



OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SALICORNIA BIGELOVII TRATADA CON SOLUCIONES SALINAS

JUAN DE DIOS LEÓN LARA*, ISIDRO RAMOSTORRES,
ROBERTO RODOLFO MARRUFO PINEDO, JESÚS BORBOA FÉLIX

RESUMEN

El presente trabajo muestra los resultados experimentales en la aplicación de tratamientos de diferentes concentraciones de Cloruro de sodio y Nitrato de sodio sobre la germinación de la semilla *Salicornia bigelovii*. La semilla utilizada proviene de 6 eco-tipos diferentes del estado de Sonora, cuya germinación se experimentó bajo condiciones controladas de 25°C y 100% de humedad relativa.

Los efectos de los tratamientos resultaron ser significativos (estadísticamente) en la eficiencia de germinación de la semilla en estudio, de manera que se obtuvieron tasas de germinación de hasta 97% bajo el tratamiento más prolífico: [] 100 mM de Cloruro de sodio y [] 100 mM Nitrato de sodio.

Por otra parte, se observó que la semilla del eco-tipo de mayor rendimiento proviene del estero Santa Rosa Chica, lo que lo hace atractivo, para experimentos posteriores. Además se observó que la germinación fue más temprana de lo esperado, lo que podría representar otra mejora en el proceso de producción de plantas *Salicornia Bigelovii*.

Palabras-clave: Germinación, halófitas, *Salicornia bigelovii*, diseño factorial

ABSTRACT

*This article shows how to improve the efficiency percentages in the process of seed germination *Salicornia bigelovii*. The seed used comes from 6 different eco-types from Sonora and its germination was tested under controlled conditions of 25°C and 100% relative humidity. The process effects were statistically significant in the germination efficiency of the tested seed, in such a way that, the results showed germination rates up to 97% under the most prolific treatment: [] 100 mM of sodium chloride and [] 100 mM of sodium nitrate. In other hand, it was observed that the seed eco-type with a higher yield comes from Santa Rosa Chica estuary, what makes it useful for future experiments. It was also observed that the germination was faster than it was expected and this could represent another improvement in the production process of the *Salicornia bigelovii* plants.*

Keywords: Germination, halophyte, *Salicornia bigelovii*, factorial design.

DR. JUAN DE DIOS LEÓN LARA
Departamento de Ingeniería Industrial,
Universidad de Sonora
Correo: jleon@industrial.uson.mx
M.C. ISIDRO RAMOS TORRES
Departamento de Ingeniería Industrial,
Universidad de Sonora
Correo: isidro.ramos@industrial.uson.mx

M.C. ROBERTO RODOLFO MARRUFO PINEDO
Departamento de Ingeniería Industrial,
Universidad de Sonora
Correo: marrufo@industrial.uson.mx
DR. JESÚS BORBOA FÉLIX
Departamento de Investigación y
Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora
Correo: jborboa@guayacan.uson.mx

*Autor para correspondencia: Juan de Dios León Lara

Correo electrónico: jleon@industrial.uson.mx

Recibido: 21 de marzo de 2014

Aceptado: 15 de mayo de 2014

ISSN: 2007-4530





INTRODUCCIÓN

La producción de algunas plantas halófitas en condiciones controladas es uno de los problemas que algunos investigadores han abordado en la búsqueda de mejorar su rendimiento. Una de ellas, la *Salicornia bigelovii* (espárrago de mar) es una planta halófito que se desarrolla en estado natural en el Noroeste de México y dadas sus propiedades nutricionales puede tener múltiples usos industriales, tales como la industria alimentaria, en la producción de ganado y/o como fuente de grasas para la producción de biocombustibles. En este sentido, se han dirigido variados estudios relacionados con la germinación y crecimiento de la *Salicornia bigelovii*. Específicamente en cuanto a la germinación a través de tratamientos de soluciones salinas.

Tal es el caso de la presente investigación, en la que se propone explorar los efectos de dos sustancias salinas: Cloruro de sodio y Nitrato de sodio como promotores de la germinación de la semilla de la *Salicornia bigelovii*, en la variedad regional del Noroeste de México, con el propósito de mejorar el rendimiento en la germinación bajo condiciones controladas.

ANTECEDENTES

Investigaciones como las desarrolladas por Khan, Gul y Weber (1) sobre germinación de semilla halófito utilizando niveles de dosificación de Cloruro de sodio hasta 1000 mM, obteniendo resultados no favorables al germinar menos del 50% de las muestras de semillas. Sin embargo, dentro de sus investigaciones muestran resultados favorables al momento de ir reduciendo las cantidades de dosis de 1000 a 100 mM de Cloruro de sodio. Esto sin especificar ni presentar los resultados con dicha disminución de dosis.

Lu, Bush, Hodges y Hodges (2), investigaron sobre los

efectos de la salinidad y temperatura en la germinación de la semilla *Salicornia bigelovii* Torr. Ellos aplicaron niveles de salinidad en un rango de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 partes por mil, a una temperatura constante de $20^{\circ} \text{C} \pm 0.5^{\circ} \text{C}$, obteniendo un porcentaje de germinación del 60%. Determinando además, como sugerencia que a medida en que el nivel de salinidad se incrementa, la temperatura se debería disminuir.

Por otro lado, la investigación desarrollada por Parks, Dietrich y Schumaker (3), determina la cantidad de inicio de la investigación sobre la eficiencia en el porcentaje de germinación de la semilla *Salicornia bigelovii*, utilizando concentraciones o dosis de Cloruro de sodio.

En investigación presentada por Borboa-Flores y otros (4) sobre la eficiencia en la germinación de semilla *Salicornia bigelovii*, utilizando Nitrato de sodio en dosis de 100 a 600 mM, los llevó a obtener resultados de 50% de eficiencia más respecto a los sujetos de control.

Por lo anterior, se consideró necesario que en la presente investigación se tomaran en cuenta ambas soluciones de Cloruro de sodio y Nitrato de sodio, como variables de estudio, primero de una manera independiente (cada solución y concentraciones de 50 a 650 mM); posteriormente, combinando las soluciones en experimentos factoriales con la cantidad de dosis de 100 a 600 mM, por resultar mejor la eficiencia en la germinación de la semilla *Salicornia bigelovii*.

OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

El objetivo principal de la presente investigación es mejorar el porcentaje de eficiencia en el proceso de germinación de la semilla *Salicornia bigelovii*, aplicando diferentes técnicas experimentales en seis eco-tipos de semilla, con soluciones de Cloruro de sodio y Nitrato de sodio para determinar las condiciones óptimas de

operación en términos de dosificación de cada solución, para maximizar la cantidad de semilla germinada como variable respuesta.

Los objetivos específicos son:

- 1) Evaluar las soluciones de Cloruro de sodio ($NaCl$) y Nitrato de sodio ($NaNO_3$) con diferentes dosis para la germinación de semilla *Salicornia* bajo condiciones controladas de laboratorio.
- 2) Determinar la significancia de las variables soluciones de Cloruro de sodio ($NaCl$) y Nitrato de sodio ($NaNO_3$), aplicando el Diseño Factorial 2^2 .
- 3) Determinación de una combinación empírica de soluciones de ($NaCl$) y ($NaNO_3$) que maximiza la germinación de la semilla de *Salicornia*.

MATERIALES Y MÉTODO

Materiales

Los experimentos se desarrollaron en el laboratorio de Entomología del Departamento de Investigación y Postgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora, en Hermosillo, Sonora, México. Se utilizaron semillas de *Salicornia bigelovii* provenientes de 6 eco-tipos diferentes del estado de Sonora (Tabla 1). Para efectos del control de las condiciones de germinación se utilizó una germinadora automática.

Tabla 1. Procedencia geográfica de eco-tipos de semillas.

Estero Santa Rosa Grande
Estero Santa Rosa Chica
Estero Cerro Prieto Peñasco
Estero S.O.S. de Bahía de Kino
Estero Santa Cruz
Estero Punta Banda

Metodología

La metodología seguida en el presente trabajo de investigación incluyó 6 pasos como puede verse en la diagrama de flujo de la figura 1.

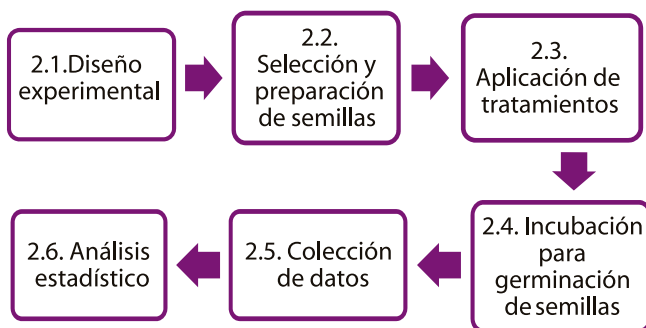


Figura 1. Metodología de investigación.



2.1. Diseño experimental

a) Diseños en bloques completamente aleatorizados

Este modelo se utilizó en dos experimentos independientes, aplicando tratamiento con Cloruro de sodio ($NaCl$) ó Nitrato de sodio ($NaNO_3$).

El modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

Dónde:

Y_{ij} : Cantidad de semillas germinadas por lote.

μ : Es la media general.

τ_i : Efecto del i – ésima concentración ($NaCl$) ó, como tratamientos con niveles de ($i = 50, 100, 350, 600, 650$) [] mMoles, Tabla 2).

β_j : Efecto de bloque j – ésimo eco-tipo ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$).

ε_{ij} : Error aleatorio.

Tabla 2. [] Concentraciones de Nitrato de sodio ($NaNO_3$) y Cloruro de sodio ($NaCl$).

[] (mM)	$NaNO_3$ al 99.6% (g)	$NaCl$ al 99.7% (g)
50	4.267	2.920
100	8.530	5.860
350	29.860	20.510
600	51.190	35.160
650	55.460	38.900

b) Diseño factorial 2²

El modelo aplicado tuvo el factor A: Cloruro de sodio ($NaCl$) y el B: Nitrato de sodio ($NaNO_3$), con 2 niveles cada uno de [] 100 y [] 600 mMoles respectivamente.

El modelo lineal estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (2)$$

Dónde:

Y_{ij} : Cantidad de semillas germinadas por lote.

μ : Efecto medio general.

τ_i : Efecto del Cloruro de sodio, i – ésima [],
 $i = 100, 600$ mMoles.

β_j : Efecto del Nitrato de sodio j – ésima [],
 $j = 100, 600$ mMoles.

$\tau\beta_{ij}$: Efecto de interacción,

ε_{ijk} : Componente del error aleatorio.

2.2. Selección y preparación de semillas

Se seleccionaron semillas de 6 eco-tipos del estado de Sonora (Tabla 1). Se formaron lotes de 50 semillas de cada eco-tipo para cada tratamiento de los experimentos. Posteriormente fueron lavadas con agua destilada.

2.3. Aplicación de tratamientos

Cada lote se trató con soluciones de Cloruro de sodio y/o el Nitrato de sodio por inmersión por 24 horas (Figura 2). Las concentraciones aplicadas obedecen al tratamiento especificado (Tabla 3).



Figura 2. Aplicación de tratamientos por inmersión.

Tabla 3. Anova para NaCl (obtenida de Minitab 15 ©).

Fuente	GL	SC	MC	F	P
[] mM NaCl	4	302.20	75.55	4.25	0.012
Eco-tipo	5	631.87	126.37	7.10	0.001
Error	20	355.80	17.79		
Total	29	1289.87			

2.4. Incubación para germinación de semillas

La germinación de las semillas se propició en pequeñas parcelas artificiales (cajas de Petri) de 50 semillas y mantenidas en una incubadora automática bajo condiciones homogéneas de 25°C de temperatura y una humedad relativa de 100% por 15 días (Figura 3).



Figura 3. Incubación de semillas.

2.5. Colección de datos

Después de 15 días de incubación, se realizó el conteo de semillas germinadas de cada tratamiento (parcela), siguiendo lo establecido en la ISTA (Figura 4).

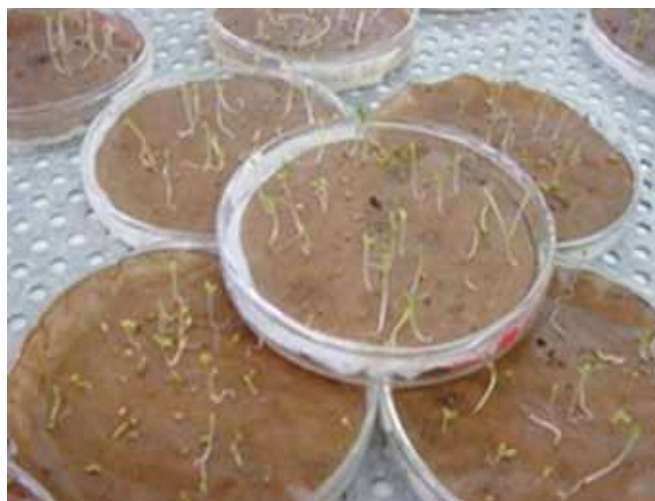


Figura 4. Conteo de semillas germinadas.

2.6. Análisis estadístico

Principalmente se utilizó análisis de varianza correspondiente a cada experimento con apoyo de gráficas. La confiabilidad del análisis de varianza se sustenta con la adecuación del modelo estadístico utilizado. La secuencia de experimentación se muestra en la figura 5.

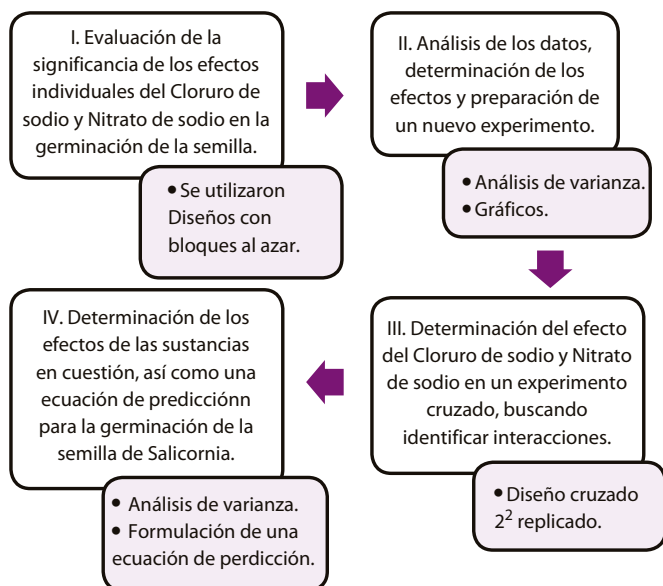


Figura 5. Secuencia de experimentación.

RESULTADOS

1. Evaluación de los efectos del Cloruro de sodio y Nitrato de sodio

a) Experimento con bloques aleatorizados aplicando 5 diferentes concentraciones de Cloruro de sodio ($NaCl$)

La germinación por concentraciones y diferentes eco-tipos se muestran en las gráficas de la figura 6, en la cual se observa un comportamiento diferenciado de una misma concentración en los distintos eco-tipos. Esta diferencia se ve en la figura 7, la que sugiere que la $[]$ 100 mM de $NaCl$ podría ofrecer una mayor germinación en promedio en cualquier eco-tipo.

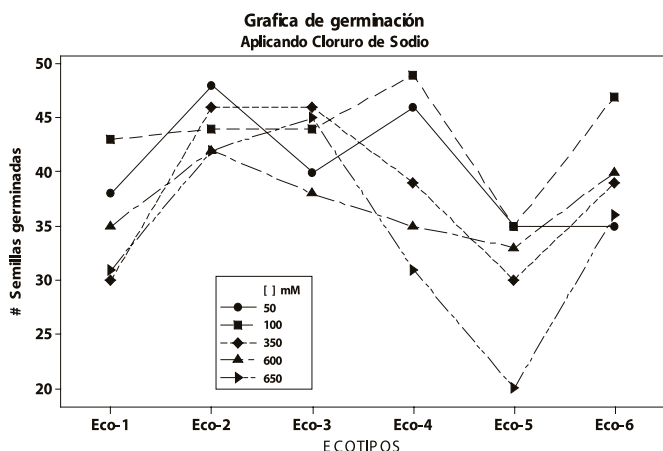


Figura 6. Germinación de semilla *Salicornia bigelovii* para cada concentración utilizada en los 6 eco-tipos diferentes (Obtenida de Minitab 15 ©).

Gráfica de Germinación
Las barras son un error estándar de la media

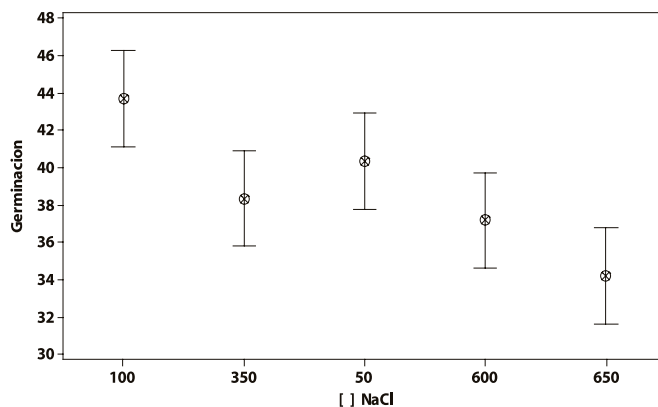


Figura 7. IC (95%) para cada concentración (Obtenida de Minitab 15 ©).

b) Experimento con bloques aleatorizados aplicando 5 diferentes concentraciones de ($NaNO_3$)

La germinación por concentraciones y diferentes eco-tipos se muestran en las gráficas de la figura 8, en la cual se observa un comportamiento diferenciado de una misma concentración en los distintos Eco-tipos. Esta diferencia se observa en la figura 9, la que sugiere que la $[]$ 100 mM de ($NaNO_3$) podría ofrecer una mayor germinación en promedio en cualquier eco-tipo.

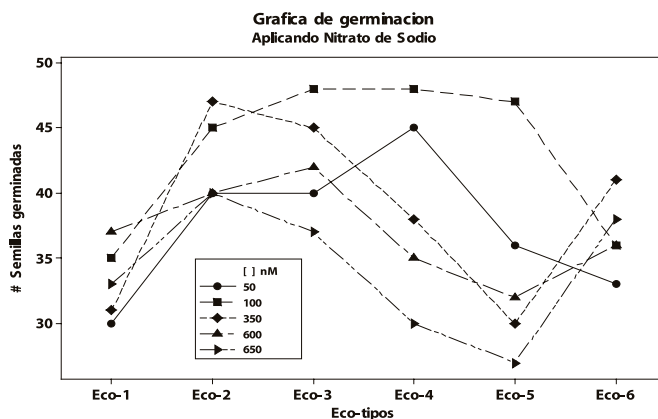


Figura 8. Germinación de semilla *Salicornia bigelovii* para cada concentración utilizada en los 6 eco-tipos diferentes (Obtenida de Minitab 15 ©).



Gráfica de germinación
Las barras son un error estándar de la media
Aplicando Nitrato de Sodio

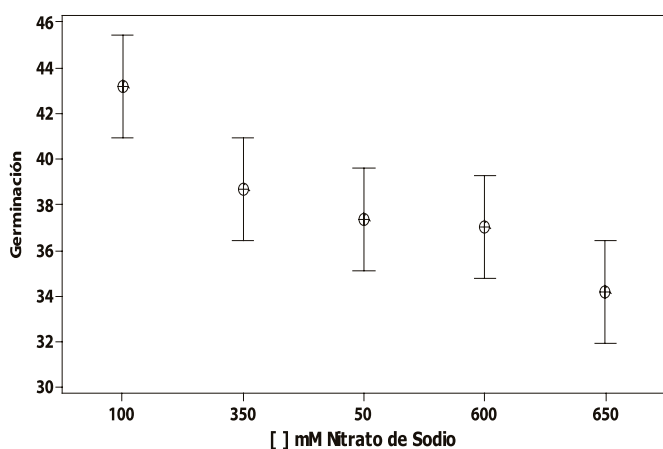


Figura 9. Germinación de semilla *Salicornia bigelovii* para cada concentración utilizada en los 6 eco-tipos diferentes (Obtenida de Minitab 15 ©).

c) Los efectos a nivel individual del Cloruro de sodio (*NaCl*) y Nitrato de sodio (*NaNO₃*)

A pesar de las diferencias en los eco-tipos, son estadísticamente significativos como se muestra en las tablas de análisis de varianza (Tablas 3 y 4). Lo importante de esta conclusión es que los efectos de los tratamientos son significativos, es decir, que su efecto modifica la germinación de la semilla.

Tabla 4. Anova para $NaNO_3$ (Obtenida de Minitab 15 ©).

Fuente	GL	SC	MC	F	P
[] mM Na NO3	4	259.53	64.88	3.39	0.028
Eco-tipo	5	387.87	77.57	4.06	0.011
Error	20	382.47	19.12		
Total	29	1029.87			

d) Determinación del efecto conjunto (Interacción) de los factores *NaCl* y *NaNO₃*

Una vez probado el efecto de manera individual del *NaCl* y *NaNO₃* sobre la germinación de la semilla, se planteó un segundo experimento 2^2 para observar un posible efecto combinado de ambas sustancias e iniciar la búsqueda de una combinación de ambas sustancias que tuviera un mayor rendimiento en la germinación; para ello, se aplicaron las concentraciones de 100 y 600 mMoles de cada factor *NaCl* y *NaNO₃*. Las semillas utilizadas fueron las del eco-tipo 2 que corresponden al Estero Santa Rosa Chica, la cual presentó mayor cantidad de semillas germinadas en la etapa anterior del diseño en bloques al azar.

El comportamiento medio por niveles de los tratamientos se muestra en la figura 10 en la que se observa que el tratamiento con concentraciones de 100 mMoles de ambas sustancias se obtiene el mayor rendimiento (de las concentraciones utilizadas), siendo ligeramente dominante la [] 100 mMoles de *NaCl*. Por otra parte, el menor rendimiento se observa bajo los efectos de los niveles de 600 mMoles de *NaCl* y *NaNO₃*.

Gráfica de intervalos de Germinación
Las barras son un error estándar de la media

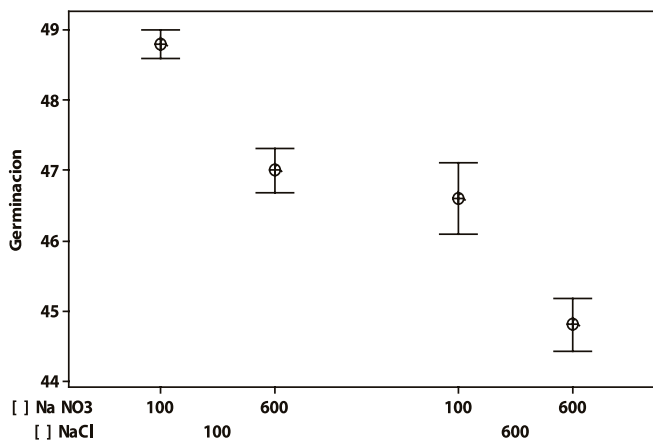


Figura 10. Gráfico de comportamientos medios para cada tratamiento de [] de *NaCl* y *NaNO₃* (Obtenida de Minitab 15 ©).

Gráfica de intervalos de % Germinación
95% IC para la media

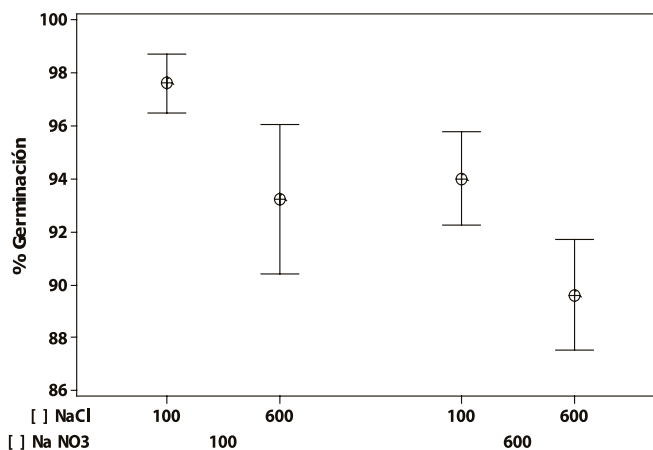


Figura 11. Gráfica de intervalos de porcentaje de germinación por tratamientos (Obtenida de Minitab 15 ©).

El análisis de varianza correspondiente confirma la significancia de los efectos de los factores (*NaCl*) y (*NaNO₃*) (Tabla 5); sin embargo, no se confirma la posibilidad de un efecto conjunto entre ambos factores como se observa en la figura 12 y se confirma en la Anova (Tabla 5).

Tabla 5. Anova 2² con factores (*NaCl*) y (*NaNO₃*) (Obtenida de Minitab 15 ©).

Fuente	GL	SC sec.	MC ajust F	P	
[] NaCl	1	24.20	24.200	35.85	0.000
[] Na NO3	1	16.200	16.200	24.00	0.000
[] NaCl*[]Na NO3	1	0.000	0.000	0.00	1.000
Error	16	10.800	0.675		
Total	19	51.200			

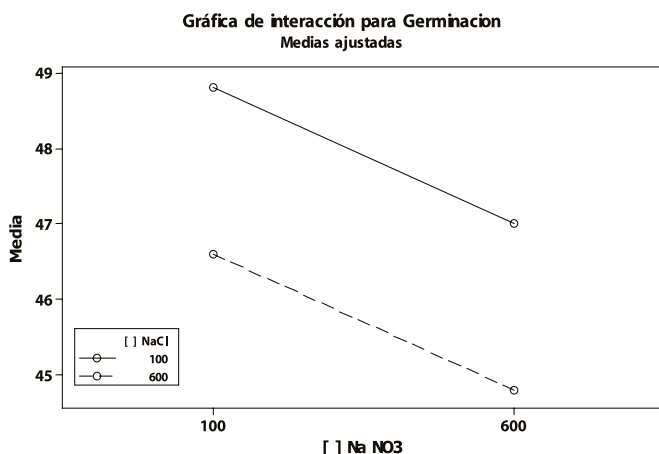


Figura 12. Gráfica de efectos medios de los factores (*NaCl*) y (*NaNO₃*) (Obtenida de Minitab 15 ©).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en cuanto a la contundencia de los efectos de las diferentes concentraciones de Cloruro de sodio y Nitrato de sodio son consistentes con anteriores investigaciones relacionadas; esto es, que a diferentes concentraciones de ambas sustancias se obtienen rendimientos significativamente distintos; sin embargo, en este caso, con la variedad regional de *Salicornia bigelovii*, las sustancias probadas mejoran el rendimiento obtenido en otras condiciones experimentales. Se obtuvieron, bajo concentraciones de [] 100 mM de Cloruro de sodio y [] 100 mM de Nitrato de sodio, los mejores rendimientos cercanos al 98% de germinación.

Cabe señalar también, que se observó una reducción notable en el tiempo de respuesta en la germinación de la semilla *Salicornia bigelovii* (no esperada); después de 6 días se inició la germinación contra hasta 15 días esperados que enmarca la norma International Seed Testing Association.

Los resultados obtenidos son alentadores en cuanto a la respuesta de la germinación de la semilla de la *Salicornia bigelovii* Regional. Sin embargo para argumentar que se haya obtenido una combinación óptima de concentraciones del Cloruro de sodio y Nitrato de sodio o cercana a la óptima, será necesario utilizar una herramienta experimental de optimización que es motivo de una nueva investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Khan, M.A., B. Gul, and Weber, D.J. (2002). Improving seed germination of *Salicornia rubra*. (Chenopodiaceae) under saline conditions using germination regulating chemicals. *Western North American Naturalist* 62: 101-105. (USA).
- 2) Lu, Z., Bush, D.L., Hodges, R.M., Hodges, C.N. (2014). Effects of salinity and temperature on seed germination of *Salicornia bigelovii* Torr. *American Society of Plant Biologists*. Consulta libre en: <http://abstracts.aspb.org/pb2001/public/P27/0925.html>. 25 de junio de 2014.
- 3) Parks, G.E., Dietrich, M. and Schumaker, K. S. (2001). Increased vacuolar Na⁺/H⁺ exchange activity in *Salicornia bigelovii* Torr. In response to NaCl. *Journal of Experimental Botany*. Consulta libre en: <http://jxb.oxfordjournals.org/content/53/371/1055>. short. 25 de junio de 2014.
- 4) Borboa-Flores J., Ortega-Nieblas M., Wong-Corral F.J., Fu-Castillo A. (2005). Efecto del Nitrato de Sodio sobre la germinación de seis ecotipos de *Salicornia bigelovii* del noroeste de México. V Congreso del Noroeste y I Nacional en Ciencias Alimentarias y Biotecnología. Hermosillo, Sonora, del 9 al 12 de noviembre 2005.

