

Efecto de la salinidad en la germinación y emergencia de siete especies forrajeras*

Effect of salinity on germination and emergence of seven forage species

Marcos Alfonso Lastiri Hernández¹, Dioselina Álvarez Bernal^{1§}, Luis Humberto Soria Martínez¹, Salvador Ochoa Estrada¹ y Gustavo Cruz-Cárdenas¹

¹Instituto Politécnico Nacional-CIIDIR-IPN Unidad Michoacán, COFAA. Justo Sierra núm. 28 Oriente, Jiquilpan, Michoacán, México. CP. 59510. Tel. (353) 5330218. (marcos.lastiri5@gmail.com; soml890806@gmail.com; sochoae@ipn.mx; gustavo.cruz.cardenas@gmail.com). [§]Autor por correspondencia: dalvarezb@ipn.mx.

Resumen

En la región de la Ciénega de Chapala porción Michoacán la mayor parte de los cultivos forrajeros son el sustento de los sistemas ganaderos tradicionales. Sin embargo, la escasez de agua y la creciente salinidad se presentan como los principales factores ambientales limitantes que afectan directamente a su establecimiento y desarrollo. En esta investigación, se evaluó la capacidad de germinación y emergencia de siete especies forrajeras en condiciones *in vitro*, al ser expuestas a diferentes concentraciones de NaCl. Se llevó a cabo en un período de 21 días, en el cual las semillas fueron colocadas en una incubadora sin luz a una temperatura de 25/17 °C (día/noche). Se utilizó el método de digestión con ácido para la extracción de los cationes Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ a partir de las plántulas germinadas. Los tratamientos de salinidad fueron 0.0 mM, 50 mM; 100 mM; 200 mM y 400 mM. En la etapa de imbibición se observó una respuesta diferencial entre especies en condiciones de estrés salino, principalmente a 200 y 400 mM, al producir una reducción drástica en los niveles de absorción respecto a sus propios testigos y posteriormente se vio reflejado en su capacidad germinativa. Las especies *H. vulgare* y *L. perenne* mostraron menor relación K⁺/Na⁺, ratificando con ello, ser las más tolerantes ante este nivel de concentración salina.

Abstract

In the Ciénega de Chapala region, portion of Michoacán most of the forage crops are the main sustenance of the traditional livestock systems. However, water scarcity and increasing salinity are the main limiting environmental factors that directly affect both its establishment and development. In this research, the ability of germination and emergence of seven forage species was evaluated in *in vitro* conditions, when exposed to different concentrations of NaCl. The evaluation was carried out in a period of 21 days, in which the seeds were placed in an incubator without light at a temperature of 25/17 °C (day/night) respectively. Acid digestion method was used for the removal of Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ cations from the germinated seedlings. Salinity treatments were 0.0 mM, 50 mM; 100 mM; 200 mM and 400 mM. In the imbibition stage a differential response was observed between species under conditions of saline stress, mainly at 200 and 400 mM, producing a drastic reduction in the absorption levels with respect to its own controls and later reflected in its germinative capacity. *H. vulgare* and *L. perenne* species showed a lower K⁺/Na⁺ ratio, confirming to be more tolerant to this level of salt concentration.

* Recibido: abril de 2017
Aceptado: julio de 2017

Palabras clave: Ciénega de Chapala, cloruro de sodio, contenido de cationes, estrés salino.

Keywords: cation content, Ciénega de Chapala, salt stress, sodium chloride.

Introducción

En la región de la Ciénega de Chapala porción Michoacán la mayor parte de los cultivos forrajeros son el sustento fundamental de los sistemas ganaderos tradicionales (Moreno *et al.*, 2012). Sin embargo, los incrementos de las zonas agrícolas cultivables han impulsado a estos sistemas a moverse hacia áreas menos productivas, de tipo marginal y con problemas de diversos tipos, entre los que destacan: factores ambientales tales como la escasez de agua y el aumento de salinidad y sodicidad, debido al recurrente uso del agua subterránea de mala calidad (Silva *et al.*, 2006). Estos factores ambientales afectan el establecimiento y desarrollo de las especies orientadas a la producción agrícola (García *et al.*, 2005; Colunga *et al.*, 2009). Situación que se refleja directamente en la economía de los productores.

De acuerdo con Villa *et al.* (2006), el sodio (Na^+) es uno de los iones dominantes en los ambientes salinos y durante todo el ciclo fenológico de las plantas (especialmente de las glicofitas), induciendo mal funcionamiento de sus procesos fisiológicos, ya que puede considerarse equivalente a la sequía, debido a que retiene agua pero indisponible para las semillas o las plántulas; suprimiéndose la absorción neta de nutrimentos, afectando la integridad de la membrana, causando numerosos problemas en el crecimiento y desarrollo de éstas (Tester y Davenport, 2003; Munns y Tester, 2008).

Sin embargo, la tolerancia a la salinidad de cada especie dependerá de las condiciones ambientales y de la habilidad que posea para controlar la absorción y el transporte de Na^+ al tejido fotosintético (Layne *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2013), principalmente durante la fase de germinación, donde se producen cambios y adaptaciones que pueden afectar no solo al proceso germinativo en sí, sino también al crecimiento y desarrollo futuro de las plantas, por ser la primera etapa crucial del ciclo de vida de muchas especies (Ruiz y Terenti, 2012). Esto ha llevado a indagar acerca de los efectos de las sales sobre la germinación y emergencia en diversos cultivos, tales como el frijol (*Caupi Vigna cinencis*) (Paliwal y Maliwal, 1973), arroz (*Oryza sativa*) (Pearson *et al.*, 1966), trigo (*Triticum aestivum*) (Hampson y Simpson, 1990) y soya (*Glycine max* L.) (Hosseini *et al.*, 2002).

Introduction

In the Ciénega de Chapala región, Michoacán portion most forage crops are the main support of traditional livestock systems (Moreno *et al.*, 2012). However, increases in arable farming areas have led these systems to move to less productive, marginal, problem-prone areas, including: environmental factors such as water scarcity and increased salinity and sodicity due to the recurrent use of poor quality groundwater (Silva *et al.*, 2006). These environmental factors affect the establishment and development of species oriented to agricultural production (García *et al.*, 2005; Colunga *et al.*, 2009). This situation is reflected directly in the economy of producers.

According to Villa *et al.* (2006), sodium (Na^+) is one of the dominant ions in saline environments and throughout the phenological cycle of plants (especially glycophytes), inducing malfunction of physiological processes as it can be considered equivalent to drought, because it retains water but is unavailable to seeds or seedlings; suppressing the net absorption of nutrients, affecting the membrane integrity, causing problems in its growth and development (Tester and Davenport, 2003; Munns and Tester, 2008).

However, the salinity tolerance of each species depend on ambient conditions and the ability it possess to control the absorption and transport of Na^+ to photosynthetic tissue (Layne *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2013), mainly during the germination phase, where changes and adaptations occur that may affect not only the germination process itself, but also the future growth and development of the plants, being the first crucial stage in the life cycle of many species (Ruiz and Terenti, 2012). This has led to inquire about the effects of salts on germination and emergence in various crops, such as beans (*Caupi Vigna cinencis*) (Paliwal and Maliwal, 1973), rice (*Oryza sativa*) (Pearson *et al.*, 1966), wheat (*Triticum aestivum*) (Hampson and Simpson, 1990), and soybean (*Glycine max* L.) (Hosseini *et al.*, 2002).

To achieve productivity improvements of the aforementioned livestock systems it would be imperative to increase information about the physiological and

Para lograr mejoras en la productividad de los sistemas ganaderos, será imperante incrementar la información de los procesos fisiológicos y bioquímicos en las especies forrajeras, al encontrarse inmersos en ambientes estresantes por efecto de NaCl, ya que diversos investigadores han utilizado éstos dos criterios como indicadores útiles para evaluar la tolerancia a la salinidad entre especies (Ulfat *et al.*, 2007; Aghaei *et al.*, 2008; Sankar *et al.*, 2011). Por tal razón, el objetivo del presente estudio es evaluar la capacidad de germinación y emergencia de siete especies forrajeras, entre ellas pasto reygrass (*Lolium perenne* L.), pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), cebada (*Hordeum vulgare* L.), janamargo (*Vicia sativa* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) y avena (*Avena sativa* L.) en condiciones *in vitro*, al ser expuestas a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (NaCl).

Materiales y métodos

Material vegetal

Las semillas de las plantas forrajeras se obtuvieron a través de una comercializadora de semillas y agroquímicos de la región de la Ciénega de Chapala michoacana: pasto reygrass cultivar oregón común (*Lolium perenne* L.); pasto estrella cultivar Estrella Africana común (*Cynodon nlemfuensis*); cultivar esmeralda (*Hordeum vulgare* L.); cultivar Mezquita (*Vicia sativa* L.); cultivar Lerma (*Cicer arietinum* L.); cultivar Apollo (*Medicago sativa* L.); cultivar Chihuahua (*Avena sativa* L.).

Soluciones salinas

Para probar las respuestas a la salinidad, las semillas fueron sometidas a diferentes concentraciones de NaCl en condiciones controladas durante 21 días, el experimento se realizó tres veces. Las concentraciones de NaCl probadas en el estudio fueron 50 mM (4.8 dS m⁻¹), 100 mM (9.6 dS m⁻¹), 200 mM (18.25 dS m⁻¹), 400 mM (35.3 dS m⁻¹) y agua destilada como testigo (Hanslin y Eggen, 2005).

Capacidad de hidratación de las semillas

Las semillas después de ser hidratadas con un volumen de 4 ml, se pesaron (g), con una balanza analítica (SA 120, Scientech Inc., CO, EE.UU.) durante 12 h, para cada especie y cada tratamiento (0, 50, 100, 200 y 400 mM), por triplicado (Ruiz y Terenti, 2012). Las semillas se mantuvieron a temperatura ambiente ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) en el periodo de imbibición.

biochemical processes occurring in forage species, when immersed in stressful environments due to the effect of NaCl, as several researchers have used these two criteria as useful indicators to assess tolerance to salinity between species (Ulfat *et al.*, 2007; Aghaei *et al.*, 2008; Sankar *et al.*, 2011). For this reason, the objective of this research is to evaluate the ability of germination and emergence seven forage species, including ryegrass (*Lolium perenne* L.), star grass (*Cynodon nlemfuensis*), barley (*Hordeum vulgare* L.), janamargo (*Vicia sativa* L.), the chickpea (*Cicer arietinum* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) and oats (*Avena sativa* L.) under *in vitro* conditions, when exposed to different concentrations of sodium chloride (NaCl).

Materials and methods

Vegetal material

The seeds of the forage plants were obtained through a seed and agrochemical marketer of the michoacana region of Ciénega de Chapala: kinggrass pasture common oregón cultivar (*Lolium perenne* L.); star grass common African Star (*Cynodon nlemfuensis*); Emerald cultivar (*Hordeum vulgare* L.); Mezquita cultivar (*Vicia sativa* L.); Lerma cultivar (*Cicer arietinum* L.); Apollo cultivar (*Medicago sativa* L.); Chihuahua cultivar (*Avena sativa* L.).

Saline solutions

To test the responses to salinity, the seeds were subjected to different concentrations of NaCl under controlled conditions for 21 days, the experiment was performed three times. The concentrations of NaCl tested in the study were 50 mM (4.8 dS m⁻¹), 100 mM (9.6 dS m⁻¹), 200 mM (18.25 dS m⁻¹), 400 mM (35.3 dS m⁻¹) and distilled water as control (Hanslin and Eggen, 2005).

Hydration capacity of seeds

The seeds were weighed after being hydrated with a volume of 4 ml (g) with an analytical balance (SA 120, Scientech Inc., CO, USA) during the first 12 h, this was done for each species and for each treatment (0, 50, 100, 200 and 400 mM) in triplicate (Ruiz and Terenti, 2012). The seeds were kept at an ambient temperature of ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) during the imbibition period.

Germinación

Después de registrar la imbibición, se evaluó el porcentaje de germinación (PG) en un período de 21 días, las semillas fueron colocadas en una incubadora Precision 815 (Thermo Scientific), con régimen de temperatura 25/17 °C (día/noche). Se registró diariamente y se consideraron germinadas cuando la radícula sobresalía a través de la cubierta seminal (2 mm) (Pablo *et al.*, 2013). Se realizaron mediciones de la longitud alcanzada en mm, tanto en la raíz como en el hipocotilo de cada especie, con un calibrador digital Vernier 14388 de la marca Truper®.

Análisis químico

Las plántulas germinadas fueron lavadas con agua destilada y secadas en estufa a 70 °C durante 24 h, posteriormente se molieron utilizando un mortero para la determinación de la composición mineral. La determinación de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ se llevó a cabo por medio de una digestión ácida y por espectrometría de absorción atómica (Allen, 1989), usando un espectrómetro (AAS), modelo SensAA.

Análisis de datos

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar. Las unidades experimentales fueron cajas Petri de 20 cm de diámetro con papel de filtro (Whatman 42), por cada una de las variedades de plantas forrajeras. En cada caja se colocaron 50 semillas, con 3 repeticiones por cada solución salina. Se realizó un análisis de varianza y test de Tukey ($p \leq 0.05$). Estos se realizaron con el programa estadístico Statistical Analysis Systems 9.1® (SAS, 2004).

Resultados y discusión

El Cuadro 1 muestra los valores medios y las desviaciones estándar obtenidas en la imbibición de las semillas de las especies forrajeras por cada concentración salina evaluada. Las semillas *C. arietinum*, *A. sativa* y *C. nlemfuensis* presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) a partir de los tratamientos 50 y 100 mM respecto a sus testigos. En el caso de las especies *H. vulgare*, *M. sativa*, *L. perenne* y *V. sativa*, se observaron diferencias significativas en los tratamientos con mayor concentración salina; es decir, a 200 y 400 mM.

Germination

After the imbibition was recorded, the germination percentage (PG) was evaluated over a period of 21 days, the seeds were placed in a Precision 815 incubator (Thermo Scientific), with temperature regime 25/17 °C (day/night). The germination of seeds was recorded daily and were considered germinated when the radicle protruded through the seed coat (2 mm) (Paul *et al.*, 2013). Achieved length measurements were performed in mm in both the root and in the hypocotyl of each species with a Vernier digital gauge 14388 Truper® brand.

Chemical analysis

Germinated seedlings were washed with distilled water and oven dried at 70 °C for 24 h, subsequently they were ground using a mortar for the determination of mineral composition. Determinin Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ was carried out by acid digestion and atomic absorption spectrometry (Allen, 1989), using a spectrometer (AAS), SensAA model.

Analysis of data

The experiment was performed under a completely randomized design. The experimental units were Petri dishes of 20 cm diameter with filter paper (Whatman 42), for each of the forage plants varieties. 50 seeds were placed in each box, with 3 replicates per saline solution. ANOVA and Tukey test ($p \leq 0.05$) were performed. Analyzes were performed using the Statistical Analysis Systems® 9.1 (SAS, 2004) statistical program.

Results and discussion

Table 1 shows the mean values and standard deviations obtained in the inhibition of the seeds of the forage species for each saline concentration evaluated. *C. arietinum*, *A. sativa* and *C. nlemfuensis* seeds were significantly different ($p \leq 0.05$) from the 50 and 100 mM treatments compared to its controls. In the case of *H. vulgare*, *M. sativa*, *L. perenne* and *V. sativa* species, significant differences were observed in the treatments with higher saline concentration; i. e. at 200 and 400 mM.

Cuadro 1. Imbibición de las siete semillas forrajeras.
Table 1. Imbibition of the seven forage seeds.

| Especies | Peso húmedo (g) | | | | |
|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | Testigo | 50 Mm | 100 mM | 200 mM | 400 m |
| <i>Medicago sativa</i> L. | 0.003 ^a ±0.0002 | 0.0028 ^a ±0.0002 | 0.0026 ^a ±0.0001 | 0.0014 ^b ±0.0001 | 0.0008 ^c ±0.0001 |
| <i>Avena sativa</i> L. | 0.023 ^a ±0.0018 | 0.0165 ^b ±0.0013 | 0.0114 ^c ±0.0023 | 0.007 ^d ±0.0005 | 0.0038 ^c ±0.0002 |
| <i>Hordeum vulgare</i> L. | 0.0193 ^a ±0.0008 | 0.0182 ^a ±0.0007 | 0.0175 ^a ±0.0002 | 0.0133 ^b ±0.0004 | 0.0104 ^c ±0.0003 |
| <i>Cicer arietinum</i> L. | 0.2537 ^a ±0.0118 | 0.2314 ^a ±0.0105 | 0.1672 ^b ±0.014 | 0.1246 ^c ±0.0226 | 0.0707 ^d ±0.0046 |
| <i>Vicia sativa</i> L. | 0.05037 ^a ±0.003 | 0.0451 ^a ±0.0028 | 0.0422 ^a ±0.0014 | 0.02765 ^b ±0.004 | 0.01846 ^c ±0.0012 |
| <i>Cynodon nlemfuensis</i> | 0.0039 ^a ±0.0002 | 0.0029 ^b ±0.0001 | 0.002 ^c ±0.0002 | 0.0013 ^d ±0.0001 | 0.0006 ^c ±0.0001 |
| <i>Lolium perenne</i> L. | 0.0052 ^a ±0.0003 | 0.0049 ^a ±0.0002 | 0.0046 ^a ±0.0003 | 0.0032 ^b ±0.0004 | 0.0023 ^c ±0.0001 |

Letras iguales no difieren significativamente entre sí según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con Murillo *et al.* (2001), las concentraciones altas de NaCl provocan que la movilidad del agua disminuya y por ende la velocidad de imbibición de las semillas, que a su vez, repercute en la síntesis de biopolímeros, proteínas, ácidos nucleicos y la cantidad de hormonas reguladoras de la célula vegetal; aspectos que en su conjunto limitan la intensidad de los procesos de crecimiento conforme se desarrollan en la subsecuente etapa de germinación, también llamada fase de rompimiento de las glumelas, donde intervienen algunos mecanismos fisiológicos de arranque relacionados con los primeros ciclos de división y diferenciación celular que se suscitan en el embrión, independientemente de los productos de la hidrólisis de las sustancias de reserva de las semillas. Según, Hernández *et al.* (2015), esta respuesta diferenciada entre especies, pudiera ser debido a que cada genotipo requiere de un porcentaje crítico de agua para su germinación, derivadas de la dependencia de la naturaleza química de sus compuestos de reservas y estructurales. Lo cual se validó cuando las distintas variedades exhibieron una reducción en el porcentaje de germinación a través de las diferentes concentraciones a las que fueron sometidas (Cuadro 2).

Los resultados muestran un porcentaje de germinación mayor al 70% para todas las especies en las concentraciones de 0, 50 y 100 mM de NaCl, con excepción de *C. nlemfuensis* cuya

According to Murillo *et al.* (2001), high concentrations of NaCl cause the mobility of water to decrease and thus the speed of seeds imbibition, which in turn, affects the synthesis of biopolymers, proteins, nucleic acids and the amount of regulatory hormones of the plant cell; aspects that altogether limit the intensity of the growth processes as they develop in the subsequent germination stage, also called the glumella breaking phase, where some physiological initiation mechanisms related to the first cycles of cell division and differentiation are raised in the embryo, regardless of the hydrolysis products of the reserve substances of the seeds. According to Hernández *et al.* (2015), this differentiated response between species could be due to the fact that each genotype requires a critical percentage of water for its germination, derived from the dependence of the chemical nature of its reserves and structural compounds. This was validated when the different varieties showed a reduction in the percentage of germination through the different concentrations to which they were submitted (Table 2).

The results show a higher than 70% germination percentage of for all species in concentrations of 0, 50 and 100 mM NaCl, except for *C. nlemfuensis* whose germination rate was reduced to 61.45% at 100 mM. However, it was

Cuadro 2. Efectos del gradiente de salinidad con NaCl sobre la germinación, longitud de raíz y longitud del hipocotilo de siete especies forrajeras a 21 días de evaluación.**Table 2. Effects of the NaCl salinity gradient on germination, root length and hypocotyl length of seven forage species at 21 days of evaluation.**

| Especies | Concentración (mM NaCl) | Germinación total (%) | Reducción (%) | Longitud de raíz (mm) | Reducción (%) | Longitud de hipocotilo (mm) | Reducción (%) |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| <i>Medicago Sativa</i> L. | 0 | 100 ^a | - | 72.14 ^a | - | 91.94 ^a | - |
| | 50 | 87.33 ^b | 12.67 | 43.9 ^b | 39.14 | 66.4 ^b | 27.78 |
| | 100 | 80.67 ^b | 19.33 | 37.14 ^c | 48.51 | 52.83 ^c | 42.54 |
| | 200 | 27 ^c | 73 | 5 ^d | 92.87 | 0 ^d | 100 |
| | 400 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^e | 100 |
| <i>Cicer arietinum</i> L. | 0 | 100 ^a | - | 80.91 ^a | - | 128.4 ^a | - |
| | 50 | 84.33 ^b | 15.67 | 44.32 ^b | 45.22 | 86.75 ^b | 32.42 |
| | 100 | 75.67 ^b | 24.33 | 35.13 ^c | 56.58 | 53.32 ^c | 58.46 |
| | 200 | 24.33 ^c | 75.67 | 2.05 ^d | 97.46 | 0 ^d | 100 |
| | 400 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 |
| <i>Cynodon nlemfuensis</i> | 0 | 74.33 ^a | - | 43.46 ^a | - | 75.67 ^a | - |
| | 50 | 59.67 ^b | 19.72 | 29.85 ^b | 31.31 | 34.62 ^b | 54.25 |
| | 100 | 45.67 ^c | 38.55 | 16.32 ^c | 62.44 | 23.21 ^c | 69.33 |
| | 200 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 |
| | 400 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 |
| <i>Hordeum vulgare</i> L. | 0 | 100 ^a | - | 122.6 ^a | - | 129.5 ^a | - |
| | 50 | 99.33 ^a | 0.67 | 102.4 ^b | 16.46 | 115.1 ^b | 11.17 |
| | 100 | 98 ^a | 2 | 89.12 ^c | 27.29 | 105.3 ^c | 18.81 |
| | 200 | 67.67 ^b | 32.33 | 69.4 ^d | 43.35 | 90.6 ^d | 30.02 |
| | 400 | 24 ^c | 76 | 13.87 ^e | 88.68 | 5.12 ^d | 96.04 |
| <i>Lolium perenne</i> L. | 0 | 100 ^a | - | 113.4 ^a | - | 109.1 ^a | - |
| | 50 | 96.33 ^a | 3.67 | 87.1 ^b | 23.16 | 92.2 ^b | 15.48 |
| | 100 | 93.33 ^a | 6.67 | 78.2 ^c | 31.04 | 68.5 ^c | 37.18 |
| | 200 | 52.66 ^c | 47.34 | 34.1 ^d | 69.85 | 23.2 ^d | 78.75 |
| | 400 | 0 ^d | 100 | 0 ^c | 100 | 0 ^c | 100 |
| <i>Avena sativa</i> L. | 0 | 96 ^a | - | 124.6 ^a | - | 141.1 ^a | - |
| | 50 | 79.66 ^b | 17.02 | 62.33 ^b | 49.96 | 84.69 ^b | 39.99 |
| | 100 | 71.67 ^c | 28.33 | 53.62 ^c | 56.95 | 36.74 ^c | 73.96 |
| | 200 | 17.33 ^d | 81.94 | 3.32 ^d | 97.33 | 0 ^d | 100 |
| | 400 | 0 ^e | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 |
| <i>Vicia Sativa</i> L. | 0 | 100 ^a | - | 77.01 ^a | - | 97.39 ^a | - |
| | 50 | 97.67 ^a | 2.33 | 61.4 ^b | 20.27 | 81.86 ^b | 15.95 |
| | 100 | 92.67 ^a | 7.33 | 49.82 ^c | 36.6 | 57.52 ^b | 40.93 |
| | 200 | 31.33 ^b | 68.67 | 7.363 ^d | 90.43 | 0 ^d | 100 |
| | 400 | 0 ^c | 100 | 0 ^d | 100 | 0 ^d | 100 |

Letras iguales no difieren significativamente entre sí según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

tasa de germinación se redujo 61.45% a 100 mM. Sin embargo, la especie *H. vulgare*, tuvo la mayor tasa de germinación (>95%) para los tres niveles de concentración salina.

Por otra parte, la tasa de germinación de todas las especies a 200 y 400 mM se vio reducida drásticamente, a estos niveles de salinidad el porcentaje de germinación osciló entre 40 y 0% respectivamente; excepto para las especies *L. perenne* y *H. Vulgare* debido que en la primera, el porcentaje de germinación se redujo únicamente 47.3% a 200 mM, en tanto que, para la segunda, su reducción fue de 33.33 y 76% a 200 y 400 mM respectivamente (Cuadro 3). A pesar que en ésta última especie la reducción fue drástica, *H. vulgare* fue la única que logró germinar a 400 mM de NaCl. Este resultado coincide con los reportados por Munns y Tester (2008); Royo y Aragües (1991); Martínez-Cob *et al.* (1987), quienes señalaron que a este nivel de concentración salina *H. vulgare* presenta adecuada capacidad de germinación-emergencia. La tendencia general de la reducción en la germinación con el aumento de la concentración salina es una respuesta frecuentemente observada en varias especies (Ruiz y Terenti, 2012).

found that the *H. vulgare* species, was the one with the best germination rate (> 95%) for these three levels of salt concentration.

On the other hand, the germination rate of all the species at 200 and 400 mM was drastically reduced, at these levels of salinity the germination percentage oscillated between 40 and 0% respectively; except for *L. perenne* and *H. vulgare* species because, in the first, the germination percentage was reduced to only 47.3% at 200 mM, while, for the second, the reduction was 33.33 and 76% at 200 and 400 mM respectively (Table 3). Although in the latter species, the reduction was more dramatic, *H. vulgare* was the only one able to germinate at 400 mM NaCl. This result coincides with those reported by Munns and Tester (2008); Royo and Aragües (1991); Martínez-Cob *et al.* (1987), who noted that at this level of salt concentration *H. vulgare* shows a suitable germinability-emergence. The general trend of germination reduction with increasing salt concentration is a frequently observed response in several species (Ruiz and Terenti, 2012).

Cuadro 3. Contenido de Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ y relación K⁺/Na⁺.
Table 3. Content of Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and K⁺/Na⁺ ratio.

| Especies | NaCl (mM) | Peso seco (mg g ⁻¹) | | | | |
|----------------------------|-----------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | K ⁺ | Na ⁺ | K ⁺ /Na ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ |
| <i>Medicago Sativa</i> L. | 0 | 2.76 ± 0.03 ^a | 0.23 ± 0.05 ^d | 12.29 ± 2.18 ^a | 0.31 ± 0.05 ^a | 0.22 ± 0.003 ^a |
| | 50 | 2.70 ± 0.06 ^b | 0.31 ± 0.03 ^c | 8.77 ± 0.77 ^b | 0.25 ± 0.03 ^b | 0.15 ± 0.003 ^b |
| | 100 | 2.63 ± 0.02 ^c | 0.39 ± 0.08 ^b | 6.74 ± 0.42 ^c | 0.21 ± 0.02 ^{bc} | 0.1 ± 0.002 ^c |
| | 200 | 1.59 ± 0.03 ^d | 0.5 ± 0.03 ^a | 3.21 ± 0.39 ^d | 0.17 ± 0.03 ^c | 0.08 ± 0.002 ^c |
| <i>Cicer arietinum</i> L. | 0 | 3.51 ± 0.06 ^a | 0.11 ± 0.04 ^c | 31.72 ± 2.06 ^a | 0.19 ± 0.07 ^a | 0.13 ± 0.04 ^a |
| | 50 | 3.43 ± 0.05 ^b | 0.17 ± 0.03 ^{cb} | 20.17 ± 1.39 ^b | 0.15 ± 0.04 ^{ba} | 0.08 ± 0.02 ^b |
| | 100 | 3.35 ± 0.04 ^c | 0.21 ± 0.06 ^b | 16 ± 1.14 ^c | 0.11 ± 0.02 ^{bc} | 0.04 ± 0.03 ^c |
| | 200 | 2.47 ± 0.03 ^d | 0.35 ± 0.02 ^a | 7.05 ± 0.43 ^d | 0.08 ± 0.03 ^c | 0.03 ± 0.01 ^c |
| <i>Cynodon nlemfuensis</i> | 0 | 0.4 ± 0.05 ^a | 0.15 ± 0.07 ^c | 26.96 ± 2.53 ^a | 0.25 ± 0.07 ^a | 0.19 ± 0.07 ^a |
| | 50 | 0.34 ± 0.04 ^b | 0.27 ± 0.04 ^b | 12.59 ± 1.74 ^b | 0.15 ± 0.03 ^b | 0.13 ± 0.04 ^b |
| | 100 | 0.29 ± 0.04 ^c | 0.34 ± 0.03 ^a | 8.52 ± 0.08 ^c | 0.09 ± 0.02 ^c | 0.04 ± 0.02 ^c |
| <i>Hordeum vulgare</i> L. | 0 | 4.2 ± 0.08 ^a | 0.27 ± 0.06 ^d | 15.48 ± 2.43 ^a | 0.29 ± 0.06 ^a | 0.19 ± 0.05 ^a |
| | 50 | 4.11 ± 0.05 ^b | 0.31 ± 0.04 ^d | 13.22 ± 1.68 ^b | 0.24 ± 0.04 ^b | 0.14 ± 0.04 ^b |
| | 100 | 4.05 ± 0.04 ^b | 0.37 ± 0.04 ^c | 11 ± 1.21 ^b | 0.16 ± 0.04 ^c | 0.08 ± 0.03 ^c |
| | 200 | 3.95 ± 0.06 ^c | 0.44 ± 0.03 ^b | 8.95 ± 0.39 ^c | 0.11 ± 0.02 ^{dc} | 0.06 ± 0.02 ^c |
| | 400 | 3.05 ± 0.06 ^d | 0.75 ± 0.03 ^a | 4.06 ± 0.18 ^d | 0.07 ± 0.03 ^d | 0.03 ± 0.03 ^c |

Letras iguales no difieren significativamente entre sí según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Cuadro 3. Contenido de Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ y relación K⁺/Na⁺ (continuación).**Table 3. Content of Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and K⁺/Na⁺ ratio (continuation).**

| Especies | NaCl (mM) | Peso seco (mg g ⁻¹) | | | | |
|--------------------------|-----------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | K ⁺ | Na ⁺ | K ⁺ /Na ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ |
| <i>Lolium perenne</i> L. | 0 | 2.45 ±0.07 ^a | 0.18 ±0.09 ^c | 13.61 ±2.19 ^a | 0.27 ±0.04 ^a | 0.17 ±0.04 ^a |
| | 50 | 2.37 ±0.04 ^b | 0.24 ±0.04 ^b | 9.875 ±0.37 ^b | 0.21 ±0.03 ^b | 0.1 ±0.03 ^b |
| | 100 | 2.31 ±0.03 ^c | 0.29 ±0.03 ^b | 7.96 ±0.45 ^c | 0.17 ±0.04 ^{bc} | 0.07 ±0.02 ^{cb} |
| | 200 | 2.04 ±0.02 ^d | 0.42 ±0.05 ^a | 4.85 ±0.23 ^d | 0.12 ±0.04 ^c | 0.05 ±0.02 ^c |
| <i>Avena sativa</i> L. | 0 | 2.84 ±0.06 ^a | 0.17 ±0.04 ^d | 16.7 ±1.44 ^a | 0.36 ±0.06 ^a | 0.17 ±0.04 ^a |
| | 50 | 2.63 ±0.05 ^b | 0.29 ±0.03 ^c | 9.06 ±1.55 ^b | 0.24 ±0.04 ^b | 0.09 ±0.03 ^b |
| | 100 | 2.32 ±0.04 ^c | 0.37 ±0.03 ^b | 6.27 ±0.26 ^c | 0.16 ±0.04 ^c | 0.06 ±0.02 ^{cb} |
| | 200 | 1.36 ±0.04 ^d | 0.59 ±0.05 ^a | 2.3 ±0.41 ^d | 0.09 ±0.02 ^d | 0.03 ±0.02 ^c |
| <i>Vicia Sativa</i> L. | 0 | 4.55 ±0.08 ^a | 0.13 ±0.03 ^d | 32.42 ±2.73 ^a | 0.24 ±0.04 ^a | 0.15 ±0.05 ^a |
| | 50 | 4.27 ±0.05 ^b | 0.17 ±0.02 ^c | 24.88 ±1.95 ^b | 0.15 ±0.02 ^b | 0.08 ±0.02 ^b |
| | 100 | 4.07 ±0.03 ^c | 0.21 ±0.03 ^b | 19.38 ±1.58 ^c | 0.13 ±0.02 ^{cb} | 0.06 ±0.02 ^{cb} |
| | 200 | 3.39 ±0.04 ^d | 0.36 ±0.05 ^a | 10.96 ±1.35 ^d | 0.08 ±0.03 ^c | 0.04 ±0.03 ^c |

Letras iguales no difieren significativamente entre sí según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Campos *et al.* (2011) encontraron que la germinación en diferentes cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. sólo fueron afectados a partir de 100 mM de NaCl. Por su parte, Madueño *et al.* (2006), encontraron que a partir de 150 mM de NaCl, la tasa y el porcentaje de germinación de *Rhynchosia minima* L. una especie herbácea y de interés particular por su uso forrajero, se reduce. Estos resultados también coinciden con los obtenidos por Lombardo y Saladino (1997) quienes después de haber evaluado el efecto de la salinidad en la germinación en diversas hortalizas (*Cichorium endivia* L., *Chicorium intybus* L., *Daucus carota* L. y *Petroselinum crispum* L.), y forrajes (*Trifolium alexandrinum* L., *Vicia sativa* L., *Medicago sativa* L., *Hedysarum coronarium* L. y *Lens culinaris* L.), encontraron que conforme la conductividad eléctrica se incrementa, la germinación disminuye.

Según Flowers *et al.* (2010), la reducción de la germinación con el aumento de las concentraciones del NaCl es el resultado de una disminución o retardó de la absorción del agua en las semillas por los efectos tóxicos que ejercen los iones sobre ellas, ya que se afectan las funciones de la membrana y la pared celular del embrión; producto de una reducción en la permeabilidad de las membranas plasmáticas, del incremento del influjo de iones externos y del eflujo de solutos citosólicos. Por su parte, Mahdavi y Modarres (2007) señalan que la reducción de la germinación

Campos *et al.* (2011) found that germination in different cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. were affected only from 100 mM NaCl. Meanwhile, Madueño *et al.* (2006), found that from 150 mM NaCl, the rate and percentage of germination of *Rhynchosia minima* L. a herbaceous species of particular interest for its use as forage, is reduced. These results are also consistent with those obtained by Lombardo and Saladino (1997) who after evaluating the effect of salinity on germination in various vegetables (*Cichorium endivia* L., *Chicorium intybus* L., *Daucus carota* L. y *Petroselinum crispum* L.), and forage (*Trifolium alexandrinum* L., *Vicia sativa* L., *Medicago sativa* L., *Hedysarum coronarium* L. y *Lens culinaris* L.), they found that as the electrical conductivity increases, the germination decreases.

According to Flowers *et al.* (2010), germination reduction with increasing concentrations of NaCl is the result of a decrease or delay of water absorption in the seeds by toxic effects exerted by ions on them, since the functions of the membrane are affected and in the embryo cell wall; product of a reduction in the permeability of plasma membranes, increased influx of external ions and efflux of cytosolic solutes. On the other hand, Mahdavi and Modarres (2007) indicate that the reduction of germination in salinity conditions is also due to the fact that the seeds increase

en condiciones de salinidad se debe también a que las semillas incrementan su estado la latencia y dormancia, dos mecanismos que ayudan a las semillas a germinar en los momentos más adecuados para que las nuevas plantas tengan las máximas posibilidades de supervivencia.

Pese a estas posturas, es evidente que la mayoría de los autores concuerdan en que el efecto inhibitorio de las sales sobre la germinación es tanto iónico como osmótico (Khan *et al.*, 2006), y en la naturaleza actuaría induciendo la dormancia para sincronizar los eventos germinativos con las condiciones ambientales (Redbo, 1994).

Sin embargo, investigadores como Mansour y Salama (2004), han encontrado que las diferencias en la tolerancia a la salinidad varían con las permeabilidades de cada genotipo, razón por lo cual, tanto la composición y estructura lipídica como la viscosidad citoplasmática de cada especie se presentan como factores clave en la preservación de la integridad de la membrana plasmática. Señalamiento que explicaría porque *H. vulgare* y *L. perenne* lograron una alta tasa de germinación en las concentraciones de salinidad más elevadas. En el Cuadro 2, también se observa que el tamaño de la radícula (LR) y la longitud del hipocotilo (LH) de las siete especies forrajeras se vieron influenciadas con los incrementos de las concentraciones de NaCl; así como, los mayores valores de crecimiento en todas las especies se encontraron a 0, 50 y 100 mM.

Las especies *H. vulgare*, *M. sativa*, *L. perenne* y *V. sativa* exhibieron un grado de afectación menor al 50% en el crecimiento, tanto de la raíz como del hipocotilo, bajo estos mismos niveles de concentración salina respecto a sus propios testigos. *C. nlemfuensis* fue la especie con menor crecimiento a 100 mM en relación con el resto de las forrajeras evaluadas. En la concentración salina de 200 mM hubo una afectación mayor al 90% en el crecimiento de la raíz y del hipocotilo de todas las especies, con excepción de *H. vulgare* y *L. perenne*, cuyo crecimiento mermó entre 43.35 y 69.85% para la raíz y en 30.02 y 100% para el hipocotilo respectivamente. Jamil *et al.* (2007); Llanes *et al.* (2005), señalaron que las longitudes de de las radículas e hipocotilos se reducen al incrementar las concentraciones de NaCl a partir de 50 Mm.

Tal disminución es el resultado de la pérdida de turgencia celular, provocada por la disminución del potencial osmótico en el medio de crecimiento, lo cual es indispensable para el debilitamiento del endospermo y la expansión del embrión;

their latency and dormancy, two mechanisms that help the seeds to germinate at the most appropriate times so that the new plants would have the maximum possibilities of survival.

Despite these positions, it is evident that most authors agree that the inhibitory effect of salts on germination is both ionic and osmotic (Khan *et al.*, 2006), and in nature it would act by inducing dormancy to synchronize germinative events with environmental conditions (Redbo, 1994).

However, researchers like Mansour and Salama (2004) found that differences in the salt tolerance varies with the permeabilities of each genotype, which is why both the composition and lipid structure as well as cytoplasmic viscosity of each species are presented as key factors in preserving the integrity of the plasma membrane. Signaling that would explain why *H. vulgare* and *L. perenne* achieved a high rate of germination at higher salinity concentrations. Table 2 also shows that the size of the radicle (LR) and the length of the hypocotyl (LH) of the seven forage species were influenced by the increases in the concentrations of NaCl; as well as, the highest growth values in all species were found at 0, 50 and 100 mM.

H. vulgare, *M. sativa*, *L. perenne* and *V. sativa* species exhibited a lower degree of involvement lower than 50% in growth, both in the root and the hypocotyl under these same levels of salt concentration compared to their own controls. *C. nlemfuensis* was the species with slower growth at 100 mM in relation to the rest of the evaluated forage. In the 200 mM salt concentration there was a greater than 90% affectation in root growth and hypocotyl of all species, except for *H. vulgare* and *L. perenne*, whose growth shrank between 43.35 and 69.85% for the root And in 30.02 and 100% for the hypocotyl respectively. Jamil *et al.* (2007); Llanes *et al.* (2005) noted that the length of radicle and hypocotyls are reduced by increasing concentrations of NaCl from 50 mM.

Such a decrease is the result of cell turgor loss caused by decreased osmotic potential in the growth medium, which is essential to the weakening of the endosperm and the expansion of the embryo; since it is a growth process impulsed by water absorption (Nawaz *et al.*, 2013). Table 3 shows the sodium content (Na⁺), potassium (K⁺), calcium (Ca²⁺), magnesium (Mg²⁺) and the K⁺/Na⁺ ratio of the seven forages at 21 days of the test.

al ser un proceso de crecimiento impulsado por la absorción de agua (Nawaz *et al.*, 2013). El Cuadro 3, muestra el contenido de Sodio (Na^+), Potasio (K^+), Calcio (Ca^{2+}), Magnesio (Mg^{2+}) y la relación K^+/Na^+ de las siete especies forrajeras a los 21 días de la prueba.

Contenido de Na^+

El contenido de sodio (Na^+) en todas las especies forrajeras mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los diferentes tratamientos respecto a sus propios testigos. El contenido de Na^+ en los tejidos de las especies *H. vulgare*, *L. perenne* y *V. sativa* fue menor al 50% en los tratamientos a 50 y 100 mM NaCl; siendo *H. vulgare* la especie con menor contenido Na^+ (entre 14.81 y 37.03%). Los mayores contenidos de Na^+ se encontraron a 200 mM en las especies *M. sativa*, *C. arietinum* y *A. sativa* cuyos incrementos fueron de 122.72, 218.18 y 247.05% respectivamente. Los resultados coinciden con los encontrados por Parés y Basso (2013) quienes señalaron que la absorción de Na^+ incrementa con las concentraciones de NaCl. Esto puede deberse a la necesidad de las especies de mantener un potencial osmótico intracelular aún más bajo que el del agua proporcionado por el medio externo, como un mecanismo eficiente de energía de tolerancia a la salinidad (Casierra *et al.*, 2000).

Contenido de K^+

El potasio K^+ es uno de los cationes principales que participa activamente en los procesos de osmoregulación, mantenimiento de la turgencia y expansión celular, además de contribuir a más de 6% del peso seco de la planta (Africano y Pinzón, 2015). Los resultados mostraron que el contenido de K^+ sufrió una reducción menor a 10% para los tratamientos de 50 y 100 mM respecto al control en todas las especies; con excepción de *A. sativa* y *C. nlemfuensis* cuya reducción varió entre 18.3% y 27.25% respectivamente. A 200 mM, el contenido de K^+ de las especies se vio reducido de 25.72 a 52.11%; siendo *H. vulgare* y *L. perenne* las especies que mostraron una menor reducción, al oscilar entre 5.74 y 16.73% respectivamente. La concentración de K^+ es más baja en plantas estresadas por salinidad comparada con los tratamientos sin estrés durante el ciclo de evaluación, lo cual sugiere que el potasio constituye el principal mecanismo de tolerancia al estrés salino, por su capacidad de mantener la turgencia celular, el ajuste osmótico y el crecimiento (Sobhanian *et al.*, 2010).

Na^+ content

The sodium content (Na^+) in all forage species showed significant differences ($p \leq 0.05$) in the different treatments compared to their own controls. The Na^+ content in the tissues of *H. vulgare*, *L. perenne* and *V. sativa* species was less than 50% in the treatments at 50 and 100 mM NaCl; being *H. vulgare* the species with less Na^+ content (between 14.81 and 37.03%). The higher Na^+ content were found at 200 mM in *M. sativa*, *C. arietinum* and *A. sativa* species whose increases were 122.72, 218.18 and 247.05% respectively. The results agree with those found by Parés and Basso (2013) who noted that the Na^+ absorption increases with the NaCl concentrations. This may be due to the species need to maintain an intracellular osmotic potential even lower than the water provided by the external environment, as an energy efficient mechanism of salinity tolerance (Casierra *et al.*, 2000).

Content of K^+

Potassium K^+ is one of the major cations actively involved in osmoregulation processes, keeping the turgor and cell expansion, and contribute to over 6% of the dry weight of the plant (Africano and Pinzón, 2015). The results showed that the K^+ content suffered a reduction less than 10% for treatments of 50 and 100 mM over the control in all species; except in *A. sativa* and *C. nlemfuensis* whose reduction ranged between 18.3% and 27.25% respectively. At 200 mM K^+ content of species was reduced from 25.72 to 52.11%; being *H. vulgare* and *L. perenne* the species with less reduction, the range between 5.74 and 16.73% respectively. The concentration of K^+ is lower in plants stressed by salinity compared to treatments without stress during the evaluation cycle, suggesting that potassium is the major mechanism of tolerance to salt stress, by its ability to maintain cell turgor, osmotic adjustment and growth (Sobhanian *et al.*, 2010).

Ratio (K^+/Na^+)

NaCl concentrations used were significant ($p \leq 0.05$) on the K^+/Na^+ ratio. In all control plantlets was noted that the K^+/Na^+ ratio was higher than treatments, this behavior may be because at low salt conditions seedlings tend to maintain high K^+ concentrations and almost stable for functioning. From the concentration of 50 mM NaCl

Relación (K^+/Na^+)

Las concentraciones de NaCl empleadas tuvieron efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre la relación K^+/Na^+ . En todas las plántulas testigo se observó que la relación K^+/Na^+ fue mayor a la de los tratamientos, este comportamiento puede obedecer a que en condiciones de baja salinidad las plántulas tienden a mantener las concentraciones de K^+ altas y casi estables para su funcionamiento. A partir de la concentración de NaCl 50 mM la relación disminuyó con el incremento en la salinidad, posiblemente por el efecto competitivo entre el K^+ y el Na^+ por los sitios de absorción en las raíces de las plantas (Lamz y González, 2015). La relación K^+/Na^+ en los tratamientos a 50 y 100 mM disminuyeron respectivamente 14.57 y 28.94% en *H. vulgare*, 27.44 y 41.47% en *L. perenne* y 27.74 y 44.38% en *V. sativa* respecto a los testigos; mientras que en las especies *M. sativa*, *C. arietinum*, *A. sativa* y *C. nlemfuensis* la disminución fue mayor, entre 46.24 y 67.9% respecto a los testigos. Para la concentración de 200 mM, la relación K^+/Na^+ se redujo en menor proporción en las especies *H. vulgare*, *L. perenne* y *V. sativa*, entre 42.15 y 72.97%; Para *M. sativa*, *C. arietinum* y *A. sativa* la disminución fue mayor, entre 74.13 y 81.49%. La relación K^+/Na^+ es considerada un componente clave de la tolerancia a la salinidad en plantas, por su habilidad de evitar la toxicidad por Na^+ y al mantenimiento de Ca^{2+} y K^+ (Chen *et al.*, 2007).

Contenido de Ca^{2+} y Mg^{2+}

El calcio (Ca^{2+}) es un factor importante en el mantenimiento de la integridad de la membrana y la regulación del transporte de iones (Cramer *et al.*, 1985). Por su parte, el magnesio (Mg^{2+}) forma parte esencial de la clorofila y es necesario para la actividad enzimática; por lo cual se encuentra asociado con el metabolismo energético (Ross, 2004). Los resultados mostraron que el contenido de Calcio y Magnesio (Ca^{2+} y Mg^{2+}) disminuyeron drásticamente a medida que las concentraciones salinas incrementaron. La reducción se observó de manera contundente en las especies *C. arietinum*, *A. sativa* y *C. nlemfuensis* conforme se incrementaron los niveles de salinidad. En estas especies, el Ca^{2+} disminuyó de 21.05 a 37.5% cuando fueron tratadas a 50 mM; de 42.1 a 62.5% a 100 mM y, de 57.84 a 100% a 200 mM de NaCl. En cuanto al contenido de Mg^{2+} se observó una respuesta similar, al disminuir de 31.57 a 61.53% cuando fueron tratadas a 50 mM; de 69.23 a 76.96% a 100 mM y de 78.94 a 100% a 200 mM NaCl. La acumulación de Na^+ en tejido vegetal en un medio de crecimiento salino se atribuye a una disminución

that ratio decreased with increasing salinity, possibly by competitive effect between K^+ and Na^+ absorption sites in the plant roots (Lamz and González, 2015). The K^+/Na^+ ratio in the treatments at 50 and 100 mM decreased 14.57 and 28.94 respectively in *H. vulgare*, 27.44 and 41.47% in *L. perenne* 27.74 and 44.38% in *V. sativa* compared to controls; while in *M. sativa*, *C. arietinum*, *A. sativa* and *C. nlemfuensis* species there was a greatest reduction between 46.24 and 67.9% compared to controls. For the concentration of 200 mM, K^+/Na^+ ratio was reduced to a lesser extent in the *H. vulgare*, *L. perenne* and *V. sativa* species, between 42.15 and 72.97%; for *M. sativa*, *C. arietinum* and *A. sativa* the decrease was greater, between 74.13 and 81.49%. The K^+/Na^+ ratio is considered a key component of the tolerance to salinity in plants for its ability to avoid toxicity by Na^+ and maintaining Ca^{2+} and K^+ (Chen *et al.*, 2007).

Content of Ca^{2+} y Mg^{2+}

Calcium (Ca^{2+}) is an important factor in the maintenance of the membrane integrity and the regulation of ion transport (Cramer *et al.*, 1985). Meanwhile, magnesium (Mg^{2+}) is an essential part of chlorophyll and is necessary for enzyme activity; which is why it is associated with energy metabolism (Ross, 2004). The results showed that the content of calcium and magnesium (Ca^{2+} y Mg^{2+}) decreased dramatically as salt concentrations increased. The reduction was observed decisively in the *C. arietinum*, *A. sativa* y *C. nlemfuensis* species as salinity levels increased. In these species, Ca^{2+} decreased from 21.05 to 37.5% when treated at 50 mM; from 42.1 to 62.5% at 100 mM and from 57.84 to 100% at 200 mM NaCl. As for the content of Mg^{2+} a similar response was observed when it decreased from 31.57 to 61.53% when treated at 50 mM; from 69.23 to 76.96% at 100 mM and from 78.94 to 100% at 200 mM NaCl. Na^+ accumulation in plant tissue in saline medium growth is attributed to a decrease in cell membrane integrity due to the replacement of Ca^{2+} by Na^+ which directly affects their biological functions (Nawaz *et al.*, 2013).

Na^+ displaces Ca^{2+} from the plasma membrane into the intercellular spaces, allowing the Na^+ absorption at the expense of K^+ absorption and cause significant changes in anatomy (Tester and Davenport, 2003), as observed in the growth of root length and hypocotyl of the species; which may also be related with Mg^{2+} reductions since according to Cakmak (2014), many metabolic processes of the plants

de la integralidad de la membrana celular, debido a la sustitución del Ca^{2+} por el Na^+ que influye directamente en sus funciones biológicas (Nawaz *et al.*, 2013).

El Na^+ desplaza al Ca^{2+} desde la membrana plasmática hacia los espacios intercelulares, lo que permite que se incremente la absorción de Na^+ en detrimento de la absorción de K^+ , y provoque cambios significativos en la anatomía (Tester y Davenport, 2003), como se observó en el crecimiento de la longitud de la raíz e hipocotilo de las especies; lo cual puede estar relacionado también con las reducciones de Mg^{2+} , ya que según Cakmak (2014), muchos procesos metabólicos en los sistemas de las plantas necesitan de un abastecimiento adecuado de éste catión divalente a fin de llevar a cabo una apropiada fotosíntesis, biosíntesis de proteínas y biosíntesis de la clorofila; necesaria para mantener una alta tasa de crecimiento de las raíces y partes de brotes jóvenes, impidiendo su crecimiento y causando que la absorción de nutrientes se encuentre restringida.

Conclusiones

De las siete especies forrajeras evaluadas, *H. vulgare* fue la más tolerante a los diferentes niveles de concentración salina, seguida de *L. perenne* L. y *V. Sativa*. En tanto que *C. nlemfuensis* fue la especie con mayor grado de afectación a partir de 100 mM lo cual se reflejó en el tamaño de la radícula y en la longitud del hipocotilo de estas mismas especies. A 200 mM, todas las especies mostraron los mayores contenidos de Na^+ y las mayores reducciones en el contenido de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . Sin embargo, las especies *H. vulgare* y *L. perenne* mostraron una menor relación K^+/Na^+ , validando con ello, ser las más tolerantes ante este nivel de concentración salina.

Literatura citada

- Africano, P. K. L. y Pinzón, S. E. H. 2015. Comportamiento fisiológico de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a estrés por salinidad. *Conexión Agropecuaria JDC*. 4(2):11-22.
- Aghaei, K.; Ehsanpour, A. A.; Balali, G. and Mostajeran, A. 2008. *In vitro* screening of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars for salt tolerance using physiological parameters and RAPD analysis. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 3(2):159-164.
- Allen, S. E. 1989. Analysis of vegetation and other organic materials. In: Allen, S. E. (Ed.). *Chemical analysis of ecological materials*. Blackwell Scientific Publications. London, England. 46-61 pp.

systems require an adequate supply of this divalent cation to bring a proper photosynthesis, protein biosynthesis and chlorophyll biosynthesis; necessary to maintain a high rate of growth in roots and parts of youth shoots, preventing its growth and causing a restricted nutrients absorption.

Conclusions

From the seven forage species evaluated, *H. vulgare* was the most tolerant to different levels of salt concentration, followed by *L. perenne* L. and *V. Sativa*. While *C. nlemfuensis* was the species with the greatest involvement from 100 mM which was reflected in the radicle size and hypocotyl length of these same species. A 200 mM, all species showed the highest content of Na^+ and further reductions in the K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} content. However, *H. vulgare* and *L. perenne* species showed a lower K^+/Na^+ ratio, thus validating to be more tolerant to this level of salt concentration.

End of the English version



- Cakmak, I. 2014. Major functions of calcium and magnesium in crop plants. In: *World Fertilizer Congress*. (16):30.
- Campos, G.; García, M.; Pérez, D. y Ramis, C. 2011. Respuesta de 20 variedades de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) ante el estrés por NaCl durante la germinación y en fase plantular. *Bioagro*. 23(3):215-224.
- Casierra, P. F.; Ebert, G. and Lüdders, P. 2000. Salinity effect of sodium chloride on nutrient balance in lulo plants (*Solanum quitoense* L.). *Agron. Colomb.* 17(1/3):85-90.
- Chen, Z.; Pottosin, I. I.; Cuin, T. A.; Fuglsang, A. T.; Tester, M.; Jha, D. and Shabala, S. 2007. Root plasma membrane transporters controlling K^+/Na^+ homeostasis in salt-stressed barley. *Plant Physiol.* 145(4):1714-1725.
- Colunga, G. B.; Villa, M. C. I.; Tzintzun, R. R.; Tena, M. M. J. y Val, A. D. 2009. La caracterización socioeconómica de los sistemas campesinos de producción en pequeña escala de la cuenca lechera Morelia-Álvaro Obregón, Michoacán. *Hijos*, 10(4):4.
- Cramer, G. R.; Läuchli, A. and Polito, V. S. 1985. Displacement of Ca^{2+} by Na^+ from the Plasmalemma of root cells a primary response to salt stress? *Plant Physiol.* 79(1):207-211.
- Flowers, T. J.; Gaur, P. M.; Gowda, C. L.; Krishnamurthy, L.; Samineni, S.; Siddique, K. H. and Colmer, T. D. 2010. Salt sensitivity in chickpea. *Plant, Cell Environ.* 33(4):490-509.
- García, H. L. A.; Aguilar, A.; Luévano, A. y Cabral, A. 2005. La globalización productiva y comercial de la leche y sus derivados. *Articulación de la ganadería intensiva lechera de la Comarca Lagunera*. Editorial Plaza y Valdés. Colonia San Rafael, México. 11-13 pp.

- Hampson, C. R. and Simpson, G. M. 1990. Effects of temperature, salt, and osmotic potential on early growth of wheat (*Triticum aestivum*). II. Early seedling growth. Canadian journal of botany. 68(3):529-532.
- Hanslin, H. M. and Eggen, T. 2005. Salinity tolerance during germination of seashore halophytes and salt-tolerant grass cultivars. Seed Sci. Res. 15(01):43-50.
- Hernández, A. Y.; Soto, P. N.; Florido, B. M.; Delgado, A. C.; Ortiz, P. R. y Enríquez, O. G. 2015. Evaluación de la tolerancia a la salinidad bajo condiciones controladas de nueve cultivares cubanos de soya (*Glycine max* L. Merrill). Cultivos Tropicales, 36(4):120-125.
- Hosseini, M. K.; Powell, A. A. and Bingham, I. J. 2002. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions. Seed Sci. Res. 12(03):165-172.
- Jamil, M.; Lee, K. B.; Jung, K. Y.; Lee, D. B.; Han, M. S. and Rha, E. S. 2007. Salt stress inhibits germination and early seedling growth in cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). Pak. J. Biol. Sci. PJBS. 10(6):910-914.
- Khan, M. A.; Ahmed, M. Z. and Hameed, A. 2006. Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. J. Arid Environ. 67(3):535-540.
- Lamz, P. A. y González, C. M. 2015. Indicadores del crecimiento inicial y del estado nutricional para la selección temprana de genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) tolerantes a la salinidad. Cultivos Tropicales. 36(2):41-48.
- Layne, G. J. A.; Méndez, N. J. R. y Mayz, F. J. 2008. Efecto de la salinidad y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. Tip. Rev. Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 11(1):17-25.
- Llanes, A.; Reinoso, H. and Luna, V. 2005. Germination and early growth of *Prosopis strombulifera* seedlings in different saline solutions. World J. Agric. Sci. 1(2):120-128.
- Lombardo, V. and Saladino, L. 1997. Influence of saline water on seed germination. Irrigazione e Drenaggio, Istituto di Agronomia Generale e Coltivazioni Erbacee. Univ. Palermo Italy, Irrigazione e Drenaggi. 44:3-7
- Madueño, M. A.; García, P. D.; Martínez, H. J. y Rubio, T. C. 2006. Germinación y desarrollo de plántulas de frijolillo *Rhynchosia minima* (L.) DC en condiciones de salinidad. Terra Latinoam. 24(1):47-54.
- Mahdavi, B. and Modarres, S. A. M. M. 2007. Germination and seedling growth in grasspea (*Lathyrus sativus*) cultivars under salinity conditions. Pak. J. Biol. Sci. 10(2):273-279.
- Mansour, M. M. F. and Salama, K. H. 2004. Cellular basis of salinity tolerance in plants. Environ. Exp. Bot. 52(2):113-122.
- Martínez, C. A.; Aragüés, L. R. y Royo, A. 1987. Evaluación y cribado de cultivares de cebada (*Hordeum vulgare* L.) por su tolerancia a la salinidad en la fase de germinación-emergencia. Investigación Agraria. 2(2):121-131
- Moreno, G. A.; Herrera, A. G.; Carrión, G. M.; Álvarez, B. D.; Pérez, S. R. E. y Ortiz, R. R. 2012. Caracterización y modelación esquemática de un sistema familiar de bovinos productores de leche en la Ciénega de Chapala, México. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 20(3-4):85-94.
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.
- Murillo, A. B.; Troyo, D. E.; López, C. A.; Jones, H. G.; Ayala, C. F. and Tinoco, O. C. L. 2001. Salt tolerance of cowpea genotypes in the emergence stage. Animal Production Sci. 41(1):81-88.
- Nawaz, K.; Hussain, K.; Majeed, A.; Khan, F.; Afghan, S. and Ali, K. 2013. Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects. Afr. J. Biotechnol. 9(34):5475-5480.
- Pablo, P. M.; Lagunes, E. L. D. C.; López, U. J.; Ramos, J. J. y Aranda, I. E. 2013. Morfometría, germinación y composición mineral de semillas de *Lupinus silvestres*. Bioagro. 25(2):101-108.
- Paliwal, K. V. and Maliwal, G. L. 1973. Salt tolerance of some arhar (*Cajanus indicus*) and cowpea (*Vigna cinencis*) varieties at germination and seedlings stages. Ann. Arid. Zone. 12:135-144.
- Parés, J. y Basso, C. 2013. Efecto del cloruro de sodio sobre el crecimiento y estado nutricional de plantas de papaya. Bioagro. 25(2):109-116.
- Pearson, G. A.; Ayers, A. D. and Eberhard, D. L. 1966. Relative salt tolerance of rice during germination and early seedling development. Soil Sci. 102(3):151-156.
- Redbo, T. P. 1994. Variation in plastic response to a salinity gradient within a population of the halophytic plant *Spergularia marina*. Oikos. 70(3):349-358.
- Reyes, P. J. J.; Murillo, A. B.; Nieto, G. A.; Troyo, D. E.; Reynaldo, E. I. M. y Rueda, P. E. O. 2013. Germinación y características de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés salino. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 4(6):869-880.
- Ross, M. 2004. Importancia del magnesio para altos rendimientos sostenibles en palma de aceite. Rev. Palmas. 25(E):98-104.
- Royo, A. y Aragüés, R. 1991. Tolerancia a la salinidad de 48 cultivares de cebada en la fase de emergencia. Invest. Prot. Veg. 6:17-26.
- Ruiz, M. y Terenti, O. 2012. Germinación de cuatro pastos bajo condiciones de estrés salino. Phytion. 81(2):169-176.
- Sankar, P. D.; Saleh, M. A. M. and Selvaraj, C. I. 2011. Rice breeding for salt tolerance. Res. Biotechnol. 2(2):1-10.
- Silva, G. J. T.; Ochoa, E. S.; Cristóbal, A. D. y Estrada, G. F. 2006. Calidad química del agua subterránea de la Ciénega de Chapala como factor de degradación del suelo. Terra. 24(4):503-513.
- Sobhanian, H.; Motamed, N.; Jazii, F. R.; Nakamura, T. and Komatsu, S. 2010. Salt stress induced differential proteome and metabolome response in the shoots of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae), a halophyte C4 plant. J. Proteo. Res. 9(6):2882-2897.
- Tester, M. and Davenport, R. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. Ann. Bot. 91(5):503-527.
- Ulfat, M.; Athar, H. R.; Ashraf, M.; Akram, N. A. and Jamil, A. 2007. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Pak. J. Bot. 39(5):1593-1608.
- Villa, C. M.; Catalán, V. E. A.; Inzunza, I. M. A. y Ulery, A. L. 2006. Absorción y translocación de sodio y cloro en plantas de chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. Rev. Fitotec. Mex. 29(1):79-88.