



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

Departamento de Biología

Licenciatura en Biología

Tesis de grado

Acondicionamiento osmótico de semillas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para mejorar la respuesta de la germinación bajo condiciones de estrés salino

Alumna: Figueroa Masanet, Maria Agostina

Asesora: Lic. Meglioli, Carola

Co-Asesor: Dr. Parera, Carlos

San Juan

2021

ÍNDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	5
Salinidad en suelos y su efecto en las especies vegetales	5
<i>Chenopodium quinoa</i> : un cultivo nutritivo	7
Germinación de semillas y el acondicionamiento osmótico	9
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
HIPÓTESIS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Actividad 1: evaluación de la calidad de semillas	13
Actividad 2: determinación de los niveles de tolerancia a la salinidad	14
Actividad 3: acondicionamiento osmótico de semillas	15
Actividad 4: evaluación de la tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente	16
Actividad 5: ensayos de germinación en sustrato estéril	16
Variables medidas	17
Análisis de datos	18
RESULTADOS	19
Calidad de las semillas	19
Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino	20
Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino e hídrico	25
Ensayos en laboratorio: acondicionamiento osmótico	30
Ensayos en laboratorio: tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente.	39
Ensayos de germinación con sustrato estéril	40
DISCUSIÓN	42
Ensayos en laboratorio: evaluación de estrés salino	42
Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino e hídrico	43
Ensayos en laboratorio: acondicionamiento osmótico	44
Ensayos en laboratorio: tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente	46
Ensayos de germinación con sustrato estéril	48
CONCLUSIONES	49
CONSIDERACIONES FINALES Y LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	51
BIBLIOGRAFÍA	52

RESUMEN

La salinidad de los suelos afecta la productividad de los agro-ecosistemas bajo riego en zonas áridas y semiáridas. El uso de plantas halófitas que pueden tolerar altas concentraciones de sal en el suelo y permitir el riego con agua salina son alternativas productivas posibles. Una especie alimenticia originaria de los países andinos que se destaca por su tolerancia a la salinidad es la quinua. Se considera como la única especie halófitas que produce semillas comestibles con propiedades altamente nutritivas. Se ha desarrollado un método muy usado denominado acondicionamiento osmótico (*priming*) de semillas para mejorar la performance de estas durante la germinación y/o emergencia de la radícula. Esta técnica consiste en un tratamiento pregerminativo que mejora la uniformidad y velocidad de emergencia en condiciones de estrés salino en numerosas especies tales como tomate, pimiento, lechuga, etc. Hasta el momento son escasos los antecedentes sobre el efecto de este método en el crecimiento y desarrollo de quinua. El objetivo general del presente trabajo es evaluar el efecto del acondicionamiento osmótico en semillas de quinua para mejorar la germinación y el establecimiento de plántulas en condiciones de salinidad. Se evaluaron diferentes ecotipos de la especie *Chenopodium quinoa*, los cuales se obtuvieron de la Red de Bancos de Germoplasma del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). En primera instancia se realizó un ensayo con distintos ecotipos de quinua a fin de elegir dos con los que se trabajó posteriormente. Luego se evaluó la tolerancia al estrés salino regando las semillas con soluciones de 100, 200, 300 y 400mM de NaCl. A continuación, las semillas se acondicionaron osmóticamente con soluciones de manitol y PEG durante 12 y 24 horas de exposición, luego se regaron con soluciones de salinidad (400 y 500mM) y agua destilada (control) para conocer la respuesta de las semillas acondicionadas osmóticamente al estrés salino. Finalmente se eligieron los acondicionamientos osmóticos que mostraron mejor performance para sembrar las semillas acondicionadas osmóticamente en perlita como sustrato estéril y fueron regadas con agua destilada como control y 400mM de NaCl. En cada ensayo de laboratorio se evaluó el porcentaje de germinación, el tiempo medio de germinación (MTG), índice de velocidad de emergencia (ERI), peso fresco, longitud de radícula y longitud de la parte aérea a los 7 días desde la siembra. Los ecotipos evaluados fueron RQ y Amarilla de Marangani, los cuales se comportaron como ecotipos

tolerantes a la salinidad, ya que presentaron valores altos en las variables evaluadas para los tratamientos de salinidad. Ambos ecotipos son afectados en mayor grado por el estrés salino en comparación con el estrés hídrico. La mayoría de las variables evaluadas mostraron valores mayores para las semillas acondicionadas osmóticamente en ambos ecotipos con respecto a aquellos valores obtenidos en las semillas no acondicionadas osmóticamente. Según los resultados obtenidos en el ensayo de germinación de acondicionamiento osmótico, se puede aceptar parcialmente la hipótesis planteada. De acuerdo con los resultados, el límite de tolerancia a la salinidad de ambos ecotipos está comprometido entre 400 y 500 mM en aquellas semillas acondicionadas osmóticamente. Las semillas sembradas en perlita como sustrato estéril se vieron afectadas negativamente por las concentraciones de salinidad.

INTRODUCCIÓN

Salinidad en suelos y su efecto en las especies vegetales

Se considera que Argentina es el tercer país, luego de Rusia y Australia, que presenta mayor superficie de suelos afectados por salinidad (Lavado, 2008). Las causas de la salinidad en suelos pueden ser naturales o bien antrópicas, como por ejemplo actividades que conducen a la elevación de capas freáticas y/o al incremento en la conductividad de la solución del suelo, asociadas a drenajes insuficientes, riegos con aguas de mala calidad o excesos de fertilización (Taleisnik y López, 2011). Dicha condición de los suelos afecta la productividad, siendo en muchos casos restrictiva para determinados cultivos. Si bien hay diferencias según los índices utilizados y los autores, se puede estimar que el 25 % de la República Argentina es húmeda, el 25 % es sub-húmedo a semiárido y el 50 % restante árido con grandes extensiones salinas. Entre las características mencionadas anteriormente la salinización afecta principalmente a los agro-ecosistemas bajo riego de zonas áridas y semiáridas del mundo, pero no de manera exclusiva ya que existen suelos afectados por salinidad también en ambientes húmedos (Yeo, 1998; Lavado, 2008).

Los suelos afectados por salinidad se caracterizan por una conductividad eléctrica que excede los 4 dS m^{-1} generada por la presencia de distintas sales. En el caso que la solución del suelo presente un exceso de Na^+ estos se denominan suelos sódicos. La salinidad reduce la germinación en las especies glicófitas y afecta en menor grado a las halófitas (Flowers y Colmer, 2008; Adolf et al., 2013) (Figura 1). El uso de plantas halófitas bajo riego con cierta concentración salina es una alternativa productiva posible, especialmente en las regiones áridas y semiáridas (Koyro y Eisa, 2008). El crecimiento de las plantas se ve afectado por la salinidad de dos maneras: una debido a que existe una baja disponibilidad de agua, por el efecto osmótico de altas concentraciones de sales solubles en el medio de la raíz y otra por la toxicidad iónica, como resultado de la acumulación de Na^+ y Cl^- que genera estrés oxidativo, resultante de una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y deficiencia de K^+ como resultado de una fuga masiva de K^+ de las células despolarizadas y de inhibición del ingreso del mismo a través de las raíces (Moreno et al., 2017).

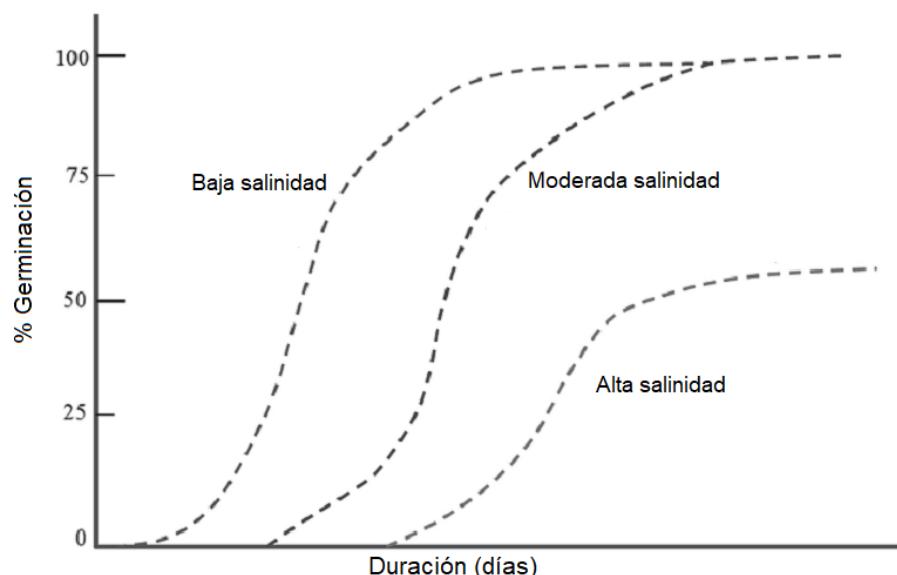


Figura 1. Relación entre el porcentaje de germinación y el tiempo luego de sembrado en diferentes niveles de salinidad. (Läuchli y Grattan, 2007)

Por las razones expuestas, es necesario plantear nuevas estrategias para afrontar este problema. Una alternativa podría ser el uso de especies cultivadas halófitas, que pueden tolerar altos niveles de salinidad del suelo (Koyro y Eisa, 2008). Dentro de las dicotiledóneas, la familia *Chenopodiaceae* posee gran cantidad de especies halófitas, siendo las más estudiadas principalmente *Atriplex sp.* y *Suaeda marítima*. Las especies no consideradas halófitas sometidas a una concentración de sales por encima de 150mM se encuentran en un estado de toxicidad, ya que este grado de salinidad afectara el metabolismo en general y particularmente la síntesis de proteínas. Esto no sucede con las plantas halófitas debido a que se ha encontrado un estímulo del crecimiento de este tipo de plantas, bajo ciertos niveles de salinidad. Sin embargo, el sistema metabólico no es diferente en estas especies con respecto a aquellas consideradas no halófitas, ya que ni sodio ni cloro son esenciales para las plantas (Jacobsen et al., 1997).

Dentro de la familia *Chenopodiaceae*, una especie alimenticia que se destaca también por su tolerancia a la salinidad es la quinua (*Chenopodium quinoa*). Se han encontrado algunas variedades como los ecotipos de la zona central de Chile que son más tolerantes a la salinidad que otros (Ceccato et al., 2014). Está considerada como la única especie halófitas que produce semillas comestibles con propiedades altamente nutritivas (Vega Gálvez et al., 2010; Ruiz et al., 2016).

Chenopodium quinoa: un cultivo nutritivo

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es una especie anual, dicotiledónea, perteneciente a la familia *Chenopodiaceae* que alcanza una altura entre 1 y 3 metros (González y Prado, 2013). La mayor diversidad de esta especie se encuentra en los países andinos. La quinua tiene una distribución antigua que va desde Colombia (2° N) hasta Chile (40° S).

Esta especie presenta un aquenio como fruto, el cual contiene sólo una semilla de coloración variable, mayormente amarilla pálida, aunque puede ser negra incluso. Las semillas de quinua son ovaladas con un diámetro de 1.4-1.6mm y poseen un gran perisperma central y un embrión periférico (Mäkinen et al., 2014). La inflorescencia es racimosa y se denomina panoja por tener un eje principal más desarrollado, del cual se originan los ejes secundarios y en algunos casos terciarios. Según las variedades tiene un periodo vegetativo de 4 a 9 meses y presenta polimorfismo de hojas, normalmente las basales son grandes romboidales o triangulares, mientras que las superiores suelen adoptar una forma lanceolada (Figura 2).



Figura 2. *Chenopodium quinoa* (Extraído de antropoce.it/es/2019/01/14/chenopodium-quinoa/)

Esta especie es resistente a los factores abióticos adversos como la sequía, salinidad y heladas. Se adapta a diferentes climas desde desérticos hasta climas

calurosos y secos. El cultivo puede crecer con humedades relativas desde 40% hasta 88% y la temperatura adecuada para el cultivo es de 15 a 20°C, pero puede soportar temperaturas desde -4°C hasta 38°C (Bioversity International, 2013). Es una planta eficiente en el uso de agua, es tolerante y resistente a la falta de humedad del suelo, obteniéndose producciones aceptables con precipitaciones de 100 a 200 mm. Es considerada un cultivo alternativo ya que su plasticidad genética permite la adaptación a los cambios ambientales que suceden a nivel mundial y que afectan el suelo (González et al., 2013). Esta potencialidad de tolerar altos niveles de salinidad podría ser una opción para incorporar zonas salinizadas a la producción de alimentos de alta calidad. Varios estudios demostraron que incluso las halófitas son particularmente sensibles a la salinidad durante las etapas de germinación de las semillas y la emergencia de las plántulas (Koyro y Eisa, 2008). Gómez-Pando y colaboradores (2010), demostraron que sobre 2500 accesiones de quinua solo 15 tuvieron un porcentaje de germinación superior al 60% cuando fueron regadas con agua salina (25 dS m⁻¹).

En los últimos años, la quinua ha despertado un gran interés debido a su alto valor nutricional como pseudocereal y por la ausencia de proteínas con gluten, característica que lo convierte en un alimento apto para personas celíacas. Se la denomina pseudocereal debido a que no pertenece a la familia de las Gramíneas, pero con sus semillas se puede producir harinas y consumir como cereal. En cuanto a su valor nutricional se destaca el contenido en proteínas de calidad, ácidos grasos como omega 3, 6 y 9, vitaminas y minerales como el calcio y el hierro (Mujica y Jacobsen, 2006; Bravo et al., 2013; Hernández Rodríguez, 2015). Incluye más proteínas que el trigo, centeno, avena, mijo, maíz y arroz. Además de esta composición nutricional, se ha encontrado que estas semillas contienen una gran variedad de compuestos bioactivos, como carotenoides, vitamina C y compuestos fenólicos. Dichos compuestos son considerados como preventivos contra enfermedades, particularmente cáncer, alergias, enfermedades inflamatorias y pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Pereira et al., 2018). Las semillas de quinua contienen saponinas en la cáscara, que son elementos antinutricionales (0.14-0.73%), ya que le brinda un sabor amargo, por lo que antes

de consumirla debe lavarse reiteradas veces para eliminarlas (Sezgin y Sanlier, 2019).

Las características químicas que posee esta especie hacen que también sea muy valorada como forraje verde, pudiéndose elaborar pellets con las partes de la planta que quedan después de la cosecha. Si se tritura finamente sirve para elaborar concentrados y suplementos alimenticios (Gandarillas Espezúa y Núñez Torreblanca, 2013). La quinua es considerada como un cultivo con potencial para contribuir a la seguridad alimentaria a nivel mundial (Ruiz et al., 2016). Por estas razones, el 2013 fue declarado "Año Internacional de la Quinoa" por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) con el fin de centrar la atención en este cultivo en todo el mundo (Small, 2013; Bazile et al., 2015).

Germinación de semillas y el acondicionamiento osmótico

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; Ibrahim, 2016). En general, la germinación de la semilla implica la fase I (imbibición) en la que el agua ingresa a la semilla debido a diferencias de potenciales hídricos, aunque con baja actividad metabólica. La fase II es una fase de meseta en la cual el movimiento de agua es mínimo, pero existe una actividad metabólica considerable, mientras que la fase III está marcada por un aumento en el contenido de agua debido a la división celular que permite la emergencia de la radícula y el crecimiento posterior de la plántula (Moreno y Papenbrock, 2018).

Se han desarrollado métodos y tecnologías para mejorar la performance de la semilla durante la germinación y/o emergencia de la radícula. Uno de los métodos más usados es el acondicionamiento osmótico (*priming*) de semillas (Bewley et al., 2013; Paparella et al., 2015). Este método consiste en un tratamiento pregerminativo que mejora la uniformidad y velocidad de emergencia de la radícula de las semillas en condiciones de estrés en numerosas especies (Parera y Cantliffe, 1994). El acondicionamiento osmótico podría considerarse como una técnica en la cual la fase II de la germinación se prolonga, para hidratar parcialmente la semilla hasta un

punto donde los procesos metabólicos relacionados con la germinación han comenzado, pero no se han completado ya que se evita la emergencia de la radícula. El acondicionamiento osmótico se basa en un proceso donde se sumergen las semillas en una solución osmótica de bajo potencial hídrico para controlar la cantidad de agua que ingresa a las mismas (Bewley et al., 2013; Moreno et al., 2018). Luego del tratamiento de las semillas con las soluciones, éstas se secan hasta llegar al contenido inicial de humedad. De esta forma se mantienen los efectos beneficiosos del tratamiento, sin pérdida de la calidad de la semilla (Ibrahim, 2016) (Figura 3). Antes de la aparición de la radícula, la semilla es tolerante a la desecación. El proceso de desecación de la semilla se produce en la fase I (imbibición) o II (activación), pero no en la fase III (crecimiento) ya que se encuentra demasiado avanzada para permitir un secado sin daños a la semilla (Ibrahim, 2016).

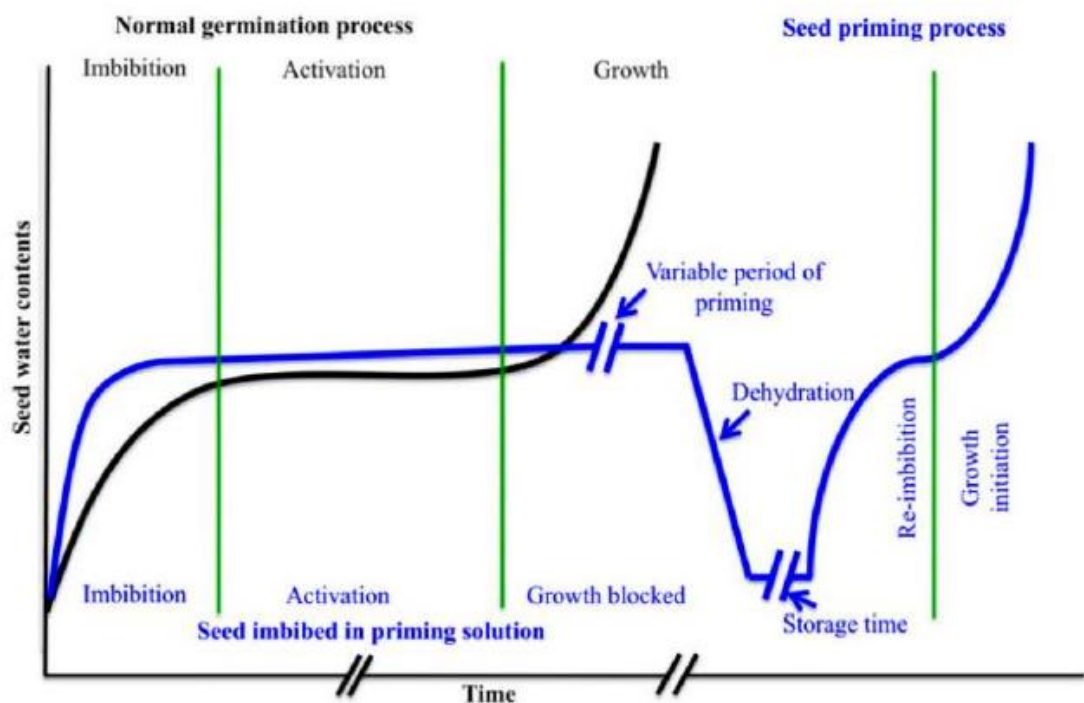


Figura 3. Gráfico explicativo de los procesos de germinación normal (línea negra) y la germinación con semillas acondicionadas (línea azul) (Extraído de Ibrahim, 2016).

Una de las soluciones más utilizadas para realizar acondicionamiento osmótico es el polietilenglicol (PEG 6000). Este compuesto presenta características químicas extremadamente útiles en los tratamientos previos a la siembra, ya que se utiliza para inducir el estrés osmótico, evita los efectos citotóxicos y el gran tamaño molecular evita el ingreso de la molécula en la semilla (Moreno et al., 2018). Las

soluciones usualmente usadas tienen un potencial osmótico entre -0.2 y -2 MPa dependiendo de la especie (Salehzade et al., 2009). En cultivos como el tomate (*Solanum lycopersicum*) (Pradhan et al., 2014), el pimiento picante (*Capsicum annuum* var. *acuminatum*), lechuga (*Lactuca sativa*) (Nasri et al., 2011), maíz (*Zea mays*) (Abraha y Yohannes, 2013; Tabatabaei, 2014), arveja (*Pisum sativum*) (Naz et al., 2014) y soja (*Glycine max*) (Miladinov et al., 2015) entre otros, se reportaron los efectos positivos del acondicionamiento osmótico en la germinación de las semillas bajo condiciones de estrés salino. Muchos investigadores recientes sugirieron que el acondicionamiento de las semillas de cultivos podría ser una forma útil para una mejor germinación, crecimiento, establecimiento y rendimiento de las plantas (Salehzade, 2009; Ghyasi et al., 2008; Tajbakhsh et al., 2004; Sharafzadeh et al., 2006). A pesar de esto último, hasta el momento no se han encontrado antecedentes sobre el efecto de este método en el crecimiento y desarrollo de quinua.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar el efecto del acondicionamiento osmótico en semillas de quinua sobre la germinación y el establecimiento de plántulas en condiciones de salinidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar la germinación de distintos ecotipos de quinoa bajo condiciones de estrés salino.
2. Evaluar en ecotipos de quinua diferentes métodos de acondicionamiento osmótico de semilla y su efecto sobre la germinación en condiciones de estrés salino en laboratorio.
3. Determinar la emergencia y desarrollo de las plántulas provenientes de semillas acondicionadas osmóticamente en condiciones de estrés salino con sustrato estéril.

HIPÓTESIS

El acondicionamiento osmótico de semillas de quinoa mejora la germinación el establecimiento y el desarrollo de las plántulas de ecotipos bajo condiciones de salinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: El trabajo se realizó en el Gabinete de Recursos Vegetales (Laboratorio y Vivero), perteneciente al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de San Juan. Los diferentes ecotipos de quinua con los que se trabajó, se obtuvieron de la Red de Bancos de Germoplasma del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). La corroboración y el ajuste de los potenciales osmóticos de las diferentes soluciones utilizadas en este trabajo se realizaron utilizando un osmómetro Vapro en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Estación Experimental Agropecuaria, San Juan del INTA.

Condiciones de germinación: Los ensayos se llevaron a cabo en laboratorio bajo las siguientes condiciones: 25 semillas de cada ecotipo de quinua se sembraron en cajas de Petri (9 cm) con papel de filtro, esterilizadas previamente en estufa de esterilización a 70°C durante 12 hs. Se realizaron todos los tratamientos con cuatro repeticiones. Cada caja de Petri fue envuelta con papel film en sus bordes a fin de no permitir la evaporación de la solución de riego. Dichas cajas se colocaron al azar dentro de una cámara de germinación a temperatura constante (25°C) y con un fotoperiodo de 12 hs luz.

Actividad 1: evaluación de la calidad de semillas

Para evaluar la calidad inicial de los distintos ecotipos de quinua recibidos del INTA, se llevó a cabo un ensayo de germinación. Se evaluaron en total 10 ecotipos, 6 pertenecientes al Banco de Germoplasma Regional de Tucumán y 4 enviados por el Banco de Germoplasma de Famatina, de la Provincia de La Rioja. Las semillas fueron previamente esterilizadas en una solución de hipoclorito de sodio (20% v/v) durante 10 minutos y luego fueron enjuagadas con agua destilada y secadas a temperatura ambiente (25 °C). Una vez que las semillas estuvieron secas, éstas se sembraron en cajas de Petri de acuerdo con lo explicado en las condiciones de germinación y fueron regadas con 3 ml de agua destilada. Se evaluó la germinación cada 24 hs durante 7 días y posteriormente se calculó el porcentaje final de

germinación. Se consideró a una semilla germinada cuando la radícula se volvió visible (2 mm).

Actividad 2: determinación de los niveles de tolerancia a la salinidad

Luego de conocer los resultados de germinación de los 10 ecotipos analizados, se seleccionaron 2 para continuar con el trabajo: Amarilla de Marangani y RQ, ambas procedentes del banco de Famatina (La Rioja). Para conocer los límites de tolerancia al estrés salino de los ecotipos de quinua seleccionados, se realizó un ensayo de germinación bajo condiciones de estrés salino. Para ello, se sembraron 25 semillas de cada ecotipo de quinua de acuerdo a las condiciones de germinación mencionadas. Cada caja de Petri fue regada 3ml con soluciones de cloruro de sodio (NaCl) con las distintas concentraciones: 100mM (equivalente a -0.5MPa), 200mM (equivalente a -1MPa), 300 mM (equivalente a -1.5MPa) y 400 mM (equivalente a -2MPa). El tratamiento control se realizó regando cada caja de Petri con agua destilada, obteniendo así 5 tratamientos en total. Se contabilizó la germinación cada 24 hs durante 7 días. Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula se volvió visible.

Posteriormente, las semillas de Amarilla de Marangani y RQ fueron sometidas a ensayos de estrés abiótico a fin de discriminar el efecto del estrés hídrico del salino sobre el proceso de germinación. Para ello, se sembraron las semillas de cada ecotipo de quinua de acuerdo con las condiciones de germinación nombradas anteriormente. Se regaron con soluciones de NaCl (estrés salino) y de polietilenglicol 6000 (PEG) (estrés hídrico), cuyos potenciales osmóticos (Ψ_o) para ambas soluciones fueron -0,5, -1, -1,5 y -2,0 MPa. Los potenciales osmóticos se obtuvieron siguiendo la relación empírica de Vant`Hoff (Salisbury y Ross, 1994) según la siguiente fórmula:

$$\Psi_o = -CiRT$$

Donde: Ψ_o = 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 K), T = temperatura absoluta (°K) = grados °C + 273.

Actividad 3: acondicionamiento osmótico de semillas

Para realizar el acondicionamiento osmótico de las semillas de cada ecotipo de quinua, se utilizaron dos osmolitos (polietilenglicol 6000 y Manitol) obteniendo soluciones con diferentes potenciales osmóticos y se evaluaron dos tiempos de exposición: 12 y 24 hs.

Las semillas fueron sumergidas en soluciones con los siguientes potenciales osmóticos:

- Polietilenglicol 6000: -1.75 MPa, -2.8 MPa y -3.5 MPa
- Manitol: -0.5 MPa, -1 MPa y -2 MPa

Cuando se trabajó con las soluciones de PEG se aplicó oxígeno a fin de asegurar la aireación de las semillas debido a que la solución presenta cierta viscosidad. Para ello se colocaron las semillas en tubos de ensayo con cada potencial osmótico de PEG utilizado y a cada tubo se le introdujo una fina manguera que burbujeaba la solución. El aire fue suministrado con una bomba aireadora para peceras (Figura 4).



Figura 4. Fotografía del acondicionamiento osmótico con las distintas soluciones.

Luego de exponer las semillas a dichas soluciones por 12 y 24 horas continuas, se extrajeron, se lavaron con agua destilada y se secaron hasta obtener peso constante a temperatura ambiente. Finalmente, las semillas se sembraron en cajas de Petri según las condiciones de germinación mencionadas.

Actividad 4: Evaluación de la tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente

Las semillas obtenidas de la exposición en los tratamientos de acondicionamiento osmótico fueron sembradas siguiendo las condiciones de germinación para los experimentos de laboratorio. Las soluciones de riego que se utilizaron fueron: agua destilada (tratamiento control), y soluciones de NaCl de 400 (equivalente a -2MPa) y 500mM (equivalente a -2.5MPa) (Figura 5). Cada caja de Petri fue regada con 3ml de cada solución mencionada. Se realizó la toma de datos de la cantidad de semillas germinadas cada 24 hs durante 7 días.

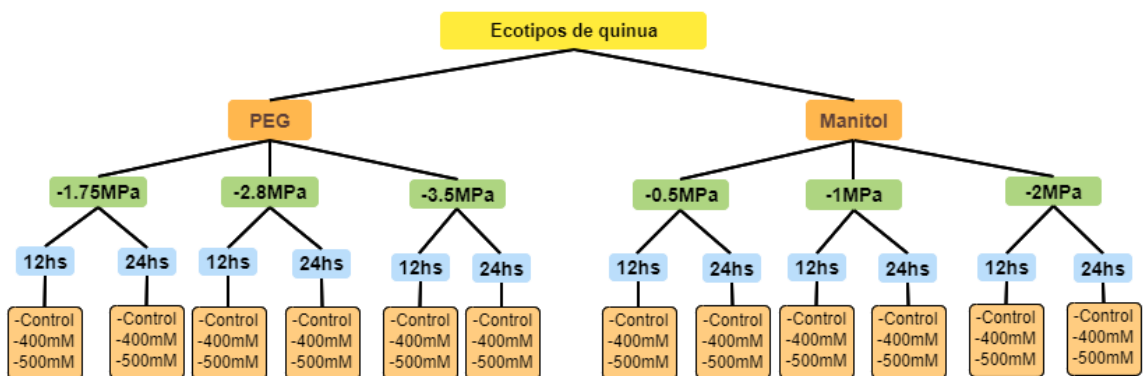


Figura 5. Diseño del ensayo de acondicionamiento osmótico de semillas de quinua donde se muestra los diferentes potenciales osmóticos usados en cada sustancia (PEG-6000 y Manitol), los tiempos de exposición, y las soluciones de riego usadas posteriormente para la evaluación de la tolerancia de salinidad.

Actividad 5: ensayos de germinación en sustrato estéril

De acuerdo con los resultados obtenidos del ensayo de acondicionamiento osmótico, se seleccionaron aquellos tratamientos que mostraron mejor performance (mayor porcentaje de germinación de acuerdo con el tratamiento de acondicionamiento osmótico, tiempo de exposición y tolerancia al estrés abiótico) para cada ecotipo.

Se utilizaron 2 tipos de sustrato por separado: perlita en un experimento, y arena lavada estéril en conjunto con perlita en una relación 2:1 (v/v) en otro experimento. Se sembraron 25 semillas acondicionadas osmóticamente de cada ecotipo en bandejas de germinación, con cuatro repeticiones para cada tratamiento y para cada tipo de sustrato estéril. Los tratamientos de riego fueron: control y 400mM de NaCl. El riego se mantuvo constante a capacidad de campo. Para obtener esto, cada

bandeja de germinación fue colocada dentro de un recipiente que contenía cada solución de riego. Cada unidad así armada se colocó dentro de una bolsa de polipropileno transparente a fin de asegurar la incidencia de luz y mantener constante el volumen y la concentración de cada solución de riego evitando la evaporación de la misma (Figura 6).

Las bandejas se colocaron al azar dentro de una cámara de germinación a temperatura constante (25°C) y con un fotoperiodo de 12 hs luz. Se realizaron mediciones sobre las plántulas a los 15 días de iniciado el ensayo.



Figura 6. Fotografía de las bandejas de germinación con perlita como sustrato dentro de la bolsa de polipropileno transparente.

Variables medidas

Para cada ensayo de laboratorio se calculó en base a los datos diarios de germinación el porcentaje de germinación, el tiempo medio de germinación (MTG), el índice de velocidad de emergencia (ERI), peso fresco, longitud de radícula y longitud de la parte aérea a los 7 días desde la siembra.

El MTG se calculó de acuerdo con Bewley y Black (1986) como:

$$MTG = (\sum (D * n) / \sum nt)$$

Donde D: número de días registrados desde el comienzo de la germinación; n: número de semillas germinadas en el día D y nt: es el número total de semillas sembradas.

El índice de velocidad de emergencia (ERI) se registró según Shmueli y Goldberg (1971) como:

$$ERI = \sum (X_n (c - n) / N)$$

Donde X_n : es el número de semillas germinadas contadas el día n ; c : número de días desde la siembra hasta que terminó la emergencia; n : día en el cual se realizó el conteo, expresado en días después de la siembra; N : número total de semillas.

En el ensayo de germinación con sustrato estéril se midió el porcentaje de germinación, la longitud de la planta y radícula, número de raíces secundarias y peso fresco a los 15 días desde la siembra.

Análisis de datos

Los datos de los diferentes tratamientos se analizaron estadísticamente con el software InfoStat (2019). Se utilizó la prueba de Shapiro Wilks para comprobar el cumplimiento de los supuestos de normalidad. Los datos se analizaron mediante ANOVA con test a posteriori de Tukey para la separación de medias. Para el caso del análisis de los datos de porcentaje, los datos fueron transformados con la función arcoseno. Las diferencias entre las medias se analizaron a un nivel de 5% de significancia. Cuando los supuestos no se cumplieron, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Calidad de las semillas

Se evaluó la germinación de los ecotipos de quinua procedentes del Banco de germoplasma del Centro Regional Tucumán de INTA los cuales fueron: Amarilla de Maranganí (falcón), Real, Cica, Faro, Regalona Baer.

El porcentaje de germinación que se obtuvo entre los ecotipos evaluados varió significativamente. Solo los ecotipos Real y Amarilla de Maranganí (falcón) tuvieron un porcentaje de germinación superior al 90%. El resto de los ecotipos no superaron el 16% (Gráfico 1).

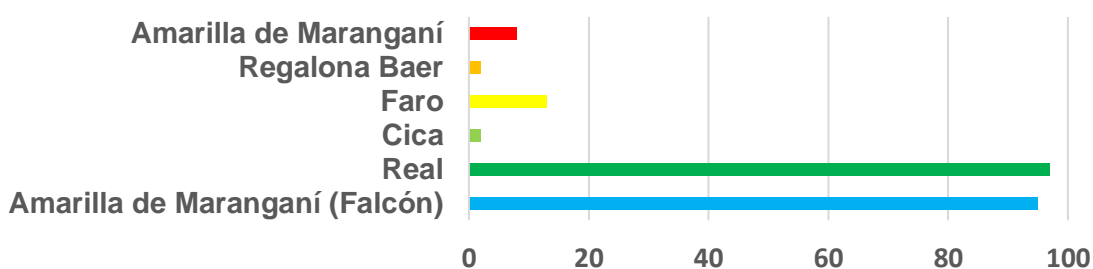


Gráfico 1. Porcentaje de germinación para los distintos ecotipos evaluados del Banco de Germoplasma del Centro Regional Tucumán del INTA.

Dada la baja calidad de las semillas provistas, se solicitó un nuevo envío de materiales al Banco de Germoplasma de Famatina de INTA. Los nuevos ecotipos evaluados, provenientes de la provincia de La Rioja fueron Regalona Baer, Amarilla de Maranganí, RQ y Cica. Se registraron porcentajes de germinación que variaron entre 62% (Regalona Baer), 92% (Amarilla de Maranganí) y 90% (RQ) (Gráfico 2).

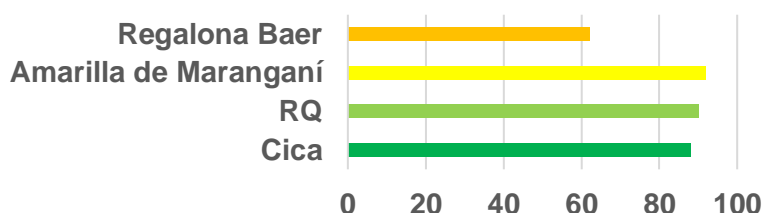


Gráfico 2. Porcentaje de germinación para los distintos ecotipos evaluados del Banco de Germoplasma de Famatina del INTA.

Debido a estos resultados se seleccionaron los ecotipos RQ y Amarilla de Maranganí para trabajar en los posteriores ensayos.

Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino

En las semillas regadas con soluciones salinas, los resultados obtenidos para el **porcentaje de germinación** fueron significativos para los diferentes ecotipos, y la interacción de estos con los tratamientos aplicados (Tabla 1). Entre los ecotipos, Amarilla de Marangani obtuvo una media mayor ($58,46 \pm 1,41$) que RQ ($39,11 \pm 1,41$). Ambos ecotipos obtuvieron mayor porcentaje de germinación en los tratamientos de salinidad con respecto al control. Mientras que para Amarilla de Marangani el mayor porcentaje de germinación fue para 100mM de NaCl, en el ecotipo RQ se obtuvo mayor número de semillas germinadas en los tratamientos de salinidad de 200 y 300 mM (Gráfico 3). Se registraron semillas germinadas incluso en la concentración más alta de salinidad (400mM) aunque con una leve disminución con respecto al control para ambos ecotipos evaluados.

Tabla 1. Valores de probabilidad obtenidos bajo los tratamientos Control, 100, 200, 300 y 400 mM de NaCl para las variables porcentaje de germinación, tiempo medio de germinación (MTG), índice de velocidad de emergencia (ERI), peso fresco, longitud de plántula y radícula para ambos ecotipos.

VARIABLES	PORC.DE GERM.	MTG	ERI	PESO FRESCO	LONG. PLANT	LONG RAD.
TRATAMIENTO	0.1447	0.375	0.0273	0.0025	<0.0001	<0.0001
ECOTIPO	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
TRAT*ECO	0.0054	0.3362	0.0019	0.0015	<0.0001	<0.0001

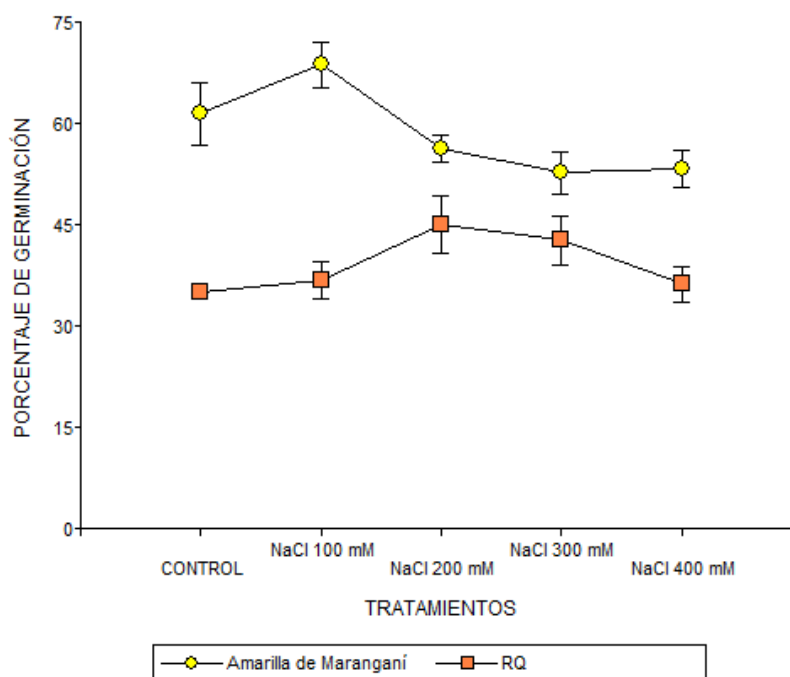


Gráfico 3. Porcentaje de germinación para los ecotipos Amarilla de Marangani y RQ en las distintas concentraciones de salinidad aplicadas. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

Los tratamientos aplicados no generaron efectos diferentes en el **tiempo medio de germinación (MTG)** de las semillas. Sin embargo, los valores más altos del índice se presentaron para los tratamientos con salinidad. Se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos trabajados (Tabla 1), siendo RQ menor que Amarilla de Maranganí para MTG.

Con respecto al **Índice de velocidad de emergencia (ERI)**, se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos evaluados y entre los tratamientos aplicados (Tabla 1). Para el ecotipo Amarilla de Maranganí, el índice fue mayor ($4,01 \pm 0,12$) en comparación a RQ ($2,2 \pm 0,12$). Dado que la interacción entre tratamientos y ecotipo fue significativa la velocidad de germinación fue mayor para las semillas de Amarilla de Maranganí para los tratamientos control (4,41) y 100mM de NaCl (4,94). En cuanto al ecotipo RQ este índice fue alto en los tratamientos de salinidad a 200 y 300mM (2,77 y 2,52 respectivamente) (Gráfico 4). En ambos ecotipos los valores más bajos del índice se encontraron bajo el tratamiento de mayor salinidad, es decir, cuando se regó con una solución de la NaCl 400mM.

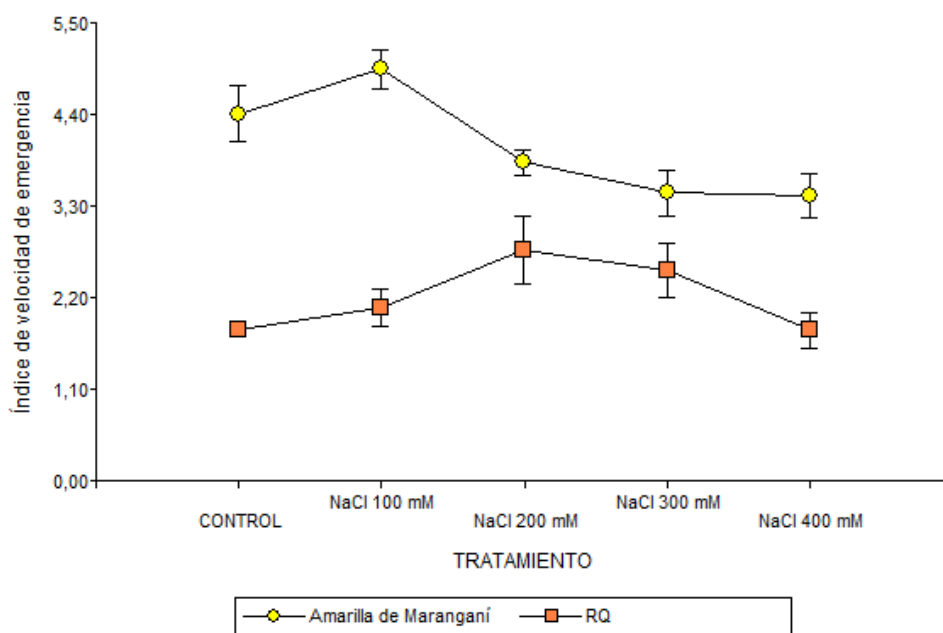


Gráfico 4. ERI para los ecotipos Amarilla de Maranganí y RQ en los distintos tratamientos de salinidad aplicados.

En cuanto al **peso fresco** de las plántulas tanto los ecotipos, los tratamientos aplicados como la interacción entre estas variables tuvieron un efecto significativo (Tabla 1). El peso fresco medio de RQ fue menor ($0,0402\text{gr} \pm 0,0065$) en

comparación con Amarilla de Marangani (0.1026gr \pm 0.0065). Se obtuvieron mayores pesos para los tratamientos de salinidad a 100 y 300 mM. El valor de peso fresco más elevado para el ecotipo Amarilla de Marangani se registró en el tratamiento 100mm de NaCl. Por el contrario, para el ecotipo RQ bajo los tratamientos de estrés salino con concentraciones de 100 y 400Mm, se registraron los pesos más bajos (Gráfico 5).

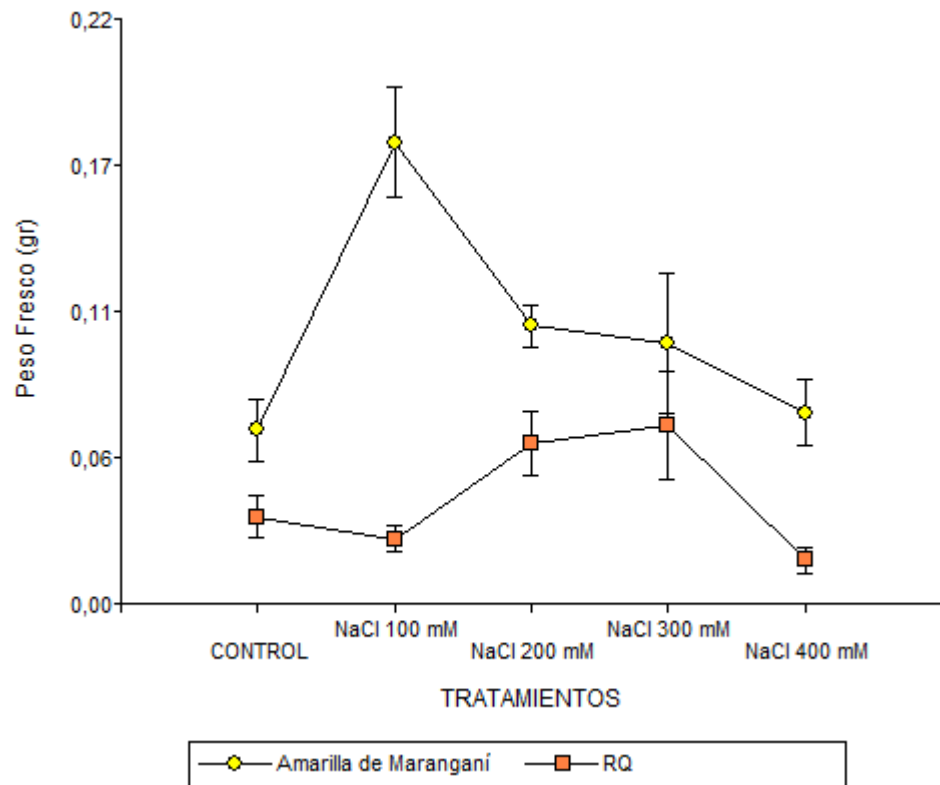


Gráfico 5. Valores medios de peso fresco en gramos para el ecotipo Amarilla de Marangani y RQ en las distintas concentraciones de salinidad aplicadas. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre los ecotipos evaluados para las variables **longitud de plántula** y **longitud de radícula** (Tabla 1), siendo Amarilla de Marangani el ecotipo que presentó mayor longitud para ambas variables en comparación con RQ. Tanto la longitud de radícula como de plántula se comportaron similar para los distintos tratamientos, presentando menor longitud media aquellas semillas que fueron regadas con soluciones con alta concentración de salinidad (300 y 400mM). Para el tratamiento 100mM de NaCl se presentó la media más alta en ambas longitudes.

La interacción entre ecotipo y tratamiento muestra que la concentración de 100 mM obtuvo una mayor longitud de plántula y radícula, incluso mayor que control, para el ecotipo Amarilla de Marangani (Gráfico 6 y 7). Este ecotipo inmediatamente disminuye marcadamente los valores de longitud plántula y radícula para los tratamientos 200mM, 300mM y 400mM. Por el contrario, para RQ las longitudes mayores se presentaron para los tratamientos de 200mM de NaCl.

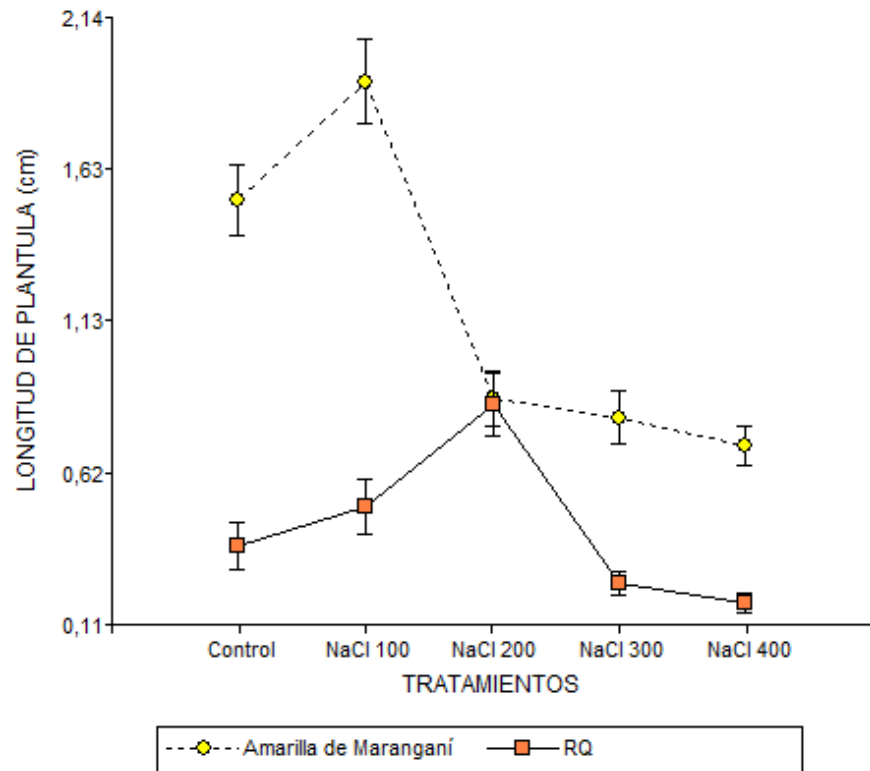


Gráfico 6. Valores medios de la longitud de plántulas en centímetros para el ecotipo Amarilla de Marangani y RQ en las distintas concentraciones de salinidad aplicadas. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

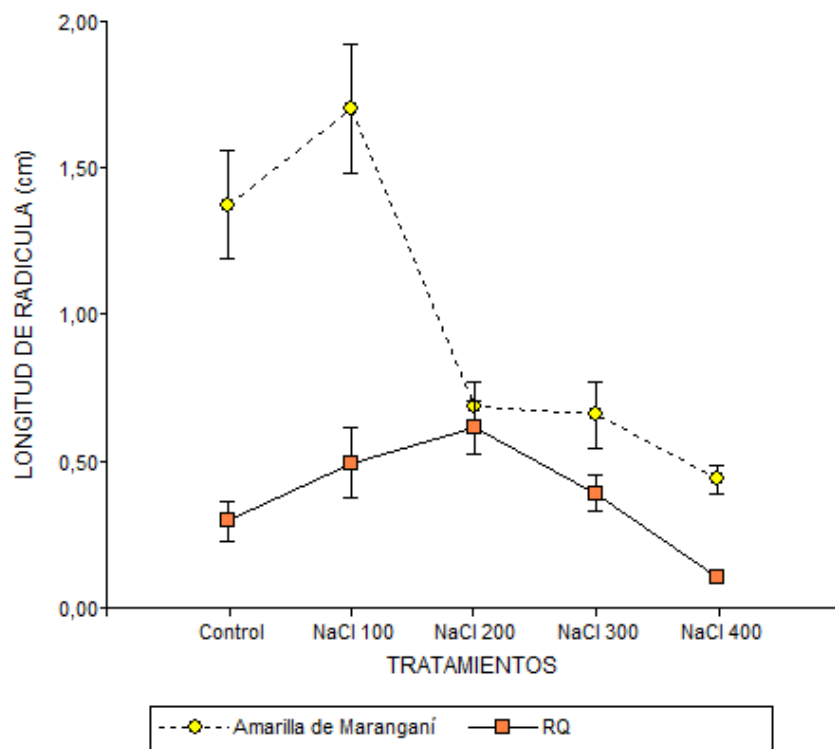


Gráfico 7. Valores medios de la longitud de radícula en centímetros para el ecotipo RQ y Amarilla de Marangani en las distintas concentraciones de salinidad aplicadas. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino e hídrico

Para la variable **porcentaje de germinación** hubo efectos significativos para los ecotipos y los tratamientos, pero no la interacción entre estos factores (Tabla 2). El porcentaje de semillas germinadas en PEG y NaCl fue menor para el ecotipo RQ ($34,09 \pm 1,29$) que Amarilla de Maranganí ($54,78 \pm 1,29$). Los tratamientos de estrés hídrico y salino con potenciales osmóticos altos (-0.5 y -1 MPa) fueron los que presentaron mayor porcentaje de germinación. Para ambos ecotipos el porcentaje de germinación fue menor, incluso más que el control, en aquellos tratamientos con PEG con potenciales osmóticos bajos (-1.5 y -2 MPa) (Gráfico 8).

Tabla 2. Valores de probabilidad obtenidos bajo los tratamientos (TRAT) PEG y NaCl, con los potenciales osmóticos (POT) -0.5, -1, -1.5 y -2 MPa para las variables porcentaje de germinación, tiempo medio de germinación (MTG), índice de velocidad emergencia (ERI), peso fresco, longitud de plántula y radícula para ambos ecotipos (ECO).

VARIABLES	PORC. DE GERM.	MTG	ERI	PESO FRESCO	LONG. PLANT	LONG RAD.
TRATAMIENTO	0.0009	0.015	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
ECOTIPO	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
POTENCIAL	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
ECO*TRAT	0.3786	0.7597	0.9778	0.0002	<0.0001	0.0922
ECO*POT	0.2148	0.0544	0.5770	0.2883	0.1312	0.1978
TRAT*POT	<0.0001	0.0057	0.0090	0.3234	sd	sd
TRAT*ECO*POT	0.2411	0.4895	0.5578	0.0419	sd	sd

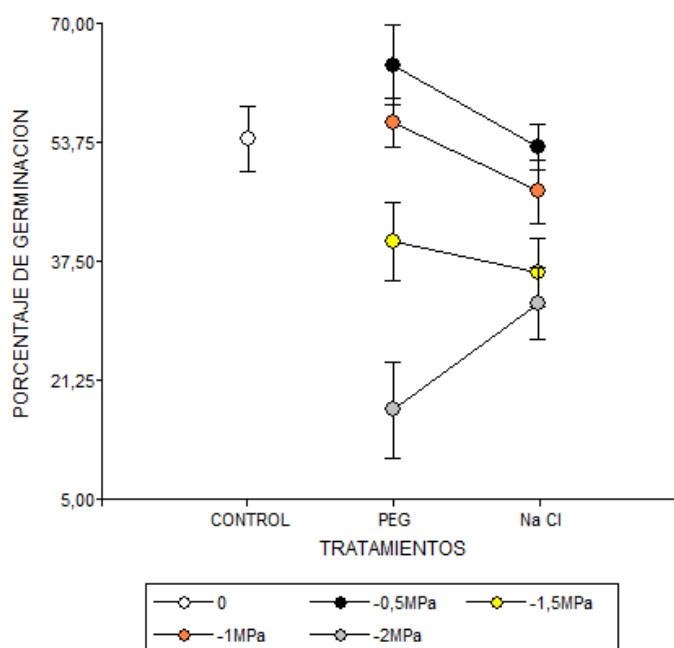


Gráfico 8. Porcentaje de germinación para el ecotipo Amarilla de Maranganí en los distintos potenciales aplicados para los tratamientos de estrés hídrico (PEG) y salino (NaCl). Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

En aquellas semillas sometidas a estrés salino e hídrico la variable **porcentaje de germinación** presentó efectos significativos para los ecotipos y los tratamientos, pero no para la interacción entre estos factores (Tabla 2). El porcentaje de semillas germinadas en PEG y NaCl fue menor para el ecotipo RQ ($34,09 \pm 1,29$) que Amarilla de Maranganí ($54,78 \pm 1,29$). Los tratamientos de estrés hídrico y salino con los potenciales osmóticos -0.5 y -1 MPa fueron los que presentaron mayor porcentaje de germinación. Para ambos ecotipos el porcentaje de germinación fue menor, incluso más que el control, en aquellos tratamientos con PEG con los potenciales osmóticos bajos -1.5 y -2 MPa (Gráfico 8).

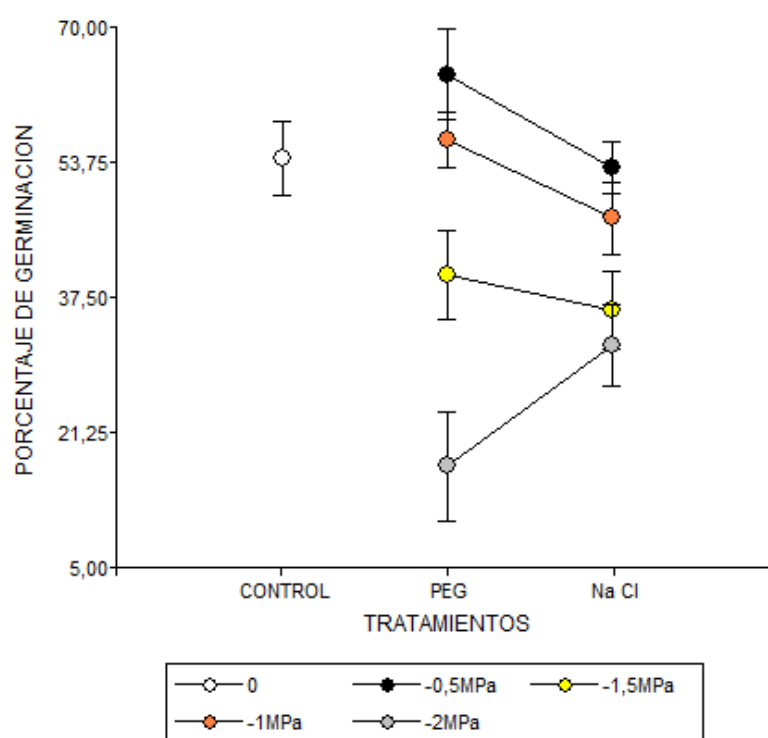


Gráfico 8. Porcentaje de germinación para el ecotipo Amarilla de Maranganí en los distintos potenciales aplicados para los tratamientos de estrés hídrico (PEG) y salino (NaCl). Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

El **MTG** y el **ERI** fueron significativos para los ecotipos y los tratamientos (Tabla 2). Comparando ecotipos se observa que Amarilla de Maranganí presentó mayores valores para los índices en comparación al ecotipo RQ. Dentro de los tratamientos, el MTG fue mayor para el estrés hídrico, mientras que para el ERI esto sucedió para el tratamiento control (Gráfico 9). Los tratamientos de estrés hídrico y salino con los potenciales osmóticos -0.5 y -1 MPa fueron los que presentaron mayor MTG (Gráfico 10).

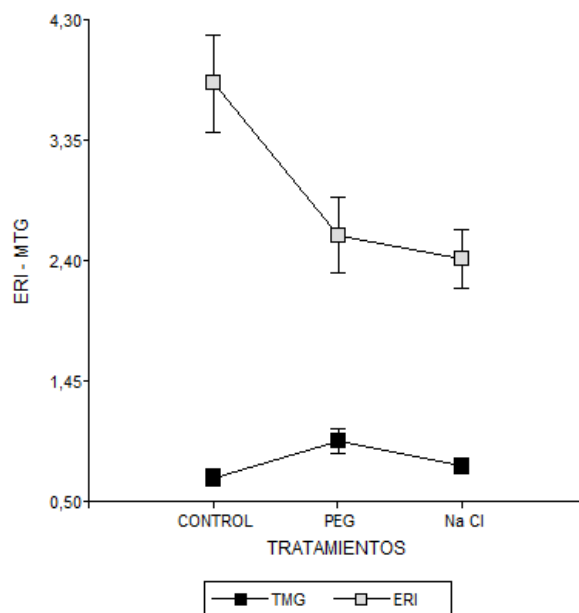


Gráfico 9. MTG y ERI para los distintos tratamientos aplicados con PEG y NaCl. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

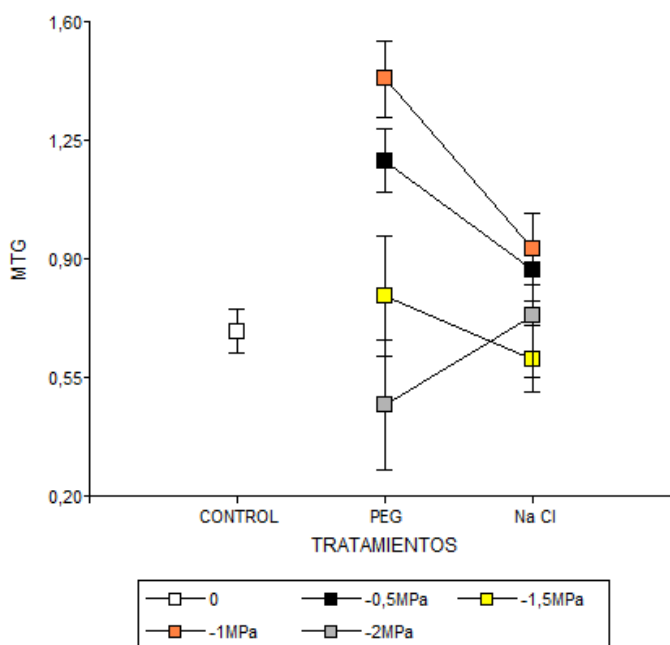


Gráfico 10. MTG para los tratamientos aplicados en sus distintos potenciales osmóticos. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

En el **peso fresco** de las plántulas se encontraron diferencias significativas para los ecotipos, para los tratamientos y su interacción (Tabla 2). El ecotipo que presentó mayores valores fue Amarilla de Marangani. Con respecto a los tratamientos evaluados el peso fresco fue mayor para el tratamiento control, seguido de aquellos tratamientos con el potencial osmótico -0,5MPa, tanto para PEG como NaCl. Tanto para Amarilla de Marangani como para el ecotipo RQ, el peso fresco fue mayor para el tratamiento control (Gráfico 11 y 12).

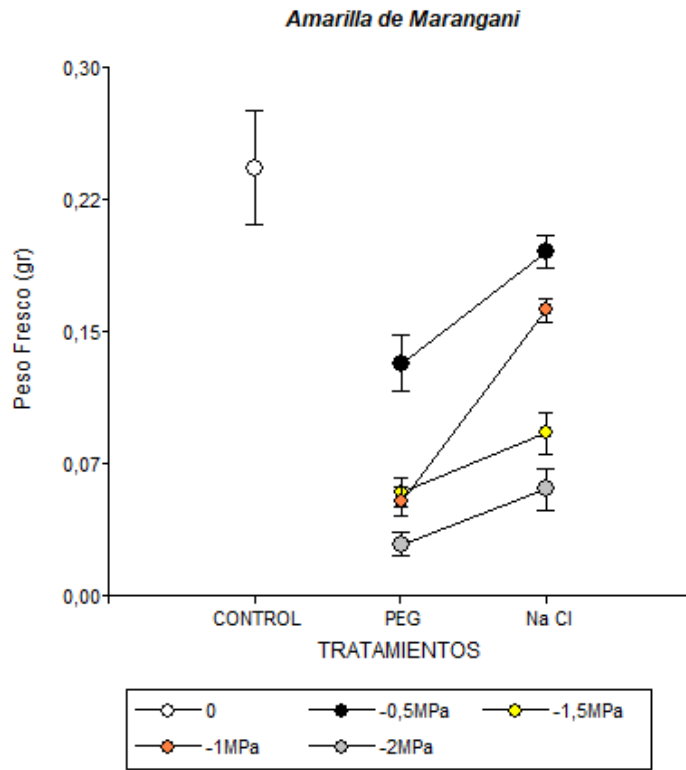


Gráfico 11. Peso fresco en gramos para el ecotipo Amarilla de Maranganí en los distintos tratamientos aplicados y sus potenciales osmóticos. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

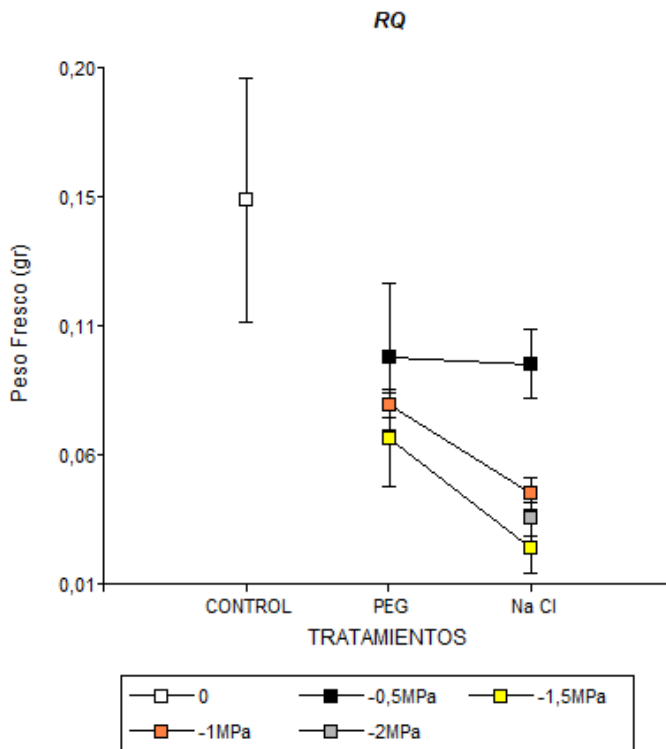


Gráfico 12. Peso fresco en gramos para el ecotipo RQ en los distintos tratamientos aplicados y sus potenciales osmóticos. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

La **longitud de plántula y longitud de radícula** fueron significativas para los ecotipos y los tratamientos (Tabla 2). Dentro de los ecotipos evaluados Amarilla de Maranganí mostró valores más elevados en ambas variables con respecto a RQ. El tratamiento control presento los valores más altos tanto para la longitud de plántula como de radícula (Gráfico 13). La interacción entre los ecotipos y tratamientos fue significativa solo para la variable longitud de plántula. Dicha variable para el ecotipo Amarilla de Maranganí la longitud de plántula fue mayor para el tratamiento control seguido de estrés salino. Por el contrario, para el ecotipo RQ esta misma variable presento valores altos para el tratamiento control seguido de estrés hídrico (Gráfico 14).

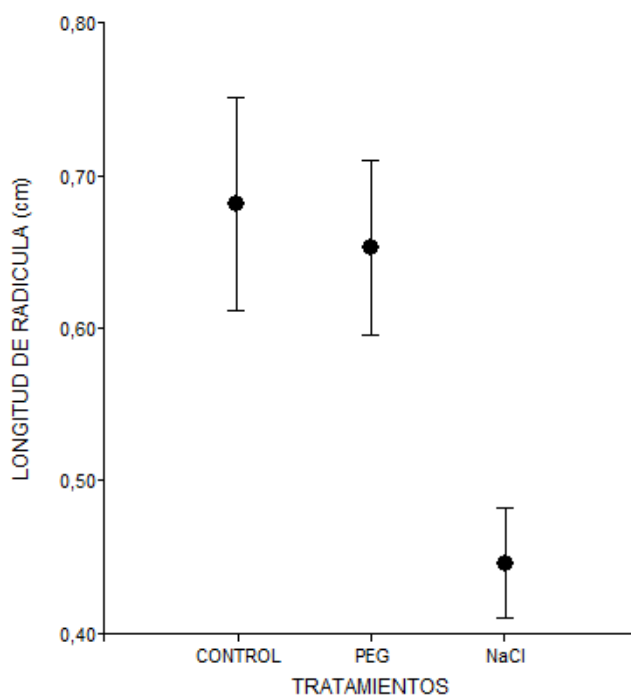


Gráfico 13. Valores medios obtenidos para longitud de radícula en centímetros para los tratamientos aplicados. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

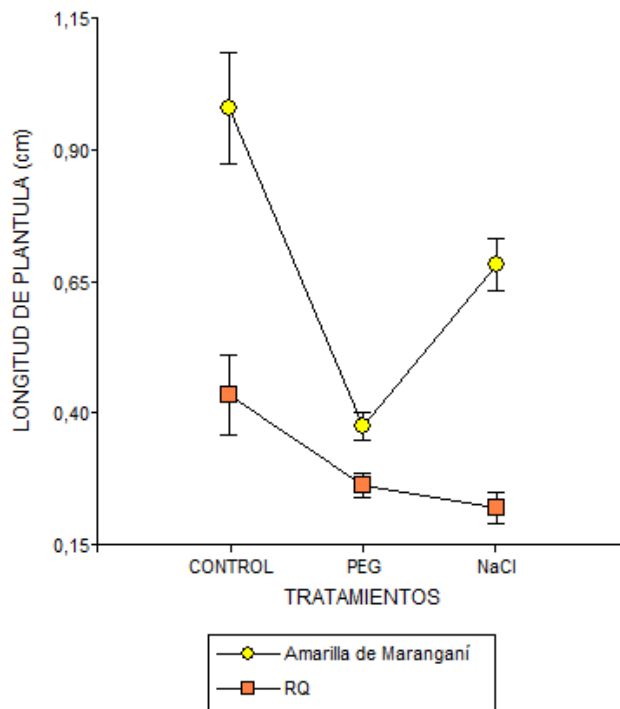


Gráfico 14. Valores medios obtenidos para longitud de radícula y plántula en centímetros para los ecotipos Amarilla de Marangani y RQ. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

Ensayos en laboratorio: acondicionamiento osmótico

Se evaluó la germinación de aquellas semillas acondicionadas osmóticamente con las soluciones de manitol y PEG con distintos potenciales osmóticos y un tiempo de exposición de 12 y 24 horas tanto para el ecotipo Amarilla de Marangani como para RQ. La variable **porcentaje de germinación** no se vio modificada por el tiempo de exposición (Tabla 3). Se obtuvieron resultados significativos para el acondicionamiento osmótico, en el cual el mayor porcentaje de germinación fue para manitol en el potencial osmótico -1MPa . El ecotipo obtuvo diferencias significativas siendo Amarilla de Marangani aquel ecotipo con mayor media de porcentaje de germinación con respecto a RQ. En la interacción significativa de los acondicionamientos osmóticos aplicados con el tiempo de exposición los valores más altos correspondieron al acondicionamiento osmótico con manitol en el potencial osmótico -1MPa con un tiempo de exposición de 12 horas (Gráfico 15). Otra interacción significativa fue entre los acondicionamientos osmóticos y los ecotipos. En dicha interacción el valor más alto de porcentaje de germinación para el ecotipo Amarilla de Marangani fue para el acondicionamiento osmótico con manitol

en el potencial -1MPa, mientras que el valor más alto para el ecotipo RQ se presentó para el acondicionamiento osmótico manitol en su potencial -0.5MPa (Gráfico 16).

Tabla 3. Valores de probabilidad obtenidos para los ecotipos Amarilla de Maranganí y RQ tratadas con acondicionamiento osmótico para las variables porcentaje de germinación, TMG, ERI, peso fresco de las plántulas, longitud de plántula y radícula.

Variables	Porc. de germ.	MTG	ERI	Peso Fresco (gr)	Long plant. (cm)	Long rad. (cm)
Acondicionamiento osmótico	0.0007	0.1102	0.0003	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Exposición	0.1664	0.8214	0.0888	0.0091	0.0013	<0.0001
Ecotipo	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0009	<0.0001	<0.0001
Acond* Expo	0.0325	0.1916	0.0499	0.0134	<0.0001	0.002
Acond *Ecotipo	0.0402	0.1715	0.0638	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Expo*Eco	0.0838	0.0958	0.2053	0.0052	0.0203	<0.0001
Acond *Expo*Eco	0.0792	0.1098	0.0216	0.8662	0.1067	0.0006

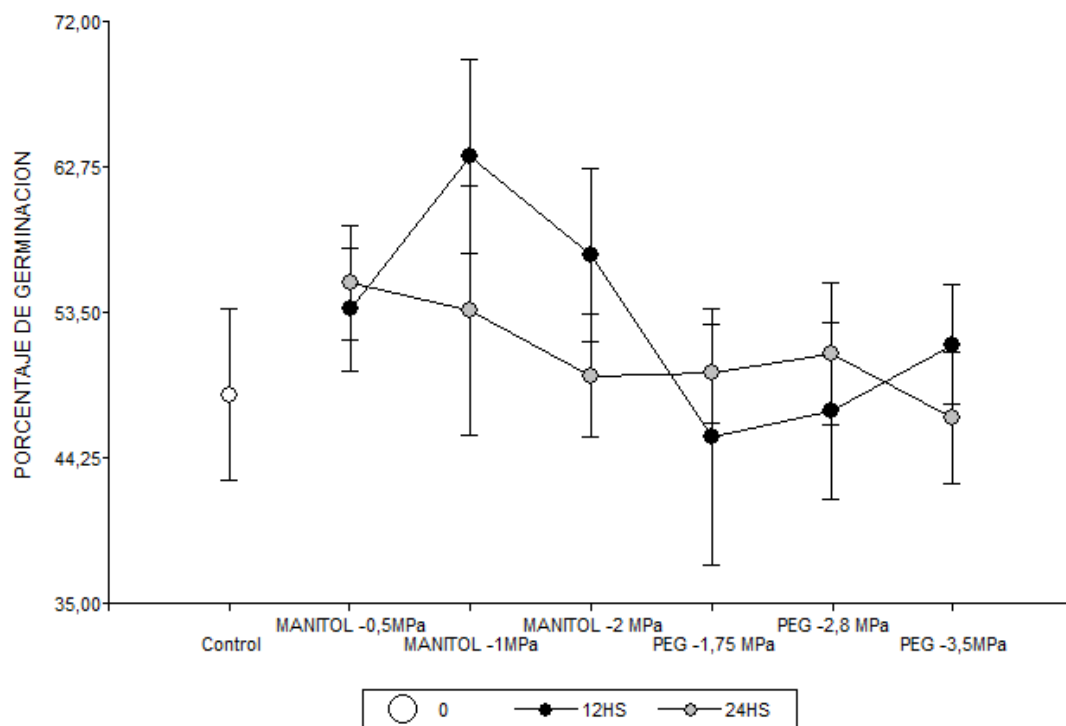


Gráfico 15. Porcentaje de germinación resultante de la interacción entre los distintos acondicionamientos osmóticos y los tiempos de exposición empleados. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

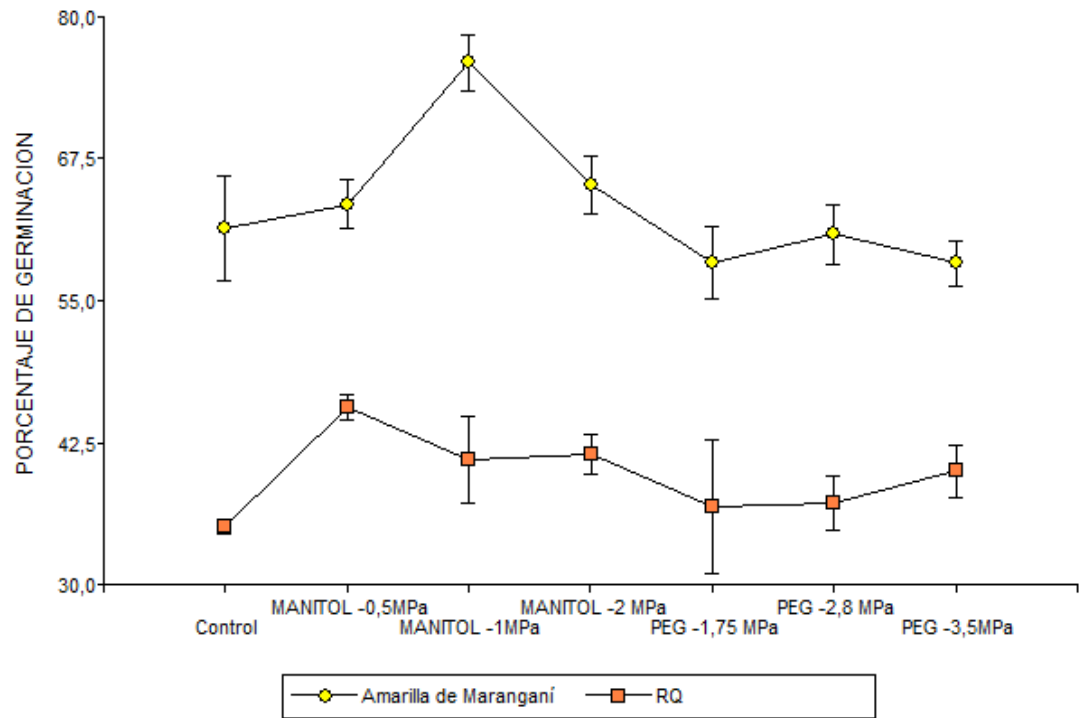


Gráfico 16. Porcentaje de germinación resultante de la interacción entre los distintos acondicionamientos osmóticos y ecotipos evaluados. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

Con respecto a la variable **MTG** no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados de acondicionamiento osmótico (PEG y Manitol), el tiempo de exposición como así tampoco para la interacción entre estos factores (Tabla 3). Solo para la variable ecotipo se encontraron diferencias significativas. El ecotipo Amarilla de Marangani presentó un valor más elevado de MTG con respecto a RQ.

El índice de velocidad de emergencia, **ERI**, fue significativo para los acondicionamientos osmóticos aplicados y para los ecotipos evaluados (Tabla 3). El ecotipo RQ presentó un valor de ERI menor en comparación a Amarilla de Marangani. El acondicionamiento osmótico manitol -1MPa obtuvo un valor máximo de ERI (4.01), mientras que el valor mínimo obtenido perteneció a aquellas semillas no acondicionadas (3.12). La interacción entre acondicionamiento osmótico y tiempo de exposición fue significativa resultando el valor más alto de ERI para las semillas acondicionadas osmóticamente con manitol con el potencial -1MPa expuestas durante 12 horas. También fue significativa la triple interacción entre los acondicionamientos osmóticos, los ecotipos evaluados y los tiempos de exposición. Dicha interacción presentó los valores más altos de ERI, tanto en RQ como en

Amarilla de Maranganí, en aquellas semillas acondicionadas con manitol en el potencial -1MPa durante un tiempo de exposición de 12 horas (Gráfico 17 y 18).

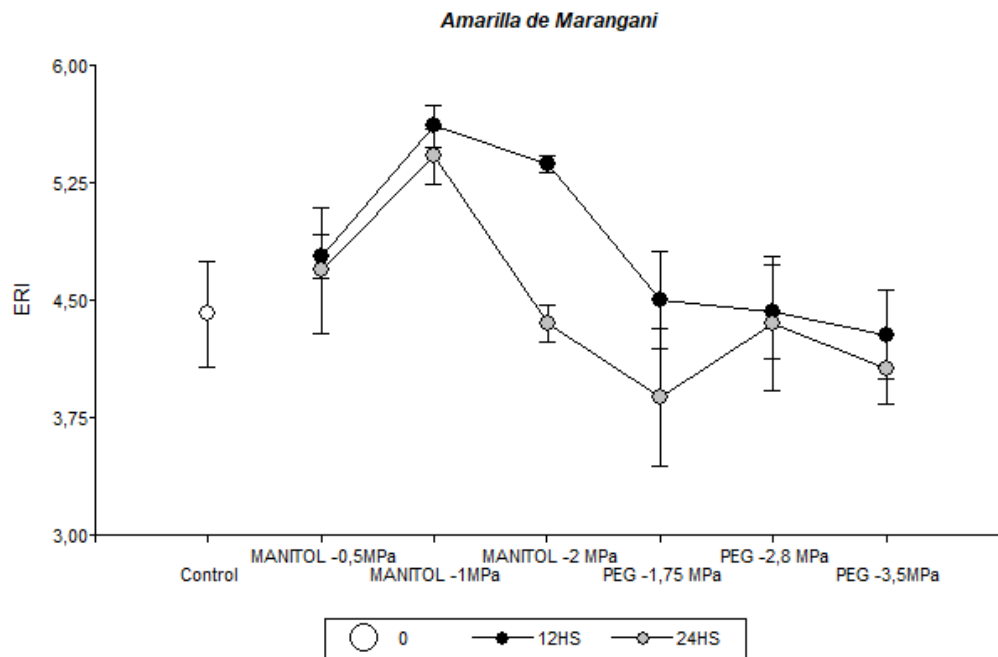


Gráfico 17. Índice de velocidad de emergencia (ERI) del ecotipo Amarilla de Maranganí resultante de la interacción entre los acondicionamientos osmóticos y los tiempos de exposición. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

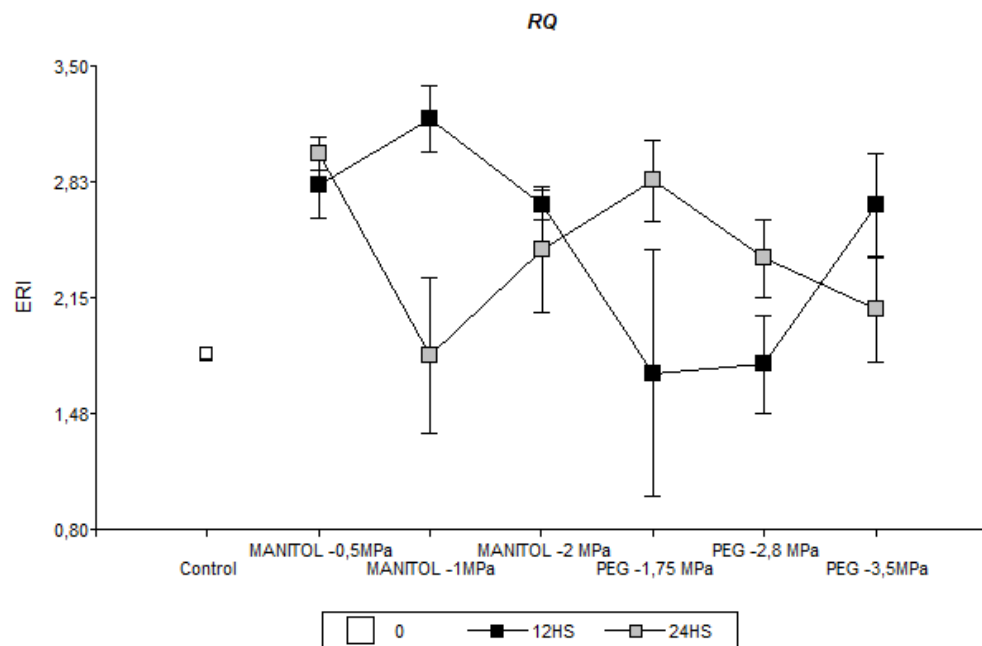


Gráfico 18. Índice de velocidad de emergencia (ERI) del ecotipo RQ resultante de la interacción entre los acondicionamientos osmóticos y los tiempos de exposición. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

El **peso fresco** obtenido de aquellas semillas acondicionadas osmóticamente fue significativo para todas las variables y sus distintas interacciones posibles, únicamente la triple interacción entre acondicionamiento osmótico, tiempo de exposición y ecotipo no fue significativa (Tabla 3). El ecotipo Amarilla de Marangani obtuvo un peso fresco mayor en comparación con RQ. Las semillas con los tiempos de exposición 12 y 24 horas tuvieron un peso fresco mayor con respecto a aquellas semillas no acondicionadas. Las semillas sin acondicionar presentaron el valor más bajo de peso fresco, mientras que aquellas semillas acondicionadas con PEG en el potencial -3.5MPa obtuvieron el valor más elevado de peso fresco. Dentro de los acondicionamientos osmóticos la solución PEG en su potencial -3.5MPa y un tiempo de exposición de 12 horas presentó un valor medio alto. De la interacción entre los ecotipos evaluados y los acondicionamientos osmóticos resultó que para RQ el peso fresco más alto fue para PEG -3.5MPa, mientras que para Amarilla de Marangani esto sucedió para el acondicionamiento osmótico realizado con manitol en el potencial -1MP. En ambos ecotipos aquellas semillas sin acondicionar presentaron los pesos frescos más bajos (Gráfico 19 y 20).

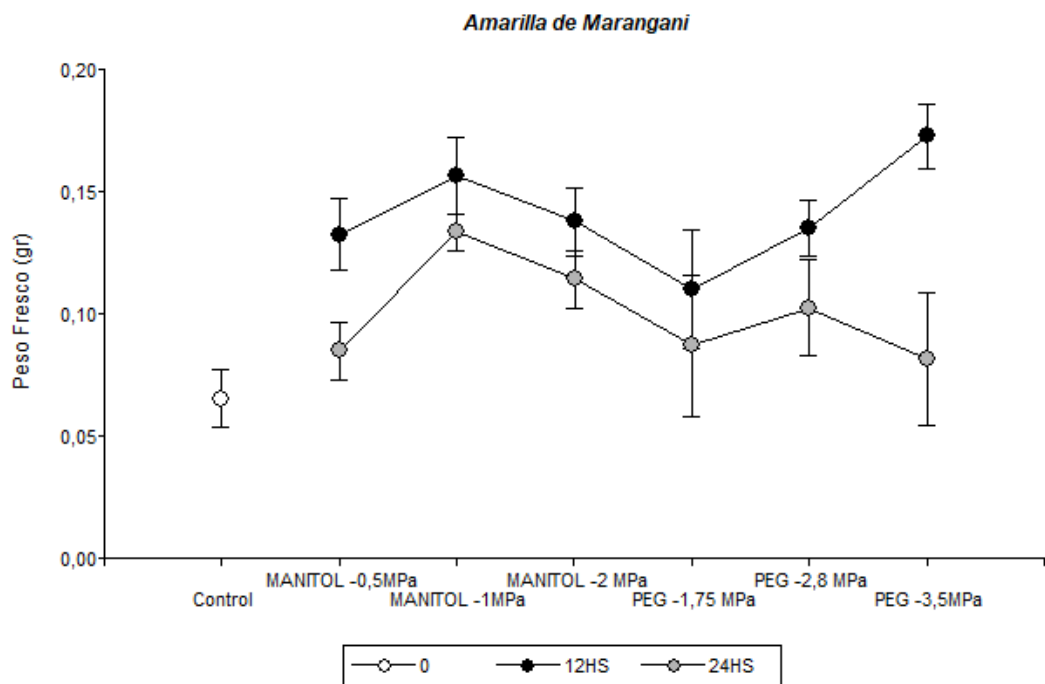


Gráfico 19. Valores medios de peso fresco en gramos correspondiente a los diferentes acondicionamientos osmóticos. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

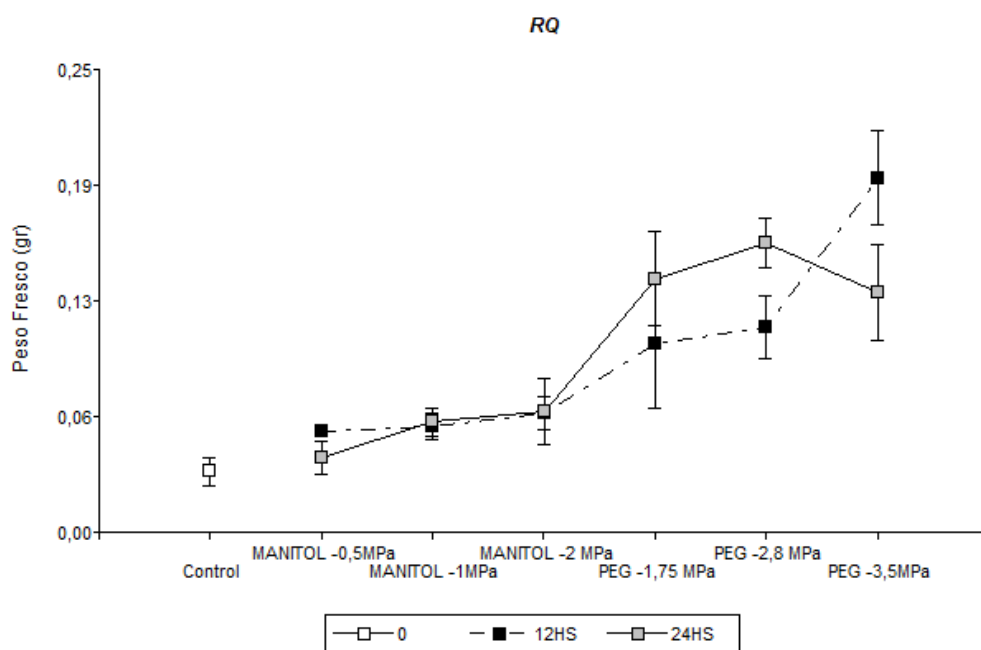


Gráfico 20. Valores medios de peso fresco en gramos correspondiente a los diferentes acondicionamientos osmóticos. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

Las variables **longitud de plántula y radícula** fueron significativas para el acondicionamiento osmótico, los ecotipos y el tiempo de exposición (Tabla 3). El ecotipo Amarilla de Marangani presentó los valores más altos de ambas longitudes con respecto a RQ. En cuanto al tiempo de exposición la **longitud de plántula** fue mayor para las semillas sin acondicionar, pero para la **longitud de radícula** la media más alta fue para el tiempo de 12 horas. La **longitud de plántula** fue mayor en las semillas sin acondicionar, mientras que en la **longitud de radícula** el valor más alto fue para el acondicionamiento osmótico manitol con el potencial -1MPa.

Las interacciones entre acondicionamientos osmóticos y ecotipos, acondicionamientos osmóticos y tiempo de exposición, ecotipos y tiempo de exposición fueron todas significativas para la longitud de plántula (Tabla 3). Los valores de **longitud de plántula** en el ecotipo RQ variaron entre 0.36 y 0.5 cm sin haber diferencia en los distintos acondicionamientos osmóticos aplicados. En Amarilla de Marangani la longitud de plántula fue mayor para las semillas sin acondicionar, seguido por el tratamiento manitol -1 MPa (Gráfico 21). La interacción entre tiempo de exposición y acondicionamiento osmótico muestra que las semillas sin acondicionar presentaron el valor más alto de longitud de plántula. Seguidamente

los valores más altos fueron para manitol -1 MPa tanto para 12 como para 24 horas de exposición (Gráfico 22).

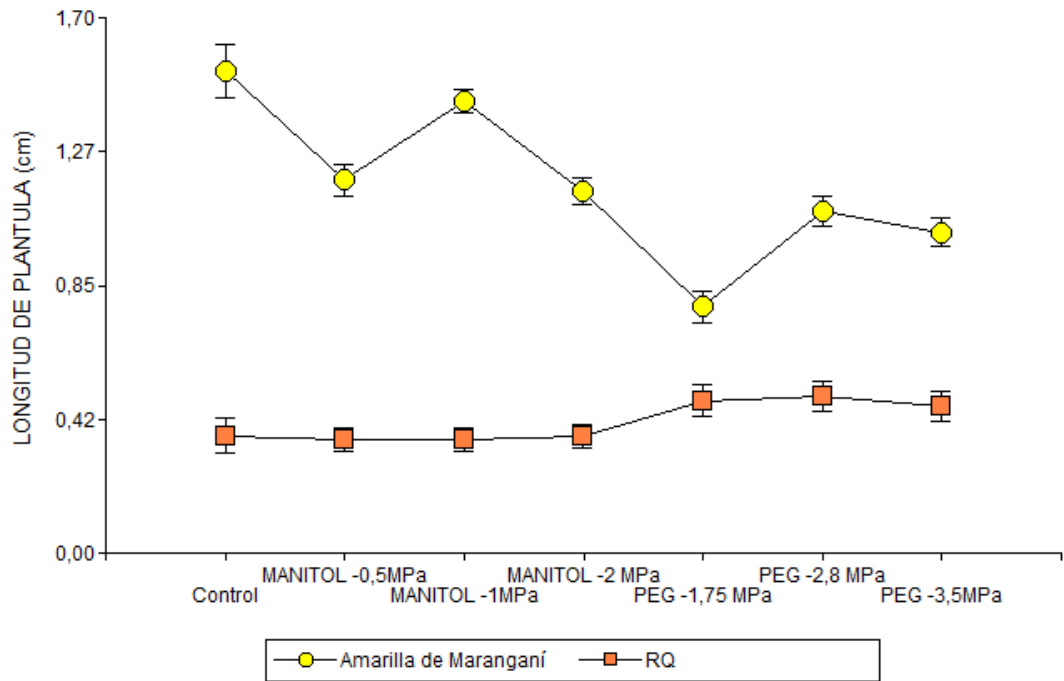


Gráfico 21. Valores medios de longitud de plántula en centímetros correspondiente a los diferentes acondicionamientos osmóticos y los ecotipos evaluados. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

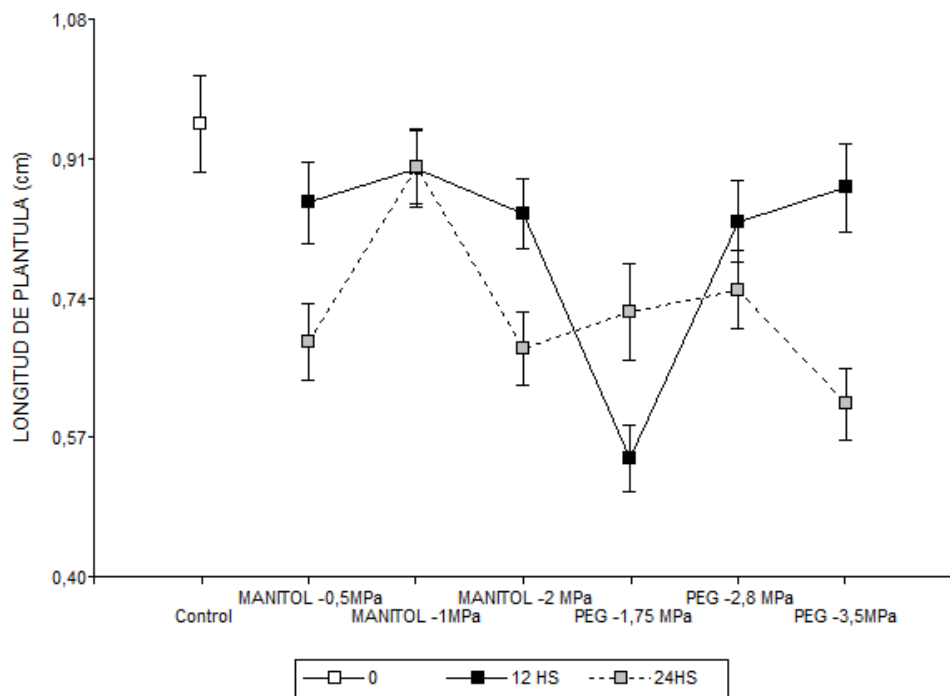


Gráfico 22. Valores medios de longitud de plántula en centímetros correspondiente a los diferentes acondicionamientos osmóticos y los ecotipos evaluados. Barras verticales sobre los puntos de colores indican error estándar.

La interacción entre el **tiempo de exposición y los ecotipos** fue significativa. En el caso del ecotipo RQ las longitudes de radícula como de plántula no registraron diferencia alguna. Por lo contrario, para el ecotipo de Amarilla de Maranganí si se registraron diferencias significativas, siendo las mayores **longitudes de plántula** en el tiempo de exposición 0, es decir aquellas semillas sin acondicionar, mientras que para este mismo ecotipo las mayores **longitudes de radícula** fueron para el tiempo de exposición 12 horas.

La interacción entre los acondicionamientos osmóticos y los ecotipos, para la variable **longitud de radícula** muestra que en el ecotipo RQ no existieron diferencias. Los valores de dicho ecotipo para la longitud de radícula variaron entre 0.3 y 0.52 cm. En el ecotipo Amarilla de Maranganí el acondicionamiento osmótico con mayor longitud de radícula fue para manitol en el potencial -1MPa. En cuanto a la interacción entre los acondicionamientos osmóticos, los ecotipos y los tiempos de exposición esta fue significativa (Tabla 3). El ecotipo RQ presentó el valor más alto para el acondicionamiento osmótico con PEG con el potencial -2.8MPa cuando las semillas fueron expuestas durante 12 horas (Gráfico 23). Para el ecotipo Amarilla de Maranganí el valor más elevado de longitud de radícula fue para el acondicionamiento osmótico con manitol en el potencial -1MPa con un tiempo de exposición de 12 horas (Gráfico 24).

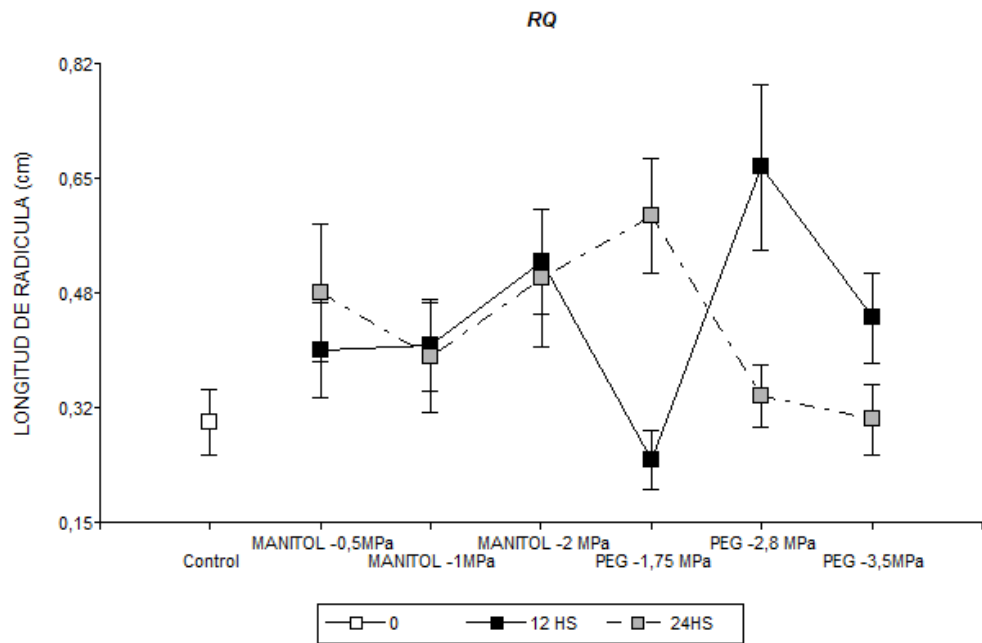


Gráfico 23. Valores medios de longitud de radícula en centímetros correspondiente al ecotipo RQ en los diferentes acondicionamientos osmóticos y los tiempos de exposición. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

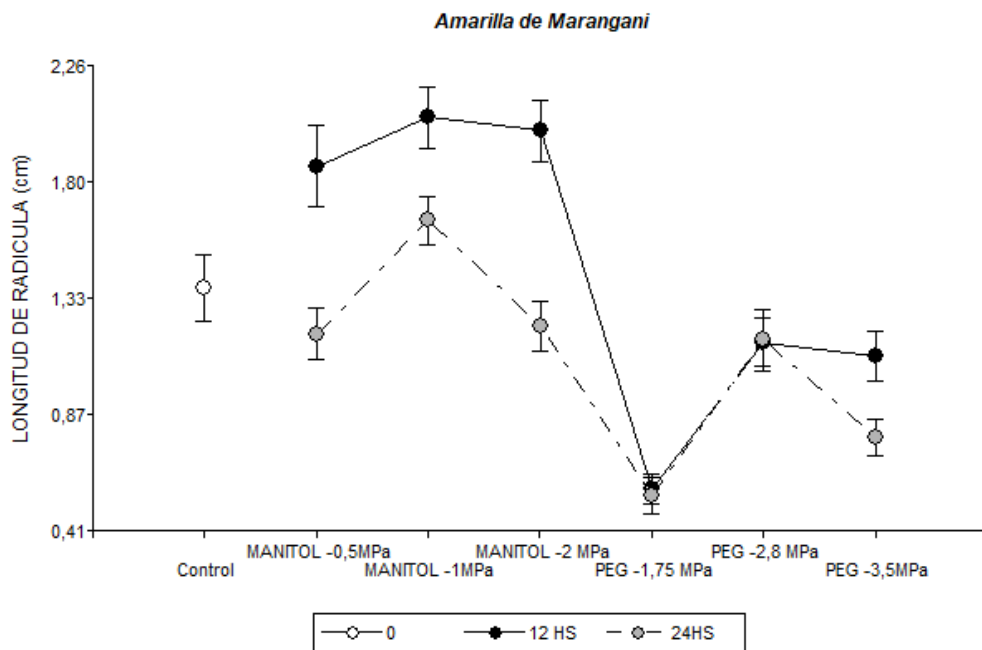


Gráfico 24. Valores medios de longitud de radícula en centímetros correspondiente al ecotipo Amarilla de Marangani en los diferentes acondicionamientos osmóticos y los tiempos de exposición. Barras verticales sobre las barras de colores indican error estándar.

Ensayos en laboratorio: tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente.

Las semillas de quinua acondicionadas osmóticamente y luego sembradas en condiciones de estrés salino fueron comparadas con aquellas semillas sin acondicionar osmóticamente. El ecotipo Amarilla de Maranganí tomó valores más altos en todas las variables en comparación con RQ. Se puede observar que aquellas semillas del ecotipo Amarilla de Maranganí acondicionadas osmóticamente y bajo tratamiento control presentaron un valor más elevado de porcentaje de germinación, ERI como así también de peso fresco en comparación al resto de los tratamientos. Por el contrario, el MTG obtuvo valores altos para las semillas acondicionadas osmóticamente sometidas a 400mM de NaCl en comparación con el resto de los tratamientos evaluados. En cuanto a las variables longitud de plántula y radícula dicho ecotipo obtuvo un valor más alto en las semillas sin acondicionar osmóticamente y bajo el tratamiento control (Tabla 4).

Con respecto a las semillas del ecotipo RQ, aquellas acondicionadas osmóticamente tratadas con agua destilada presentaron los valores más altos para las variables porcentaje de germinación (40,34), ERI (0,55), peso fresco (0,097 gr), longitud de plántula (0,42 cm) y radícula (0,44 cm) en comparación con el resto de los tratamientos (Tabla 4). En el MTG para dicho ecotipo el valor mas alto fue para las semillas sin acondicionamiento osmótico bajo el tratamiento 400 mM de NaCl.

Tabla 4. Valores medios de los ecotipos Amarilla de Maranganí y RQ de las diferentes variables analizadas comparando semillas acondicionadas osmóticamente con aquellas sin acondicionar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) según test de Tukey.

Ecotipo	Acond. osmótico	Tratamientos	Porc. germ	MTG	ERI	Peso Fresco (gr)	Long plant. (cm)	Long rad. (cm)
Amarilla de Maranganí	Sin acond.	400mM NaCl	53.25a	0.98a	3.42ab	0.072a	0.71b	0.44a
		Control	61.42a	0.91a	4.41bc	0.065a	1.53d	1.37b
	Acond.	400mM NaCl	51.88a	1.06a	3.31a	0.081ab	0.33a	0.38a
		Control	63.69a	0.89a	4.64c	0.121b	1.11c	1.27b
RQ	Sin acond.	400mM NaCl	36.14ab	0.67a	1.81b	0.016a	0.19ab	0.11a
		Control	35.05ab	0.49a	1.82b	0.033ab	0.37bc	0.3ab
	Acond.	400mM NaCl	25.94a	0.45a	0.92a	0.066ab	0.1a	0.12a
		Control	40.34b	0.55a	2.44b	0.097b	0.42c	0.44b

Las semillas acondicionadas osmóticamente fueron sometidas a un nivel más concentrado de salinidad (500mM de NaCl) que en el primer ensayo donde se evaluó estrés salino en semillas sin acondicionar. Estas semillas acondicionadas osmóticamente bajo 500mM de NaCl presentaron valores muy bajos de porcentaje de germinación (menor al 30%) y aquellas semillas que si germinaron generaron una biomasa despreciable.

Ensayos de germinación con sustrato estéril

La germinación de semillas en perlita como sustrato disminuyó en ambos ecotipos en comparación con el ensayo anterior llevado a cabo en cajas de Petri. El ecotipo que presentó mayores valores en todas las variables tomadas fue Amarilla de Maranganí. Para dicho ecotipo el tratamiento control presentó una media más alta de porcentaje de germinación (63.23) a diferencia de 400mM de NaCl (54.35) (Tabla 5). Lo mismo sucedió con los tratamientos para el ecotipo RQ, el tratamiento control presentó un porcentaje de germinación medio más alto de 29.92 y para el tratamiento 400mM de NaCl este valor fue 18.7. En cuanto al peso fresco de las plántulas no hubo diferencias significativas para los tratamientos en RQ.

Tabla 5. Valores medios de los tratamientos aplicados para las semillas acondicionadas osmóticamente en los ecotipos Amarilla de Maranganí y RQ de las diferentes variables analizadas en sustrato estéril. Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) según test de Tukey.

Ecotipo	Acond. osmótico	Tratamientos	Porc. germ	Peso Fresco (gr)	Long plant. (cm)	Long rad. (cm)	N° de raíces secundarias
Amarilla de Maranganí	MANITOL -0.5MPa 12 hs	400mM NaCl	63.23a	0.21a	0.5a	0.64a	0.08a
		Control	54.35a	0.22a	1.01b	1.68b	0.57b
RQ	MANITOL - 2MPa	400mM NaCl	18.7a	0.03a	0.03a	0.08	0a
		Control	29.92a	0.07a	0.31b	0.46	0a

El número de raíces secundarias en el ecotipo Amarilla de Maranganí para el tratamiento control tuvo una media de 0.57. Para RQ esta variable no fue significativa ya que no se presentaron raíces secundarias en dicho ecotipo analizado.

Las longitudes de plántula y radícula medidas se vieron afectadas negativamente bajo estrés salino. En el tratamiento control se encontraron los valores medios más elevados para ambas variables, tanto en RQ como en Amarilla de Maranganí. Se observó un mayor desarrollo de la radícula en comparación con el de la plántula para los dos ecotipos tanto para el tratamiento control como para el tratamiento 400 mM de NaCl .

No se obtuvieron resultados representativos para aquellas semillas acondicionadas osmóticamente que se sembraron en sustrato mixto, es decir perlita y arena lavada.

DISCUSIÓN

Ensayos en laboratorio: evaluación de estrés salino

Las semillas de quinua de los ecotipos Amarilla de Maranganí y RQ evaluados sometidas a estrés salino en el presente trabajo aumentaron su germinación en presencia de los tratamientos con baja concentración salina con respecto al tratamiento control. Mientras que Amarilla de Maranganí presentó un alto porcentaje de germinación para el tratamiento 100mM de NaCl, el ecotipo RQ obtuvo mayor porcentaje de germinación en los tratamientos 200 y 300mM de NaCl. El tratamiento 400mM de NaCl en ambos ecotipos presentó una disminución del porcentaje de germinación afectando negativamente los altos niveles de salinidad. Ruiz-Carrasco et al., (2011) evaluaron la germinación de 4 genotipos de quinua y se presentó una reducción significativa del porcentaje de germinación solo el nivel más alto de salinidad evaluado (300 mM de NaCl). Hariadi et al., (2011) observó en quinua una inhibición en la germinación en las altas concentraciones de salinidad, mayores a 400 mM de NaCl. Jacobsen et al., (1996) observaron un porcentaje de germinación mayor para los tratamientos con baja salinidad (100mM de NaCl) con respecto al tratamiento control. Esto último se refleja en el presente indicando un estímulo a la germinación a bajas concentraciones de sal en el medio. Se puede afirmar que existe cierta tolerancia a la salinidad por parte de los dos ecotipos evaluados. Sin embargo, para el tratamiento 400mM NaCl existió una disminución del porcentaje coincidiendo con el estudio de Jacobsen et al., (1996).

En los ensayos de salinidad se observó un aumento de la longitud de plántula y radícula en ambos ecotipos en aquellos tratamientos con salinidad. Esto concuerda con Gómez-Pando et al., (2010) al encontrar ecotipos de quinua más tolerantes e incluso que aumentaron la longitud de sus plántulas por el efecto de la salinidad demostrando la naturaleza de la especie, una planta halófila. En Chilo et al., (2009) observaron que en dos variedades de quinua (Cica y Real) el crecimiento de las plántulas fue afectado negativamente por elevadas concentraciones salinas (300 y 400mM de NaCl).

Ensayos en laboratorio: evaluación de la tolerancia al estrés salino e hídrico

El porcentaje de germinación para las semillas de RQ y Amarilla de Maranganí fue menor para aquellas bajo estrés salino en comparación al estrés hídrico evaluado. Se observó un mayor porcentaje para el tratamiento de PEG -0.5MPa, por lo que se infiere que las semillas de ambos ecotipos son mayormente afectadas negativamente por estrés salino. Esto coincide con Hariadi et al., (2011), donde la germinación de semillas de quinua fue de $24 \pm 1.5\%$ para la concentración más alta de NaCl (500mM), mientras que para el tratamiento de PEG con mayor concentración (0.9 Osm) la germinación fue de $60 \pm 2\%$. Estudios realizados por Katembe et al., (1998) en semillas de *Atriplex prostrata* (syn *A. triangularis*) y *Atriplex patula*, especies pertenecientes a la misma familia que la quinua, demostraron que la inhibición de la germinación en estrés salino fue mayor que la que se produjo en soluciones de estrés hídrico. Por esta razón sugieren que la influencia del NaCl es una combinación de un efecto osmótico y un efecto de ion específico.

El largo de la radícula aumentó para los tratamientos con los potenciales osmóticos -0.5 y -1MPa, tanto para PEG como para NaCl, en ambos ecotipos en comparación con el resto de los potenciales osmóticos (-1.5 y -2MPa). En el trabajo de Katembe et al., (1998) muestran que los potenciales altos de NaCl y PEG (-0.25 MPa) no inhibieron el crecimiento de las raíces de *Atriplex prostrata* y *Atriplex patula*, con respecto al tratamiento control. Con un potencial de -1MPa de estrés salino e hídrico disminuyó la longitud de la raíz, siendo afectadas por estrés salino mayormente.

Las semillas de quinua tratadas presentaron un leve aumento de la longitud de las plántulas para los potenciales más altos (-0.5 y -1MPa), pero luego la longitud descendió siendo afectada por bajos potenciales de estrés salino e hídrico (-1.5 y -2MPa). La reducción de la longitud de las plántulas fue mayor bajo estrés hídrico que con estrés salino. En el trabajo de Martínez et al, (2005) las semillas de *Atriplex halimus* presentaron un aumento del crecimiento en niveles bajos (50mM) de estrés salino en comparación a estrés hídrico inducido con PEG.

La reducción del peso fresco de todas las plántulas en ambos ecotipos para los tratamientos de estrés salino e hídrico con respecto al control, indica una baja absorción de agua por parte de las semillas debido a que se encuentran sometidas a

estrés iónico y osmótico. Sin embargo, el peso fresco fue mayormente afectado por el estrés hídrico en los potenciales osmóticos aplicados. El ecotipo RQ demostró ser más susceptible al estrés salino ya que se produjo una disminución marcada en cuanto al peso fresco en los tratamientos de estrés salino en los distintos potenciales osmóticos. El trabajo de Okçu et al., (2005) con *Pisum sativum* manifiesta que a medida que disminuye el potencial osmótico en ambas soluciones, se produce una disminución en el peso fresco. También encontraron diferencia entre los distintos cultivares de arveja evaluados.

El estrés hídrico provocó un aumento de producción de biomasa en las semillas de quinua de los ecotipos evaluados. Las semillas bajo estrés salino no se comportaron de la misma forma ya que el peso fresco obtenido en este tratamiento bajo ningún potencial superó el control.

La dificultad que representa para la semilla el ingreso de agua del medio circundante se traduce en un mayor tiempo requerido para la reorganización de las membranas, y para el desarrollo de los procesos metabólicos (Bazile et al., 2014). Debido a esto último, el índice de velocidad de emergencia medido para las semillas sometidas a estrés con PEG y NaCl en ningún caso fue mayor que el control. En el trabajo de Ruiz y Parera (2013) sometieron semillas de *Atriplex nummularia*, otra especie de la misma familia de la quinua, a condiciones de estrés salino. En este trabajo el ERI también cayó a medida que se incrementó la concentración de la solución. En los potenciales osmóticos -0,5 y -1 MPa las semillas que fueron regadas en las soluciones de PEG presentaron valores de velocidad de germinación superiores a las semillas germinadas en soluciones de NaCl. Los resultados planteados en dicho trabajo coinciden con los resultados obtenidos en el presente trabajo con respecto a la variable ERI. Ambas halófitas de la misma familia presentan una respuesta similar frente al estrés hídrico y salino.

Ensayos en laboratorio: acondicionamiento osmótico

Se han utilizado diferentes técnicas de acondicionamiento osmótico para mejorar la tolerancia a la salinidad en varias especies y varias soluciones químicas han demostrado ser efectivas. Por lo tanto, no se definen claramente métodos

estándares para tratar las semillas (Moreno et al., 2017). Por ejemplo, el acondicionamiento osmótico de semillas con glicina betaína dio como resultado una mayor germinación y aumentó el crecimiento de plántulas de césped bajo salinidad (Zhang y Rue, 2012), mientras que el acondicionamiento osmótico en semillas de pimiento *Capsicum annuum* con NaCl fue el tratamiento más efectivo para mejorar el rendimiento de las semillas en condiciones normales, así como en condiciones salinas.

Al comparar los dos acondicionamientos osmóticos evaluados, es decir manitol y PEG, con las semillas no acondicionadas resultó que el porcentaje de germinación en ambos ecotipos fue mayor cuando se aplicó algún acondicionamiento osmótico. En el caso de Amarilla de Maranganí el acondicionamiento osmótico con manitol presentó mayor porcentaje de germinación que el control. Para el ecotipo RQ todos los acondicionamientos osmóticos obtuvieron un porcentaje de germinación más alto que el control. Moreno et al., (2017) trabajaron con semillas de *Chenopodium quinoa* y *Amaranthus caudatus*. Sus resultados sugirieron que el acondicionamiento osmótico con PEG tiene una mejora en la germinación en comparación con las semillas sin acondicionar, en ambas especies trabajadas. Sin embargo, para *C. quinoa*, se obtuvo una mejora cuando las semillas se acondicionaron osmóticamente con los potenciales osmóticos cercanos a 0 usados en el trabajo de Moreno, o incluso solo con agua (*hydropriming*). En el trabajo de Roopa et al., (2009) donde sometieron semillas de *Pennisetum glaucum* a distintos acondicionamientos osmóticos, observaron que las semillas preparadas con 1% de manitol expuestas durante 3 h mostraron el mayor porcentaje de germinación (99%) seguido de PEG (97%) y glicerol (95%).

El peso fresco para las semillas del ecotipo RQ fue mayor para aquellas que fueron acondicionadas osmóticamente con PEG con un potencial de -3.5MPa. Para Amarilla de Maranganí el peso fresco más alto se presentó para el acondicionamiento osmótico manitol en el potencial -1MPa. En ambos ecotipos el peso fresco fue mayor en las semillas acondicionadas con respecto a las semillas sin acondicionar. En el trabajo de Roopa, et al., (2009) el peso fresco mejoró significativamente con el acondicionamiento osmótico manitol seguido de PEG y glicerol, con respecto a aquellas semillas sin acondicionar. En la tesis de Rahman

(2017) el peso fresco de las semillas de trigo fue mayor en aquellas acondicionadas osmóticamente con manitol al 2% durante 9 horas. En cuanto al tiempo de exposición en el presente trabajo fue mayor el peso fresco para las semillas expuestas durante 12 horas. Yari et al., (2010) el peso fresco máximo fue encontrado en las semillas de trigo expuestas a 24 horas.

Los valores de longitud de plántula y radícula en el ecotipo RQ no fueron significativos en los distintos acondicionamientos osmóticos aplicados. En Amarilla de Maranganí la longitud de plántula fue mayor para las semillas sin acondicionar. En el mismo ecotipo el acondicionamiento osmótico con mayor longitud de radícula fue para manitol en el potencial -1MPa. En el trabajo de Amooaghaie (2011) las longitudes de plántula y radícula fueron similares tanto en aquellas semillas acondicionadas osmóticamente como en las que no lo fueron. En Yari et al., (2010) las longitudes mayores de radícula y de plántula de triticales fueron encontradas para el acondicionamiento osmótico con PEG 10% y 20% respectivamente, en comparación con el resto de los acondicionamientos osmóticos (KCl 2 y 4%, KH₂PO₄ 0.5 y 1%) y las semillas sin acondicionar. Según Roopa, et al., (2009) la longitud máxima de plántula se registró en semillas de mijo perla acondicionadas osmóticamente con manitol.

Con respecto al tiempo de exposición, en el trabajo de Yari et al., (2010) se encontró que las longitudes máximas tanto de radícula como de plántula pertenecieron a las 24 horas de exposición. Esto no coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que la longitud de plántula fue mayor para las semillas sin acondicionar, pero para la longitud de radícula la media más alta fue para el tiempo de 12 horas.

Ensayos en laboratorio: tolerancia a la salinidad de semillas acondicionadas osmóticamente

Las semillas acondicionadas osmóticamente y regadas con distintas concentraciones de salinidad presentaron una disminución en los valores de las variables al aumentar dicha concentración en los tratamientos aplicados (salinidad) con respecto al tratamiento control para ambos ecotipos evaluados. Esto se observó también en el trabajo de Amooaghaie (2011) en dos ecotipos de alfalfa con semillas

acondicionadas osmóticamente, donde las variables porcentaje de germinación, longitud de radícula y plántula disminuyeron bajo una concentración de 150 mM de NaCl, con respecto al control. Amooaghaie (2011) también observó que el acondicionamiento osmótico mejoró el crecimiento de las plántulas y raíces en la alfalfa bajo tratamiento de salinidad con respecto a aquellas semillas no acondicionadas osmóticamente tratadas con salinidad. En el trabajo de Moreno et al., (2017) sugirieron que tanto *Atriplex caudatus* como *Chenopodium quinoa* el acondicionamiento osmótico con PEG tiene efectos positivos tanto para una baja como alta concentración de salinidad en ambas especies evaluadas.

El tiempo medio de germinación obtenido para RQ fue mayor para el tratamiento control, mientras que para Amarilla de Maranganí este valor fue mayor para el tratamiento 400mM de NaCl. En el trabajo de Moreno et al., (2017) el tiempo medio de germinación se redujo con el acondicionamiento osmótico realizado en las distintas concentraciones de salinidad. En dicho trabajo todos los parámetros de germinación se vieron afectados negativamente para aquellas semillas acondicionadas osmóticamente y regadas con concentraciones de 400, 500 y 600mM de NaCl.

Las longitudes de plántula y radícula fueron afectadas negativamente por las concentraciones de salinidad en las semillas acondicionadas osmóticamente. Esto también se ve reflejado en el trabajo de Amooaghaie (2011) en el cual las semillas de alfalfa acondicionadas y regadas con una solución de salinidad de 150mM disminuyeron la longitud de plántula y radícula con respecto al tratamiento control.

Los resultados presentados en Amooaghaie (2011) muestran que las semillas sometidas al acondicionamiento osmótico manifiestan una mejora en la germinación y vigor de estas, un mejoramiento en el crecimiento de raíz y plántula en alfalfa bajo estrés salino. Kaya et al., (2006) reportaron que el acondicionamiento osmótico en semillas de girasol mejora la longitud de la radícula bajo estrés hídrico o salino cuando se las compara con aquellas semillas no acondicionadas. Esto puede estar relacionado con la rápida absorción de agua bajo la técnica de acondicionamiento osmótico en comparación con las semillas que no han sido acondicionadas osmóticamente (Amooaghaie, 2011).

Ensayos de germinación con sustrato estéril

El porcentaje de germinación y las longitudes de radícula y plántulas medidas en sustrato estéril disminuyeron con respecto a aquellas obtenidas en la siembra en cajas de Petri, tanto en el ecotipo Amarilla de Maranganí como en RQ. Sin embargo, se pudo apreciar una disminución en los valores de las variables bajo el tratamiento de salinidad. Manaa et al., (2019) observaron que no existe un efecto aparente de la salinidad moderada (NaCl 100 mM) en el crecimiento de la planta de quinua. También observaron que a pesar de la disminución de la producción de biomasa detectada como respuesta un nivel alto de salinidad (NaCl 300 mM), esta especie pudo sobrevivir sin ningún síntoma de toxicidad. Según el trabajo de Rezzouk et al., (2020), donde sometieron distintas accesiones de quinua a estrés salino en sustrato, el riego con agua salina disminuyó significativamente el rendimiento de semilla, la biomasa y la longitud de la planta, entre otras variables evaluadas. La salinidad redujo el rendimiento de semilla en aproximadamente un 27% y el resto de las características en menos del 20%. Una situación similar observaron Hussain et al., (2018) al someter distintos genotipos de quinua a estrés salino en suelo con fertilizante. Tanto la biomasa de las plántulas como su longitud se vieron afectas significativamente bajo los dos niveles de estrés salino. Este efecto se observó de forma diferencial entre los genotipos analizados en dicho trabajo, dejando en evidencia los distintos niveles de tolerancia a la salinidad que presenta la especie dentro de los diversos genotipos existentes.

CONCLUSIONES

Conforme a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir con respecto a los ecotipos de *Chenopodium quinoa* evaluados, que:

- La germinación bajo estrés salino fue diferencial para los dos ecotipos evaluados. El ecotipo RQ presentó valores menores en todas las variables evaluadas (porcentaje de germinación, MTG, ERI, peso fresco, longitud de plántula y radícula) con respecto a Amarilla de Maranganí.
- Existe un comportamiento distinto entre los ecotipos evaluados con respecto a la tolerancia a la salinidad.
- El ecotipo RQ evaluado presentó el mayor porcentaje de germinación (40%) en las concentraciones salinas de 200 y 300mM. Las semillas del ecotipo Amarilla de Maranganí presentaron un porcentaje máximo de 68% para el tratamiento 100mM de salinidad.
- Ambos ecotipos manifestaron una baja tolerancia a la salinidad para la concentración 400mM de NaCl.
- Tanto Amarilla de Maranganí como RQ son afectados en mayor grado por el estrés salino. Las variables evaluadas presentaron valores más altos cuando se aplicaron los potenciales osmóticos -0.5 y -1MPa, tanto en estrés salino como en estrés hídrico.
- Según los resultados obtenidos en el ensayo de germinación de acondicionamiento osmótico, se puede confirmar parcialmente la hipótesis planteada, ya que hubo una respuesta positiva de las semillas en cuanto al tratamiento de acondicionamiento osmótico, pero este resultado no se pudo confirmar en aquellas semillas acondicionadas osmóticamente bajo condiciones de alta salinidad.
- En ambos ecotipos la mayoría de las variables evaluadas tomaron valores mayores para las semillas acondicionadas osmóticamente con respecto a los resultados obtenidos en aquellas semillas no acondicionadas osmóticamente.
- Tanto en el ecotipo RQ como en Amarilla de Maranganí, los acondicionamientos osmóticos realizados en el tiempo de exposición de 12 horas obtuvieron los mejores resultados para las variables evaluadas.

- En cuanto al ecotipo Amarilla de Maranganí el acondicionamiento osmótico con la solución de manitol en el potencial -1MPa mejoraría la germinación y el crecimiento de las plántulas en este ecotipo.
- Para RQ las variables de germinación (porcentaje de germinación, MTG y ERI) fueron mayores cuando las semillas fueron acondicionadas osmóticamente con manitol en el potencial osmótico -0.5MPa . En cuanto a las variables de producción de biomasa (longitud de radícula, longitud de plántula y peso fresco) los valores mayores se obtuvieron con el acondicionamiento osmótico realizado con PEG en los distintos potenciales.
- De acuerdo con los resultados, el límite de tolerancia a la salinidad de ambos ecotipos está comprometido entre 400 y 500 mM en aquellas semillas acondicionadas osmóticamente.
- Existe un fuerte efecto negativo de la salinidad en las variables longitud de plántula y radícula en las semillas de quinua acondicionadas osmóticamente.
- Las semillas sembradas en perlita como sustrato estéril se vieron afectadas negativamente por las concentraciones de salinidad.

CONSIDERACIONES FINALES Y LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

A partir de los resultados obtenidos en la presente tesis, donde se observa una respuesta positiva de los ecotipos evaluados para el acondicionamiento osmótico aplicado con el osmolito manitol, se puede inferir que dicho pretratamiento sobre las semillas de quinua producirían un aumento de los valores de las variables evaluadas (porcentaje de germinación, ERI, MTG, longitud de plántula y radícula, peso fresco) cuando se realice la siembra en condiciones de campo en comparación con semillas no pretratadas. Esto permitiría los cultivos de quinua impactando directamente en la seguridad alimentaria que provee este pseudocereal ya mencionado en la sección Introducción.

De este trabajo realizado se desprenden algunas líneas futuras de investigación como:

- ✓ abordar con mayor detalle el acondicionamiento osmótico de las semillas de quinua.
- ✓ evaluar otros ecotipos de quinua y su respuesta frente a la salinidad como así también a los distintos acondicionamientos osmóticos posibles.
- ✓ realizar la siembra de semillas de quinua pretratadas con el osmolito manitol - 1MPa bajo condiciones de vivero permitiendo una mayor radiancia sobre las mismas.
- ✓ determinar las respuestas de las semillas acondicionadas osmóticamente comparado con aquellas sin acondicionar, sometiendo ambas a estrés salino en menor grado del evaluado en la esta tesis.
- ✓ la producción de plantines de quinua bajo estrés salino hasta su estado adulto para evaluar la producción de biomasa como también de semillas ya que estas se consideran un gran alimento nutricional.

BIBLIOGRAFÍA

Abraha, B., Yohannes, G. 2013. The role of seed priming in improving seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under salt stress at field conditions. *Agric. Sci.* Vol. 4. N° 12. Pág 666–672.

Adolf, V., Jacobsen, S., Shabala, S. 2013. Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Environmental and Experimental Botany*. Vol. 92. Pág 43– 54.

Amooaghaie, R. 2011. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10. N°33. Pág 6269-6275.

Bazile, D., Baudron, F. 2015. The dynamics of the global expansion of quinoa growing in view of its high biodiversity. In: Bazile, D., Bertero, H.D., Nieto, C. (Eds.) *State of the Art Report on Quinoa Around the World in 2013*. FAO and CIRAD, Rome. Pág. 42–55.

Bewley, J. D., y Black, M. 2013. *Seeds: physiology of development and germination*. Springer Science & Business Media.

Bioversity International, FAO, PROINPA, INIAF y FIDA. 2013. *Descriptores para quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y sus parientes silvestres*. Bioversity International, Roma, Italia; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia; Fundación PROINPA, La Paz, Bolivia; Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal, La Paz, Bolivia; Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola, Roma, Italia.

Bravo, M., Reyna R., y Huapaya H. 2013. Estudio químico y nutricional de granos andinos germinados de quinoa (*Chenopodium quinoa*) y kiwicha (*Amarantus caudatus*). *Revista peruana de química e ingeniería química*. Vol. 16. N° 1. Pág. 54-60.

Ceccato, D., Delatorre-Herrera, J., Burrieza, H., Bertero, D., Martínez, I., Moncada, S., Bazile, D., y Castellión, M. 2014. Fisiología de las semillas y respuesta a las condiciones de germinación. Capítulo Numero 2.2. IN: BAZILE D. et al. (Editores), “Estado del arte de la quinoa en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): Pág. 153-166.

Chilo, G., Vacca Molina, M., Carabajal, R., y Ochoa, M. 2009. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación y crecimiento de plántulas de dos variedades de *Chenopodium quinoa*. *Agriscientia* Vol. 26. N° 1. Pág. 15-22.

Delatorre-Herrera, J., y Pinto, M. 2009. Importance of ionic and osmotic components of salt stress on the germination of four quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) selections. *Chilean Journal of Agricultural Research*. Vol. 69. N° 4. Pág 477-485.

Di Rienzo J., Balzarini M., González L., Tablada M., Guzmán, W., Casanoves, F. y Robledo R. 2002. *Infostat/Estudiantil Versión 2.0*. Universidad Nacional de Córdoba Estadística y Diseño - Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Flowers, T.J. y Colmer, T.D. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*. Vol.179. Pág. 945-963.

Gandarillas Espezúa, D. y Nuñez Torreblanca, N. 2013. Rendimiento de forraje de dos variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Ciencia y Desarrollo*. N° 16. Pág. 34-40.

Ghiyasi, M., Seyahjani, A. A., Tajbakhsh, M., Amirnia, R., y Salehzadeh, H. 2008. Effect of osmopriming with polyethylene glycol (8000) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds under salt stress. *Research Journal of Biological Sciences*, Vol. 3. N° 10. Pág. 1249-1251.

Gomez-Pando, L.R., Alvarez-Castro, R., de la Barra, E. 2010. Effect of salt stress on Peruvian germplasm of *Chenopodium quinoa* Willd.: a promising crop. *Journal of Agronomy and Crop Science*. Vol. 196. N° 5. Pág 391–396.

Gonzalez, J. A., Prado, F. E. 2013. Quinoa: aspectos biológicos, propiedades nutricionales y otras consideraciones para su mejor aprovechamiento. *Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales*, Año 3 N° 5.

Hadas, A. 1976. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 27. N° 3. Pág. 480-489.

Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S. E., y Shabala, S. 2011. Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *Journal of experimental botany*. Vol. 62. N° 1. Pág. 185-193.

Hernández Rodríguez, J. 2015. La quinoa, una opción para la nutrición del paciente con diabetes mellitus. *Rev Cubana Endocrinol*. Vol. 26. N° 3. Pág. 304-312.

Hussain, M., Al-Dakheel, A., y Reigosa, M. 2018. Genotypic differences in agro-physiological, biochemical and isotopic responses to salinity stress in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants: Prospects for salinity tolerance and yield stability. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 129. Pág. 411-420.

Ibrahim E. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*. Vol. 192. Pág 38-46.

Jacobsen, S., Mujica, A., y Jensen, C. R. 2003. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. *Food Reviews International*. Vol. 19. N° 1-2. Pág. 99-109.

Jacobsen, S. E., Tidmand, K., y Stølen, O. 1997. Tolerancia de la quinua a la sal durante la germinación. En *9. Congreso Internacional de Cultivos Andinos: Oscar Blanco Galdos, 1997, Cusco*.

Katembe, W., Ungar, I. y Mitchell, J., 1998. Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (*Chenopodiaceae*). *Ann Bot.* Vol. 82. N° 2. Pág. 167-175.

Kaya M., Okcu G., Atak M., Cikili Y., y Kolsarici O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Eur. J. Agron.* Vol. 24. N° 4. Pág. 291-295.

Koyro, H.W. y Eisa, S.S. 2008. Effect of salinity on composition, viability and germination of seeds of *Chenopodium quinoa* Willd. *Plant and Soil.* Vol. 302. N° 1-2. Pág. 79-90.

Lavado, R. 2008. Visión sintética de la distribución y magnitud de los suelos afectados por salinidad en la Argentina. Pág. 11-16 en: Taleisnik, E; K Grunberg y G. Santa María (eds.). *La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria.* EDUCC (Editorial Universidad Católica de Córdoba), Córdoba. ISBN 978-987- 626-013-8.

Mäkinen, O., Hager, A. y Arendt, E. 2014. Localisation and development of proteolytic activities in quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds during germination and early seedling growth. *Journal of Cereal Science.* Vol. 60. N° 3. Pág. 484-489.

Manaa, A., Goussi, R., Derbali, W., Cantamessa, S., Abdelly, C., y Barbato, R. 2019. Salinity tolerance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) as assessed by chloroplast ultrastructure and photosynthetic performance. *Environmental and experimental botany.* Vol. 162. Pág. 103-114.

Martinez, J., Kinet, J. M., Bajji, M., y Lutts, S. 2005. NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L. *Journal of Experimental Botany.* Vol. 56. N° 419. Pág. 2421-2431.

Miladinov, J., Balešević-Tubić, S., Đorđević, V., Đukić, V., Ilić, A. y y Čobanović, L. 2015. Optimal time of soybean seed priming and primer effect under salt stress conditions. *Journal of Agricultural Sciences.* Vol. 60. N° 2. Pág. 109-117.

Moreno, C., Seal, C., y Papenbrock, J. 2017. Seed priming improves germination in saline conditions for *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus caudatus*. *Journal of agronomy and crop science.* Vol. 204. N° 1. Pág. 40-48.

Mujica, A. y Jacobsen, S. E. 2006. La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. En *Botánica Económica de los Andes Centrales.* Vol. 32. Pág. 449-457.

Navin, P., Pravin, P., y Kumar, T. 2014. Osmopriming of tomato genotypes with polyethylene glycol 6000 induces tolerance to salinity stress. 2014.

Nasri, N., Kaddour, R., Mahmoudi, H., Baatour, O., Bouraoui, N. y Lachaâl, M. 2011. The effect of osmopriming on germination, seedling growth and phosphatase activities of lettuce under saline condition. *Afr. J. Biotechnol.* Vol. 10. N° 65. Pág. 14366–14372.

- Naz, F., Gul, H., Hamayun, M., Sayyed, A., Khan, H. y Sherwani, S. 2014. Effect of NaCl stress on *P. sativum* germination and seedling growth with the influence of seed priming with potassium (KCL and KOH). *Am.-Eur. J. Agric. Environ. Sci.* Vol. 14. N° 11. Pág. 1304–1311.
- Okçu, G., Kaya, M. D., y Atak, M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish journal of agriculture and forestry*, Vol. 29. N° 4. Pág. 237-242.
- Paparella, S., Araújo, S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., y Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant cell reports*. Vol. 34. N° 8. Pág. 1281-1293.
- Parera, Carlos A. y Cantliffe, Daniel J. 1994. Presowing seed priming. *Horticultural reviews*. Vol. 16. N° 16. Pág. 109-141.
- Patanè, C., Cavallaro, V., y Cosentino, S. 2009. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. *Industrial Crops and Products*. Vol. 30. N° 1. Pág. 1-8.
- Pereira, E., Encina-Zelada, C., Barros, L., Gonzales, U., Cadavez, V. y Ferreira, I. 2019. Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food. *Food Chemistry*. Vol. 280. Pág. 110–114.
- Prado, F., Boero, C., Gallardo, M., González, J.A., 2000. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* willd seeds. *Bot. Bull. Acad. Sin.* Vol. 41. Pág. 27–34.
- Rezzouk, F., Shahid, M., Elouafi, I., Zhou, B., Araus, J., y Serret, M. D. 2020. Agronomic performance of irrigated quinoa in desert areas: Comparing different approaches for early assessment of salinity stress. *Agricultural Water Management*. Vol. 240. Pág. 106205.
- Roopa, K., Geetha, N., Sharathchandra, R., Pushpalatha, H., Sudisha, J., Amruthesh, K., Prakash, H. y Shetty, H. 2009. Osmopriming enhances pearl millet growth and induces downy mildew disease resistance. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. Vol. 42. N° 10. Pág. 979-987.
- Ruiz, K.B., Biondi, S., Martínez, E.A., Orsini, F., Antognoni, F., Jacobsen, S.E., 2016. Quinoa –a model crop for understanding salt-tolerance mechanisms in halophytes. *Plant Biosyst.* Vol. 150. N° 2. Pág. 357–371.
- Ruiz, M. y Parera, C. 2013. Efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación de *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae). *Acta biol. Colomb.* Vol. 18. N° 1. Pág. 99 – 106.
- Ruiz, M., y Terenti, O. 2012. Germinación de cuatro pastos bajo condiciones de estrés salino. *Phyton (Buenos Aires)*. Vol. 81. N° 2. Pág. 169-176.

- Ruiz-Carrasco, K., Antognoni, F., Coulibaly, A. K., Lizardi, S., Covarrubias, A., Martínez, E. A., y Zurita-Silva, A. 2011. Variation in salinity tolerance of four lowland genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as assessed by growth, physiological traits, and sodium transporter gene expression. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 49. N° 11. Pág. 1333-1341.
- Salehzade, H., Izadkhah, M., y Chiyasi, M. 2009. Effect of seed priming on germination and seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Biol Sci*. Vol. 4. Pág. 629-631.
- Salisbury, F.B. y C.W. Ross 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica S. A de C. V. México. 2
- Sezgin, A. C. y Sanlier, N. A new generation plant for the conventional cuisine: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Trends in Food Science y Technology*. Vol. 86. Pág. 51-58.
- Sharifzadeh, F., Heidari, Z., Mohamadi, H. y Janmohamadi, M. 2006. Study of osmotic priming effects on wheat (*Triticum aestivum* L.) germination in different temperatures and ocal seed masses. *Journal of Agronomy*. Vol. 5. N° 4. Pág. 647-650.
- Shmueli, M. y Goldberg, D. 1971. Emergence, early growth and salinity of five vegetable crops germinated by sprinkle and trickle irrigation in arid zones. *Hort Science*. Vol. 6. Pág. 176-177.
- Small E. 2013. Quinoa – is the United Nations' featured crop of 2013 bad for biodiversity? *Biodiversity*. Vol. 14. N° 3. Pág. 169-179.
- Tabatabaei, S. 2014. The effect of priming on germination indexes and seed reserve utilization of maize seeds under salinity stress. *J. Seed Sci. Technol*. Pág. 44–51.
- Tajbakhsh, M., Brown, P., Gracie, A., Spurr, C., Donovan, N. y Clark, R. 2004. Mitigation of stunted root abnormality in onion (*Allium cepa* L.) using seed priming treatments. *Seed Science and Technology*. Vol. 32. N° 3. Pág. 683-692.
- Taleisnik, E. y López Launestein, D. 2011. Leñosas perennes para ambientes afectados por salinidad: Una sinopsis de la contribución argentina a este tema. *Ecología austral*. Vol. 21. N° 1. Pág. 3-14.
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., Martínez, E.A. 2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: a review. *J. Sci. Food Agric*. Vol. 90. N° 15. Pág. 2541–2547.
- Welbaum, G., Bradford, K., Yim, K., Booth, D. y Oluoch, M. 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. *Seed Science Research*. Vol. 8. N° 2. Pág. 161-172.

Yari, L., Aghaalikani, M., y Khazaei, F. 2010. Effect of seed priming duration and temperature on seed germination behavior of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. Vol. 5. N° 1. Pág. 1-6.

Yeo, A. 1998. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. Scientia Horticulturae. Vol. 78. N° 1-4. Pág. 159-174.

Zhang, Q. y Rue, K. 2012. Glycinebetaine seed priming improved osmotic and salinity tolerance in turfgrasses. Horticultural Science. Vol. 47. N° 8. Pág. 1171–1174.