

EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO SOBRE LA GERMINACIÓN DE *Atriplex nummularia* (CHENOPODIACEAE)

Effect of Water and Saline Stress on Germination of *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae)

MÓNICA B. RUIZ¹, M.Sc.; CARLOS A. PARERA¹, Ph. D.

¹ Estación Experimental Agropecuaria San Juan INTA, calle 11 y Vidart, Pocito, San Juan. CP 5427. Argentina.

Autor de correspondencia: moruiz@sanjuan.inta.gov.ar

Presentado el 8 de septiembre de 2012, aceptado el 14 de enero de 2013, correcciones el 8 de febrero de 2013.

RESUMEN

Los suelos salinos, característicos de zonas áridas, pueden afectar la germinación de las especies por presentar bajos potenciales hídricos o por toxicidad iónica. En este trabajo se determinó el efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación de *Atriplex nummularia*, una alternativa forrajera para zonas áridas. Las semillas fueron escarificadas para minimizar el efecto inhibitorio de las brácteas y germinadas a 23 °C sobre papel de germinación en soluciones con diferente potencial hídrico (-0,5, -1,0 y -1,5 MPa) de cloruro de sodio (NaCl) y polietilenglicol (PEG), utilizando agua destilada como control. El porcentaje de germinación y la velocidad de germinación fueron significativamente afectados por la concentración de la solución y el soluto utilizado. A valores de potencial osmótico más negativos el porcentaje de germinación y velocidad de germinación fueron significativamente menores. En los tres potenciales hídricos ensayados la velocidad y el porcentaje de semillas germinadas en NaCl fue significativamente menor que en PEG, siendo especialmente notoria esta diferencia a -1,0 MPa. Los datos sugieren que las semillas de *A. nummularia* presentan sensibilidad a la presencia de los iones Na⁺ y Cl⁻ que afectan el proceso de germinación.

Palabras clave: *Atriplex* spp., germinación, estrés, salinidad.

ABSTRACT

Saline soils, characteristic of arid zones, can affect the germination of the species due to low water potential or ion toxicity. The effect of water and saline stress on germination was evaluated in *Atriplex nummularia* a potential source of forage for arid zones. The seeds were scarified to reduce the inhibitory effect on germination and incubated in at 23 °C on germination paper imbibed with solutions of sodium chloride (NaCl) and polyethylen glycol (PEG) at three water potentials: -0,5; -1,0 and -1,5 MPa. The percentage germination and germination speed were significantly affected by the concentration of the solution and the solute used. While more negative osmotic potentials, the percentage of germination and germination speed were significantly

lower. The seeds germinated in PEG solution have higher germination and germination speed than the seeds germinated in NaCl, specially in -1,0 MPa. The data suggest that the seeds of *A. nummularia* show sensitivity to the presence of Na⁺ and Cl⁻ ions affecting the germination process.

Keywords: *Atriplex* spp., germination, stress, salinity.

INTRODUCCIÓN

El género *Atriplex* (Chenopodiaceae), se encuentra distribuido por todo el mundo e incluye más de 400 especies, predominando en los suelos áridos y salinos (Osmond *et al.*, 1980; Múlgura, 1981). Muchas de estas especies están adaptadas a condiciones de suelo y clima extremos, tolerando altos niveles de salinidad, alcalinidad y baja precipitación. Además pueden ser utilizadas para la revegetación de áreas degradadas con el objeto de proveer forraje y como medio de lucha contra la desertificación y la erosión (Contreras *et al.*, 1983; Noller *et al.*, 1983; Saucedo *et al.*, 1989; Vickerman *et al.*, 2002). Las especies del género *Atriplex* han sido clasificadas como plantas halófitas, estimándose que más del 50 % se encuentran en suelos con niveles de salinidad que van desde moderada a alta (Osmond *et al.*, 1980). Entre ellas se encuentra *Atriplex nummularia*, una especie arbustiva originaria de Australia con un gran potencial de uso forrajero complementario y como fuente de combustible para zonas áridas (Correal *et al.*, 1986; Guevara *et al.*, 2003). Tiene gran resistencia a condiciones de sequía y salinidad del suelo y puede ser pastoreada durante todo el año (Dalmasso *et al.*, 1988). La germinación es una etapa clave en el ciclo de los vegetales, de ella depende el número final de plantas y su rendimiento o supervivencia (Hadas, 1976; Zhu, 2001). Las especies de regiones áridas deben germinar generalmente en condiciones de baja disponibilidad de agua y alta concentración de sales en el suelo. Lo que genera la interacción de dos procesos: por un lado un efecto osmótico debido a la disminución del potencial hídrico del medio y por otro lado, un efecto iónico por la entrada y/o acumulación de iones en la semilla (Dodd y Donovan, 1999). En general el incremento de la salinidad genera reducción de la germinación en las glicófitas y afecta en menor grado a las halófitas (Khan y Ungar, 1997; Flowers y Colmer, 2008). Sin embargo, muchas especies halófitas son sensibles a altas condiciones de salinidad durante el proceso de germinación (Ungar, 1987), presentando una considerable variabilidad en su germinación y crecimiento, al ser tratadas con diferentes concentraciones de NaCl (Wallace *et al.*, 1982; Redondo-Gomez *et al.*, 2007; Chachar *et al.*, 2008).

El recurso clave para iniciar los cambios fisiológicos que conducen a la germinación, es el agua, que resulta indispensable para activar el metabolismo y el crecimiento de las células vivas de los tejidos de las semillas (Bradford, 1995; Bewley, 2001). Tanto la ocurrencia o no de la germinación como la velocidad a la que ésta se produce están determinadas principalmente por los gradientes de potenciales hídricos entre la semilla y el medio (Welbaum y Bradford, 1988; Welbaum *et al.*, 1990; Bewley y Black, 1994). La salinidad del suelo es uno de los factores que puede inducir la dormancia de las semillas, ya que si la cantidad de sal en el entorno es muy elevada el ingreso de agua a la semillas es restringido y el embrión no alcanza la turgencia necesaria para superar la restricción

impuesta por las cubiertas seminales por tanto, la germinación no ocurre (Bewley y Black, 1994; Bradford, 1995; Gorai y Neffati, 2007). En experimentos comparativos donde las especies son incubadas con soluciones de NaCl y PEG (Katembe *et al.*, 1998; Fenner y Thompson, 2005), se ha observado que las soluciones de NaCl ejercen un efecto combinado, por un lado el efecto osmótico debido a la disminución del potencial hídrico del medio, que crea estrés en la semilla o plántula (Bradford, 1995), y por otro lado, un efecto iónico por la entrada y/o acumulación de iones en la semilla que causa toxicidad (Dodd y Donovan, 1999; Gorai y Neffati, 2007). Así, las principales causas de la inhibición del crecimiento bajo estas condiciones son el estrés osmótico y el efecto específico de los iones que incluye la toxicidad y el desbalance de los mismos (Öztürk *et al.*, 2006). La tendencia general de la germinación a deprimirse con el aumento de la concentración de la solución de riego, es una respuesta frecuentemente observada en varias especies. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la germinación de *Atriplex nummularia* bajo condiciones de salinidad y estrés hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *A. nummularia* fueron cosechadas de plantas cultivadas en la Estación Experimental Agropecuaria San Juan INTA, provincia de San Juan, Argentina y se conservaron a 20 °C y 20 % de humedad relativa. Las semillas de un año de edad, fueron extraídas manualmente para eliminar las brácteas fructíferas que rodean a cada semilla y reducir así el efecto inhibitorio de las mismas sobre la germinación (Peluc y Parera, 2000). Se conservaron durante una semana en envases herméticos con humedad relativa del 20 % a 4 °C previo a su uso. Se sembraron 25 semillas en cajas de Petri sobre papel de germinación (Whatman 500, Schleicher y Schuell) y se colocaron en cámara de germinación a 23 °C en oscuridad, constituyendo cada caja una repetición con un total de cuatro repeticiones. El papel de germinación fue humedecido con soluciones de polietilenglicol 6.000 (PEG Merck, Schuchardt 85662, Hohenbrunn, Germany) y cloruro de sodio (NaCl) ajustadas a tres potenciales hídricos: - 0,5; - 1 y -1,5 MPa y agua destilada como control. Las soluciones se prepararon siguiendo la relación empírica de Vant'Hoff (Salisbury y Ross, 1994) según la siguiente fórmula:

$$\psi_s = -CiRT$$

ψ_s = potencial osmótico, C = concentración de la solución, expresada como molalidad (moles de soluto por Kg de agua), i = constante para la ionización del soluto, R = constante de los gases (0,00831 Kg.MPa.mol⁻¹.K⁻¹).

El ajuste del potencial hídrico de las soluciones se realizó con un osmómetro (Wescor, HR33T, 459 South Main Street, Utha 84321, USA). Los recuentos se realizaron cada 24 horas durante diez días bajo escasas condiciones de luminosidad, se consideró como semilla germinada aquella que presentaba una radícula de más de 2 mm de longitud. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación (ERI) (Shmuelli y Goldberg, 1971). Todos los ensayos fueron conducidos con un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Los datos se analizaron mediante ANOVA, para la comparación de medias se utilizó el test de Tukey. En

aquellos casos en que las variables se modificaron por efecto de los tratamientos, se realizó un análisis de tendencia lineal. Se comprobó en todos los casos que los datos cumplieran los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia.

RESULTADOS

El porcentaje de germinación y la velocidad de germinación, calculada como ERI, fueron significativamente modificados por el tipo de solución utilizada y el potencial hídrico de las mismas (Tabla 1). La disminución del potencial de agua (aumento de la concentración de PEG o NaCl) de las soluciones generó una disminución del porcentaje de semillas germinadas (Fig. 1) cayendo del 60 % en el control a un 20 % en el potencial hídrico más negativo (-1,5 MPa). La velocidad de germinación expresada como ERI también cayó a medida que se incrementó la concentración de la solución (Fig. 2). En los potenciales osmóticos intermedios (-0,5 y -1 MPa) las semillas que fueron incubadas en las soluciones de PEG presentaron valores de germinación y velocidad de germinación superiores a las semillas germinadas en soluciones de NaCl (Figs. 1 y 2). En el potencial hídrico de -0,5 MPa se observaron diferencias cercanas al 10% en la germinación y ERI entre las dos soluciones evaluadas. Cuando el potencial hídrico se redujo a -1 MPa se encontró una marcada disminución en ambas variables de las semillas germinadas en NaCl. A valores de -1,5 MPa la diferencia entre las soluciones no fue importante, posiblemente por la baja disponibilidad de agua para iniciar los procesos metabólicos necesarios para la germinación (Figs. 1 y 2).

Variable	Germinación (%)	ERI
Solución (S)	0,0402	0,0181
Potencial hídrico (PH)	0,0001	0,0001
S x PA	0,1469	0,2870
Solución		
PEG	40,63a	1,83a
NaCl	34,06b	1,51b
Potencial hídrico		
0	58,75a	2,67a
-0,5	43,75b	1,89b
-1	30,63c	1,39c
-1,5	16,25d	0,74d
Tendencia lineal		
NaCl	0,63**	0,66**
PEG	0,69**	0,68**

Tabla 1. Valores de p obtenidos en el ANOVA a dos vías y valores medios del porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación (ERI), en las dos soluciones empleadas (PEG y NaCl) y en los cuatro potenciales hídricos. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas en el test de Tukey (5 %). ** diferencias significativas al 0,0001.

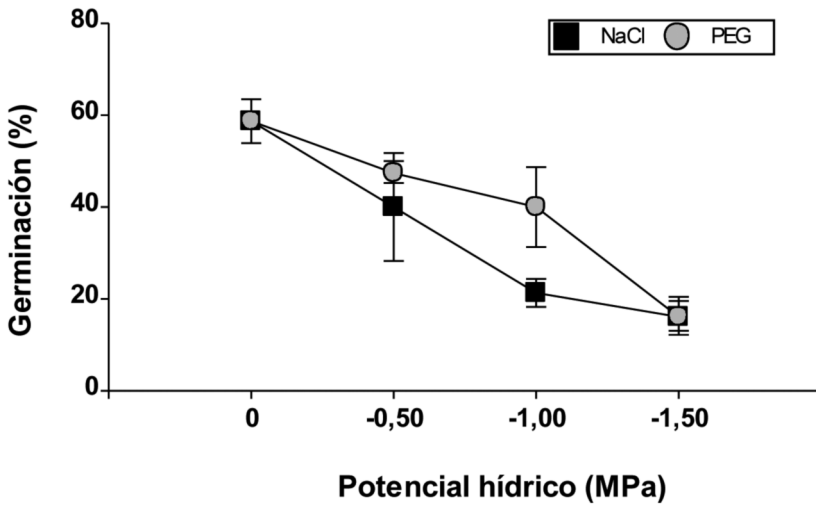


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de *A. nummularia* embebidas en soluciones de PEG y NaCl con diferentes potenciales de agua. *Indican diferencias significativas entre soluciones según test de Tukey.

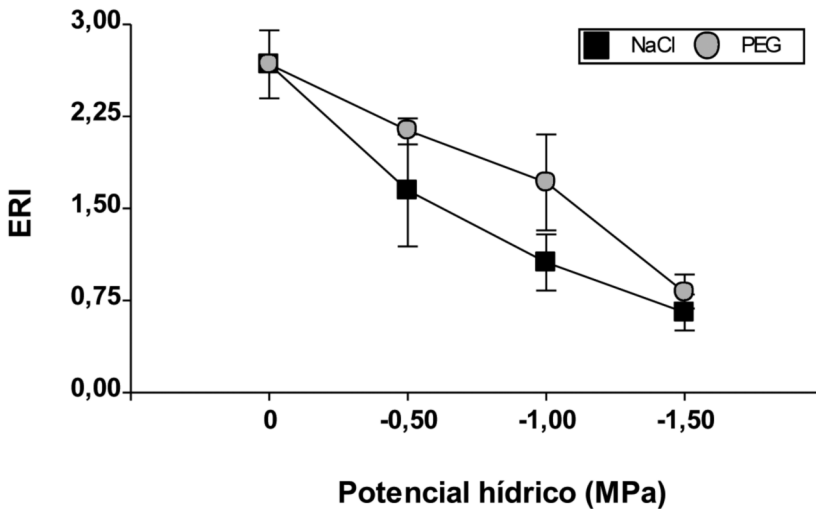


Figura 2. Índice de velocidad de germinación (ERI) de semillas de *A. nummularia* germinadas en soluciones de PEG y NaCl con diferentes potenciales de agua. *Indican diferencias significativas entre soluciones según test de Tukey.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo, donde las semillas de *A. nummularia* incubadas en soluciones isosmóticas son más afectadas cuando el soluto utilizado es NaCl, coinciden con lo informado por varios autores (Cristi y Gastó, 1971; Khan y Ungar, 1984; Keifer y Ungar, 1997; Orlovsky *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012). También en halófitas

incluyendo especies del género *Atriplex* los resultados obtenidos fueron similares (Khan y Rizvi, 1994; Khan y Ungar, 1997; Katembe *et al.*, 1998; Maldonado *et al.*, 2002). Esta respuesta diferencial entre los solutos puede deberse a que la acumulación del NaCl en el citoplasma modifica el metabolismo celular disminuyendo los niveles de germinación (Dell'Aquila y Spada, 1993). Además, podría actuar inhibiendo la actividad de enzimas que tienen un rol fundamental en la germinación (Katembe *et al.*, 1998). El porcentaje de emergencia y la elongación radicular en *A. prostrata*, fueron menores en soluciones de NaCl que en soluciones de PEG con el mismo potencial hídrico (Katembe *et al.*, 1998). Estudios realizados por Katembe *et al.* (1998) en semillas de *A. prostrata* (*syn A. triangularis*) y *A. patula*, demostraron que la inhibición de la germinación en NaCl fue mayor que la que se produjo en soluciones isosmóticas de PEG; por lo que sugieren que la influencia del NaCl es una combinación de un efecto osmótico y un efecto de ion específico.

Sin embargo, otros autores como Ungar (1978) informaron que los iones inorgánicos no presentaron un efecto tóxico sobre la germinación de varias halófitas, registrando iguales niveles de germinación en soluciones salinas que en soluciones de manitol y PEG, indicando que las semillas están principalmente afectadas por el estrés osmótico más que por la toxicidad de iones específicos. La recuperación de semillas en agua destilada, que anteriormente habían sido pretratadas con distintas sales inorgánicas y compuestos orgánicos, dio por resultado que el NaCl no produjo toxicidad (Ungar, 1995). Los porcentajes de germinación observados en la especie *A. prostrata* luego de haber sido regadas con soluciones de NaCl, KCl, Na₂SO₄ y K₂SO₄ indicaron que la inhibición de la germinación y del crecimiento es principalmente efecto de la disminución del potencial osmótico de la solución y no efecto tóxico de los iones. La única evidencia de efecto iónico específico es la reducción de la germinación a -1,5 MPa de las semillas regadas con sales de sodio respecto de las regadas con sales de potasio (Egan *et al.*, 1997).

Los datos obtenidos en este trabajo sugieren que las semillas de *A. nummularia* presentan sensibilidad a la presencia de los iones Na⁺ y Cl⁻ lo que impediría lograr niveles aceptables de emergencia en suelos salinos a pesar de que las plantas adultas de esta especie pueden sobrevivir en suelos con altos niveles de salinidad (Zhao y Harris, 1992).

BIBLIOGRAFÍA

BEWLEY JD, BLACK M. Seeds. Physiology of development and germination, 2nd Ed. New York: Plenum; 1994. p. 147-197.

BEWLEY JD. Seed Germination and Reserve Mobilization. En: Encyclopedia of life Sciences Nature publishing group, 2001. Disponible en URL: www.els.net.

BRADFORD KJ. Water relations in seed germination. In: Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA; 1995. p. 351-396.

CHACHAR QI, SOLANGI AG, VERHOEF A. Influence of sodium chloride on seed germination and seedling root growth of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Pakistan J Bot. 2008;40(1):183-197.

CONTRERAS D, AZOCAR P, COVARRIVAS G, SOTO G. Use the Forage Shrubs in the Arid Land of Chile. Proceeding of the Symposium on the Biology of *Atriplex* and Related Chenopod. Provo, UTA; 1983. p. 237-242.

CORREAL CASTELLANOS E, SILVA COLOMER J, BOZA LÓPEZ J, PASSERA C. Valor nutritivo de cuatro arbustos forrajeros del género *Atriplex*. Pastos. 1986;16(1):177-189.

CRISTI A, GASTO J. Alteraciones ambientales y del fruto en la germinación de *A. repanda* Phil. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Bol Tecn. 1971;34(1):25-40.

DALMASSO A, HORNO M, CANDIA RJ. Utilización de especies nativas en la fijación de médanos. En: Erosión: sistemas de producción, manejo y conservación del suelo y del agua. Fundación Cargil Ed; 1988, p. 221-286.

DELL AQUILA A, SPADA D. The effect of salinity stress upon protein sintesis of germinating wheat embryos. Ann Bot. 1993;72(1):97-101.

DODD G, DONOVAN L. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. Am J Bot. 1999;86(8):1146-1153.

EGAN TP, UNGAR IA, MEEKINS JF. The effect of different salts of sodium and potassium on the germination of *Atriplex prostrata* (Chenopodiaceae). J Plant Nutr. 1997; 20(12):1723-1730.

FENNER M, THOMPSON K. The Ecology of Seeds. Cambridge University Press 241; 2005. p. 1-29.

FLOWERS TJ, COLMER TD. Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist. 2008;179(1):945-963.

GORAI M, NEFFATI M. Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. Anna Appl Biol. 2007;151(1):53-59.

GUEVARA JC, SILVA COLOMER JH, ESTÉVEZ OR, PÁEZ JA. Simulation of the economic of fodder shrub plantations as a supplement for gota production in the north eastern plain of Mendoza, Argentina. J Arid Environ. 2003;53(1):85-98.

HADAS A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. J Exp Bot. 1976;27(1):480-489.

KATEMBE WJ, UNGAR IA, MITCHELL JP. Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex species* (Chenopodiaceae). Ann Bot. 1998;82(2):167-175.

KEIFFER CH, UNGAR I. The effect of density and salinity on shoot biomass and ion accumulation in five inland halophytic species. Can J Bot. 1997;75(1):96-107.

KHAN MA, RIZVY Y. Effect of salinity, temperature, and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. stocksii. Can J Bot. 1994;72(4):475-480.

KHAN MA, UNGAR IA. The effect of salinity and temperature on germination of polymorphic seeds and growth of *Atriplex triangularis*. Wildlife Botanical Gazeta. 1984;145(4):487-494.

KHAN MA, UNGAR IA. Life history and population dynamic *Atriplex triangularis*. Vegetatio. 1986;66(1):17-25.

KHAN MA, UNGAR IA. Effects of light, salinity, and termoperiod on the seed germination of halophytes. Can J Bot. 1997;75(1):835-841.

MALDONADO C, PUJADO E, SQUEO S. El efecto de la disponibilidad de agua durante el crecimiento de *Lycopersicon chilense* sobre la capacidad de sus semillas para germinar a distintas temperaturas y concentraciones de manitol y NaCl. Rev Chil Hist Nat. 2002;75(1):651-660.

MULGURA DE ROMERO ME. Contribuciones al estudio del género *Atriplex* (Chenopodiaceae) en la Argentina. Darwiniana. 1981;23(1):119-150.

NOLLER GL, STANATHAN SE, MC ARTHUR ED. Establishment and Initial Results from a "Rincon" Fourwings Saltbush *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt Seed Orchard. En: Proceedings of the Symposium on the Biology of *Atriplex* and Related Chenopods. Provo, Utah; 1983. p. 193-203.

ORLOVSKY NS, JAPAKOVA UN, SHULGINA IA, VOLIS S. Comparative study of seed germination and growth of *Kochia prostrata* and *Kochia scoparia* (Chenopodiaceae) under salinity. *J Arid Environ.* 2011;75(1):532-537.

OSMOND CB, BJORKMAN O, ANDERSON DJ. Physiological processes in plant ecology. Springer-Verlag, Berlín; 1980. p. 280-468.

ÖZTURK MS, BASLAR Y, DOGAN M, SAKCALI, M. Alleviation of salinity stress in the seeds of some *Brassica species*. En: Ajmal Khan M y Weber D, editores. *Ecophysiology of High Salinity Tolerant Plants*. Chapter 10. 2006.

PELUC S, PARERA CA. Germination improvement of *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae) by pericarp elimination. *Seed Sci Technol.* 2000;28(1):559-566.

REDONDO GOMEZ S, MATEOS NARANJO S, WHARMBY C, LUQUE CJ, CASTILLO JM, LUQUE T. Bracteoles affect germination and seedling establishment in a Mediterranean population of *Atriplex portulacoides*. *Aquat Bot.* 2007;86(1):93-96.

SALISBURY FB, ROSS CW. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C. V. México; 1994. p. 536-559.

SAUCEDO RA, SIERRA JS, PRADO OL. Trasplante de chamizo en dos localidades de la zona de matorrales del Estado de Chihuahua. *Pastizales.* 1989;18(1):22-38.

SHMUELI M, GOLDBERG D. Emergence, early growth and salinity of five vegetable crops germinated by sprinkle and trickle irrigation in arid zones. *Hort Science.* 1971;6(1):563-565.

UNGAR IA. Halophyte seed germination. *Bot Review.* 1978;44(1):233-264.

UNGAR IA. Population ecology of halophyte seeds. *Bot Review.* 1987;53(1):301-334.

UNGAR IA. Seed germination and seed-bank ecology in halophytes. En: *Seed Development and Germination*. Ed. Kigel J. and Galili, G; 1995. p. 599-628.

VICKERMAN DB, SHANNON MC, BAÑUELOS GS, GRIEVE CM, TRUMBLE JT. Evaluation of *Atriplex* lines for selenium accumulation, salt tolerance and suitability for a Key agricultural insect pest. *Environ Pollu.* 2002;120(1):463-443.

WALLACE A, ROMMERY EM, MOELLER RT. Sodium relations in desert plants: Effect of sodium chloride on *Atriplex polycarpa* and *A. canescens*. *Soil Sci.* 1982;134(1):65-68.

WELBAUM GE, BRADFORD KJ. Water relations of seed development and germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) I. Water relations of seed and fruit development. *Plant Physiol.* 1988;86(1):406-411.

WELBAUM GE, TISSAOUI T, BRADFORD KJ. Water relations of seed development and germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) III. sensitivity of germination to water potential and abscisic acid during development. *Plant Physiol.* 1990;92(1):1029-1037.

ZHANG H, IRVING LJ, TIAN Y, ZHOU D. Influence of salinity and temperature on seed germination rate and the hydrotime model parameters for the halophyte, *Chloris virgata*, and the glycophyte, *Digitaria sanguinalis*. *S Afr J Bot.* 2012;78(1):203-210.

ZHAO K, HARRIS PJC. The effects of iso-osmotic salt and water stresses on the growth of halophytes and non-halophytes. *J Plant Physiol.* 1992;139(1):761-763.

ZHU JK. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 2001;6(1):66-71.