

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE ALFALFA BAJO CONDICIONES SALINAS*

GERMINATION AND GROWTH OF ALFALFA UNDER SALINE CONDITIONS

Sara Lucía González-Romero¹, Omar Franco-Mora², Carlos Ramírez-Ayala¹, Héctor Manuel Ortega-Escobar¹, Adrián Raymundo Quero-Carrillo³ y Carlos Trejo-López⁴

¹Programa de Hidrociencias. Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, México. C. P. 56230. ²Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados. ³Programa de Botánica. Colegio de Postgraduados. ⁴Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento. Facultad de Ciencia Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Autor para correspondencia: grsara@colpos.mx.

RESUMEN

En México, el cultivo de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) se emplea para la alimentación del ganado bovino, éste cuenta con investigaciones de respuestas a estrés salino en la etapa de germinación; sin embargo, sólo se han usado diferentes niveles de NaCl o de manitol y polietilenglicol; por lo anterior, los objetivos de esta investigación fue estudiar la respuesta a la salinidad, que se presenta en zonas áridas y semiáridas de México de la alfalfa en la etapa de germinación y evaluar su efecto sobre el crecimiento de la radícula y la parte aérea. Para cumplir lo anterior, en el laboratorio de salinidad del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas durante el 2009, las semillas se sometieron a pruebas de germinación en un diseño factorial de 11 soluciones salinas a ocho dosis (0, 2, 4, 8, 11.7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹) y tres repeticiones. Se observó que las sales NaHCO₃ y sulfático-sódica influyeron más sobre la germinación; y las sales CaCl₂ 2H₂O y sulfática registraron el mayor porcentaje de germinación; para el crecimiento de radícula la sal que más afectó fue el NaHCO₃ y la salinidad sulfática; las sales CaCl₂ 2H₂O y sulfático-clorhídrica permitieron mayor desarrollo. El crecimiento de la parte aérea fue más afectado en comparación al desarrollo de la radícula. La mezcla de sales favoreció el porcentaje de germinación, el crecimiento de radícula y parte aérea.

ABSTRACT

In Mexico, alfalfa (*Medicago sativa* L.) is used for feeding cattle and has been studied for responses to salt stress in the germination phase; however, only NaCl or mannitol and polyethylene glycols have been used in different levels. Due to this, the aims of this research were to study the response of alfalfa in the germination stage to the salinity of the arid and semiarid areas in Mexico, and to evaluate its effect on the growth of the radicle and aerial section. In order to achieve this, in the salinity lab of the Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas during 2009, the seeds underwent germination tests in a factorial design of 11 saline solutions at eight doses (0, 2, 4, 8, 11.7, 15, 19 and 28 dS m⁻¹) and three repetitions. It has been observed that salts NaHCO₃ and sodium sulfate had a greater influence on the germination. The salt that had the greatest effect on the radicle growth was NaHCO₃ and sulfate salinity, whereas CaCl₂ 2H₂O and sulfate-hydrochloric salts enhanced growth. The growth of the aerial section was more affected than the growth of the radicle. The combination of salts had a positive effect on the germination percentage, the growth of the radicle and aerial section.

* Recibido: abril de 2010
Aceptado: febrero de 2011

Palabras clave: *Medicago sativa* L., crecimiento de radícula, radícula, salinidad.

La contaminación debido a sal soluble en los suelos, ha causado problemas durante toda la historia de la humanidad, principalmente en las regiones áridas del mundo. La recuperación de los mismos, es de gran importancia para la producción agrícola, en la práctica se emplea la siembra de plantas tolerantes a las sales; se ha considerado utilizar la etapa de germinación como un indicador de la tolerancia a la salinidad, dado que tiene una duración menor que otras etapas vegetativas, además es una etapa crucial en el ciclo de vida de las plantas. (El-Keblawy y Al-Rawai, 2006).

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de salinidad del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas (CP) durante el 2009, se sometieron a pruebas de germinación semillas de alfalfa variedad CUF 101, en un diseño factorial de 11 soluciones salinas, seis sales puras: (NaCl; NaHCO₃; Na₂SO₄; MgSO₄; CaCl₂ 2H₂O; MgCl₂ 6H₂O); y cinco sales geoquímicas: (clorhídrica; sulfático-clorhídrica; clorhídrico-sulfática; sulfática y sulfático-sódica); a ocho dosis (0, 2, 4, 8, 11, 7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹) y tres repeticiones. La preparación de las sales geoquímicas fue mediante la metodología de Arinuskina (Sánchez *et al.*, 2008).

Por repetición se colocaron 10 semillas sobre papel filtro (Ahlstrom núm. 61.) en cajas petri de plástico, desinfectados con hipoclorito de sodio al 5.25%, con 5 ml de diferente solución y concentración salina, a temperatura no controlada, ésta osciló entre 19 ±4 °C por 15 días en completa oscuridad. Los datos de germinación se transformaron al arco seno antes del análisis estadístico, las diferencias significativas se determinaron con la prueba de Tukey, a un nivel de confianza de 0.05, utilizando el paquete estadístico SAS V8.

El Cuadro 1, presenta que 100% de germinación de alfalfa, se registró a tres días en el MgSO₄; a seis días, en el CaCl₂ 2H₂O y MgCl₂ 6H₂O a una CE de 2 y 4 dS m⁻¹, respectivamente; a nueve días en NaCl. Las semillas fueron tolerantes a altas concentraciones de MgSO₄, el CaCl₂ 2H₂O y MgCl₂ 6H₂O; sin embargo, el NaCl y Na₂SO₄ inhibieron la germinación al 100%, en las CE de 19 y 28 dS m⁻¹; el NaHCO₃ inhibió el brote de semillas desde la CE de 8 dS m⁻¹.

Key words: *Medicago sativa* L., radicle, radicle growth, salinity.

The pollution of soils with soluble salts has caused problems throughout history of humanity, and especially in the most arid areas of the world. Their recovery is crucial for raising cattle; salt resistant plants are grown in practice. The germination stage has been considered for use as an indicator of tolerance to salt, since its duration is lower than other stages, as well as being a crucial stage in the life cycle of plants. (El-Keblawy and Al-Rawai, 2006).

This investigation was carried out in the salinity lab of the Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas (CP) during 2009. Alfalfa seeds of the variety CUF 101 underwent germination tests, in a factorial design of 11 saline solutions; six pure salts (NaCl; NaHCO₃; Na₂SO₄; MgSO₄; CaCl₂ 2H₂O; MgCl₂ 6H₂O); and five geochemical salts: (hydrochloric; sulfate-hydrochloric; hydrochloric-sulfate; sulfate and sulfate-sodium); at 8 doses (0, 2, 4, 8, 11, 7, 15, 19 and 28 dS m⁻¹) and three repetitions. Geochemical salts were prepared using Arinuskina's method (Sánchez *et al.*, 2008).

For every repetition, 10 seed were placed on filter paper (Ahlstrom num. 61.) in plastic petri dishes, disinfected with sodium chloride at 5.25%, with 5 ml of a different solution and saline concentration, at an uncontrolled temperature, which fluctuated at 19 ±4 °C for 15 days in complete darkness. The germination data were transformed to the sin arc before the statistical analysis, and the significant differences were determined using the Tukey test, at a level of confidence of 0.05, using the SAS V8 statistical package.

Table 1 shows that 100% of alfalfa germination was recorded after three days in MgSO₄; after six days in CaCl₂ 2H₂O and MgCl₂ 6H₂O, at a CE of 2 and 4 dS m⁻¹, respectively; after nine days in NaCl. The seeds were tolerant to high concentrations of MgSO₄, CaCl₂ 2H₂O and MgCl₂ 6H₂O. However, NaCl and Na₂SO₄ inhibited the germination at 100%, in the CEs of 19 and 28 dS m⁻¹; the NaHCO₃ inhibited the sprouting of seed from the CE of 8 dS m⁻¹.

In geochemical salts, 100% of germination was recorded after nine days in the lowest concentrations of all salts, except for sulfate-sodium salts, whereas high

Cuadro 1. Porcentaje de germinación absoluta de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en sales puras.
Table 1. Percentage of absolute germination of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in pure salts.

Sal	Dosis	Días					¶	Sal	Días					¶
		3	6	9	12 [§]				3	6	9	12 [§]		
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0	100	100	100	100	a	Na ₂ SO ₄	100	100	100	100	a		
	2	90	96.7	96.7	96.7	bc		83.3	93.3	93.3	93.3	b		
	4	93.3	100	100	100	ab		80	86.7	96.7	96.7	b		
	8	86.7	96.7	100	100	ab		90	93.3	93.3	93.3	b		
	11.7	73.3	90	100	100	abc		46.7	53.3	56.7	56.7	c		
	15	70	86.7	90	93.3	c		10	16.7	16.7	16.7	d		
	19	43.3	43.3	43.3	43.3	d		0	0	0	0	e		
	28	3.3	3.3	3.3	3.3	e		0	0	0	0	e		
MgSO ₄	2	100	100	100	100	a	CaCl ₂ ·2H ₂ O	96.7	100	100	100	a		
	4	100	100	100	100	a		93.3	93.3	100	100	a		
	8	100	100	100	100	a		90	96.7	100	100	a		
	11.7	96.7	100	100	100	a		73.3	83.3	100	100	ab		
	15	96.7	100	100	100	a		76.7	90	96.7	100	ab		
	19	83.3	100	100	100	a		73.3	83.3	90	96.7	b		
	28	86.7	86.7	86.7	86.7	b		63.3	70	70	70	c		
	2	90	96.7	100	100	a		63.3	70.0	76.7	76.7	b		
NaCl	4	90	93.3	93.3	93.3	b	NaHCO ₃	26.7	30	30	30	c		
	8	83.3	90	90	90	b		0	0	0	0	d		
	11.7	63.3	66.7	66.7	66.7	c								
	15	23.3	30	33.3	33.3	d								

¶=prueba de medias entre nivel de sal, considerando todos los niveles de sales; letras distintas indican diferencias significativas ($P > F = 0.0001$) dentro de la columna; §= se omitió el porcentaje de germinación del día 15 por ser igual al día 12, y los valores de CE de 11.7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹ de la sal NaHCO₃; 19 y 28 dS m⁻¹ de NaCl por ser igual a cero.

En el caso de las sales geoquímicas, 100% de germinación se registró a nueve días en las dosis más bajas de concentración en casi todas las sales, excepto en la salinidad sulfático-sódica, que en la salinidad sulfática las semillas toleraron altas concentraciones. Estos resultados coinciden con lo reportado por Maas (1990), quien clasifica a la alfalfa como cultivo moderadamente sensible en conductividades eléctricas entre 2 y 7.9 dS m⁻¹. Por su parte Esehie (1993), indica que esta variedad de estudio es sensible en la etapa de germinación (Cuadro 2).

En cuanto al crecimiento el Cuadro 3, muestra que la sal con mayor desarrollo de radícula fue el CaCl₂·2H₂O y de parte aérea fue el MgSO₄; La radícula fue inhibida en NaCl, a dos últimas CE de 19 y 28 dS m⁻¹; el NaHCO₃ desde CE= 8 dS m⁻¹ y el Na₂SO₄ a CE de 19 dS m⁻¹. El crecimiento de la parte aérea fue inhibido en NaCl, desde CE= 15 dS m⁻¹; NaHCO₃ y MgCl₂·6H₂O, desde CE= 8 dS m⁻¹; y Na₂SO₄, en CE= 19 dS m⁻¹.

concentrations were tolerated in sulfate salinity. These results agree with Maas (1990), who classifies alfalfa as a moderately sensitive crop in electrical conductivities between 2 and 7.9 dS m⁻¹. On the other hand Esehie (1993) points out that this variety of study is sensitive in the germination phase (Table 2).

In terms of growth, Table 3 shows that the salt with the greatest radicle growth was CaCl₂·2H₂O, and MgSO₄ for the aerial section. The radicle was inhibited in NaCl, two last CE's from 19 and 28 dS m⁻¹; NaHCO₃, from CE= 8 dS m⁻¹ and Na₂SO₄ at a CE of 19 dS m⁻¹. The growth of the aerial section was inhibited in NaCl from CE= 15 dS m⁻¹; NaHCO₃ and MgCl₂·6H₂O, from CE= 8 dS m⁻¹; and Na₂SO₄, in CE= 19 dS m⁻¹.

For the mixture of salts (Table 4), the greatest growth of the radicle and aerial section took place in the hydrochloric-sulfate salinity, and the least growth took

Cuadro 2. Porcentaje de germinación absoluta de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en sales puras geoquímicas.
Table 2. Percentage of absolute germination of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in pure geochemical salts.

Sal	Dosis	Días					Sal	Dosis	Días				
		3	6	9	12 [§]	¶			3	6	9	12 [§]	¶
Clorhídrica	0	100	100	100	100	a	Clorhídrico sulfática	100	100	100	100	a	
	2	66.7	76.7	100	100	b		90	96.7	100	100	ab	
	4	73.3	83.3	83.3	83.3	c		90	93.3	100	100	ab	
	8	40	40	46.7	46.7	d		90	93.3	96.7	100	b	
	11.7	23.3	26.7	26.7	26.7	de		90	93.3	96.7	96.7	b	
	15	16.7	16.7	23.3	26.7	de		73.3	76.7	83.3	93.3	c	
	19	13.3	20	23.3	23.3	de		46.7	53.3	56.7	56.7	d	
	28	13.3	13.3	13.3	13.3	e		40	40	46.7	46.7	d	
Sulfático clorhídrica	2	76.7	80	100	100	ab	Sulfática	73.3	86.7	86.7	86.7	c	
	4	90	90	90	90	bc		83.3	93.3	100	100	ab	
	8	66.7	73.3	83.3	90	c		73.3	80	96.7	100	bc	
	11.7	63.3	70	76.7	90	c		70	76.7	93.3	100	bc	
	15	40	43.3	46.7	46.7	d		63.3	73.3	90	100	bc	
	19	33.3	36.7	36.7	36.7	d		63.3	66.7	83.3	96.7	c	
	28	30	33.3	33.3	33.3	d		56.7	66.7	80	96.7	c	
	2	80	80	80	80	c							
Sulfático sódica	4	93.3	93.3	93.3	93.3	b							
	8	33.3	40	40	40	d							

[¶]= prueba de medias entre nivel de sal, considerando todos los niveles de sales; letras distintas indican diferencias significativas ($P > F = 0.0001$) dentro de la columna;
[§]= se omitió el porcentaje de germinación del día 15 por ser igual al día 12, y los valores de CE de 11.7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹ de la sal sulfático-sódica por ser igual a cero.

Cuadro 3. Crecimiento vegetativo (mm) a 15 días de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en sales puras.
Table 3. Vegetative growth (mm) of alfalfa (*Medicago sativa* L.) after 15 days in pure salts.

Sal	Tratamiento	Radícula	¶	Planta	¶	Sal	Radícula	¶	Planta	¶
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0	29.08	a	5.89	a	Na ₂ SO ₄	29.08	a	5.89	a
	2	12.56	b	2.87	a		24.83	ab	4.12	a
	4	8.13	bc	1.63	ab		25.19	ab	3.44	a
	8	5.16	cd	0	c		17.64	bc	3.06	a
	11.7	3.59	cde	0	c		9.55	c	2.78	a
	15	3.36	cde	0	c		1.48	c	1.56	b
	19	1.96	de	0	c		0.65	c	0.2	bc
	28	0.11	e	0	c		0	c	0	c
MgSO ₄	2	23.66	ab	10.52	a	CaCl ₂ ·2H ₂ O	40.17	a	3.51	a
	4	19.59	b	3.88	b		48.65	a	3.31	a
	8	12.62	c	2.94	b		41.06	a	3.19	a
	11.7	7.46	cd	2.43	b		29.55	b	2.34	ab
	15	5.27	de	2.26	b		23.22	bc	1.73	ab
	19	4.77	de	1.48	b		18.77	c	1.4	ab
	28	2.94	e	0	c		5.79	d	0.41	b
	2	21.33	b	3.38	a		15.13	b	2.19	a
NaCl	4	29.8	a	3.04	a	NaHCO ₃	3.03	c	0.18	ab
	8	14.41	c	2.94	ab		0	d	0	b
	11.7	13.99	c	1.42	ab					
	15	2.89	d	0	c					

[¶]= prueba de medias entre nivel de sal, considerando todos los niveles de sales; letras distintas indican diferencias significativas ($P > F = 0.0001$) dentro de la columna;
[§]= se omitió el porcentaje de germinación del día 15 por ser igual al día 12, y los valores de las CE de 11.7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹ de la sal NaHCO₃; 19 y 28 dS m⁻¹ de NaCl por ser igual a cero.

Para la mezcla de sales (Cuadro 4), el máximo crecimiento de radícula y parte aérea ocurrió en la salinidad clorhídrico-sulfática y la de menor crecimiento fue la sulfática. El crecimiento de la radícula se favoreció con incrementos en las sales clorhídrica, sulfático-clorhídrica y sulfática; en cambio, la parte aérea fue inhabilitada en todas las sales a su concentración máxima (CE= 28 dS m⁻¹), excepto en la salinidad sulfática y fue favorecido por la salinidad clorhídrica. Ashraf *et al.* (1987), indicaron que la longitud del brote disminuyó como respuesta a incrementos en la concentración de NaCl, aunque algunos estudios muestran que la salinidad alta causa disminución en el rendimiento de la alfalfa, mientras la relación hoja/tallo aumenta e influye en la calidad de forraje (Flowers, 2004). Se observó que la mezcla de sales fue mejor para la germinación, en comparación a las sales puras, ya que en condiciones normales en el suelo y agua de riego, las sales se encuentran mezcladas y no en forma individual (Santamaría *et al.*, 2004).

place in the sulphate salt. Radicle growth was enhanced in the concentration of hydrochloric salts, sulfate-hydrochloric and sulfate salts. On the other hand, the aerial section became dabbled in all salts at their greatest concentration (CE= 28 dS m⁻¹), except in sulfate salinities, and it was enhanced by the hydrochloric salinity. Ashraf *et al.* (1987), on the other hand, indicated that the length of the sprout decreased quickly as a response to the increase in the concentration of NaCl, although studies show that high salinity causes a decrease in the yield of alfalfa, whereas the leaf to stem ratio increases and influences the amount of fodder (Flowers, 2004). It was possibility to notice that the mixture of salts was better for germination, as opposed to pure salts, which is favorable, since innormal soil and irrigation water conditions, salts are mixed and not found on their own (Santamaría *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Crecimiento vegetativo (mm) a 15 días de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en sales geoquímicas.

Table 4. Vegetative growth (mm) of alfalfa (*Medicago sativa* L.) after 15 days in geochemical salts.

Sal	Tratamiento	Radícula	†	Planta	†	Sal	Radícula	†	Planta	†
Testigo	0	25.99	ab	3.39	a	Testigo	25.99	ab	3.39	a
	2	2.99	d	1.93	b		28.18	a	3.91	a
Clorhídrica	4	17.04	b	3.78	a	Clorhídrico sulfática	24.05	b	3.55	a
	8	16.93	b	2.5	b		22.15	b	2.26	ab
	11.7	5.09	c	0.93	bc		12.56	c	2.92	ab
	15	3.75	cd	0.56	c		10.31	d	1.29	bc
	19	3.25	cd	0.37	c		2.94	e	0.42	c
	28	0.85	e	0	d		1.48	e	0	d
	2	23.43	ab	3.78	a		24.43	a	3.35	a
Sulfático clorhídrica	4	24.08	ab	3.27	a	Sulfático sódica	16.04	b	2.98	ab
	8	22.21	b	3.46	a		14.35	c	1.94	bc
	11.7	10.93	c	0.83	b		9.26	d	1.28	cd
	15	7.33	d	0.73	b		8.9	d	0.44	de
	19	7.11	de	0.73	b		6.63	d	0.95	cde
	28	3.72	e	0	c		4.31	e	0	e
	2	11.34	b	1.36	b					
Sulfática	4	22.54	a	3.04	a					
	8	5.55	c	0.26	bc					

†= prueba de medias entre nivel de sal, considerando todos los niveles de sales; letras distintas indican diferencias significativas (Pr > F = 0.0001) dentro de la columna; §= se omitió el porcentaje de germinación del día 15 por ser igual al día 12 y los valores de CE de 11.7, 15, 19 y 28 dS m⁻¹ de la sal sulfático-sódica por ser igual a cero.

CONCLUSIONES

Las sales $MgSO_4$ y sulfática registraron los porcentajes de germinación mayores; las sales geoquímicas fueron mejor en comparación a las sales puras; las sales $NaHCO_3$ y salinidad sulfático-sódica afectaron el brote de semillas.

El crecimiento de la parte aérea fue altamente afectado por la presencia de sales, en comparación al desarrollo de la radícula, tanto en las sales puras como en las geoquímicas. La sal con mayor desarrollo de radícula fue el $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ y de parte aérea fue el $MgSO_4$; el $NaHCO_3$ fue la sal con menor crecimiento en ambas. Para la mezcla de sales, el máximo crecimiento de radícula y parte aérea ocurrió en la salinidad clorhídrico-sulfática y la de menor crecimiento fue la sulfática.

LITERATURA CITADA

- Ashraf, M. T. McNeilly and Bradshaw, A. D. 1987. Selection and heritability of tolerance to sodium chloride in four forage species. *Crop. Sci.* 27:232-234.
- El-Keblawy, A. and Al-Rawai, A. 2006. Effects of seed maturation time and dry storage on light and temperature requirements during germination in invasive *Prosopis juliflora*. *Flora.* 201:135-143.
- Esechie, H. A. 1993. Interaction of salinity and temperature on the germination of alfalfa cv CUF 101. *Agronomie.* 13:301-306.
- Flowers, T. J. 2004. Improving crop salt tolerance. *J. Exp. Bot.* 55:145-152.

CONCLUSIONS

The sulfate and $MgSO_4$ salts presented the highest germination percentages, whereas geochemical salts were better in comparison to pure salts, and $NaHCO_3$ sulfate-sodium salinities affected the sprouting of the seeds.

The growth of the aerial section was highly affected by the presence of salts, as opposed to the growth of the radicle, both in pure and geochemical salts. The salt with the greatest radicle growth was $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, and $MgSO_4$ displayed the best growth of the aerial section. $NaHCO_3$ was the salt with the least growth in both sections. The greatest growth of the radicle and aerial section for salt mixture took place in the hydrochloric-sulfate salts, and the least growth took place in sulfate salts.

End of the English version



- Maas, E. V. 1990. Crop salt tolerance *In*: Tanji, K. K. (ed). Agricultural salinity assessment and management. Chapt 13 ASCE Manuals and Reports on Engineering 71. American Society. Of Engineering. N. Y., USA. 262-304 pp.
- Sánchez, B. E. E.; Ortega, E. M.; González, H. V.; Camacho, E. M. y Kohashi, S. J. 2008. Crecimiento de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) cv. Alpha, inducidos por diversas soluciones salinas. *Interciencia.* 33(9):1-9.
- Santamaría, C. J.; Figueroa, V. U. y Medina, M. M. C. 2004. Productividad de la alfalfa en condiciones de salinidad en el Distrito de Riego 017, Comarca Lagunera. *Terra Latinoam.* 22:(3)343-349.