

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
Facultad de Ciencias Agrarias

Tesis para la Obtención del Grado Académico de Doctora en Ciencias Agrarias
Cátedra de Genética y Mejoramiento Vegetal y Animal

**VARIABILIDAD EN EL PESO DE SEMILLAS DEL GÉNERO
TRICHLORIS (POACEAE) EN ARGENTINA Y SU EFECTO EN LA
RESPUESTA AL ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO**

ING. AGR. LORENA DEL ROSARIO MARINONI

Director: Dr. José F. Pensiero

Co-Directora: Dra. Edith L. Taleisnik

Integrante externo de la Comisión Asesora de Tesis: Dr. Roberto Fernández

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	II
TRIBUNAL EVALUADOR	III
PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS.....	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	X
ABREVIATURAS UTILIZADAS	XII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT	XV

AGRADECIMIENTOS

...al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado y permitirme trabajar en investigación.

...a mi casa de estudios, la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNL, por brindarme nuevamente formación profesional y permitirme realizar el Doctorado en Ciencias Agrarias.

...a mi director, José F. Pensiero, mi mentor y ejemplo a seguir. Por transmitirme esa pasión por nuestras plantas nativas. Por su confianza y dedicación.

...a mi co-directora, Edith Taleisnik, por sus valiosos aportes y predisposición. Y a su equipo de trabajo, por su hospitalidad y amabilidad al recibirme en su lugar de trabajo.

...a mi co-director de beca y compañero de cátedra, Juan M. Zabala, por confiar en mí y compartir sus conocimientos, su manera de trabajar, su persistencia y motivación.

...a mis compañeros de cátedra, Julio Giavedoni y Pablo Tomas, por compartir sus conocimientos, sus consejos y compañía.

...a mis queridas Eli Exner y Vero Kern. Por transmitirme su pasión por las plantas, por su gran amistad y su apoyo incondicional.

...a los demás compañeros de trabajo con quienes compartimos amenos e intrincados almuerzos y con quienes disfruté numerosos viajes de colectas: Geraldina Richard, Caro Cerino, Ana Luchetti, Carlos D'Angelo, Andrés Borttoluzi, Fer Aiello, Carlitos Dimundo y Damián Castro.

...a mis pasantes predilectos, Román Rosso y Janina Torres, por su ayuda incondicional.

...a mis padres, María Rosa y Ángel, por la vida, su apoyo incondicional y por su infinito amor.

...a mi compañero de vida, mi gran amor, Mariano, por su inagotable paciencia, por su apoyo incondicional y por su inmenso cariño.

...a mi familia y amigos por su apoyo incondicional.

...por último, y no menos importante, gracias a Dios. Por la familia, amigos y por las oportunidades que me ha dado en esta vida.

TRIBUNAL EVALUADOR DE TESIS

Dr. Mario Hugo URBANI, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste (FCA-UNNE) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Dr. Gustavo Enrique SCHRAUF, Facultad Agronomía, Universidad de Buenos Aires (FAUBA).

Dr. Juan Carlos TIVANO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral (FCA-UNL).

**PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESO DERIVADAS DE LA
PRESENTE TESIS**

Marinoni, L., A. Bortoluzzi, M. Parra-Quijano, J.M. Zabala & J.F. Pensiero. **2015.** Evaluation and improvement of the ecogeographical representativeness of a collection of the genus *Trichloris* in Argentina. Genet. Resour. Crop Evol. 62:593–604.

Marinoni, L. M. Bianchi. J.M. Zabala. E. Exner. J.F. Pensiero. **2016.** Relación entre peso de semillas y respuesta germinativa ante estrés osmótico en poblaciones del género *Trichloris*. IV Reunión de la Red Argentina de Salinidad, 28 y 29 de abril, Reconquista, Santa Fe. CD-ROM (ISSN 2469-2212).

Marinoni, L., J. Zabala, E. Exner & J. Pensiero. **2015.** Seed mass variation in *Trichloris* species and its relationships to ecogeographical variables. 5th International Symposium of Forage Breeding, 19 al 21 de octubre, CABA, Argentina.

Marinoni, L. A. Bortoluzzi. M. Parra-Quijano. J. Zabala & J. Pensiero. **2013.** Representatividad de una colección de *Trichloris* por caracterización ecogeográfica territorial (ELC). XLII Congreso Argentino de Genética. III Reunión Regional SAG-NOA, 20 al 23 de octubre, Salta, Salta. Journal of Basic & Applied Genetics (Suppl.), 24 (1): 204.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Antecedentes y descripción del género.....	2
2. Hipótesis generales	6
3. Objetivos generales.....	6
4. Lugar de trabajo y fuentes de financiamiento	6
CAPÍTULO II: VARIACIÓN INTER E INTRA ESPECÍFICA EN EL PESO DE SEMILLAS EN EL GÉNERO <i>TRICHLORIS</i>	8
1. Introducción.....	9
2. Hipótesis específicas.....	13
3. Objetivos específicos	13
4. Materiales y métodos	13
4.1. Germoplasma utilizado	13
4.2. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente materno y su relación con variables ecogeográficas.....	14
4.3. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente común y su correlación con el peso de semillas en el ambiente materno	16
4.4. Evaluación de la estrategia de compensación entre número y peso de semillas en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	20
4.5. Evaluación de la variación del peso de semillas en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en sitios contrastantes durante dos años consecutivos.....	21
5. Resultados.....	23
5.1. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente materno y su relación con variables ecogeográficas.....	23
5.2. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente común y su correlación con el peso de semillas en el ambiente materno	27
5.3. Evaluación de la estrategia de compensación entre número y peso de semillas en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	32
5.4. Evaluación de la variación del peso de semillas en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en sitios contrastantes durante dos años consecutivos.....	34

6. Discusión	38
--------------------	----

CAPÍTULO III: EFECTO DEL PESO DE SEMILLAS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GERMINATIVO DE POBLACIONES DE *T. CRINITA* Y *T. PLURIFLORA* EN CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO

1. Introducción	45
2. Hipótesis específicas	47
3. Objetivos específicos	47
4. Materiales y métodos	47
4.1. Evaluación del efecto del peso de semillas en la tolerancia a estrés hídrico y salino en la etapa germinativa, en poblaciones de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	47
4.2. Evaluación del efecto del ambiente de cosecha en la tolerancia a la salinidad en la etapa germinativa, en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	49
5. Resultados	50
5.1. Evaluación del efecto del peso de semillas en la tolerancia a estrés hídrico y salino en la etapa germinativa, en poblaciones de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	50
5.2. Evaluación del efecto del ambiente de cosecha en la tolerancia a la salinidad en la etapa germinativa, en poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	53
6. Discusión	60

CAPÍTULO IV: EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO SOBRE EL CRECIMIENTO INICIAL EN GENOTIPOS DE *T. CRINITA* Y *T. PLURIFLORA* SELECTOS POR SU ORIGEN GEOGRÁFICO Y EL PESO DE SEMILLAS.....

1. Introducción	66
2. Hipótesis específicas	69
3. Objetivos específicos	70
4. Materiales y métodos	70
4.1. Diseño experimental	70
4.2. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	72

4.3. Efecto del estrés salino sobre el crecimiento de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	73
5. Resultados	75
5.1. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	75
5.2. Efecto del estrés salino sobre el crecimiento de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	85
6. Discusión	98
6.1. Respuesta de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial.....	98
6.2. Respuesta de genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial.....	101
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	107
1. Discusión general.....	108
2. Conclusiones	110
BIBLIOGRAFÍA	112
ANEXO	140

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Morfología de <i>Trichloris crinita</i> (Lag.) Parodi y <i>T. pluriflora</i> E. Fourn	5
Figura 2: Entradas de la colección de <i>Trichloris</i> del Banco de Germoplasma de la FCA-UNL y distribución espacial del peso de semillas de las entradas de la colección	24
Figura 3: Variación interpoblacional del peso de semillas en los accesos evaluados de la colección de <i>Trichloris</i> del Banco de Germoplasma de la FCA-UNL.....	25
Figura 4: Ubicación geográfica donde se colectaron poblaciones de ambas especies del género <i>Trichloris</i>	27
Figura 5: Variación interpoblacional para peso de semillas y número de inflorescencias por planta en <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	29
Figura 6: Correlación entre peso de semillas de poblaciones de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> cultivadas en ambiente común y número de inflorescencias por planta y entre peso de semillas de poblaciones cosechadas en ambiente común y en ambiente de origen	30
Figura 7: Correlaciones entre peso de semilla y variables ecogeográficas del ambiente de origen.....	31
Figura 8: Gráficos de cajas (box-plot) para número de semillas por inflorescencia, número de semillas por planta y peso de semillas (g/1000 semillas) para poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	33
Figura 9: Correlación entre peso de semillas y número de semillas por inflorescencia y por planta para <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	34
Figura 10: Biplot resultante del análisis de componentes principales en la evaluación del peso de semillas en ambientes contrastantes para <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	37
Figura 11: Efecto del estrés hídrico y salino, respecto al testigo, en la germinación y tamaño de plántula en las especies del género <i>Trichloris</i>	51
Figura 12: Correlación entre peso de semillas y variables asociadas a la respuesta germinativa en presencia de estrés hídrico y salino y en ausencia de estrés en <i>Trichloris crinita</i>	52
Figura 13: Correlación entre peso de semillas y variables asociadas a la respuesta germinativa en presencia de estrés hídrico y salino y en ausencia de estrés en <i>Trichloris pluriflora</i>	53

Figura 14: Biplot resultante del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa en <i>T. crinita</i>	55
Figura 15: Biplot resultante del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa en <i>T. pluriflora</i>	57
Figura 16: Porcentaje de recuperación de la capacidad germinativa en semillas de poblaciones selectas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> cosechadas en distintos ambientes, al restablecerse las condiciones óptimas para la germinación luego de estar embebidas en solución salina (240 mM de NaCl por litro) durante 21 días	59
Figura 17: Diagrama de la metodología utilizada para imponer el estrés hídrico y salino, basado en Snow & Tingey (1985).....	71
Figura 18: Valores absolutos promedio (\pm DE) y valores relativos al testigo para las variables más representativas donde se observó interacción entre genotipo y tratamiento en la evaluación de la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial en genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	79
Figura 19: Actividad antioxidante no enzimática para los genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en condiciones de estrés hídrico.....	80
Figura 20: Biplot resultante del análisis de componentes principales en la evaluación de la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial, discriminado por tratamientos.....	84
Figura 21: Valores absolutos promedio (\pm DE) y valores relativos al testigo para las variables más representativas donde se observó interacción entre genotipo y tratamiento en la evaluación de la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial en genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	89
Figura 22: Valores promedios (\pm DE) hallados para variables asociadas a la excreción y concentración interna de iones Na^+ y K^+ en la evaluación de la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial, para genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	93
Figura 23: Biplot resultante del análisis de componentes principales en la evaluación de la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial, discriminado por tratamientos	97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Componentes de varianza a partir de las esperanzas de los cuadrados medios (ECM) del ANOVA para los factores especie (E) y población anidada dentro de especie ($P_{(E)}$), con p (2) especies, q (54/29) poblaciones y n (3) repeticiones por población	15
Tabla 2: Componentes de varianza a partir de las esperanzas de los cuadrados medios (ECM) del ANOVA para los factores especie (E) y población anidada dentro de especie ($P_{(E)}$), con p (2) especies, q (20/21) poblaciones y n (15-20) genotipos por población.....	18
Tabla 3: Poblaciones de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> seleccionadas por ambiente de origen y peso de semillas	21
Tabla 4: Caracterización de los sitios contrastantes de cultivo de poblaciones selectas de <i>Trichloris crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	22
Tabla 5: Peso de semillas y diferencias de peso de semillas en poblaciones simpátricas de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i>	26
Tabla 6: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales en la evaluación del peso de semillas en ambientes contrastantes en las especies del género <i>Trichloris</i>	36
Tabla 7: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa para cada especie del género <i>Trichloris</i> , en condiciones testigo y en salinidad	56
Tabla 8: Componentes de la varianza obtenidos a partir de las esperanzas de los cuadrados medios del ANVA para cada especie y tratamiento, para las variables asociadas a la respuesta germinativa	58
Tabla 9: Valores de <i>p</i> para los caracteres morfológicos y fisiológicos asociados al estrés oxidativo para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en la evaluación del efecto del estrés hídrico.....	76
Tabla 10: Valores de <i>p</i> para los caracteres morfológicos correspondiente a cada factor de variación (FV) del ANVA anidado, particionado por tratamiento testigo y estrés hídrico..	77
Tabla 11: Valores promedios absolutos (\pm DE) y relativos al testigo para las variables biomasa fresca, biomasa fresca radical, biomasa fresca de planta, biomasa seca de planta y longitud radical específica, para genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en condiciones de estrés hídrico.....	81

Tabla 12: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para la evaluación de la tolerancia al estrés hídrico en crecimiento inicial	82
Tabla 13: Valores de p para los caracteres morfológicos y fisiológicos asociados al estrés oxidativo para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en la evaluación del efecto del estrés salino en crecimiento inicial	86
Tabla 14: Valores de p para los caracteres morfológicos correspondiente a cada factor de variación (FV) del ANVA anidado, particionado por tratamiento: testigo y estrés salino ..	87
Tabla 15: Valores promedios absolutos (\pm DE) y relativos al testigo para las variables biomasa fresca aérea, biomasa fresca radical, biomasa fresca de planta, biomasa seca de planta y longitud radical específica, para genotipos de <i>T. crinita</i> y <i>T. pluriflora</i> en condiciones de estrés salino.....	91
Tabla 16: Valores de p de los caracteres asociados a la excreción y concentración interna de iones para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en el análisis de la tolerancia a estrés salino	92
Tabla 17: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para la evaluación de la tolerancia al estrés salino en crecimiento inicial	95

ABREVIATURAS UTILIZADAS

°C: grados Celsius

μmol: micromol

ACP: Análisis de Componentes Principales

ANVA: Análisis de la Varianza

Ca⁺⁺: ión Calcio

CE: conductividad eléctrica

CIB: Criterio de Información Bayesiano

Cl⁻: ión Cloro

cm: centímetro

CP: componente principal

CV: coeficiente de variación

DCA: diseño completamente aleatorizado

DE: desvío estándar

DMS: diferencia mínima significativa

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno

FCA: Facultad de Ciencias Agrarias

Fe⁺: ión Hierro

FIV: factor de Inflación de la Varianza

FRAP: capacidad de reducción férrica

g: gramo

HNO₃: ácido nítrico

K⁺: ión Potasio

L: litro

MDA: malondialdehído

Mg⁺⁺: ión Magnesio

ml: mililitro

mm: milímetro

mM: milimolar

MPa: Megapascal

N: normal

Na⁺: ión Sodio

NaCl: cloruro de sodio

PEG: polietilenglicol

PF: peso fresco

PFp: peso fresco de plántula

PGF: porcentaje de germinación final

PGI: porcentaje de germinación inicial

PS: peso de semillas

PS: peso seco

PSP: peso seco de plántula

UNL: Universidad Nacional del Litoral

RESUMEN

“Variabilidad en el peso de semillas del género *Trichloris* (Poaceae) en Argentina y su efecto en la respuesta al estrés hídrico y salino”

Las especies del género *Trichloris* son importantes gramíneas nativas de alto valor forrajero en los pastizales naturales de Argentina. *Trichloris pluriflora* crece en ambientes húmedos a semiáridos mientras que *T. crinita* crece hasta ambientes áridos, tolerando condiciones de salinidad. El peso de semillas es un factor condicionante en la implantación de especies en ambientes estresantes que caracterizan a los pastizales argentinos.

En el presente estudio se evaluó la variabilidad del peso de semillas en una colección de germoplasma representativa de la distribución del género en Argentina, y se investigó la relación entre el peso de semillas y el ambiente de origen de las poblaciones y su efecto en la tolerancia a estrés abiótico durante la germinación y crecimiento inicial.

Se cultivaron poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora* en ambiente común y se analizó la variabilidad observada en el peso de semillas y su relación con el peso de semillas y características ecogeográficas del ambiente de origen. Se cultivaron poblaciones selectas por peso de semillas y origen geográfico en ambientes contrastantes y se evaluó el peso de semillas. Se analizó la tolerancia a estrés osmótico en la etapa germinativa asociada al peso de semillas, y la tolerancia a salinidad en poblaciones selectas. Se evaluó el efecto del peso de semillas en la tolerancia a estrés hídrico y salino en crecimiento inicial.

Se halló variabilidad intraespecífica en el peso de semillas asociada al ambiente de origen. En *T. crinita*, dicha variabilidad estuvo asociada a la observada en su ambiente de origen, presentando un claro patrón geográfico de distribución del peso de semillas. El ambiente de cosecha condicionó el peso de semillas sólo en *T. pluriflora*. La tolerancia a estrés osmótico y salino en la etapa germinativa se vio favorecida en *T. crinita* por el peso de semillas, semillas más grandes generaron plántulas más grandes en condiciones estresantes. Sin embargo, en etapas posteriores, el peso de semillas ya no juega un rol importante sino que la respuesta en dichas condiciones estresantes está dada por caracteres ecofisiológicos adaptativos desarrollados por las especies en su ambiente de origen y fijados genéticamente.

PALABRAS CLAVES: *Trichloris*, peso de semillas, estrés hídrico, estrés salino, adaptación.

ABSTRACT

“Seed weight variability of the genus *Trichloris* (Poaceae) in Argentina and its effect on responding to water and salt stress”.

Species of the genus *Trichloris* are important native forage resources in Argentinian rangelands. *T. pluriflora* grows in humid to semiarid environments whereas *T. crinita* grows also in arid and saline environments. The seed weight (SW) trait determines seedling survival in stressful conditions, proper of Argentinian rangelands.

SW variability from a germplasm collection, representative of the distribution range of the genus *Trichloris* in Argentina, was evaluated in the present study. Relationship between SW and original environment of populations was analysed. Additionally, the SW effect on abiotic stress tolerance during germination and later growth was evaluated.

Populations of *T. crinita* and *T. pluriflora* were cultivated in a common garden. SW variability at common and original environment and its correlation were analysed. Besides correlations between SW and ecogeographical variables of original environment were assessed. Populations selected for SW and geographical origin were cultivated in contrasting environments and their SW variability was evaluated. Further, the effect of SW in water and salt stress tolerance was analysed at germination and initial growth stages.

SW variability at intraspecific level was found and such variability was associated to original environment revealing an adaptive pattern. In *T. crinita*, SW variability was correlated to SW from original environment showing a clearer geographical distribution pattern of SW than *T. pluriflora*. The environment of harvest affected the SW obtained only in *T. pluriflora*. The osmotic and salt stress tolerance during germination was favoured by SW in *T. crinita*, heavier seeds produced bigger seedlings in stressful conditions. However, the tolerance to drought and salinity in later stages was not associated to SW but adaptive ecophysiological traits developed by populations in their original environment and genetically fixed played an essential role.

KEYWORDS: *Trichloris*, seed weight, water stress, salt stress, adaptation.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN GENERAL

1. ANTECEDENTES Y DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO

Los ecosistemas áridos, semiáridos y salinos cubren una gran superficie del planeta y de nuestro país (Abrol et al., 1988; Reynolds et al., 2007). Aproximadamente dos tercios del territorio argentino están asociados con ecosistemas de pastizales áridos (60 %) y semiáridos (15%) (Fernández & Busso, 1997), siendo el país con la mayor cobertura de suelos afectados por salinidad y sodicidad en Sudamérica (Abrol et al., 1988). Adicionalmente, a esta condición natural del territorio se ha sumado en los últimos años la aceleración de la degradación y salinización de los suelos a causa de la actividad antrópica y el cambio climático (Geist & Lambin, 2004; Reynolds et al., 2007; FAOSTAT, 2012), por lo que la rehabilitación y restauración de los ecosistemas naturales han adquirido gran relevancia desde el punto de vista productivo y ecológico (Maestre et al. 2001; Bradley St Clair et al., 2013; Havens et al., 2015).

Es conocido el valor potencial de las especies vegetales nativas de ambientes áridos (González & Dodd, 1979; Passera et al., 1992; Blanco et al., 2005; Quiroga et al., 2009) y salinos (Harlan, 1976; Aronson, 1985, Flowers & Flowers, 2005; Colmer et al., 2006) como recursos genéticos para la rehabilitación de ecosistemas degradados. Los recursos fitogenéticos nativos son el producto de un largo proceso de selección natural y de adaptación a las variaciones propias del ambiente (Endler, 1986; Bradley St. Clair et al., 2013). La domesticación de dichas especies para su introducción a cultivo y/o la identificación de genes relacionados con la tolerancia, requieren programas a largo plazo de colección, conservación y caracterización. Estas especies poseen mecanismos morfológicos y fisiológicos que les permiten tolerar las adversidades de su hábitat, los cuales pueden ser fijos o plásticos (Couso & Fernandez, 2012) o, como los denomina Blum (2010), constitutivos y en repuesta al estrés, respectivamente. Dichos mecanismos son utilizados actualmente como criterios de selección en los programas de mejora vegetal para estreses abióticos.

La identificación de caracteres fijados evolutivamente, como el peso de semillas y la conservación de la variabilidad de dicho carácter asociada al ambiente, permite el desarrollo de estrategias de manejo adaptables que pueden ayudar a reconstruir la resiliencia de los ecosistemas y lo más importante, identificar las poblaciones más adecuadas para su restauración (Cochrane et al. 2015). Se ha hallado, en tales condiciones

estresantes, que el incremento del peso de semillas favorece la germinación y establecimiento de plántulas (Gross & Smith, 1991; Leishman & Westoby, 1994; Khurana & Singh, 2000; Khan & Ungar, 2001; Daws et al., 2008; Easton & Kleindorfer, 2009). Esto es importante en gramíneas forrajeras estivales perennes, ya que la mayoría poseen semillas pequeñas. Por esto, el tamaño de semillas es un criterio de selección importante en programas de mejoramiento de especies forrajeras (Casler & Van Santen, 2010).

Trichloris (Poaceae, Chloridoideae) es un género americano, representado por sólo dos especies: *T. crinita* (Lag.) Parodi y *T. pluriflora* E. Fourn (Peterson, 2001). En el continente americano presentan una distribución disyunta, hallándose en Norteamérica en el sur de Estados Unidos y norte de México y luego en Sudamérica desde Ecuador hasta Argentina (Lloyd-Reilley, 2011; Lloyd-Reilley & Kadin, 2011; Rúgolo & Molina, 2012). En Argentina se distribuyen ampliamente desde las provincias de Neuquén y Río Negro hasta Salta (Zuloaga et al., 1994; Molina, 2006; Rúgolo & Molina, 2012). *Trichloris crinita* es frecuente en ambientes semiáridos correspondientes a las provincias fitogeográficas del Monte (Roig, 1971; Covas, 1978; Cabrera, 1994) y Chaqueña, en particular en el Distrito Occidental o Chaco Seco (Ragonese, 1956). *T. pluriflora*, en cambio, se la encuentra solamente en toda la provincia fitogeográfica Chaqueña, en ambientes con alta disponibilidad de luz, en bosques abiertos (Morello & Saravia Toledo, 1959; Bordón, 1981). Ambas especies son perennes, de ciclo primavero-estival, pastos C4 (Parodi, 1919), valoradas como forrajeras (Bragadín, 1959; Díaz, 1965a y b; Wainstein & González, 1971; Kunst et al., 1986, 1987, 1995, Rúgolo & Molina, 2012). Sin embargo, en términos generales, *T. crinita* ha sido más estudiada que *T. pluriflora*, lo que podría deberse a que la primera tolera ambientes más extremos, y a que ha sido señalada como una especie tolerante a defoliación, sequía y salinidad (Cavagnaro & Dalmasso, 1983; Aronson, 1989; Lloyd-Reilley & Kadin, 2011; Greco & Cavagnaro, 2002). Por lo mencionado, se considera que *T. crinita* es una especie halófila, ya que está adaptada a crecer en ambientes salinos, mientras que *T. pluriflora* es considerada glicófila (Greenway & Munns, 1980; Flowers et al, 1986).

Ambas especies del género *Trichloris* son preferentemente autógamas (Gutiérrez et al., 2016). La principal diferencia morfológica que separa a las especies es el número de antecios fértiles por espiguilla. *Trichloris crinita* posee el antecio inferior hermafrodita,

fructífero y 1-2 antecios superiores estériles, mientras que *T. pluriflora* posee 2-4 antecios inferiores hermafroditas y fructíferos y 1-3 antecios superiores estériles. Si bien el tamaño de las semillas de ambas especies varía, las de *T. crinita* alcanzan 1,5-2 mm de largo, mientras que las de *T. pluriflora* son algo mayores, de 2-2,5 mm de largo. Para esta última especie se ha reconocido, además de la forma tipo (*T. pluriflora* f. *pluriflora*), la forma *macra* (*T. pluriflora* f. *macra* Hack.), endémica de la provincia de Córdoba, la que se diferencia por presentar solo 2 antecios fructíferos en vez de los 3 o 4 que presenta la forma tipo (Rúgolo y Molina, 2012).

Otra característica morfológica que permite diferenciar ambas especies está relacionada con la arista que presenta la lemma, en particular de los antecios basales. En este género, la lemma es 3-aristada lo que permite diferenciarlo, entre otros caracteres, del género *Chloris* cuya lemma posee 1 arista. En *T. crinita* las aristas laterales son iguales o brevemente menores que la central, mientras que en *T. pluriflora* las aristas laterales son notablemente menores que la central. En ambas especies, la inflorescencia está formada por racimos espiciformes fasciculados en varios verticilos sobre un eje abreviado. Por otra parte, las especies se diferencian por sus portes, tallos y hojas. *Trichloris crinita* puede alcanzar 30-80 cm de altura, sus tallos son erectos, comprimidos, con rizomas cortos y estolones; las vainas de sus hojas son aquilladas y poseen pelos cerca de la lígula o en toda su superficie; sus láminas son de 15-25 cm de largo por 2-10 mm de ancho, y poseen pelos en ambas caras, siendo abundantes en algunos casos. *Trichloris pluriflora* son plantas más robustas, pudiendo alcanzar hasta 1.5 m de altura, sus tallos son erectos, cilíndricos, a menudo ramificados en los nudos; las vainas de sus hojas son redondeadas en su dorso, pudiendo ser glabras o escabrosas; sus láminas de 10-30 cm de largo por 5 a 12 mm de ancho, con pelos sólo en la cara adaxial, cerca de la lígula (Molina, 2006; Rúgolo & Molina, 2012) (Figura 1).

Ambas especies son poliploides y poseen el mismo número cromosómico básico ($n=x=10$) (Fedorov, 1969), característico de algunas especies de Chloridoideas (Roodt & Spies, 2003), pero difieren en el nivel de ploidía. *T. crinita* es una especie tetraploide ($2n=4x=40$) mientras que *T. pluriflora* es hexaploide ($2n=6x=60$) (Fedorov, 1969).

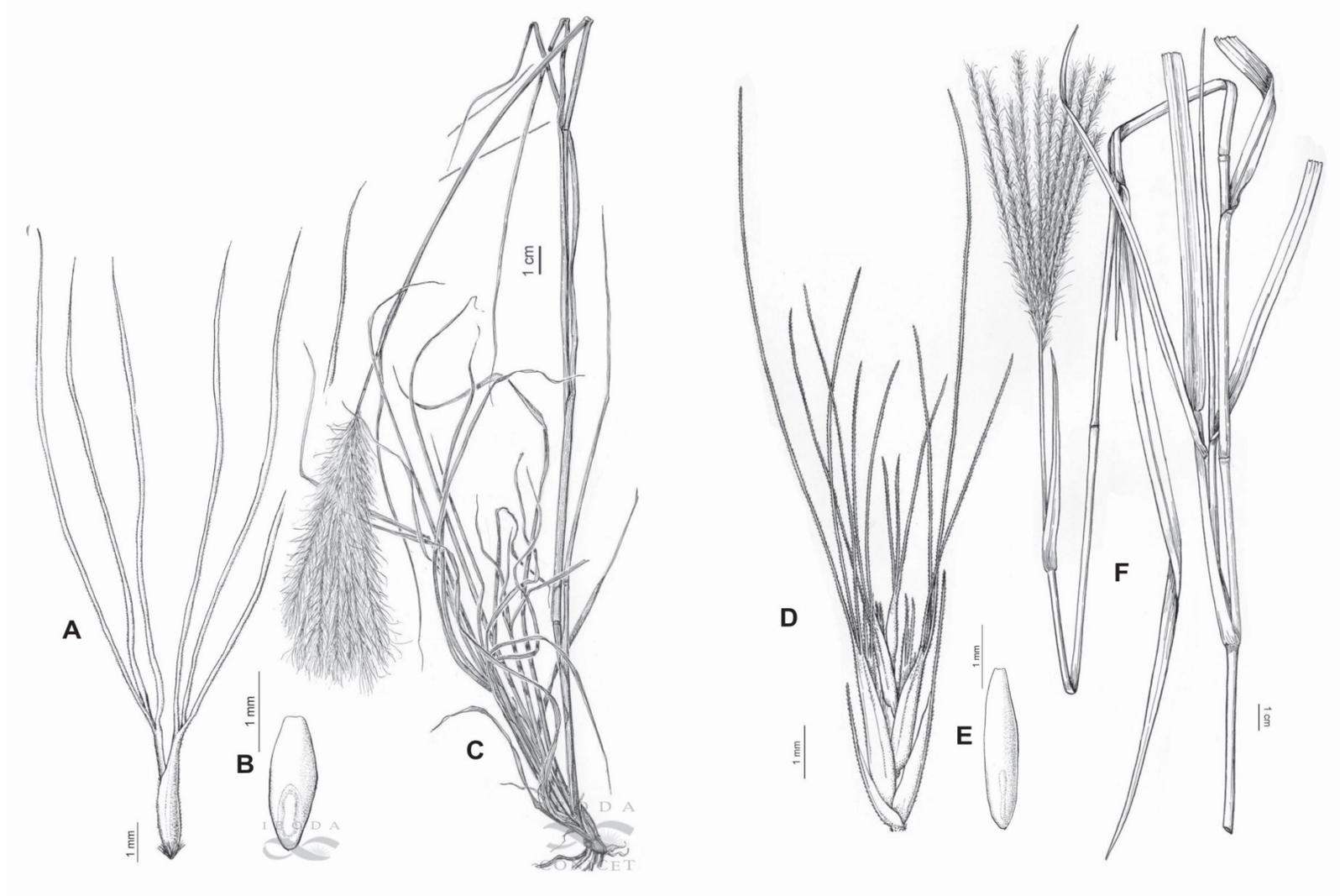


Figura 1: Morfología de *Trichloris crinita* (Lag.) Parodi y *T. pluriflora* E. Fourn. *Trichloris crinita*: A, antecios de la espiguilla; B, cariopsis; C, planta. *T. pluriflora*: D, espiguilla con sus antecios; E, cariopsis; F, macolla de la planta. Adaptado de Molina (2006) y Rúgolo y Molina (2012).

En el Banco de Germoplasma de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral (FCA-UNL), se conservan 54 poblaciones de *T. crinita* y 29 de *T. pluriflora* colectadas en ambientes áridos, semiáridos y húmedos de Argentina, la mayor parte de las cuales se estudian en la presente Tesis. Con la finalidad de lograr una mejora significativa de la representatividad ecogeográfica de la colección de *Trichloris* del Banco de Germoplasma de la FCA-UNL, se implementó una estrategia de colecta basada en la utilización de mapas de caracterización ecogeográfica del territorio (ELC), según la metodología propuesta por Parra-Quijano et al. (2012 b). Zabala et al. (2011 b) han encontrado, en algunas poblaciones de ambas especies, una significativa variación en el peso de semillas. Sin embargo, no existen estudios sobre la variación en el peso de semillas de ambas especies abarcando toda el área de distribución en Argentina, ni su efecto sobre la respuesta al estrés hídrico o salino.

2. HIPÓTESIS GENERALES

- Existe variación inter e intraespecífica en el género *Trichloris* para el peso de semillas.
- La variación en el peso de semillas en el género *Trichloris* está relacionada con la respuesta al estrés hídrico y salino.

3. OBJETIVOS GENERALES

- Analizar la variación para el peso de semillas en el género *Trichloris* en Argentina, entre especies y entre poblaciones dentro de las especies.
- Evaluar el efecto de la variación en el peso de semillas en poblaciones argentinas del género *Trichloris* en relación con su respuesta al estrés hídrico y salino.

4. LUGAR DE TRABAJO Y FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNL), correspondientes al Campo Experimental Juan Donnet (Esperanza, latitud -31.4424, longitud -60.9410) y al Laboratorio de Biología Aplicada y Biotecnología. El plan propuesto se desarrolló en el marco de: a) Proyecto CAI+D-UNL convocatoria 2009: “Colección y caracterización agronómica de germoplasma de los géneros *Trichloris* y *Sporobolus*”, b) Proyecto CAI+D-UNL convocatoria 2011: “Estudios en gramíneas nativas

con potencial forrajero para zonas semiáridas y de suelos salinos, c) PIP CONICET convocatoria 2012-2014: “Estudios agronómicos en *Trichloris crinita* y *Trichloris pluriflora* que permitan la identificación de materiales para su domesticación e introducción a cultivo”, d) Programa de Interés Institucional de la UNL sobre Documentación, Conservación y Valoración de la Flora Nativa.

CAPÍTULO II
VARIACIÓN INTER E INTRA ESPECÍFICA EN EL PESO DE
SEMILLAS EN EL GÉNERO *TRICHLORIS*

1. INTRODUCCIÓN

La adaptación vegetal puede ser definida como el grado en que un individuo o población es capaz de sobrevivir y reproducirse en un ambiente determinado con una única combinación de estreses bióticos y abióticos (Allard, 1988; Pérez de la Vega, 1996), y se la considera un factor importante en el mantenimiento del polimorfismo genético (Korona, 1996). Es conocido que el peso de semillas es un carácter relevante en el proceso adaptativo que interviene en el *fitness* de un individuo o población bajo ciertas condiciones ambientales (Cohen, 1966; Venable & Brown, 1988). El peso de semillas, dormición y dispersión son rasgos que han permitido a las plantas adaptarse a ambientes temporal y espacialmente heterogéneos (Venable, 2007). Numerosos estudios, desde diferentes enfoques, han sido llevados a cabo para comprender cómo el peso de semilla afecta distintos aspectos de la ecología vegetal (Leishmann et al., 2000; Moles et al., 2005). A pesar que en condiciones experimentales existe una correlación positiva entre tamaño de semilla y tolerancia a diversos estreses ambientales, la variación en poblaciones naturales para el tamaño de las semillas en relación con el estrés abiótico en el ambiente de origen depende de la especie analizada (Baker, 1972; Guo et al., 2000; Leishman et al., 2000). Es conocida la estrategia de algunas especies de producir semillas más pesadas para soportar el estrés abiótico, ya que estas poseen más reservas metabólicas en endosperma y embrión lo que da lugar a plántulas más grandes que afrontan mejor las adversidades en etapas tempranas del establecimiento (Leishman et al., 2000; Westoby et al., 2002; Rodríguez-Pérez & Traveset, 2007; Metz et al., 2010).

El peso de semillas varía enormemente entre especies (Westoby et al., 1992; Moles et al., 2005), dentro de la especie (Cochrane et al., 2015) e incluso en la misma planta (Michaels et al., 1988), y se considera que esta variabilidad refleja la adaptación de las plantas y poblaciones a diferentes condiciones ambientales (Westoby et al., 1992), con consecuencias en la germinación, crecimiento, supervivencia y capacidad de competencia (Susko & Lovett-Doust, 2000; Violle et al., 2009).

Si bien el peso de semilla ha sido históricamente relacionado a la adaptación vegetal, su uso generalizado ha sido cuestionado (Silvertown, 1989). Sin embargo, la diferenciación genética documentada para el peso de semillas enfatiza la posibilidad de que dicho carácter

sea adaptativo, ya que dicha variabilidad está asociada a la adaptación local en respuesta al ambiente (Silvertown, 1989; Metz et al., 2010; Nicotra et al., 2010).

El efecto materno, resultante tanto del ambiente como del genotipo de los progenitores, condiciona la expresión de los rasgos de la planta madre en la descendencia (Roach & Wulff, 1987; Donohue & Schmitt, 1998). Hay abundante evidencia de variación genética en especies vegetales por efecto materno (interacción genotipo materno- ambiente materno) (Donohue & Schmitt, 1998), que podría proporcionar la plasticidad adaptativa a través de generaciones (Mousseau & Fox, 1998). Las diferencias ambientales en una escala espacial suficientemente grande, proporcionan las condiciones adecuadas para la evolución de efectos maternos que dan lugar a la adaptación fenotípica (Galloway, 2005). Varios estudios sugieren que los efectos maternos sirven como una fuente de adaptación fenotípica a los ambientes locales (Donohue & Schmitt, 1998; Hangelbroek et al., 2003; Galloway, 2005). Por lo tanto, si existe un efecto materno adaptativo, con base genética en poblaciones naturales, los estudios en jardín común podrían detectar una diferenciación genética aparente debido a las diferencias ambientales experimentadas por las poblaciones naturales originales (Baskin & Baskin, 1973; Roach & Wulff, 1987), como respuesta evolutiva a la selección natural (Schmitt et al., 1992). Así como la estrategia de algunas especies es la adaptación local, otras utilizan la plasticidad fenotípica transgeneracional en respuesta al ambiente materno (Roach & Wulff, 1987; Donohue & Schmitt, 1998; Lacey & Herr, 2000; Donohue et al., 2005).

Existe evidencia de un fuerte control genético para el tamaño de semilla en especies vegetales silvestres y cultivadas (Sadras, 2007). Estudios en gramíneas cultivadas han reportado valores elevados de heredabilidad para tamaño de semillas, que varían entre 0,72 y 0,91 en sentido amplio (Belay et al., 1993; Lamadji et al., 1995; Moghaddam et al., 1997; Holland & Munkvold, 2001; Cisse & Ejeta, 2003) y entre 0,58 y 0,92 en sentido estricto (Oram, 1982; Boe, 2003; Mihaljevic et al., 2004; Peighambari et al., 2005). Doebley et al. (1994) y Tang et al. (2006) hallaron QTLs asociados en el control del peso de semilla que explican en menor o mayor medida la variación fenotípica para dicho carácter. Por otra parte, Luo et al. (2005) han identificado genes que controlan el tamaño de semilla a través de sus efectos en el tegumento, embrión y endosperma en varias especies.

Las especies vegetales nativas son el producto de un largo proceso de selección natural y de adaptación a las variaciones propias del ambiente, y es conocido su valor potencial como recursos genéticos para la introducción a cultivos, rehabilitación de ecosistemas degradados (Greco & Cavagnaro, 2005; Quiroga et al., 2009) o para la identificación de genes asociados a la tolerancia y/o resistencia a estrés bióticos y/o abióticos (Rao & Hodgkin, 2002; Bhullar et al., 2009; FAO 2010), por lo que su conservación y uso sostenible adquiere gran relevancia. Las plantas no se distribuyen al azar en el ambiente, su distribución está relacionada con el desarrollo de caracteres que les permiten adaptarse a distintas condiciones ecológicas (Halloy & Mark, 1996), por lo cual, la identificación de éstos caracteres adaptativos, en particular para las especies de importancia agronómica, resulta fundamental para la incorporación en programas de mejoramiento o para fines de restauración. Más aún, el incremento en el peso de semilla es un carácter prioritario en programas de domesticación de diversas especies (Casler & Van Santen, 2010),

Los principios de la ecogeografía se fundamentan en la predicción de patrones de variación genética en poblaciones naturales conforme a su origen ecogeográfico que podrían ser utilizados para la evaluación de patrones adaptativos (Peeters et al., 1990). La ecogeografía es la combinación de información climática, ecológica y geográfica que brinda beneficios potenciales para diversos estudios de recursos fitogenéticos para la agricultura o conservación biológica (Castañeda Álvarez et al., 2011). Su definición cambia continuamente, pero la esencia es la misma: se trata de la adaptación de las plantas a su entorno (Parra-Quijano et al., 2012 a). Esto es factible debido a la relación entre condiciones ambientales, genes y expresiones fenotípicas como consecuencia de la selección natural y la adaptación local (Greene & Hart, 1999). Pero ¿Qué atributos del ambiente materno se espera que influyan en la adaptación fenotípica al entorno local? Se sabe que variables como nutrientes del suelo, salinidad, sodicidad, entre otras, pueden variar en pequeña escala y no se espera un efecto materno adaptativo en tal sentido ya que las diferentes generaciones no serán expuestas a las mismas condiciones, como para que se genere una adaptación local (Galloway, 2005). Por lo cual, una escala espacial suficientemente grande en espacio debe ser evaluada para obtener resultados concluyentes a nivel de adaptación al ambiente materno.

Cochrane et al. (2015) consideran que la amplitud o rango del gradiente climático a través del cual una especie se distribuye podría explicar las diferencias entre poblaciones. En este sentido, numerosos estudios han sido llevados a cabo para demostrar la variabilidad inter e intra específica del peso de semillas en respuesta a gradientes ambientales naturales. Pluess et al. (2005) hallaron mayor presión de selección en especies con mayor peso de semilla a medida que se incrementa la altitud, contrariamente a lo reportado por Baker (1972). Parra-Quijano et al. (2012 b) y Völler et al. (2012) registraron un fuerte componente geográfico en la variación del peso de semillas. Moles et al. (2007) y Pakeman et al. (2008), al estudiar diversos hábitats, hallaron una correlación negativa entre peso de semillas y latitud.

La literatura consultada muestra al respecto del peso de semillas algunos antecedentes coincidentes, mientras otros demuestran una respuesta opuesta. En definitiva, cada especie posee su propia estrategia para garantizar el establecimiento a través de un elevado peso de semillas o produciendo más semillas de menor peso que favorezcan su supervivencia. Es posible que la estrategia de compensación entre peso y número de semillas sea particular para cada especie o condiciones ambientales, ya que semillas más grandes reflejan un equilibrio entre la reducción a corto plazo del éxito reproductivo (e.g. reducción en el número de semillas) en favor de la reducción de riesgos a largo plazo (Venable, 2007). Según Smith y Fretwell (1974) existe una variación genética en el peso de semilla en respuesta a la cual se ajusta el número de las mismas. Adicionalmente, la selección natural funciona como un proceso de optimización, que determina un número y tamaño óptimo de la descendencia (semillas) para una combinación particular de especie y ambiente (Messina & Fox, 2001).

En relación con el género *Trichloris*, Zabala et al. (2011 b) hallaron diferencias significativas en el peso de semillas de 6 poblaciones de cada especie provenientes de las provincias fitogeográficas Chaqueña y del Monte, no así entre especies. Estas diferencias no estuvieron asociadas al ambiente de origen de cada población. Las diferencias de peso de semillas entre dichas poblaciones fueron consistentes entre el ambiente de origen y el ambiente común.

2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

En el género *Trichloris*:

- 1- La variación en el peso de semillas es explicada en mayor medida por las diferencias entre poblaciones (intraespecíficas).
- 2- La variación en el peso de semillas está asociada a la adaptación local en respuesta al ambiente de origen.
- 3- El número de semillas por inflorescencia tienen un efecto compensatorio en el peso de semillas.
- 4- La diferencia para el peso de semillas entre poblaciones se mantiene en diferentes ambientes de cultivo.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analizar la variación del peso de semillas de poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora* colectadas en distintos escenarios ecogeográficos de Argentina.
- b) Analizar la variación del peso de semillas de poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora* en ambiente común y su asociación con variables ecogeográficas del ambiente materno.
- c) Evaluar la existencia de efecto compensatorio del número de semillas por inflorescencia en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* con diferente peso de semillas.
- d) Evaluar la variación del peso de semillas en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* con diferente peso de semillas, cultivadas en ambientes diferentes.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Germoplasma utilizado

En el Banco de Germoplasma “José M. Alonso” de la FCA-UNL, se conservan 54 entradas de *T. crinita* y 29 de *T. pluriflora*, correspondientes a poblaciones colectadas a lo largo del rango de distribución de ambas especies en Argentina (Fig. 2 a y b), producto de 8 expediciones de colecta realizadas durante 10 años (2004-2014) (Ver Anexo 1). Ejemplares representativos de cada población colectada fueron herborizados y conservados en el Herbario “Arturo E. Ragonese” (SF) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral.

La colección de *T. crinita* posee poblaciones colectada en 15 categorías ecogeográficas diferentes, mientras que la colección de *T. pluriflora* contiene poblaciones de 10 categorías

ecogeográficas, según el mapa de Caracterización Ecogeográfica del Territorio (ELC, por sus siglas en inglés) elaborado para el género *Trichloris*, diseñado a partir de la metodología empleada por Parra-Quijano et al. (2012 b) (Ver Anexo 2). Cada población se compone de 30 a 50 genotipos, colectados a una distancia mínima de 15 metros entre sí.

4.2. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente materno (Hipótesis 1, objetivo a)

Se evaluó el peso de semillas del total de accesos de la colección de *Trichloris*. Para cada población se utilizó una muestra masal de semillas de todos sus genotipos. Las semillas fueron trilladas para separar sus envolturas (glumas y glumelas) y se pesaron 3 repeticiones de 100 semillas desnudas (cariopsis) por población. El peso de semillas (g/100 semillas) se determinó con una balanza de precisión de 0.0001 g debido al reducido tamaño de las semillas. Para una mejor comprensión del análisis, se estimó el peso de 1000 semillas. Si bien la variabilidad asociada al peso de semilla en el ambiente materno puede ser tanto genética como ambiental, existe evidencia de un fuerte control genético para el peso de semillas en diversas especies, por lo que conocer la variación del peso de semillas dará indicios de la diversidad contenida el material estudiado.

Debido a que *T. pluriflora* posee 2 o más semillas por espiguilla, y el tamaño de semillas es diferente entre antecios, al momento de separar las 100 semillas se tomaron al azar descartándose aquellas semillas muy pequeñas (~1 mm).

Un análisis de la varianza (ANVA) anidado fue realizado para evaluar la variación del peso de semillas ($p < 0.05$) entre especies (2) y poblaciones dentro de especie (54 para *T. crinita* y 29 para *T. pluriflora*), previo chequeo de los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En todos los casos la normalidad se evaluó con el test de Shapiro-Wilks modificado y la homocedasticidad a partir del test de homogeneidad de varianzas. El error del factor especie fue especie>poblaciones, ya que la recolección de las accesiones fueron al azar y se consideran representativas de la distribución conocida de las especies. Adicionalmente, se calcularon los componentes de la varianza para estimar la variación explicada por cada factor (Tabla 1). En todos los casos, los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2011). El modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{(ij)k}$$

Y_{ijk} es el peso de semillas correspondiente a la k-ésima repetición, al i-ésimo nivel del factor especie (E) y al j-ésimo nivel del factor población (P) anidado en el i-ésimo nivel del factor E.

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i-ésimo nivel del factor E

$\beta_{j(i)}$ es el efecto del j-ésimo nivel del factor P anidado en el i-ésimo nivel del factor E

$\varepsilon_{(ij)k}$ es el error aleatorio correspondiente a la repetición k-ésima y los niveles i del factor E y j del factor P anidado en el i-ésimo nivel de E, $\varepsilon_{(ij)k} \sim N(0, \sigma^2)$

Tabla 1: Componentes de varianza a partir de las esperanzas de los cuadrados medios (ECM) del ANVA para los factores especie (E) y población anidada dentro de especie ($P_{(E)}$), con p (2) especies, q (20/21) poblaciones y n (3) repeticiones por población

Factor	CM	ECM	CV
E	CME	$\sigma_e + n\sigma_{P(E)} + qn\sigma_E$	$CVE = CME - CMP_{(E)}/qn$
$P_{(E)}$	$CMP_{(E)}$	$\sigma_e + n\sigma_{P(E)}$	$CVP_{(E)} = CMP_{(E)} - CMe / n$
Error	CMe	σ_e	$CVe = CMe$
Total			

Conjuntamente a lo anterior se realizó un mapa de distribución espacial del peso de semillas con el programa DIVAGIS (<http://www.diva-gis.org>) para evaluar la existencia de patrones de distribución geográfica. Se creó un mapa de puntos (shapefile vectorial), para cada especie, con las poblaciones georeferenciadas y el valor promedio del peso de 1000 semillas (g). A partir de la herramienta “point to grid/Statistics/mean” se generó un mapa de una resolución de 50x50 km del valor promedio del peso semillas asignando una vecindad circular de 200 km. Estos valores de resolución y vecindad circular fueron elegidos en función de la amplia distribución de las especies y la extensión del país.

Adicionalmente, se comparó el peso de semillas entre poblaciones de ambas especies colectadas en el mismo sitio (poblaciones simpátricas). Se identificaron 11 sitios comunes de colecta. Se realizó la prueba F ($p < 0.05$) para corroborar la igualdad de varianzas de las poblaciones de cada sitio, para que los valores de peso de semillas sean comparables entre

especies. Se realizó un ANVA ($p < 0.05$) para cada sitio con la finalidad de evaluar la diferencia de peso de semillas entre las especies. Las diferencias de medias se evaluaron a través del test de Tukey ($p < 0.05$). El modelo estadístico se describe como:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} es el peso de semillas correspondiente a la j -ésima repetición y al i -ésimo nivel del factor población (P)

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i -ésimo nivel del factor P

ε_{ij} es el error aleatorio correspondiente a la repetición j -ésima y los niveles i del factor P, $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

Se generó un mapa con una resolución de 50x50 km, con la diferencia de peso de semillas entre las poblaciones simpátricas. En todos los sitios se realizó la diferencia entre el peso de la población de *T. crinita* menos el peso de semillas de la población de *T. pluriflora* (diferencia del peso de semillas = peso de semillas de la población de *T. crinita* – peso de semillas de la población de *T. pluriflora*).

4.3. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente común y su correlación con el peso de semillas en el ambiente materno (Hipótesis 2, objetivo b)

De las poblaciones evaluadas en el punto anterior, se escogieron 21 poblaciones de *T. crinita* y 20 de *T. pluriflora* (Fig. 2 a y b) (Anexo 1), pertenecientes a 8 categorías ecogeográficas diferentes, de acuerdo al mapa ELC de *Trichloris*. El criterio de selección fue representar diferentes escenarios ecogeográficos, eliminando de la evaluación poblaciones cercanas entre sí o que sobre-representen un determinado ambiente y que cuenten un mínimo de 20 genotipos por población.

Dichas poblaciones fueron cultivadas en el Campo Experimental “Juan Donnet” de la FCA-UNL, en la ciudad de Esperanza (31° 27' 04.7 S, 60° 56' 57.9 W) en diciembre de 2012. Cada población fue representada por una planta por progenie de 20 tomadas aleatoriamente (cada planta representa un genotipo), las que se dispusieron en un diseño completamente aleatorizado (DCA) y separadas a 50 cm entre sí. Los genotipos fueron sembrados en macetas de 5 litros con una mezcla de mitad tierra y mitad de arena. Las macetas fueron raleadas hasta dejar 2 a 3 plantas por maceta. Cuando las plantas alcanzaron el estadio de 3

a 4 hojas fueron trasplantadas a campo experimental y fueron fertilizadas y regadas para asegurar una correcta implantación. Posteriormente, se efectuó un raleo a campo para dejar sólo una planta que represente a cada genotipo.

A la madurez se realizó la cosecha de semillas por genotipo. Se muestrearon al azar 5 inflorescencias por planta y se registró el número total de inflorescencias por planta. Las inflorescencias muestreadas individualmente fueron trilladas para separar las envolturas seminales (glumas y glumelas) y se pesaron 100 semillas desnudas. Se pesaron 3 repeticiones de 100 semillas por genotipo. El peso de semillas (g/100 semillas) se determinó con balanza de precisión de 0.0001 g. Para una mejor comprensión del análisis, se estimó el peso de 1000 semillas.

Las variables número de inflorescencias y peso de semillas (g/1000 semillas) se evaluaron a través de un ANVA anidado ($p < 0.05$) para los factores especie (2) y población dentro de especie (21 para *T. crinita* y 20 para *T. pluriflora*), previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas. Los datos fueron transformados por el Log_{10} del valor para asegurar la distribución normal de los datos, pero a los fines de ilustrar los resultados se utilizaron los valores reales. A partir del ANVA se determinaron los componentes de varianza, para estimar el porcentaje de la variación explicado por cada factor (Tabla 2). Las diferencias de medias se analizaron mediante el test de Tukey ($p < 0.05$). El modelo estadístico es para peso de semillas y número de inflorescencias es el mismo del ANVA anidado del experimento 4.2. Adicionalmente, se evaluó la capacidad compensatoria de cada población a través de un análisis de correlación de Pearson ($p < 0.05$) entre peso de semillas y número de inflorescencias por planta.

Por otra parte, se efectuó un análisis de correlación de Pearson ($p < 0.05$) entre el peso de semillas de las poblaciones cosechadas en su ambiente de origen y en ambiente común. En ambiente común se utilizó, para cada población, el peso de semillas promedio de los genotipos.

Tabla 2: Componentes de varianza a partir de las esperanzas de los cuadrados medios (ECM) del ANVA para los factores especie (E) y población anidada dentro de especie ($P_{(E)}$), con p (2) especies, q (20/21) poblaciones y n (15-20) genotipos por población

Factor	CM	ECM	CV
E	CME	$\sigma_e + n\sigma_{P(E)} + qn\sigma_E$	$CVE = CME - CMP_{(E)}/qn$
$P_{(E)}$	$CMP_{(E)}$	$\sigma_e + n\sigma_{P(E)}$	$CVP_{(E)} = CMP_{(E)} - CMe / n$
Error	CMe	σ_e	$CVe = CMe$
Total			

Adicionalmente, se evaluó la relación entre el peso de semillas de cada población con las variables ecogeográficas del sitio de colecta. Esto fue posible debido a que cada entrada de la colección cuenta con el dato georreferenciado del sitio de colecta (tomado con GPS). Se evaluaron 13 variables ecogeográficas contenidas en las herramientas CAPFITOGEN (Parra-Quijano et al., 2014), programa desarrollado por la FAO en el marco del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (<http://www.planttreaty.org/capfitogen>). Se seleccionaron variables claves, debido a que algunas variables derivan de otras, estando altamente correlacionadas. Para la extracción de los valores de las variables ecogeográficas correspondientes a cada sitio de colecta se utilizó la herramienta ECOGEO, la que permite realizar una caracterización ecogeográfica de las entradas de interés. Se evaluaron 6 variables bioclimáticas, 4 edáficas y 3 geofísicas, de una resolución de celda de 2.5 arc-minutos (~5x5 km en el ecuador) (ver Anexo 3). Dentro de las variables bioclimáticas se incluyeron: temperatura media anual, máxima temperatura del mes más cálido, mínima temperatura del mes más frío, precipitación media anual, máxima precipitación del mes más húmedo y mínima precipitación del mes más seco. Variables edáficas utilizadas: contenido superficial de limo, arcilla y carbón orgánico y capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo. Finalmente, las variables geofísicas fueron: latitud, longitud y elevación del terreno.

De este modo, se elaboró para cada especie una tabla con el peso de semillas promedio de cada población y las variables extraídas para cada sitio de colecta. Para evaluar la relación entre peso de semillas y variables ecogeográficas del ambiente de origen, se realizó un

análisis de correlación de Pearson ($p < 0.05$), a partir del cual se descartaron variables altamente correlacionadas entre sí ($r > 0.9$ según Hair et al., 1999). En estos casos, se retuvieron aquellas variables con un mayor valor de r con la variable peso de semillas. Previamente se validaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En el análisis de las poblaciones de *T. crinita*, fue necesario transformar mediante Log_{10} la elevación del terreno, la mínima precipitación del mes más seco y el contenido de arcilla y carbón orgánico del suelo. En el análisis de *T. pluriflora* debieron transformarse del mismo modo la precipitación media anual y el contenido de arcilla y carbón orgánico del suelo.

Adicionalmente, para evaluar la capacidad predictiva del peso de semilla en respuesta al ambiente materno se realizó un análisis de regresión lineal múltiple ($p < 0.05$). Se excluyeron del análisis las variables descartadas por elevada correlación. El procedimiento de eliminación Backward fue utilizado en este caso, con un $p < 0.05$ para permitir el ingreso de la variable al análisis. El modelo de regresión múltiple se sintetiza de la siguiente manera:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_n x_{in} + \varepsilon_i$$

que indica la dependencia del peso de semillas y_i de la variable ecogeográfica $x_{i1}, x_{i2} \dots x_{in}$ y del conjunto de parámetros β con un error asociado ε_i .

Adicionalmente, se calculó el Factor de inflación de la Varianza (FIV) y el Criterio de Información Bayesiano (CIB), para evaluar la contribución relativa de las variables al ajuste del modelo y el supuesto de colinearidad. Acorde a Kleinbaum et al. (1988) y Hair et al. (1999), valores de 1 a 10 de FIV revelan ausencia de dependencia linear o colinearidad entre variable regresoras.

El análisis de correlación se realizó para evaluar la relación particular de cada variable ecogeográfica con el peso de semillas, ya que algunas de ellas están asociadas a algún estrés. Mientras que, en el análisis de regresión lineal múltiple cada variable es ponderada de forma que esta ponderación indica su contribución relativa a la predicción en conjunto del peso de semillas, permitiendo la máxima predicción a partir del conjunto de variables independientes (Hair et al., 1999). Si bien el análisis revela aquellas variables que mayor peso tienen en la predicción, asociaciones importantes entre peso de semillas y alguna variable en particular (causante de estrés) podría perderse, de no realizarse un análisis de correlación.

4.4. Evaluación de la estrategia de compensación entre número y peso de semillas en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora*. (Hipótesis 3, objetivo c)

Se escogieron 6 poblaciones por especie, selectas por ambiente de origen (i.e. ambientes secos, húmedos y salinos en caso de *T. crinita*) y por peso de semillas (alto y bajo peso de semillas dentro de cada ambiente) (Tabla 3). Del mismo experimento del punto 4.3., se cosecharon individualmente 3 inflorescencias por genotipo de cada población. Cada inflorescencia fue trillada individualmente para separar las envolturas seminales, registrándose el peso total de semillas por inflorescencia y el peso de 100 semillas. A partir de ambos datos se estimó el número de semillas por inflorescencia (n° de semillas por inflorescencia = [peso de semillas (g) por inflorescencia / peso de 100 semillas (g)]*100). Nuevamente, para un mejor análisis, se trabajó con la estimación del peso de 1000 semillas. El número de semillas por inflorescencia y el peso de 1000 semillas por genotipo se calcularon como el promedio de las 3 inflorescencias cosechadas. Adicionalmente se calculó el total de semillas producidas por cada planta (n° de semillas/planta = n° de semillas/ inflorescencia * n° de inflorescencias/planta).

La variación entre número de semillas por inflorescencia, por planta y peso de 1000 semillas (g) se evaluó a través de un ANVA anidado ($p < 0.05$), para los factores especies (2) y poblaciones dentro de especies (6), previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para el presente análisis fue necesario transformar las variables por el Log_{10} del valor, para asegurar la distribución normal de los errores. Las diferencias de medias se analizaron por el test de Tukey ($p < 0,05$). El modelo estadístico es para peso de semillas y número de semillas por inflorescencia es el mismo del ANVA anidado del experimento 4.2. Adicionalmente, se realizó para cada especie un análisis de correlación de Pearson ($p < 0.05$) entre peso de semillas y las variables número de semillas por inflorescencia y número de semillas por planta.

Tabla 3: Poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora* seleccionadas por ambiente de origen y peso de semillas.

Especie	Ambiente de origen	Provincia	ID*	Peso de 1000 semillas (g)**	
<i>T. crinita</i>	Húmedo	Santa Fe	8608	0.242	b
		Formosa	8492	0.197	a
	Seco	Mendoza	7320	0.353	b
		San Juan	7390	0.186	a
	Salino	San Luis	8297	0.205	b
		Córdoba	7602	0.168	a
<i>T. pluriflora</i>	Húmedo	Santiago del Estero	8419	0.244	b
		Chaco	8466	0.196	a
	Intermedio	Salta	7000	0.250	b
		San Luis	7967	0.225	a
	Seco	San Luis	7958	0.250	b
		Catamarca	7491	0.186	a

* El ID de las poblaciones corresponde al n° de catálogo de colección del ejemplar de herbario conservado en el herbario “Arturo E. Ragonese” de la FCA-UNL. ** Peso de semillas registrado en el ensayo en ambiente común en 2013. Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada ambiente (Tukey, $p < 0.05$).

4.5. Evaluación de la variación del peso de semillas en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* cultivadas en ambientes diferentes. (Hipótesis 4, objetivo d)

Se evaluaron las poblaciones seleccionadas para el experimento 4.4., en dos ambientes contrastantes durante dos años consecutivos. Se seleccionaron 10 genotipos por población y se utilizó la semilla cosechada en marzo-abril de 2013 del experimento del punto 4.3. para regenerar las poblaciones. Se sembraron 4 macetas (de 1 litro) por genotipo (2 macetas para trasplantar una en cada sitio y otras 2 como resguardo en caso de que se la planta se pierda a campo, para poder reemplazarla). Cuando las plantas alcanzaron el estadio de 3 a 4 hojas fueron trasplantadas en los sitios de cultivo contrastantes. Las plantas fueron llevadas a campo en diciembre de 2013 en el campo experimental de la Estación Experimental

Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA) en Sumalao, Catamarca y en el campo experimental Juan Donnet de la FCA-UNL (Tabla 4). Los genotipos de cada población y especie, distanciados 50 cm entre sí, fueron dispuestos en un DCA diferente para cada sitio. Las plantas fueron cosechadas durante febrero-marzo de 2014 y 2015. Los ambientes quedaron definidos por el sitio y año de cosecha. Para cada genotipo se evaluó el peso de semillas y el número de inflorescencias. Se pesaron 3 repeticiones de 100 semillas por genotipo. Para el análisis se estimó el peso de 1000 semillas.

Tabla 4: Caracterización de los sitios contrastantes de cultivo de poblaciones selectas de *Trichloris crinita* y *T. pluriflora*.

CARACTERÍSTICA	FCA-UNL ESPERANZA	EEA-INTA CATAMARCA
Latitud	-31.4424	-28.4724
Longitud	-60.9410	-65.7297
Precipitación media anual (mm)	953	392
Temperatura media anual (°C)	18.9	20
Altitud (msnm)	38.8	518.4
Tipo de suelo	Argiudol típico	Ustifluent típico
Textura de suelo	Franco limosa	Arenosa

La diferencia en el peso de semillas (g/1000 semillas) se evaluó para cada especie a través de un ANVA ($p < 0.05$) para los factores poblaciones (6), ambiente de cosecha (4) y la interacción correspondiente. Previamente se validaron los supuestos del análisis. La variable número de inflorescencias fue transformada mediante el logaritmo (Log_{10}) para asegurar la distribución normal. Las diferencias de medias fueron analizadas mediante el test de Tukey ($p < 0,05$). El modelo estadístico para cada especie queda definido:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \gamma_j + (\tau\gamma)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ijk} es el peso de semillas correspondiente al i-ésimo nivel del factor población (P) y al j-ésimo nivel del factor ambiente de cosecha (A)

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i-ésimo nivel del factor P

γ_j es el efecto del j-ésimo nivel del factor A

$(\tau\gamma)_{ij}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel del factor E y el j-ésimo de A

ε_{ij} es el error asociado a las observaciones correspondiente a los niveles i del factor P y k del factor A, $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

Adicionalmente, se realizó para cada especie un Análisis de Componentes Principales (ACP) con las variables peso de 1000 semillas (g), número de inflorescencias y variables asociadas al ambiente de origen tales como precipitación y temperatura media anual. Para *T. crinita* se incluyó, además, la variable salinidad, ya que fue un criterio de selección de las poblaciones utilizadas en el presente experimento.

5. RESULTADOS

5.1. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente materno

La variación del peso de semillas (g/1000 semillas) está explicada por las diferencias entre poblaciones dentro de especies ($p < 0.0001$), no hallándose diferencias significativas entre especies (Fig. 3). La contribución de la variación interpoblacional en la variación de peso de semillas sustenta esto. El análisis de componentes de la varianza reveló que la contribución de la variación interpoblacional (92.8%) explica la variación de peso de semillas, mientras que la variación interespecífica (2.1%) y del error (5.1%) fueron muy bajas.

El rango de peso de semillas para *T. crinita* fue de 0.113 a 0.297 g/1000 semillas (0.184 g/1000 semillas), resultando mucho mayor al hallado para *T. pluriflora* de 0.132 a 0.234 g/1000 (0.102 g/1000 semillas).

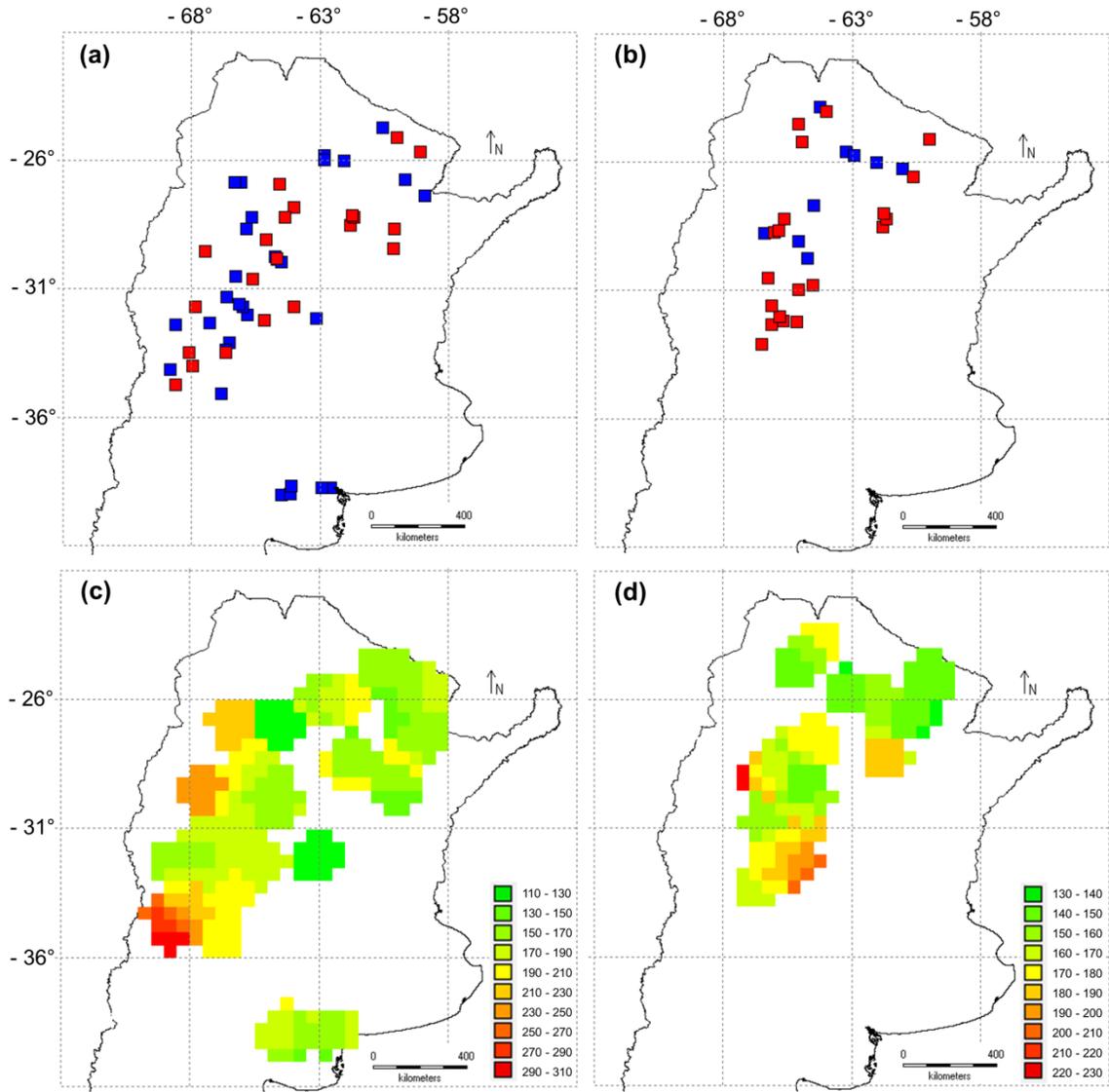


Figura 2: Entradas de la colección de *Trichloris* del Banco de Germoplasma de la FCA-UNL a) *T. crinita*, b) *T. pluriflora* (los cuadrados rojos corresponden a las poblaciones utilizadas en el ensayo en ambiente común). Distribución espacial del peso de semillas (g/1000 semillas) de las entradas de la colección: c) *T. crinita* y d) *T. pluriflora*. Tonos de verde indican bajo peso de semillas, aumentando hacia las tonalidades de rojo.

El mapa de distribución espacial del peso de semillas revela patrones claros de distribución en *T. crinita*, observándose un mayor peso de semillas en el límite sur-oeste de distribución de la especie, coincidente con ambientes más áridos y fríos, mientras que en *T. pluriflora* no existe un patrón definido, aunque se ve un aumento en el peso de semillas hacia el límite sur de la distribución (Fig. 2 c y d).

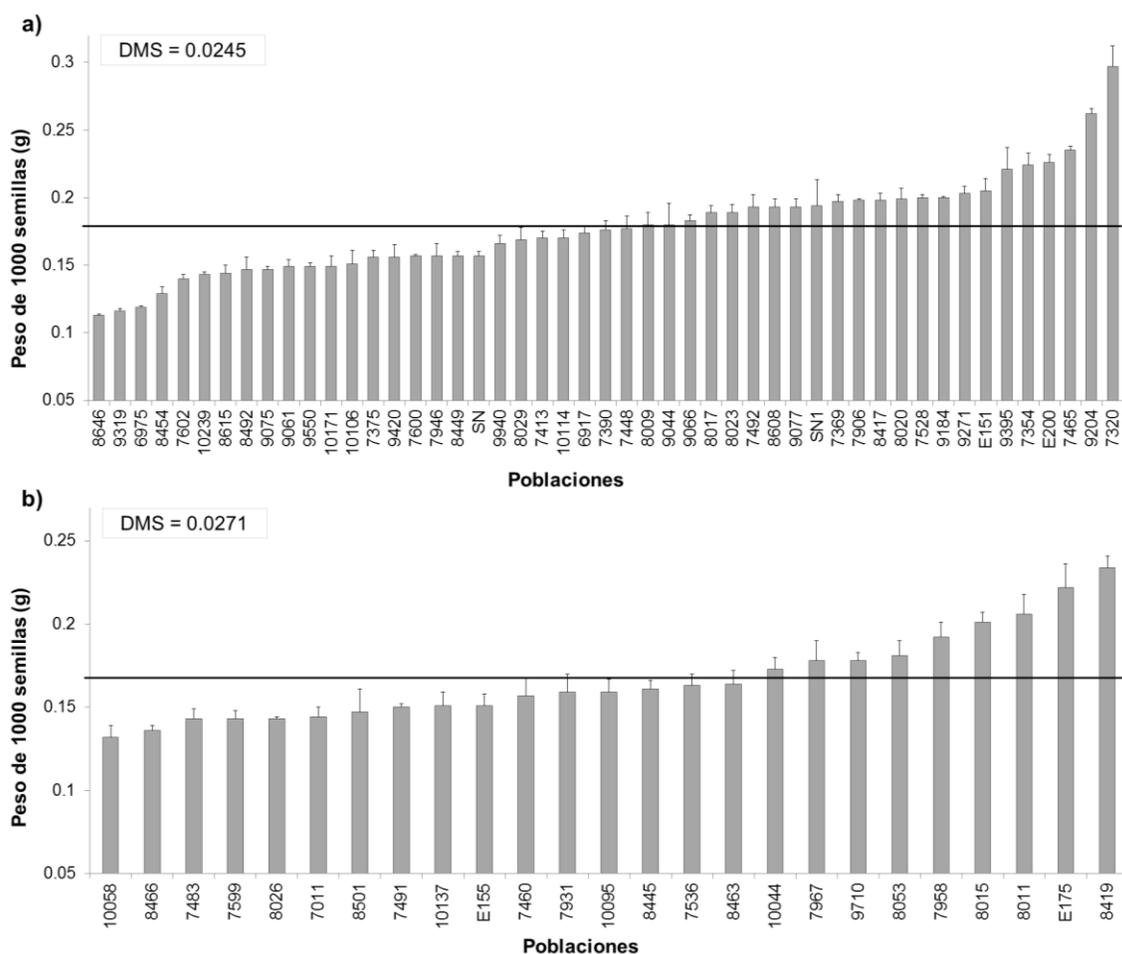


Figura 3: Variación interpoblacional del peso de semillas en los accesos evaluados de la colección de *Trichloris* del Banco de Germoplasma de la FCA-UNL. a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*. (El ID de las poblaciones corresponde al n° de colección del ejemplar de herbario que documenta cada población, conservado en el Herbario SF de la FCA-UNL). La línea continua horizontal indica el valor promedio del peso de semillas para la especie. DMS: Diferencia mínima significativa (Tukey; $p < 0.05$).

La evaluación de la diferencia en el peso de semillas entre poblaciones simpátricas de ambas especies, indica que en 8 de los 11 sitios testeados se encontraron diferencias significativas. En 7 de los 8 sitios las semillas de *T. crinita* fueron más pesadas que las de *T. pluriflora* (Tabla 5).

Tabla 5: Peso de semillas (PS) (media \pm DE) y diferencias de peso de semillas en poblaciones simpátricas de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

Sitio	PS en poblaciones de <i>T. crinita</i> (g/1000 semillas)	PS en poblaciones de <i>T. pluriflora</i> (g/1000 semillas)	Diferencia de PS entre poblaciones (g/1000 semillas)	<i>p</i> valor (prueba F)
1	0.198 \pm 0.005	0.234 \pm 0.007	-0.036 *	0.62
2	0.189 \pm 0.005	0.201 \pm 0.006	-0.011	0.54
3	0.157 \pm 0.003	0.161 \pm 0.005	-0.004	0.70
4	0.147 \pm 0.009	0.147 \pm 0.014	0	0.15
5	0.157 \pm 0.001	0.143 \pm 0.005	0.014*	0.09
6	0.177 \pm 0.009	0.157 \pm 0.011	0.020*	0.10
7	0.200 \pm 0.002	0.163 \pm 0.007	0.037*	0.97
8	0.193 \pm 0.009	0.150 \pm 0.002	0.043*	0.80
9	0.198 \pm 0.001	0.159 \pm 0.011	0.043**	0.08
10	0.189 \pm 0.006	0.143 \pm 0.001	0.046**	0.71
11	0.205 \pm 0.009	0.151 \pm 0.007	0.054*	0.07

* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$). **Indica diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$). *p* valor (prueba F) indica los valores de probabilidad para el análisis F de homogeneidad de varianzas entre dos muestras ($p < 0.05$). Varianzas homogéneas es un requisito para el análisis de comparación de medias.

En la Figura 4 se muestra la distribución de las poblaciones simpátricas, indicando las diferencias en peso de semillas entre ambas especies. En la medida que nos acercamos al límite sur-oeste de distribución de las especies, el peso de semillas va en aumento en poblaciones de *T. crinita*, mientras que ningún patrón se observa en *T. pluriflora*, por lo cual en dichos ambientes la diferencia de peso de semillas en poblaciones simpátricas es a favor de las poblaciones de *T. crinita*.

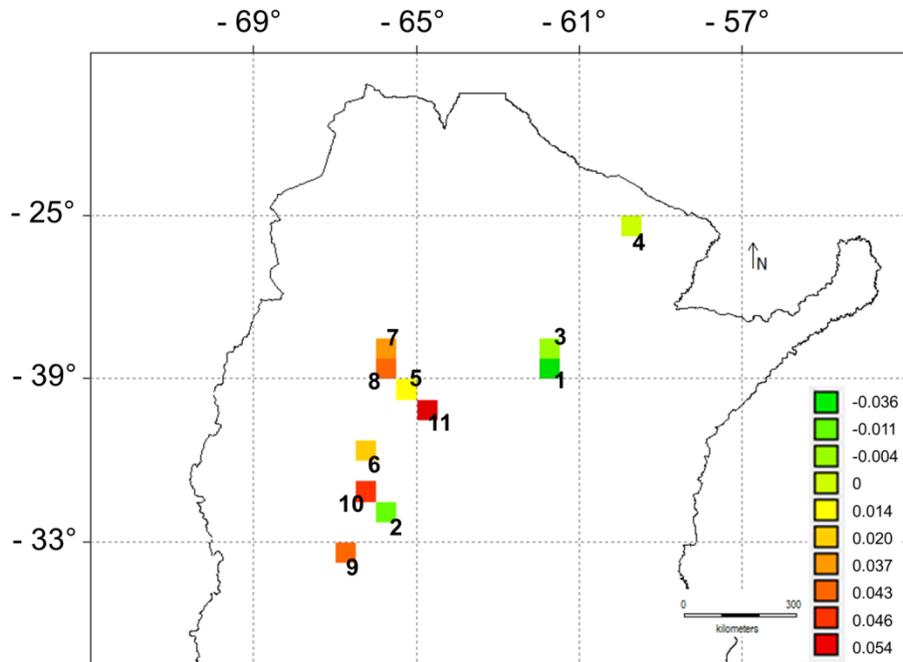


Figura 4: Ubicación geográfica donde se colectaron poblaciones de ambas especies del género *Trichloris*. La diferencia de tonalidades indican la diferencia en el peso de semillas de las poblaciones (diferencia en peso de semillas (g/1000 semillas = peso de 1000 semillas (g) en *T. crinita* – peso de 1000 semillas (g) en *T. pluriflora*). Tonalidad rojiza indica diferencias a favor de *T. crinita* y tonalidades verdes a favor de *T. pluriflora*. Los números se corresponden a los sitios de la Tabla 5.

5.2. Evaluación de la variabilidad del peso de semillas en el ambiente común y su correlación con el peso de semillas en el ambiente materno

Se halló diferencias significativas para peso de semillas (g/1000 semillas) entre poblaciones ($p < 0.0001$), aunque no entre especies ($p = 0.28$). Mientras que el número de inflorescencias por planta varió significativamente entre especies ($p < 0.0001$) y poblaciones dentro de especies ($p < 0.0001$) (Fig. 5). Poblaciones de *T. pluriflora* producen mayor número de inflorescencias por planta, siendo en promedio 76 ± 36 vs. 27 ± 17 en *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente.

El análisis de componentes de la varianza revela que la variación para peso de semillas está explicada en un 50 % por la variación interpoblacional, el 49 % por la variación intrapoblacional y aquella asociada al error y el 1 % restante por la variación interespecífica. Mientras que el análisis para el número de inflorescencias por planta

determinó que el 65 % de la variación observada es explicada por la variación a nivel interespecífico, el 6 % a nivel interpoblacional y el 29 % a nivel intrapoblacional y asociada al error.

No obstante los resultados de los componentes de la varianza, los coeficientes de variación (CV) intrapoblacionales oscilaron de 4.7 a 20.3 y 6.8 a 19 para *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente, lo que revela leve variabilidad del peso de semillas a nivel intrapoblacional. Mientras que los CV hallados para el número de inflorescencias por planta fueron de 25.7 a 64.8 y 34 a 72.7, para *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente lo que implica una amplia variabilidad intrapoblacional para dicho rasgo.

El análisis de correlación revela que existe capacidad compensatoria del peso de semillas con el número de inflorescencias por planta sólo en *T. crinita* ($r=-0.64$; $p=0.002$) (Fig. 6 a y b).

El análisis de correlación entre el peso de semillas de poblaciones cultivadas en ambiente común respecto al peso de semillas de dichas poblaciones cosechadas en el ambiente de origen, indica que solamente existe una relación significativa y positiva en *T. crinita* ($r=0.85$; $p<0.0001$) (Fig. 6 c y d).

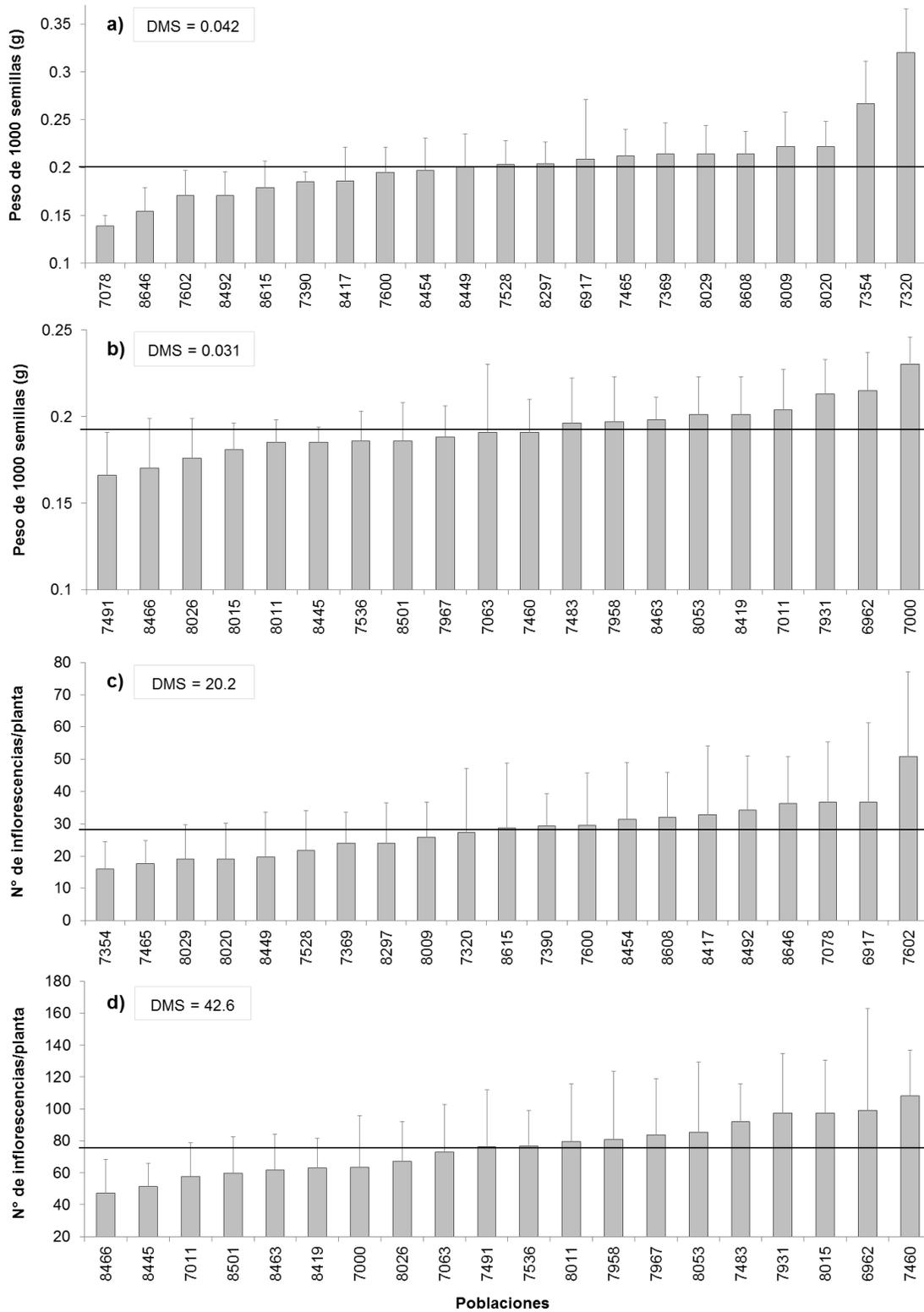


Figura 5: Variación interpoblacional para peso de semillas en: a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*, y del número de inflorescencias por planta en: c) *T. crinita* y d) *T. pluriflora*.

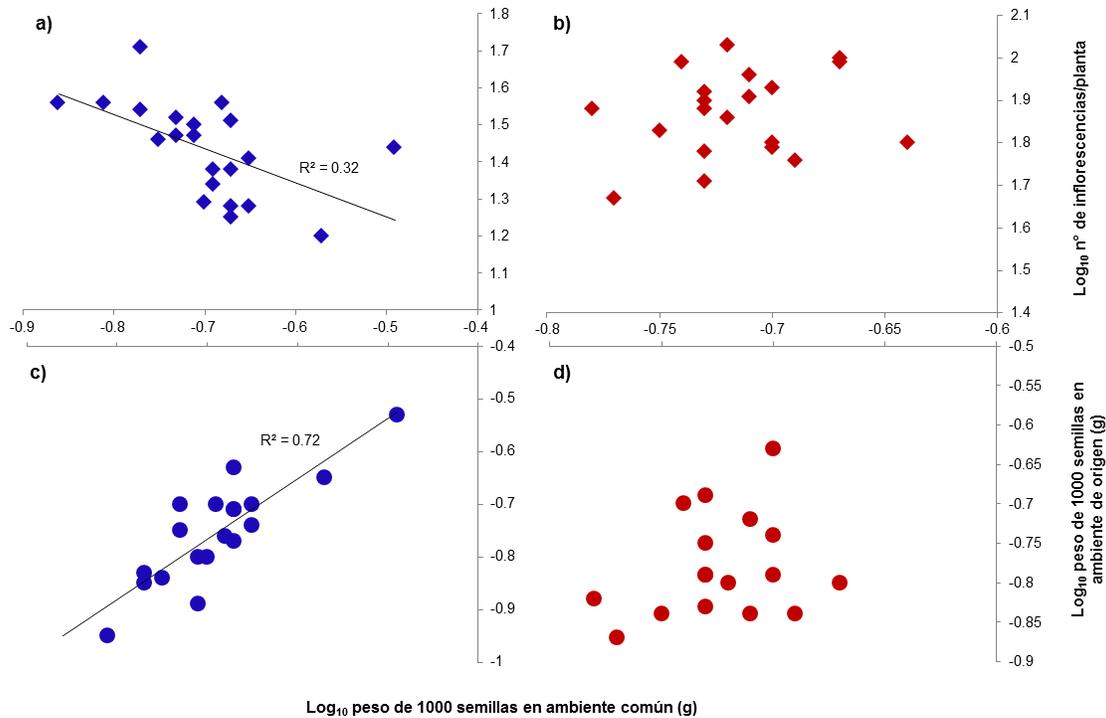


Figura 6: Correlación entre peso de semillas de poblaciones cultivadas en ambiente común y número de inflorescencias por planta para: a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*. Relación entre peso de semillas de poblaciones cosechadas en ambiente común y en ambiente de origen en: c) *T. crinita* y d) *T. pluriflora*. En cada gráfico se observa la recta de regresión y el valor de ajuste (R^2).

El análisis de correlación entre peso de semillas y variables ecogeográficas del ambiente de origen arrojó resultados diferentes para cada especie. Para *T. crinita*, se halló una relación lineal significativa entre peso de semillas y elevación del terreno ($p=0.03$), latitud ($p=0.0009$) y longitud ($p=0.04$). Esta última fue descartada por estar altamente correlacionada ($r>0.9$) con elevación del terreno. En cuanto a las variables bioclimáticas, el peso de semillas se correlacionó con la temperatura media anual ($p=0.0001$), máxima temperatura del mes más cálido ($p=0.0004$), mínima temperatura del mes más frío ($p=0.0047$) y precipitación del mes más húmedo ($p=0.01$). La variable mínima temperatura del mes más frío se correlacionó con la temperatura media anual por lo que fue descartada. Ninguna correlación se halló para las variables edáficas ($p>0.05$). Para *T. pluriflora*, se observó correlación lineal significativa entre peso de semillas y elevación del terreno ($p=0.04$), temperatura media anual ($p=0.04$) y máxima temperatura del mes más cálido ($p=0.01$). (Fig. 7).

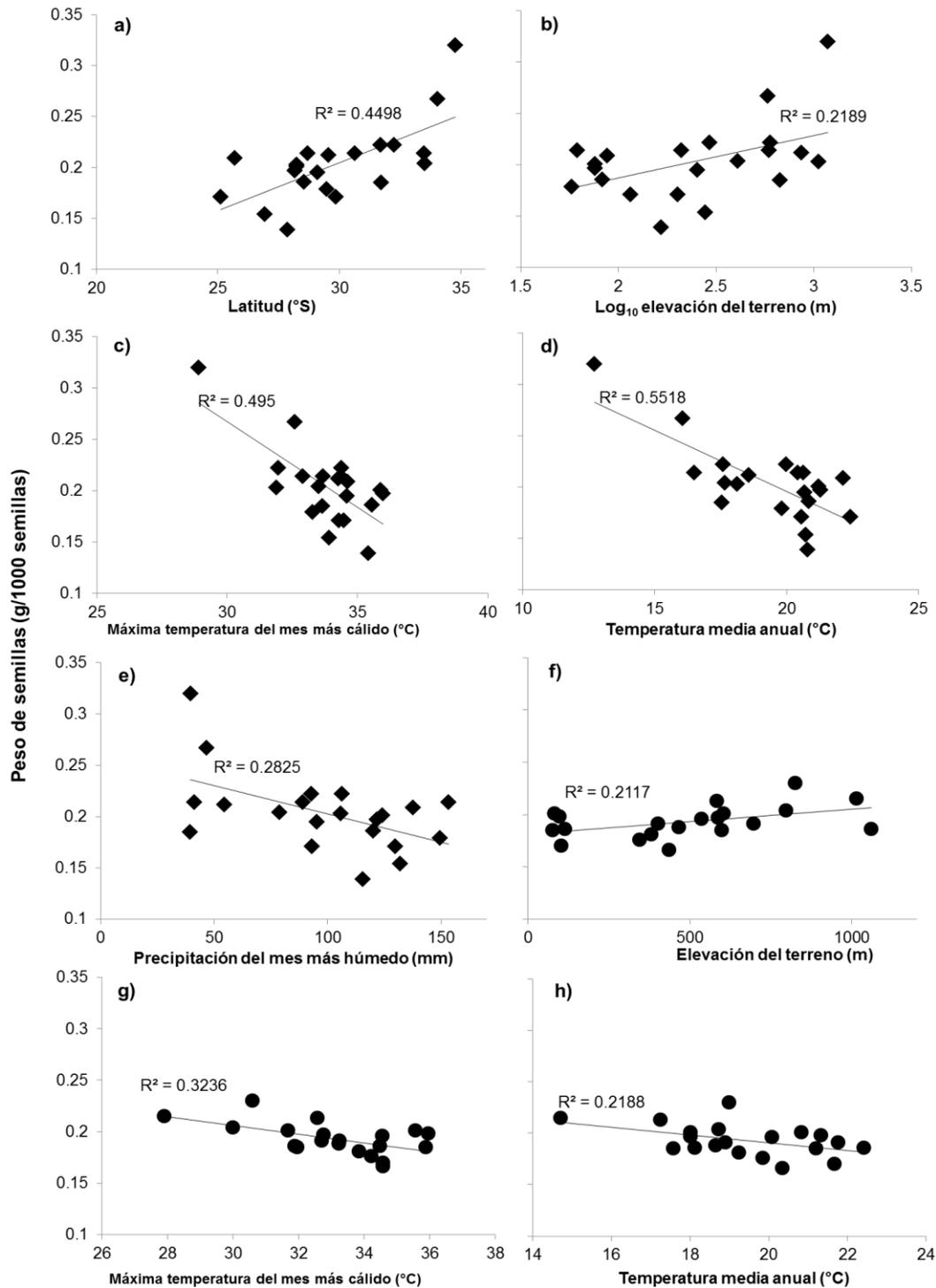


Figura 7: Correlaciones entre peso de semilla y variables ecogeográficas del ambiente de origen. En cada diagrama de dispersión se muestra la línea de tendencia y el coeficiente de determinación (R^2). Para *T. crinita*: a) latitud, b) elevación del terreno, c) temperatura máxima del mes más cálido, d) temperatura media anual y e) precipitación del mes más húmedo. Para *T. pluriflora*: f) elevación del terreno, g) temperatura máxima del mes más cálido y h) temperatura media anual.

En el análisis de regresión lineal múltiple para *T. crinita*, el modelo retuvo 3 variables de las 10 variables regresoras incluidas en el análisis con un R² de 0.74. La ecuación de regresión que predice el peso de semillas quedó definida del siguiente modo:

$$\mathbf{PS} = 0.5 - 0.00084 \mathbf{MTMC} - 0.00076 \mathbf{PMH} + 0.06 \text{Log}_{10} \mathbf{PMS}$$

Donde **PS** es el peso de 1000 semillas (g), **MTMC** la máxima temperatura del mes más cálido, **PMH** la precipitación del mes más húmedo y **PMS** la precipitación del mes más seco.

En el caso de *T. pluriflora*, el modelo también retuvo 3 variables de un total de 13 variables regresoras con un R² de 0.57. El modelo se define del siguiente modo:

$$\mathbf{SW} = -0.13 - 0.00056 \mathbf{MTMC} - 0.0018 \mathbf{PMS} + 0.13 \text{Log}_{10} \mathbf{PMA}$$

Siendo **PS** el peso de 1000 semillas (g), **MTMC** la máxima temperatura del mes más cálido, **PMS** la precipitación del mes más seco y **PMA** la precipitación media anual. En ambos casos el FIV fue menor a 3, y los modelos se seleccionaron en función de tener un valor bajo de CIB.

5.3. Evaluación de la estrategia de compensación entre número y peso de semillas en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

La variación del peso de semillas (g/1000 semillas), número de semillas por inflorescencia y por planta fue significativa entre especies y poblaciones dentro de especies ($p < 0.0001$). El peso de semillas promedio para *T. crinita* fue de 0.210 ± 0.057 g/1000 semillas vs 0.193 ± 0.027 g/1000 semillas para *T. pluriflora*. El n° de semillas por inflorescencia fue mayor en *T. pluriflora* que en *T. crinita* (859 ± 240 vs 581 ± 252 semillas/ inflorescencia). En promedio, las poblaciones evaluadas de *T. pluriflora* produjeron 3.4 veces más semillas por planta que *T. crinita*. Las diferencias de medias entre poblaciones de cada especie pueden observarse en la Figura 8.

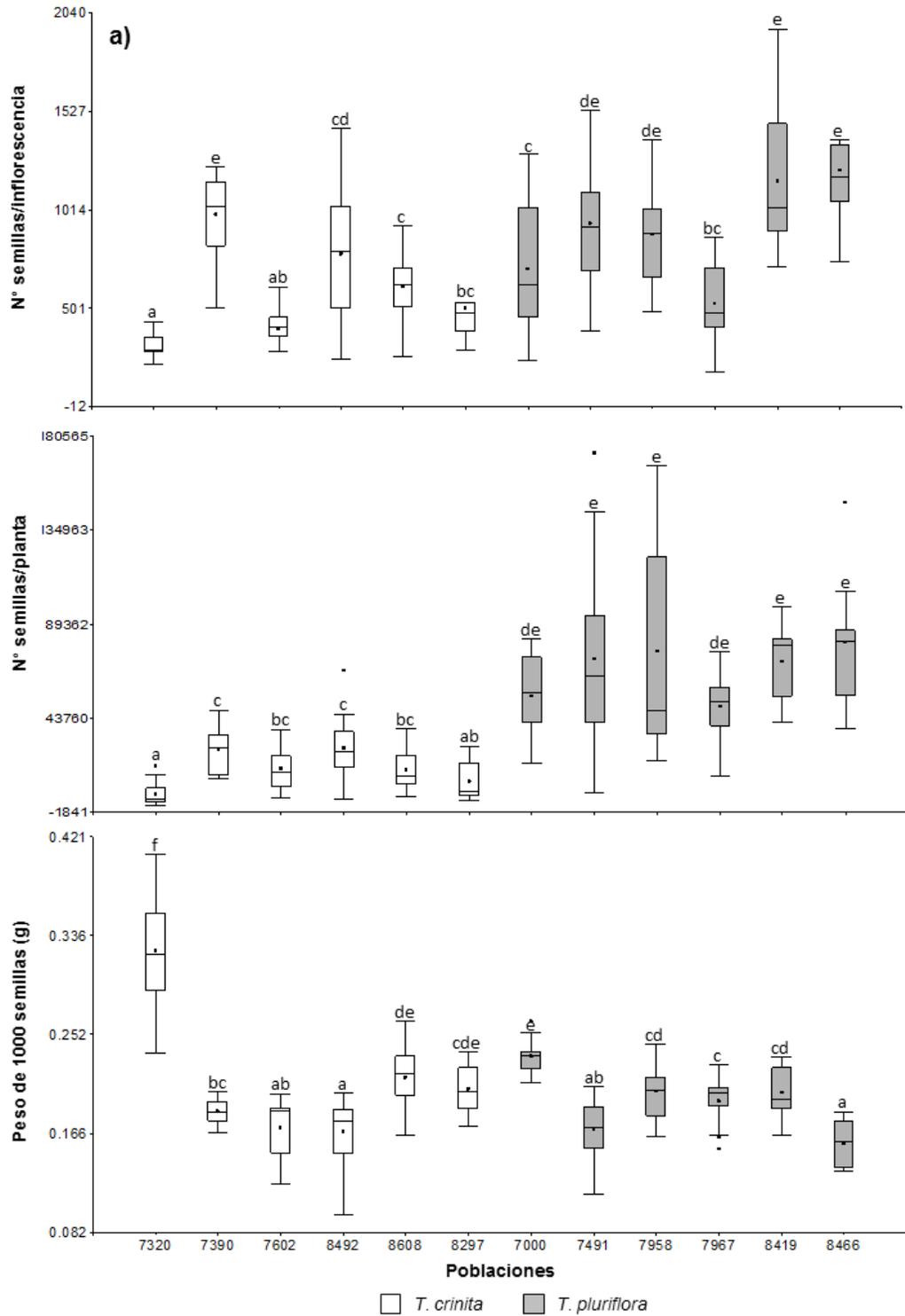


Figura 8: Gráficos de cajas (box-plot) para: a) número de semillas por inflorescencia, b) número de semillas por planta y c) peso de semillas (g/1000 semillas) para poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey, $p > 0.05$).

Sólo se halló correlación lineal significativa entre peso de semillas y número de semillas por inflorescencia ($p=0.0005$; $r=-0.39$) y por planta ($p=0.0031$; $r=-0.34$) para las poblaciones evaluadas de *T. crinita*. En la Figura 9 se muestran la relación entre las variables evaluadas para cada especie.

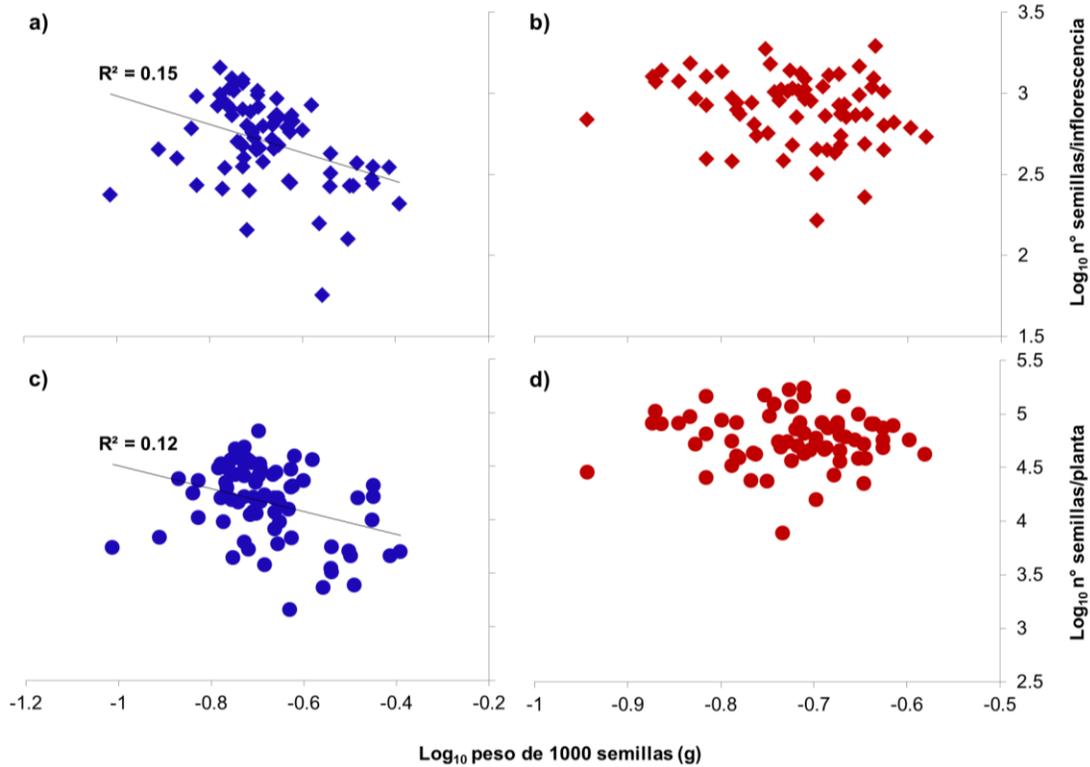


Figura 9: Correlación entre peso de semillas (g/1000 semillas) y número de semillas por inflorescencia para: a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*. Relación entre peso de semillas (g/1000 semillas) y número de semillas por planta para: c) *T. crinita* y d) *T. pluriflora*. Los valores se dan para las variables transformadas. Sólo se muestra la recta de regresión y el R^2 para regresión lineal significativa.

5.4. Evaluación de la variación del peso de semillas en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* cultivadas en ambientes diferentes.

Existen diferencias altamente significativas en el peso de semillas entre poblaciones y ambientes en ambas especies ($p<0.0001$), hallándose interacción entre ambos factores sólo en *T. pluriflora*. En el caso de *T. crinita*, si bien existe variación en el peso de semillas entre ambientes, las poblaciones con alto peso mantienen siempre un alto peso de semillas.

Mientras que en *T. pluriflora* las interacciones entre poblaciones y ambientes resultan más complejas.

En el caso de *T. crinita*, se halló variación significativa ($p < 0.05$) en el número de inflorescencias entre poblaciones, ambientes e interacción entre población y ambiente, resultando en que la respuesta al ambiente sea variada para cada población. Por otro lado, en *T. pluriflora* se halló diferencias significativas ($p < 0.05$) entre poblaciones y ambientes, aunque no se registró interacción entre los factores.

Lo mencionado se observa claramente en el ACP, el cual revela un claro agrupamiento de las poblaciones en *T. crinita*. Las componentes principales (CP1 y CP2) explican en un 77 % la variación observada. En la Tabla 6 pueden observarse los valores de los autovectores que indican su contribución en cada CP. Todas las variables, excepto salinidad, contribuyen en gran medida a la CP1, que es la que explica en mayor proporción la variación observada entre las poblaciones y ambientes. El peso de semillas se correlacionó negativamente con el número de inflorescencias y la temperatura media anual. En el biplot (Fig. 10 a), puede observarse que la respuesta de las poblaciones se mantiene a pesar de los ambientes, ya que estas continúan agrupadas. Hay una clara separación de las poblaciones por lugar de origen. Aquellas provenientes de ambientes áridos (7320, 7390) se ubican opuestas al vector de precipitación media anual (PMA), mientras que las de ambientes húmedos (8491, 8608) se disponen cercanas al vector de PMA. Lo mismo sucede con las poblaciones de ambientes salinos (8297, 7602), las que se ubican en cercanías a la variable salinidad del suelo (SS). Por otro lado, hay una clara diferenciación entre las variables de alto peso de semillas y menor número de inflorescencias, ubicada a la izquierda de la CP1 y las de menor peso de semillas y elevado número de inflorescencias a la derecha de la CP1.

Tabla 6: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales en la evaluación del peso de semillas en ambientes contrastantes en las especies del género *Trichloris*.

Variables	<i>T. crinita</i>		<i>T. pluriflora</i>	
	CP1	CP2	CP1	CP2
Número de inflorescencias	0.46	-0.06	-0.51	0.41
Peso de 1000 semillas (g)	-0.5	-0.22	-0.31	0.73
Precipitación media anual (mm)	0.42	-0.43	0.55	0.44
Temperatura media anual (°C)	0.59	-0.07	0.58	0.33
Salinidad del suelo (dS/m)	0.15	0.87		

En el caso de *T. pluriflora* los patrones de agrupamientos son poco claros, probablemente debido a la interacción observada entre peso de semillas y ambiente. Las CP1 y la CP2 explican el 80 % de la variación observada. De las variables utilizadas en el análisis el peso de semillas es la que menos contribuye en la CP1, la cual explica en mayor proporción la variación observada, aunque posee una elevada contribución a la CP2 (Tabla 6). El peso de semillas se correlacionó positivamente con el número de inflorescencias. En el biplot (Fig. 10 b) puede observarse que existe una mayor dispersión de puntos (poblaciones por ambiente), respecto a *T. crinita*.

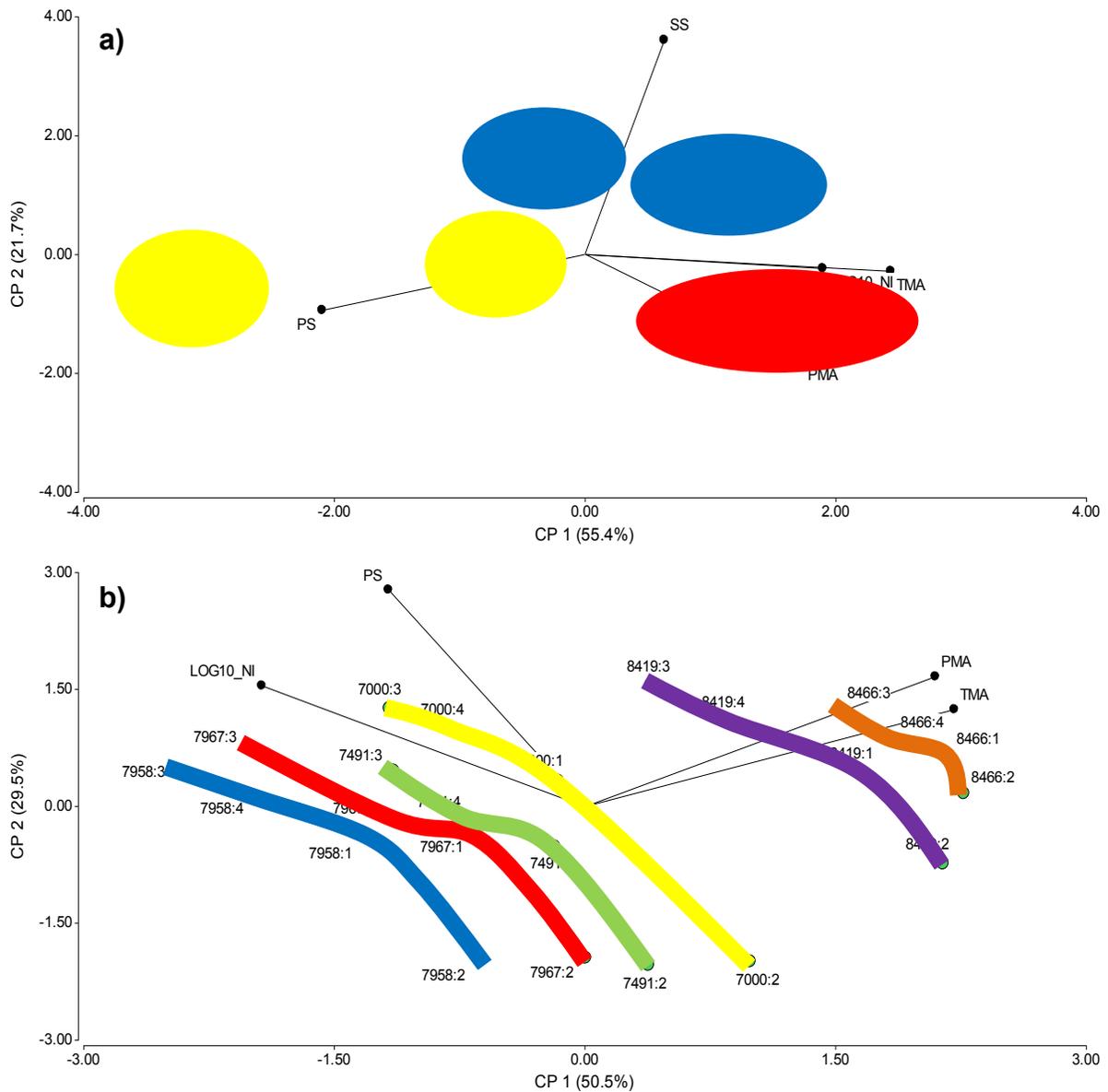


Figura 10: Biplot resultante del análisis de componentes principales en la evaluación del peso de semillas en ambientes contrastantes para: a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*. Para cada punto se indica el ID de población seguido del ambiente. *Ambientes:* 1) Esperanza año 2014, 2) Esperanza año 2015, 3) Catamarca año 2014 y 4) Catamarca año 2015. *Variables:* NI: Número de inflorescencias. PS: Peso de semillas. PMA: Precipitación media anual. TMA: Temperatura media anual. SS: Salinidad del suelo.

6. DISCUSIÓN

La variabilidad del peso de semillas entre poblaciones constituye un aspecto clave, no sólo por ser un carácter heredable (Sadras, 2007) sino que además refleja el potencial evolutivo de las poblaciones y constituye un importante indicador de la biodiversidad local (Leishman, 2001; Moles & Westoby, 2004; Germain et al., 2013). Davis et al. (2005) y Cochrane et al. (2015) establecen que la amplitud o rango del gradiente climático a través del cual una especie se distribuye podría explicar las diferencias entre poblaciones.

La variación del peso de semillas en ambas especies del género *Trichloris* es altamente influenciada por la elevación del terreno y la temperatura del ambiente materno. En ambos casos, se halló correlación negativa entre el peso de semillas y la temperatura media anual y la máxima temperatura del mes más cálido, mientras que la correlación fue positiva con la elevación del terreno. Similares resultados han sido hallados por Pluess et al. (2005), quienes analizaron 29 especies que crecen en diferentes gradientes altitudinales, detectando una presión de selección por especies con mayor peso de semillas a medida que se incrementa la altitud, aspecto también reportado por Dainese & Sitzia (2013). Aunque, estos últimos no encontraron correlación entre peso de semillas y altitud al analizar la variabilidad dentro de cuatro especies que crecían en todo el gradiente. Adicionalmente, en *T. crinita* el peso de semillas se correlacionó con la latitud y la precipitación del mes más húmedo. La correlación negativa entre peso de semillas y la precipitación del mes más húmedo estaría indicando un aumento del peso de semillas cuando las lluvias durante la estación de crecimiento son limitantes. Lo mismo sucede con el aumento del peso de semillas a medida que aumenta la latitud, ya que el gradiente de aridez aumenta hacia el sur de la distribución. Baker (1972) observó, al analizar diversas comunidades y hábitos de crecimiento, un aumento del peso de semillas con el incremento de la probabilidad de que las plántulas sean expuestas a sequía luego de la germinación. Por otro lado, Moles et al. (2007) observaron al analizar numerosas especies de diversos hábitats (aproximadamente 11.481 especies de todo el mundo), una disminución en el peso de semillas con el incremento de la latitud. Del mismo modo, Pakeman et al. (2008) demostraron una correlación negativa del peso de semillas con la latitud y positiva con la radiación solar al analizar 12 sitios, en su mayoría pastizales, aunque no hallaron correlación entre peso de semillas y sequía y fertilidad de suelo. Völler et al. (2012) hallaron que la variación

fenotípica para peso de semillas en dos especies de gramíneas y tres no gramíneas, presentaba un fuerte componente geográfico, ya que semillas más pesadas se encontraban a menudo en la misma región, aunque dichos autores no pudieron determinar los factores ambientales que estarían involucrados en el proceso de selección natural debido a que no realizaron estudios ecogeográficos. Parra-Quijano et al. (2012 b) estudiaron la variación del peso de semillas de leguminosas y gramíneas silvestres y cultivadas, con distintos grados de domesticación, hallando que en ambientes marginales asociados a los límites de distribución o ambientes extremos, el peso de semillas fue menor en algunas de las especies estudiadas, mientras que otras fueron insensibles al análisis.

Algunos de estos antecedentes concuerdan con lo hallado en el presente estudio, mientras que en otros la respuesta del peso de semillas es diferente. Sin embargo, las comparaciones pueden ser dificultosas debido a que las estrategias asociadas al incremento del peso de semillas en respuesta al ambiente pueden ser diversas según las especies (Pellissier et al., 2010).

En *T. crinita*, la elevada correlación entre peso de semillas procedentes de ambiente materno y ambiente común, las relaciones entre peso de semillas con variables del ambiente materno y la conservación del peso de semillas ante diferentes ambientes de cultivo, sugieren que este carácter sería adaptativo. Esto puede verse en los patrones de distribución espacial de la especie, donde las poblaciones colectadas en ambientes marginales (límites de distribución de la especie), correspondientes a ambientes más estresantes, presentan un mayor peso de semillas, revelando una estrategia de adaptación local de la especie. Por otro lado, en *T. pluriflora* la falta de correlación entre el peso de semillas procedentes de ambos ambientes, la débil correlación con variables del ambiente de origen y el efecto de diferentes ambientes de cultivo sobre el peso de semillas, dificultan obtener resultados concluyentes en cuanto a la posibilidad de que el peso de semillas se constituya un carácter adaptativo en tal especie. Cochrane et al. (2015) sugieren que la variación entre poblaciones de una especie en caracteres de semillas corresponde a una combinación de diferencias inducidas por factores ambientales y fijadas genéticamente, lo que puede ser indicio de adaptación local que conduce a diferenciación de caracteres y plasticidades entre poblaciones. En tal sentido, la variación hallada en el peso de semillas en ambiente de origen y en ambiente común, con elevada variación intraespecífica, tendría una base

genética solamente en *T. crinita*. Mientras que la estrategia de *T. pluriflora* estaría asociada a la plasticidad fenotípica transgeneracional del peso de semillas para prosperar en diferentes ambientes. En gramíneas con espiguillas plurifloras, con más de un antecio fructífero, como en *T. pluriflora*, se ha reportado variación en el peso de semillas de distintos antecios de una misma espiguilla, como ocurre en *Lolium perenne* (Anslow, 1964; Warringa et al., 1998) y en *Leymus arenarius* (Greipsson & Davi, 1995). Es posible que patrones de variación entre el peso de semillas dentro de las espiguillas en su lugar de origen vs. ambiente común sean responsables de esta respuesta más plástica en *T. pluriflora*. Es decir, que ante diferentes condiciones ambientales, puede existir compensación en el peso de semillas entre los antecios de una misma espiguilla. En algunos casos, la producción de semillas dimorfas en la misma planta permite asegurar un establecimiento exitoso de la descendencia (Venable et al., 1987).

El patrón de variación en *T. crinita* se hace más evidente al comparar el peso de semillas en poblaciones simpátricas de ambas especies, observándose una diferencia en el peso de semillas a favor de *T. crinita* a medida que los sitios evaluados se acercan a ambientes marginales. Zabala et al. (2011 b) fueron los primeros en reportar diferencias importantes en el peso de semillas en poblaciones de ambas especies, aunque estos autores analizaron pocos materiales y no hallaron un patrón geográfico que explicara dicha variación. En este trabajo, siguiendo la propuesta de Münzbergová y Plačková (2010) de analizar un número significativamente mayor de poblaciones, y representativas del rango de distribución de la especie, se pudo hallar un patrón ecogeográfico que explicaría la variación en el peso de semillas de *T. crinita* en Argentina. Edwards (1970) y Edwards & Emara (1970) han demostrado que en especies estrechamente relacionadas, e incluso dentro de una especie, puede no haber patrones consistentes de efecto del ambiente de origen para el mismo rasgo. Sin embargo, la estrategia de cada especie dependerá si asegura su establecimiento y supervivencia a través de semillas pesadas o por un mayor número de semillas más pequeñas. Hay varias relaciones posibles en la compensación entre peso/número de semillas en ambientes estresantes. Dado que las especies muestran una mayor variación en el número de semillas que en el peso de las mismas (Harper et al. 1970), Smith & Fretwell (1974) desarrollaron un modelo teórico en el que proponen que el número de semillas está determinado por los recursos disponibles y el peso de semillas fijado genéticamente. Este

modelo también es válido cuando se analiza la relación entre peso y número de semillas a niveles intraespecíficos (Gambín et al., 2006, 2008). Germain & Gilbert (2014) hallaron una fuerte evidencia de compensación entre peso y número de semillas en 29 especies anuales de la región del Mediterráneo, mientras que a nivel intraespecífico las correlaciones fueron variables, sugiriendo que diferentes limitantes operan a distintos niveles de organización ecológica. Gambín & Borrás (2010) hallaron una correlación negativa entre peso y número de semillas al evaluar 15 especies ampliamente cultivadas. Primack (1979) halló una significativa correlación negativa entre el peso y número de semillas en 13 especies del género *Plantago* provenientes de poblaciones naturales y 25 procedentes de colecciones de herbarios. Shipley & Dion (1992) hallaron una correlación negativa entre peso y número de semillas por inflorescencia para 57 especies herbáceas de Angiospermas. Iguales resultados hallaron Greene & Johnson (1994) analizando los datos de producción de semillas de Salisbury (1974) para 34 especies de hierbas nativas de Gran Bretaña. Jakobsson & Erikson (2000) hallaron esa misma evidencia de compensación para 72 especies típicas de pastizales de Suecia. Por otro lado, Gnan et al. (2014) hallaron un efecto compensatorio entre peso y número de semillas al evaluar líneas multiparentales de *Arabidopsis thaliana*, sugiriendo que la alta independencia genética del peso de semillas respecto al número, convierte a este carácter objetivo para programas de mejoramiento. Existen evidencias de un fuerte control genético para el tamaño de semilla en especies vegetales silvestres y cultivadas (Sadras, 2007). Estudios en gramíneas cultivadas han reportado valores elevados de heredabilidad (>0.72) para tamaño de semillas (Oram, 1982; Belay et al., 1993; Lamadji et al., 1995; Moghaddam et al., 1997; Holland & Munkvold, 2001; Boe, 2003; Cisse & Ejeta, 2003; Mihaljevic et al., 2004; Peighambari et al., 2005). Se han encontrado genes asociados en el control del peso de semillas que explican en menor o mayor medida la variación fenotípica para dicho carácter (Doebley et al., 1994; Luo et al., 2005; Tang et al., 2006). En base a esto, Sadras (2007) propone que la asignación de recursos para la reproducción implica una alta plasticidad en el número de semillas, para una disponibilidad variables de recursos, y un estrecho rango de peso de semillas como resultado de la selección evolutiva y agronómica.

Estos antecedentes sostienen que el efecto compensatorio entre peso y número de semillas puede darse a niveles inter e intraespecíficos. En el presente estudio se halló correlación

lineal negativa entre peso de semillas y número de inflorescencias al analizar 21 poblaciones de *T. crinita*, y entre peso de semillas y número de semillas por planta al analizar 6 poblaciones, mientras que ninguna relación se observó para *T. pluriflora*. Esto evidencia una fuerte compensación del peso de semillas en *T. crinita*, a partir de un mayor número de semillas por planta dada por una mayor producción de inflorescencias.

En este sentido, numerosos estudios han utilizado la estadística multivariada para predecir las respuestas de organismos biológicos a diversos parámetros a los que se encuentran asociados. Es conocido su uso en selección genómica en programas de fitomejoramiento para predecir la ganancia genética a partir de caracteres poligénicos asistido por marcadores moleculares o estudios de progenies (Crossa et al., 2010; Lorenz, 2013). Gaudet & Keddy (1988) demostraron, a partir de análisis de regresión lineal múltiple ($R^2=0.74$), que la habilidad competitiva de las especies puede ser predicha a partir de caracteres fenotípicos de las especies. Adler et al. (2014) han utilizado dichos modelos para predecir la filogenia de las especies a partir de caracteres funcionales vegetales. Hector et al. (1999) utilizaron modelos de regresión lineal múltiple para predecir el rol de la complementariedad de nicho y las interacciones entre las especies en la diversidad y productividad en pastizales europeos. Conti et al. (2013) estudiaron los distintos depósitos de carbón en ecosistemas del Chaco semiárido en Argentina a partir de componentes de la diversidad funcional de los ecosistemas, hallando valores de ajuste (R^2) de 0.73 a 0.87. En el presente estudio, los modelos de predicción del peso de semillas a partir de variables ecogeográficas del ambiente de origen, presentaron un ajuste aceptable (R^2 de 0.39 y 0.46 para *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente).

En el presente estudio, los modelos de predicción del peso de semillas a partir de la estadística multivariada ecogeográfica presentaron un buen ajuste (R^2 de 0.74 y 0.57 para *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente), el cual fue mejor en *T. crinita*. Adicionalmente, los valores de FIV hallados revelan la ausencia de colinearidad entre variables regresoras (Kleinbaum et al., 1988; Hair et al., 1999), lo que se logró con el descarte previo de variables altamente correlacionadas. Por consiguiente, dichos modelos de predicción deberán ser validados a través de una colecta de germoplasma en futuras misiones de colecta.

La conservación de los hábitats naturales y la persistencia de las especies nativas, incluyendo sus mecanismos de dispersión, se ven agravados por los efectos del cambio climático (Cochrane et al. 2015). Por ello, la rehabilitación de nichos ecológicos se torna de gran importancia para el mantenimiento de las comunidades vegetales (Grubb, 1977). En tal sentido, la identificación de caracteres fijados evolutivamente, como el peso de semillas en *T. crinita*, y la conservación de la variabilidad de dicho carácter asociada al ambiente, permite el desarrollo de estrategias de manejo adaptables que pueden ayudar a reconstruir la resiliencia de los ecosistemas, y lo más importante, identificar poblaciones más adecuadas para su restauración. Por todo lo dicho, hace a este carácter un objetivo importante de selección en programas de domesticación de *T. crinita*.

CAPÍTULO III

**EFECTO DEL PESO DE SEMILLAS SOBRE EL
COMPORTAMIENTO GERMINATIVO DE POBLACIONES DE *T.*
CRINITA Y *T. PLURIFLORA* EN CONDICIONES DE ESTRÉS
HÍDRICO Y SALINO**

1. INTRODUCCIÓN

Osmond et al. (1987) definen estrés como “cualquier factor que provoca la reducción del crecimiento y reproducción vegetal por debajo del potencial del genotipo”. En este sentido, la germinación en gramíneas forrajeras perennes es una etapa muy sensible a estreses abióticos, debido a que las semillas por lo general son pequeñas y deben sembrarse en los primeros milímetros del suelo, donde se presentan valores más extremos de estreses tales como sequía y salinidad (Marcar, 1987; Osmond et al., 1987).

Entre las características que influyen en la germinación, el peso de semillas es el más investigado y por lo general se lo asocia positivamente con la germinación en una variedad de entornos (Pearson et al., 2002; Kahmen & Poschlod, 2008).

Gran parte de la literatura sobre la variación del tamaño de la semilla considera que las diferencias de tamaño de semillas entre las especies se relaciona con las diferentes condiciones ambientales que enfrentan las plántulas durante el establecimiento (Leishman et al., 2000). Estas diferencias en el tamaño de la semilla a menudo confieren ventajas en estadios tempranos del crecimiento, y en la supervivencia y la capacidad competitiva entre especies (Leishman, 2001; Moles & Westoby, 2002, 2004; Metz et al., 2010; Germain et al., 2014). En general, se considera que semillas más grandes es un patrón adaptativo a condiciones estresantes durante el establecimiento de plántula (Willson, 1983; Westoby et al., 1992, 1996). La premisa de toda interpretación adaptativa es que plántulas provenientes de semillas grandes poseen más reservas metabólicas en embrión y endosperma disponibles para su crecimiento inicial (Silvertown, 1989; Westoby et al., 1992). El peso de semillas refleja la cantidad de las reservas disponibles para el coleoptilo, lo que puede tener efectos positivos sobre la emergencia, confiriendo mayor apoyo físico para penetrar el suelo (Andrews et al., 1997; Gardarin et al., 2010) y reducir la susceptibilidad de las semillas germinadas a los ataques de hongos y a la sequía (Crist & Friese, 1993; Ganade & Westoby, 1999).

Sin embargo, a medida que pasa el tiempo luego de la germinación, el tamaño de la plántula queda determinado por la tasa relativa de crecimiento (Westoby et al., 1992). Los mecanismos a través de los cuales el peso de semillas genera ventajas en ambientes estresantes están asociados a un mayor tamaño inicial de plántula (Leishman & Westoby, 1994), y en consecuencia de sus proporciones (raíz y tallo) lo que le permite una mejor

exploración de recursos (agua, nutrientes, luz) y una rápida y efectiva simbiosis con microorganismos del suelo (Westoby et al., 1992).

En general, cuando las condiciones de germinación son óptimas no existe relación entre tamaño de semillas y poder germinativo y tamaño de plántula (Bretagnolle et al., 1995; Wang et al., 2009). No obstante, el incremento del peso de semillas ha sido correlacionado positivamente con una mayor capacidad de germinación y tamaño de plántula en condiciones de estrés ambiental como bajas temperaturas (Thompson, 1990; Boyd et al., 2007, Qiu et al., 2010; Zabala et al., 2011 b), sequía (Gross & Smith, 1991; Leishman & Westoby, 1994; Daws et al., 2008), salinidad (Khurana & Singh, 2000; Khan & Ungar, 2001; Easton & Kleindorfer, 2009) o deficiencias nutricionales del suelo (Milberg & Lamont, 1997). Adicionalmente, la intensidad de la lluvia a campo puede tener un impacto importante ya que plántulas pequeñas son más susceptibles de quedar expuestas a las condiciones del medio que las más grandes (Leishman & Westoby, 1994).

En todos los casos, la relación entre peso de semillas y comportamiento germinativo dependerá del nivel al que se analiza, es decir, entre especies o poblaciones dentro de la especie.

Di Giambatista (2011) observó que semillas de una población de *T. crinita* eran capaces de germinar sin inconvenientes a -0.5 MPa de presión osmótica. Por otro lado, Zabala et al. (2011 b) encontraron que poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora* con mayor peso de semillas presentaron una mayor capacidad de germinación en condiciones de temperaturas subóptimas. Estos resultados pueden estar asociados, en estas semillas de mayor tamaño, a una mayor capacidad de movilización de reservas (Kidson & Westoby, 2000), especialmente en gramíneas ya que poseen una baja relación embrión/reserva (Martin, 1946).

Tanto la salinidad como la sequía causan una inhibición del crecimiento de las plántulas a través de la reducción del potencial hídrico del suelo. En los últimos años, la hidroponía se ha utilizado para superar los problemas de heterogeneidad y drenaje del suelo, permitiendo mantener un potencial hídrico constante (Munns et al., 2010). En este sentido, no hay un medio perfecto para simular de forma fehaciente las condiciones que soportan las plántulas a campo. En numerosos estudios de germinación se utilizaron agentes osmóticos inertes de alto peso molecular como el polietilenglicol (PEG) para simular el estrés hídrico (Dodd &

Donovan, 1999; Tobe et al., 2000; Almansouri et al., 2001; Cornaglia et al., 2005; Demir & Mavi 2008), con ventajas ante otras sustancias de menor masa molecular que pueden ingresar a la raíz y moverse por xilema e interferir en los efectos causados por la presión osmótica (Munns et al., 2010).

Por otro lado, la salinidad del suelo es un parámetro reproducible y se encuentra correlacionado con el potencial osmótico y la suma de iones presentes en la solución del suelo (Dudley, 1994; Marschner, 1995). En la mayoría de los casos la sal predominante en el cloruro de sodio (NaCl) y ha sido ampliamente utilizada para evaluar la tolerancia a estrés salino en gramíneas (Al-Karaki, 2001; Almansouri et al., 2001; Gulzar & Khan, 2002; Li et al., 2010; Santo et al., 2014). Sin embargo, las concentraciones y el tipo de sales utilizados dependerán en cada caso de la especie en estudio.

2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

En el género *Trichloris*:

- 1- Ante condiciones de estrés causado por salinidad y/o sequía, las poblaciones con mayor peso de semillas presentan mayor poder germinativo y peso de plántula.
- 2- No existe efecto del ambiente de cosecha que condicione la respuesta germinativa bajo estrés salino.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Evaluar el efecto del peso de semillas en la germinación ante estrés hídrico y salino en poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora*.
- b) Evaluar el efecto del ambiente de cosecha, en la respuesta germinativa bajo estrés salino, en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Evaluación del efecto del peso de semillas en la tolerancia a estrés hídrico y salino en la etapa germinativa, en poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora*. (Hipótesis 1, objetivo a)

Para cada especie fueron utilizadas muestras masales de semillas obtenidas del experimento 4.3. del Capítulo 2, de 21 y 20 poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente

(Ver Anexo 1). Se evaluó el efecto del estrés hídrico y salino para las plántulas normales (Peretti, 1994) germinadas a los 7 y 21 días, considerados por Zabala et al. (2011 b) los recuentos iniciales (PGI) y finales de germinación (PGF), y para peso fresco y seco de plántulas (PFP, PSP) finalizado el recuento. Se utilizó como sustrato perlita con agua destilada. Las cariopsis desnudas fueron puestas a germinar bajo un potencial osmótico de -0,5 MPa inducido por el agregado de Cloruro de Sodio (NaCl) y Polietilenglicol (PEG 6000), para la simulación de estrés salino e hídrico, respectivamente. Dicho potencial osmótico fue elegido en función de bibliografía (Di Giambatista et al., 2010) y ensayos preliminares. Este potencial permite evaluar la variabilidad existente en el comportamiento germinativo, ya que a menores potenciales (más negativos) la germinación en algunas poblaciones disminuye de manera considerable, haciéndose nula en algunas. Se evaluaron 3 tratamientos: 1) testigo (agua destilada), 2) salino (solución -0,5 MPa NaCl) e 3) hídrico (solución -0,5 MPa PEG 6000). Se analizaron 3 repeticiones de 30 cariopsis por población y tratamiento. Las repeticiones fueron dispuestas aleatoriamente en celdas de telgopor con perlita estéril. Cada bandeja de telgopor (compuesta de 12 celdas) fue puesta dentro de contenedores plásticos con tapa para evitar la evaporación de la solución. Para evitar diferencias en los niveles de humedad se colocó el mismo volumen de solución en cada una de las celdas (30 ml). Las mismas se dispusieron aleatoriamente dentro de una cámara de crecimiento a 28°C, considerada la temperatura óptima de germinación según Zabala et al. (2011 b), en presencia de luz. Previo al ensayo de germinación, se analizó la viabilidad de una muestra de 50 cariopsis por población mediante el test de tetrazolio adaptado a *T. crinita* por Cabeza et al. (1999). El PFP y PSP fue estimado de una muestra de un mínimo de 5 plántulas por celda, con balanza de precisión (0.0001 g).

Los porcentajes de germinación se calcularon en base a las semillas viables. Las variables analizadas se expresaron en términos absolutos y relativos. Ambas expresiones analizadas en conjunto conducen a un correcto análisis, ya que si bien los valores absolutos tienen aplicación directa, si no se analizan en términos relativos a condiciones no estresantes puede llevar a interpretaciones erróneas relacionadas con la tolerancia *per se*.

Las diferencias en el PGI, PGF, PFP y PSP (mg) se evaluaron a través de un ANVA anidado, previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas, para los factores especie (2), poblaciones dentro de especie (41), tratamientos (3) y las interacciones

correspondientes. El PFP y PSP fueron transformados por la raíz cuadrada del valor para asegurar la distribución normal. El factor poblaciones dentro de especies es aleatorio, por lo cual el término del error para el factor especie fue poblaciones dentro de especie. Las diferencias de medias se analizaron con el test de Tukey ($p < 0,05$). Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación de Pearson ($p < 0,05$) entre el peso de semillas de cada población y las variables evaluadas (i.e. PGI, PGF, PFP, PSP). El modelo estadístico para cada variable queda definido:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \gamma_k + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + \varepsilon_{(ij)k}$$

Y_{ijk} es el valor de la variable asociada al comportamiento germinativo al i-ésimo nivel del factor especie (E) y al j-ésimo nivel del factor población (P) anidado en el i-ésimo nivel del factor E y al k-ésimo nivel del factor tratamiento (T)

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i-ésimo nivel del factor E

$\beta_{j(i)}$ es el efecto del j-ésimo nivel del factor P anidado en el i-ésimo nivel del factor E

γ_k es el efecto del k-ésimo nivel del factor T

$(\tau\gamma)_{ik}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel del factor E y el k-ésimo de T

$(\beta\gamma)_{jk}$ es la interacción entre el j-ésimo nivel del factor P y el k-ésimo de T

$\varepsilon_{(ij)k}$ es el error asociado a las observaciones correspondiente a los niveles i del factor E y j del factor P anidado en el i-ésimo nivel de E y k del factor T, $\varepsilon_{(ij)k} \sim N(0, \sigma^2)$

4.2. Evaluación del efecto del ambiente de cosecha en la tolerancia a la salinidad en la etapa germinativa, en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* (Hipótesis 2, objetivo b)

En el presente estudio se evaluó la germinación de semillas procedentes del experimento 4.5. del Capítulo 2. Se evaluaron poblaciones selectas por ambiente de origen y peso de semillas, cosechadas en diferentes ambientes (campo experimental de la EEA INTA en Sumalao, Catamarca y campo experimental Juan Donnet de la FCA-UNL, durante 2014 y 2015) (Ver Tablas 3 y 4). Se utilizaron muestras masales de las poblaciones cosechadas en los diferentes ambientes y se analizó la respuesta germinativa ante estrés salino a través del PGI, PGF y PFP. Para la simulación del estrés salino se utilizó soluciones de NaCl a dos niveles: 120 mM/L y 240 mM/L. El potencial más bajo (120 mM) es considerado por

Munns (2002) una concentración útil para simular el estrés osmótico, ya que a corto plazo dicho potencial genera un efecto más osmótico que iónico, el potencial más alto (240 mM) estaría generando un efecto iónico además del efecto osmótico. Así quedaron definidos 3 tratamientos: 1) testigo (agua destilada), 2) estrés salino a 120 mM NaCl/L y 3) estrés salino a 240 mM NaCl/L. Se analizaron 3 repeticiones de 30 cariopsis por población, ambiente de cosecha y tratamiento. Las repeticiones fueron dispuestas aleatoriamente en celdas de telgopor con perlita estéril. Cada bandeja de telgopor (compuesta de 12 celdas) fue puesta dentro de contenedores plásticos con tapa para evitar la evaporación de la solución, dispuestos aleatoriamente dentro de cámara de crecimiento a 28°C, en oscuridad. Para evitar diferencias en los niveles de humedad se colocó el mismo volumen de solución en cada una de las celdas (30 ml). Previo al ensayo de germinación, se analizó la viabilidad de una muestra de 50 cariopsis por población y ambiente de cosecha, mediante el test de tetrazolio propuesto por Cabeza et al. (1999).

Los porcentajes de germinación se calcularon en base a las semillas viables y las variables analizadas se expresaron en términos absolutos y relativos para un correcto análisis. El PFP se estimó como el promedio de 5 plántulas por celda, con balanza de precisión.

Las diferencias en PGI y PGF y PFP (mg) se evaluaron a través de un ANVA anidado, previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas, para los factores especie (2), poblaciones dentro de especie (12), ambientes (4), tratamientos (3) y las interacciones correspondientes. Las variables PGI y PGF fueron transformadas por el ArcoSeno del valor. Las diferencias de medias se analizaron con el test de Tukey ($p < 0,05$). Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación de Pearson ($p < 0,05$) entre las variables evaluadas y el peso de semillas de cada población en cada ambiente, para los tratamientos evaluados. La variable peso de semilla fue transformada por el ArcoSeno, para los análisis correspondientes.

5. RESULTADOS

5.1. Evaluación del efecto del peso de semillas en la tolerancia a estrés hídrico y salino en la etapa germinativa, en poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

Para el PGI y PGF se halló diferencias significativas ($p < 0,05$) entre poblaciones dentro de especies, tratamientos e interacción entre tratamientos y especie. Para el PFP se halló

diferencias ($p < 0.05$) entre especies, tratamientos e interacción entre ambos factores, al igual que para PSP donde además se halló diferencias significativas entre poblaciones. El PGI y PGF no varió entre las especies en el testigo, mientras que en presencia de estrés, *T. pluriflora* mostró una marcada disminución respecto de *T. crinita*. *T. pluriflora* posee mayor tamaño de plántula en condiciones óptimas de germinación, aunque en condiciones estresantes la disminución del PFP y PSP fue más evidente en *T. pluriflora* que en *T. crinita* (Fig. 11).

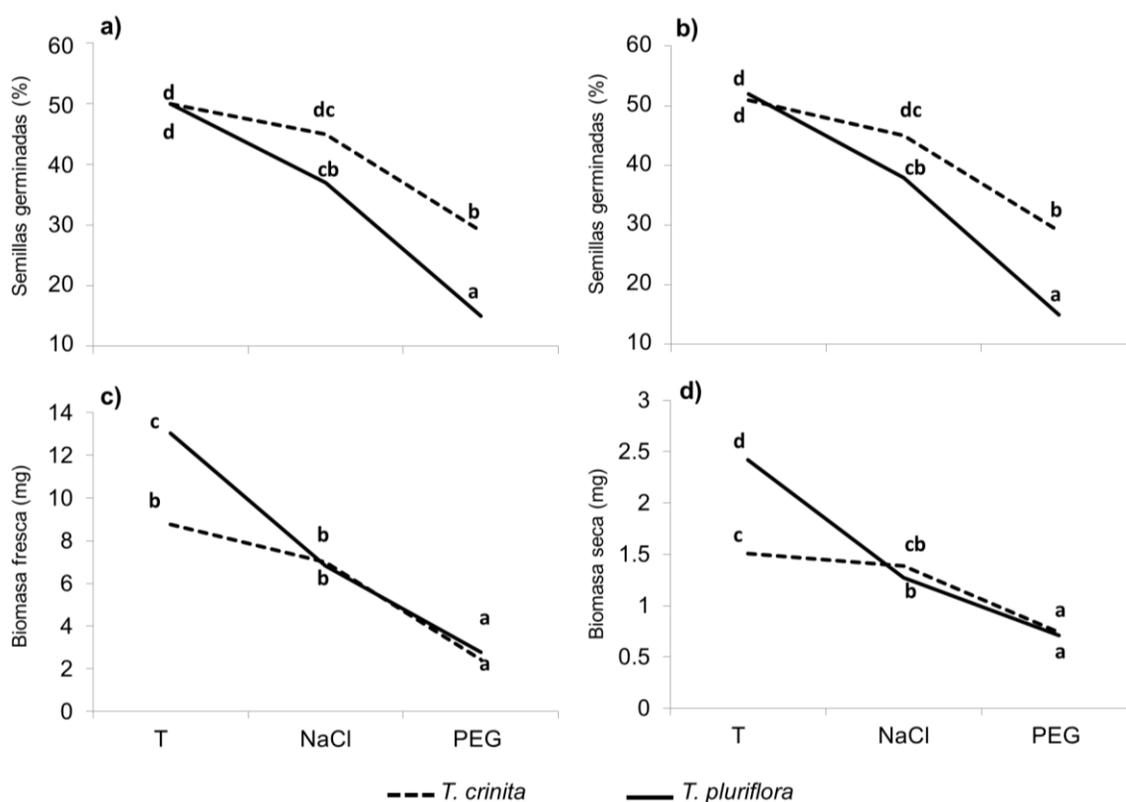


Figura 11: Efecto del estrés hídrico (PEG) y salino (NaCl), respecto al testigo (T), en la germinación y tamaño de plántula en las especies de *Trichloris*: a) porcentaje de germinación inicial (PGI) (7 días), b) porcentaje de germinación final (PGF) (21 días), c) peso fresco de plántula (PFP) a los 21 días y d) peso seco de plántula (PSP). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$; Tukey).

Para una mejor comprensión de los resultados, se realizó un ANVA para cada especie. Para *T. crinita*, el PGI, PGF, PFP y PSP varió significativamente ($p < 0.0001$) entre poblaciones y tratamientos. En *T. pluriflora*, se observaron diferencias significativas entre poblaciones y tratamientos ($p < 0.0001$) para el PGI y PGF, mientras que el PFP y PSP varió sólo entre

tratamientos ($p < 0.0001$). Para ambas especies y para todas las variables evaluadas, el peor comportamiento se observó en el tratamiento de estrés hídrico (PEG 6000), seguido por el estrés salino (NaCl) y el testigo (Fig. 11). Las diferencias observadas entre poblaciones para PGI y PGF no se correlacionaron con el peso de semillas en ninguna de las especies, mientras que el tamaño de plántula se correlacionó positivamente con el peso de semillas en los tratamientos testigo y de estrés salino, sólo en *T. crinita* (Fig. 12 y 13). Debido a que el PGI se correlacionó altamente con el PGF mientras el PFP lo hizo con PSP, en las Figuras 12 y 13 se grafica solo la relación entre peso de semillas y el PGF y PFP, ya que dichas variables presentaron el mayor valor de r , respecto a la correlacionada. Ninguna correlación fue hallada para los valores relativos.

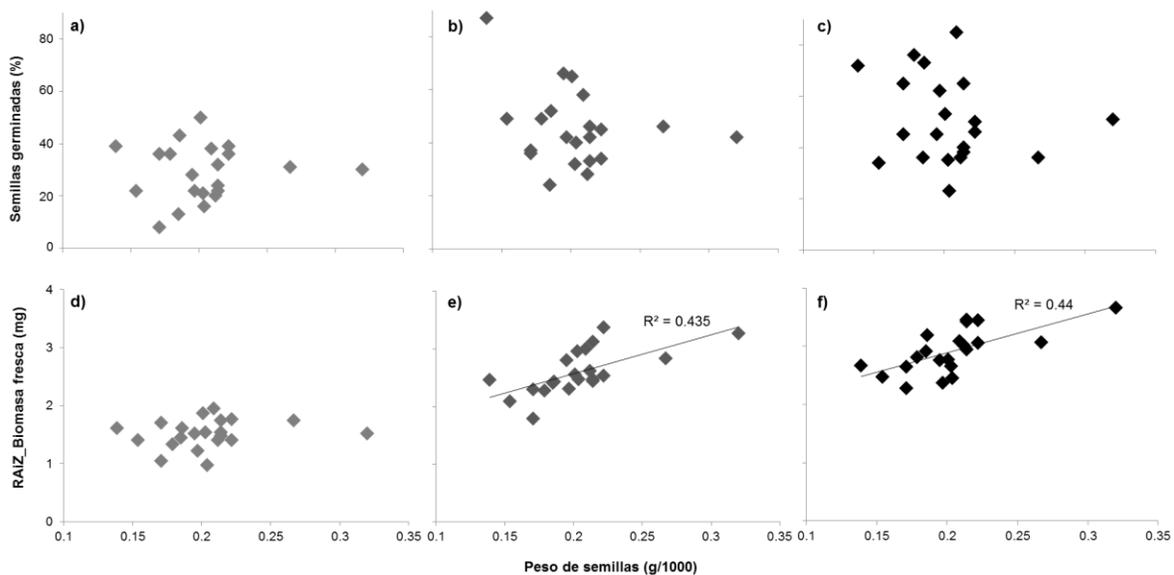


Figura 12: Correlación entre peso de semillas y variables asociadas a la respuesta germinativa en presencia de estrés hídrico (EH) y salino (ES) y en ausencia de estrés (A) en *T. crinita*. Efecto del peso de semillas en el porcentaje de germinación final ante: a) EH, b) ES) y c) A. Efecto del peso de semillas en el peso fresco de plántula (transformado por la raíz cuadrada) en condiciones de: d) EH, e) ES y f) A. Los valores de biomasa fresca de plántula se muestran transformados. Se presenta la recta de regresión y el valor de R^2 para el diagrama donde la correlación fue significativa ($p < 0.05$).

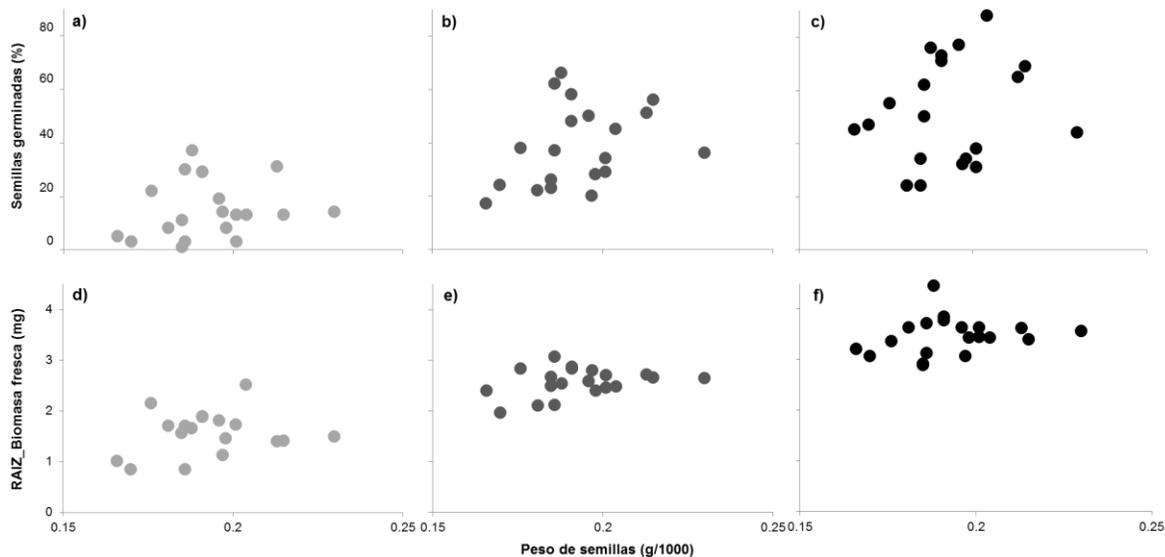


Figura 13: Correlación entre peso de semillas y variables asociadas a la respuesta germinativa en presencia de estrés hídrico (EH) y salino (ES) y en ausencia de estrés (A) en *T. pluriflora*. Efecto del peso de semillas en el porcentaje de germinación final ante: a) EH, b) ES y c) A. Efecto del peso de semillas en el peso fresco de plántula (transformado por la raíz cuadrada) en condiciones de: d) EH, e) ES y f) A. Los valores de biomasa fresca de plántula se muestran transformados.

5.2. Evaluación del efecto del ambiente de cosecha en la tolerancia a la salinidad en la etapa germinativa, en poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

No se halló diferencia significativa entre especies para ninguna de las variables evaluadas por lo que los análisis se realizaron para cada especie en particular. En el tratamiento con 240 mM de NaCl no se obtuvo germinación para ninguna de las poblaciones y ambientes evaluados. En *T. crinita* se observó variación significativa en el PGI y PGF entre poblaciones ($p < 0.0001$), ambientes ($p = 0.022$; $p = 0.014$) y tratamientos ($p < 0.0001$) mientras que el PFP fue significativamente diferente entre poblaciones ($p < 0.0001$) y ambientes ($p = 0.025$). En *T. pluriflora*, la variación del PGI fue significativa entre poblaciones ($p = 0.0018$), ambientes ($p = 0.001$) y tratamientos ($p < 0.0001$), hallándose interacción entre poblaciones y tratamientos ($p = 0.018$) y entre ambientes y tratamientos ($p = 0.0007$). Las diferencias de PGF y el PFP fueron significativas entre poblaciones ($p = 0.0008$; $p = 0.0047$), ambientes ($p = 0.0002$; $p = 0.0038$) y tratamientos ($p < 0.0001$; $p = 0.0019$).

Para una mejor comprensión de los resultados se realizó un ACP por especie y tratamiento. Se utilizaron las variables evaluadas (PGI, PGF, PFP) y se adicionó al análisis en peso de

semillas. En *T. crinita* para el tratamiento testigo, la CP1 explicó 81.6% de la variación observada mientras que la CP2 aportó un 11.8% al total de 93.4% (Fig. 14 a). En la Tabla 7 pueden observarse los valores de los autovectores que indican la contribución de las variables en cada CP. Las poblaciones se mantuvieron agrupadas, a pesar de los diferentes ambientes de cosecha. Las poblaciones de mayor peso de semillas como la 7320 (originaria de ambiente árido) y la 8297 (originaria de ambiente salino) se diferenciaron de las de bajo peso de semillas de dichos ambientes (7390 y 7602, respectivamente), mientras que las poblaciones de ambiente húmedo (8492 y 8608) se mantuvieron agrupadas, al igual que en el análisis del peso de semillas del experimento 5.4. El peso de semillas se correlacionó positivamente con el PGI ($p=0.0001$; $r=0.72$), PGF ($p<0.0001$; $r=0.77$) y el PFP ($p<0.0001$; $r=0.73$). En el tratamiento salino (120 mM), las CP explican un 89.3 % de la variación obtenida (Fig. 14 b). Si bien no se halló un patrón claro en la respuesta, la población 7320, de mayor PS, se diferenció claramente del resto. El peso de semillas se correlacionó positivamente con el PGI ($p=0.0176$; $r=0.57$), PGF ($p=0.0001$; $r=0.79$) y el PFP ($p=0.002$; $r=0.69$). La contribución relativa de cada variable al ACP puede hallarse en la Tabla 6.

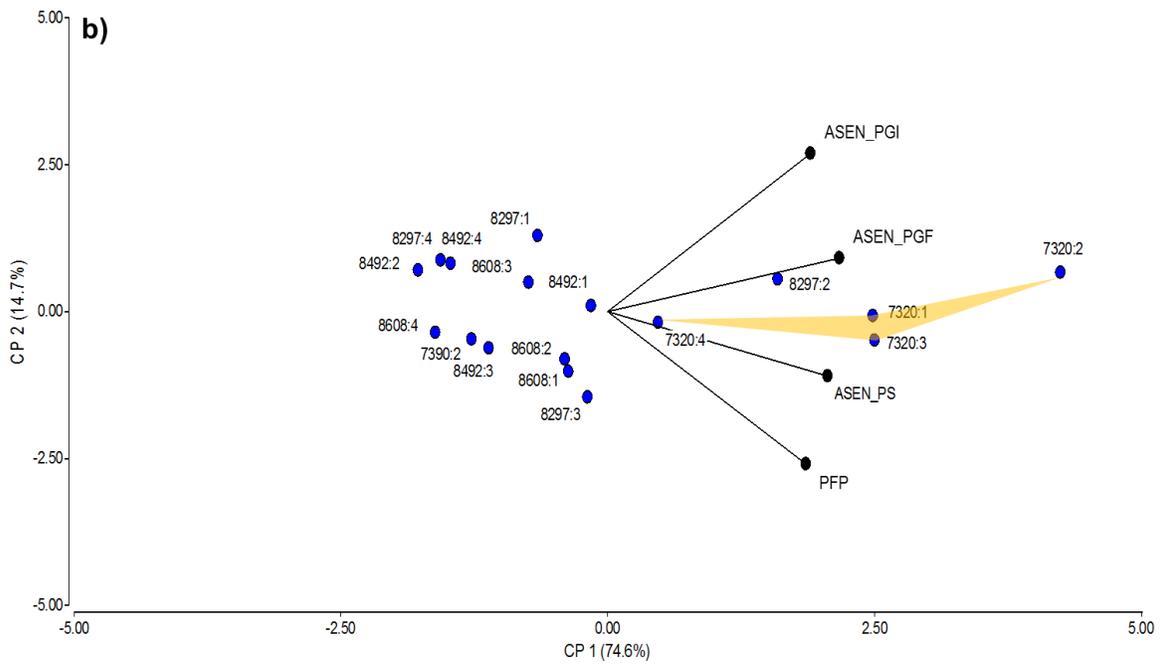
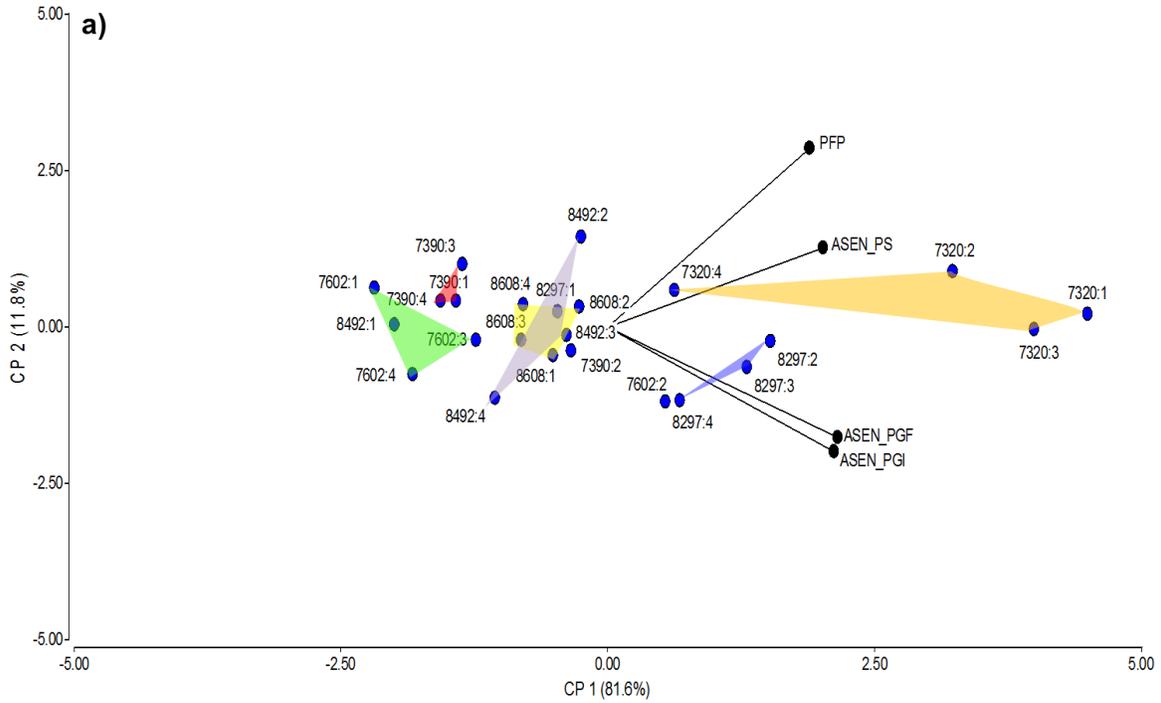


Figura 14: Biplot resultante del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa en *T. crinita*, en los tratamientos: a) testigo y b) salino (120 mM NaCl). Para cada punto se indica el ID de población seguido del ambiente. *Ambientes:* 1) Esperanza año 2014, 2) Esperanza año 2015, 3) Catamarca año 2014 y 4) Catamarca año 2015. *Variables:* PGI: Porcentaje de germinación inicial. PGF: Porcentaje de germinación final. PFP: Peso fresco de plántula. PS: Peso de semillas.

Tabla 7: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa para cada especie del género *Trichloris*, en condiciones testigo y en salinidad.

<i>Trichloris crinita</i>				
Variables	Testigo		Salinidad	
	CP1	CP2	CP1	CP2
ASEN PGI	0.52	-0.48	0.47	0.67
ASENPGF	0.53	-0.43	0.54	0.23
ASEN PS	0.49	0.31	0.51	-0.28
PFP	0.46	0.70	0.46	-0.65
<i>Trichloris pluriflora</i>				
Variables	Testigo		Salinidad	
	CP1	CP2	CP1	CP2
ASEN PGI	0.54	-0.45	0.47	0.65
ASEN PGF	0.54	-0.45	0.56	0.3
ASEN PS	0.49	0.44	0.46	-0.56
PFP	0.43	0.63	0.51	-0.42

El ACP correspondiente a *T. pluriflora* arrojó resultados diferentes. En el tratamiento testigo, las CP explican un 92.7 % la variación observada. En el presente análisis, se observa un patrón claro dado por el agrupamiento de poblaciones por ambiente de cosecha (Fig. 15 a). En la Tabla 7 pueden observarse los autovectores que muestran la contribución de cada variable en las CP. En general, semillas de las poblaciones cosechadas en Esperanza durante 2015 tuvieron el comportamiento más pobre. El PS se correlacionó positivamente con el PGI ($p=0.009$; $r=0.53$), PGF ($p=0.01$; $r=0.53$) y el PFP ($p=0.0002$; $r=0.7$). En el experimento con salinidad (120 mM), las CP explicaron un 80.9 % de la variabilidad hallada, sin embargo, no se observó un patrón de agrupamiento entre poblaciones ni ambientes (Fig. 15 b). El peso de semillas se correlacionó solo con PFP ($p=0.013$; $r=0.55$). La contribución de cada variable al análisis puede observarse en los valores de los autovectores de la Tabla 6.

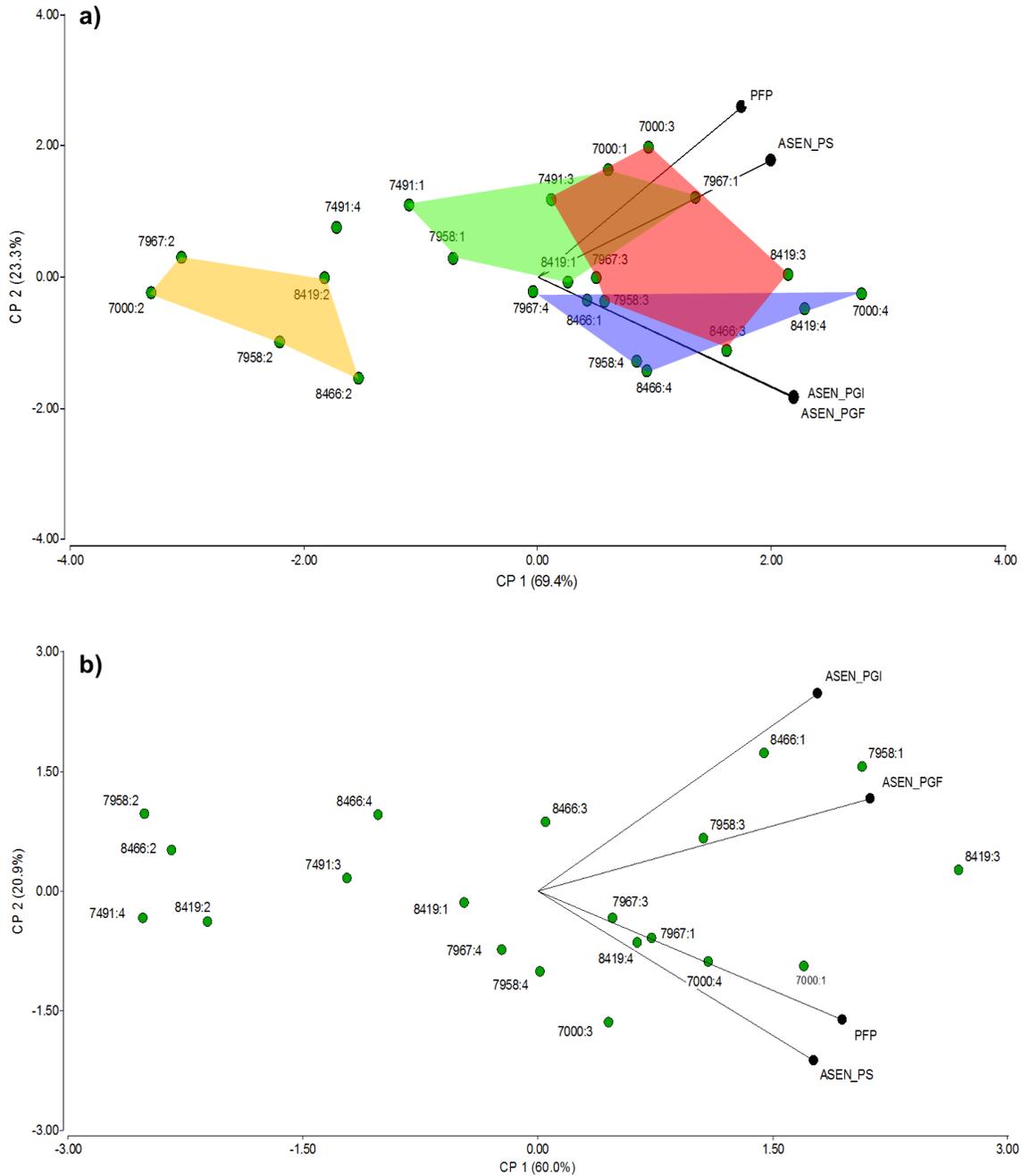


Figura 15: Biplot resultante del análisis de componentes principales para evaluar la respuesta germinativa en *T. pluriflora*, en los tratamientos: a) testigo y b) salino (120 mM NaCl por litro). Para cada punto se indica el ID de población seguido del ambiente. *Ambientes:* 1) Esperanza año 2014, 2) Esperanza año 2015, 3) Catamarca año 2014 y 4) Catamarca año 2015. *Variables:* PGI: Porcentaje de germinación inicial. PGF: Porcentaje de germinación final. PFP: Peso fresco de plántula. PS: Peso de semillas.

En general, la respuesta germinativa hallada en *T. crinita* es debida a la variación interpoblacional en ambos tratamientos, mientras que en *T. pluriflora* los ambientes de cosecha tuvieron un importante peso el comportamiento observado. Esto se sustenta con los componentes de la varianza obtenidos para todas las variables evaluadas en cada especie y tratamiento (Tabla 8).

Tabla 8: Componentes de la varianza obtenidos a partir de las esperanzas de los cuadrados medios del ANVA para cada especie y tratamiento, para las variables asociadas a la respuesta germinativa.

<i>Trichloris crinita</i>						
Fuentes de Variación	Testigo			Salinidad		
	PGI	PGF	PFP	PGI	PGF	PFP
Población (P)	65	54	70	67	84	12
Ambiente (A)	16	29	20	10	10	18
P*A	7	0	0	10	0	0
Error	12	17	10	14	6	69
<i>Trichloris pluriflora</i>						
Fuentes de Variación	Testigo			Salinidad		
	PGI	PGF	PFP	PGI	PGF	PFP
Población (P)	31	26	21	0	27	58
Ambiente (A)	64	69	63	67	52	0
P*A	0	1	0	0	0	0
Error	5	4	16	33	21	42

PGI: porcentaje de germinación inicial. **PGF:** Porcentaje de germinación final. **PFP:** Peso fresco de plántula.

Debido a que en el experimento en condiciones de elevada salinidad no se observó germinación para ninguna especie, población ni ambiente de cosecha, finalizado el recuento de germinación, las semillas y el sustrato fueron enjuagados con agua destilada y puestos a germinar en condiciones óptimas de temperatura (28°C). A los 7 días se efectuó el recuento de semillas germinadas para evaluar el porcentaje de recuperación. Las semillas germinaron cuando se restituyeron las condiciones óptimas de germinación. Sin embargo esta respuesta fue variada. Se halló una capacidad de recuperación significativamente diferente entre poblaciones de *T. crinita* ($p=0.0001$), mientras que en *T. pluriflora* se observaron

diferencias significativas entre poblaciones ($p=0.002$) y ambientes ($p<0.0001$). Se halló interacción entre poblaciones y ambientes en ambas especies ($p<0.05$) (Fig. 16). Esta respuesta diferencial no estuvo asociada al peso de semillas.

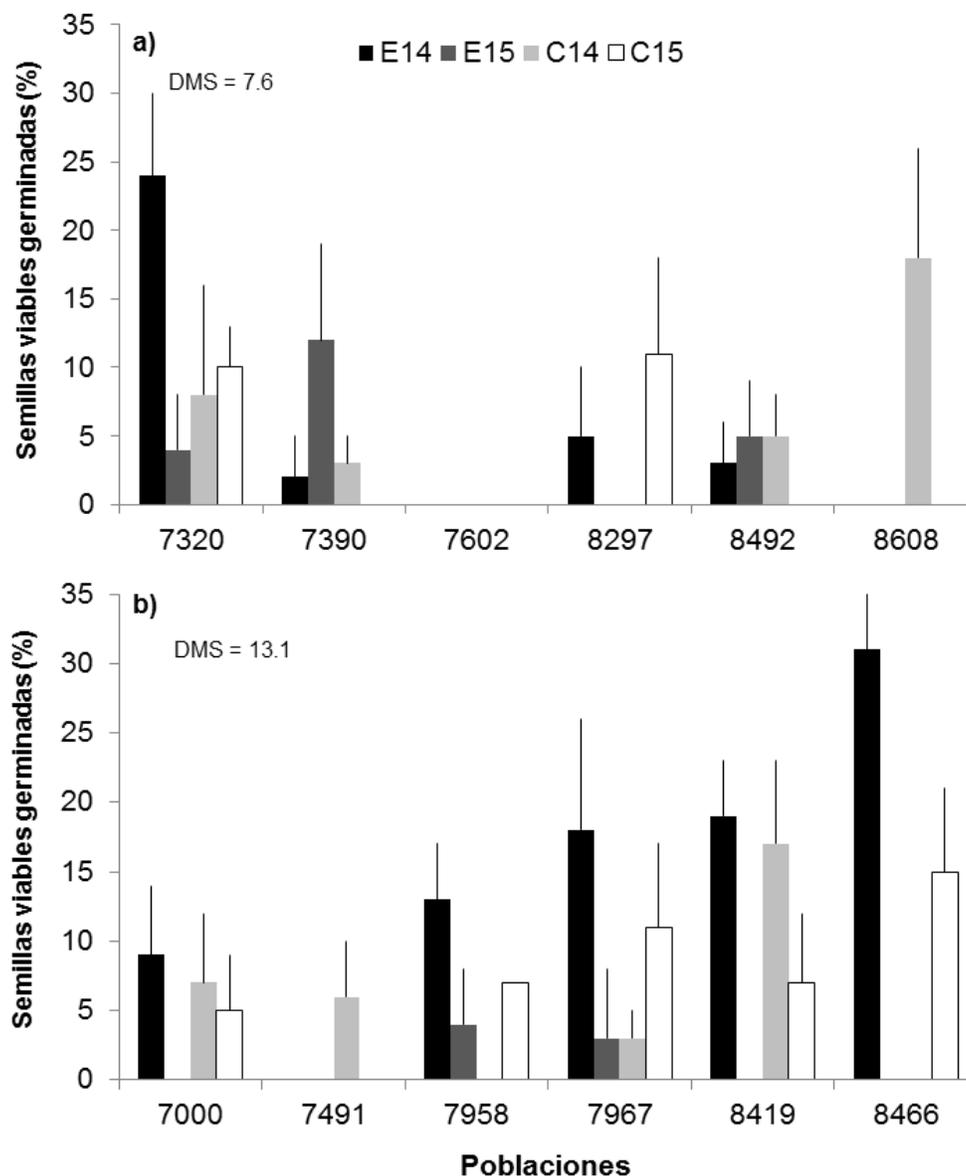


Figura 16: Porcentaje de recuperación de la capacidad germinativa en semillas de poblaciones selectas de *T. crinita* y *T. pluriflora* cosechadas en distintos ambientes, al restablecerse las condiciones óptimas para la germinación luego de estar embebidas en solución salina (240 mM de NaCl por litro) durante 21 días. Resultados para: a) *T. crinita* y b) *T. pluriflora*. DMS: Diferencias mínimas significativas entre poblaciones (P) y ambientes (A). E14: Esperanza año 2014. E15: Esperanza año 2015. C14: Catamarca año 2014 y C15: Catamarca año 2015.

6. DISCUSIÓN

Para *T. crinita* se confirma que el mayor peso de semillas mejora la respuesta germinativa a través de un mayor tamaño de plántula, tanto en presencia como en ausencia de estrés. Estos resultados son coincidentes con lo hallado por Khan & Ungar (2001), quienes observaron que plantas de *Halophyrum mucronatum* provenientes de semillas más grandes mostraron una mayor capacidad para germinar y establecerse en condiciones estresantes de sequía y salinidad en las dunas de las costas del mar Árabe. Del mismo modo, Khurana & Singh (2000) observaron que plantas provenientes de semillas más pesadas de *Albizia procera* sobrevivieron a condiciones de estrés hídrico severo, mientras que aquellas provenientes de semillas pequeñas tuvieron menor supervivencia. Otros autores han hallado resultados similares a nivel interespecífico. En un estudio llevado a cabo por Zhang et al. (2015) en 12 especies halófitas, hallaron que especies con mayor peso de semillas fueron más tolerantes al estrés salino, coincidente con lo señalado por Easton & Kleindorfer (2009) al estudiar 12 especies halófitas australianas del género *Frankenia*. Larson et al. (2015) estudiaron 47 especies de gramíneas ampliamente distribuidas en ambientes áridos del oeste de Estados Unidos y observaron que especies con semillas más grandes tenían mayor probabilidad de germinación en condiciones de estrés hídrico, en concordancia con lo hallado por Moles & Westoby (2004) quienes mencionan que un alto peso de semillas favorece la germinación y el tamaño de plántula, aunque el efecto global luego de la emergencia es pequeño.

Este comportamiento se podría deber, tal como sugieren Milberg & Lamont (1997) y Hewitt (1998), a que semillas más grandes tienen la capacidad de almacenar cantidades mayores de hidratos de carbono en endosperma o cotiledones, lo que permitiría una temprana asignación de recursos a tejido radicular y fotosintético dando lugar a un crecimiento más rápido y con mayor capacidad de afrontar cualquier estrés abiótico. Por otra parte, tanto la germinación como la tolerancia a situaciones estresantes requieren energía (Yeo, 1983; Zhang et al., 2010), la que se consume durante el transporte de iones y/o en la síntesis de solutos compatibles (Flowers & Colmer, 2008). Semillas más grandes contienen más reservas, lo que se traduce en mayor energía, por lo que en condiciones de estrés salino tienden a tener una mayor capacidad para mantener la homeostasis de iones y compartimentar iones (Zhang et al., 2015) y por otro lado, producir tempranamente un

sistema radicular más desarrollado para obtener agua y tolerar la sequía (Baker, 1972; Marshall, 1986; Wulff, 1986; Leishman & Westoby, 1994).

En el capítulo anterior, se observó una fuerte relación entre el peso de semillas y el ambiente de origen en *T. crinita*, donde el peso de semillas aumentaba hacia el límite sur-occidente de distribución en el cual se presentan los valores más extremos de aridez. En el presente capítulo, se halló que poblaciones con semillas más pesadas, tienen la capacidad de generar plántulas más grandes en presencia y ausencia de estrés osmótico. Lo que comprueba que *T. crinita* posee una estrategia adaptativa, a través de la cual poblaciones originarias de ambientes con restricciones poseen mayor peso de semillas que le confiere una ventaja para superar la etapa germinativa. En este sentido, Zabala et al. (2011 b) hallaron que poblaciones de *T. crinita* procedentes de ambientes con restricciones bióticas presentaron un mayor peso de semillas y una mayor capacidad de germinar en condiciones subóptimas de temperatura.

En ambientes áridos, como lo son los ambientes típicos de la ecorregión del Monte, la germinación y emergencia de plántulas ocurren cuando las precipitaciones superan un valor umbral (Greco et al., 2013). En esta región, la emergencia de gramíneas perennes nativas depende excepcionalmente de años lluviosos (Marone et al., 2000). Villagra et al. (2011) y Greco et al. (2013) hallaron que plántulas de *T. crinita* emergieron cuando el régimen hídrico superaba los 40 mm en la estación cálida. Por otro lado, Greco & Cavagnaro (2002) observaron que genotipos de diferentes niveles de productividad mantenían su comportamiento en condiciones de estrés hídrico. Estos antecedentes, sumados a los resultados hallados en el presente capítulo, sugieren una fuerte adaptación local de poblaciones en *T. crinita*, que han desarrollado características, tales como el peso de semillas, que le permiten una emergencia e implantación rápida en ambientes estresantes, además de otros caracteres morfofisiológicos, tales como altura del follaje, área foliar, velocidad de desarrollo foliar, biomasa radicular, relación biomasa aérea/raíz (Greco & Cavagnaro, 2002), que les permitirían evitar o tolerar el estrés en etapas avanzadas.

Las poblaciones de *T. crinita* colectadas en ambientes salinos (7602 y 8297) no mostraron una respuesta diferencial en el comportamiento germinativo y crecimiento inicial en condiciones de estrés osmótico. En dichos ambientes la germinación ocurre luego de las precipitaciones, las que reducen la salinidad en la superficie del suelo (Khan, 1999). Por lo

que la tolerancia a dichas condiciones estresantes, es debida a mecanismos que le permiten tanto tolerar como evitar el estrés a altos niveles de salinidad (Nichols et al., 2008; Zhang et al., 2015), tales como características morfofisiológicas que permiten la exclusión de iones o ajuste osmótico para evitar o minimizar el efecto tóxico (Marcum & Murdoch, 1994; Marcum, 1999, Luca et al., 2001).

En *T. pluriflora*, las diferencias halladas en la germinación y peso de plántulas no se asociaron al peso de semillas, al evaluar un gran número de poblaciones. En esta especie, el ambiente de cosecha tuvo una gran influencia en la respuesta germinativa, al analizar poblaciones de diferente origen geográfico y peso de semillas, mientras que en *T. crinita* dicha variación estuvo determinada fuertemente por la variabilidad genética interpoblacional. Este comportamiento se ha observado en el capítulo anterior en el que el ambiente de cosecha tuvo mayor influencia en el peso de semillas en poblaciones selectas de *T. pluriflora* que en *T. crinita*. Lo dicho permite inferir que *T. crinita* posee un patrón de comportamiento definido y una fuerte base genética asociada al peso de semillas, que se traduce al comportamiento germinativo. Mientras que *T. pluriflora* presenta una respuesta plástica al ambiente de crecimiento y desarrollo.

La plasticidad fenotípica, definida como la capacidad de un genotipo de generar múltiples fenotipos dependiendo de las condiciones ambientales (Bradshaw, 1965; Sultan & Stearns 2005), no sólo está definida por la estructura y función del genoma vegetal, sino también por su regulación durante desarrollo. En poliploides, dicha plasticidad se debe tanto a cambios genéticos como epigenéticos, que podrían promover el crecimiento, desarrollo y adaptación a numerosas condiciones ambientales (Bretagnole & Thompson, 2001; Song & Chen, 2015). Los cambios genéticos que acompañan la poliploidización confieren mayor flexibilidad genética y bioquímica (Samuel et al., 1990; Dhawan & Lavania, 1996), que determinan una mayor diversidad de metabolitos responsables de la alta estabilidad en la expresión fenotípica en poliploides respecto a diploides (Bingham, 1980; Levin, 1983). Esto les permite amortiguar la variación ambiental y mantener la homeostasis fenotípica en caracteres relacionados al *fitness* (Bretagnole & Thompson, 2001), tales como el peso de semillas (Adler et al., 2014) y en consecuencia la respuesta germinativa y la supervivencia y crecimiento de plántula (Leishman et al., 2000). Sin embargo, gran parte de la plasticidad funcional en poliploides se correlaciona con cambios en la expresión génica durante y

luego de la transcripción. Tales cambios de expresión génica son controlados en gran parte por mecanismos epigenéticos que regulan, directa e indirectamente, la variación fisiológica y del desarrollo (Lee & Chen, 2001; Wang et al., 2006; Ni et al., 2009). Dicho esto, la variación fenotípica transgeneracional puede estar asociada a modificaciones epigenéticas en respuesta al ambiente (Boyko et al., 2010; Boyko & Kovalchuk, 2011). Evidencias de control genético y epigenético en la modulación del peso de semillas han sido halladas en *Arabidopsis thaliana* (Li et al. 2013). Adicionalmente, Vu et al. (2015) hallaron variación genética en la plasticidad transgeneracional dentro de *Medicago truncatula* y demostraron que la exposición parental a un estrés ambiental influencia en la expresión del peso de semillas y comportamiento germinativo. Estos antecedentes sugieren que podría existir un mecanismo epigenético en la regulación del peso de semillas en *T. pluriflora* ya que, genomas más complejos, como es el caso de esta especie ($2n=6x=60$), con mayor números de cromosomas, pueden tener una mayor tendencia a adaptarse a diferentes ambientes (Boyko & Kovalchuk, 2011), condicionando a la descendencia.

A pesar que el peso de semillas favorece la germinación en situaciones estresantes, condiciones de salinidad que van más allá del límite de tolerancia pueden inhibirla, retrasarla o hasta causar la pérdida de viabilidad de las semillas (Khan & Gul, 2006). De modo que un incremento en el estrés salino puede producir dormición secundaria fisiológica, determinando un retraso en el inicio del proceso germinativo y una reducción en el porcentaje de semillas germinadas (Baskin & Baskin, 1998). Sin embargo, cuando se reduce el estrés salino, la capacidad germinativa se puede recuperar parcial o completamente (Khan, 2003). Este comportamiento ha sido observado en el presente capítulo en poblaciones de ambas especies de *Trichloris*, ya que semillas de diferentes poblaciones puestas a germinar en condiciones extremas de salinidad (240 mM de NaCl/L) no germinaron, y fueron capaces de recuperar la capacidad germinativa, independientemente del peso de semillas, luego de ser lavadas y transferidas a agua destilada. Resultados similares han sido hallados por Khan & Ungar (1999), Gulzar & Khan (2001), Santo et al. (2014) y Zhang et al. (2015).

Si bien el PEG ha sido ampliamente utilizado para simular el estrés osmótico (Dodd & Donovan, 1999; Tobe et al., 2000; Almansouri et al., 2001; Cornaglia et al., 2005; Demir & Mavi 2008), presenta ciertas dificultades que pueden interferir en los experimentos. Una de

las dificultades se debe a que no permite una adecuada difusión de O₂ a las raíces (Mexal et al., 1975; Verslues et al., 1998). Aunque una correcta aireación de la solución puede solucionar este problema (Verslues et al., 1998), el daño en las raíces por el burbujeo y la manipulación de las plántulas suma otro inconveniente (Munns et al., 2010). Por lo dicho, es posible que en el experimento realizado con PEG (6000) haya interferido en la difusión de O₂ a las raíces, sobreestimando el efecto del estrés hídrico en la respuesta germinativa, ya que los peores resultados fueron hallados en este tratamiento.

Los resultados obtenidos sugieren que la selección natural ha operado a favor de un mayor peso de semillas en poblaciones de *T. crinita* de ambientes marginales, como estrategia de adaptación local que le permitiría germinar bajo condiciones estresantes. En cambio, para *T. pluriflora* se halló una mayor plasticidad fenotípica, por lo que resulta dificultoso hallar patrones de comportamiento.

CAPÍTULO IV

**EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO SOBRE EL
CRECIMIENTO INICIAL EN GENOTIPOS DE *T. CRINITA* Y *T.
PLURIFLORA* SELECTOS POR SU ORIGEN GEOGRÁFICO Y EL
PESO DE SEMILLAS**

1. INTRODUCCIÓN

En general, en las etapas iniciales del desarrollo de la planta, existe una relación positiva entre el tamaño de semilla y su poder germinativo y posterior tamaño de plántula (Leishman et al., 2000). El incremento del tamaño de fruto y semillas son parte de los caracteres en el denominado síndrome de domesticación (Doganlar et al., 2000; Hancock, 2004). Sin embargo, la magnitud del efecto del tamaño de la semilla en etapas posteriores es variable, sobre todo en ambientes restrictivos donde otros caracteres adaptativos (morfológicos o bioquímicos) podrían tener mayor relevancia (Westoby et al., 1992; Westoby, 1998).

En general la definición de la tolerancia al estrés en los cultivos implica determinar un nivel de estrés a partir del cual la producción de biomasa se ve comprometida, en relación al potencial de un determinado genotipo en condiciones óptimas (Maas & Hoffman, 1977; Boyer, 1982; Tester & Bacic, 2005). Tradicionalmente, el método clásico de selección en para tolerancia al estrés abiótico se basa en la respuesta del rendimiento. Sin embargo, el considerable progreso en el conocimiento de las bases celulares y fisiológicas de la tolerancia alcanzado hasta el momento, han ampliado el espectro de caracteres potencialmente útiles como criterios de selección para situaciones de estrés abiótico. En este sentido, el estrés oxidativo es un estrés secundario en respuesta a condiciones de estrés ambiental (sequía, salinidad, altas y bajas temperaturas), que induce una sobreproducción y acumulación de moléculas denominadas Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) (Chanda & Dave, 2009; Demidchik, 2015). Las ERO comprenden formas de oxígeno activado, que incluye radicales libres y no libres, que interactúan con los componentes celulares causando su disfunción. La pérdida de clorofila, la peroxidación de los lípidos (estimado a través del contenido de malondialdehído-MDA) y la fuga de electrolitos celulares son considerados indicadores de daños causados por el estrés oxidativo (Dhindsa & Matowe, 1981; Wise & Naylor 1987). El contenido de MDA ha sido un indicador ampliamente utilizado para la evaluación de la tolerancia al estrés por salinidad y sequía en diversas especies (Gossett et al., 1994; Lutts et al., 1996; Sairam et al., 1998; Shalata & Tal, 1998; Luna et al., 2000; Hediye Sekmen et al., 2007; Moussa & Abdel-Aziz, 2008; Mishra et al., 2013), donde un alto contenido de MDA, refleja mayor estrés oxidativo y consecuente peroxidación de los lípidos.

A su vez, el incremento de la actividad de las ERO puede inducir actividad antioxidante (Bergendi et al., 1999; Flowers & Colmer, 2015). La determinación de la actividad antioxidante no enzimática, medida a través de reducción del ión Fe^{+3} a Fe^{+2} (*Ferric reducing antioxidant power*, FRAP), ha sido ampliamente utilizada para evaluar el potencial efecto antioxidante en numerosas especies (Dehghan et al., 2007; Céspedes, 2008; Chakraborty & Mitra, 2008; Kukic et al., 2008; Adedapo et al., 2009; Chanda & Dave, 2009; Liu et al., 2009; Sun et al., 2009; Luna et al., 2016). Esta actividad antioxidante no enzimática se genera en respuesta al estrés oxidativo (Chanda & Dave, 2009), por lo que resulta una medida indirecta del daño causado por el estrés.

En condiciones de estrés hídrico, existen evidencias de adaptaciones morfológicas en raíces, tales como aumento de su producción y/o alargamiento (Hsiao & Acevedo, 1974; Turner & Begg, 1976; Greco & Cavagnaro, 2005), dado por un incremento en la asignación de carbohidratos hacia las raíces (Gastal & Durand, 2000), lo que permite una mayor exploración del suelo y un aumento de la absorción de agua (Venables & Wilkins, 1978). En la mayoría de los casos esta adaptación se hace a expensas de una menor biomasa aérea y supervivencia del tejido foliar (Couso et al., 2010). Otra de las estrategias de las especies en condiciones de estrés por sequía es un uso conservador del agua, basado en una lenta extracción del agua del suelo y menor tasa de transpiración, evitando la desecación y mortalidad de la biomasa vegetal (Qian & Fry, 1997; Heschel et al., 2002; Zhang et al., 2004). A nivel bioquímico, la acumulación de solutos compatibles en el citoplasma pueden reemplazar el agua en algunas reacciones bioquímicas y también pueden asociarse con lípidos o proteínas y prevenir la desintegración de la membrana, la disociación de complejos de proteínas o la inactivación de enzimas, impidiendo la pérdida de agua celular, manteniendo su equilibrio osmótico (Bohnert & Jensen, 1996; Serraj & Sinclair, 2002; Tyerman et al., 2002; Reddy et al., 2004). Greco & Cavagnaro (2003) estudiaron el efecto del estrés hídrico en la etapa reproductiva en tres ecotipos de *T. crinita* de diferente productividad de biomasa provenientes de la provincia fitogeográfica del Monte, hallando que en todos los ecotipos el estrés hídrico afectó la expansión foliar y la producción de biomasa aérea. Sin embargo, el estrés hídrico modificó de manera particular la partición de biomasa a raíz, siendo mayor en el genotipo proveniente de ambiente más árido, sugiriendo una posible asociación con su adaptación a un ambiente con restricción hídrica. Sin

embargo, cuando Cavagnaro et al. (2006) evaluaron caracteres morfológicos agronómicos en 20 accesos de *T. crinita*, no hallaron asociación entre dichos caracteres y las condiciones del hábitat de origen de los materiales. Los estudios llevados a cabo por Quiroga et al. (2013) con materiales de *T. crinita* procedentes de ambientes contrastantes (árido vs. húmedo), hallaron en materiales originarios de ambientes áridos, menor senescencia foliar y mayor tasa de expansión foliar en condiciones de estrés hídrico, asociado a una lenta extracción del agua edáfica, demostrando un patrón adaptativo a tales condiciones estresantes. Hasta el momento, no se registran antecedentes de estudios similares en *T. pluriflora*.

En algunas gramíneas halófitas correspondientes a la subfamilia Chloridoideae, a la que pertenece el género *Trichloris*, se han reportado mecanismos de tolerancia a la salinidad, como el ajuste osmótico a través de la acumulación de solutos compatibles, como betainas y prolinas (Marcum & Murdoch, 1994; Marcum, 1999, de Luca et al., 2001; Qian et al., 2001) y la excreción de iones a través de glándulas de sal (Amarasinghe & Watson, 1989; Marcum & Murdoch, 1994; Taleisnik et al., 1997; de Luca et al., 2001; Alshammery et al., 2004). Sin embargo, las glándulas de sal no son exclusivas de las halófitas. En el género *Spartina* se hallaron glándulas de sal en halófitas como glicófitas, sugiriendo que puede ser un carácter ancestral en el género (Flowers et al., 2010). La tasa de excreción en glándulas de sales predice efectivamente la tolerancia al estrés salino en varios géneros de Chloridoideae (Marcum, 1999) e incluso entre genotipos dentro de especies de un mismo género (Marcum et al., 1998) y clones dentro de una especie (de Luca et al., 2001). En el estudio llevado a cabo por de Luca et al. (2001) en clones de *Chloris gayana* tolerantes y susceptibles a la salinidad, hallaron una mayor tasa de excreción Na^+ en los clones tolerantes, observando una correlación entre glándulas de sales e iones excretados. Adicionalmente, observaron daño oxidativo en los materiales susceptibles, en concordancia a lo hallado por Luna et al (2000), como consecuencia de la acumulación de iones en compartimentos metabólicos o una mayor sensibilidad en el efecto tóxico de los iones. En materiales susceptibles, dicho daño oxidativo es responsable de la senescencia acelerada del tejido foliar y una menor expansión foliar y producción de biomasa. Resultados similares han sido hallados por Marcum (1999) en la tolerancia a la salinidad asociada a la excreción de iones Na^+/K^+ en 7 especies de la subfamilia Chloridoideae. En un estudio llevado a cabo

por Zabala et al. (2011 a), se informó sobre glándulas de sal activas tanto en *T. crinita* como en *T. pluriflora*, siendo más abundantes en la cara abaxial de la lámina foliar y presentándose en mayor número en *T. crinita*.

Trichloris crinita es una gramínea típica de los pastizales de ambientes áridos y semiáridos de Argentina, aunque también crece en ambientes húmedos (desde los 100 hasta 1000 mm de precipitación anual). Es considerada una especie halófito, ya que crece también en ambientes salinos extremos de Argentina. Por otro lado, *T. pluriflora* crece en ambientes semiáridos a húmedos (desde los 400 hasta los 1000 mm de precipitación anual). No crece en ambientes salinos (por lo que se podría considerar glicófito). Esta amplitud seguramente ha llevado al desarrollo de adaptaciones morfológicas y bioquímicas diferenciales asociadas al nivel de estrés hídrico o salino del ambiente de origen. Algunas de estas adaptaciones relacionadas a la longitud radical y la capacidad de extracción de agua del suelo, acumulación de carbohidratos solubles en tallo, eficiencia en el uso del agua, secreción de sales a través de glándulas de sal, entre otras, son utilizadas como criterios de selección en programas de mejoramiento de especies para dichos ambientes (Bal & Dutt, 1986; Reynolds et al., 2007; Yadav et al., 2012). No obstante, en ninguna de las dos especies de *Trichloris* se ha estudiado el efecto del peso de semillas en la tolerancia al estrés hídrico o salino en la etapa de crecimiento inicial, ni estudiados los mecanismos fisiológicos o bioquímicos desarrollados por las especies como caracteres adaptativos para dichos estreses.

2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1- La tolerancia al estrés hídrico en crecimiento inicial, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*, no está asociado al peso de semillas sino a caracteres morfológicos adaptativos.

2- La tolerancia al estrés hídrico en crecimiento inicial, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*, está asociado al estrés oxidativo en respuesta al estrés hídrico.

3- La tolerancia al estrés salino en crecimiento inicial, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*, no está asociado al peso de semillas sino a caracteres morfofisiológicos adaptativos.

4- La tolerancia al estrés salino en crecimiento inicial, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*, está asociado al estrés iónico y oxidativo, en respuesta al estrés salino.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Evaluar el efecto del estrés hídrico en caracteres morfológicos y fisiológicos, asociados al estrés oxidativo, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* selectos por su ambiente de origen y su peso de semillas, durante el crecimiento inicial.
- b) Evaluar el efecto del estrés salino en caracteres morfológicos y fisiológicos, asociados al estrés iónico y oxidativo, en genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* selectos por su ambiente de origen y su peso de semillas, durante el crecimiento inicial.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

El ensayo de crecimiento inicial se realizó en condiciones de hidroponía. Se utilizaron 4 genotipos de *T. crinita* y 5 de *T. pluriflora* provenientes de las poblaciones del experimento 4.4 del Capítulo 2, de diferente peso de semillas y orígenes geográficos. Se seleccionó un genotipo representativo por población, selecto de acuerdo a su peso de semilla (de las poblaciones con mayor peso de semillas se eligieron los genotipos con mayor peso de semillas). En *T. crinita* se utilizaron los genotipos 7320 (0.353 g/1000 semillas) y 7390 (0.186 g/1000 semillas), originarios de ambientes secos, el genotipo 8297 (0.205 g/1000 semillas) de ambiente salino y el 8608 (0.242 g/1000 semillas) proveniente de ambiente húmedo. En *T. pluriflora*, el genotipo 7958 (0.250 g/1000 semillas) proviene de ambiente seco, los genotipos 8419 (0.244 g/1000 semillas) y 8466 (0.196 g/1000 semillas) son originarios de ambientes húmedo, mientras que los genotipos 7000 (0.250 g/1000 semillas) y 7967 (0.225 g/1000 semillas), provienen de ambientes intermedios. Para más detalles del origen consultar el Anexo 1.

Para la simulación del estrés hídrico se utilizó el diseño experimental propuesto por Fernández & Reynolds (2000), una modificación del sistema de subirrigación descrito por Snow & Tingey (1985) el cual ha sido utilizado para evaluar la tolerancia al estrés hídrico en otras gramíneas (Fernández & Reynolds, 2000; Couso et al., 2010; Couso & Fernandez, 2012). Para simular el estrés salino se utilizó el mismo diseño que para el tratamiento testigo, con el agregado de sal de NaCl. En este ensayo se utilizaron bateas de 30 litros en donde se dispuso un sólido poroso (espuma floral OASIS®) de 24 cm de altura por encima

del cual se ubicaron las macetas sin base de 250 cm³, levemente incrustadas en el sólido poroso (Figura 17). Las macetas se llenaron con perlita y se sembraron semillas de los genotipos selectos. Luego de la emergencia de las plántulas, se efectuó un raleo dejando una plántula por maceta. Se realizaron 3 repeticiones por genotipo (36 macetas).

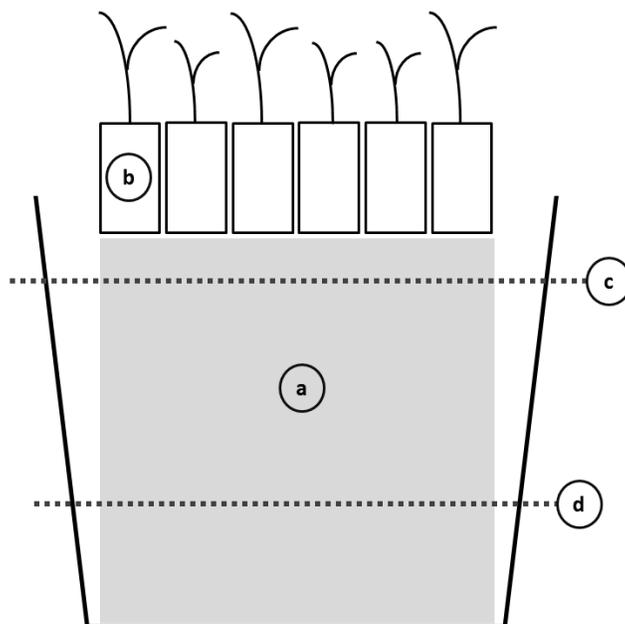


Figura 17: Diagrama de la metodología utilizada para imponer el estrés hídrico y salino, basado en Snow & Tingey (1985): a) espuma higroscópica ULTRAFOAM®, b) macetas con perlita, c) nivel de la solución para los tratamientos testigo y salino (3 cm desde la base de la maceta) y d) nivel de la solución en el tratamiento de estrés hídrico (18 cm desde la base de la maceta).

Para el presente experimento se utilizó solución Hoagland a la mitad de su concentración, (Hoagland & Arnon, 1950). El nivel de estrés hídrico fue determinado por la distancia entre la base de la maceta y el nivel de la solución: testigo (nivel de agua a 3 cm de la base de la maceta) y estrés hídrico (nivel de agua a 18 cm de la base de la maceta). Para la simulación del estrés salino se utilizó el mismo nivel de solución que el testigo, con el agregado de 7 g/L de NaCl a la solución nutritiva para lograr una concentración de 120 mM. Cada batea consistió en un tratamiento, conteniendo 27 macetas (2 especies, 4/5 genotipos por especie y 3 repeticiones por genotipo), dispuestas en un DCA. Con la finalidad de permitir la germinación y emergencia de las plántulas, al inicio, a todas las bateas se les agregó solamente solución nutritiva al nivel de agua correspondiente al testigo. Cuando las plantas

tuvieron 2 a 3 hojas completamente desarrolladas, se impusieron los tratamientos correspondientes y se mantuvieron en dichas condiciones por 30 días, a partir de entonces realizó la evaluación morfo-fisiológica. Cada día se repuso con agua destilada el agua evaporada y semanalmente se efectuaban la reposición de las soluciones. El ensayo se llevó a cabo en cámara de crecimiento con temperatura controlada (alternancia 20-30°C, 12/12 horas) e iluminación artificial con lámparas LED con una relación rojo:azul de 7:1 distribuidas de tal forma que irradian una intensidad de iluminación fotosintéticamente activa (PAR) de $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, con un fotoperiodo de 16/8 horas de luz/oscuridad.

4.2. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* (Hipótesis 1 y 2; Objetivo a)

A los 30 días de iniciados los tratamientos se extrajeron las plántulas y se evaluaron los siguientes caracteres morfológicos: a) número de macollas, b) número de hojas vivas por macolla, c) biomasa fresca aérea (g), d) biomasa seca aérea (g), e) biomasa aérea muerta relativa (biomasa muerta aérea, respecto del total de biomasa seca aérea) (g), f) longitud total de raíces (cm), g) biomasa fresca radical (g), h) biomasa seca radical (g), i) biomasa fresca total de plántula (g) (sumatoria de c y g), j) biomasa seca total de plántula (g) (sumatoria de d y h), k) longitud radical específica (mm/mg) (relación entre longitud de raíces y su peso seco) y l) relación biomasa raíz/aérea (relación entre biomasa seca radical y aérea). Para la biomasa seca las plantas se secaron en estufa a 60°C.

Adicionalmente, se evaluó el estrés oxidativo de los materiales a través de la peroxidación de los lípidos, estimado mediante contenido de malondialdehído ($\mu\text{mol MDA/g PF}$) (Hodges et al., 1999), y la actividad antioxidante no enzimática, estimada como la capacidad de reducción férrica (FRAP, $A_{600/\text{g PF}}$) (Benzie & Strain, 1996). Para dicha evaluación, se utilizó la lámina de la última hoja completamente expandida. Ver protocolo en Anexo 4.

Los caracteres evaluados (i.e. caracteres morfológicos y fisiológicos asociados al estrés oxidativo) se analizaron utilizando un ANVA anidado, previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas, para los factores especie (2), genotipo dentro de especie (4 para *T. crinita* y 5 para *T. pluriflora*), nivel de estrés (2) y las interacciones

correspondientes. Las diferencias de medias se analizaron con el test de Fisher ($p < 0,05$). El modelo estadístico para cada variable queda definido:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \gamma_k + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + \varepsilon_{(ij)k}$$

Y_{ijk} es el valor de la variable morfológica o fisiológica correspondiente al i-ésimo nivel del factor especie (E) y al j-ésimo nivel del factor genotipo (G) anidado en el i-ésimo nivel del factor E y al k-ésimo nivel del factor tratamiento (T)

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i-ésimo nivel del factor E

$\beta_{j(i)}$ es el efecto del j-ésimo nivel del factor G anidado en el i-ésimo nivel del factor E

γ_k es el efecto del k-ésimo nivel del factor T

$(\tau\gamma)_{ik}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel del factor E y el k-ésimo de T

$(\beta\gamma)_{jk}$ es la interacción entre el j-ésimo nivel del factor G y el k-ésimo de T

$\varepsilon_{(ij)k}$ es el error asociado a las observaciones correspondiente a los niveles i del factor E y j del factor G anidado en el i-ésimo nivel de E y k del factor T, $\varepsilon_{(ij)k} \sim N(0, \sigma^2)$

Adicionalmente, se realizó un ACP para evaluar el efecto de los caracteres morfo-fisiológicos en la variabilidad observada entre genotipos, permitiendo un análisis gráfico de las interacciones estadísticas encontradas. Para simplificar el análisis, se excluyeron del ACP variables que no variaron significativamente para ninguno de los factores y variables altamente correlacionadas ($r > 0,9$) entre sí (Pearson, $p < 0,05$).

Para los análisis estadísticos correspondientes se utilizó el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2011).

4.3. Efecto del estrés salino sobre el crecimiento de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* (Hipótesis 3 y 4; Objetivo b)

Se evaluaron las mismas variables morfológicas y fisiológicas asociadas al estrés oxidativo que el experimento de estrés hídrico.

Por otro lado, se evaluó la excreción y concentración interna de iones durante los 30 días de tratamiento. Previo a la extracción de plántulas, se extrajo la primera hoja totalmente expandida en activo crecimiento y se evaluó la densidad de glándulas de sales activas en ambas caras de la lámina, a través del recuento de cristales de sal con el uso de microscopio estereoscópico a 10X. Por otro lado, se tomó una porción de dicha lámina, se enjuagó en 5

ml de agua destilada y se pesó en balanza de precisión (0.0001 g). Luego se colocó la porción de lámina en tubos cerrados herméticamente con 10 ml de solución de HNO₃ 0.5. Los tubos se llevaron a un baño termostático a 80°C durante una hora. En el agua proveniente del enjuague se determinó la concentración de iones Na⁺ y K⁺ excretados (μmol/g PF), mientras que del extracto de HNO₃ se evaluó la concentración de iones Na⁺ y K⁺ internos de la hoja. Adicionalmente se calcularon las relaciones entre las concentraciones de Na⁺ excretado/interno, K⁺ excretado/interno, K⁺/Na⁺ interno y K⁺/Na⁺ excretado. Las evaluaciones fueron efectuadas por de espectrometría de absorción atómica con un equipo de espectrofotometría de llama UV visible modelo Hitachi U2001, perteneciente al Laboratorio de Química Fina del Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química del Centro Científico y Tecnológico CONICET, Santa Fe.

Para el ANVA de los caracteres morfológicos y fisiológicos evaluados, se procedió del mismo modo al análisis del efecto del estrés hídrico. El modelo estadístico es el mismo que el experimento 4.2.

Los caracteres asociados a la excreción y concentración interna de iones se analizaron con un ANVA anidado, previo test de normalidad y homogeneidad de varianzas, para los factores especies (2) y genotipos dentro de especies (4 para *T. crinita* y 5 para *T. pluriflora*). Las diferencias de medias se analizaron con el test de Fisher (p<0,05). El modelo estadístico se describe como:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{(ij)k}$$

Y_{ijk} es el carácter asociado a la excreción y concentración interna de iones correspondiente a la k-ésima repetición, al i-ésimo nivel del factor especie (E) y al j-ésimo nivel del factor genotipo (G) anidado en el i-ésimo nivel del factor E.

μ es el efecto medio verdadero

τ_i es el efecto del i-ésimo nivel del factor E

$\beta_{j(i)}$ es el efecto del j-ésimo nivel del factor G anidado en el i-ésimo nivel del factor E

$\varepsilon_{(ij)k}$ es el error aleatorio correspondiente a la repetición k-ésima y los niveles i del factor E y j del factor G anidado en el i-ésimo nivel de E, $\varepsilon_{(ij)k} \sim N(0, \sigma^2)$

Adicionalmente, se realizó un ACP para evaluar el efecto de los caracteres morfo-fisiológicos en la variabilidad observada entre genotipos, al igual en el análisis del efecto del estrés hídrico.

5. RESULTADOS

5.1. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*.

Para la variable número de macollas (NM) se encontraron diferencias entre especies, genotipos y tratamientos, aunque no se observó interacción entre factores (Tabla 9). Los genotipos de *T. crinita* tuvieron más macollas que *T. pluriflora* (7.2 ± 4.1 vs 3.1 ± 2.1 macollas/planta), independientemente del tratamiento evaluado. En el tratamiento testigo las especies presentaron más macollas que en condiciones de estrés hídrico (5.9 ± 3.3 vs 4.2 ± 4 macollas/planta). Los genotipos de mayor NM fueron 7320 y 7390 de *T. crinita* (8.6 ± 3 y 10.7 ± 3.2 macollas/planta, respectivamente) y el genotipo 7967 de *T. pluriflora* (4.6 ± 1.1 macollas/planta).

Para la variable número de hojas vivas por macolla (HVM) se encontró interacción significativa entre especies y tratamientos (Tabla 9). Si bien ambas especies presentaron similar número de HVM en ausencia de estrés (3.2 ± 0.3 y 2.8 ± 0.9 hojas vivas/macolla, para *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente), la disminución de HVM en condiciones de estrés hídrico fue mayor en *T. pluriflora* (1.8 ± 0.7 hojas vivas/macolla), no variando significativamente en *T. crinita* (2.9 ± 0.6 hojas vivas/macolla).

Tabla 9: Valores de p para los caracteres morfológicos y fisiológicos asociados al estrés oxidativo para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en la evaluación del efecto del estrés hídrico.

VARIABLE FV	NM	HVM	LR	BMA	BFA	BSA	BFR	BSR	BFP	BSP	LRE	A/R	FRAP	MDA
E	<0,0001	<0.0001	0.0444	NS	0.0002	0.0001	0.0082	0.0009	0.0003	0.0001	NS	0.0186	0.0001	NS
G(E)	0.0015	0.0005	<0,0001	0.0002	<0,0001	<0,0001	0.0006	0.0005	<0,0001	<0,0001	0.0004	0.0002	NS	NS
T	0.0354	0.0001	0.0074	<0,0001	<0,0001	<0,0001	NS	NS	0.0001	<0,0001	0.0842	<0,0001	NS	NS
E*T	NS	0.0348	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
G(E)*T	NS	NS	0.0001	0.0029	<0,0001	<0,0001	0.0104	0.0106	<0,0001	<0,0001	0.0005	0.0208	0.0026	NS

E: Especie. **G(E):** Genotipos dentro de especie. **T:** tratamiento. **E*T:** interacción especie y tratamiento. **G(E)*T:** interacción genotipos dentro de especie y tratamientos. NS: Diferencias estadísticamente no significativas ($p>0.05$).

NM: N° macollas por planta. **HVM:** N° de hojas vivas por macolla. **LR:** Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea relativa. **BFA:** Biomasa fresca aérea. **BSA:** Biomasa seca aérea. **BFR:** Biomasa fresca radical. **BSR:** Biomasa seca radical. **BFP:** Biomasa fresca de planta. **BSP:** Biomasa seca de planta. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea/radical. **MDA:** Contenido de malondialdehído. **FRAP:** Capacidad de reducción férrica, actividad antioxidante no enzimática.

Para las variables longitud radical (LR), biomasa muerta aérea relativa (BMA), biomasa fresca aérea (BFA), biomasa fresca radical (BFR), biomasa fresca de planta (BFP), biomasa seca aérea (BSA), biomasa seca radical (BSR), biomasa seca de planta (BSP), longitud radical específica (LRE) y relación biomasa seca aérea y radical (A/R) se halló interacción significativa entre genotipos y tratamientos (Tabla 9). Para evaluar la interacción se realizó un ANVA particionado por tratamiento (Tabla 10).

Tabla 10: Valores de p para los caracteres morfológicos correspondiente a cada factor de variación (FV) del ANVA anidado, particionado por tratamiento testigo y estrés hídrico.

		VARIABLE FV	LR	BMA	BFA	BSA	BFR	BSR	BFP	BSP	LRE	A/R
Testigo	E		0.0119	NS	0.0032	0.0039	0.0111	0.0095	0.0074	0.0068	0.034	0.0382
	G(E)		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.0419	0.0456
Estrés hídrico	E		NS	NS	0.0062	0.0068	NS	0.0081	0.0026	0.0027	NS	NS
	G(E)		<0,0001	0.0028	0.0008	0.0006	0.0007	0.0003	0.0001	0.0001	0.0048	0.0029

E: Especie. G(E): Genotipos dentro de especie; NS: Diferencias estadísticamente no significativas ($p>0.05$).

LR: Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea. **BFA:** Biomasa fresca aérea. **BSA:** Biomasa seca aérea. **BFR:** Biomasa fresca radical. **BSR:** Biomasa seca radical. **BFP:** Biomasa fresca de planta. **BSP:** Biomasa seca de planta. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea y radical.

En el tratamiento testigo *T. crinita* presentó los mayores valores respecto a *T. pluriflora* para todos los caracteres morfológicos en los que se halló interacción, excepto para LRE y BMA, lo que se dio a la inversa. En el tratamiento de estrés hídrico la biomasa aérea (BFA y BSA) fue 3.6 veces mayor en *T. crinita* que en *T. pluriflora*, al igual que la BSR. Del mismo modo, la biomasa total de planta promedio (BFP y BSP) en *T. crinita* resultó ser poco más del doble que *T. pluriflora*

En el tratamiento de estrés hídrico se hallaron diferencias significativas entre genotipos para todas las variables evaluadas. En la Figura 18 se muestran los valores absolutos y relativos para las variables más representativas. Los valores para las variables restantes se detallan en la Tabla 11. Del análisis correspondiente se observa que:

- La LR aumentó en condiciones de estrés hídrico en los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y en los genotipos 7958, 7967 y 8466 de *T. pluriflora*, siendo muy marcado en el genotipo 7967. En los restantes genotipos la LR se vio afectada negativamente.
- La BMA aumentó en todos los genotipos en condiciones de estrés hídrico, a excepción del 7320 de *T. crinita*. No obstante ese incremento fue menor para los genotipos 7390 de *T. crinita* y 7958 y 8419 de *T. pluriflora*, los cuales presentaron valores promedios bajos de BMA en condiciones estresantes.
- La BFA y BSA fue mayor en el tratamiento de estrés respecto al testigo sólo en el genotipo 7967 de *T. pluriflora*. Los genotipos 8297 y 8608 de *T. crinita* y los genotipos 7000, 7958 y 8466 de *T. pluriflora*, presentaron los menores valores de BSA relativa. Los genotipos restantes no presentaron una modificación significativa. No obstante los valores relativos, los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y el genotipo 7967 de *T. pluriflora*, mostraron mayor producción de BSA en condiciones de estrés.
- La BFR y BSR fue mayor en el tratamiento de estrés hídrico en los genotipos 7390 de *T. crinita* y 7958, 7967 y 8419 de *T. pluriflora*. Los restantes genotipos mostraron una disminución de la BSR, aunque en el genotipo 7320 la disminución fue ligera. No obstante los valores relativos, al igual que en lo observado para la BSA, las BSR ante estrés hídrico fue mayor en los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y el genotipo 7967 de *T. pluriflora*.
- La LRE fue baja para los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y 7958, 7967 y 8419 de *T. pluriflora*, dado por un aumento de la BSR en condiciones estresantes.
- Los genotipos que presentaron los mayores valores de biomasa aérea, también presentaron mayor biomasa radical, por lo que la mayor BFP y BSP en condiciones de estrés se halló en los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y 7967 de *T. pluriflora*.
- Finalmente, la partición de biomasa hacia la porción aérea vs radical fue menor en todos los genotipos en condiciones de estrés, esto está dado por el aumento de BSR en alguno de los genotipos y por la disminución de la BSA en otros. Sin embargo, los genotipos 7320 de *T. crinita* y 7967 de *T. pluriflora* presentaron mayor relación A/R relativo al testigo que los restantes.

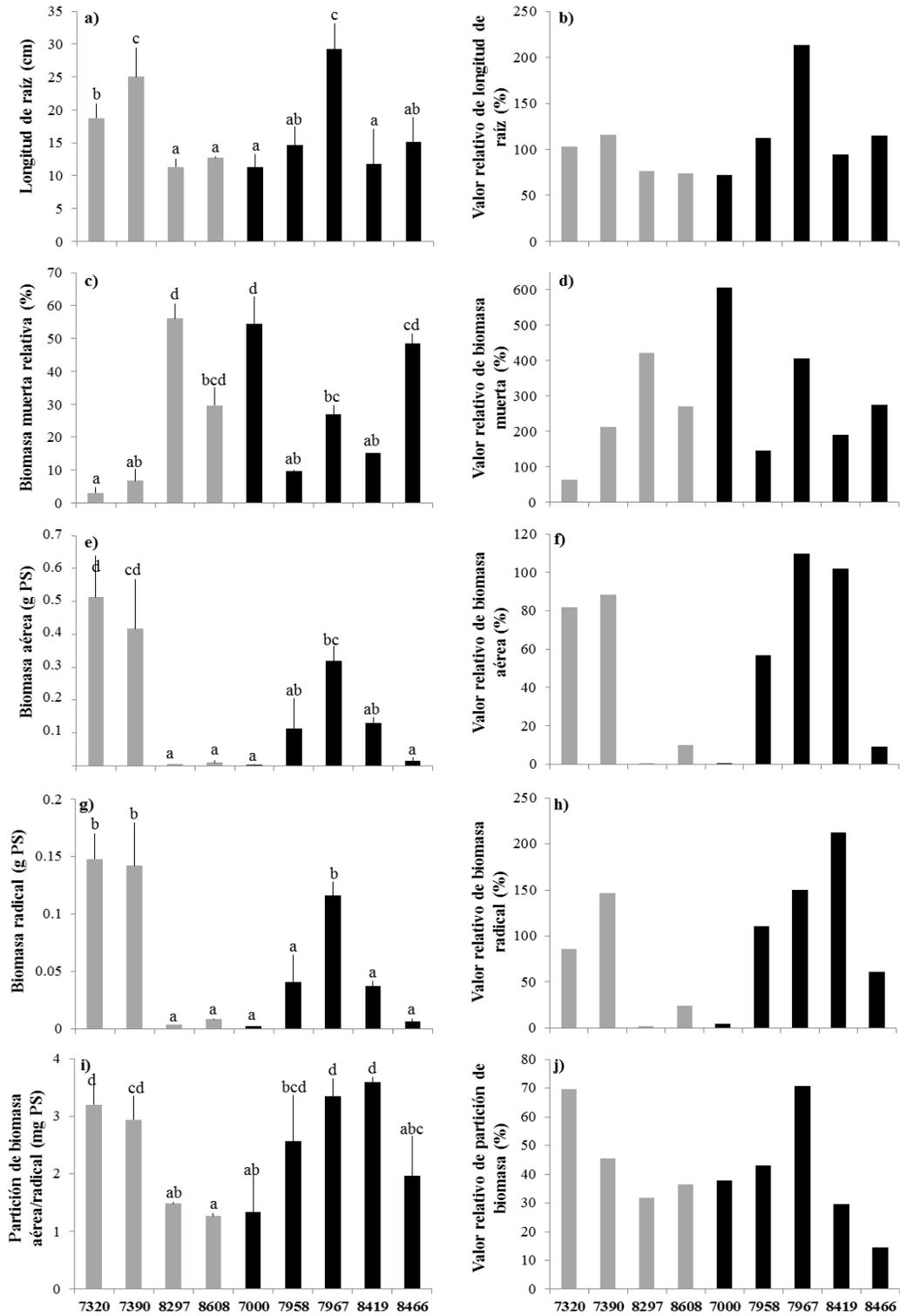


Figura 18: Valores absolutos promedio (\pm DE) (VA) y valores relativos al testigo (VR) para las variables más representativas donde se observó interacción entre genotipo y tratamiento en la evaluación de la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial en genotipos (eje x) de *T. crinita*

(barras grises) y *T. pluriflora* (barras negras). Longitud radical: a) VA y b) VR. Biomasa muerta relativa: c) VA y d) VR. Biomasa seca aérea: e) VA y f) VR. Biomasa seca radical: g) VA y h) VR. Relación biomasa seca aérea/radical: i) VA y j) VR. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Fisher, $p < 0.05$).

Para las variables asociadas al estrés oxidativo, no existieron diferencias significativas para la concentración de malondialdehído (MDA) para ninguno de los factores evaluados mientras que se halló interacción entre genotipo y tratamiento para la actividad antioxidante total no enzimática (FRAP) (Tabla 9).

La concentración promedio de MDA para los genotipos de *T. crinita* fue de 0.115 ± 0.04 $\mu\text{mol/g PF}$, la que no difirió significativamente de lo hallado para *T. pluriflora* (0.111 ± 0.03 $\mu\text{mol/g PF}$). Del mismo modo, los valores promedios hallados para los tratamientos testigo y estrés hídrico no fueron estadísticamente diferentes (0.111 ± 0.03 vs. 0.114 ± 0.04 $\mu\text{mol/g PF}$, respectivamente). La actividad antioxidante no enzimática fue mayor respecto al testigo en los genotipos 8297 de *T. crinita*, 7000 y 8466 de *T. pluriflora*, reflejando un mayor estrés oxidativo en condiciones de estrés hídrico. Los genotipos que presentaron menor actividad antioxidante no enzimática respecto al testigo, fueron 7320 y 7390 de *T. crinita* y 7000, 7958 y 7967 de *T. pluriflora*, indicando menor estrés oxidativo en condiciones estresantes (Fig. 19).

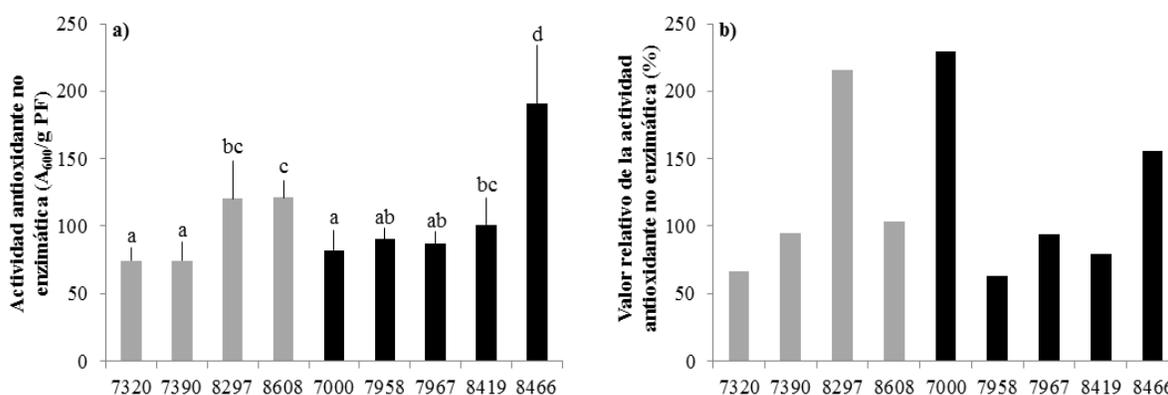


Figura 19: Actividad antioxidante no enzimática para los genotipos de *T. crinita* (barras grises) y *T. pluriflora* (barras negras) en condiciones de estrés hídrico: a) valor absoluto promedio por genotipo (\pm DE) y b) valor relativo al testigo. Letras diferentes indican diferencias significativas entre genotipos (Fisher, $p < 0.05$).

Tabla 11: Valores promedios absolutos (\pm DE) (VA) y relativos al testigo (VR) para las variables biomasa fresca aérea (BFA), biomasa fresca radical (BFR), biomasa fresca de planta (BFP), biomasa seca de planta (BSP) y longitud radical específica (LRE), para genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* en condiciones de estrés hídrico. Letras diferentes indican diferencias significativas (Fisher, $p < 0.05$).

Especie	Genotipo	BFA		BFR		BFP		BSP		LRE	
		VR	VA	VR	VA	VR	VA	VR	VA	VR	VA
<i>T. crinita</i>	7320	87	2.346 \pm 0.566 d	69	1.128 \pm 0.209 b	115	3.474 \pm 0.773 c	120	0.660 \pm 0.147 d	60	1.21 \pm 0.29 a
	7390	91	2.007 \pm 1.043 cd	143	1.207 \pm 0.514 b	105	3.213 \pm 1.550 c	98	0.559 \pm 0.271 cd	55	2.09 \pm 1.01 ab
	8297	1	0.036 \pm 0.001 a	4	0.057 \pm 0.006 a	4	0.170 \pm 0.133 a	3	0.025 \pm 0.027 a	894	30.1 \pm 3.49 d
	8608	7	0.041 \pm 0.019 a	18	0.060 \pm 0.008 a	22	0.195 \pm 0.164 a	22	0.031 \pm 0.020 a	217	15.1 \pm 1.49 bcd
<i>T. pluriflora</i>	7000	1	0.008 \pm 0.002 a	3	0.021 \pm 0.002 a	3	0.045 \pm 0.036 a	2	0.006 \pm 0.004 a	780	19.49 \pm 21.4 cd
	7958	67	0.510 \pm 0.283 ab	105	0.357 \pm 0.155 a	131	0.762 \pm 0.360 ab	88	0.106 \pm 0.118 ab	106	4.69 \pm 2.57 abc
	7967	103	1.413 \pm 0.129 bc	202	1.265 \pm 0.482 b	90	1.802 \pm 1.076 b	91	0.334 \pm 0.204 bc	174	5.66 \pm 4.56 abc
	8419	117	0.603 \pm 0.078 ab	259	0.385 \pm 0.050 a	49	0.322 \pm 0.500 a	37	0.053 \pm 0.086 a	15	2.54 \pm 3.13 ab
	8466	14	0.082 \pm 0.040 a	25	0.075 \pm 0.011 a	116	0.669 \pm 0.887 ab	113	0.120 \pm 0.172 ab	124	20.12 \pm 6.9 d

El estrés hídrico afectó de manera diferencial a los genotipos de *T. crinita* evaluados. Los genotipos 7320 (0.353 g/1000 semillas) y 7390 (0.186 g/1000 semillas), provenientes de ambientes áridos, presentaron los mayores valores de biomasa y longitud radical y los menores valores de biomasa muerta, longitud radical específica y de antioxidantes no enzimáticos, en condiciones de estrés hídrico. No obstante, son los genotipos de mayor y menor peso de semillas.

En *T. pluriflora* el genotipo 7967 (0.225 g/1000 semillas), proveniente de ambiente semiárido, presentó los mayores valores de biomasa y longitud radical y una baja actividad antioxidante no enzimática, revelando mayor tolerancia al estrés hídrico. Sin embargo, no es el genotipo de menor ni de mayor peso de semillas.

Análisis de componentes principales

Se realizó un ACP por tratamiento para detectar genotipos promisorios, mediante la evaluación múltiple de variables de interés agronómico. La matriz de correlación entre variables y el detalle de las variables descartadas ($r > 0.9$), se especifican en el Anexo 5.

En el ACP para el tratamiento testigo, todas las variables incluidas tienen un peso similar en la componente principal 1 (CP1) (Tabla 12), la cual explica el 56.6 % de la variación observada. Las variables NM, HVM, LR y BSP tuvieron un peso positivo en la CP1, mientras que en las restantes es negativo. La CP2, explica solo un 16.2 % de la variación observada, siendo las variables FRAP y BMA las de mayor peso (Tabla 12).

Tabla 12: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para la evaluación de la tolerancia al estrés hídrico en crecimiento inicial.

Variables	Estrés hídrico		Testigo	
	CP1	CP2	CP1	CP2
NM	0.39	0.28	0.34	-0.32
HVM	0.19	0.71	0.42	-0.12
LR	0.34	-0.01	0.35	-0.32
BMA	-0.4	0.2	-0.29	0.54

LRE	-0.4	0.32	-0.41	-0.24
A/R	0.35	-0.45	-0.37	-0.21
FRAP	-0.3	-0.19	-0.29	-0.54
BSP	0.41	0.16	0.34	0.29

NM: Número de macollas. **HVM:** Hojas vivas por macolla. **LR:** Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea relativa. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea/radical.

FRAP: Actividad antioxidante no enzimática. **BSP:** Biomasa seca de planta.

En el biplot (Fig. 20 a) se observa una discriminación de genotipos en la CP1. Los genotipos de mayor productividad se agrupan cerca de las variables NM, HVM, LR y BSP, ya que presentan los mayores valores para dichas variables. Estos genotipos fueron los 7320, 7390 y 8297 en *T. crinita* y los genotipos 7967 y 7000 en *T. pluriflora*. Mientras que los restantes presentaron mayor estrés oxidativo, mayor proporción de BMA y menor producción de biomasa radical, por lo que se mantuvieron cercanos a las variables BMA, LRE, A/R y FRAP.

En el ACP para el tratamiento de estrés hídrico, todas las variables poseen peso similar en la CP1 que explica el 60.3% de la variación observada, a excepción de HVM (Tabla 12). Las variables BMA, FRAP y LRE tuvieron un peso negativo mientras que en las restantes sucede lo contrario. La CP2 explica un 19.4 % de la variación observada, siendo la variable HVM la de mayor peso, positivo, y en menor medida la variable A/R con un peso negativo (Tabla 12). El biplot (Fig. 20 b) revela una clara separación de los genotipos más tolerantes al estrés hídrico. Los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y 7967 de *T. pluriflora* presentaron los mayores para las variables asociadas a la productividad (BSP, LR, NM y HVM) y los menores valores de BMA y FRAP, revelando la mayor tolerancia al estrés respecto a los restantes genotipos. Los genotipos más susceptibles se agruparon alrededor de las variables BMA y FRAP, ya que presentaron los mayores valores para dichas variables, siendo afectados negativamente por el estrés hídrico.

El presente análisis sustenta los resultados hallados en los ANVAs anteriores, donde los genotipos 7320 y 7390 de *T. crinita* y 7967 de *T. pluriflora* presentaron mayor tolerancia al estrés hídrico.

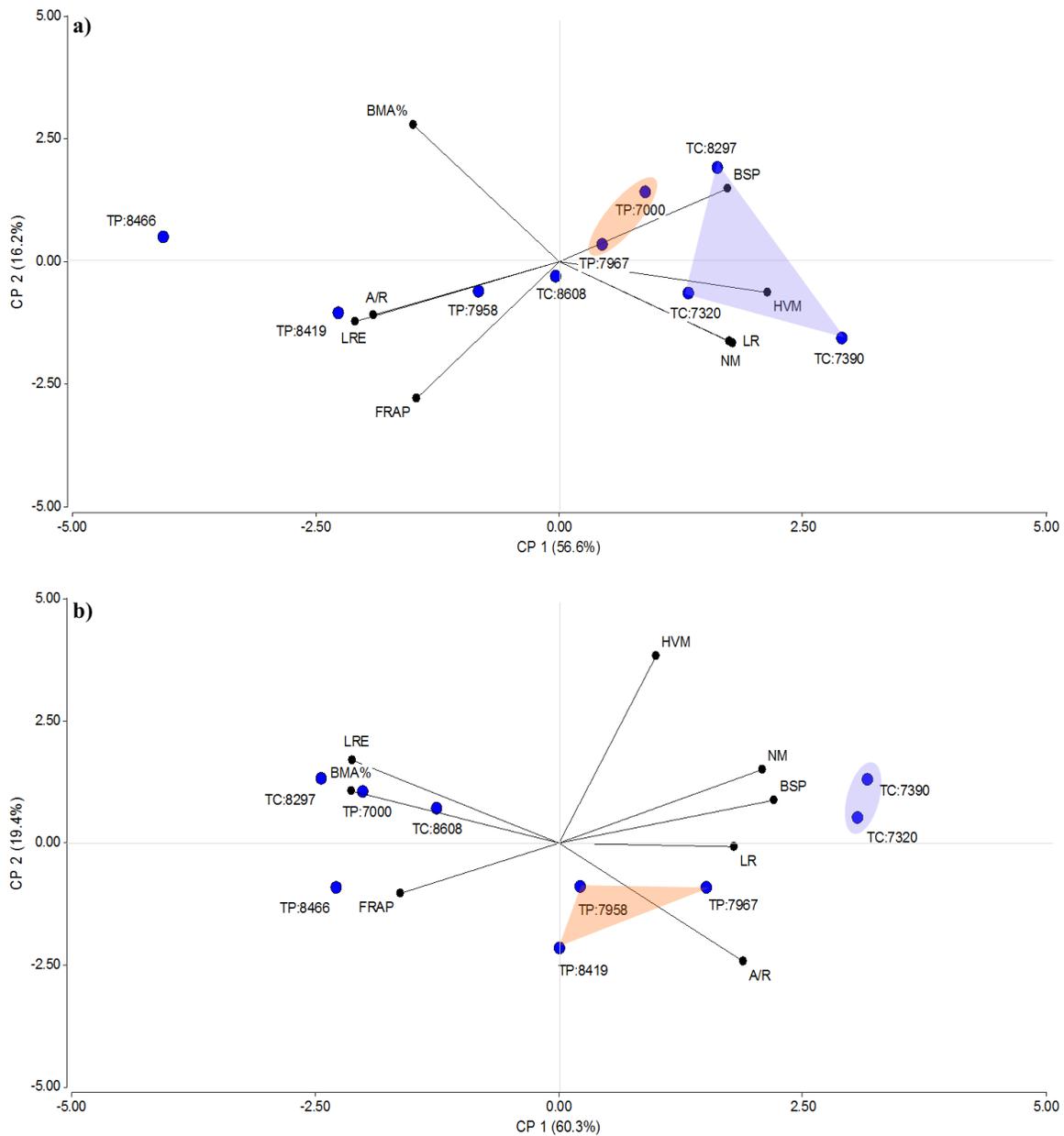


Figura 20: Biplot resultante del análisis de componentes principales (ACP) en la evaluación de la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial. a) Testigo y b) Estrés hídrico. **NM:** Número de macollas. **HVM:** Hojas vivas por macolla. **LR:** Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea relativa. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea/radical. **FRAP:** Actividad antioxidante no enzimática. **BSP:** Biomasa seca de planta.

5.2. Efecto del estrés salino sobre el crecimiento de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora*

Análisis de la varianza

El genotipo 7967 de *T. pluriflora*, no prosperó en condiciones de salinidad.

El número de hojas vivas por macollas (HVM) fue significativamente diferente entre genotipos (Tabla 13). Los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita* (3.8 ± 0.2 y 3.5 ± 0.6 hojas vivas/macolla, respectivamente) y 7000 y 8419 de *T. pluriflora* (3.5 ± 0.4 y 3.3 ± 1 hojas vivas/macolla, respectivamente) presentaron mayor número de macollas que los restantes (2.8 ± 0.5 hojas vivas/macolla, en promedio).

La biomasa aérea muerta relativa (BMA) fue significativamente diferente entre tratamientos y genotipos (Tabla 13). La BMA fue mayor en condiciones de estrés salino respecto al tratamiento testigo (19.4 ± 10 vs 11.4 ± 9.8 %). En *T. crinita* el genotipo de menor BMA fue el 7390 con 5.5 ± 3.3 % mientras que el de mayor BMA fue el 8608 con un 29.7 ± 12.2 %. En *T. pluriflora*, los genotipos 7958 y 8419 presentaron el menor porcentaje de BMA (5 ± 2.2 y 4.5 ± 2 %), mientras que el genotipo 8466 tuvo un 30.1 ± 11.1 % de BMA.

Para las restantes variables morfológicas se observó interacción entre genotipo y tratamiento (Tabla 13). Para evaluar la interacción se realizó un ANVA particionado por tratamiento (Tabla 14).

Tabla 13: Valores de *p* para los caracteres morfológicos y fisiológicos asociados al estrés oxidativo para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en la evaluación del efecto del estrés salino en crecimiento inicial.

VARIABLE FV	NM	HVM	LR	BMA	BFA	BSA	BFR	BSR	BFP	BSP	LRE	A/R	FRAP	MDA
E	<0,0001	NS	0.2476	NS	0.0011	0.0069	NS	0.285	0.0139	0.016	NS	NS	0.0207	0.0414
G(E)	<0,0001	0.0005	<0,0001	0.0005	<0,0001	<0,0001	0.0001	0.0001	<0,0001	<0,0001	0.0021	0.0004	0.0213	0.0392
T	0.0036	NS	0.0018	0.0109	0.0001	0.0004	NS	NS	0.0023	0.0019	NS	0.0005	<0.0001	NS
E*T	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.0089	0.0073	NS	NS	NS	NS	NS	0.0089
G(E)*T	0.0039	NS	0.0001	NS	<0,0001	<0,0001	0.0002	0.0004	<0,0001	<0,0001	0.04	0.0012	NS	NS

E: Especie. **G(E):** Genotipos dentro de especie. **T:** tratamiento. **E*T:** interacción especie y tratamiento. **G(E)*T:** interacción genotipos dentro de especie y tratamientos. NS: Diferencias estadísticamente no significativas ($p>0.05$).

HVM: N° de hojas vivas por macolla. **NM:** N° macollas por planta. **LR:** Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea. **BFA:** Biomasa fresca aérea. **BSA:** Biomasa seca aérea. **BFR:** Biomasa fresca radical. **BSR:** Biomasa seca radical. **BFP:** Biomasa fresca de planta. **BSP:** Biomasa seca de planta. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea/radical. **FRAP:** Actividad antioxidante no enzimática (capacidad de reducción férrica, FRAP). **MDA:** Concentración de malondialdehído.

Tabla 14: Valores de *p* para los caracteres morfológicos correspondiente a cada factor de variación (FV) del ANVA anidado, particionado por tratamiento: testigo y estrés salino.

VARIABLE FV		LR	NM	BFA	BSA	BFR	BSR	BFP	BSP	LRE	A/R
Testigo	E	0.0223	0.0099	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	G(E)	NS	NS	0.0012	0.0008	0.0029	0.0059	0.0016	0.0011	NS	NS
Estrés salino	E	NS	0.0002	0.0001	0.001	NS	NS	0.003	0.0036	NS	NS
	G(E)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0.0008	0.0003	<0,0001	<0,0001	0.0085	<0,0001

E: Especie. **G(E):** Genotipos dentro de especie. NS: Diferencias estadísticamente no significativas ($p>0.05$).

LR: Longitud radical. **NM:** N° macollas por planta. **BFA:** Biomasa fresca aérea. **BSA:** Biomasa seca aérea. **BFR:** Biomasa fresca radical. **BSR:** Biomasa seca radical. **BFP:** Biomasa fresca de planta. **BSP:** Biomasa seca de planta. **LRE:** Longitud radical específica. **A/R:** Relación biomasa seca aérea/radical.

Sólo la longitud radical (LR) y el número de macollas (NM) fueron significativamente diferentes entre especies en el tratamiento testigo, siendo *T. crinita* superior en ambos casos. En el tratamiento de estrés salino, sólo algunas características variaron significativamente entre especies. *T. crinita* tuvo 4.4 macollas/planta más que *T. pluriflora*. La biomasa aérea y total de planta fue, aproximadamente, 2 veces mayor en *T. crinita* que en *T. pluriflora*.

En el tratamiento de estrés salino se halló diferencias significativas entre genotipos para todas las variables evaluadas, mientras que en condiciones testigo sólo algunas lo hicieron. En la Figura 21 se muestra los valores absolutos y relativos para las variables más representativas. Los valores para las variables restantes se detallan en la Tabla 15. Del análisis correspondiente se observa que:

- El NM fue menor en condiciones de estrés salino respecto al testigo en los genotipos 8608 de *T. crinita* y 7000 y 8466 de *T. pluriflora*. En el genotipo 7320 de *T. crinita* el NM fue levemente mayor, mientras que en los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita* y 7958 y 8419 de *T. pluriflora* el NM fue mayor en condiciones de estrés salino, presentando además los mayores valores absolutos.

- Respuesta similar se halló en la LR. Los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita* y 7958 y 8419 de *T. pluriflora* presentaron mayor longitud en condiciones de estrés, siendo el genotipo 7390 superior a los demás.
- El genotipo 7390 de *T. crinita* produjo mayor biomasa fresca y seca aérea (BFA y BSA) en condiciones de estrés salino, respecto al testigo y en términos absolutos. Los genotipos 8297 y 8419 de *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente, presentaron menor BFA y BSA, pero superior a los restantes, en los cuales el estrés salino afectó negativamente la producción de biomasa aérea.
- Similar respuesta se observó en la producción de biomasa fresca y seca radical (BFR y BSR), donde el genotipo 7390 presentó mayor biomasa radical que los restantes en condiciones de estrés. Esto determina que, a pesar de generar raíces más largas, produjo mayor biomasa radical lo que determina una baja longitud radical específica (LRE). Una baja LRE también fue observada en los genotipos 8297, 7958 y 8419.
- La biomasa fresca y seca de planta (BFP y BSP) se asocia a la respuesta observada sobre la biomasa aérea y radical, ya que los mismos genotipos que presentaron los valores más altos para de biomasa aérea y radical, presentaron mayor BFP y BSP.
- No obstante los resultados anteriores la partición de biomasa A/R fue superior en todos los genotipos a excepción de los genotipos 8608 y 8419 de *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente.

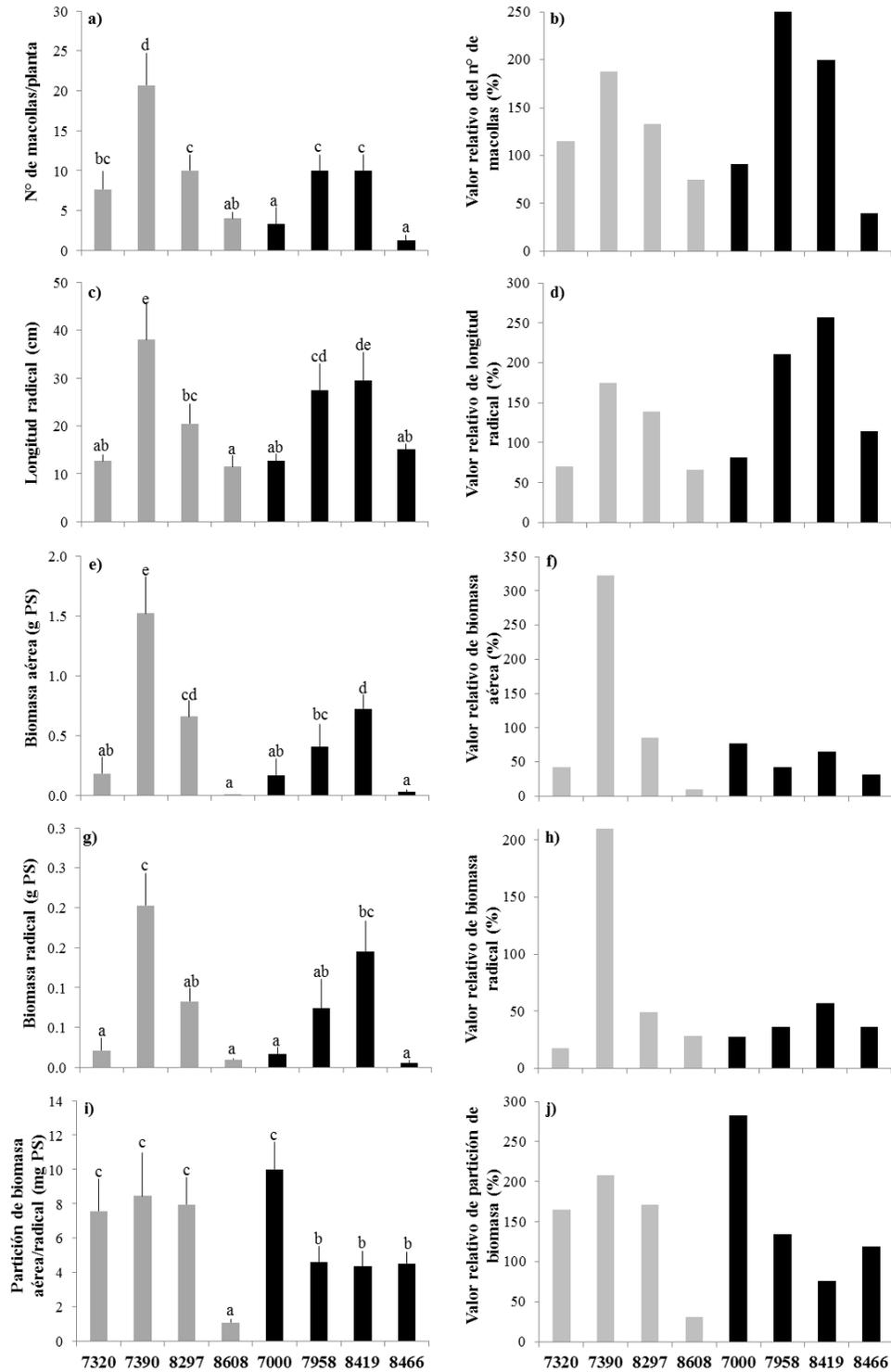


Figura 21: Valores absolutos promedio (\pm DE) (VA) y valores relativos al testigo (VR) para las variables más representativas donde se observó interacción entre genotipo y tratamiento en la evaluación de la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial en genotipos (eje x) de *T. crinita* (barras grises) y *T. pluriflora* (barras negras). Número de macollas por planta: a) VA y b) VR.

Longitud radical: c) VA y d) VR. Biomasa seca aérea: e) VA y f) VR. Biomasa seca radical: g) VA y h) VR. Relación biomasa seca aérea/radical: i) VA y j) VR. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Fisher, $p < 0.05$).

Para las variables asociadas al estrés oxidativo, se halló interacción entre especies y tratamientos en la concentración de MDA, mientras que para la actividad antioxidante no enzimática (FRAP) se halló diferencias entre especies, genotipos y tratamientos (Tabla 12). Mientras que en condiciones testigo la concentración de MDA no varió significativamente entre especies (0.110 ± 0.016 vs 0.111 ± 0.011 $\mu\text{mol/g PF}$ para *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente), en condiciones de estrés salino aumentó significativamente en *T. crinita* (0.146 ± 0.034 $\mu\text{mol/g PF}$) mientras que en *T. pluriflora* no se modificó (0.112 ± 0.022 $\mu\text{mol/g PF}$).

La actividad antioxidante no enzimática fue significativamente mayor en *T. pluriflora* que en *T. crinita* (84.7 ± 44.2 vs 68.5 ± 36.9 $A_{600}/\text{g PF}$). En condiciones de estrés salino se halló menor actividad antioxidante no enzimática (49.5 ± 18.1 $A_{600}/\text{g PF}$) respecto al testigo (114.4 ± 33.3 $A_{600}/\text{g PF}$). Los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita* presentaron los menores valores de FRAP (50.3 ± 15.6 vs 52.5 ± 11.7 $A_{600}/\text{g PF}$), diferenciándose de los restantes que en promedio presentaron un valor de 92.6 ± 7.7 $A_{600}/\text{g PF}$.

El ANVA de las variables asociadas a la excreción y acumulación interna de iones, reveló que todas las variables variaron significativamente entre especies, a excepción de la concentración interna de K^+ y la relación en la concentración interna de K^+/Na^+ , y genotipos dentro de especies, excepto la relación entre la concentración de K^+ excretado e interno (K ex/in) (Tabla 16).

Tabla 15: Valores promedios absolutos (\pm DE) (VA) y relativos al testigo (VR) para las variables biomasa fresca aérea (BFA), biomasa fresca radical (BFR), biomasa fresca de planta (BFP), biomasa seca de planta (BSP) y longitud radical específica (LRE), para genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* en condiciones de estrés salino. Letras diferentes indican diferencias significativas (Fisher, $p < 0.05$).

Especie	Genotipo	BFA		BFR		BFP		BSP		LRE	
		VR	VA	VR	VA	VR	VA	VR	VA	VR	VA
<i>T. crinita</i>	7320	38	0.700 \pm 0.54 ab	14	0.161 \pm 0.11 a	29	0.860 \pm 0.65 a	37	0.204 \pm 0.16 ab	456	13 \pm 8.83 a
	7390	357	7.892 \pm 1.80 e	229	1.930 \pm 1.21 c	321	9.822 \pm 3.01 c	303	1.722 \pm 0.42 e	64	2.43 \pm 1.45 a
	8297	100	3.218 \pm 0.64 d	52	0.701 \pm 0.14 ab	86	3.919 \pm 0.78 b	79	0.741 \pm 0.15 cd	238	2.48 \pm 0.5 a
	8608	11	0.063 \pm 0.01 a	21	0.070 \pm 0.01 a	15	0.133 \pm 0.03 a	15	0.020 \pm 0.00 a	168	11.73 \pm 2.35 a
<i>T. pluriflora</i>	7000	71	0.679 \pm 0.54 ab	32	0.201 \pm 0.12 a	56	0.880 \pm 0.66 a	66	0.186 \pm 0.15 ab	364	9.09 \pm 6.78 a
	7958	36	1.532 \pm 0.73 bc	42	0.688 \pm 0.33 ab	38	2.220 \pm 1.05 ab	42	0.480 \pm 0.23 bc	19	1.48 \pm 0.3 a
	8419	61	2.834 \pm 0.57 cd	53	1.425 \pm 0.49 bc	58	4.259 \pm 1.04 b	63	0.869 \pm 0.15 d	12	1.27 \pm 0.26 a
	8466	29	0.124 \pm 0.06 a	37	0.056 \pm 0.01 a	31	0.180 \pm 0.08 a	32	0.034 \pm 0.02 a	264	31.95 \pm 9.79 b

Tabla 16: Valores de *p* de los caracteres asociados a la excreción y concentración interna de iones para cada factor de variación (FV) del ANVA anidado en el análisis de la tolerancia a estrés salino.

VARIABLE FV	GSAab	GSAad	Na_ex	Na_in	K_ex	K_in	Na ex/in	K ex/in	K/Na ex	K/Na in
E	<0.0001	0.0003	<0.0001	<0.0001	0.0002	NS	<0.0001	0.0002	<0.0001	NS
G(E)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0019	<0.0001	<0.0001	NS	0.0015	<0.0001

E: Especie. **G(E):** Genotipos dentro de especie. NS: Diferencias estadísticamente no significativas ($p > 0.05$).

GSAab: Glándulas de sal activas en la cara abaxial. **GSAad:** Glándulas de sal activas en la cara adaxial. **Na_ex:** Concentración de sodio excretado. **Na_in:** Concentración interna de sodio. **K_ex:** Concentración de potasio excretado. **K_in:** Concentración de potasio interno. **Na ex/in:** Relación entre la concentración de sodio excretado e interno. **K ex/in:** Relación entre la concentración de potasio excretado e interno. **K/Na ex:** Relación entre la concentración de potasio y sodio externo. **K/Na in:** Relación entre la concentración de potasio y sodio interno.

Las glándulas de sales activas en la cara abaxial (GSAab) fueron mayores en *T. crinita* (20.1 ± 9.4 GSA/mm²) que en *T. pluriflora* (9.1 ± 3.2 GSA/mm²). Las GSA en la cara adaxial (GSA ad) fueron mucho menores que las GSAab, de igual modo fueron mayores en *T. crinita* (0.37 ± 0.24 GSA/mm²) que en *T. pluriflora* (0.19 ± 0.15 GSA/mm²). La concentración de Na⁺ excretado (Na_ex) fue mucho mayor en *T. crinita* (31.6 ± 15.4 μmol/g PF) que en *T. pluriflora* (2.3 ± 2.5 μmol/g PF), contrariamente a lo que se halló para la concentración de K⁺ excretado (K_ex), donde *T. pluriflora* excretó más K⁺ que *T. crinita* (8.1 ± 4.1 vs 3.4 ± 2.6 μmol/g PF). *T. crinita* posee mayor capacidad que *T. pluriflora* de compartimentar iones Na⁺ internamente (Na_in) (9.4 ± 5.5 vs 1.4 ± 1.2 μmol/g PF), mientras que ninguna diferencia se observó en la concentración de K⁺ interno (K_in) (8.5 ± 4.1 vs 8.4 ± 2.6 μmol/g PF, para *T. crinita* y *T. pluriflora*, respectivamente). La relación entre la concentración de Na⁺ excretado e interno (Na⁺ ex/in) fue mayor en *T. crinita* que (11.8 ± 10.3) vs *T. pluriflora* (2.2 ± 2.6). Lo contrario se observó en la relación entre la concentración de K⁺ excretado e interno (1 ± 0.5 vs 0.4 ± 0.2 , para *T. pluriflora* y *T. crinita*, respectivamente). La relación entre la concentración interna de iones K⁺/Na⁺ (K/Na_in) no fue significativamente diferente en *T. pluriflora* vs *T. crinita* (9.6 ± 5.1 vs 7 ± 6.5), mientras que sí se observó para la concentración externa de iones K⁺/Na⁺ (K/Na_ex), la que fue menor para *T. crinita* respecto de *T. pluriflora* (0.1 ± 0.12 vs 5.5 ± 3.3). Los altos

desvíos entre especies están dados por la gran variabilidad en respuesta al estrés salino observada entre genotipos dentro de la especie. Las diferencias entre genotipos se detallan en la Figura 22.

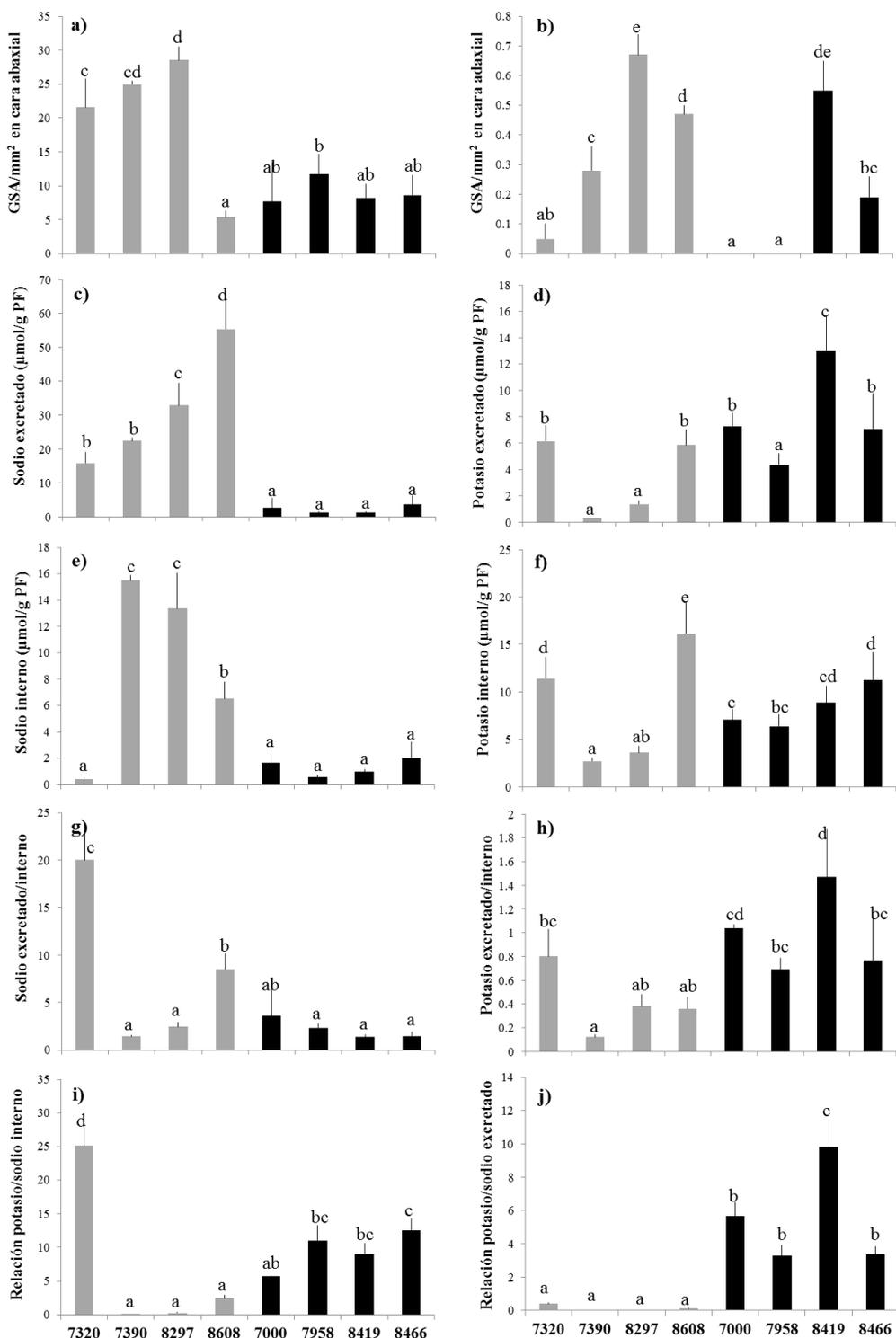


Figura 22: Valores promedios (\pm DE) hallados para variables asociadas a la excreción y concentración interna de iones Na^+ y K^+ en la evaluación de la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial, para genotipos (eje x) de *T. crinita* (barras grises) y *T. pluriflora* (barras negras). a) Glándulas de sal activas (GSA) en la cara abaxial, b) GSA en la cara adaxial, c) concentración de sodio (Na^+) excretado, d) concentración de potasio (K^+) excretado, e) concentración interna de Na^+ , f) concentración interna de K^+ , g) relación Na^+ excretado/interno, h) relación K^+ excretado/interno, i) relación Na^+/K^+ interno y j) relación Na^+/K^+ excretado. La línea de puntos representa el promedio para la especie. Letras diferentes indican diferencias significativas (Fisher, $p < 0.05$).

T. crinita posee mayor capacidad de excretar iones y acumularlos internamente. Esto queda demostrado por mayor número de GSA y concentración de Na^+ excretado e interno. Sin embargo, *T. pluriflora* excreta mayores concentraciones de K^+ , aunque no existe variación entre especies en la concentración de K^+ acumulado internamente. Esto determina mayores tasas de K^+/Na^+ excretado y acumulados internamente en *T. pluriflora*.

Los genotipos 7390 (0.186 g/1000 semillas) y 8297 (0.205 g/1000 semillas), proveniente de ambiente árido y salino, respectivamente, presentaron mayor rendimiento en biomasa, menor actividad antioxidante no enzimática, acumularon y excretaron grandes concentraciones de Na^+ y bajas concentraciones de K^+ , revelando una alta tolerancia al estrés salino.

En el caso de *T. pluriflora*, el genotipo 7967 (0.225 g/1000 semillas), proveniente de ambiente semi húmedo, tolerante al estrés hídrico, no prosperó en condiciones de estrés salino. Los genotipos 7958 (0.250 g/1000 semillas) y 8419 (0.244 g/1000 semillas), provenientes de ambientes seco y húmedo, respectivamente, presentaron un incremento de biomasa en presencia de estrés salino, manifestando una mayor tolerancia respecto de los restantes genotipos. Aunque no hubo un genotipo que se destaque, el genotipo 8419 presentó mayor excreción de iones en general.

Análisis de componentes principales

En el Anexo 6 se detalla la matriz de correlación de las variables incluidas en el ACP y aquellas descartadas por estar altamente correlacionadas con otras ($r > 0.9$). Adicionalmente, se descartaron aquellas variables que en un ACP preliminar no tuvieron peso en ninguna de

las componentes (GSAad, LRE, A/R). En el ACP para el tratamiento de salinidad se descartó adicionalmente la variable GSAad y aquellas derivadas de la excreción y compartimentación de iones Na^+ y K^+ .

En el ACP para tratamiento testigo, la CP1 explica el 54.3 % de la variación observada y la variable BMA tiene peso positivo y muy importante en dicha componente. Adicionalmente, la variable MDA también tiene un peso importante, aunque negativo. La CP2, la cual explica un 26.1 % de la variación observada, está positivamente influida por las restantes variables morfológicas y negativamente por FRAP (Tabla 17). Observando el biplot (Fig. 23 a), al igual que en el análisis de estrés hídrico, los genotipos 7320, 7390 y 8297 de *T. crinita*, son los de mayor productividad por lo que se encuentran agrupados cercanos a las variables NM, BSP, LR y HVM. En este análisis al no contemplarse el genotipo 7967, no existe un genotipo de *T. pluriflora* que se destaque, aunque el genotipo 8466 se mantiene bien alejado de los restantes.

Tabla 17: Valores de los autovectores del análisis de componentes principales para la evaluación de la tolerancia al estrés salino en crecimiento inicial.

Variables	Estrés salino		Testigo	
	CP1	CP2	CP1	CP2
GSAab	-0.28	0.26		
Na ex	0.03	0.56		
K ex	0.23	-0.37		
Na in	-0.28	0.37		
K in	0.36	0.12		
NM	-0.34	0.05	-0.18	0.59
HVM	-0.32	-0.13	-0.33	0.23
LR	-0.31	-0.17	0.13	0.62
BMA	0.3	0.35	0.79	0.03
BSP	-0.36	-0.02	-0.09	0.26
FRAP	0.33	-0.13	-0.12	-0.36
MDA	0.14	0.38	-0.45	-0.14

GSAab: Glándulas de sal activas en la cara abaxial. **Na_ex**: Concentración de sodio excretado.

K_ex: Concentración de potasio excretado. **Na_in**: Concentración de sodio interno. **K_in**: Concentración de potasio interno. **NM**: Número de macollas. **HVM**: Hojas vivas por macolla. **LR**: Longitud radical. **BMA**: Biomasa muerta aérea relativa. **BSP**: Biomasa seca de planta. **FRAP**: Actividad antioxidante no enzimática (FRAP). **MDA**: Concentración de malondialdehído.

Los resultados del ACP para el tratamiento salino, avalan lo hallado en los ANVAs. La CP1 explica el 55.7 % de la variación observada. Todas las variables tienen peso en la CP1, excepto MDA y Na_ex. Las variables FRAP, BMA, Na_ex y K_ex, tienen peso positivo, mientras que en las restantes es negativo. La CP2 explica un 23 % de la variación observada, y MDA y Na_ex tienen un peso positivo e importante en la componente. También la BMA y Na_in tienen peso en la componente, el que es positivo (Tabla 17). El biplot (Fig. 23 b) revela una clara separación de los genotipos tolerantes de los susceptibles. Los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita* se ubican en el cuadrante superior izquierdo en las cercanías de las variables morfológicas relacionadas con la productividad (NM, HVM, BSP, LR) y la excreción y compartimentación de Na⁺, por presentar valores elevados para dichas variables y opuestos a las variables asociadas a la mayor susceptibilidad al estrés salino, tales como FRAP, MDA y BMA, presentando valores bajos para dichas variables. Lo contrario sucede con el genotipo 8608 el cual se mostró susceptible al estrés salino. En *T. pluriflora* no hay un genotipo que se destaque de los demás, aunque los genotipos 7958 y 8419, presentan los valores más bajos de FRAP, MDA y BMA y más altos de las variables asociadas a la productividad (NM, HVM, BSP).

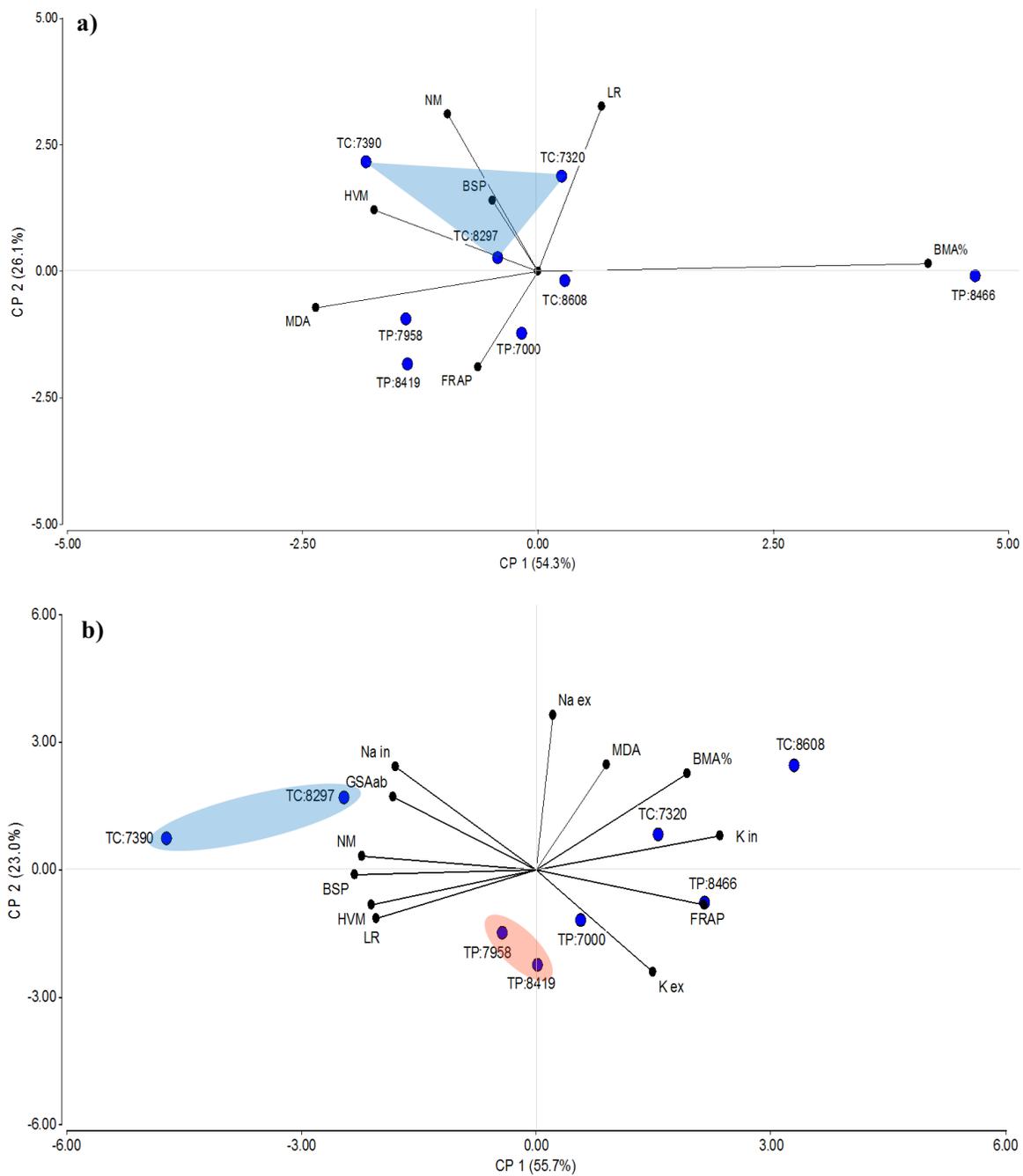


Figura 23: Biplot resultante del análisis de componentes principales en la evaluación de la tolerancia a estrés salino. a) Testigo y b) Estrés salino. **GSAab:** Glándulas de sal activas en la cara abaxial. **Na_ex:** Concentración de sodio excretado. **K_ex:** Concentración de potasio excretado. **Na_in:** Concentración de sodio interno. **K_in:** Concentración de potasio interno. **NM:** Número de macollas. **HVM:** Hojas vivas por macolla. **LR:** Longitud radical. **BMA:** Biomasa muerta aérea relativa. **BSP:** Biomasa seca de planta. **FRAP:** Actividad antioxidante no enzimática (FRAP). **MDA:** Concentración de malondialdehído.

6. DISCUSIÓN

6.1. Respuesta de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* en la tolerancia a estrés hídrico en crecimiento inicial

Los resultados obtenidos confirman la hipótesis de que la tolerancia al estrés hídrico en etapas posteriores a la germinación no está asociada al peso de semillas, sino a caracteres morfofisiológicos adaptativos que les permiten a los genotipos crecer y desarrollarse en su ambiente natural.

En *T. crinita*, los genotipos provenientes de ambientes áridos (7320, 7390) tuvieron mayor tolerancia al estrés hídrico, presentando alta producción de biomasa, mayor longitud radical, menor biomasa muerta y estrés oxidativo. El genotipo 7320 posee un elevado peso de semillas (0.353 g/1000 semillas) respecto al 7390 (0.186 g/1000 semillas). Estos resultados revelan diversas estrategias adaptativas en genotipos provenientes de ambientes áridos. Algunos genotipos poseen un elevado peso de semillas, lo que favorece una rápida germinación e implantación durante el período de lluvias, estrategia utilizada por numerosas especies en dichos ambientes (Westoby et al., 1992; Leishmann et al., 2000. Moles & Westoby, 2004; Metz et al., 2010), mientras que otros garantizan la supervivencia mediante la reasignación o translocación de fotoasimilados a raíces, reflejado en un aumento de biomasa de raíces y de biomasa aérea muerta (Hsiao & Acevedo, 1974; Begg & Turner, 1976; McNaughton et al., 1983; Greco & Cavagnaro, 2002). El genotipo 8608 originario de ambiente húmedo, de peso de semillas intermedio (0.242 g/1000 semillas), presentó los valores más bajos para todas las variables evaluadas, resultando muy afectado por el estrés hídrico. El genotipo 8297, de ambiente salino y de peso de semillas relativamente bajo (0.205 g/1000 semillas), demostró susceptibilidad al estrés hídrico.

En base a lo dicho, en *T. crinita* el peso de semillas no favorecería la tolerancia al estrés hídrico en etapas posteriores a la germinación, ya que el origen de los genotipos condicionó la respuesta. Diversas variables morfofisiológicas adaptativas favorecerían dicha tolerancia, tales como la translocación de fotoasimilados a raíz, reflejado en un aumento de biomasa radical y biomasa aérea muerta, lo que a su vez permite una mayor exploración de suelo (reflejado en una mayor longitud radical) y acceso a recursos, para producir mayor cantidad macollas y biomasa aérea, favorecido a su vez por un menor daño oxidativo. Antecedentes similares de adaptación local para caracteres funcionales en *T. crinita* han sido

mencionados por otros autores. Quiroga et al. (2013) hallaron, en plantas provenientes de ambientes áridos, una estrategia adaptativa en el uso del agua dada por una lenta extracción de agua del suelo en condiciones de estrés, la que probablemente esté asociada, según dichos autores, a una menor tasa de transpiración. Estos mismos autores observaron, en condiciones de estrés hídrico, una menor tasa de senescencia foliar acompañada de una mayor tasa de expansión foliar, obteniendo una mayor biomasa verde respecto de poblaciones originarias de ambientes húmedos. Del mismo modo, Greco & Cavagnaro (2002, 2005) hallaron diferentes adaptaciones en variedades de *T. crinita* provenientes de ambientes áridos. En dicho estudio, si bien el estrés hídrico afectó a las tres variedades, fue menor en aquella proveniente de un ambiente limitante. La variedad proveniente de ambiente más árido plegó sus hojas más tardíamente y mantuvo un alto potencial hídrico en la hoja respecto de las otras variedades. En dichas evaluaciones, si bien la partición de biomasa aérea/radical no se vio afectada por el estrés, fue más baja en la variedad proveniente de ambiente más árido (mayor biomasa de raíz respecto de la biomasa aérea). En *T. pluriflora*, los genotipos 8419 y 8466, de alto y bajo peso de semillas (0.244 y 0.196 g/1000 semillas, respectivamente), provenientes de ambientes húmedos, mostraron susceptibilidad al estrés hídrico. El genotipo 7000 (0.250 g/1000 semillas), proveniente de ambiente subhúmedo, presentó altos valores de biomasa en ausencia de estrés, pero su rendimiento se vio muy afectado por el estrés hídrico. El genotipo 7958 (0.250 g/1000 semillas), proveniente del ambiente más seco, aumentó ligeramente la biomasa aérea y radical en condiciones de estrés hídrico, acompañado de una disminución de la proporción de biomasa muerta, aunque no superó al genotipo de mayor productividad. Finalmente, el genotipo 7967, con un peso de semillas intermedio (0.225 g/1000 semillas) y originario de ambiente semiárido, fue el de mayor tolerancia, con buena producción de biomasa aérea y radical en condiciones de estrés, y con aumento de la biomasa muerta, lo que revela una estrategia de translocación de recursos a raíces para la tolerancia del estrés hídrico (Hsiao & Acevedo, 1974; Begg & Turner, 1976), que aun así se mantiene por debajo de los valores observados para los restantes genotipos. Adicionalmente, mantuvo un bajo estrés oxidativo en condiciones de estrés hídrico. Estos resultados revelan que no existe una estrategia de tolerancia al estrés hídrico en crecimiento inicial asociada al peso de semillas en *T. pluriflora*, ya que en poblaciones con peso de semillas similares la respuesta fue variada.

Aquellos genotipos provenientes de ambientes áridos y semiáridos, presentaron mayor productividad en condiciones de estrés, lo que podría asociarse a una estrategia de las poblaciones para adaptarse a dichas condiciones limitantes en su ambiente natural. No se registran antecedentes de interacción en la respuesta a estrés hídrico en *T. pluriflora*. Por lo que el presente estudio, constituye un precedente importante en el estudio de las bases morfofisiológicas asociadas a la tolerancia al estrés hídrico en esta especie.

Un carácter ecofisiológico puede ser considerado adaptativo si tiene un impacto directo en el *fitness* de un individuo en su ambiente natural. Si los patrones de expresión fenotípica interactúan con el ambiente, de modo que diferentes genotipos se ven favorecidos en diferentes ambientes, entonces la heterogeneidad ambiental en la que las poblaciones naturales ocurren contribuye al mantenimiento de la variación genética intraespecífica (Ackerly et al., 2000). En este sentido, en el presente estudio se han identificado diferentes patrones de expresión fenotípica asociados a la respuesta ante estrés hídrico a nivel intraespecífico, revelando una variación genética en caracteres ecofisiológicos adaptativos, como la longitud radical, producción de biomasa, partición de recursos y biomasa muerta, que le permiten a algunos genotipos adaptarse a condiciones limitantes de disponibilidad hídrica para crecer y desarrollarse en dichos ambientes.

Está bien documentado que los recursos bióticos y abióticos de los pastizales actúan en la composición de especies como filtros ambientales (Keddy, 1992). Estas fuerzas selectivas, como las interacciones entre los individuos, las interacciones directas con otros individuos y las condiciones ambientales locales, pueden potencialmente limitar la coexistencia de las especies, la abundancia de especies y las características de cada especie (Lavorel & Garnier, 2002). Sultan et al. (1998) y Bell & Sultan (1999), hallaron patrones consistentes en caracteres funcionales claves, como la tasa fotosintética y asignación de biomasa, morfología y longitud de raíces, asociados a su distribución ecológica en diferentes especies del género *Polygonum*. Fernandez & Reynolds (2000) estudiaron ocho gramíneas de ambientes áridos de New Mexico y observaron que la respuesta a la sequía estaba dada por mecanismos morfológicos y de reasignación de recursos, con la finalidad de reducir la pérdida de agua e incrementar la supervivencia, a costo de un menor crecimiento. La interfaz entre la variación inter e intraespecífica constituye un vínculo crítico entre los procesos evolutivos de diversificación y adaptación. De este modo, los patrones de

plasticidad fenotípica evolucionan en el curso de la diferenciación de especies, y en consecuencia, especies emparentadas pueden expresar diferentes respuestas plásticas a una determinada condición ambiental (Sultan, 1995). Las especies del género *Trichloris* poseen una amplia distribución y en general, ocupan nichos diferentes. Sin embargo, su distribución se solapa en ambientes semiáridos, donde comparten el hábitat (caso de estudio de poblaciones simpátricas en el Capítulo 2). Esta diversificación en la ocupación de nichos ha llevado a que poblaciones de ambas especies desarrollen caracteres funcionales al ambiente natural, con una fuerte adaptación local que les permite afrontar el estrés. Sin embargo, estas adaptaciones son más evidentes en *T. crinita* debido a que crece en condiciones más extremas de estrés hídrico que *T. pluriflora*. Estos resultados sugieren que las diferencias en plasticidad fenotípica constituyen un aspecto clave en la diversidad adaptativa entre especies y dentro de la especie.

En ambas especies de *Trichloris*, los diferentes patrones de expresión fenotípica entre genotipos, no estuvieron asociados al peso de semillas de los mismos sino a adaptaciones morfofisiológicas a su ambiente de origen, condicionando la supervivencia de las poblaciones en diferentes condiciones ambientales.

6.2. Respuesta de genotipos de *T. crinita* y *T. pluriflora* en la tolerancia a estrés salino en crecimiento inicial

En las gramíneas, los parámetros de crecimiento como la biomasa aérea (Francois, 1988; Marcum & Murdoch, 1990), biomasa de raíz y longitud de la raíz (Marcum & Kopec, 1997; Marcum, 1999), han sido mencionados como excelentes criterios para determinar la tolerancia a la salinidad.

En el presente estudio, los resultados hallados revelan mayor tolerancia al estrés salino de los genotipos 7390 y 8297 de *T. crinita*, los cuales presentan menor peso de semillas (0.186 y 0.205 g/1000 semillas, respectivamente), y son originarios de ambiente árido y salino, respectivamente. Ambos genotipos presentaron los mayores valores de producción de biomasa aérea y radical y mantenimiento de la partición de fotoasimilados, y una menor senescencia foliar. En este sentido, la mayor exploración de suelo, dado por un aumento de la longitud y biomasa radical, permitiría mantener las tasas de crecimiento y por ende la producción de biomasa. En ambos genotipos, la tolerancia estuvo dada por una baja

relación Na^+ excretado/interno, sugiriendo una alta capacidad de compartimentar iones Na^+ dentro de la hoja, lo que conferiría la tolerancia al estrés salino y en consecuencia un menor estrés oxidativo, avalado por los bajos contenidos de antioxidantes no enzimáticos (capacidad de reducción férrica, FRAP) y concentración de malondialdehído (MDA) observados en ambos genotipos. Dado que la acumulación de Na^+ en vacuolas requiere de energía (Flowers et al., 2015), es posible que genotipos con mayores tasas de crecimiento tengan mayor capacidad de acumular iones a nivel intracelular. Estos resultados revelan una estrategia adaptativa en estos genotipos que es característica de las especies halófitas (Albert, 1975; Yeo, 1981; Storey et al., 1983; Jeschke et al., 1986; Flowers & Colmer, 2008; Munns & Tester, 2008).

Para *T. pluriflora* no se halló un patrón dado por peso de semillas y/o origen geográfico, en genotipos que produjeron mayor biomasa aérea y radical (8419 y 7958), con alto peso de semillas (0.244 y 0.250 g/1000 semillas, respectivamente) y provienen de ambientes altamente contrastantes (húmedo y seco, respectivamente). El genotipo 7000, con peso de semilla similar (y 0.250 g/1000 semillas), proviene de un ambiente subhúmedo y presentó menor tolerancia que los genotipos anteriores, ya que se vio afectada la producción de biomasa, longitud radical y partición de biomasa. Adicionalmente, el genotipo 8644, de menor peso de semillas (0.196 g/1000 semillas) y origen húmedo, fue el más susceptible. Por lo dicho, no se observó ningún patrón asociado al peso de semillas o al ambiente de origen en la respuesta a la tolerancia al estrés salino. No obstante, no se ha observado un genotipo que se destaque como en *T. crinita*. Por otra parte, en *T. pluriflora* no se observaron adaptaciones fisiológicas que permitan minimizar el estrés oxidativo, ya que no se hallaron diferencias entre genotipos en las concentraciones de FRAP y MDA. Sin embargo, se halló que los genotipos de esta especie excretan grandes concentraciones de K^+ , lo que indicaría una falta de adaptación para discernir entre iones nocivos, como Na^+ , e iones indispensables para el crecimiento como el K^+ .

Las especies halófitas se caracterizan por poseer estructuras denominadas glándulas de sales que les permiten eliminar el exceso de sales de los tejidos metabólicamente activos (Zhou et al., 2001) y tolerar el estrés salino (Marcum et al., 2003; Zhang et al., 2003). Sin embargo, estas estructuras no son exclusivas de las halófitas (Flowers & Flowers, 2005). Esto ha sido demostrado en el presente estudio, ya que *T. pluriflora*, siendo una especie

glicófita, presenta glándulas de sales activas (GSA), aunque en menor medida que *T. crinita*, que si es halófita. Similares resultados han sido hallados por Taleisnik & Anton (1988) en especies de *Pappophorum*, donde *P. phillipianum*, una halófita facultativa, posee mayor cantidad de GSA que *P. pappiferum*, una glicófita. Ambas especies de *Trichloris* presentaron mayor número de GSA en la cara abaxial, corroborando lo mencionado por Zabala et al. (2011 a). La presencia de GSA ha sido señalada en otras especies halófitas de la subfamilia Chloridoideae. Marcum y Murdoch (1994) evaluaron GSA en *Cynodon dactylon*, *Zoysia japonica* y *Z. matrella* mediante la tasa excreción de iones Na^+ . Lipschitz et al. (1974) hallaron igual densidad de GSA en ambas superficies foliares de *Chloris gayana*. Taleisnik et al. (1997) observaron diferencias en la densidad de GSA entre cultivares de *C. gayana*. Luca et al. (2001) observaron mayor cantidad de GSA en clones tolerantes a la salinidad del cv. Boma de *C. gayana* ($\sim 21 \text{ GSA/mm}^2$) respecto a clones susceptibles ($\sim 13 \text{ GSA/mm}^2$). Similares resultados se han hallado en el presente estudio, observándose entre 25 y 30 GSA/mm^2 en los genotipos más tolerantes de *T. crinita*, mientras que en los susceptibles se registraron menos de 10 GSA/mm^2 .

Las Chloridoideas han sido consideradas un grupo especializado en ambientes estresantes (Clayton & Renvoize, 1986; Columbus et al., 2007; Peterson et al., 2010) y la presencia de glándulas de sales en esta subfamilia favorecería este comportamiento (Taleisnik & Anton, 1988). Las glándulas de sales de las gramíneas secretan una amplia variedad de iones (Kobayashi, 2008), como Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} y Cl^- (Thomson, 1975; Liu et al., 2006; Oi et al., 2013b), aunque el mecanismo de secreción posee baja afinidad por cationes divalentes (Ramadan, 2001; Marcum, 2008). Algunas especies tienden a secretar iones potencialmente tóxicos y retener los iones fisiológicamente benéficos como el Ca^{++} y el K^+ , mientras que otras no discriminan entre iones benéficos o tóxicos y secretan todos (Naz et al., 2009). En las plantas, una alta eficiencia en la utilización del K^+ ha sido propuesta como un factor importante que contribuye a la tolerancia a la salinidad (Jeschke & Pate, 1991). En el presente estudio se halló que *T. crinita* posee mayor capacidad de excretar y compartimentar internamente mayores concentraciones de Na^+ , que *T. pluriflora*. Por otro lado, no hubo diferencias en la concentración de K^+ interno en la hoja entre especies. Esto se debe a que las halófitas requieren K^+ para las mismas funciones metabólicas que en glicófitas, por lo que las concentraciones citoplasmáticas de K^+ en células en crecimiento

de halófitas suelen ser similares a las de glicófitas (Gorham & Wyn Jones, 1983; Flowers et al., 1986). Sin embargo, sí se observó diferencias entre las especies en la concentración de K^+ excretado, ya que *T. pluriflora* excretó mayor concentración de K^+ que *T. crinita*. Esto último sugiere que en *T. pluriflora* los mecanismos de excreción no distinguen entre iones beneficiosos como el K^+ y nocivos como el Na^+ ; en *T. crinita* el mecanismo de excreción resulta más específico. Esta respuesta diferencial resulta predecible, ya que *T. crinita* como halófito ha desarrollado adaptaciones que le permiten excretar las sales y tolerar el estrés salino, mientras que *T. pluriflora*, como glicófito, no posee dicha capacidad. Resultados similares han sido hallados por Kobayashi et al. (2007) en *Chloris gayana*, donde las glándulas de sales pueden secretar tanto Na^+ como K^+ , aunque la secreción de Na^+ es mayor. En otras gramíneas, como *Ochthochloa compressa*, Naz et al. (2009) observaron excreción de todos los iones, sin discriminar beneficiosos de nocivos.

La relación K/Na excretado observada en *T. crinita* está en el rango de los valores reportados para otras Monocotiledóneas halófitas (Rozema 1991; Taleisnik et al. 1997; Luna et al., 2000; de Luca et al., 2001). Por otro lado, la excreción indiscriminada de K^+ en *T. pluriflora*, y la menor capacidad de excretar y compartimentar Na^+ , arroja valores elevados para la relación K/Na en esta especie. Cultivares de *Chloris gayana* menos tolerantes a la salinidad presentaron valores altos en la relación K/Na (Taleisnik et al., 1997), cultivares menos tolerantes a la salinidad poseen valores más altos en la relación K/Na, siendo éstos aún menores que los hallados en *T. pluriflora*, lo que revelaría que a medida que la tolerancia a la salinidad disminuye la tasa de K/Na se incrementa.

En el presente estudio se observó una respuesta diferencial entre genotipos de *T. crinita* en la capacidad de excreción y acumulación interna de Na^+ . Los genotipos 7390 y 8297 se destacaron de los restantes por presentar los valores más bajos de la tasa de Na^+ excretado/interno. Esto es esperable en una halófito facultativa, como *T. crinita*, donde existe variabilidad intraespecífica en la tolerancia a la salinidad, y en consecuencia a patrones fisiológicos adaptativos que sostienen dicha tolerancia. Este patrón fisiológico de excreción de iones que muestran estos genotipos les ha permitido disminuir el estrés oxidativo causado por el estrés salino, ya que presentan los menores valores de actividad antioxidante no enzimática (medida a través del poder antioxidante de la reducción del ión Fe, FRAP) y menor peroxidación de los lípidos, reflejado con una baja concentración de

MDA. Menor daño oxidativo por peroxidación de los lípidos han sido observados en germoplasma más tolerante de *Chloris gayana* en condiciones de estrés salino (Luna et al., 2000). En un estudio llevado a cabo por Luna et al. (2016), en un cv de *Panicum coloratum*, se halló mayor estrés oxidativo en condiciones de estrés por alcalinidad y anegamiento, medido a través de la actividad antioxidante no enzimática y la peroxidación de los lípidos.

Las posibles causas de la reducción de crecimiento en condiciones de salinidad son diversas (Flowers et al., 2015). Un inadecuado ajuste osmótico resulta en una disminución de la conductancia estomática limitando la fotosíntesis neta y de la turgencia celular que impide la expansión celular (Greenway & Munns, 1983; Rozema, 1991; Flowers & Colmer, 2008). Es posible, además, una desviación de la energía necesaria para regular el transporte de iones y la compartimentación, o bien para la síntesis de solutos orgánicos compatibles (Yeo, 1981; Greenway & Munns, 1983; Flowers & Colmer, 2008). Adicionalmente, podría existir daños causados por las ERO (Sharma et al., 2012; Ozgur et al., 2013).

En cuanto a la producción de biomasa aérea y radical, la respuesta fue diferente entre genotipos dentro de cada especie. En *T. crinita*, los genotipos que presentaron mayor capacidad de excreción de sales y menor estrés oxidativo (7390 y 8297) mostraron mayores valores de biomasa aérea y radical en condiciones de salinidad, mientras que los restantes (7320 y 8608) se vieron afectados por el estrés salino. Esto resulta previsible para el genotipo 8297 que es originario de ambiente salino. Sin embargo, el genotipo 7390, originario de ambiente árido y suelo no salino (CE~2.9 dS/m), presentó un buen comportamiento en condiciones de salinidad. Esto puede deberse a que el pH del suelo en el que crece es 9.1, lo que estaría indicando alcalinidad. Esto explicaría las adaptaciones morfofisiológicas de estos genotipos, las que les permitirían tolerar el estrés salino. En *T. pluriflora*, la mayor producción biomasa aérea y radical en los genotipos 8419 y 7958, no estaría explicada por una respuesta fisiológica determinada, por lo que serán necesarios mayores estudios para resultados más concluyentes.

El estrés causado por sequía y salinidad son importantes factores abióticos que son comunes en los pastizales argentinos, por lo que la identificación de germoplasma con características ecofisiológicas adaptativas que le permiten afrontar dichas dificultades resultan de gran importancia para mejoramiento de especies forrajeras nativas, tanto para

las restauración de los pastizales como para su introducción a cultivo. En el presente Capítulo se ha observado tolerancia a estrés hídrico y salino en el genotipo 7390 de *T. crinita*. El genotipo 7320 resultó más tolerante a estrés hídrico, mientras que el 8297 lo fue al estrés salino. Del mismo modo, el genotipo 7967 de *T. pluriflora*, ha demostrado mayor tolerancia al estrés hídrico, mientras que los genotipos 8419 y 7958 lo hicieron en condiciones de salinidad. Por lo dicho, estos materiales resultan promisorios para la inclusión a futuros programas de fitomejoramiento de forrajeras nativas.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

1. DISCUSIÓN GENERAL

Algunos pastizales de Argentina se caracterizan por producir biomasa en condiciones estresantes de sequía y salinidad. La falta de manejo y el escaso aporte tecnológico (Levine et al., 2003; Seabloom et al., 2003), el sobrepastoreo y la erosión (Guevara et al., 1997; Bertiller et al., 2002) y la expansión de los cultivos hacia zonas más áridas (Guevara et al., 2009), han incrementado notablemente la degradación de estos pastizales, obligando a que surjan nuevas estrategias para su restauración. En este sentido, el estudio de recursos fitogenéticos nativos con potencial forrajero y la diversidad del germoplasma en caracteres ecofisiológicos adaptativos, se ha tornado en una estrategia importante en programas de fitomejoramiento para la reintroducción de recursos fitogenéticos nativos mejorados con la finalidad de aumentar la productividad de los mismos y controlar la erosión (Cavagnaro et al., 2006; Doust et al., 2008; Abella et al., 2009; Pyke et al., 2013).

La selección de materiales para caracteres funcionales críticos adaptados a tales condiciones estresantes permite incrementar la eficacia en el proceso de mejoramiento (Chivers et al., 2016). La presión de selección en poblaciones naturales a lo largo de gradientes ambientales puede dar lugar a variaciones predecibles en los rasgos de historia de vida y tolerancias fisiológicas de las especies (Westoby et al., 2002; Kattge et al., 2011; Vergeer & Kunin, 2011). Esta interacción entre planta y ambiente comienza con la germinación, considerada como la transición más importante en la vida de las plantas, la que a menudo es un serio cuello de botella poblacional y uno de los eventos más dramáticos en el ciclo de vida vegetal (Donohue et al., 2010). En este sentido, el peso de semillas juega un rol importante en la etapa germinativa, aumentando las posibilidades de implantación y supervivencia de las plántulas (Leishman et al., 2000), ya que se ha hallado que semillas más grandes producen plántulas más grandes que confieren resistencias a diversos estreses iniciales (Leishman et al., 2000; Westoby et al., 2002). Por tal motivo, el incremento del tamaño de fruto y semillas son parte de los caracteres en el denominado síndrome de domesticación (Doganlar et al., 2000; Hancock, 2004). Por lo que la diferenciación en el peso de semillas en respuesta a gradientes ambientales a nivel intraespecífico, revela una estrategia adaptativa de las especies para crecer y desarrollarse en su ambiente natural.

Luego de la etapa germinativa, el crecimiento inicial ya no se ve condicionado por el peso de semillas sino por la tasa relativa de crecimiento u otros caracteres ecofisiológicos

adaptativos de mayor relevancia (Westoby et al., 1992; Westoby, 1998). Un carácter ecofisiológico puede ser considerado adaptativo si tiene un impacto directo en el *fitness* de un individuo en su ambiente natural (Ackerly et al., 2000). En consecuencia, la tolerancia a estrés abiótico durante el crecimiento inicial está dada por adaptaciones morfofisiológicas que desarrollan las especies en respuesta al entorno abiótico de su hábitat (Hsiao & Acevedo, 1974; Marcum & Murdoch, 1994; Taleisnik et al., 1997; Alshammary et al., 2004; Greco & Cavagnaro, 2005). Sin embargo, los patrones fenotípicos adaptativos pueden no ser consistentes en especies estrechamente relacionadas, e incluso dentro de una especie (Edwards, 1970; Edwards & Emara, 1970).

En la presente Tesis se ha abordado el estudio del género *Trichloris* desde cuestiones básicas hasta aplicadas a la selección artificial con fines de fitomejoramiento. Se ha analizado el primer factor que condiciona la vida de una planta: la semilla. Se caracterizó una colección de germoplasma representativa del rango de distribución de las especies del género, estableciendo las asociaciones entre peso de semillas y el ambiente materno. Se identificaron compensaciones entre caracteres reproductivos, tales como peso y número de semillas y número de inflorescencias. Se determinó el efecto en la etapa germinativa del peso de semillas y su respuesta en condiciones de estrés. Por último, se evaluaron caracteres morfofisiológicos adaptativos en genotipos selectos, los que permitieron establecer las bases de la tolerancia a estrés hídrico y salino luego del establecimiento de la plántula.

En un esquema de mejora genética, la selección conjunta por caracteres ecofisiológicos asociados a la tolerancia al estrés y por incremento del peso de semillas permitiría un aumento en la eficiencia de siembra e implantación de estas especies en ambientes con limitantes edáficas. Las semillas más grandes producen plántulas más grandes, permitiendo sembrar las semillas a mayor profundidad y tener mayor disponibilidad hídrica para la germinación. Esto es de suma importancia en gramíneas perennes estivales como las especies de *Trichloris*, donde la relación embrión/reserva es baja (Martin, 1946) y las semillas por lo general son pequeñas (Casler & Van Santen, 2010). Esto sumado a la capacidad de germinar bajo temperaturas subóptimas (Zabala et al., 2011 b), ampliaría la ventana de germinación.

2. CONCLUSIONES GENERALES

- Existe variabilidad en el peso de semillas en el género *Trichloris*, explicada por la variación entre poblaciones de *T. crinita* y *T. pluriflora*. Dicha variación representa un patrón adaptativo en respuesta al ambiente de origen sólo en *T. crinita*.
- El ambiente de cosecha no condiciona el peso de semillas y la respuesta germinativa en *T. crinita*, mientras que sí lo hace en *T. pluriflora*.
- Existe efecto compensatorio entre el peso de semillas y el número de semillas por planta sólo en *T. crinita*.
- La tolerancia al estrés osmótico en etapa germinativa está asociada al peso de semillas sólo en *T. crinita*. Poblaciones de elevado peso de semillas producen plántulas más grandes en condiciones normales y de estrés osmótico.
- Semillas de poblaciones de ambas especies de *Trichloris*, sometidas a condiciones de germinación con altos niveles de salinidad (240 mM NaCl), recuperan la capacidad de germinar al restablecerse las condiciones óptimas de germinación. Esta respuesta no está asociada al peso de semillas.
- La tolerancia al estrés hídrico en *T. crinita* y *T. pluriflora* en crecimiento inicial no está asociado al peso de semillas. La tolerancia a sequía está dada por el desarrollo de caracteres morfológicos adaptativos en genotipos originarios de dichos ambientes, tales como aumento de la biomasa aérea y radical y longitud radical, disminución de senescencia foliar y reasignación de fotoasimilados. y fisiológicos tales como la disminución del estrés oxidativo.
- La tolerancia al estrés salino en *T. crinita* en crecimiento inicial no está asociado al peso de semillas. La tolerancia a salinidad está dada por la presencia de caracteres morfofisiológicos adaptativos en genotipos originarios de ambientes salinos y no salinos, como la capacidad de excreción y compartimentación interna de iones y de minimizar el estrés oxidativo, permitiendo mayor producción de biomasa y partición de fotoasimilados en tales condiciones.
- En *T. pluriflora*, la tolerancia al estrés salino no está asociado al peso de semillas ni al origen de los genotipos. Los genotipos analizados de esta especie no presentaron un mecanismo especializado de excreción de iones.

- Por su buen comportamiento productivo en condiciones de sequía y salinidad, la población 7390 de *T. crinita* representa un material promisorio para su incorporación a programas de fitomejoramiento para restauración de pastizales y/o incorporación a cultivo.
- Por su buen comportamiento productivo en condiciones de sequía, la población 7967 de *T. pluriflora*, representa un material promisorio para su incorporación a programas de fitomejoramiento para restauración de pastizales y/o incorporación a cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- ABELLA, S.R.; NEWTON, A.C.; FERNANDEZ-BERNAL, A.; DE LA ROSA, M. (2009) A systematic review of species performance and treatment effectiveness for revegetation in the Mojave desert, USA. *Arid Environments and Wind Erosion*. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, USA. Pp. 45–74.
- ABROL, I.P.; YADAV, J.S.; MASSOUD, F.I. (1988) Salt-affected soils and their management. *Food and Agriculture Organization Soils Bulletin* N° 39, Rome Pp 11.
- ACKERLY, D.D.; DUDLEY, S.A.; SULTAN, S.E.; SCHMITT, J.; COLEMAN, J.S.; LINDER, C.R.; ... LECHOWICZ, M.J. (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions new research addresses natural selection, genetic constraints, and the adaptive evolution of plant ecophysiological traits. *Bioscience* 50(11):979-995.
- ADEDAPO, A.A.; JIMOH, F.O.; AFOLAYAN, A.J.; MASIKA, P.J. (2009) Antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Celtis africana*. *Rec. Nat. Prod.* 3:23-31.
- ADLER, P.B.; SALGUERO-GÓMEZ, R.; COMPAGNONI, A.; HSU, J.S.; RAY-MUKHERJEE, J.; MBEAU-ACHE, C.; FRANCO, M. (2014) Functional traits explain variation in plant life history strategies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(2):740-745.
- ALBERT, R. (1975) Salt regulation in halophytes. *Oecologia* 21:57–71.
- AL-KARAKI, G.N. (2001) Germination, sodium, and potassium concentrations of barley seeds as influenced by salinity. *J. Plant Nutr.* 24(3):511-522.
- ALLARD, R.W. (1988) Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J Hered.* 79:225–238.
- ALMANSOURI, M.; KINET, J.M.; LUTTS, S. (2001) Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant Soil* 231(2):243-254.
- ALSHAMMARY, S.F.; QIAN, Y.L.; WALLNER, S.J. (2004) Growth response of four turfgrass species to salinity. *Agric. Water Manage.* 66:97–111.
- AMARASINGHE, V.; WATSON, L. (1989) Variation in salt secretory activity of microhairs in grasses. *Aust. J. Plant Physiol.* 16:219–229.
- ANDREWS, M.; DOUGLAS, A.; JONES, A.V.; MILBURN, C.E; PORTER, D.; MCKENZIE, B.A. (1997) Emergence of temperate pasture grasses from different sowing

- depths: importance of seed weight, coleoptile plus mesocotyl length and shoot strength. *Ann. Appl. Biol.* 130:549–560.
- ANSLOW, R.C. (1964) Seed formation in perennial ryegrass. *Grass Forage Sci.* 19(3): 349-357.
- ARONSON J. (1985) Economic Halophytes. A global review. In: WICKENS G.E.; GOODING, J.R.; FIELD, D.V. (Eds.) *Plants for arid lands*. Allen and Unwin, London. Pp. 177-188.
- ARONSON, J.A. (1989) *Haloph, a data base of salt tolerant plants of the world*. Univ. of Arizona, Tucson, Office of Arid Land Studies. Pp. 77.
- BAKER, H.G. (1972) Seed Weight in Relation to Environmental Conditions in California. *Ecology* 53: 997-1010.
- BAL, A.R.; DUTT, S.K. (1986) Mechanism of salt tolerance in wild rice (*Oryza coarctata* Roxb). *Plant Soil* 92(3):399-404.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. (1998) *Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination*. Elsevier. Pp. 666.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. (1973) Plant population differences in dormancy and germination characteristics of seeds: heredity or environment? *Am. Midl. Nat.* 90(2):493-498.
- BEGG, J.E.; TURNER, N.C. (1976) Crop water deficits. *Adv. Agron.* 28:161-217.
- BELAY, G.; TESEMMA, T.; BECKER, H.C.; MERKER, A. (1993) Variation and interrelationships of agronomic traits in Ethiopian tetraploid wheat landraces. *Euphytica* 71: 181–188.
- BELL, D.L.; SULTAN, S.E. (1999) Dynamic phenotypic plasticity for root growth in *Polygonum*: a comparative study. *Am. J. Bot.* 86(6):807-819.
- BENZIE, I.F.; STRAIN, J.J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239(1):70-76.
- BERGENDI, L.; BENES, L.; DURACKOVA, Z.; FERENCIK, M. (1999) Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci.* 65:1865-1874.
- BERTILLER, M.B.; ARES, J.O.; BISIGATO, A.J. (2002) Multiscale indicators of land degradation in the Patagonian Monte, Argentina. *Environ. Manage.* 30:704–715.

- BHULLAR, N.K.; STREET, K.; MACKAY, M.; YAHIAOUI, N.; KELLER, B. (2009) Unlocking wheat genetic resources for the molecular identification of previously undescribed functional alleles at the Pm3 resistance locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106:9519–9524.
- BINGHAM, E.T. (1980) Maximizing heterozygosity in autopolyploids. In: *Polyploidy*, Springer US. Pp. 471-489.
- BLANCO, L.J.; FERRANDO, C.A.; BIURRUN, F.N.; ORIONTE, E.L.; NAMUR, P.; RECALDE, D.J.; BERONE, G.D. (2005) Vegetation responses to roller chopping and buffelgrass seeding in Argentina. *Range. Ecol. Manage.* 58: 219-224.
- BLUM, A. (2010) Drought Resistance and Its Improvement. In: BLUM, A. *Plant Breeding for Water-Limited Environments*. Springer Publishing, New York. Pp. 53-152.
- BOE, A. (2003) Genetic and environmental effects on seed weight and seed yield in switchgrass. *Crop Sci.* 43: 63–67.
- BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. (1996) Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol.* 14: 89–97.
- BORDÓN, A. (1981) Recursos naturales del chaco árido y semiárido: aprovechamiento forrajero de especies leñosas y herbáceas. INTA EEA Sáenz Peña, Departamento de Producción Animal n° 1218.
- BOYD, E.W.; DORN, L.A.; WEINIG, C.L.; SCHMITT, J.C. (2007) Maternal effects and germination timing mediate the expression of winter and spring annual life histories in *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Plant Sci.* 168: 205-214.
- BOYER, J.S. (1982) Plant productivity and environment. *Science* 218(4571):443-448.
- BOYKO, A.; GOLUBOV, A.; BILICHAK, A.; KOVALCHUK, I. (2010) Chlorine ions but not sodium ions alter genome stability of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 51(6):1066-1078.
- BOYKO, A.; KOVALCHUK, I. (2011) Genome instability and epigenetic modification-heritable responses to environmental stress?. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14(3): 260-266.
- BRADLEY St. CLAIR, J.; KILKENNY, F.F.; JOHNSON, R.C.; SHAW, N.L. WEAVER, G. (2013) Genetic variation in adaptive traits and seed transfer zones for *Pseudoroegneria spicata* (bluebunch wheatgrass) in the northwestern United States. *Evolutionary Appl.* 6(6):933-948.

- BRADSHAW, A.D. (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.
- BRAGADÍN, L. (1959) Las pasturas en la región de los Llanos, Argentina. *Revista de Agronomía del NOA*, 3: 289-334.
- BRETAGNOLLE, F.; THOMPSON, J.D. (2001) Phenotypic plasticity in sympatric diploid and autotetraploid *Dactylis glomerata*. *Int. J. Plant Sci.* 162(2):309-316.
- BRETAGNOLLE, F.; THOMPSON, J.D.; LUMARET, R. (1995) The influence of seed size variation on seed germination and seedling vigour in diploid and tetraploid *Dactylis glomerata* L. *Ann. Bot. (London)* 76: 607–615.
- CABEZA, C.E.; BREVEDAN, R.E.; FIORETTI, M.N.; LABORDE, H.E. (1999) The influence of dehulling and seed storage on the germination of the range grasses of the Caldenal (Argentina). *Seed Sci. Technol.* 27: 359-363.
- CABRERA, A.L. (1994) Regiones fitogeográficas argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. ACME, Buenos Aires. Pp. 1-85.
- CASLER, M.D.; VAN SANTEN, E. (2010) Breeding objectives in forages. En: BOLLER, U.; POSSELT, K.; VERONESI, F. (Eds.) *Fodder Crops and Amenity Grasses*. Springer, New York. Pp. 115-136.
- CASTAÑEDA ÁLVAREZ, N.P.; VINCENT, H.A.; KELL, S.P.; EASTWOOD, R.J.; MAXTED, N. (2011) Chapter 14: Ecogeographic surveys. *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines – 2011 update*.
- CAVAGNARO, J.B.; DALMASSO, A.D. (1983) Respuesta a la intensidad y frecuencia de corte en gramíneas nativas de Mendoza. I. *Pappophorum caespitosum* y *Trichloris crinita*. *Deserta* 7: 203-208.
- CAVAGNARO, P.F.; CAVAGNARO, J.B.; LEMES, J.L.; MASUELLI, R.W.; PASSERA, C.B. (2006) Genetic diversity among varieties of the native forage grass *Trichloris crinita* based on AFLP markers, morphological characters, and quantitative agronomic traits. *Genome* 49(8):906-918.
- CEPPEDES, C.L.; EL-HAFIDI, M.; PAVON, N.; ALARCON, J. (2008) Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. *Food Chem.* 107:820-829.

- CHAKRABORTY, M.; MITRA, A. (2008) The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. *Food Chem.* 107:994-999.
- CHANDA, S; DAVE, R. (2009) In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *Afr. J. Microbiol. Res.* 3(13):981-996.
- CHIVERS, I.H.; JONES, T.A.; BROADHURST, L.M.; MOTT, I.W.; LARSON, S.R. (2016) The merits of artificial selection for the development of restoration-ready plant materials of native perennial grasses. *Restor. Ecol.* 24(2):174:183.
- CISSE, N.D.; EJETA, G. (2003) Genetic variation and relationships among seedling vigor traits in sorghum. *Crop Sci.* 43: 824-828.
- CLAYTON, W.D.; RENVOIZE, S.A. (1986) *Genera Graminum, grasses of the world.* Kew bulletin additional series 13.
- COCHRANE, A.; YATES, C.J.; HOYLE, G.L.; NICOTRA, A.B. (2015) Will among-population variation in seed traits improve the chance of species persistence under climate change? *Global Ecol. Biogeogr.* 24(1):12-24.
- COHEN, D. (1966) Optimizing reproduction in a randomly varying environment. *J. Theor. Biol.* 12:119–129.
- COLMER T.D.; FLOWERS, T.J.; MUNNS, R. (2006) Use of wild relatives to improve salt tolerance in weath. *J. Exp. Bot.* 57: 1059-1078.
- COLUMBUS, J.T.; CERROS-TLATILPA, R.; KINNEY, M.S.; SIQUEIROS-DELGADO, M.E.; BELL, H.L.; GRIFFITH, M.P.; REFULIO-RODRIGUEZ, N.F. (2007) Phylogenetics of Chloridoideae (Gramineae): a preliminary study based on nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL–F sequences. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany* 23:565–579.
- CONTI, G.; DÍAZ, S. (2013) Plant functional diversity and carbon storage—an empirical test in semi-arid forest ecosystems. *J. Ecol.* 101(1):18-28.
- CORNAGLIA, P.S.; SCHRAUF, G.E.; NARDI, M.; DEREGIBUS, V.A. (2005) Emergence of dallisgrass as affected by soil water availability. *Range. Ecol. Manage.* 58(1):35-40.
- COUSO, L.L.; FERNÁNDEZ, R.J. (2012) Phenotypic plasticity as an index of drought tolerance in three Patagonian steppe grasses. *Ann. Bot.* 110(4):849-857.

- COUSO, L.L.; GATTI, M.L.; CORNAGLIA, P.S.; SCHRAUF, G.E.; FERNÁNDEZ, R.J. (2010) Are more productive varieties of *Paspalum dilatatum* less tolerant to drought? Grass Forage Sci. 65(3):296-303.
- COVAS, G. (1978) Forrajas indígenas: especies que requieren un plan de conservación de germoplasma. Ciencia e Investigación 34: 209-213.
- CRIST, T.O.; FRIESE, C.F. (1993) The impact of fungi on soil seeds: implications for plants and granivores in a semiarid shrub-steppe. Ecology 74:2231–2239.
- CROSSA, J.; DE LOS CAMPOS, G.; PÉREZ, P.; GIANOLA, D.; BURGUEÑO, J.; ARAUS, J.L.;... ARIEF, V. (2010) Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding using pedigree and molecular markers. Genetics 186(2):713-724.
- DAINESE, M.; SITZIA, T. (2013) Assessing the influence of environmental gradients on seed weight variation in mountain grasslands using a spatial phylogenetic filtering approach. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 15(1):12-19.
- DAVIS, M.B.; SHAW, R.G.; ETTERSON, J.R. (2005) Evolutionary responses to changing climate. Ecology 86:1704–1714.
- DAWS, M.I.; CRABTREE, L.M.; DALLING, J.W.; MULLINS, C.E.; BURSLEM, D.F. (2008) Germination responses to water potential in Neotropical pioneers suggest large-seeded species take more risks. Ann. Bot. 102: 945-951.
- DE LUCA, M.; GARCÍA SEFFINO, L.; GRUNBERG, K.; SALGADO, M.; CÓRDOBA, A.; LUNA, C.; ... TALEISNIK, E. (2001) Physiological causes for decreased productivity under high salinity in Boma, a tetraploid *Chloris gayana* cultivar. Aust. J. Agric. Res. 52: 903-910.
- DEGHAN, G.; SHAFIEE, A.; GHAREMANI, M.H.; ARDESTANI, S.K.; ABDOLLAHI, M. (2007) Antioxidant potential of various extracts from *Ferula szovitsiana* in relation to their phenolic content. Pharm. Biol. 45:691-699.
- DEMIDCHIK, V. (2015) Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. Environ. Exp. Bot. 109:212-228.
- DEMIR, I.; MAVI, K. (2008) Effect of salt and osmotic stresses on the germination of pepper seeds of different maturation stages. Braz. Arch. Biol. Technol. 51 (5):897-902.
- DHAWAN, O.P.; LAVANIA, U.C. (1996) Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: a review. Euphytica 87:81-89.

- DHINDSA, R.S.; MATOWE, W. (1981) Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 32(1):79-91.
- DI GIAMBATISTA, G.; GARBERO, M.; RUIZ, M.; GIULIETTI, A.; PEDRANZANI, H. (2010) Germinación de *Trichloris crinita* y *Digitaria eriantha* en condiciones de estrés abiótico. *Pastos y Forrajes* 33 (4): 1-10.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. (2011) InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.InfoStat.com.ar>.
- DÍAZ, H. (1965a) Las pasturas naturales en la zona del Bachi (Dpto. Burruyacu, Tucumán). *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 43.
- DÍAZ, H. (1965b) Valor forrajero de las pasturas naturales de la zona de Rodeo Grande, Tucumán. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 4.
- DODD, G.L.; DONOVAN, L.A. (1999) Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *Am. J. Bot.* 86(8):1146-1153.
- DOEBLEY, J.; BACIGALUPO, A.; STEC, A. (1994) Inheritance of kernel weight in two maize-teosinte hybrid populations: implications for crop evolution. *J. Hered.* 85: 191–195.
- DOGANLAR, S.; FRARY, A.; TANKSLEY, S.D. (2000) The genetic basis of seed-weight variation: tomato as a model system. *Theor. Appl. Genet.* 100(8):1267-1273.
- DONOHUE, K.; DE CASAS, R.R.; BURGHARDT, L.; KOVACH, K.; WILLIS, C.G. (2010) Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41:293-319.
- DONOHUE, K.; DORN, L.; GRIFFITH, C.; KIM, E.; AGUILERA, A.; POLISETTY, C.R.; SCHMITT, J. (2005) Environmental and genetic influences on the germination of *Arabidopsis thaliana* in the field. *Evolution* 59(4):740-757.
- DONOHUE, K.; SCHMITT, J. (1998) Maternal environmental effects in plants: adaptive plasticity? In: MOUSSEAU, T.A.; FOX, C.W. (Eds.) *Maternal effects as adaptations*. Oxford University Press, New York. Pp. 137-158.
- DOUST, S.J.; ERSKINE, P.D.; LAMB, D. (2008) Restoring rainforest species by direct seeding: tree seedling establishment and growth performance on degraded land in the wet tropics of Australia. *For. Ecol. Manage.* 256:1178–1188.

- DUDLEY, L.M. (1994) Salinity in the soil environment. Handb. of Plant Crop Stress. Pp. 13-30.
- EASTON, L.C.; KLEINDORFER, S. (2009) Effects of salinity levels and seed weight on germination in Australian species of *Frankenia* L. (Frankeniaceae). Environ. Exp. Bot. 65:345–352.
- EDWARDS, K.J.R. (1970) Developmental genetics of leaf formation in *Lolium*. 3. Inheritance of a developmental complex. Genet. Res. 16:17-28.
- EDWARDS, K.J.R.; EMARA, Y.A. (1970) Variation in plant development within a population of *Lolium multiflorum*. Heredity 25:179-94.
- ENDLER, J.A. (1986) Natural selection in the wild (No. 21). Princeton University Press, UK. Pp. 339.
- FAO (2010) The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. <http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/seeds-pgr/sowsow2/en/>. Accessed 20 Feb 2013.
- [FAOSTAT \(2012\)](http://www.fao.org/nr/water/aquastat/main/index.stm) Aquastat. <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/main/index.stm>. Accedido el: 01/06/12.
- FEDOROV, A.A. (1969) Chromosome numbers of flowering plants. Publicado por Komarov Botanical Inst., U.S.S.R. Nat. Acad. Sci., Leningrado. 926 p.
- FERNÁNDEZ, O.A.; BUSSO, C.A. (1997) Arid and semi-arid rangelands: two thirds of Argentina. RALA Report no., 200: 41-60.
- FERNÁNDEZ, R.J.; REYNOLDS, J.F. (2000) Potential growth and drought tolerance of eight desert grasses: lack of a trade-off? Oecologia 123:90–98.
- FLOWERS, T.J.; COLMER, T.D. (2008) Salinity tolerance in halophytes. New Phytol. 179(4):945-963.
- FLOWERS, T.J.; FLOWERS, S.A. (2005) Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? Agric. Water Manage. 78: 15-24.
- FLOWERS, T.J.; GALAL, H.K.; BROMHAM, L. (2010) Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. Funct. Plant Biol. 37(7):604-612.
- FLOWERS, T.J.; HAJIBAGHERI, M.A.; CLIPSON, N.J.W. (1986) Halophytes. Q. Rev. Biol. 61 (3):313-337.

- FLOWERS, T.J.; MUNNS, R.; COLMER, T.D. (2015) Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Ann. Bot.* 115(3):419-431.
- FRANCOIS, L.E. (1988) Salinity effects on three turf bermudagrasses. *Hort. Sci.* 23:706–708.
- GALLOWAY, L.F. (2005) Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *New Phytol.* 166(1):93-100.
- GAMBIN B.L.; BORRAS, L. OTEGUI, M.E. (2008) Kernel weight dependence upon plant growth at different grain-filling stages in maize and sorghum. *Australian J. Agric. Res.* 59:280–290.
- GAMBIN B.L.; BORRAS, L.; OTEGUI, M.E. (2006) Source–Sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.* 95:316–326.
- GAMBÍN, B.L.; BORRÁS, L. (2010) Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. *Ann. App. Biol.* 156(1):91-102.
- GANADE, G.; WESTOBY, M. (1999) Seed mass and the evolution of early-seedling etiolation. *Am. Nat.* 154:469–480.
- GARDARIN, A.; DÜRR, C.; COLBACH, N. (2010) Effects of seed depth and soil aggregates on the emergence of weeds with contrasting seed traits. *Weed Res.* 50: 91–101.
- GASTAL, F.; DURAND, J.L. (2000) Effects of nitrogen and water supply on N and C fluxes and partitioning in defoliated swards. En: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; DE MORAES, A.; CARVALLO, P.C. de F.; NABINGER, F. (Eds.) *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. Pp. 15-36.
- GAUDET, C.L.; KEDDY, P.A. (1988) Predicting competitive ability from plant traits: a comparative approach. *Nature* 334:242-243.
- GEIST, H.J.; LAMBIN, E.F. (2004) Dynamic causal patterns of desertification. *Bioscience* 54(9):817-829.
- GERMAIN, R.M.; CARUSO, C.M.; MAHERALI, H. (2013) Mechanisms and consequences of water stress-induced parental effects in an invasive annual grass. *Int. J. Plant Sci.* 174, 886–895.

- GERMAIN, R.M.; GILBERT, B. (2014) Hidden responses to environmental variation: maternal effects reveal species niche dimensions. *Ecology Lett.* 17(6):662-669.
- GNAN, S.; PRIEST, A.; KOVER, P.X. (2014) The genetic basis of natural variation in seed size and seed number and their trade-off using *Arabidopsis thaliana* MAGIC lines. *Genetics* 198(4):1751-1758.
- GONZÁLEZ, C.L.; DODD, J.D. (1979) Production responses of native and introduced grasses to mechanical brush manipulation, seeding, and fertilization. *J. Range Manage.* 32: 305-309.
- GORHAM, J.; WYN JONES, R.G. (1983) Solute distribution in *Suaeda maritima*. *Planta* 157:344–349.
- GOSSETT, D.R.; MILLHOLLON, E.P.; LUCAS, M. (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.* 34(3):706-714.
- GRECO, S.A.; CAVAGNARO, J.B. (2002) Effect of drought in biomass production and allocation in three varieties of *Trichloris crinita* (*Poaceae*) a forage grass from the arid Monte region of Argentina. *Plant Ecol.* 164: 125-135.
- GRECO, S.A.; CAVAGNARO, J.B. (2005) Growth characteristics associated with biomass production in three varieties of *Trichloris crinita* (*Poaceae*), a forage grass native to the arid regions of Argentina. *Rangeland J.* 27(2): 135–142.
- GRECO, S.A.; SARTOR, C.E.; VILLAGRA, P.E. (2013) Minimum water input event for seedling emergence of three native perennial grasses of the Central Monte desert (Argentina) influenced by the effect of shade and the season of the year. *Rev. FCA UNCUYO* 45(2):197-209.
- GREENE S.L.; HART, T.C. (1999) Implementing a geographic analysis in germplasm conservation. En: GREENE S.L.; GUARINO, L. (Eds) *Linking genetic resources and geography: emerging strategies for conserving crop biodiversity*. Am. Soc. Agron. Crop Science Society of America. Madison, Wisconsin. Pp. 25–38.
- GREENE, D.F.; JOHNSON, E.A. (1994) Estimating the mean annual seed production of trees. *Ecology* 75(3):642-647.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31(1):149-190.

- GREENWAY, M.; MUNNS, R. (1983) Interactions between growth, uptake of Cl⁻ and Na⁺, and water relations of plants in saline environments. II. Highly vacuolated cells. *Plant, Cell & Environ.* 6(7):575-589.
- GREIPSSON, S.; DAVY, A.J. (1995) Seed weight and germination behaviour in populations of the dune-building grass *Leymus arenarius*. *Ann. Bot.* 76(5):493-501.
- GROSS, K.L.; SMITH, A.D. (1991) Seed mass and emergence time effects on performance of *Panicum dichotomitlorum* Michx. across environments. *Oecologia* 87: 270-278.
- GRUBB, P.J. (1977) The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biol. Rev.* 52:107-145.
- GUEVARA, J.C.; CAVAGNARO, J.B.; ESTEVEZ, O.R.; LE HOUÉROU, H.N.; STASI, C.R. (1997) Productivity, management and development problems in the arid rangelands of the central Mendoza plains (Argentina). *J. Arid Environ.* 35:575-600.
- GUEVARA, J.C.; GRÜN WALDT, E.G.; ESTEVEZ, O.R.; BISIGATO, A.J.; BLANCO, L.J.; BIURRUN, F.N.; ... ALLEGRETTI, L.I. (2009) Range and livestock production in the Monte Desert, Argentina. *J. Arid Environ.* 73(2):228-237.
- GULZAR, S.; KHAN, M.A. (2001) Seed germination of a halophytic grass *Aeluropus lagopoides*. *Ann. Bot.* 87(3):319-324.
- GULZAR, S.; KHAN, M.A. (2002) Alleviation of salinity-induced dormancy in perennial grasses. *Biol. Plant.* 45(4):617-619.
- GUO, Q.; BROWN, J.H.; VALONE, T.J.; KACHMAN, S.D. (2000) Constraints of seed size on plant distribution and abundance. *Ecology* 81: 2149-2155.
- GUTIÉRREZ, H.F.; RICHARD, G.A.; CERINO, M.C.; PENSIERO, J.F. (2016) Sistema reproductivo de *Trichloris* (Poaceae: Chloridoideae, Chlorideae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 51(1):111-122.
- HAIR Jr., J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C. (1999) Análisis multivariante. Cap. 4: Análisis de regresión múltiple. 5 ed. Prentice Hall Iberia, Madrid. Pp. 143-204.
- HALLOY, S.R.P.; MARK, A.F. (1996) Comparative leaf morphology spectra of plant communities in New Zealand, the Andes and the European Alps. *J. R. Soc. New Zealand* 26(1): 41-78.

- HANCOCK, J.F. (2004) Plant evolution and the origin of crop species. 2nd ed. Cambridge, MA, USA: CABI Publishing.
- HANGELBROEK, H.H.; SANTAMARIA, L.; DE BOER, T. (2003) Local adaptation of the pondweed *Potamogeton pectinatus* to contrasting substrate types mediated by changes in propagule provisioning. *J. Ecol.* 91:1081–1092.
- HARLAN J.R. (1976) Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop Sci.* 16: 329-332.
- HARPER, J.L.; LOVELL, P.H.; MOORE, K.G. (1970) The shapes and sizes of seeds. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* Pp. 327-356.
- HAVENS, K.; VITT, P.; STILL, S.; KRAMER, A.T.; FANT, J.B. SCHATZ, K. (2015) Seed sourcing for restoration in an era of climate change. *Natural Areas J.* 35(1):122-133.
- HECTOR, A.; SCHMID, B.; BEIERKUHNLEIN, C.; CALDEIRA, M.C.; DIEMER, M.; IMITRAKOPOULOS, P.G.; ... HARRIS, R. (1999) Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science* 286(5442):1123-1127.
- HEDIYE SEKMEN, A.; TÜRKAN, I.; TAKIO, S. (2007) Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiol. Plant.* 131(3):399-411.
- HESCHEL, M.S.; DONOHUE, K.; HAUSMANN, N.; SCHMITT, J. (2002) Population differentiation and natural selection for water-use efficiency in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *Int. J. Plant Sci.* 163(6):907-912.
- HEWITT, N. (1998) Seed size and shade-tolerance: a comparative analysis of North American temperate trees. *Oecologia* 114(3):432-440.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. (1950) The water-culture method of growing plants without soil. Berkely College Agriculture Circular. California Agricultural Experiment Station, Univ. of California. Pp. 347.
- HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. (1999) Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207(4):604-611.
- HOLLAND, J.B.; MUNKVOLD, G.P. (2001) Genetic relationships of crown rust resistance, grain yield, test weight, and seed weight in oat. *Crop Sci.*, 41: 1041–1050.

- HSIAO, T.C.; ACEVEDO, E. (1974) Plant responses to water deficits, water use efficiency and drought resistance. *Agric. Meteorol.* 14(1-2):59-84.
- JAKOBSSON, A.; ERIKSSON, O. (2000) A comparative study of seed number, seed size, seedling size and recruitment in grassland plants. *Oikos* 88(3):494-502.
- JESCHKE, W.D.; ASLAM, Z.; GREENWAY, H. (1986) Effects of NaCl on ion relations and carbohydrate status of roots and on osmotic regulation of roots and shoots of *Atriplex amnicola*. *Plant Cell Environ.* 9:559–569.
- JESCHKE, W.D.; PATE, J.S. (1991) Cation and chloride partitioning through xylem and phloem within the whole plant of *Ricinus communis* L. under conditions of salt stress. *J. Exp. Bot.* 42(9):1105-1116.
- KAHMEN, S.; POSCHLOD, P. (2008) Effects of grassland management on plant functional trait composition. *Agric. Ecosyst. Environ.* 128(3):137-145.
- KATTGE, J.; DIAZ, S.; LAVOREL, S.; PRENTICE, I.; LEADLEY, P.; BÖNISCH, G.; ... CORNELISSEN, J.H.C. (2011) TRY—a global database of plant traits. *Global Change Biol.* 17:2905–2935.
- KEDDY, P.A. (1992) Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *J. Vegetation Sci.* 3(2):157-164.
- KHAN, M.A. (1999) Comparative influence of salinity and temperature on the germination of subtropical perennial halophytes. En: HAMDY A.; LIETH, H.; TODORVIŠ, M.; MOSCHENKO, M. (Eds) *Halophyte Uses in Different Climates 1. Ecological and Physiological Studies*. Backhuys Publishers, Leiden. Pp 77–88.
- KHAN, M.A. (2003) An ecological overview of halophytes from Pakistan. En: LIETH H.; MOSCHENKO, M. (Eds) *Cash Crop Halophytes: Recent Studies: 10 Years after the Al-Ain Meeting (Tasks for Vegetation Science, 38)*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, Netherlands. Pp. 167–188.
- KHAN, M.A.; GUL, B. (2006) Halophyte seed germination. En: KHAN, M.A.; WEBER, D.J. (Eds.) *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Springer, Netherlands. Pp. 11-30.
- KHAN, M.A.; UNGAR, I.A. (1999) Seed germination and recovery of *Triglochin maritima* from salt stress under different thermoperiods. *Great Basin Nat.* 59(2):144-150.

- KHAN, M.A.; UNGAR, I.A. (2001) Alleviation of salinity stress and the response to temperature in two seed morphs of *Halopyrum mucronatum* (Poaceae). *Aust. J. Bot.* 49(6):777-783.
- KHURANA, E.; SINGH, J.S. (2000) Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. *Ann. Bot.* 86: 1185–1192.
- KIDSON, R.; WESTOBY, M. (2000) Seed mass and seedling dimensions in relation to seedling establishment. *Oecologia* 125: 11–17.
- KLEINBAUM, D.G.; KUPPER, L.L.; MULLER, K.E. (1988) Applied regression analysis and other multivariable methods. PWS-KENT Publishing Company, Boston. Pp. 595–640.
- KOBAYASHI, H. (2008) Ion secretion via salt glands in Poaceae. *Jpn. J. Plant Sci.* 2: 1–8.
- KOBAYASHI, H.; MASAOKA, Y.; TAKAHASHI, Y.; IDE, Y.; SATO, S. (2007) Ability of salt glands in Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth) to secrete Na⁺ and K⁺. *Soil Sci. Plant Nutr.* 53(6):764-771.
- KORONA, R. (1996) Adaptation to structurally different environments. *Proc. R. Soc. London Ser. B: Biological Sciences* 263(1377):1665-1669.
- KUKIC, J.; POPOVIC, V.; PETROVIC, S.; MUCAJI, P.; CIRIC, A.; STOJKOVIC, D.; SOKOVIC, M. (2008) Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. *Food Chem.* 107:861-868.
- KUNST, C.; DALLA TEA, F.; PÉREZ, H.; RENOLFI, R. (1987) Vegetación natural y oferta de biomasa herbácea del sitio “Valle fluvial actual del Río Dulce”, región chaqueña occidental, Sgo. del Estero. *Revista Argentina de Producción Animal* 1: 163-179
- KUNST, C.; RENOLFI, R.; PÉREZ, H.; DALLA TEA, F. (1986) Clasificación de gramíneas de bosques y arbustales de la región chaqueña occidental por sus caracteres ecológicos y productivos. *Revista Argentina de Producción Animal* 6, Sup. 1:6.
- KUNST, C.; RENOLFI, R.; PÉREZ, H.; DALLA TEA, F. (1995) Preferencia de bovinos por gramíneas nativas de bosques y arbustales de la región chaqueña occidental. *Revista Argentina de Producción Animal* 15: 110-113.
- LACEY, E.P.; HERR, D. (2000) Parental effects in *Plantago lanceolata* L. III. Measuring parental temperature effects in the field. *Evolution* 54(4):1207-1217.

- LAMADJI, S.; FAUTRIER, A.G.; MCNEIL, D.L.; SEDCOLE, J.R. (1995) Proposed breeding strategy for yield improvement of hexaploid triticale (x triticosecale Wittmack). 1. Genetic variability and phenotypic stability. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 23: 1-11.
- LARSON, J.E.; SHELEY, R.L.; HARDEGREE, S.P.; DOESCHER, P.S.; JAMES, J.J. (2015) Seed and seedling traits affecting critical life stage transitions and recruitment outcomes in dryland grasses. *J. App. Ecol.* 52(1):199-209.
- LAVOREL, S.; GARNIER, E. (2002) Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Funct. Ecol.* 16(5), 545-556.
- LEE, H.S.; CHEN, Z.J. (2001) Protein-coding genes are epigenetically regulated in *Arabidopsis* polyploids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:6753-6758.
- LEISHMAN, M.R. (2001) Does the seed size/number trade-off model determine plant community structure? an assessment of the model mechanisms and their generality. *Oikos* 93(2):294-302.
- LEISHMAN, M.R.; WESTOBY, M. (1994) The role of seed size in seedling establishment in dry soil conditions - Experimental evidence from semi-arid species. *J. Ecol.* 82 (2): 249-258
- LEISHMAN, M.R.; WRIGHT, I.J.; MOLES, A.T.; WESTOBY, M. (2000) Chapter 2: The evolutionary ecology of seed size. En: *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. CAB International (ed. M. Fenner). 2nd edition. Pp. 37-57.
- LEVIN, D.A. (1983) Polyploidy and novelty in flowering plants. *Am. Nat.* 1-25.
- LEVINE, J.M.; VILÀ, M.; ANTONIO, C.M.D.; DUKES, J.S.; GRIGULIS, K.; LAVOREL, S. (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc. R. Soc. London, Ser. B: Biological Sciences* 270:775–781.
- LI, J.; NIE, X; TAN, J.L.H.; BERGER, F. (2013) Integration of epigenetic and genetic controls of seed size by cytokinin in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110(38):15479-15484.
- LI, R.; SHI, F.; FUKUDA, K. (2010) Interactive effects of salt and alkali stresses on seed germination, germination recovery, and seedling growth of a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *S. Afr. J. Bot.* 76(2):380-387.

- LIU, L.; SUN, Y.; LAURA, T.; LIANG, X.; YE, H.; ZENG, X. (2009) Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. Tseng. Food Chem. 112:35-41.
- LLOYD-REILLEY J.; KADIN, E. (2011) Plant fact sheet for false Rhodes grass (*Trichloris crinita* Lag.). USDA-Natural Resources Conservation Service, E. “Kika” de la Garza Plant Materials Center. Kingsville, Texas. https://plants.usda.gov/factsheet/pdf/fs_chcr.pdf
- LLOYD-REILLEY, J. (2011) Plant guide for multiflower false Rhodes grass (*Trichloris pluriflora* E. Fourn.). USDA-Natural Resources Conservation Service, E. “Kika” de la Garza Plant Materials Center. Kingsville, Texas. https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_trpl3.pdf
- LORENZ, A.J. (2013) Resource allocation for maximizing prediction accuracy and genetic gain of genomic selection in plant breeding: a simulation experiment. G3: Genes| Genomes| Genetics 3(3):481-491.
- LUNA, C.; GARCIA-SEFFINO, L.; ARIAS, C.; TALEISNIK, E. (2000) Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance. Plant Breed. 119(4):341-345.
- LUNA, D.F.; AGUIRRE, A.; PITTARO, G.; BUSTOS, D.; CIACCI, B.; TALEISNIK, E. (2016). Nutrient deficiency and hypoxia as constraints to *Panicum coloratum* growth in alkaline soils. Grass Forage Sci. En prensa. doi: 10.1111/gfs.12263.
- LUO, M.; DENNIS, E.S.; BERGER, F.; PEACOCK, W.J.; CHAUDHURY, A. (2005) MINISEED3 (MINI3), a WRKY family gene, and HAIKU2 (IKU2), a leucinerich repeat (LRR) KINASE gene, are regulators of seed size in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 102: 17531–17536.
- LUTTS, S.; KINET, J.M.; BOUHARMONT, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Ann. Bot. 78(3):389-398.
- MAAS, E.V.; HOFFMAN, G.J. (1977) Crop salt tolerance\current assessment. J. Irrig. Drain. Div.103(2):115-134.
- MAESTRE, F.T.; BAUTISTA, S.; CORTINA, J.; BELLOT, J. (2001) Potential for using facilitation by grasses to establish shrubs on a semiarid degraded steppe. Ecol. Appl. 11: 1641–1655.

- MARCAR, N.E. (1987) Salt tolerance in the genus *Lolium* (ryegrass) during germination and growth. *Aust. J. Agric. Res.* 38: 297-307.
- MARCUM K.B. (1999) Salinity tolerance mechanisms of grasses in the subfamily Chloridoideae. *Crop Sci.* 39: 1153-1160.
- MARCUM, K.B. (2008) Saline tolerance physiology in grasses. En: KHAN, M.A.; WEBER, D.J. (Eds.) *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Springer Netherlands. Pp. 157–172.
- MARCUM, K.B.; ANDERSON, S.J.; ENGELKE, M.C. (1998) Salt gland ion secretion: A salinity tolerance mechanism among five zoysiagrass species. *Crop Sci.* 38:806-810.
- MARCUM, K.B.; KOPEC, D.M. (1997) Salinity tolerance of turfgrasses and alternative species in the subfamily Chloridodeae (Poaceae). *Int. Turfgrass Soc. Res. J.* 8:735–742.
- MARCUM, K.B.; MURDOCH, C.L. (1990) Growth responses, ion relations, and osmotic adaptations of eleven C4 turfgrasses to salinity. *Agron. J.* 82(5):892-896.
- MARCUM, K.B.; MURDOCH, C.L. (1994) Salinity tolerance mechanisms of six C4 turfgrasses. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 779–784.
- MARCUM, K.B.; WESS, G.; RAY, D.T.; ENGELKE, M.C. (2003) Zoysiagrass, salt glands, and salt tolerance. *USGA Turfgrass and Environmental Res. Online* 2:1–6.
- MARONE, L.; HORNO, M.E.; GONZÁLEZ DEL SOLAR, R. (2000) Post dispersal fate of seeds in the Monte desert of Argentina: patterns of germination in successive wet and dry years. *J. Ecol.* 88: 940-949.
- MARSCHNER, H. (1995) *Mineral nutrition of higher plants*, 2nd ed. Orlando, Florida, Academic Press.
- MARSHALL, D.L. (1986) Effect of seed size on seedling success in three species of *Sesbania* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 73:457-64
- MARTIN, A.C. (1946). The comparative internal morphology of seeds. *Am. Midl. Nat.* 36: 513-660.
- MCNAUGHTON, S.J.; WALLACE, L.L.; COUGHENOUR, M.B. (1983) Plant adaptation in an ecosystem context: effects of defoliation, nitrogen and water on growth of an african C4 sedge. *Ecology* 64:307–318.

- MESSINA, F.J.; FOX, C.W. (2001) Offspring size and number. En: FOX, C.W.; ROFF, D.A.; FAIRBAIRN, D.J. (Eds.) Evolutionary Ecology. Concepts and Case Studies. Oxford University Press, New York. Pp. 113–127.
- METZ, J.; LIANCOURT, P.; KIGEL, J.; HAREL, D.; STERNBERG, M. TIELBORGER, K. (2010) Plant survival in relation to seed size along environmental gradients: a long-term study from semiarid and Mediterranean annual plant communities. *J. Ecol.* 98:697–704.
- MEXAL, J.; FISHER, J.T.; OSTERYOUNG, J.; REID, C.P.P. (1975) Oxygen availability in polyethylene glycol solution and its implications in plant– water relations. *Plant Physiol.* 55: 20–24.
- MICHAELS, H.J.; BENNER, B.; HARTGERINK, A.P.; LEE, T.D.; RICE, S.; WILLSON, M.F.; BERTIN, R.I. (1988) Seed size variation: magnitude, distribution, and ecological correlates. *Evol. Ecol.* 2:157–166.
- MIHALJEVIC, R.; UTZ, H.F.; MELCHINGER, A.E. (2004) Congruency of quantitative trait loci detected for agronomic traits in testcrosses of five populations of European maize. *Crop Sci.* 44: 114–124.
- MILBERG, P.; LAMONT, B.B. (1997) Seed/cotyledon size and nutrient content play a major role in early performance of species on nutrient-poor soils. *New Phytol.* 137: 665–672.
- MISHRA, P.; BHOOMIKA, K.; DUBEY, R.S. (2013) Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Protoplasma* 250(1):3-19.
- MOGHADDAM, M.; EHDAIE, B.; WAINES, J.G. (1997) Genetic variation and interrelationships of agronomic characters in landraces of bread wheat from southeastern Iran. *Euphytica* 95: 361–369.
- MOLES, A.T.; ACKERLY, D.D.; TWEDDLE, J.C.; DICKIE, J.B.; SMITH, R.; ... WESTOBY, M. (2007) Global patterns in seed size. *Global Ecol. Biogeogr.* 16:109–116.
- MOLES, A.T.; ACKERLY, D.D.; WEBB, C.O.; TWEDDLE, J.C.; DICKIE, J.B.; WESTOBY, M. (2005) A brief history of seed size. *Science* 307:576–580.

- MOLES, A.T.; WESTOBY, M. (2002) Seed addition experiments are more likely to increase recruitment in larger-seeded species. *Oikos* 99(2):241-248.
- MOLES, A.T.; WESTOBY, M. (2004) Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *J. Ecol.* 92:372–383.
- MOLINA, A. (2006) 8. *Trichloris*. En: MOLINA, A.M. & Z.E. RÚGOLO DE AGRASAR (Eds.). *Flora Chaqueña, Familia Gramíneas*. Ediciones INTA, Buenos Aires. Pp. 411-417.
- MORELLO, J.; SARAIVIA TOLEDO, C. (1959) El bosque chaqueño I y II. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 3: 5-81.
- MOUSSA, H.R.; ABDEL-AZIZ, S.M. (2008) Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Aust. J. Crop Sci.* 1(1):31-36.
- MOUSSEAU, T.A.; FOX, C.W. (1998) The adaptive significance of maternal effects. *Trends Ecol. Evol.* 13(10):403-407.
- MUNNS, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25:239–250.
- MUNNS, R.; JAMES, R.A.; SIRAUULT, X.R.; FURBANK, R.T.; JONES, H.G. (2010) New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *J. Exp. Bot.* 61 (13):3499-3507.
- MUNNS, R.; TESTER, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:651–681.
- MÜNZZBERGOVÁ, Z.; PLAČKOVÁ, I. (2010) Seed weight and population characteristics interact to determine performance of *Scorzonera hispanica* under common garden conditions. *Flora* 205(8):552-559.
- NAZ, N.; HAMEED, M.; WAHID, A.; ARSHAD, M.; AHMAD, A.; SAJID, M. (2009) Patterns of ion excretion and survival in two stoloniferous arid zone grasses. *Physiol. Plant.* 135:185–195.
- NI, Z.; KIM, E.D.; HA, M.; LACKEY, E.; LIU, J.; ZHANG, Y.; SUN, Q.; CHEN, Z.J. (2009) Altered circadian rhythms regulate growth vigour in hybrids and allopolyploids. *Nature* 457:327-331.
- NICHOLS, P.G.H.; CRAIG, A.D.; ROGERS, M.E.; ALBERTSEN, T.O.; MILLER, S.M.; MCCLEMENTS, D.R.; ... DEAR, B.S. (2008) Production and persistence of annual

- pasture legumes at five saline sites in southern Australia. *Anim. Prod. Sci.* 48(4): 518-535.
- NICOTRA, A.B.; ATKIN, O.K.; BONSER, S.P.; DAVIDSON, A.M.; FINNEGAN, E.J.; ... VAN KLEUNEN, M. (2010) Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* 15:684–692.
- ORAM, R.N. (1982) Genetics of total seed yield and its components in *Phalaris aquatica* L. *Aust. J. Agric. Res.* 33: 465–471.
- OSMOND, C.B.; AUSTIN, M.P.; BERRY, J.A.; BILLINGS, W.D.; BOYER, J.S.; DACEY, J.W.H.; NOBEL, P.S.; WINNER, W.E. (1987) Stress physiology and the distribution of plants. *Bioscience* 37: 38-48.
- OZGUR, R.; UZILDAY, B.; SEKMEN, A.H.; TURKAN, I. (2013) Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. *Funct. Plant Biol.* 40:832–847.
- PAKEMAN, R.J.; GARNIER, E.; LAVOREL, S.; ANSQUER, P.; CASTRO, H.; ... VILE, D. (2008) Impact of abundance weighting on the response of seed traits to climate and land use. *J. Ecol.* 96:355–366.
- PARODI, L.R. (1919) Las *Chlorideas* de la República Argentina. *Revista Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires*, 2: 231-335.
- PARRA-QUIJANO, M.; IRIONDO, J.M.; TORRES, E. (2012 a) Review. Applications of ecogeography and geographic information systems in conservation and utilization of plant genetic resources. *Span. J. Agric. Res.* 10(2):419–429.
- PARRA-QUIJANO, M.; IRIONDO, J.M.; TORRES, E. (2012 b) Ecogeographical land characterization maps as a tool for assessing plant adaptation and their implications in agrobiodiversity studies. *Genet. Resour. Crop Evol.* 59(2):205-217.
- PARRA-QUIJANO, M.; TORRES, E.; IRIONDO, J.M. (2014) CAPFITOGEN Tools. Programme to Strengthen National Plant Genetic Resource Capacities in Latin America. Version 1.2. FAO, Rome. ISBN 978-92-5-108493-9.
- PASSERA, C.B.; BORSETTO, O.; CANDIA, R.J.; STASI, C.R. (1992) Shrub control and seeding influences on grazing capacity in Argentina. *J. Range Manag.* 45: 480-482.
- PEARSON, T.R.H.; BURSLEM, D.F.; MULLINS, C.E.; DALLING, J.W. (2002) Germination ecology of neotropical pioneers: interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology* 83(10):2798-2807.

- PEETERS, J.P.; WILKES, H.G.; GALWEY, N.W. (1990) The use of ecogeographical data in the exploitation of variation from gene banks. *Theor. Appl. Genet.* 80(1): 110-112.
- PEIGHAMBARI, S.A.; SAMADI, B.Y.; NABIPOUR, A.; CHARMET, G.; SARRAFI, A. (2005) QTL analysis for agronomic traits in a barley doubled haploids population grown in Iran. *Plant Sci.* 169: 1008-1013.
- PELLISSIER, L.; FOURNIER, B.; GUISAN, A.; VITTOZ, P. (2010) Plant traits co-vary with altitude in grasslands and forests in the European Alps. *Plant Ecol.* 211(2):351-365.
- PERETTI, A. (1994) Manual para el análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. Pp. 281.
- PÉREZ DE LA VEGA, M. (1996) Plant genetic adaptedness to climatic and edaphic environment. *Euphytica* 92:27-38.
- PETERSON, P.M. (2001) *Trichloris*. Catalogue of New World Grasses (*Poaceae*): II. Subfamily *Chloridoideae*. *Contrib. US Natl. Herbarium* 41: 222-223.
- PETERSON, P.M.; ROMASCHENKO, K.; JOHNSON, G. (2010) A classification of the Chloridoideae (*Poaceae*) based on multi-gene phylogenetic trees. *Mol. Phyl. Evol.* 55:580-598.
- PLUESS, A.R.; SCHÜTZ, W.; STÖCKLIN, J. (2005) Seed weight increases with altitude in the Swiss Alps between related species but not among populations of individual species. *Oecologia* 144(1):55-61.
- PRIMACK, R.B. (1979) Reproductive effort in annual and perennial species of *Plantago* (*Plantaginaceae*). *Am. Nat.* 51-62.
- PYKE, D.A.; WIRTH, T.A.; BEYERS, J.L. (2013) Does seeding after wildfires in rangelands reduce erosion or invasive species? *Restor. Ecol.* 21:415-421.
- QIAN, Y.; FRY, J.D. (1997) Water relations and drought tolerance of four turfgrasses. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122(1):129-133.
- QIAN, Y.L.; WILHELM, S.J.; MARCUM, K.B. (2001) Comparative Responses of Two Kentucky Bluegrass Cultivars to Salinity Stress. *Crop Sci.*, 41:1895-1900.
- QIU, J.; BAI, Y.; FU, F.Y.; WILMSHURST, J.F. (2010) Spatial variation in temperature thresholds during seed germination of remnant *Festuca hallii* populations across the canadian prairie. *Environ. Exp. Bot.* 67: 479-486.
- QUIROGA, E.; BLANCO, L.; ORIONTE, E. (2009) Evaluación de estrategias de rehabilitación de pastizales áridos. *Ecol. Austral* 19: 107-117.

- QUIROGA, R.E.; FERNÁNDEZ, R.J.; GOLLUSCIO, R.A.; BLANCO, L.J. (2013) Differential water-use strategies and drought resistance in *Trichloris crinita* plants from contrasting aridity origins. *Plant Ecol.* 214(8):1027-1035.
- RAGONESE, A.E. (1956) Recuperación de zonas semiáridas degradadas y resiembra de pasturas naturales en Argentina. *IDIA* 97: 14-17.
- RAMADAN, T. (2001) Dynamics of salt secretion by *Sporobolus spicatus* (Vahl) Kunth from sites of differing salinity. *Ann. Bot.* 87:259–266.
- RAO, V.R.; HODGKIN, T. (2002) Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 68:1–19.
- REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161:1189–1202.
- REYNOLDS, J.F.; MITH, D.M.S.; LAMBIN, E.F.; TURNER, B.L.; MORTIMORE, M.; BATTERBURY, S.P.; ... HUBER-SANNWALD, E. (2007) Global desertification: building a science for dryland development. *Science* 316(5826):847-851.
- ROACH, D.A.; WULFF, R.D. (1987) Maternal effects in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:209-235.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ, J.; TRAVESET, A. (2007) A multi-scale approach in the study of plant regeneration: finding bottlenecks is not enough. *Perspectives Plant Ecol. Evol.* 9:1–13.
- ROIG, F.A. (1971) La Reserva Forestal de Ñacuñán. *Deserta* 1: 21–239
- ROODT, R.; SPIES, J.J. (2003) Chromosome studies in the grass subfamily Chloridoideae. I. Basic chromosome numbers. *Taxon* 52(3):557-583.
- ROZEMA, J. (1991) Growth, water and ion relationships of halophytic monocotyledonae and dicotyledonae; a unified concept. *Aquatic Bot.* 39:17–33.
- RÚGOLO, Z.E.; MOLINA, A. (2012) *Trichloris*. En: ZULOAGA, F.O.; RÚGOLO, Z.E.; ANTON, A.M.R. (Eds.) *Flora vascular de la República Argentina. Volumen 3, Tomo 1. Monocotyledoneae. Poaceae: Aristidoidea a Pharoidea*. 1° ed. Gráficamente Ediciones, Córdoba. Pp. 167-169.
- SADRAS, V.O. (2007) Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. *Field Crops Res.* 100: 125-138.

- SAIRAM, R.K.; DESHMUKH, P.S.; SAXENA, D.C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biol. Plant.* 41(3):387-394.
- SALISBURY, E. (1974) Seed size and mass in relation to environment. *Proc. R. Soc. London B: Biological Sciences* 186(1083):83-88.
- SAMUEL, R.; PINSKER, W.; EHRENDORFER, F. (1990) Allozyme polymorphism in diploid and polyploid populations of *Galium*. *Heredity* 65(3):369-378.
- SANTO, A.; MATTANA, E.; FRIGAU, L.; BACCHETTA, G. 2014. Light, temperature, dry after-ripening and salt stress effects on seed germination of *Phleum sardoum* (Hackel) Hackel. *Plant Species Biol.* 29(3):300-305.
- SCHMITT, J.; NILES, J.; WULFF, R.D. (1992) Norms of reaction of seed traits to maternal environments in *Plantago lanceolata*. *Am. Nat.* 139(3):451-466.
- SEABLOOM, E.W.; HARPOLE, W.S.; REICHMAN, O.J.; TILMAN, D. (2003) Invasion, competitive dominance, and resource use by exotic and native California grassland species. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 100:13384–13389.
- SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25:333–341.
- SHALATA, A.; TAL, M. (1998) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant.* 104(2):169-174.
- SHARMA, P.; JHA, A.B.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012. doi:10.1155/2012/217037.
- SHIPLEY, B.; DION, J. (1992) The allometry of seed production in herbaceous angiosperms. *Am. Nat.* 467-483.
- SILVERTOWN, J. (1989) The paradox of seed size and adaptation. *Trends Ecol. Evol.* 4(1):24-26.
- SMITH, C.C.; FRETWELL, S.D. (1974) The optimal balance between size and number of offspring. *Am. Nat.* 108:499–506.
- SNOW, M.D.; TINGEY, D.T. (1985) Evaluation of a system for the imposition of plant water stress. *Plant Physiol.* 77:602–607.

- SONG, Q.; CHEN, Z.J. (2015) Epigenetic and developmental regulation in plant polyploids. *Curr. Opin. Plant Biol.* 24:101-109.
- STOREY, R.; PITMAN, M.G.; STELZER, R.; CARTER, C. (1983) X-ray micro analysis of cells and cell components of *Atriplex spongiosa* I. Leaves. *J. Exp. Bot.* 34:778–794.
- SULTAN, S.E. (1995) Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Bot. Neerl.* 44(4):363-383.
- SULTAN, S.E.; STEARNS, S.C. (2005) Environmentally contingent variation: phenotypic plasticity and norms of reaction. *Variation. A Central Concept in Biology* 303-332.
- SULTAN, S.E.; WILCZEK, A.M.; BELL, D.L.; HAND, G. (1998) Physiological response to complex environments in annual *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Oecologia* 115(4):564-578.
- SUN, J.; YAO, J.; HUANG, S.; LONG, X.; WANG, J.; GARCIA-GARCIA, E. (2009) Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) AC. Smith. *Food Chem.* 117:276-281.
- SUSKO, D.J.; LOVETT-DOUST, L. (2000) Patterns of seed weight variation and their effects on seedling traits in *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *Am. J. Bot.* 87(1):56-66.
- TALEISNIK, E.L.; ANTON, A.M. (1988) Salt glands in *Pappophorum* (Poaceae). *Ann. Bot.* 62(4):383-388.
- TALEISNIK, E.; PEYRANO, G.; ARIAS, C. (1997) Response of *Chloris gayana* cultivars to salinity. 1. Germination and early vegetative growth. *Trop. Grassl.* 31:232-240.
- TANG, S.; LEON, A.; BRIDGES, W.C.; KNAPP, S.J. (2006) Quantitative trait loci for genetically correlated seed traits are tightly linked to branching and pericarp pigment loci in sunflower. *Crop Sci.* 46: 721–734.
- TESTER, M.; BACIC, A. (2005) Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. *Plant Physiol.* 137(3):791-793.
- THOMPSON, K. (1990) Genome size, seed size, and germination temperature in herbaceous angiosperms. *Evolutionary Trends in Plants* 4: 113-11.16.
- TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. (2000) Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). *Ann. Bot.* 85:391–396.

- TURNER, N.C.; BEGG, J. (1976) Responses of pasture plants to water deficits. En: WILSON, J.R. (Ed.) Plant Relations in Pastures. CSIRO, East Melbourne, Australia. Pp. 50–66.
- TYERMAN, S.D.; NIEMIETZ, C.M.; BRAMLEY, H. (2002) Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environ.* 25:173–194.
- VENABLE, D. (2007) Bet hedging in a guild of desert annuals. *Ecology* 88:1086–1090.
- VENABLE, D.L.; BROWN, J.S. (1988) The selective interactions of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *Am. Nat.* 131: 360–384.
- VENABLE, D.L.; BÚRQUEZ, A.; CORRAL, G.; MORALES, E.; ESPINOSA, F. (1987) The ecology of seed heteromorphism in *Heterosperma pinnatum* in central Mexico. *Ecology* 68:65–76.
- VENABLES, A.V.; WILKINS, D.A. (1978) Salt tolerance in pasture grasses. *New Phytol.* 80(3):613-622.
- VERGEER, P.; KUNIN, W.E. (2011) Life history variation in *Arabidopsis lyrata* across its range: effects of climate, population size and herbivory. *Oikos* 120(7):979-990.
- VERSLUES, P.E.; OBER, E.S.; SHARP, R.E. (1998) Root growth and oxygen relations at low water potentials. Impact of oxygen availability on polyethylene glycol solutions. *Plant Physiol.* 116: 1403–1412.
- VILLAGRA, P.E.; GIORDANO, C.V.; ALVAREZ, J.A.; CAVAGNARO, J.B.; GUEVARA, A.; SARTOR, C.E.; PASSERA, C.B.; GRECO, S. 2011. Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte Central de Argentina. *Ecol. Austral* 21: 29-42.
- VIOLLE, C.; CASTRO, H.; RICHARTE, J.; NAVAS, M.L. (2009) Intraspecific seed trait variations and competition: passive or adaptive response? *Funct. Ecol.* 23(3):612-620.
- VÖLLER, E.; AUGÉ, H.; PRATI, D.; FISCHER, M.; HEMP, A.; BOSSDORF, O. (2012) Geographical and land-use effects on seed-mass variation in common grassland plants. *Basic Appl. Ecol.* 13(5):395-404.

- VU, W.T.; CHANG, P.L.; MORIUCHI, K.S.; FRIESEN, M.L. (2015) Genetic variation of transgenerational plasticity of offspring germination in response to salinity stress and the seed transcriptome of *Medicago truncatula*. *BMC Evol. Biol.* 15(1):1.
- WAINSTEIN, P.; GONZÁLEZ, S. 1971. Valor nutritivo de plantas forrajeras del este de la provincia de Mendoza (Reserva de Ñacunán) II. *Deserta* 2: 77-85.
- WANG, J.; TIAN, L.; LEE, H.S.; WEI, N.E.; JIANG, H.; WATSON, B.; ... CHEN, Z.J. (2006) Genome wide non additive gene regulation in *Arabidopsis allotetraploids*. *Genetics* 172:507-517.
- WANG, J.H.; BASKIN, C.C.; CUI, X.L.; DU, G.Z. (2009) Effect of phylogeny, life history and habitat correlates on seed germination of 69 arid and semi-arid zone species from northwest China. *Evol. Ecol.* 23: 827-846.
- WARRINGA, J.W.; DE VISSER, R.; KREUZER, A.D.H. (1998) Seed weight in *Lolium perenne* as affected by interactions among seeds within the inflorescence. *Ann. Bot.* 82(6):835-841.
- WESTOBY, M. (1998). A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant Soil* 199(2):213-227.
- WESTOBY, M.; FALSTER, D.S.; MOLES, A.T.; VESK, P.A.; WRIGHT, I.J. (2002) Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 125-159.
- WESTOBY, M.; JURADO, E.; LEISHMAN, M. (1992) Comparative evolutionary ecology of seed size. *Trends Ecol. Evol.* 7: 368–372.
- WESTOBY, M.; LEISHMAN, M.; LORD, J.; POORTER, H.; SCHOEN, D.J. (1996) Comparative ecology of seed size and dispersal [and discussion]. *Philos. Trans. R. Soc. London B: Biological Sciences* 351(1345):1309-1318.
- WILLSON, M.F. (1983) *Plant reproductive ecology*. John Wiley & Sons.
- WISE, R.R.; NAYLOR, A.W. (1987) Chilling-enhanced photooxidation evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. *Plant Physiol.* 83(2):278-282.
- WULFF, R. (1986) Seed size variation in *Desmodium paniculatum*. II. Effects on seedling growth and physiological performance. *J. Ecol.* 74:99-114.

- YEO, A.R. (1981) Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* (L.) Dum.: intracellular compartmentation of ions. *J. Exp. Bot.* 32:487–497.
- YEO, A.R. (1983) Salinity resistance: physiologies and prices. *Physiol. Plant.* 58(2):214-222.
- ZABALA, J.M.; DELBINO, M.; GIAVEDONI, J.; PENSIERO, J. (2011 a) Glándulas de sal como criterio de selección y evaluación de la tolerancia a la salinidad en *Trichloris crinita* y *Trichloris pluriflora*. Segunda Reunión de la Red Argentina de Salinidad RASTUC 2011. Sociedad Rural de Tucumán, San Miguel de Tucumán, 24 al 26 de Agosto.
- ZABALA, J.M.; WIDENHORN, P.; PENSIERO, J.F. (2011 b) Germination patterns of species of the genus *Trichloris* in arid and semiarid environments. *Seed Sci. Technol.* 39: 338-353.
- ZHANG, H.; IRVING, L.J.; MCGILL, C.; MATTHEW, C.; ZHOU, D.; KEMP, P. (2010) The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator. *Ann. Bot.* 106:1027–1035.
- ZHANG, H.; ZHANG, G.; LÜ, X.; ZHOU, D.; HAN, X. (2015) Salt tolerance during seed germination and early seedling stages of 12 halophytes. *Plant Soil* 388:229-241.
- ZHANG, H.X.; YIN, L.K.; PAN, B.R. (2003) A review on the study of salt glands of Tamarix. *Acta Bot. Boreali-Occidentalia Sinica* 23:190–194.
- ZHANG, X.; ZANGB, R.; LI, C. (2004) Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Sci.* 166:791–797.
- ZHOU, S.; HAN, J.L.; ZHAO, K.F. (2001) Advance of study on recretohalophytes. *Chinese J. Appl. Environ. Biol.* 7:496–501.
- ZULOAGA, F.O.; NICORA, F.O.; RÚGOLO DE AGRASAR, Z.E.; MORRONE, O.; PENSIERO, J.F.; CIALDELLA, A.M. (1994) Catálogo de la familia *Poaceae* en la República Argentina. *Monographs Systematic Botany*, 47: 1-178.

ANEXO

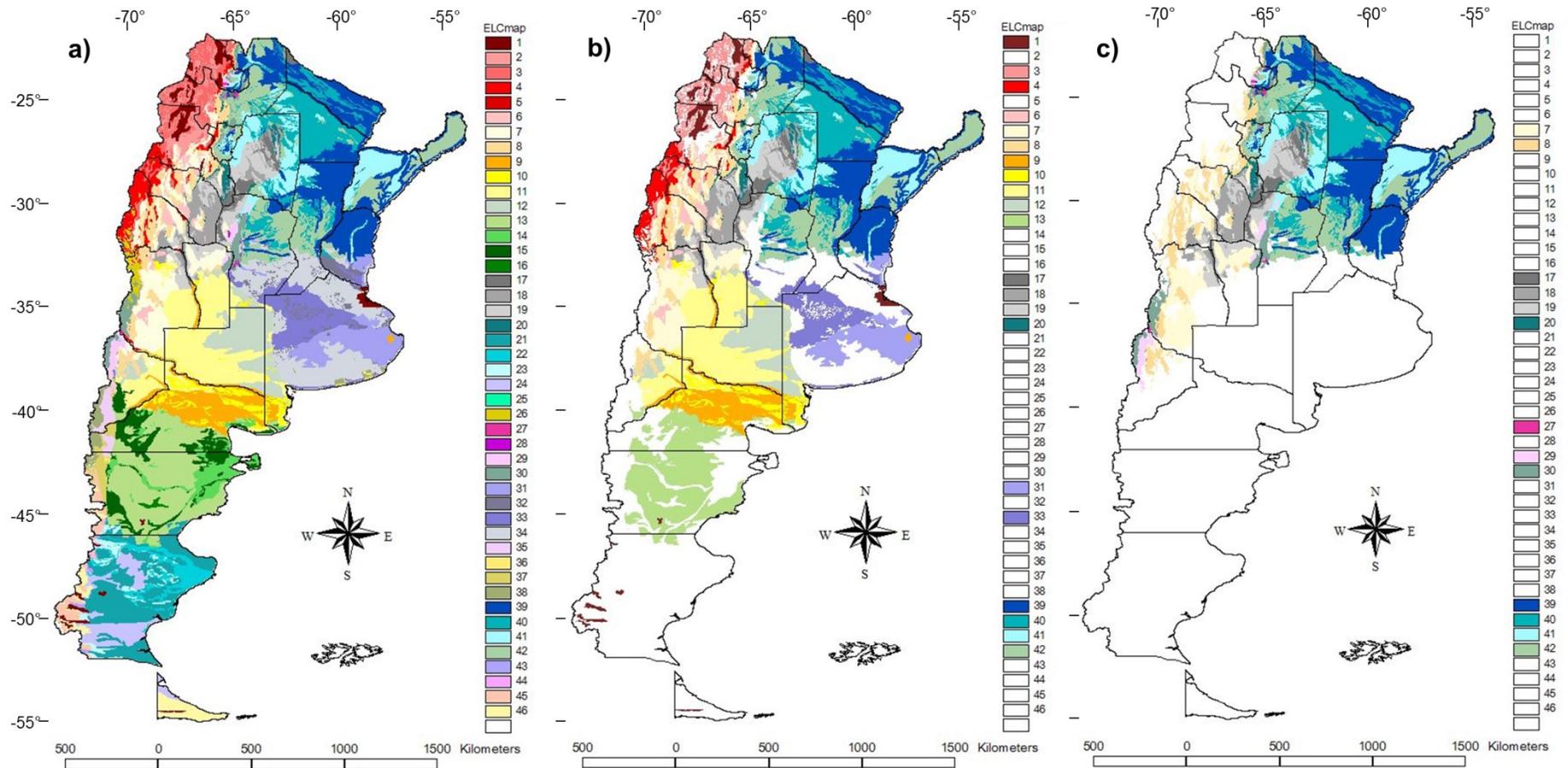
ANEXO 1. Colección de *Trichloris* del banco de germoplasma “J.M. Alonso” de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral. El ID de población corresponde al número de catálogo del Dr. José Pensiero y la Dra. Eliana Exner, de los ejemplares de herbario de cada población conservados en el herbario “Arturo E. Ragonese” de la FCA-UNL.

Id Población	Fecha	Provincia	Departamento	Especie
6917 *	15/12/2004	Formosa	Pirané	<i>Trichloris crinita</i>
6975	16/03/2005	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
7078 *	23/03/2005	Santiago del Estero	Robles	<i>Trichloris crinita</i>
7320 *	22/02/2008	Mendoza	San Rafael	<i>Trichloris crinita</i>
7354 *	22/02/2008	Mendoza	Santa Rosa	<i>Trichloris crinita</i>
7369 *	22/02/2008	Mendoza	Santa Rosa	<i>Trichloris crinita</i>
7375	23/02/2008	Mendoza	Las Heras	<i>Trichloris crinita</i>
7390 *	23/02/2008	San Juan	Caucete	<i>Trichloris crinita</i>
7413	23/02/2008	La Rioja	Peñaloza	<i>Trichloris crinita</i>
7448	24/02/2008	La Rioja	Independencia	<i>Trichloris crinita</i>
7465 *	24/02/2008	La Rioja	Chilecito	<i>Trichloris crinita</i>
7492	25/02/2008	Catamarca	Paclín	<i>Trichloris crinita</i>
7528 *	26/02/2008	Catamarca	Paclín	<i>Trichloris crinita</i>
7600 *	28/02/2008	Catamarca	La Paz	<i>Trichloris crinita</i>
7602 *	28/02/2008	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
7906	14/02/2009	San Luis	Belgrano	<i>Trichloris crinita</i>
7946	14/02/2009	San Juan	25 de Mayo	<i>Trichloris crinita</i>
8009 *	15/02/2009	Córdoba	San Javier	<i>Trichloris crinita</i>
8017	16/02/2009	San Luis	Ayacucho	<i>Trichloris crinita</i>
8020 *	16/02/2009	La Rioja	San Martín	<i>Trichloris crinita</i>
8023	16/02/2009	La Rioja	San Martín	<i>Trichloris crinita</i>
8029 *	16/02/2009	La Rioja	Belgrano	<i>Trichloris crinita</i>
8297 *	15/12/2009	San Luis	la capital	<i>Trichloris crinita</i>
8417 *	09/03/2011	Santiago del Estero	Gral Taboada	<i>Trichloris crinita</i>
8449 *	10/03/2011	Santa Fe	9 de Julio	<i>Trichloris crinita</i>
8454 *	10/03/2011	Santa Fe	9 de Julio	<i>Trichloris crinita</i>
8492 *	12/03/2011	Formosa	Patiño	<i>Trichloris crinita</i>
S/N	14/03/2011	Chaco	1 de Mayo	<i>Trichloris crinita</i>
8608 *	15/03/2011	Santa Fe	Gral Obligado	<i>Trichloris crinita</i>
8615 *	16/03/2011	Santa Fe	Vera	<i>Trichloris crinita</i>
8646 *	25/08/2011	Santiago del Estero		<i>Trichloris crinita</i>
9044	27/02/2013	Buenos Aires	Villarino	<i>Trichloris crinita</i>
9061	27/02/2013	Buenos Aires	Villarino	<i>Trichloris crinita</i>
9066	27/02/2013	Río Negro	Pichi Mahuida	<i>Trichloris crinita</i>
9075	27/02/2013	Río Negro	Pichi Mahuida	<i>Trichloris crinita</i>
9077	28/02/2013	La Pampa	Caleu Caleu	<i>Trichloris crinita</i>
9184	02/03/2013	Mendoza	General Alvear	<i>Trichloris crinita</i>
9204	03/03/2013	Mendoza	San Carlos	<i>Trichloris crinita</i>

9271	04/03/2013	San Luis	La Capital	<i>Trichloris crinita</i>
9319	05/03/2013	Córdoba	San Justo	<i>Trichloris crinita</i>
9395	09/12/2013	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
9409	09/12/2013	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
9420	09/12/2013	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
9478	11/12/2013	Catamarca	Santa María	<i>Trichloris crinita</i>
9550	12/12/2013	Catamarca	Santa María	<i>Trichloris crinita</i>
9575	13/12/2013	Catamarca	Santa María	<i>Trichloris crinita</i>
E151	23/02/2014	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris crinita</i>
E200	24/02/2014	Catamarca	Santa María	<i>Trichloris crinita</i>
9940	07/03/2015	Formosa	Patiño	<i>Trichloris crinita</i>
10106	10/03/2015	Santiago del Estero	Copo	<i>Trichloris crinita</i>
10114	10/03/2015	Santiago del Estero	Copo	<i>Trichloris crinita</i>
10171	11/03/2015	Chaco	Almirante Brown	<i>Trichloris crinita</i>
S/N 2	11/03/2015	Santiago del Estero	Copo	<i>Trichloris crinita</i>
10239	12/03/2015	Chaco	Presidencia de la Plaza	<i>Trichloris crinita</i>
6962 *	15/03/2005	Córdoba	Punilla	<i>Trichloris pluriflora</i>
7000 *	18/03/2005	Salta	Metán	<i>Trichloris pluriflora</i>
7011 *	19/03/2005	Jujuy	El Carmen	<i>Trichloris pluriflora</i>
7063 *	21/03/2005	Salta	Orán	<i>Trichloris pluriflora</i>
7460 *	24/02/2008	La Rioja	Chamical	<i>Trichloris pluriflora</i>
7483 *	25/02/2008	Catamarca	Capayan	<i>Trichloris pluriflora</i>
7491 *	25/02/2008	Catamarca	Capayan	<i>Trichloris pluriflora</i>
7536 *	26/02/2008	Catamarca	Paclín	<i>Trichloris pluriflora</i>
7599	28/02/2008	Catamarca	La Paz	<i>Trichloris pluriflora</i>
7919	14/02/2009	San Luis	Belgrano	<i>Trichloris pluriflora</i>
7931 *	14/02/2009	San Luis	Belgrano	<i>Trichloris pluriflora</i>
7958 *	14/02/2009	San Luis	Ayacucho	<i>Trichloris pluriflora</i>
7967 *	14/02/2009	San Luis	Ayacucho	<i>Trichloris pluriflora</i>
8011 *	15/02/2009	Córdoba	San Javier	<i>Trichloris pluriflora</i>
8015 *	16/02/2009	San Luis	Ayacucho	<i>Trichloris pluriflora</i>
8026 *	16/02/2009	La Rioja	San Martín	<i>Trichloris pluriflora</i>
8053 *	17/02/2009	Córdoba	Minas	<i>Trichloris pluriflora</i>
8419 *	09/03/2011	Santiago del Estero	Gral Taboada	<i>Trichloris pluriflora</i>
8445 *	10/03/2011	Santa Fe	9 de Julio	<i>Trichloris pluriflora</i>
8463 *	10/03/2011	Santiago del Estero	Brigadier Juan Felipe Ibarra	<i>Trichloris pluriflora</i>
8466 *	11/03/2011	Chaco	Independencia	<i>Trichloris pluriflora</i>
8501 *	12/03/2011	Formosa	Patiño	<i>Trichloris pluriflora</i>
9710	16/12/2013	Santiago del Estero	Capital	<i>Trichloris pluriflora</i>
E155	23/02/2014	Córdoba	Tulumba	<i>Trichloris pluriflora</i>
E175	23/02/2014	La Rioja	Capital	<i>Trichloris pluriflora</i>
10044	09/03/2015	Jujuy	Santa Bárbara	<i>Trichloris pluriflora</i>
10058	10/03/2015	Chaco	Almirante Brown	<i>Trichloris pluriflora</i>
10095	10/03/2015	Santiago del Estero	Copo	<i>Trichloris pluriflora</i>
10137	11/03/2015	Santiago del Estero	Copo	<i>Trichloris pluriflora</i>
11009	20/02/2016	Catamarca	Belén	<i>Trichloris pluriflora</i>

* Poblaciones seleccionadas para su cultivo en ambiente común (Capítulo 2, experimento 4.3.; Capítulo 3, experimento 4.1.)

ANEXO 2. a) Mapa de Caracterización Ecogeográfica Territorial (ELC, por sus siglas en inglés) para el género *Trichloris*, b) categorías ecogeográficas representadas en la colección de *T. crinita* del banco de germoplasma de la FCA-UNL y c) categorías ecogeográficas representadas en la colección de *T. pluriflora* del banco de germoplasma de la FCA-UNL.



ANEXO 3. Variables ecogeográficas, discriminadas por componente bioclimático, edáfico y geofísico utilizadas en el Capítulo 2 (experimento 4.3.), unidades de medida, resolución y fuente de información.

Variab les	Unidades	Fuente	Resolución
COMPONENTE BIOCLIMÁTICO			
Temperatura media anual	°C	Wordclim (http://www.worldclim.org)	5x5 km
Máxima temperatura del mes más cálido	°C		5x5 km
Mínima temperatura del mes más frío	°C		5x5 km
Precipitación media anual	mm		5x5 km
Precipitación del mes más húmedo	mm		5x5 km
Precipitación del mes más seco	mm		5x5 km
COMPONENTE GEOFÍSICO			
Longitud	grados decimales	Tabla de ocurrencia de las especies	
Latitud	grados decimales		
Elevación del terreno (sobre el nivel del mar)	metros	Shuttle Radar Topographic Mission digital elevation model http://www.srtm.csi.cgiar.org	5x5 km
COMPONENTE EDÁFICO			
Contenido de limo en suelo superficial	%	Harmonized World Soil Database (HWSD, http://webarchive.iiasa.ac.at/Research/LUC/External-World-soil-database/HTML/)	5x5 km
Contenido de arcilla en suelo superficial	%		5x5 km
Carbon orgánico en suelo superficial	%		5x5 km
CIC en suelo superficial	cmol/kg		5x5 km

ANEXO 4. Protocolos para la evaluación de daño oxidativo.

Antioxidantes no enzimáticos (capacidad reducción férrica en plasma, FRAP)

Para la determinación de la actividad antioxidantes no enzimáticos, basada en la reducción del ion férrico a ion ferroso, se siguió el protocolo de Benzie & Strain (1996).

Para la determinación de FRAP se utilizó la lámina de la última hoja completamente expandida de cada planta. Es conveniente que las evaluaciones se realicen para todos los genotipos en el mismo momento. Por lo cual, las láminas se extrajeron, pesaron y se conservaron a -80 °C hasta su utilización. Durante el proceso de extracción las muestras de láminas se iban manteniendo en nitrógeno líquido.

El tejido foliar se homogeneizó con nitrógeno líquido y 1.5 ml de alcohol 96 %, luego se centrifugó la muestra por 20 minutos a 12000 rpm 4 °C. Posteriormente, se extrajo el sobrenadante.

La actividad antioxidante se evaluó en placa de multiwell con 30 µl del extracto y 270 µl de mezcla de reacción. Por cada 6 mililitros la mezcla de reacción contiene: 5.25 ml de solución buffer de acetato 0.3 M a pH 3.6, 0.5 ml de solución de FeCl₃ 200 mM y 0.25 ml de solución de TPTZ (2,4,6 Tris (2pyridyl) s-triazine) 10 mM.

Se mantiene a temperatura ambiente durante 40 minutos y luego se evalúa la absorbancia a 600 nm con espectrofotómetro.

Para la estimación de los antioxidantes no enzimáticos, debe confeccionarse la curva patrón con Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid). Para ello se utilizaron, las siguientes concentraciones: 0, 37.5, 75, 112.5 y 150 µM. Se midió absorbancia a 600 nm con las muestras y se calculó la ecuación de la recta de regresión a partir de la cual se calculó la concentración de antioxidantes.

$$Y = a X + b$$

Donde Y es la absorbancia a 600 nm de una X concentración de antioxidantes.

Finalmente el valor de antioxidantes es referido al peso fresco de la lámina (µmol/g PF).

Determinación de malondialdehído (MDA)

La peroxidación de los lípidos está relacionado con la degradación de los mismos, el MDA es un subproducto aldehídico secundario cuantificable relacionado al daño oxidativo. El protocolo para la cuantificación de este subproducto se basa según Hodges et al. (1999).

Para la estimación de MDA se utiliza 0.4 ml del extracto alcohólico anteriormente descrito para FRAP, se le agregó 0.4 ml de mezcla de reacción y se calentó por inmersión a 92 °C por 20 minutos. La mezcla de reacción contiene cada 100 ml: 0.01 g de BHT (butylated hydroxytoluene – 0.01 % p/v), 0.65 g de TBA (thiobarbituric acid - 0.5 % p/v) y se enrasa a 100 ml con TCA (trichloroacetic acid 20 %).

Como blanco se utilizó 0.4 ml de alcohol 96 % al que se le agregó 0.4 ml de la mezcla de reacción.

Se sembró 300 µl de cada muestra y del blanco en placa multiwell y se midió la absorbancia en dos longitudes de onda: 540 y 600 nm.

El contenido de MDA se estimó con la siguiente ecuación:

$$\mu\text{mol MDA/g PF} = \{[(A_{540}-bco)-(A_{600}-bco)]*1.5*2\}/(155*\text{g PF})$$

ANEXO 5. Matriz de correlación entre las variables incluidas y excluidas en el Análisis de Componentes Principales (ACP) en la evaluación del efecto del estrés hídrico en crecimiento inicial.

	NM	HVM	LR	BMA	BFA*	BSA*	BFR*	BSR*	BFP*	BSP	LRE	A/R	FRAP
NM	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
HVM	0.56	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
LR	0.72	0.41	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00
BMA	-0.54	-0.48	-0.39	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
BFA	0.84	0.49	0.69	-0.46	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00
BSA	0.83	0.50	0.69	-0.49	0.99	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00
BFR	0.64	0.33	0.62	-0.46	0.90	0.89	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.58	0.00
BSR	0.67	0.36	0.60	-0.49	0.91	0.88	0.98	1.00	0.00	0.00	0.00	0.46	0.00
BFP	0.82	0.49	0.70	-0.48	0.99	0.99	0.89	0.91	1.00	0.00	0.00	0.39	0.00
BSP	0.83	0.50	0.71	-0.49	0.98	0.99	0.90	0.91	0.99	1.00	0.00	0.35	0.00
LRE	-0.52	-0.40	-0.41	0.73	-0.51	-0.54	-0.55	-0.59	-0.53	-0.55	1.00	0.63	0.00
A/R	0.28	0.29	0.12	-0.37	0.17	0.18	-0.07	-0.09	0.11	0.12	0.06	1.00	0.43
FRAP	-0.46	-0.49	-0.37	0.28	-0.51	-0.50	-0.38	-0.40	-0.50	-0.50	0.51	-0.10	1.00

* Variables excluidas por presentar una elevada correlación entre sí ($r \geq 0.9$).

ANEXO 6. Matrices de correlación entre las variables incluidas y excluidas en el ACP en la evaluación del efecto del estrés salino en crecimiento inicial.

	NM	HVM	LR	BMA%	BFA*	BSA*	BFR*	BSR*	BFP*	BSP	LRE	A/R	FRAP	MDA
NM	1	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
HVM	0.52	1.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.08	0.07	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.14
LR	0.79	0.53	1.00	0.01	0.00	0.00	0.08	0.08	0.00	0.00	0.02	0.03	0.01	0.60
BMA	-0.4	-0.34	-0.39	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.47	0.03
BFA	0.73	0.42	0.51	-0.48	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.13	0.75
BSA	0.7	0.41	0.50	-0.55	0.99	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.23	0.73
BFR	0.45	0.26	0.26	-0.51	0.9	0.89	1.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.75	0.91	0.75
BSR	0.47	0.27	0.26	-0.54	0.9	0.90	0.99	1.00	0.00	0.00	0.01	0.78	0.81	0.69
BFP	0.67	0.39	0.45	-0.50	0.99	0.99	0.92	0.92	1.00	0.00	0.01	0.07	0.27	0.74
BSP	0.67	0.40	0.46	-0.55	0.98	1.00	0.92	0.93	0.99	1.00	0.00	0.05	0.33	0.72
LRE	-0.44	-0.44	-0.34	0.55	-0.38	-0.41	-0.36	-0.4	-0.39	-0.41	1.00	0.22	0.77	0.43
A/R	0.48	0.54	0.34	-0.34	0.36	0.35	0.05	0.04	0.28	0.31	-0.2	1.00	0.00	0.97
FRAP	-0.49	-0.42	-0.39	-0.12	-0.24	-0.19	0.02	0.04	-0.18	-0.16	0.05	-0.53	1.00	0.78
MDA	-0.01	0.22	-0.08	0.33	-0.05	-0.05	-0.05	-0.06	-0.05	-0.05	0.12	-0.01	0.04	1.00

* Variables excluidas por presentar una elevada correlación entre sí ($r \geq 0.9$).

	GSAab	GSAad	Na ex	K ex	Na in	K in	Na ex/in	K ex/in	K/Na EX	K/Na IN
GSAab	1.00	0.32	0.30	0.01	0.00	0.00	0.25	0.07	0.00	0.71
GSAad	0.21	1.00	0.01	0.87	0.01	0.80	0.18	0.71	0.96	0.04
Na ex	0.22	0.52	1.00	0.13	0.00	0.12	0.48	0.02	0.00	0.04
K ex	-0.54	-0.03	-0.32	1.00	0.00	0.05	0.79	0.00	0.00	0.38
Na in	0.65	0.50	0.58	-0.61	1.00	0.02	0.17	0.01	0.01	0.00
K in	-0.57	0.05	0.32	0.41	-0.47	1.00	0.06	0.75	0.83	0.06
Na ex/in	0.24	-0.29	0.15	0.06	-0.29	0.39	1.00	0.61	0.08	0.00
K ex/in*	-0.37	-0.08	-0.48	0.92	-0.51	0.07	-0.11	1.00	0.00	0.79
K/Na ex	-0.59	0.01	-0.65	0.66	-0.53	0.05	-0.36	0.67	1.00	0.68
K/Na in	-0.08	-0.42	-0.41	0.19	-0.71	0.39	0.71	0.06	0.09	1.00

* Variables excluidas por presentar una elevada correlación entre sí ($r \geq 0.9$).