



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS
SALINO SOBRE DIFERENTES PARÁMETROS
EN PLANTAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

**EVALUATION OF THE EFFECTS OF SALT
STRESS ON DIFFERENT PARAMETERS IN
MAIZE PLANTS (*Zea mays* L.)**

Autor: **Álex Sastre Tadeo**

GRADO EN BIOLOGIA

Junio, 2021

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Material y métodos.....	5
2.1 Evaluación del efecto de la salinidad sobre la germinación y el crecimiento radicular.....	5
2.2 Evaluación de la salinidad sobre el desarrollo de las plantas.....	6
2.3 Determinación de los parámetros fisiológicos	7
2.4 Tratamiento estadístico	10
3. Resultados.....	11
3.1 Prueba de germinación.....	11
3.2 Parámetros de crecimiento	12
3.2.1 Longitud parte aérea y parte radicular.....	12
3.2.2 Área foliar.....	13
3.2.3 Peso fresco y peso seco de raíz y tallo.....	13
3.2.4 Tasa de crecimiento absoluto (G) y tasa de asimilación neta (E).....	15
3.3 Parámetros hídricos.....	16
3.3.1 Potencial hídrico del xilema.....	16
3.3.2 Evapotranspiración acumulada.....	16
3.4 Parámetros fotosintéticos.....	17
3.4.1 Concentración de clorofila.....	17
3.4.2 Rendimiento cuántico efectivo.....	18
3.5 Daño oxidativo y actividades antioxidantes.....	18
3.5.1 Lipoperoxidación.....	18
3.5.2 Concentración de H ₂ O ₂	19
3.5.3 Actividad catalasa.....	19
3.5.4 Actividad Superóxido dismutasa.....	20
4. Discusión	20
5. Conclusiones.....	23
6. Bibliografía.....	24
7. Anexo I: Estadística.....	

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo determinar los efectos de concentraciones crecientes de NaCl sobre el crecimiento y desarrollo temprano de plantas de maíz (*Zea mays*. L) del híbrido comercial P9486 (PIONEER). Una vez establecidas las concentraciones de NaCl correspondientes a la I₂₅ e I₅₀, se procedió al cultivo en condiciones controladas del híbrido de maíz P9486, evaluando el efecto de estas concentraciones sobre parámetros de crecimiento, hídricos, fotosintéticos y respuesta antioxidante de la planta durante 28 días.

Los resultados obtenidos indicaron que el híbrido posee resistencia a estrés salino moderado (40 mM NaCl = I₂₅), donde solo se observaron reducciones significativas para los parámetros longitud del cepellón y área foliar cuando se compararon con las plantas control (0 mM NaCl). Además, se observó que bajo este tratamiento las plantas mostraron una buena respuesta antioxidante. El tratamiento con concentraciones elevadas de NaCl (100 mM NaCl = I₅₀) redujo significativamente la mayoría de los parámetros cuando se compararon con el control. Los resultados obtenidos sobre el efecto del estrés salino en fases tempranas de crecimiento y desarrollo indican que el híbrido tiene un buen comportamiento frente a estrés salino moderado-bajo.

PALABRAS CLAVE: Actividades antioxidantes, Crecimiento, Estrés salino, Evapotranspiración, Potencial hídrico, *Zea mays*.

ABSTRACT:

The objective of this study was to determine the effects of increasing NaCl concentrations on the growth and early development of maize (*Zea mays*. L) plants of the commercial hybrid P9486 (PIONEER). Once the NaCl concentrations corresponding to I₂₅ and I₅₀ were established, the maize hybrid P9486 was grown under controlled conditions, evaluating the effect of these concentrations on growth, water, photosynthetic and antioxidant response parameters along 28 days.

The results obtained indicated that the hybrid is resistant to moderate salt stress (40 mM NaCl = I₂₅), where only significant reductions were observed for the parameters root ball length and leaf area when compared to control plants (0 mM NaCl). In addition, it was observed that under this treatment the plants showed a good antioxidant response. The treatment with high NaCl concentrations (100 mM NaCl = I₅₀) significantly reduced most of the parameters when compared to the control. The results obtained on the effect of salt stress at early stages of growth and development indicate that the hybrid performs well under moderate-low salt stress.

KEYWORDS: Antioxidant activities, Evapotranspiration, Growth, Salt stress, Water potential, *Zea mays*.

1. INTRODUCCIÓN

El **estrés salino** es un tipo de estrés **abiótico** provocado por la acumulación de sales, entre las que destaca el NaCl. Este se produce debido a diferentes factores medioambientales, climáticos y antropogénicos los cuales, limitan el desarrollo correcto de las plantas provocando alteraciones fisiológicas, morfológicas y bioquímicas (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

EL ESTRÉS SALINO TIENE UN DOBLE COMPONENTE:

El estrés salino se divide en dos componentes principales: el osmótico y el iónico (Azcón-Bieto y Talón, 2008). El agua se mueve de potenciales hídricos altos a potenciales hídricos bajos. Uno de los primeros efectos de la acumulación de sales en el entorno de la raíz supone un descenso del potencial hídrico del suelo, lo que provoca que aparezca el **factor osmótico** (Rengasamy, 2010). Debido a ello, una de las primeras consecuencias que se pueden apreciar en plantas sometidas a estrés salino es la deshidratación de los tejidos (Mansour *et al.*, 2005). Ante situaciones de estrés, las plantas han desarrollado numerosos mecanismos que las permiten minimizar los efectos sufridos a los que se ven sometidas, mientras que este se encuentre dentro de los límites de la tolerancia de cada especie. La mayoría de plantas posee un gran número de genes involucrados en responder de forma adecuada a dichas situaciones de estrés (Zhu *et al.*, 1997) que permiten la síntesis de proteínas, como las proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant) que participan en los procesos de protección. Durante los periodos de estrés hídrico, para evitar la pérdida de agua, las células acumulan elementos que las permiten mantener la turgencia (Rhodes, 1987). Los compuestos acumulados son en su mayoría iones (K^+ , Na^+ y Cl^-), pero también se encuentran solutos orgánicos como la prolina o la betaina. La acumulación intercelular de dichos iones interfiere en los procesos celulares y puede provocar efectos iónicos (indicados más adelante), por ello, deben ser interiorizados en las vacuolas (Hasegawa *et al.*, 1987). Por otro lado, los solutos orgánicos, son compatibles con los procesos celulares y pueden acumularse en grandes cantidades en el citosol.

Como consecuencia del estrés osmótico, aparece el **componente iónico** que viene dado por la acumulación de iones en las células provocando toxicidad (Munns y Tester, 2008) y afectando a la estabilidad de las membranas celulares y al desarrollo de la planta (El-Katony *et al.*, 2019). Además, otro de los efectos iónicos existentes más destacables es la aparición de desregulaciones metabólicas provocadas por la alteración de los balances

iónicos, lo cual genera deficiencias en otros nutrientes como el K^+ , Ca^{2+} o el NO_3^- (George *et al.*, 2012). Esto es debido a que ante el estrés salino, las plantas activan rutas de señalización coordinadas por los sensores de salinidad que provocan la salida de muchos de estos iones necesarios para las funciones celulares (Zhang *et al.*, 2018). Uno de los iones más tóxicos en altas concentraciones es el Na^+ , que provoca daños en la capa de hidratación de otras moléculas, causa daños en las paredes y membranas celulares alterando los ratios de K^+/Na^+ y, en última instancia, genera cambios sustanciales en la fisiología de la planta (Shabala *et al.*, 2015).

Además de estas consecuencias podemos encontrar **efectos derivados** como el cierre estomático que provoca la limitación en la fijación del CO_2 y la aparición de especies reactivas del oxígeno (ROS) (Gunes *et al.*, 2007). Las ROS son compuestos activos de oxígeno muy oxidantes que alteran las funciones celulares y dañan los tejidos. Algunos de los principales efectos oxidativos que provocan son el incremento de la lipoperoxidación y la destrucción de proteínas y del material genético (Akhter Banu *et al.*, 2010).

IMPACTO DEL ESTRÉS SALINO EN LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA

Actualmente uno de los **problemas agronómicos** más preocupantes viene dado por el estrés salino. En la década de los 90 se estimaba que entorno a un 10% de los suelos cultivables estaba afectado por la salinidad (FAO, 1992). El estrés salino comúnmente está provocado por elevadas concentraciones del ion sodio (Na^+), además del ion cloruro (Cl^-) en el suelo clasificados como moderadamente salinos cuando la conductividad se encuentra en valores de 4 dS/m y fuertemente salinos cuando la conductividad supera los 8 dS/m (Abrol *et al.*, 1988). En la actualidad, existen numerosos informes sobre la superficie de suelo afectada por la salinidad, estimándose en unas 1000 millones de hectáreas (Ivushkin *et al.*, 2019), de las cuales 16 millones corresponden a regadío (principalmente en Argentina, China, la India y diversos países de Asia central) donde los riesgos de salinización aumentan debido a posibles encharcamientos convirtiendo esto en un grave problema en muchas partes del mundo (Mateo-Sagasta y Burke, 2011). El drenaje y la lixiviación se convierten en procesos necesarios para la reducción de la salinidad de los suelos y así poder de forma natural mantener un equilibrio salino en el suelo que permita el desarrollo correcto de los cultivos. Sin embargo, si el uso del suelo es inadecuado generando concentraciones salinas elevadas, estos procesos pueden llegar a provocar el aumento desmesurado de la concentración salina del agua de drenaje,

impidiendo el uso de esta posteriormente (FAO, 2011). Las zonas más afectadas por esta problemática son en su mayoría zonas áridas, con altas tasas de evapotranspiración y escasas lluvias (El-Katony *et al.*, 2019). Además, los problemas de salinidad en las regiones litorales suponen una importancia significativa debido a la intrusión del agua marina en los suelos (Yu *et al.*, 2014). Las características ambientales de muchos lugares de cultivo suponen un efecto adverso sobre el cultivo de plantas de interés alimentario para grandes masas de población provocando enormes pérdidas en la producción de las cosechas que no son tolerantes a altas concentraciones salinas (Yang y Guo, 2017).

EL CULTIVO DEL MAÍZ

El **maíz** (*Zea mays* L.) supone uno de los primeros alimentos que se conocen, considerándolo el grano alimenticio más antiguo (Blake, 2015). Dentro de la familia de las gramíneas, es considerada una de las **principales fuentes de alimento mundiales**, después del trigo. El maíz es una planta C4 con una elevada tasa fotosintética que ha evolucionado junto con el ser humano hasta convertirse en una planta totalmente domesticada, sin evidencias de que esta pueda crecer de manera silvestre en la actualidad (Paliwal, 2001). Las continuas necesidades del ser humano han conducido a una transformación de la planta dando lugar a multitud de variedades diferentes. Por otro lado, es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea caracterizando a dichos granos por su alto potencial para la producción de carbohidratos. Además de la importancia mencionada a nivel humano hoy día es usado en numerosos procesos industriales como la elaboración de biocombustibles o para el alimento del ganado.

La **producción de maíz mundial** se encuentra concentrada en 4 países: Estados Unidos, China, Brasil y Argentina. En la campaña de cosecha de 2018-19 los Estados Unidos alcanzaron las 366.287 millones de toneladas, seguidas de las 257.330 millones de toneladas del país asiático (McCORMICK. Power Technology, 2020). Por su parte la Unión Europea para esa misma campaña alcanzó una producción cercana a las 70.000 millones de toneladas (Comisión Europea, 2021). España cuenta con una superficie de cultivo para dicho cereal de unas 346.000 hectáreas, concentradas en Castilla y León (33%), seguida de Aragón y Extremadura. Dentro de Castilla y León (Figura 1), la mayor parte de la producción se encuentra en la zona sur de la provincia de León (ITAJCyL, 2021) que cuenta, para el año 2020-21 con cerca de 72.000 hectáreas de maizales y que supone un incremento de un 4% con respecto a la anterior campaña. El 54% de los cultivos se encuentran asentados en regadíos modernizados (40.267 hectáreas). Se estima

que para esta última campaña (2021) la producción supere un crecimiento de un 43% con respecto a los últimos cinco años, suponiendo una producción de 900.000 toneladas (Astorga redacción, 2020).

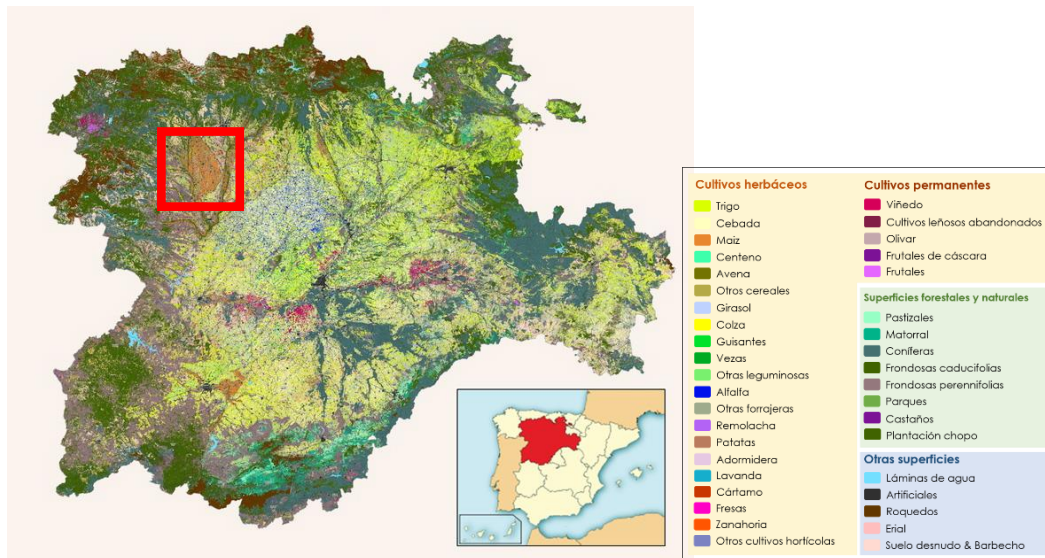


Figura 1: Mapa de superficie y tipo de cultivo en Castilla y León (ITAJCyL, 2021). Recuadrada en rojo la zona donde se concentra la mayor producción de maíz en la Comunidad de Castilla y León.

El maíz seleccionado para el experimento es un híbrido comercial de la casa PIONEER (P9486) que cuenta con una amplia distribución de uso agrícola en España. Este híbrido es comercializado como una variedad novedosa que posee un porte medio-bajo con inserción media de la mazorca. Además, presenta grano dentado de buen peso específico y con secado rápido. También destaca por su potencial reproductivo y gran adaptabilidad ante estreses ambientales.

El **objetivo** de este trabajo fue determinar el efecto de distintas concentraciones de NaCl en estadios tempranos de desarrollo en plantas de maíz híbrido P9486. Para ello se analizaron parámetros hídricos, fotosintéticos, de crecimiento y, además, se cuantificaron actividades relacionadas con procesos oxidativos como la intensidad de lipoperoxidación, niveles de H₂O₂ o actividades antioxidantes como la actividad catalasa y superóxido dismutasa (SOD). Para determinar los efectos que pudiera sufrir el cultivo en dichas condiciones los parámetros fueron medidos en diferentes tiempos.

Otro de los objetivos del trabajo fue determinar la adaptabilidad de dicho híbrido frente al estrés salino ya que éste y otros similares, podrían ser posibles dianas de estudios más avanzados para la mejora de los cultivos en zonas con elevada salinidad.

La **hipótesis** de partida fue que el maíz híbrido P9486 tendría una buena respuesta frente a concentraciones bajas de NaCl por sus características intrínsecas, mientras que un aumento en la concentración de sal provocaría efectos negativos percibibles a lo largo del desarrollo temprano.

2. MATERIAL Y MÉTODOS:

2.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL CRECIMIENTO RADICULAR

Para este ensayo se utilizaron semillas de maíz híbrido P9486 PIONEER. Las semillas se embebieron durante 24 horas y posteriormente se colocaron en placas de vidrio cubiertas de papel de filtro (73 g/cm^2) sobre el cual se añadió la correspondiente batería de concentraciones de NaCl (0 mM - 500 mM). Se utilizaron 15 semillas de maíz híbrido por tratamiento. Las placas fueron introducidas en contenedores de plástico donde estuvieron a 25°C y condiciones de baja iluminación ($50 \text{ lux} \sim 0,7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) durante 9 días.

Se llevó a cabo un conteo de las semillas germinadas en el día 9 de experimentación para determinar el porcentaje de germinación. Se anotó la cantidad de semillas germinadas para cada tratamiento con respecto a las semillas totales no contaminadas.

El criterio establecido para contabilizar una semilla como germinada fue la protusión radicular de al menos 2 mm. Con las semillas no germinadas se llevó a cabo un ensayo de viabilidad con trifeníl-tetrazolium (ISTA, 2006) con el objetivo de discriminar las semillas no viables de las no germinadas que alterarían el resultado de la prueba de germinación.

La longitud de la raíz principal se midió en el día 9 para evaluar de esta manera el efecto del NaCl sobre el crecimiento radicular. En base a estos resultados, se determinaron los valores de I_{25} e I_{50} definidos como la concentración de NaCl que inhibe el crecimiento respecto al control en un 25% y 50% respectivamente, en base a la longitud total de las raíces.

Los resultados que se obtuvieron de este apartado se utilizaron para el diseño del experimento sobre el efecto a corto plazo de concentraciones crecientes de NaCl sobre parámetros de crecimiento y fisiológicos en plantas de maíz.

2.2 EVALUACIÓN DE LA SALINIDAD SOBRE EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS

- CONDICIONES DE CULTIVO:

Las concentraciones de NaCl empleadas fueron 40 mM y 100 mM correspondientes a los parámetros I_{25} e I_{50} respectivamente, además de un control (0 mM). Dichas concentraciones corresponden con valores de conductividad de 5,5 dS/m (I_{25}) y 12 dS/m (I_{50}). El valor de conductividad para el control fue de 2,1 dS/m.

El cultivo en este experimento fue llevado a cabo en 12 recipientes de cultivo de 300 ml para cada tratamiento. En cada uno de ellos se introdujo el sustrato fertilizado (14/16/8 + micronutrientes; PROJAR) al que se añadió vermiculita (PROJAR) en proporción 3:1 y se llenaron los recipientes de cultivo hasta ocupar 4/5 partes del volumen de estos. Posteriormente, se ajustaron las condiciones de riego al 100% de la capacidad de campo. En cada recipiente se sembraron tres semillas de maíz híbrido P9486 PIONEER previamente embebidas durante 24 horas en agua a temperatura ambiente. Por otra parte, se prepararon las soluciones de riego correspondientes a las distintas concentraciones de NaCl en agua destilada.

Los recipientes de cultivo fueron colocados en una cámara de cultivo en condiciones de fotoperiodo 16 horas de luz ($2200 \text{ lux} \sim 30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y 8 horas de oscuridad a una temperatura de 25°C. La frecuencia de riego fue cada tres días alternando el riego con solución salina o con agua destilada. El tratamiento control se regó siempre con agua destilada).

2.3 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS

Los muestreos de los parámetros fisiológicos que se muestran a continuación se realizaron a los días 14, 21 y 28 post-siembra. El número de plantas usado para cada evaluación varió entre 5-6.

- PARÁMETROS DE CRECIMIENTO:

Longitud parte aérea y radicular: Para la medida de la longitud de la parte aérea se midieron las plantas desde el cuello del tallo hasta el extremo de la última hoja más desarrollada. Para la medida de la longitud radicular el criterio fue la medida en longitud del cepellón desde el cuello de la raíz hasta la última raíz secundaria.

Área foliar: Para medir el área foliar, se estableció el criterio de llevar a cabo esta medida sobre las dos hojas previas a la última en desarrollo. En los tres días de muestreo fijados las hojas fueron colocadas sobre un folio en blanco en el que se delineó la superficie de éstas. Posteriormente con una superficie conocida del mismo papel se obtuvo un peso conocido y se relativizó el peso de cada silueta al área que poseían dichas hojas.

Peso seco y peso seco de raíz y tallo: Las partes aéreas y radicales de las plantas fueron pesadas en fresco (Pf) y tras 7 días en una estufa a 37°C se pesaron de nuevo obteniéndose el peso seco (Ps).

Estos parámetros permitieron el cálculo de los siguientes:

Tasa de crecimiento absoluto (G): El valor G se calculó tanto para raíz como para tallo en el periodo comprendido entre los días 14-28 tras el inicio del cultivo

Para el cálculo del valor de G se usó la fórmula:

$$G \text{ (mg/día)} = \frac{dPs}{dt} = \frac{Ps_2 - Ps_1}{t_2 - t_1}$$

Siendo Ps el peso seco y t el número de días comprendidos en ese periodo.

Tasa de asimilación neta: La tasa de asimilación neta (E), fue calculada a través de la fórmula:

$$E \text{ (mg/día cm}^2\text{)} = \frac{G}{\Delta \text{Área foliar (cm}^2\text{)}}$$

Siendo G el valor correspondiente de tasa de crecimiento absoluto para el periodo establecido.

- PARÁMETROS HÍDRICOS:

Potencial hídrico xilema: Las medidas fueron tomadas en el día 28 post-siembra en condiciones ambientales de luz y oscuridad. Para llevar a cabo esta medida fue necesario la utilización de la cámara de Scholander (Sols Measures; Francia).

Evapotranspiración: En el caso del valor de evapotranspiración (ET) se diferencian dos valores diferentes. La tasa de evapotranspiración instantánea (ET_i) y la tasa de evapotranspiración acumulada (ET_a).

$$ET_i = P_i - P_{\text{sin r}}$$

Los valores de ET_i fueron obtenidos a través de la fórmula anterior, siendo P_i el peso de cada recipiente de cultivo al inicio del experimento (200 mg) y P_{sin r} el peso de los recipientes de cultivo en cada día de riego, previamente a ser regados.

$$ET_a = \sum ET_{a_{n-1}} + ET_{i_n}$$

Los valores de ET_a fueron obtenidos a través de la anterior fórmula, siendo ET_{a_{n-1}} el valor correspondiente a la tasa de evapotranspiración acumulada del día anterior y ET_{i_n} el valor de tasa de evapotranspiración instantánea de ese día. Solo fueron usados en el posterior análisis los valores de ET_a.

- PÁRAMETROS FOTOSINTÉTICOS:

Concentración de clorofila: Este parámetro fue cuantificado en los días 14, 21 y 28 post-siembra. Para la extracción de clorofila se realizó un homogeneizado en acetona al 80%, de una porción (de aproximadamente un cm²) apical de la última hoja completamente desarrollada y desplegada. El homogeneizado se filtró y se midió la absorbancia del filtrado a A₆₄₅ y A₆₆₃ con objeto de estimar la cantidad de clorofila total (Arnon, 1949).

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g/ml}) = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$$

Posteriormente la clorofila total fue relativizada al peso fresco de la hoja. Para ello se utilizó la fórmula:

$$\text{Clorofila}(\mu\text{g}/\text{mg Pf}) = \frac{[\text{Clorofila total } (\mu\text{g}/\text{ml}) * \text{vol. extracción (ml)}]}{\text{Pf hoja (mg)}}$$

Rendimiento cuántico efectivo: En el caso del rendimiento cuántico efectivo las medidas fueron tomadas el día 21 tras el inicio del cultivo. Esta medida se realizó utilizando un PAM-fluorímetro (Teaching-PAM, Walz; Alemania). Las cuantificaciones de este parámetro se llevaron a cabo sobre la última hoja desarrollada y completamente desplegada.

- ACTIVIDADES ANTIOXIDANTES:

Extracción:

Se tomaron fragmentos de hoja procedentes de plantas tras 28 días post-siembra y se homogeneizaron en el tampón de extracción [50 mM Tris-HCl pH 7,5, 0,1 mM EDTA, 1% (v/v) Tritón X-100, 10% Glicerol (v/v), 2 mM ditiotreitól y H₂O] en proporción 1 g de hoja en 5 ml de tampón. Las muestras fueron congeladas a -80°C hasta su posterior análisis.

Lipoperoxidación: Se determinó midiendo la formación de compuestos que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, utilizando como compuesto de referencia el malondialdehído (MDA) (Buege y Aust, 1978). Se emplearon 200 µl de muestra mezclados con 1 ml de tampón de reacción [ácido tricloroacético al 15% (p/v), ácido tiobarbitúrico al 0,375% (p/v) y butilhidroxitolueno al 0,01% (p/v) preparado en 0,25 N de HCl]. Para el blanco fueron usados 200 µl de tampón de extracción y 1 ml de tampón de reacción. La mezcla fue calentada y centrifugada posteriormente a 15.000 rpm durante dos minutos. Se midió la absorbancia del sobrenadante a A₅₃₅. Se utilizó una recta patrón para concentraciones variables de dimetil acetal (0,1-100 µM).

Concentración de Peróxido de Hidrógeno: Para la determinación de H₂O₂ se utilizó el método del Xilenol orange (Cheeseman, 2006). Se emplearon 150 µl del extracto y se mezclaron con un 1 ml del tampón de reacción [100µM Xilenol Orange, 100 µM D-sorbitol, 250 µM FeSO₄, 250 µM (NH₄)₂SO₄ y etanol 1% en 25 mM H₂SO₄]. El blanco de reacción se preparó utilizando 150 µl de H₂O destilada + 1 ml de tampón de reacción. Posteriormente se agitó 40 minutos a 25°C y se centrifugó la mezcla a 10.000

rpm durante dos minutos. La determinación de la concentración final de H₂O₂ se hizo en base a la sustracción de las A₅₅₀ y A₈₈₀ del sobrenadante. Se utilizó una recta patrón de H₂O₂.

Actividad catalasa: Para el ensayo de actividad catalasa se tomaron 100 µl de extracto que fueron mezclados con 3 ml de tampón de reacción (tampón fosfato potásico: 0,2 M KH₂PO₄, 0,2 M K₂HPO₄ y 37,5 mM H₂O₂). El blanco fue preparado utilizando 100 µl de tampón de extracción y 3 ml de tampón de reacción. Y se midió la variación de la absorbancia a A₂₄₀ durante dos minutos (Droillard *et al.*, 1987).

Actividad Superóxido dismutasa (SOD): Para determinar la actividad SOD se empleó un kit comercial “SOD assay Kit” (Sigma). El fundamento de la detección se basa en la capacidad de la SOD para evitar la acumulación de tetrazoilo-formazán, un compuesto detectable a A₄₄₀. Se utilizaron 20 µl de extracto y 20 µl de estándar comercial. Se preparó un blanco de reacción mediante 20 µl de tampón de extracción y 20 µl de estándar.

2.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para el tratamiento estadístico de los datos se procedió a elaborar una serie de análisis con el software IBM SPSS Statistics 26. Para todas las variables se comprobó la normalidad a través de la prueba Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad a través del test de Levene. Las variables normales y homocedásticas fueron analizadas con un ANOVA de una vía y un test post-hoc (Test de Tukey). Las variables no normales fueron analizadas con una prueba de Kruskal-Wallis y posteriormente se calculó el estadístico U de Mann-Whitney. El nivel de significación de todas nuestras pruebas fue $p < 0,05$.

3. RESULTADOS:

3.1 PRUEBA DE GERMINACIÓN:

En el análisis de la germinación en diferentes concentraciones de NaCl los resultados obtenidos (Figura 2A) aparecen indicados como porcentaje de germinación en base a los diferentes tratamientos utilizados. Se pudo observar como el porcentaje de germinación apenas se vio afectado para concentraciones salinas entre 0 mM NaCl y 100 mM NaCl, apareciendo efectos inhibitorios a partir de los 200 mM NaCl. Para una concentración elevada de 500 mM de NaCl, se comprobó que la germinación se vio claramente afectada.

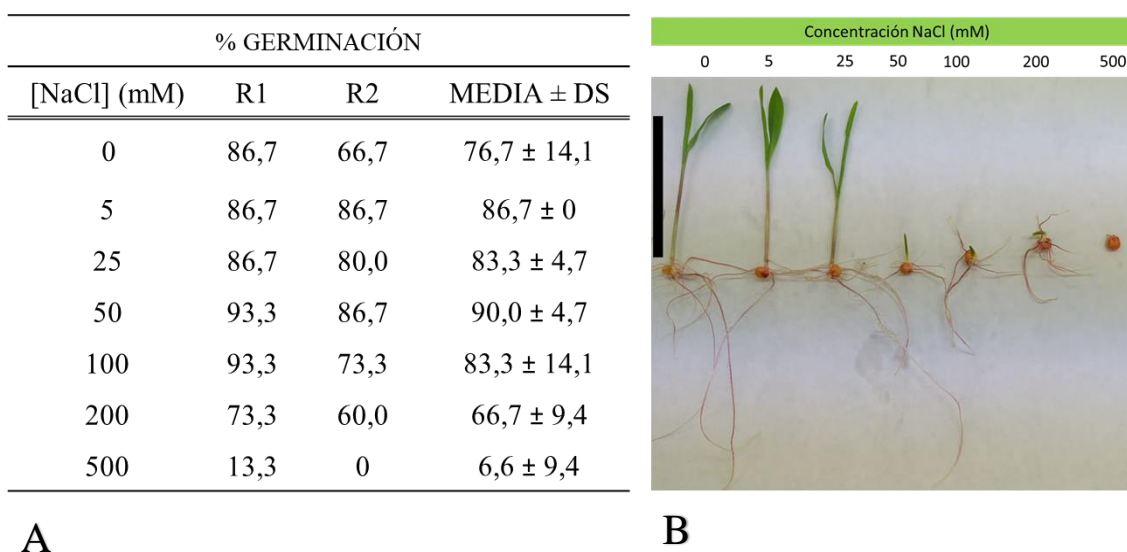


Figura 2: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre (A) la germinación de semillas de maíz para cada una de las réplicas (R1 y R2) tras 9 días de tratamiento. En (B) se muestra el aspecto de las plántulas de maíz correspondiente a una réplica representativa al final del tratamiento. La barra negra representa 5 cm. En (A) Se indica la media ± ds (n=2; para cada réplica se utilizó una n=15).

Se analizó también el efecto que tuvo la aplicación de concentraciones crecientes de NaCl sobre el crecimiento en longitud de la raíz para establecer una curva dosis-respuesta en base a este parámetro. En los resultados de dicho análisis (Figura 2B) se observó una reducción significativa del crecimiento en longitud de la raíz de las plántulas de maíz a medida que aumentaba la concentración de NaCl. Para la concentración más elevada del rango utilizado (500 mM NaCl) se obtuvieron valores cercanos al 0%, mientras que para concentraciones más bajas (5 mM – 25 mM NaCl) se observaron porcentajes que alcanzaron el 120%-110% con respecto al control.

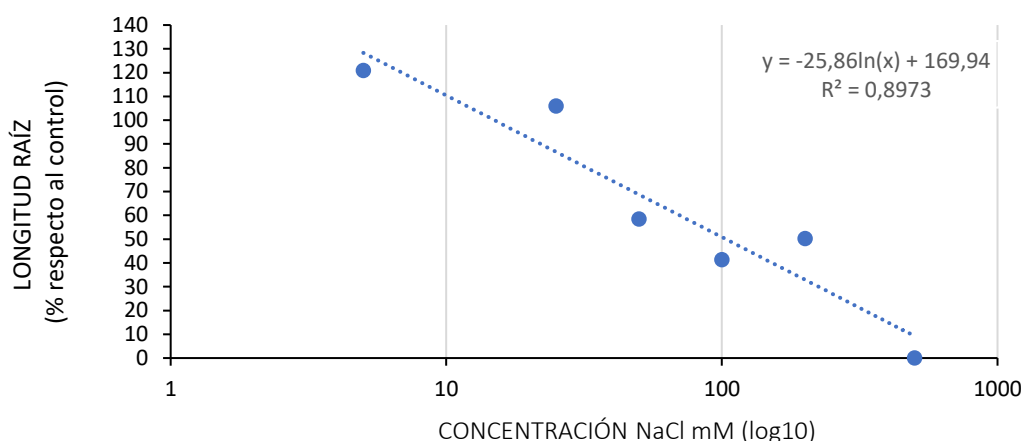


Figura 3: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl (0 mM – 500 mM) sobre el crecimiento radicular de plantas tras 9 días de tratamiento postimbibición.

En base a la ecuación de la recta obtenida (Figura 3), se establecieron las concentraciones salinas que indujeron una reducción del 25% y 50% respecto al tratamiento control para el parámetro seleccionado. Estos valores corresponden a la I_{25} e I_{50} y resultaron ser 40 mM y 100 mM NaCl, respectivamente. Las concentraciones correspondientes a la I_{25} e I_{50} fueron las utilizadas en los experimentos posteriores para la determinación de su efecto sobre una serie de parámetros fisiológicos, de crecimiento y bioquímicos.

3.2 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO:

3.2.1 Longitud parte aérea y parte radicular:

La longitud de la parte aérea (Figura 4a), aumentó gradualmente en todos los tratamientos. Para este parámetro no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 28 días post-siembra (Anova 1 vía; $F=3,72$; $p=0,055$).

En cuanto a la longitud del cepellón de raíz (Figura 4b), se observó un efecto significativo de la concentración de NaCl sobre el crecimiento de la raíz tras 28 días de tratamiento (ANOVA 1 vía; $F=16,77$; $p=0,001$). En las plantas control se produjo un aumento de la longitud del cepellón a lo largo del tiempo. En las plantas sometidas a tratamiento salino, el crecimiento de la raíz se detuvo a partir del día 14 tras el inicio del cultivo. Los tratamientos 40 mM NaCl y 100 mM NaCl redujeron significativamente el crecimiento de la raíz cuando se compararon con el control. Se midieron valores promedio que oscilaron entre los 17,86 cm para el control (0 mM NaCl) y los 9,43 cm para el tratamiento 100 mM NaCl al final del periodo de cultivo.

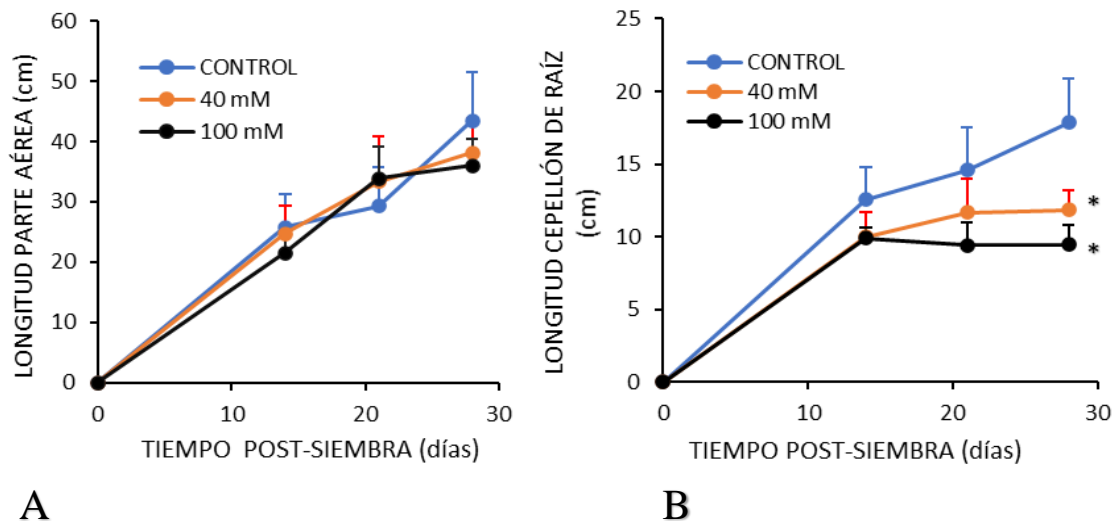


Figura 4: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre (A) la longitud de la parte aérea y (B) longitud del cepellón de raíz en plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=5-6). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$).

3.2.2 Área foliar:

El parámetro área foliar (Figura 5) se vio afectado significativamente por la concentración de NaCl tras 28 días de cultivo (H de Kruskal-Wallis; g.l.=2; $p=0,049$). Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos salinos a los 28 días. Se apreció como las plantas sometidas a estrés salino redujeron su crecimiento foliar a partir del día 21 tras el inicio del cultivo cuando se las comparó con las plantas control. Se obtuvieron valores promedio de entre 38,46 cm² para el tratamiento control y 26,61 cm² para el tratamiento 100 mM NaCl.

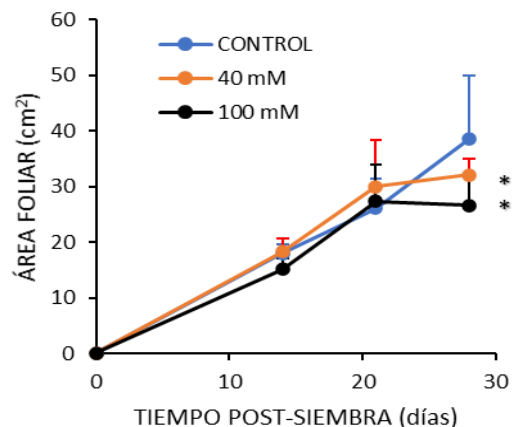


Figura 5: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre el área foliar de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=5-6). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según H de Kruskal-Wallis seguido de U de Mann-Whitney ($p<0,05$).

3.2.3 Peso fresco y peso seco de raíz y tallo:

El peso fresco de la parte radicular (Figura 6A) mostró diferencias significativas a los 28 días de tratamiento (ANOVA 1 vía; $F=4,861$; $p=0,028$). El tratamiento 40 mM NaCl no arrojó efectos significativos sobre el peso fresco de la raíz cuando se comparó con el

control, mientras que el tratamiento 100 mM NaCl sí. Se pudo observar como el peso fresco de la raíz para el tratamiento control aumento a lo largo del tiempo de cultivo, no siendo así para los tratamientos salinos, que a partir del día 21 sufrieron una reducción de la ganancia en peso. En cuanto al peso seco de la raíz (Figura 6B), la salinidad tuvo efectos significativos a los 28 días (ANOVA 1 vía; $F=7,011$; $p=0,010$). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos 100 mM NaCl y el control, obteniéndose valores promedio de entre 38,68 mg y 73 mg respectivamente.

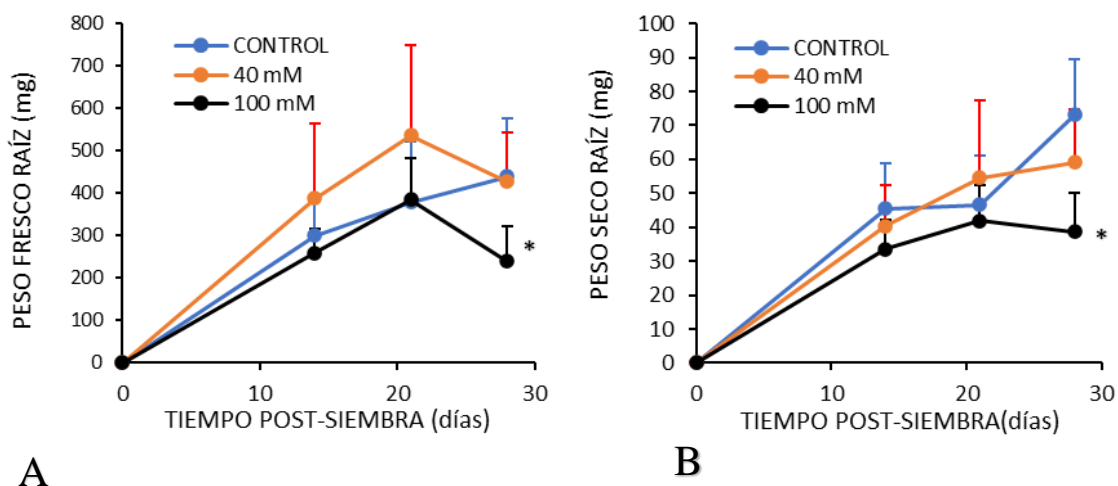


Figura 6: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre (A) el peso fresco de raíz y (B) peso seco de raíz en plantas tras 28 días de cultivo. Se representa la media \pm ds ($n=5-6$). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$)

Los datos obtenidos para el peso fresco del tallo (Figura 7A) no mostraron diferencias significativas a los 28 días tras el inicio del cultivo (ANOVA 1 vía; $F=2,252$; $p=0,148$). El aumento del peso fresco del tallo para las plantas sometidas al tratamiento 100 mM NaCl se detuvo a partir del día 21. En el día 28, las plantas sometidas al tratamiento 40 mM NaCl alcanzaron valores promedio de 1613,88 mg. Los valores promedio obtenidos en el tratamiento control fueron de 1396,52 mg. Para el peso seco del tallo (Figura 7B) tampoco se encontraron efectos significativos a los 28 días tras el inicio del cultivo entre los tratamientos (ANOVA 1 vía; $F=2,034$; $p=0,173$). En este caso, se observó un aumento gradual del peso seco en todos los tratamientos. El tratamiento 100 mM NaCl arrojó valores promedio de 105,66 mg, mientras que el tratamiento 40 mM NaCl y el control mostraron valores promedio de 145,58 mg y 142,72 mg respectivamente.

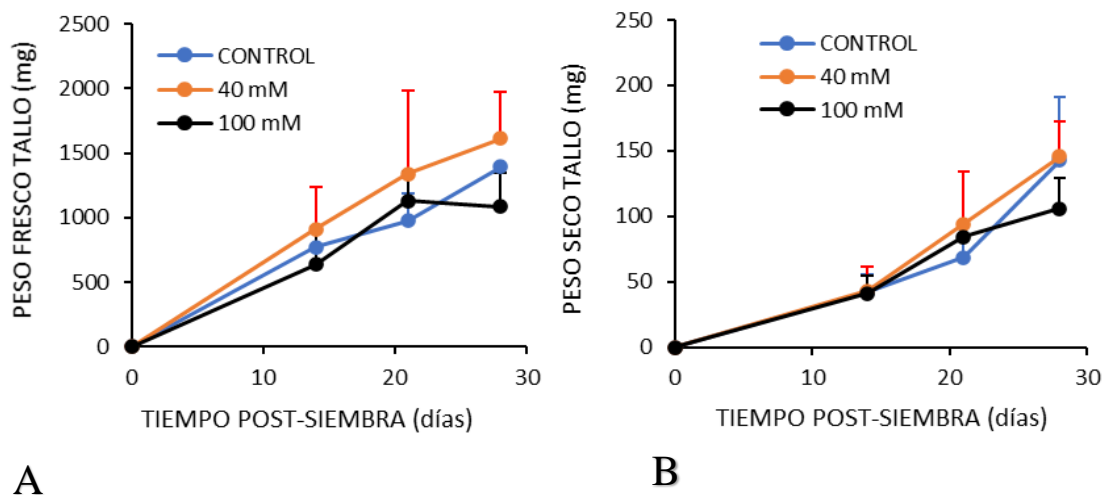


Figura 7: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre (A) el peso fresco de tallo y (B) peso seco de tallo en plantas tras 28 días de cultivo. Se representa la media \pm ds (n=5-6). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p < 0,05$)

3.2.4 Tasa de crecimiento absoluto (G) y tasa de asimilación neta (E) para raíz y tallo:

Los resultados obtenidos en el cálculo de la G y E para el caso de la raíz y el tallo en el periodo 14-28 días (Tabla 1) mostraron que el tratamiento con 100 mM NaCl redujo los valores de G y E calculadas en base a la ganancia de peso seco de tallo y raíz para dicho periodo cuando son comparadas con el control. En el caso del tratamiento 40 mM NaCl los valores de ambos parámetros para el tallo son ligeramente superiores a los valores del control.

Tabla 1: Valores G y E para el periodo 14-28 días de cultivo post-siembra en raíz y tallo.

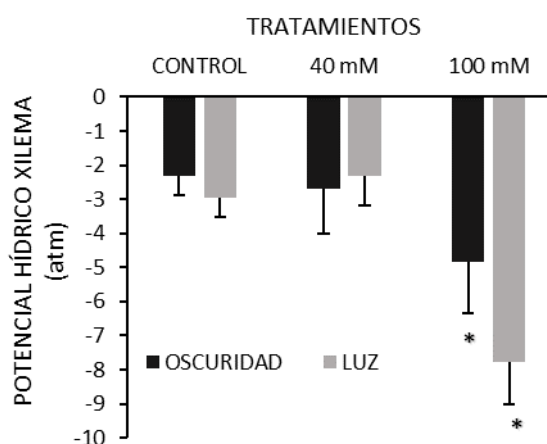
TRATAMIENTO	RAÍZ		TALLO	
	G (mg / día)	E (mg / día cm ²)	G (mg / día)	E (mg / día cm ²)
CONTROL	1,96	0,10	7,20	0,35
40 mM	1,35	0,10	7,31	0,53
100 mM	0,36	0,03	4,62	0,40

3.3 PARÁMETROS HÍDRICOS:

3.3.1 Potencial hídrico del xilema:

Los resultados que se obtuvieron para el potencial hídrico del xilema a los 28 días, (Figura 8) mostraron diferencias significativas entre los tratamientos tanto en condiciones de luz (Kruskal-Wallis; g.l.=2; $p=0,005$), como en condiciones de oscuridad (Kruskal-Wallis; g.l.=2; $p=0,014$). No se encontraron diferencias significativas en la comparación del tratamiento 40 mM NaCl con el tratamiento control, pero si se observó diferencias significativas entre este último y el tratamiento salino 100 mM NaCl, el cual reduce de manera significativa el potencial hídrico del xilema, medido tanto en condiciones de luz como de oscuridad.

Figura 8: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre el potencial hídrico del xilema de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds ($n=5-7$). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según H de Kruskal-Wallis seguido de U de Mann-Whitney ($p<0,05$).



3.3.2 Evapotranspiración acumulada:

El tratamiento salino afectó significativamente a la evapotranspiración acumulada (Figura 9) medida hasta los 24 días post-siembra. (ANOVA 1 vía; $F=4,827$; $p=0,024$). Se observó como la ETa mantuvo valores similares para todos los tratamientos hasta el día 9 tras el inicio del cultivo. Se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento 40 mM NaCl; que alcanzó valores promedio de 226,72 ml; y el tratamiento 100 mM NaCl que obtuvo valores promedio de 200,85 ml al final del periodo experimental.

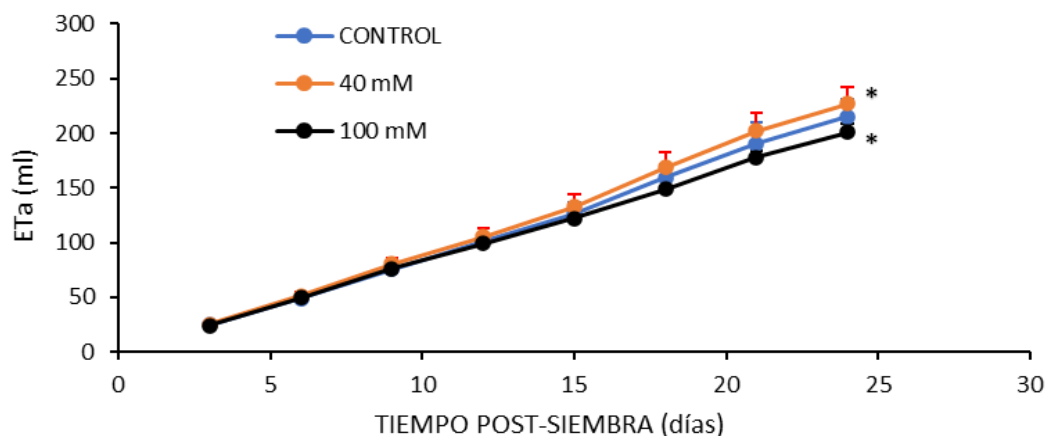


Figura 9: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la evapotranspiración acumulada de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds ($n=7-12$). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$).

3.4 PARÁMETROS FOTOSINTÉTICOS:

3.4.1 Concentración de clorofila:

La concentración de clorofila (Figura 10) no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos a los 28 días tras el inicio del cultivo (ANOVA 1 vía; $F=0,295$; $p=0,750$). Se observó como la concentración de clorofila hasta el día 14 en todos los tratamientos fue muy similar mostrando valores promedio entre $1,81 \mu\text{g}/\text{mg Pf}$ y $2,09 \mu\text{g}/\text{mg Pf}$. A partir del día 14 la concentración de clorofila aumenta en el tratamiento 100 mM NaCl que alcanzó un máximo de $3,81 \mu\text{g}/\text{mg Pf}$ en el día 21. De este momento en adelante, se observó como la concentración de e

el último día de muestreo, sien

concentración más baja de las cuan

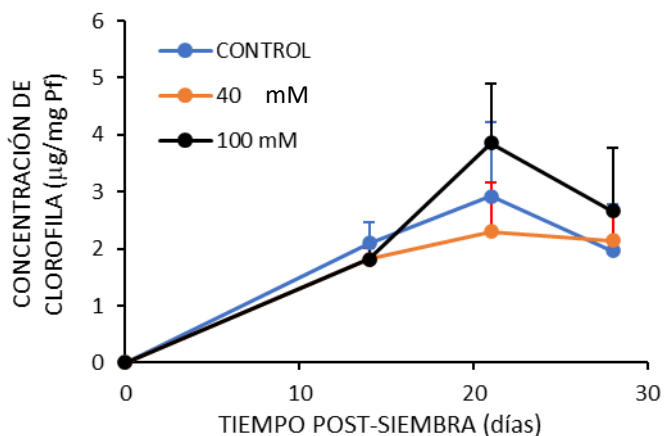


Figura 10: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la concentración de clorofila en hoja tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds ($n=5-6$). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$).

3.4.2 Rendimiento cuántico efectivo:

Para el parámetro rendimiento cuántico efectivo, medido a los 21 días tras el inicio del cultivo (Figura 11), se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Kruskal-Wallis; g.l. =2; $p=0,018$). El tratamiento 100 mM NaCl fue el único en el que se observaron diferencias al compararlo con el control para el que se midieron valores promedio de 0,60 frente a el valor promedio arrojado por el tratamiento 100 mM NaCl que fue de 0,52.

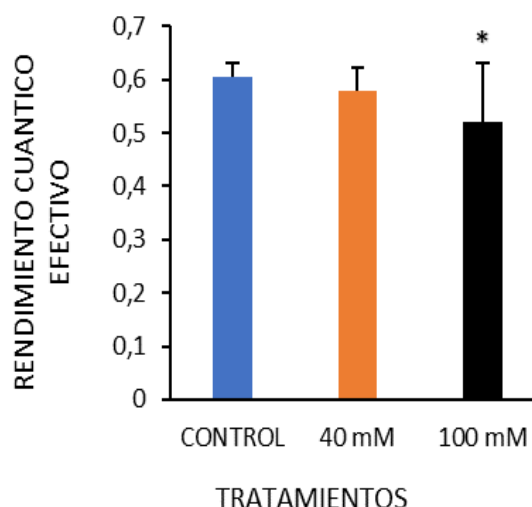


Figura 11: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre el rendimiento cuántico efectivo de plantas tras 21 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=10). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según H de Kruskal-Wallis seguido de U de Mann-Whitney ($p<0,05$).

3.5 DAÑO OXIDATIVO Y ACTIVIDADES ANTIOXIDANTES:

3.5.1 Lipoperoxidación:

Para los resultados obtenidos para el parámetro lipoperoxidación, cuantificado a los 28 días tras el inicio del cultivo (Figura 12) se comprobó que no existían diferencias significativas entre los tratamientos (Kruskal-Wallis; g.l.=2; $p=0,136$). A pesar del resultado estadístico, existe una tendencia aparente de aumento de la lipoperoxidación con el aumento de la concentración de NaCl. Los valores promedio más altos de lipoperoxidación obtenidos fueron de 0,027 nmol MDA/ mg Pf para el tratamiento 100 mM NaCl y los más bajos correspondientes al control alcanzaron valores promedio de 0,024 nmol MDA/ mg Pf.

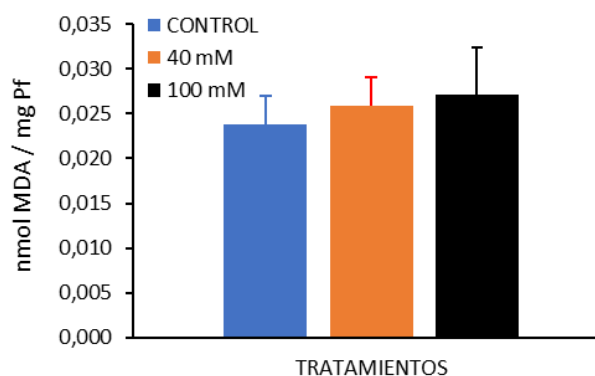
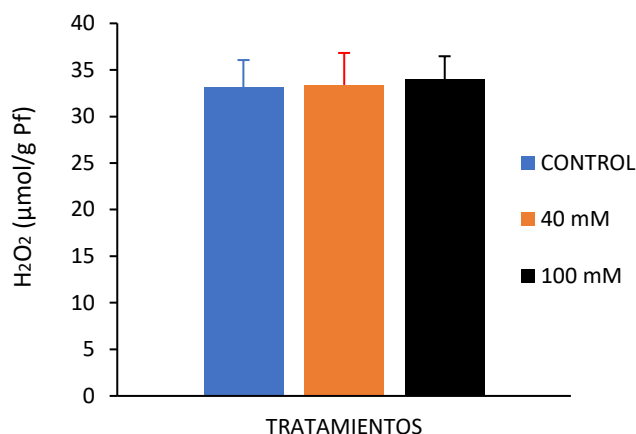


Figura 12: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la lipoperoxidación de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=12). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según H de Kruskal-Wallis seguido de U de Mann-Whitney ($p<0,05$).

3.5.2 Concentración de H₂O₂:

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 28 días tras el inicio del cultivo (ANOVA 1 vía; $F=0,491$; $p=0,619$) para la concentración de peróxido de hidrógeno medido a partir de extractos de hoja (Figura 13).

Figura 13: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la concentración de H₂O₂ en hojas de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=8). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$).



3.5.3 Actividad catalasa:

Los resultados de la actividad catalasa ensayados sobre extractos de hoja (Figura 14) a los 28 días arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA 1 vía; $F=4,822$; $p=0,019$). En comparación con el control, se encontraron diferencias entre este y el tratamiento 40 mM NaCl que mostró valores promedio de actividad catalasa de 358,32 $\mu\text{mol}/\text{min mg Pf}$ frente a el valor promedio del control de 179,16 $\mu\text{mol}/\text{min mg Pf}$.

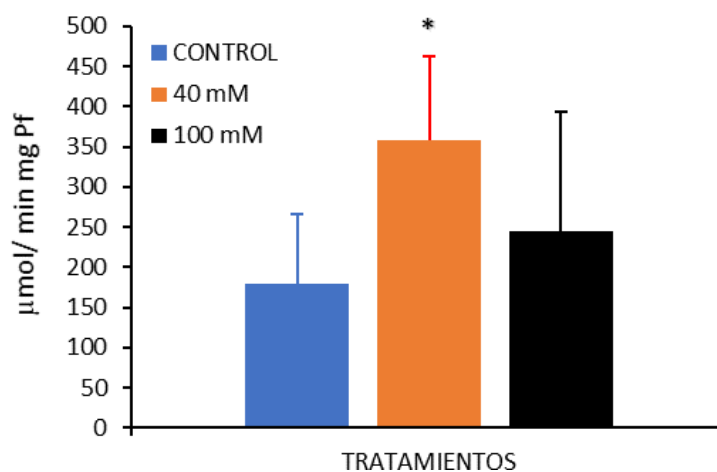
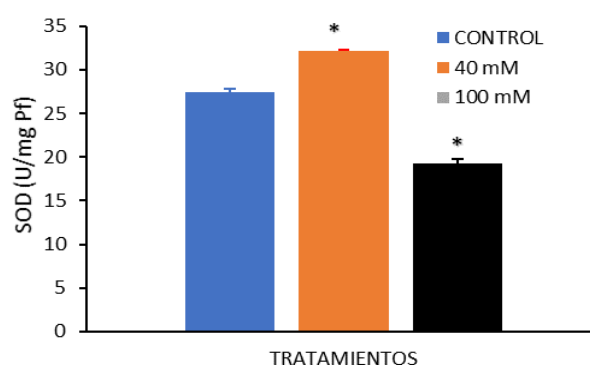


Figura 14: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la actividad catalasa en hojas de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=8). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según ANOVA 1 vía seguido de test de Tukey ($p<0,05$).

3.5.4 Actividad Superóxido dismutasa:

La actividad SOD en hojas (Figura 15) se vio afectada significativamente por el tratamiento con NaCl (Kruskal-Wallis; g.l.=2; $p=0,000$). El tratamiento 40 mM NaCl produjo un incremento significativo de la actividad SOD en comparación con el tratamiento control. Los valores promedio más bajos correspondieron con el tratamiento 100 mM NaCl que mostró un valor promedio de 19,29 U/mg Pf; mientras que el valor promedio más alto fue de 32,16 U/mg Pf que correspondió al tratamiento 40 mM NaCl.

Figura 15: Efecto de concentraciones crecientes de NaCl sobre la actividad superóxido dismutasa en hojas de plantas tras 28 días post-siembra. Se representa la media \pm ds (n=8). (*) indican diferencias significativas con respecto al control según H de Kruskal-Wallis seguido de U de Mann-Whitney ($p<0,05$).



4. DISCUSIÓN:

Los resultados de la prueba de germinación determinaron que el híbrido utilizado poseía una alta capacidad para germinar en concentraciones de NaCl menores a 200 mM. Estudios previos demostraron que otros híbridos de maíz germinaban correctamente hasta concentraciones de 200 mM, y veían afectada su capacidad germinativa en concentraciones del orden de 300 mM y 400 mM (Sukma *et al.*, 2019).

EFFECTOS SOBRE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO:

Dentro de los parámetros que fueron analizados, los que fueron estimados sobre la parte aérea de la planta no arrojaron resultados significativos, a excepción del área foliar. Este parámetro mostró diferencias significativas entre los tratamientos salinos con respecto al control (Figura 5), provocando que el área foliar de las plantas sometidas a salinidad fuera menor que el de las plantas control. Estos resultados encajan con estudios anteriores en los que el área foliar también se vio afectado por la salinidad (Yang *et al.*, 2008).

Para el peso fresco-seco de la parte radicular, se obtuvieron resultados similares a estudios previos (Soares *et al.*, 2018) en los que el crecimiento de la parte radicular fue menor cuando se sometía a estrés salino a las plantas durante el cultivo. En este experimento se ha comprobado como a concentraciones iguales a 40 mM NaCl el peso fresco-seco de la raíz no difería significativamente con respecto al control (Figura 6a), mientras que la

concentración 100 mM NaCl producía efectos significativos en reducción de peso en todos los casos. Tanto la concentración 40 mM NaCl como 100 mM NaCl afectaron al crecimiento en longitud del cepellón con respecto al control (FIGURA 4b). Observamos también como tanto la tasa de asimilación neta como la tasa de crecimiento absoluto se vieron notablemente reducidas para la concentración 100 mM NaCl (Tabla 1). Como resumen general, se observó al igual que otros autores, que el crecimiento de las plantas sometidas a estrés salino es menor que el de las control. Este efecto estaría relacionado con los efectos osmóticos e iónicos generados por el estrés salino (Farooq *et al.*, 2015). La dificultad para la toma de agua, propiciada por el descenso del potencial hídrico del suelo debido a la acumulación de sales, provoca que la planta posea menor cantidad de agua para llevar a cabo la elongación celular. En este proceso las células desorganizan su pared celular para permitir la entrada de gran cantidad de agua en su interior que las permita el crecimiento en volumen (Azcón-Bieto y Talón, 2008), por ello, la deshidratación causada por el estrés salino afecta a parámetros de crecimiento. Además, otro de los factores limitantes del crecimiento celular, es el cierre estomático. El estrés salino provoca el cierre de estomas, lo cual, reduce la disponibilidad de CO₂ disponible (Yang *et al.*, 2008) para fijación y por lo tanto se reduce la posibilidad de llevar a cabo procesos de crecimiento.

EFFECTOS SOBRE PARÁMETROS HÍDRICOS:

Dentro de los parámetros hídricos analizados, el potencial hídrico del xilema (Figura 8) mostró resultados esperados de acuerdo con estudios previos (Acosta-Motos *et al.*, 2017). El potencial hídrico se redujo considerablemente en plantas sometidas a elevada salinidad, debido a que el estrés salino restringe la toma de agua al reducirse la diferencia entre el potencial hídrico del cilindro central de la raíz y del suelo. Por este motivo, las plantas se encuentran más deshidratadas y se observan valores más bajos de potencial hídrico en xilema. Respecto a la evapotranspiración acumulada, se observó como el tratamiento que provocó una mayor tasa de evapotranspiración fue el de salinidad moderada (40 mM NaCl), lo que podría indicar la existencia de resistencia por parte del híbrido, mientras que el tratamiento de salinidad elevada (100 mM NaCl) arrojó los valores más bajos de evapotranspiración acumulada (Figura 9). Estos resultados coincidieron con un estudio previo en el que se aprecia como a partir de concentraciones salinas superiores a 90 mM la tasa evapotranspiración disminuye (Yang *et al.*, 2008). Este efecto se debió a que las altas concentraciones salinas, inducen el cierre estomático con

el objetivo de eliminar la menor cantidad de agua posible, ya que, en condiciones de estrés salino, la entrada de agua se ve limitada como se vio anteriormente.

EFFECTOS SOBRE LOS PARÁMETROS FOTOSINTÉTICOS:

La concentración de clorofila en hoja no mostró variaciones significativas entre los tratamientos, lo cual encaja con estudios previos (Guo *et al.*, 2017). Cabe destacar que los resultados obtenidos, mostraron que la concentración de clorofila aumento en las plantas sometidas a estrés (Figura 10); ya sea debido al que posean un genotipo resistente o a la relación entre la concentración de clorofila y el área foliar, ya que a menor área foliar la concentración de clorofila mostró valores mayores. Estos resultados encajan con estudios llevados a cabo anteriormente en cultivos similares (Misra *et al.*, 1997), donde genotipos resistentes no mostraban reducción de biosíntesis de pigmentos ante grados bajos de estrés . El análisis del rendimiento cuántico efectivo supuso que tan solo las plantas sometidas a 100 mM NaCl redujeran su capacidad fotosintética con respecto al control, no viéndose significativamente afectadas las plantas sometidas a 40 mM NaCl (Figura 11). Este resultado se asemeja a estudios anteriores donde el rendimiento cuántico de los fotosistemas se vio afectado tras el cultivo en condiciones de salinidad (Qu *et al.*, 2012). La disminución del rendimiento cuántico efectivo encontrada encaja con resultados previos de otros autores (Dabrowski *et al.*, 2016). En ellos se encontró una relación entre dicha disminución y la presencia de NaCl, el cual bloquea el transporte de electrones desde la clorofila activa del fotosistema II (P680) hacia la quinona A. Por otro lado, aumentó la disipación térmica de energía desde dicha clorofila. Ambos factores explican la reducción del rendimiento cuántico efectivo en plantas sometidas a estrés por salinidad

EFFECTOS SOBRE EL DAÑO OXIDATIVO-ACTIVIDADES ANTIOXIDANTES:

Dentro de los parámetros bioquímicos, se analizaron elementos propios de la defensa contra la acumulación de compuestos tóxicos para la planta como la concentración de H₂O₂. Los resultados mostraron que la acumulación de este compuesto oxidante no presentaba diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 13). El daño por lipoperoxidación no mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, lo cual pudo deberse a la previsible resistencia del genotipo ante el estrés salino. Este resultado encaja con el análisis realizado de las actividades antioxidantes. Las especies reactivas del oxígeno (ROS) son eliminadas por enzimas como la catalasa y la SOD, las

cuales en nuestro caso aumentan su actividad significativamente cuando la salinidad aplicada fue moderada (40 mM NaCl). En el caso de la actividad catalasa para salinidad elevada (100 mM NaCl) no se apreciaron resultados significativos comparados con el control, pero se denotó cierto aumento de la actividad (Figura 14). En cuanto a la SOD para el caso 100 mM NaCl si existieron reducciones significativas de la actividad frente al control (Figura 15). Estos resultados se asemejan con estudios previos en los cuales, genotipos resistentes, mostraban actividad antioxidante eficaz frente al estrés salino al que fueron sometidas (Farooq *et al.*, 2015).

COMPORTAMIENTO DEL HÍBRIDO DE MAÍZ SELECCIONADO FRENTE AL ESTRÉS HÍDRICO:

En el análisis global de los resultados se pudo apreciar como el híbrido de maíz utilizado presenta resistencia al estrés por salinidad. Se comprobó como en la mayoría de parámetros, el tratamiento con salinidad moderada de 40 mM NaCl no afectó significativamente a los valores obtenidos con respecto al control. En el caso de la evapotranspiración, se observó como las plantas sometidas a 40 mM NaCl obtuvieron valores de evapotranspiración significativamente por encima de los alcanzados por el control. Esto sugiere que el maíz utilizado presenta resistencia al estrés salino ya que los valores en caso de no ser un genotipo resistente deberían de haber estado por debajo del control ya que la salinidad provoca vía Ácido Abscísico (ABA) el cierre de los estomas para evitar la pérdida de agua por evapotranspiración (Wilkinson *et al.*, 2007). A este resultado frente a la concentración 40 mM NaCl se unen otros como los valores obtenidos de G y E y los valores de potencial hídrico del xilema; en los cuales vemos como no existen diferencias respecto al control. Los valores de los parámetros fotosintéticos y actividades antioxidantes, donde el tratamiento de salinidad moderada produjo un aumento significativo de las mismas, indicó que resistían bien el estrés salino vía enzimática. Esto encaja con la descripción del híbrido en el catálogo comercial en el cual se indica su elevado grado de adaptabilidad y tolerancia a la sequía (PIONEER, 2017).

5. CONCLUSIONES:

De manera global el tratamiento 100 mM NaCl afectó significativamente a los parámetros de crecimiento, hídricos y fotosintéticos del híbrido de maíz evaluado. El tratamiento moderado (40 mM NaCl) no afectó significativamente a los parámetros evaluados. En el híbrido de maíz, la salinidad moderada se asocia a un incremento de la

actividad antioxidante. Los resultados obtenidos sobre los efectos del estrés salino en fases tempranas del crecimiento y desarrollo indicaron que el híbrido P9684 tiene un buen comportamiento frente a estrés salino moderado-bajo. Se concluyó que es un híbrido adecuado para cultivo en suelos con cierto grado de salinidad.

6. BIBLIOGRAFÍA:

Abrol, I. P., Yadav, J. S. P. y Massoud, F. I. (1988) *Salt-Affected Soils and their Management*, 39. Disponible en: <http://www.fao.org/3/x5871e/x5871e00.htm> (Accedido: 22 de junio de 2021).

Akhter Banu, M. N., Hoque, M. A., Watanabe-Sugimoto, M., Islam, M. M., Uraji, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y. y Murata, Y. (2010) "Proline and glycinebetaine ameliorated NaCl stress via scavenging of hydrogen peroxide and methylglyoxal but not superoxide or nitric oxide in tobacco cultured cells", *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74(10), pp. 2043–2049.

Arnon, D. I. (1949) "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*", *Plant Physiology*, 24(1), pp. 1–15.

Astorga redacción (2020). Disponible en: <http://astorgaredaccion.com/art/26340/la-provincia-mantiene-el-liderazgo-en-espana-de-la-produccion-de-maiz-con-cerca-de-72000-hectareas-de-cultivo#:~:text=La superficie de maíz sembrada,importancia por Aragón y Extremadura.> (Accedido: 18 de mayo de 2021).

Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (2008) *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2ª. ed. Madrid: Mc Graw Hill.

Blake, M. (2015) *Maize for the Gods. Unearthing the 9,000-Year History of Corn*. Oakland: University of California Press.

Buege, J. A. y Aust, S. D. (1978) "Microsomal lipid peroxidation" en Fleischer, S. y Packer, L. (eds). *Methods in Enzymology*. 52.ª ed. Academic Press, pp. 302-310.

Cheeseman, J. M. (2006) "Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions", *Journal of Experimental Botany*, 57(10), pp. 2435–2444.

Comisión Europea (2021) *Estadísticas de cereales. Estadísticas sobre los precios semanales, mensuales, mundiales de los cereales y la producción y el comercio en la UE*. Disponible en: https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/facts-and-figures/markets/overviews/market-observatories/crops/cereals-statistics_es#accept (Accedido: 18 de mayo de 2021).

Dabrowski, P., Baczewska, A. H., Pawluśkiewicz, B., Paunov, M., Alexantrov, V., Goltsev, V. y Kalaji, M. H. (2016) "Prompt chlorophyll a fluorescence as a rapid tool for diagnostic changes in PSII structure inhibited by salt stress in *Perennial ryegrass*", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 157, pp. 22–31.

Droillard, M. J., Paulin, A. y Massot, J. C. (1987) "Free radical production, catalase and superoxide dismutase activities and membrane integrity during senescence of petals of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*)", *Physiologia Plantarum*, 71, pp. 197–202.

- El-Katony, T. M., El-Bastawisy, Z. M. y El-Ghareeb, S. S. (2019) "Timing of salicylic acid application affects the response of maize (*Zea mays* L.) hybrids to salinity stress", *Heliyon*, 5. doi: 10.1016/j.heliyon.2019. e01547.
- FAO (1992) *El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Análisis mundial y por regiones. La pesca marítima y el derecho del mar: un decenio de cambio*. (Colección FAO: Agricultura N 25). Roma.
- FAO (2011) *El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Las mujeres en la agricultura.*, Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. Roma.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A. y Siddique, K. H. M. (2015) "Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review", *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), pp. 461–481.
- George, E., Horst, W. J. y Neumann, E. (2012) "Adaptation of Plants to Adverse Chemical Soil Conditions" en Marscher, H. (ed.) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3ª.ed. Elsevier Ltd, 409-472.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G. y Cicek, N. (2007) "Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity", *Journal of Plant Physiology*, 164, pp. 728–736.
- Guo, R., Shi, L. X., Yan, C., Zhong, X., Gu, F. X., Liu, Q., Xia, X. y Li, H. (2017) "Ionic and metabolic responses to neutral salt or alkaline salt stresses in maize (*Zea mays* L.) seedlings", *BMC Plant Biology*, 17(1), pp. 1–13.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. y Handa, A. K. (1987) "Cellular mechanisms of salinity tolerance", *Horstscience*, 21, pp. 1317–1324.
- ISTA (2006) *International Rules for Seed Testing*. 2006 ed. Bassersdorf, CH-Switzerland: International Seed Testing Association (ISTA).
- ITAJCyL (2021) [Web oficial del Instituto Tecnológico Agrario]. Disponible en: <http://mcsncyl.itacyl.es/> (Accedido: 2 de junio de 2021).
- Ivushkin, K., Bartholomeus, H., Bregt, A. K., Pulatov, A., Kempen, B. y de Sousa, L. (2019) "Global mapping of soil salinity change", *Remote Sensing of Environment*, 231, doi: 10.1016/j.rse.2019.111260 .
- Mansour, M. M. F., Salama, K. H. A., Ali, F. Z. M. y Abou Hadid, A. F. (2005) "Cell and plant responses to NaCl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance", *Gen. Appl. Plant Physiol*, 31(1–2), pp. 29–41.
- Mateo-Sagasta, J. y Burke, J. (2011) "Interacciones entre agricultura y calidad del agua: una visión global". *Informe temático de antecedentes de SOLAW-TR08*, 46.
- McCORMICK. *Power Technology* (2020). Disponible en: <https://www.mccormick.it/es/todos-los-datos-actualizados-sobre-la-produccion-de-maiz-en-el-mundo/#:~:text=Según las previsiones del Departamento,de toneladas en 2018-2019.> (Accedido: 18 de mayo de 2021).

- Misra, A. N., Sahu, S. M., Misra, M., Singh, P., Meera, I., Das, N., Kar, M. y Sahu, P. (1997) "Sodium chloride induced changes in leaf growth, and pigment and protein contents in two rice cultivars", *Biologia Plantarum*, 39(2), pp. 257–262.
- Munns, R. y Tester, M. (2008) "Mechanisms of salinity tolerance", *Annual Review of Plant Biology*, 59, pp. 651–681.
- Paliwal, R. Granados, G., Lafitte, H. R. y Violic, A. D. (2001) *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Marathée, J. P. (ed.). Roma: FAO.
- PIONEER (2017) "*Castilla y León todo un Mundo de nuevas posibilidades*". Servicio agronómico Pioneer.
- Qu, C., Liu, C., Gong, X., Li, C., Hong, M., Wang, L. y Hong, F. (2012) "Impairment of maize seedling photosynthesis caused by a combination of potassium deficiency and salt stress", *Environmental and Experimental Botany*, 75, pp. 134–141.
- Rengasamy, P. (2010) "Soil processes affecting crop production in salt-affected soils", *Functional Plant Biology*, 37, pp. 613–620.
- Rhodes, D. (1987) "Metabolic responses to stress", en Stumpf, P. y Conn, E. E. (eds.) *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*. New York: Academic Press, pp. 201–241.
- Shabala, S., Wu, H. y Bose, J. (2015) "Salt stress sensing and early signalling events in plant roots: Current knowledge and hypothesis", *Plant science*, 241, pp. 109–119.
- Soares, A. L. C., Geilfus, C. M. y Carpentier, S. C. (2018) "Genotype-specific growth and proteomic responses of maize toward salt stress", *Frontiers in Plant Science*, 9(mayo), pp. 1–15.
- Sukma, K. P. W., Suprapti, I., Daryono, B. S. y Purnomo (2019) "Germination and seedling growth of hybrid and madura local corn on salt stress", *Advances in Engineering Research*, 194, pp. 59–62.
- Wilkinson, S., Bacon, M. A. y Davies, W. J. (2007) "Nitrate signalling to stomata and growing leaves: Interactions with soil drying, ABA, and xylem sap pH in maize", *Journal of Experimental Botany*, 58(7), pp. 1705–1716.
- Yang, C. W., Wang, P., Li, C. Y., Shi, D. C. y Wang, D. L. (2008) "Comparison of effects of salt and alkali stresses on the growth and photosynthesis of wheat", *Photosynthetica*, 46(1), pp. 107–114.
- Yang, Y. y Guo, Y. (2017) "Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses", *New Phytologist*, 217(2), pp. 523–539.
- Yu, J., Li, Y., Han, G., Zhou, D., Fu, Y., Guan, B., Wang, G., Ning, K., Wu, H. y Wang, J. (2014) "The spatial distribution characteristics of soil salinity in coastal zone of the Yellow river delta", *Environmental Earth Sciences*, 72(2), pp. 589–599.
- Zhang, Y., Lv, Y., Jahan, N., Chen, G., Ren, D. y Guo, L. (2018) "Sensing of abiotic stress and ionic stress responses in plants", *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), pp. 1–16.
- Zhu, J., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. y Bohnert, H. J. (1997) "Molecular aspects of osmotic stress in plants", *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16(3), pp. 253–277.

ANEXO I: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- 1. PRUEBA DE NORMALIDAD.**
- 2. PUEBA DE HOMOCEDASTICIDAD.**
- 3. CLASIFICACIÓN DE LAS VARIABLES EN PÀRAMÉTRICAS Y NO PARAMÉTRICAS.**
- 4. ANÁLISIS DE PRUEBAS PARAMÉTRICAS.**
 - 4.1 ANOVA 1 VÍA.**
 - 4.2 PRUEBA POST-HOC. TEST DE TUKEY.**
- 5 ANALISIS DE PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS. KRUSKAL-WALLIS.**
 - 5.1 PRUEBA POST-HOC. U DE MANN-WHITNEY.**

ABREVIATURAS:

(Longitud tallo)-**LTallo**

(Longitud raíz)-**LRaíz**

(Peso fresco tallo)-**Pft**

(Peso seco tallo)-**Pst**

(Peso fresco raíz)-**Pfr**

(Peso seco raíz)-**Psr**

(Área foliar)-**Af**

(Clorofila)-**Clrf**

(Rendimiento cuántico efectivo_21 días)-**RCE_21**

(Rendimiento cuántico efectivo_28 días)-**RCE_28**

(Potencial matricial xilema luz)-**PHX-L**

(Potencial matricial xilema oscuridad)-**PHX-O**

(Lipoperoxidación)-**LPX**

(Actividad catalasa)-**CAT**

(Concentración de peróxido)-**H₂O₂**

(Actividad superóxido dismutasa)-**SOD**

(Evapotranspiración acumulada)-**ETa**

1. PRUEBA DE NORMALIDAD:

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		LTallo	LRaiz	Pfr	Psr	Pft	Pst	Af	Clrf	RCE_21	PHX L	PHX O	LPX	CAT	H2O2
N		15	13	15	15	15	15	15	14	30	18	18	36	24	24
Parámetros normales ^{a,b}	Media	39,220000	13,607692	368,140000	56,953333	1365,846667	131,320000	32,392667	2,139643	,568367	-3,778889	-3,146111	,025556	,001109	33,928750
	Dev. Desviación	5,2563159	4,1336952	141,2694882	19,8812858	428,2651363	37,4002139	8,5239012	,7693965	,0769857	2,3515924	1,5221469	,0039601	,0005739	2,9337249
Máximas diferencias extremas	Absoluto	,132	,155	,204	,194	,183	,165	,263	,169	,206	,333	,143	,102	,137	,156
	Positivo	,132	,155	,204	,194	,183	,165	,263	,169	,164	,164	,081	,102	,137	,156
	Negativo	-,131	-,113	-,082	-,188	-,113	-,113	-,117	-,106	-,206	-,333	-,143	-,100	-,127	-,111
Estadístico de prueba		,132	,155	,204	,194	,183	,165	,263	,169	,206	,333	,143	,102	,137	,156
Sig. asintótica(bilateral)		,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,095 ^c	,133 ^c	,188 ^c	,200 ^{c,d}	,006 ^c	,200 ^{c,d}	,002 ^c	,000 ^c	200 ^{c,d}	200 ^{c,d}	200 ^{c,d}	,135 ^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

d. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		SOD	ETa
N		24	18
Parámetros normales ^{a,b}	Media	,14892	215,1306
	Dev. Desviación	,098143	16,55960
Máximas diferencias extremas	Absoluto	,168	,162
	Positivo	,168	,161
	Negativo	-,125	-,162
Estadístico de prueba		,168	,162
Sig. asintótica(bilateral)		,079 ^c	,200 ^{c,d}

Para valores de $p > 0,05$ se determina que las variables siguen una distribución normal.

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que las variables no siguen una distribución normal.

2. PRUEBA DE HOMOCEASTICIDAD:

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
LTallo	Se basa en la media	2,428	2	12	,130
	Se basa en la mediana	,206	2	12	,817
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,206	2	9,090	,818
	Se basa en la media recortada	2,168	2	12	,157
LRaiz	Se basa en la media	3,309	2	10	,079
	Se basa en la mediana	1,442	2	10	,282
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,442	2	7,049	,299
	Se basa en la media recortada	3,402	2	10	,075
Pfr	Se basa en la media	,569	2	12	,581
	Se basa en la mediana	,219	2	12	,806
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,219	2	10,230	,807
	Se basa en la media recortada	,515	2	12	,610
Psr	Se basa en la media	,129	2	12	,880
	Se basa en la mediana	,172	2	12	,844
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,172	2	11,464	,845
	Se basa en la media recortada	,123	2	12	,886
Pft	Se basa en la media	,742	2	12	,497
	Se basa en la mediana	,369	2	12	,699
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,369	2	7,636	,703
	Se basa en la media recortada	,611	2	12	,559
Pst	Se basa en la media	1,232	2	12	,326
	Se basa en la mediana	,436	2	12	,657
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,436	2	7,366	,662
	Se basa en la media recortada	1,137	2	12	,353

Clrf	Se basa en la media	1,361	2	11	,296
	Se basa en la mediana	,877	2	11	,443
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,877	2	6,410	,460
	Se basa en la media recortada	1,324	2	11	,305
CAT	Se basa en la media	1,139	2	21	,339
	Se basa en la mediana	,980	2	21	,392
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,980	2	18,167	,394
	Se basa en la media recortada	1,183	2	21	,326
H2O2	Se basa en la media	,176	2	21	,840
	Se basa en la mediana	,159	2	21	,854
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,159	2	17,317	,854
	Se basa en la media recortada	,166	2	21	,848

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
SOD	Se basa en la media	7,623	2	21	,003
	Se basa en la mediana	3,497	2	21	,049
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	3,497	2	13,103	,061
	Se basa en la media recortada	7,371	2	21	,004
ETa	Se basa en la media	1,705	2	15	,215
	Se basa en la mediana	,667	2	15	,528
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,667	2	12,572	,530
	Se basa en la media recortada	1,640	2	15	,227

Para valores de $p > 0,05$ se determina que las variables cumplen homocedasticidad

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que las variables no cumplen homocedasticidad.

3. CLASIFICACIÓN DE LAS VARIABLES EN PARAMÉTRICAS Y NO PARAMÉTRICAS.

VARIABLES PARAMÉTRICAS	VARIABLES NO PARAMÉTRICAS
(Longitud de tallo)-Ltallo	(Potencial matricial xilema luz)-PHX-L
(Longitud de raíz)-Lraíz	(Potencial matricial xilema oscuridad)-PHX-O
(Peso fresco raíz)-Pfr	(Lipoperoxidación)-LPX
(Peso seco raíz)-Psr	(Área foliar)-Af
(Peso fresco tallo)-Pft	(Rendimiento cuántico efectivo_21 días)-RCE_21
(Peso seco tallo)-Pst	(Actividad superóxido dismutasa)-SOD
(Clorofila)-Clrf	
(Actividad catalasa)-CAT	
(Concentración de peróxido)-H ₂ O ₂	
Evapotranspiración acumulada-(ETa)	

4. ANALISIS VARIABLES PARAMÉTRICAS:

4.1 ANOVA (1vía)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
LTallo	Entre grupos	148,204	2	74,102	3,727	,055
	Dentro de grupos	238,600	12	19,883		
	Total	386,804	14			
LRaiz	Entre grupos	157,959	2	78,979	16,772	,001
	Dentro de grupos	47,091	10	4,709		
	Total	205,049	12			
Pfr	Entre grupos	125044,624	2	62522,312	4,861	,028
	Dentro de grupos	154354,332	12	12862,861		
	Total	279398,956	14			
Psr	Entre grupos	2981,841	2	1490,921	7,011	,010
	Dentro de grupos	2551,876	12	212,656		
	Total	5533,717	14			
Pft	Entre grupos	700693,969	2	350346,985	2,252	,148
	Dentro de grupos	1867060,408	12	155588,367		
	Total	2567754,377	14			
Pst	Entre grupos	4958,716	2	2479,358	2,034	,173
	Dentro de grupos	14624,148	12	1218,679		
	Total	19582,864	14			
Clrf	Entre grupos	,392	2	,196	,295	,750
	Dentro de grupos	7,304	11	,664		
	Total	7,696	13			
CAT	Entre grupos	,000	2	,000	4,822	,019
	Dentro de grupos	,000	21	,000		
	Total	,000	23			
H2O2	Entre grupos	8,847	2	4,424	,491	,619
	Dentro de grupos	189,108	21	9,005		
	Total	197,955	23			

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ETa	Entre grupos	1825,478	2	912,739	4,827	,024
	Dentro de grupos	2836,270	15	189,085		
	Total	4661,748	17			

Para valores de $p < 0,05$ se determina que existen diferencias entre los tratamientos.

Para valores $p \geq 0,05$ se determina que no existen diferencias entre los tratamientos.

4.2 ANALISIS POST-HOC PARA VARIABLES PARAMÉTRICAS.

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

Variable dependiente	(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
LTallo	0	1	5,3800000	2,8201655	,179	-2,143817	12,903817
		2	7,4600000	2,8201655	,052	-,063817	14,983817
	1	0	-5,3800000	2,8201655	,179	-12,903817	2,143817
		2	2,0800000	2,8201655	,747	-5,443817	9,603817
	2	0	-7,4600000	2,8201655	,052	-14,983817	,063817
		1	-2,0800000	2,8201655	,747	-9,603817	5,443817
LRaiz	0	1	6,0000000*	1,3724528	,004	2,237702	9,762298
		2	8,4266667*	1,5847720	,001	4,082339	12,770994
	1	0	-6,0000000*	1,3724528	,004	-9,762298	-2,237702
		2	2,4266667	1,5847720	,318	-1,917661	6,770994
	2	0	-8,4266667*	1,5847720	,001	-12,770994	-4,082339
		1	-2,4266667	1,5847720	,318	-6,770994	1,917661
Pfr	0	1	12,5200000	71,7296619	,983	-178,844958	203,884958
		2	199,6400000*	71,7296619	,041	8,275042	391,004958
	1	0	-12,5200000	71,7296619	,983	-203,884958	178,844958
		2	187,1200000	71,7296619	,055	-4,244958	378,484958
	2	0	-199,6400000*	71,7296619	,041	-391,004958	-8,275042
		1	-187,1200000	71,7296619	,055	-378,484958	4,244958
Psr	0	1	13,8200000	9,2229352	,326	-10,785534	38,425534
		2	34,3200000*	9,2229352	,008	9,714466	58,925534
	1	0	-13,8200000	9,2229352	,326	-38,425534	10,785534
		2	20,5000000	9,2229352	,107	-4,105534	45,105534
	2	0	-34,3200000*	9,2229352	,008	-58,925534	-9,714466
		1	-20,5000000	9,2229352	,107	-45,105534	4,105534
Pft	0	1	-217,3600000	249,4701323	,668	-882,912300	448,192300
		2	309,3800000	249,4701323	,454	-356,172300	974,932300
	1	0	217,3600000	249,4701323	,668	-448,192300	882,912300
		2	526,7400000	249,4701323	,129	-138,812300	1192,292300
	2	0	-309,3800000	249,4701323	,454	-974,932300	356,172300
		1	-526,7400000	249,4701323	,129	-1192,292300	138,812300
Pst	0	1	-2,8600000	22,0787590	,991	-61,763119	56,043119
		2	37,0600000	22,0787590	,253	-21,843119	95,963119
	1	0	2,8600000	22,0787590	,991	-56,043119	61,763119
		2	39,9200000	22,0787590	,209	-18,983119	98,823119
	2	0	-37,0600000	22,0787590	,253	-95,963119	21,843119

		1	-39,9200000	22,0787590	,209	-98,823119	18,983119
Clrf	0	1	-,1840000	,5153664	,933	-1,575931	1,207931
		2	-,4197500	,5466286	,729	-1,896116	1,056616
	1	0	,1840000	,5153664	,933	-1,207931	1,575931
		2	-,2357500	,5466286	,903	-1,712116	1,240616
	2	0	,4197500	,5466286	,729	-1,056616	1,896116
		1	,2357500	,5466286	,903	-1,240616	1,712116
CAT	0	1	-,0007625*	,0002486	,015	-,001389	-,000136
		2	-,0002763	,0002486	,518	-,000903	,000350
	1	0	,0007625*	,0002486	,015	,000136	,001389
		2	,0004863	,0002486	,148	-,000140	,001113
	2	0	,0002763	,0002486	,518	-,000350	,000903
		1	-,0004863	,0002486	,148	-,001113	,000140
H2O2	0	1	-1,4837500	1,5004269	,592	-5,265682	2,298182
		2	-,8300000	1,5004269	,846	-4,611932	2,951932
	1	0	1,4837500	1,5004269	,592	-2,298182	5,265682
		2	,6537500	1,5004269	,901	-3,128182	4,435682
	2	0	,8300000	1,5004269	,846	-2,951932	4,611932
		1	-,6537500	1,5004269	,901	-4,435682	3,128182

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Variable dependiente	(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
ETa	0	1	-11,32571	7,65024	,328	-31,1970	8,5456
		2	14,54029	8,05165	,201	-6,3736	35,4542
	1	0	11,32571	7,65024	,328	-8,5456	31,1970
		2	25,86600*	8,32653	,019	4,2381	47,4939
	2	0	-14,54029	8,05165	,201	-35,4542	6,3736
		1	-25,86600*	8,32653	,019	-47,4939	-4,2381

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que no existen diferencias los tratamientos correspondientes.

Para valores de $p < 0,05$ se determina que existen diferencias entre los tratamientos correspondientes

0 → Control

1 → 40 mM

2 → 100 mM

5. ANALISIS DE VARIABLES NO PARAMÉTRICAS:

Rangos

	tratamiento	N	Rango promedio
RCE_21	0	10	21,30
	1	10	15,00
	2	10	10,20
	Total	30	
Af	0	5	11,00
	1	5	8,80
	2	5	4,20
	Total	15	
PHX_L	0	7	9,79
	1	7	13,21
	2	4	2,50
	Total	18	
PHX_O	0	7	12,64
	1	6	10,58
	2	5	3,80
	Total	18	
LPX	0	12	13,63
	1	12	20,25
	2	12	21,63
	Total	36	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	RCE_21	Af	PHX_L	PHX_O	LPX
H de Kruskal-Wallis	8,003	6,020	10,547	8,478	3,992
gl	2	2	2	2	2
Sig. asintótica	,018	,049	,005	,014	,136

Rangos

	tratamiento	N	Rango promedio
SOD	0	8	12,50
	1	8	4,50
	2	8	20,50
	Total	24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

SOD	
H de Kruskal-Wallis	20,489
gl	2
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:

tratamiento

Para valores de $p < 0,05$ se determina que existen diferencias entre tratamientos.

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que no existen diferencias entre tratamientos.

5.1 U DE MANN-WHITNEY PARA VARIABLES NO PARAMÉTRICAS:

CONTROL vs. 100 Mm:

Rangos				
	tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
RCE_21	0	10	14,45	144,50
	2	10	6,55	65,50
	Total	20		
Af	0	5	7,60	38,00
	2	5	3,40	17,00
	Total	10		
PHX_L	0	7	8,00	56,00
	2	4	2,50	10,00
	Total	11		
PHX_O	0	7	9,00	63,00
	2	5	3,00	15,00
	Total	12		

Estadísticos de prueba^a

	RCE_21	Af	PHX_L	PHX_O
U de Mann-Whitney	10,500	2,000	,000	,000
W de Wilcoxon	65,500	17,000	10,000	15,000
Z	-2,987	-2,193	-2,676	-2,862
Sig. asintótica(bilateral)	,003	,028	,007	,004
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,002 ^b	,032 ^b	,006 ^b	,003 ^b

Rangos

	tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
SOD	0	8	4,50	36,00
	2	8	12,50	100,00
	Total	16		

Estadísticos de prueba^a

SOD

U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	36,000
Z	-3,361
Sig. asintótica(bilateral)	,001
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: tratamiento

b. No corregido para empates.

Para valores de $p < 0,05$ se determina que existen diferencias entre el Control y 100 mM.

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que no existen diferencias entre el Control y 100 mM.

CONTROL vs. 40 Mm:

Rangos

	tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
RCE_21	0	10	12,35	123,50
	1	10	8,65	86,50
	Total	20		
Af	0	5	6,40	32,00
	1	5	4,60	23,00
	Total	10		
PHX_L	0	7	5,79	40,50
	1	7	9,21	64,50
	Total	14		
PHX_O	0	7	7,64	53,50

1	6	6,25	37,50
Total	13		

Estadísticos de prueba^a

	RCE_21	Af	PHX_L	PHX_O
U de Mann-Whitney	31,500	8,000	12,500	16,500
W de Wilcoxon	86,500	23,000	40,500	37,500
Z	-1,399	-,940	-1,575	-,650
Sig. asintótica(bilateral)	,162	,347	,115	,516
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,165 ^b	,421 ^b	,128 ^b	,534 ^b

Rangos

	tratamiento	N	Rango promedio	Suma de rangos
SOD	0	8	12,50	100,00
	1	8	4,50	36,00
	Total	16		

Estadísticos de prueba^a

SOD

U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	36,000
Z	-3,363
Sig. asintótica(bilateral)	,001
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: tratamiento

b. No corregido para empates.

Para valores de $p < 0,05$ se determina que existen diferencias entre el Control y 40 mM.

Para valores de $p \geq 0,05$ se determina que no existen diferencias entre el Control y 40 mM.