL E. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant Soil* 89: 15-40.
- GREENWAY H., MUNNS R. 1981. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
- GROOT OBINK J., ALEXANDER D.M.E. 1973. Response of six grapevine cultivars to a range of chloride concentrations. *Am. J. Enol. Vitic.* 24: 65-68.
- HEWITT E.J. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. (2nd rev. ed.) *Commonw. Agric. Bur., Farnham Royal, Great Britain.*
- IRRI. 1981. Annual Report, International Rice Research Institute, Los Baños, Filipinas pp. 102-109.
- JESCHKE W.D. 1984. K<sup>+</sup>-Na<sup>+</sup> exchange at cellular membranes, intracellular compartmentation of cations, and salt tolerance. En: *Salinity Tolerance in Plants. Strategies for Crop Improvement* (R.C. Staples, G.H. Toenniessen, eds.) pp. 37-66. John Wiley & Sons, New York.
- JOHNSON D.W., SMITH S.E., DOBRENZ A.K. 1992. Genetic and phenotypic relationships in response to NaCl at different developmental stages in alfalfa. *Theor. Appl. Genet.* 83: 833-838.
- JONES R.A., QUALSET C.O. 1984. Breeding crops for environmental stress tolerance. En: *Application of Genetic Engineering to Crop Improvement* (G.B. Collins, J.G. Petolino, eds.) pp. 305-340. Martinus Nijhoff-Dr. W. Junk Publ., Dordrecht, The Netherlands.
- KAFKAFI U. 1984. Plant nutrition under saline conditions. En: *Soil salinity under irrigation. Processes and management* (I. Shainberg, J. Shalhevet, Eds.) pp. 319-331. Springer-Verlag Berlin ISBN 3-540-13565-0.
- KENT L.M., LÄUCHLI A. 1985. Germination and seedling growth of cotton: Salinity-calcium interactions. *Plant Cell Environ.*

8: 155-159.

- KINGSBURY R.W., EPSTEIN E. 1984. Selection for salt-resistant spring wheat. *Crop Sci.* 24: 310-315.
- LÄUCHLI A. 1984. Salt exclusion: An adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. En: *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement* (R.C. Staples, G.H. Toenniessen, eds.) pp. 171-187. John Wiley & Sons, New York.
- LÄUCHLI A., BIGMAN G.L. 1983. Assessing salinity stress in exotic cotton strains. *Proc. Beltwide Cotton Production Research Conferences*, p. 54. San Antonio, Texas, USA.
- LÄUCHLI A., KENT L.M., TURNER J.C. 1981. Physiological responses of cotton genotypes to salinity. *Proc. Beltwide Cotton Production Research Conferences*, p. 40., New Orleans, Louisiana, USA.
- LEIDI E.O. 1994. Genotypic variation of cotton in response to stress by NaCl or PEG. En: *Cotton biotechnology*, REUR Technical Series 32 (M.C. Peeters, ed.) pp. 67-73. FAO-Rome.
- LEIDI E.O., NOGALES R., LIPS S.H. 1991. Effect of salinity on cotton plants grown under nitrate or ammonium nutrition at different calcium levels. *Field Crops Res.* 26: 35-44.
- LEIDI, E.O., SILBERBUSH M., SOARES M.I.M., LIPS S.H. 1992. Salinity and nitrogen nutrition studies on peanut and cotton plants. *J. Plant Nutr.* 15: 591-604.
- LEVITT J. 1980. Water, salt and other stresses. In: *Responses of plants to environmental stresses*, vol. II. Academic Press, New York.
- LYNCH J., LÄUCHLI A. 1984. Potassium transport in salt-stressed barley roots. *Planta* 161: 295-301.
- LYNCH J., LÄUCHLI A. 1985. Salt stress disturbs the calcium nutrition of barley (*Hordeum vulgare*). *New Phytol.* 99: 345-354.
- MAAS E.V., HOFFMAN G.J. 1977. Crop salt tolerance- current assessment. *J. Irrig. Drain. Div.* 103: 115-134.
- MAAS E.V. 1986. Salt tolerance of plants. *Appl. Agric. Res.* 1: 12-26.
- MANGAL J.L., HOODA P.S., LAL S. 1988. Salt tolerance of five muskmelon cultivars. *J. Agric. Sci.* 110: 641-643.
- MARTINEZ V., LÄUCHLI A. 1994. Salt-induced inhibition of phosphate uptake in plants of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *New Phytol.* 126: 609-614.

- McKIMMIE T., DOBRENZ A.K. 1987. A method for evaluation of salt tolerance during germination, emergence, and seedling establishment. *Agron. J.* 79: 943-945.
- MILLHOLLON E.P., GOSSET D.R., LUCAS M.C., MARNEY M.M., MOREAU T.M. 1993. Varietal response of cotton plants and corresponding cell cultures to NaCl stress. *Beltwide Cotton Conferences* pp. 1281-1282.
- MOELJOPAWIRO S., IKEHASHI H. 1981. Inheritance of salt tolerance in rice. *Euphytica* 30: 291-300.
- NOBLE C.L., HALLORAM G.M., WEST D.W. 1984. Identification and selection for salt tolerance in lucerne (*Medicago sativa* L.). *Aust. J. Agric. Res.* 35: 239-252.
- NOBLE C.L., ROGERS M.E. 1992. Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops. *Plant Soil* 146: 99-107.
- O'LEARY J.W. 1975. High humidity overcomes lethal levels of salinity in hydroponically grown salt sensitive plants. *Plant Soil* 42: 717-721.
- RAWSON H.M., RICHARDS R.A., MUNNS R. 1988. An examination of selection criteria for salt tolerance in wheat, barley and triticale genotypes. *Aust. J. Agric. Res.* 39: 759-772.
- RAZZOUK S., WHITTINGTON W.J. 1991. Effects of salinity on cotton yield and quality. *Field Crops Res.* 26: 305-314.
- RICHARDS R.A. 1992. Increasing salinity tolerance of grain crops: Is it worthwhile? *Plant Soil* 146: 89-98.
- RICHARDS R.A. 1983. Should selection for yield in saline regions be made on saline or non-saline soils ? *Euphytica* 32: 431-438.
- RUSH D.W., EPSTEIN E. 1981. Breeding and selection for salt tolerance by the incorporation of wild germplasm into a domestic tomato. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 106: 699-704.
- RUSH D.W., EPSTEIN E. 1976. Genotypic responses to salinity: Differences between salt sensitive and salt tolerant genotypes of the tomato. *Plant Physiol.* 57: 162-166.
- SALIM M. 1989. Effects of salinity and relative humidity on growth and ionic relations of plants. *New Phytol.* 113: 13-20.
- SAYED H.I. 1985. Diversity of salt tolerance in a germplasm collection of wheat (*Triticum* spp.). *Theor. Appl Genet.* 69: 651-657.
- SCHACHTMAN D.P., MUNNS R. 1992. Sodium accumulation in leaves of *Triticum* species that differ in salt tolerance. *Aust. J.*

Plant Physiol. 19: 331-340.

SHANNON M.C. 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. Plant Soil 89: 227-241.

SHANNON M.C., McCREIGHT J.D., DRAPER J.H. 1983. Screening tests for salt tolerance in lettuce. J. Am. Soc. Hort. Sci. 108: 225-230.

SINHA B.K., SINGH N.T. 1976. Salt distribution around roots of wheat under different transpiration rates. Plant Soil 44: 141-147.

SUBBARAO G.V., JOHANSEN C. 1994. Strategies and scope for improving salinity tolerance in crop plants. En: Handbook of Plant and Crop Stress (M. Pessarakli, ed.) pp. 559-579, Marcel Dekker Inc., New York.

SUBBARAO G.V., JOHANSEN C., JANA M.K., KUMAR RAO J.V.D.K. 1990. Physiological basis of differences in salinity tolerance of pigeonpea and its related wild species. J. Plant Physiol. 137: 64-71.

THOMAS J.R. 1980. Osmotic and specific salt effects on growth of cotton. Agron. J. 72: 407-412 (1980).

WYN JONES R.G., GORHAM J. 1983. Osmoregulation. En: Encyclopedia of Plant Physiology (New Series) vol. 12C, Physiological Plant Ecology III (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler, eds.) pp. 35-58. Springer-Verlag, Berlin.