

**ESTUDIO DE LA TOLERANCIA DE FAMILIAS DE MEDIOS HERMANOS DE
Lotus tenuis A LA SALINIDAD E INUNDACIÓN**

Trabajo Final de Grado
de la alumna



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 3 de febrero de 2025

**ESTUDIO DE LA TOLERANCIA DE FAMILIAS DE MEDIOS HERMANOS DE
Lotus tenuis A LA SALINIDAD E INUNDACIÓN**

Trabajo Final de Grado
de la alumna

ALMA VICTORIA MONSALVO

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Omar Scheneiter

Evaluador

Juan Mattera

Evaluador

Roque Guillén

Evaluador

Ivana Varea
Co-Directora

Agostina Affinito
Directora

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 3 de febrero de 2025

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mi directora de tesis, Agostina Affinito, por su invaluable orientación, apoyo y paciencia a lo largo de este proceso. Sus conocimientos y consejos han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A mi co-directora Ivana Varea, por el acompañamiento, predisposición y las sugerencias a lo largo de esta investigación.

A los profesores de la universidad por transmitirme sus conocimientos. Por su compromiso y dedicación han sido importantes para mi formación académica.

Agradecer a la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires por brindarme la oportunidad de formar parte de su comunidad académica. Esta institución fue un pilar esencial en mi crecimiento personal y profesional.

A todos mis compañeros que estuvieron en el transcurso de mi carrera, y especialmente a los que hoy son mis amigos, Caro, Gina, Silvi, Lu, Ro, Ceci, Anto, Miri y Bauti.

Finalmente, a todas las personas que me acompañaron durante todos estos años, principalmente a mi familia y a mi novio, gracias por su amor incondicional y por estar a mi lado en cada momento, tanto en las tristezas como alegrías. Su aliento y motivación fueron y serán mi mayor fortaleza.

PRESENTACIONES A CONGRESOS

Monsalvo, V.; Affinito, M. A.; Varea, I.; Maciel, M. A.; Andrés, A. (2022). Estudio del crecimiento de familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* en condiciones de salinidad e inundación. XXIX Jornadas de Jóvenes Investigadores de la AUGM. Sucre, Bolivia.

Monsalvo, V.; Affinito, M. A.; Varea, I.; Maciel, M. A.; Andrés, A. (2022). Estudio del crecimiento de familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* en condiciones de salinidad e inundación. II Congreso Multidisciplinario de la UNNOBA. Pergamino, Argentina.

Affinito, M. A.; Maciel M. A.; Varea I.; **Monsalvo A. V.**; Andrés A. (2022). Estudio de la tolerancia a la salinidad e inundación en familias de medios hermanos de *Lotus tenuis*. Revista Argentina de Producción Animal. 42 (1), 86-125.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
1. Problemática de la salinidad y la inundación en la producción agropecuaria	3
2. Efecto de la salinidad del suelo en las plantas	5
3. Efecto de la inundación en las plantas	6
4. Tolerancia a salinidad e inundación	7
5. La especie en estudio: <i>Lotus tenuis</i>	8
6. Variabilidad genética de <i>L. tenuis</i> en la tolerancia a salinidad e inundación	10
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS	12
1. Objetivo general	12
2. Objetivos específicos	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
1. Lugar	13
2. Material vegetal	13
3. Evaluación en invernáculo	14
4. Análisis de los datos	16
4.1 Análisis de la variabilidad fenotípica	16
4.2 Estimación de los componentes de variancia y parámetros genéticos	18
4.3 Asociación lineal	19
4.4 Análisis de componentes principales	19
RESULTADOS	20
1. Efectos de los tratamientos salino, inundado y salino-inundado	22
2. Comportamiento de las FMH a 16 y 29 días de iniciados los tratamientos	24
2.1 Caracteres relacionados con la estructura de planta	24
2.2 Caracteres relacionados con la producción de biomasa	28
3. Índices de tolerancia	32
3.1 Índice de tolerancia del peso seco aéreo	32
3.2 Índice de tolerancia del peso seco total	33
4. Relación entre productividad y tolerancia	34

5. Estimación de los componentes de variancia y parámetros genéticos- Heredabilidad en sentido estricto	36
6. Correlaciones fenotípicas	38
7. Análisis de Componentes Principales	38
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48

RESUMEN

Lotus tenuis es una leguminosa forrajera naturalizada en la Depresión del Salado. Si bien su productividad disminuye en suelos salinos e inundados, el crecimiento y la sobrevivencia de las plantas son mayores que en otras especies en estos ambientes. El objetivo de este estudio fue evaluar, durante la fase juvenil, la tolerancia a la salinidad e inundación de 9 familias de medios hermanos (FMH) que provienen de poblaciones naturalizadas colectadas en campos bajos de la provincia de Buenos Aires. Se realizó un ensayo en un invernáculo con condiciones semi-controladas, en un DBCA con dos repeticiones y cuatro tratamientos: riego con agua y libre drenaje (C), riego con NaCl 150 mM en condición de drenaje libre (S), sumersión de las plantas en agua hasta 2 cm sobre el nivel del sustrato y sin drenaje (I) y sumersión de las plantas en agua con NaCl 150 mM hasta 2 cm sobre el nivel del sustrato y sin drenaje (SI). A los 16 días de iniciados los tratamientos (ddi) se evaluó la longitud de tallo principal (LTP, cm) y el número de ramificaciones (NR) y a los 29 ddi se evaluaron LTP, NR, longitud de raíz (LR, cm), peso fresco aéreo (PFA, g), peso seco aéreo (PSA, g), peso seco radicular (PSR, g) y peso seco total (PST, g). Se estimó la tolerancia a cada condición individual y a la combinación de ambas para PSA y PST, como la relación entre el valor de cada planta en condición de estrés y la media del control.

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico InfoStat en su interfaz con R. Se ajustaron modelos con tres factores (FMH, tratamiento y fecha) para NR y LTP y con dos factores (FMH y tratamiento) para el resto de las variables, considerando correlación entre los errores y heterogeneidad de varianzas cuando fue necesario, y se realizó la prueba de comparaciones múltiples DGC en los casos en que se detectaron diferencias significativas ($p<0,05$). Los índices de tolerancia, que no presentaron un buen ajuste al aplicar un modelo general, se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución Gamma. Se estimaron los componentes de varianza y heredabilidad (h^2) por tratamiento en base a la media familiar para cada variable evaluada a los 29 días de iniciados los tratamientos a partir de las esperanzas de los cuadrados medios. Se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson y se realizó un análisis de componentes principales (ACP).

Los resultados indicaron que, si bien todos los genotipos sobrevivieron al experimento, evidenciando la tolerancia de la especie durante su fase juvenil a salinidad e inundación, las variables evaluadas presentaron valores promedio inferiores a los del control en las tres condiciones de estrés, con excepción de LTP que no disminuyó en el tratamiento I respecto al control. Esto evidencia la existencia de una adaptación a nivel morfológico mediante la elongación de los órganos aéreos, incrementando así el área foliar por encima del nivel del agua. Además, se encontró interacción significativa ($p<0,05$) entre FMH, tratamiento y fecha para LTP y NR y entre FMH y tratamiento para el resto de las variables, con excepción de los índices de tolerancia que evidenciaron diferencias significativas entre FMH. Al considerar la tolerancia y la productividad, las FMH 1 y 13 resultarían promisorias en las condiciones de estrés individual. Además, la FMH 1 presentó un buen comportamiento en la situación de estrés combinado. Las FMH 2, 7, 10 y 11 también podrían resultar de interés por ser productivas bajo estrés.

Se encontró alta h^2 para todas las variables estudiadas. Los valores hallados y el importante componente genético aditivo de las variables resultan promisorios para el programa de mejoramiento genético de *L. tenuis* en búsqueda de lograr cultivares de alta productividad para ambientes con limitantes por hidrohalomorfismo.

INTRODUCCIÓN

1. Problemática de la salinidad y la inundación en la producción agropecuaria

En los últimos tiempos a causa de la expansión agrícola, y particularmente desde la década del 90 con el proceso de “sojización”, la ganadería bovina se ha relocalizado a ambientes con mayores limitantes edafoclimáticas (Figura 1). Un ejemplo de ello lo constituyen las zonas bajas de la Pampa Deprimida (Figura 2). Esta zona es una extensa subregión de la provincia de Buenos Aires con 9.500.000 hectáreas, en donde se encuentran suelos con limitantes edáficas tales como: drenaje restringido, variaciones en la topografía, baja permeabilidad, napa freática cerca de superficie y alta alcalinidad y salinidad. Esto reduce significativamente el rendimiento de la mayoría de los cultivos (Coppi, 2010; Munns & Gilliam, 2015; Pesqueira, 2008; Striker & Colmer, 2017). Consecuentemente, estos suelos presentan dificultades para ser utilizados en la agricultura y la mayor parte de la superficie se destina a la ganadería, principalmente la cría de ganado vacuno.

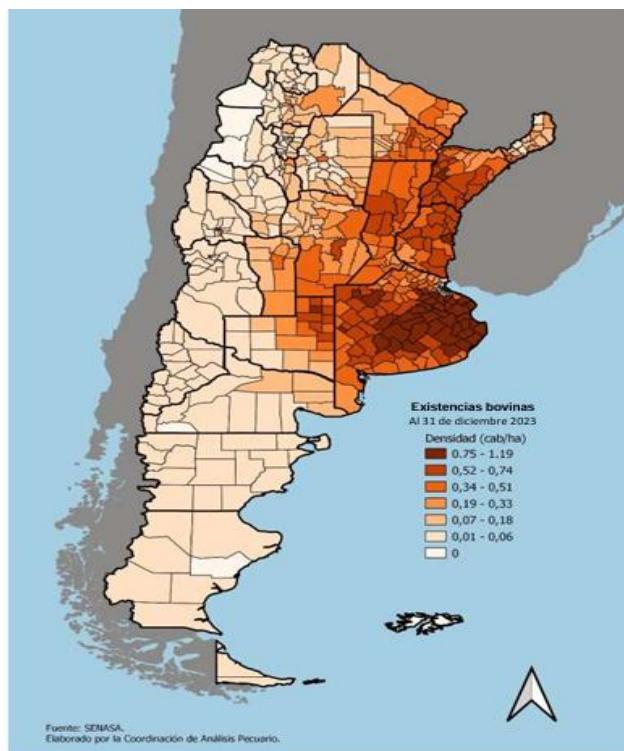


Figura 1: Mapa de densidad de las existencias de ganado bovino (cabezas/hectáreas) en Argentina, 2023. Fuente: Sistema de Gestión Sanitaria, Dirección Nacional de Sanidad Animal, SENASA, Argentina.

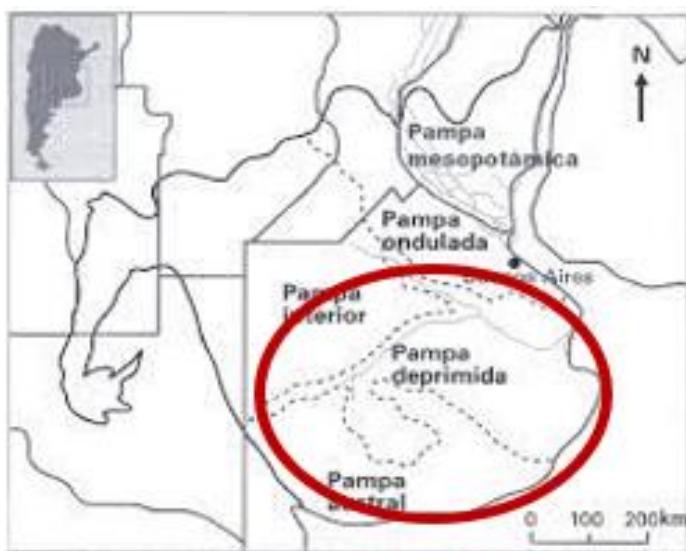


Figura 2: Región de la Pampa Deprimida de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Los períodos de inundación constituyen una perturbación natural de importancia creciente que afecta el rendimiento de cultivos y la producción de forraje en muchas regiones del mundo (Munns & Gillham, 2015). La salinidad del suelo es uno de los principales factores abióticos que afecta la productividad de los cultivos, limitando su crecimiento y rendimiento (Yamaguchi & Blumwald, 2005, Ashraf, 2009). Si el origen de la salinidad es antrópico, se pueden modificar las prácticas agrícolas para mitigar el problema. En cambio, si la salinidad es de origen natural, se debe recurrir al mejoramiento genético en búsqueda de nuevas variedades tolerantes a estas condiciones.

En el mundo, una gran parte de los suelos salinos se encuentran, además, afectados por anegamiento. Ambas condiciones causan estrés en la vegetación (Barrett-Lennard, 2003; Bennett *et al.*, 2009; Barrett-Lennard & Shabala, 2013). Al estar combinadas, pueden interactuar afectando a las plantas más severamente que la suma de ambos efectos en forma independiente (Barrett-Lennard, 2003; Teakle *et al.*, 2010). En la Pampa Deprimida al menos un 60 % de los suelos son halo-hidromórficos con drenaje deficiente y un exceso de sales y sodio (Taboada & Micucci, 2009).

2. Efecto de la salinidad del suelo en las plantas

Argentina, con 85 millones de hectáreas salinas o sódicas, es el tercer país con mayor superficie de suelos afectados por halomorfismo en el mundo, después de la Federación de Rusia y Australia (Abrol *et al.*, 1988). La reducción del crecimiento y desarrollo vegetal producida por las sales es el resultado de la acción combinada de varios factores que impactan, esencialmente, a través del efecto osmótico y del efecto específico (Greenway & Munns, 1980; Munns & Tester, 2008). En primer lugar, ocurre el efecto osmótico causado por iones de la solución del suelo, principalmente Na^+ y Cl^- que disminuyen la disponibilidad de agua, y causan pérdida de turgencia, inhibición de la extensión celular y de la acumulación de clorofila en hojas, pérdida de regulación estomática e inhibición del crecimiento. En relación a las vías simplásticas y apoplásticas, la primera se ve comprometida por la disminución progresiva de la diferencia de potencial hídrico entre el medio salino y el citosol. Cuando estos potenciales se igualan, se detiene la absorción neta de agua a través de esta vía. Por otro lado, la vía apoplástica no es afectada directamente por el entorno salino, sino que es capaz de funcionar hasta que se detenga la transpiración. Sin embargo, en condiciones salinas, la planta cierra los estomas para reducir la pérdida de agua, lo que también limita la entrada de agua a través de la vía apoplástica. Con las vías de entrada de agua afectadas por la salinidad, las células pierden turgencia, disminuyendo su tasa de elongación, afectando así su crecimiento y función (Fricke & Peters, 2002; Passioura & Munns, 2000; Taiz & Zeiger, 2002; Yeo *et al.*, 1991). Luego del efecto osmótico, se produce el efecto específico debido a la acumulación de sales, generando toxicidad. Esto provoca clorosis marginal en las hojas, se reduce el área fotosintética y disminuye la fotosíntesis neta. Además, se afecta negativamente la síntesis de proteínas, impactando en la fotosíntesis, metabolismo energético y producción de lípidos. En consecuencia, se produce un desbalance nutricional perjudicando así la absorción y transporte de nutrientes, afectando su disponibilidad (Hasegawa *et al.*, 2000; Munns, 2002; Munns & Tester, 2008; Munns *et al.*, 2016; Parida & Das, 2005; Shabala & Munns, 2017).

Las plantas enfrentan la salinidad principalmente a través de las raíces, siendo este el órgano que se encuentra en contacto directo con el ambiente salino. El

sistema radicular es la primera barrera al movimiento de agua y solutos en el interior de la planta. Como resultado, las concentraciones de iones que llegan a la parte aérea son diferentes a las del medio externo. La toxicidad iónica provocada por el estrés salino comienza cuando las concentraciones de Na^+ y Cl^- dentro de las células radicales sobrepasan los niveles normales y comienzan a traslocarse y acumularse en las hojas (Munns, 1993). Para mantener bajas concentraciones de Cl^- y Na^+ en la parte aérea, es fundamental la capacidad de la planta para regular la absorción y el transporte de estos iones desde las raíces hasta el tallo.

3. Efecto de la inundación en las plantas

Actualmente se estiman grandes áreas con problemas de anegamiento e inundaciones ($>1700 \text{ Mha}$), y se predice un incremento de las mismas para las próximas décadas debido al cambio climático global (Voesenek & Bailey-Serres; 2015, Hirabayashi *et al.*, 2017). La saturación de los poros de un suelo anegado inhibe el intercambio de gases entre las raíces y la atmósfera, generando hipoxia o anoxia en las raíces. El crecimiento de estas se reduce al igual que su absorción de agua y nutrientes, lo que afecta el suministro de energía para el crecimiento de la planta (Colmer & Greenway, 2011). Cuando la inundación también genera la sumersión de la parte aérea, se reduce la luz solar y el CO_2 para la fotosíntesis (Voesenek *et al.*, 2006).

La primera limitante para el crecimiento de las plantas en situación de anegamiento es la falta de oxígeno, esencial para mantener la respiración aeróbica en los tejidos sumergidos (Armstrong, 1980; Vartapetian & Jackson, 1997; Voesenek *et al.*, 2004). La segunda limitante, es la disminución del potencial redox del suelo a medida que aumenta el tiempo de anegamiento (Pezeshki & DeLaune, 1998; Pezeshki, 2001). Debido a esto aparecen compuestos potencialmente tóxicos como sulfuros, hierro y manganeso solubles, etanol, ácido láctico, acetaldehído y ácido acético y fórmico (Kozlowski, 1997; Fiedler *et al.*, 2007).

4. Tolerancia a salinidad e inundación

La tolerancia de las plantas al estrés es su capacidad de hacer frente a un ambiente desfavorable (Taiz & Zeiger, 2002). Desde el punto de vista biológico puede definirse como la habilidad de una planta para crecer y completar su ciclo de vida en condiciones estresantes. Desde el punto de vista agronómico involucra la capacidad de las plantas de sobrevivir y producir rendimientos económicos en condiciones de estrés (Udovenko, 1977).

La tolerancia a la salinidad depende de distintos mecanismos. Uno de ellos es el ajuste osmótico (Munns & Tester, 2008). Las plantas llevan a cabo un ajuste celular osmótico para restablecer el equilibrio iónico, efectuando una acumulación neta de solutos en respuesta al déficit hídrico que les permite disminuir el potencial osmótico celular y mantener una relación isotónica entre compartimentos subcelulares (Shabala & Munns, 2017). A nivel celular existen estrategias de tolerancia a la acumulación de Na^+ o, en algunas especies, de Cl^- . Elevadas concentraciones de estos iones en las hojas pueden ser toleradas por adaptaciones anatómicas y particiones intracelulares. Para mantener bajas concentraciones en el citoplasma, la célula puede excluir o compartmentalizar los iones a nivel celular e intracelular para evitar concentraciones tóxicas, principalmente en las células del mesófilo de la hoja (Munns & Tester, 2008, Munns *et al.*, 2016).

Las plantas desarrollan un conjunto de respuestas anatómicas, morfológicas y fisiológicas para hacer frente a la inmersión impuesta por las inundaciones (Armstrong, 1980; Kozlowski & Pallardy, 1984; Vartapetian & Jackson, 1997; Striker *et al.*, 2005; 2009). Las plantas tolerantes a la inundación suelen presentar mayor porosidad constitutiva en las raíces, y la capacidad de realizar modificaciones anatómicas que mejoran el intercambio gaseoso ante la deficiencia de oxígeno (Mustroph, 2018). Una de ellas es la formación de aerénquima, un tejido vegetal con espacios largos e interconectados llenos de gas (Justin & Armstrong, 1987; Seago *et al.*, 2005). Su formación es específica de algunas especies pudiendo diferir entre genotipos dentro de una misma especie (Colmer, 2003). El aerénquima ofrece a la planta una vía interna de baja

resistencia para el movimiento de oxígeno (Colmer *et al.*, 2006, Aschi–Smiti *et al.*, 2003), facilitando su transporte desde la parte aérea hasta la raíz y mejorando el estado energético de la planta (Aschi–Smiti *et al.*, 2003, Kolb & Joly, 2009). A nivel morfológico, las plantas incrementan su altura (Striker, 2012a). Además, las plantas pueden presentar modificaciones en su metabolismo, como la formación de ATP mediante fermentación (Mustroph, 2018), cambios en la fijación de carbono, cierre de estomas, reducción de la transpiración e inhibición de la fotosíntesis (Bradford & Hsiao, 1982; Else *et al.*, 1996; Insausti *et al.*, 2001; Striker *et al.*, 2005).

5. La especie en estudio: *Lotus tenuis*

Lotus tenuis (Waldst. et Kit) (Figura 3), conocida vulgarmente como lotus, trébol pata de pájaro o lotus de hoja angosta, es una especie originaria de Asia Menor y Europa (Lambrechtsen *et al.*, 1986). Introducida en Argentina en la década del '30 (Miñón *et al.*, 1990), ha logrado naturalizarse en la Pampa Deprimida gracias a su tolerancia a ciertos niveles de salinidad y anegamiento (Teakle *et al.*, 2006). Es una leguminosa perenne, de producción primavero-estivo-otoñal, con posibilidad de comenzar a producir a finales de invierno (Antonelli, 2010). Es una planta herbácea, con reproducción sexual alógama, sin órganos de propagación vegetativa aunque los tallos pueden generar raíces adventicias (Rompani, 2016). Su raíz es pivotante y ramificada, posee una corona bien desarrollada y no presenta estolones (Berasain Gomes de Freitas *et al.*, 2015). Los frutos son vainas de color castaño oscuro, dehiscentes. Las semillas son pequeñas (1,3 x 1 mm) y livianas (peso de 1000 semillas: 1,2 g) (Miñón *et al.*, 1990).



Figura 3: Dibujo botánico de *Lotus tenuis* (Watson & Dallwitz, 1992)

Lotus tenuis es de gran importancia por ser una leguminosa forrajera que puede cultivarse en suelos con limitaciones edáficas. El aporte de leguminosas forrajeras a los sistemas ganaderos genera un incremento del porcentaje de proteína a la dieta y la digestibilidad del forraje en comparación con pasturas basadas únicamente en gramíneas. Por eso mismo, y debido a la adaptación en áreas donde predominan las gramíneas y no prosperan especies leguminosas, *Lotus tenuis* es una buena alternativa (Buxton, 1996; Clua *et al.*, 1997; Gimenez, & Fernandez, 1997; Pesqueira, 2008; Teakle, 2008).

L. tenuis presenta capacidad de adaptarse a diversos ambientes. El hábito de crecimiento se modifica en ambientes con inundación, pasando de ser postrado a erecto bajo tales condiciones (Striker *et al.*, 2005). También presenta una mayor porosidad en las raíces respecto de otras especies debido a la presencia de aerénquima constitutivo, lo que genera una mejor aireación (Striker & Colmer, 2017). Respecto a la salinidad, *L. tenuis* se considera una especie tolerante (Teakle *et al.*, 2010). La exclusión de Cl⁻ y Na⁺ del xilema por medio de mecanismos de transporte de iones en las raíces, le permite a *L. tenuis* tolerar mejor el estrés generando menor acumulación de dichos iones en la parte aérea (Teakle *et al.*, 2010, Affinito, 2020). En comparación con la especie relacionada

Lotus corniculatus, *L. tenuis* presenta mayor tolerancia a la salinidad y a la combinación de salinidad y anegamiento (Teakle *et al.*, 2010).

6. Variabilidad genética de *L. tenuis* en la tolerancia a salinidad e inundación

Numerosas evidencias demuestran la presencia de una alta variabilidad genética a distintos niveles en el germoplasma de *L. tenuis*. Se encontró variabilidad en caracteres morfológicos entre y dentro de poblaciones naturales provenientes de distintos tipos de suelos de la provincia de Buenos Aires (Andrés & Rosso, 2007; Entio & Mujica, 2014; Ixtaina & Mujica, 2004; Kade *et al.*, 2003; Mendoza *et al.*, 2000; Stoffella *et al.*, 1998).

Por otra parte, existe un número apreciable de trabajos que destacan la existencia de variabilidad en la tolerancia a la salinidad de *L. tenuis* en las etapas de germinación y crecimiento vegetativo (Affinito, 2020; Franco, 2014; Ixtaina & Mujica, 2004; Paz *et al.*, 2005; Pesqueira, 2008; Schachtman & Kelman, 1991; Teakle *et al.*, 2006; Teakle *et al.*, 2010). En general, los trabajos mencionados hallaron una disminución en el crecimiento en condiciones salinas respecto al control y variabilidad en el crecimiento y en la sobrevivencia a nivel de genotipo, poblaciones naturales, poblaciones mejoradas y cultivares.

Respecto a la tolerancia al anegamiento o inundación se encontró variabilidad entre cinco poblaciones provenientes de la Pampa Deprimida (Vignolio *et al.*, 1999) y también entre cultivares (Real *et al.*, 2008). En otro estudio que también incluyó otras especies del género *Lotus*, se evaluaron 10 accesiones de *L. tenuis* y se encontró variabilidad intraespecífica en la tasa de elongación del tallo principal como respuesta a la inundación (Di Bella *et al.*, 2020).

Si bien existen trabajos en los que se evaluó la tolerancia a la combinación de salinidad e inundación de la especie respecto a otras especies del género, son escasos los estudios sobre su variabilidad intraespecífica. Teakle *et al.* (2006) hallaron variabilidad entre los cultivares Chajá, Larrañaga, Matrero y Angostura para la reducción del peso seco aéreo y de raíces cuando se impuso un estrés combinado de salinidad y anegamiento.

Las investigaciones realizadas en *L. tenuis* en la unidad integrada UNNOBA-INTA han permitido seleccionar familias de medios hermanos (FMH) tolerantes y susceptibles a salinidad (Andrés & Rosso, 2007; Franco, 2014; Franco Elisei, 2018; Affinito, 2020). En consecuencia, y considerando que el ambiente objetivo de la especie suele presentar combinación de limitantes, en el presente trabajo se inició el estudio de la tolerancia del germoplasma a un efecto combinado del estrés salino y la inundación. La obtención de germoplasma con tolerancia a estreses abióticos como salinidad e inundación es un objetivo central para el programa de mejoramiento genético de la especie.

HIPÓTESIS

Existe comportamiento diferencial entre familias de medios hermanos (FMH) de *Lotus tenuis* frente a la salinidad e inundación en fase vegetativa juvenil.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Estudiar el comportamiento de familias de medios hermanos (FMH) de *Lotus tenuis* en condiciones de salinidad e inundación durante su fase juvenil, para seleccionar germoplasma tolerante a dichos estreses.

2. Objetivos específicos

- Caracterizar fenotípicamente el crecimiento juvenil de FMH de *L. tenuis* en condiciones de salinidad, inundación y su combinación.
- Estimar componentes de varianza fenotípica y heredabilidad en sentido estricto en las FMH.
- Identificar FMH tolerantes y susceptibles a los estreses individuales y combinados para realizar selección.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar

El presente trabajo se desarrolló en la Unidad Integrada UNNOBA-INTA, en el invernáculo y en el Laboratorio de Biotecnología, ambos de la EEA INTA Pergamino.

2. Material vegetal

Se evaluaron 9 familias de medios hermanos (FMH) de *L. tenuis* obtenidas por el programa de mejoramiento genético de la especie de la Unidad Integrada UNNOBA-INTA, que provienen de poblaciones naturalizadas colectadas entre los años 2004 y 2006 en campos bajos de la provincia de Buenos Aires (Andrés & Rosso, 2007). Algunas de estas poblaciones fueron evaluadas y luego seleccionadas por su respuesta al estrés salino, con el propósito de detectar germoplasma tolerante, de elevada productividad de forraje y de semilla (Pesqueira *et al.*, 2007). A partir de dichos estudios se conformaron lotes de policruzamiento de poblaciones tolerantes y susceptibles a la salinidad y se obtuvieron FMH. Se seleccionaron 23 FMH por su producción de semilla que fueron evaluadas posteriormente en un estudio del comportamiento frente al estrés salino en fase vegetativa inicial y en germinación (Franco, 2014; Franco Elisei, 2018; Affinito, 2020). En el presente trabajo, se estudiaron 9 FMH de *L. tenuis* (Tabla 1), con el propósito de determinar su comportamiento en condiciones de salinidad e inundación.

Tabla 1. Nueve FMH de *L. tenuis*, seleccionadas de las 23 originales, comportamiento previo en relación a la tolerancia a salinidad y población que le dio origen.

Nº de campo	FMH	Comportamiento previo frente a NaCl*	ORIGEN
1	447	No concluyente, de buena productividad	Población 4 (Ruta 30)
2	490	No concluyente, de buena productividad	Población 4 (Ruta 30)
3	685	Susceptible, de baja productividad	Población 6 (Chacabuco)
5	691	No concluyente, de baja productividad	Población 6 (Chacabuco)
7	1193	Tolerante, de buena productividad	Población 11 (Riva)
8	1195	No concluyente, baja productividad	Población 11 (Riva)
10	1897	Tolerante, baja productividad	Población 11 (Riva)
11	2241	Susceptible, de buena productividad	Cultivar Gapp
13	2297	No concluyente, baja productividad	Cultivar Gapp

*Según Franco (2014), Franco Elisei (2018) y Affinito (2020). No concluyente: de tolerancia a NaCl variable entre los distintos ensayos realizados.

3. Evaluación en invernáculo

El germoplasma se evaluó en invernáculo sin calefaccionar durante 29 días (Figura 4). La temperatura media durante el ensayo fue de 19 °C, con una mínima de 10,8 °C y una máxima de 26,6 °C.



Figura 4. Ensayo de evaluación de la respuesta de FMH de *L. tenuis* en condiciones de salinidad e inundación. Imágenes a los 0, 16 y 29 días de iniciados los tratamientos (ddi).

Previamente, las semillas fueron sometidas a escarificación física y luego se sembraron en macetas de polietileno de 100 ml con una mezcla de tierra y arena (1:1). Durante un periodo de 30 días las plantas fueron regadas con solución nutritiva (Hoagland & Arnon, 1950). Cuando las plantas alcanzaron un promedio de cuatro ramificaciones, se dio inicio al ensayo. Se colocaron seis macetas con plantas individuales de cada FMH en contenedores de plástico de 14 cm x 19 cm x 40 cm. Cada contenedor constituyó una unidad experimental. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con dos repeticiones y cuatro tratamientos:

- Control (C): riego con agua y libre drenaje, capacidad de campo.
- Salinidad (S): riego con NaCl 150 mM en condición de drenaje libre, a capacidad de campo.
- Inundación (I): sumersión de las plantas en agua hasta 2 cm sobre el nivel del sustrato y sin drenaje.
- Salinidad e inundación (SI): se combinaron los dos tratamientos anteriores, sumergiendo las plantas en agua con NaCl 150 mM hasta 2 cm sobre el nivel de sustrato y sin drenaje.

Es oportuno aclarar que la concentración salina se incrementó gradualmente para evitar *shock* osmótico, a razón de 50 mM por día.

Al inicio del ensayo se midió la longitud de tallo principal (LTP, cm). A los 16 días de iniciados los tratamientos salinos (ddi) se midieron la longitud de tallo principal (LTP, cm) y el número de ramificaciones (NR). A los 29 ddi, se separó la parte aérea y radicular de cada planta y se determinó: longitud de tallo principal (LTP, cm), número de ramificaciones (NR), longitud de raíz (LR, cm), peso fresco aéreo (PFA, g), peso seco aéreo (PSA, g), peso seco radicular (PSR, g) y peso seco total (PST, g). Para la determinación del peso seco, las muestras se secaron en estufa a 70 °C durante 3 días hasta peso constante. Una vez secas, fueron pesadas utilizando una balanza analítica.

Se estimó la tolerancia a la salinidad para PSA y PST a partir de la siguiente relación:

$$\text{Índice de tolerancia} = \frac{\text{xi}}{\text{Xc}}$$

Donde x_i = valor de cada plántula sometida a estrés; y X_c = media del control.

Estimado el índice de tolerancia, las variables mencionadas fueron definidas como: índice de tolerancia del peso seco aéreo (ITPSA) e índice de tolerancia del peso seco total (ITPST). El listado de variables evaluadas así como el momento y unidad de medición se encuentra en la tabla 2.

Tabla 2. Variables evaluadas en las 9 FMH de *L. tenuis* con sus respectivas unidades de medición y momento de evaluación de las mismas.

Variable	Unidad	Momento de evaluación
LTP	cm	16 ddi 29 ddi
NR	Nº	16 ddi 29 ddi
PFA	g	29 ddi
PSA	g	29 ddi
PSR	g	29 ddi
PST	g	29 ddi
ITPFA	-	29 ddi
ITPSA	-	29 ddi

4. Análisis de los datos

Se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017) en su interfaz con R.

4.1 Análisis de la variabilidad fenotípica

Para conocer y determinar la variación presente entre las familias de *L. tenuis* se realizó el análisis de variancia (ANOVA) para todas las variables evaluadas y los índices de tolerancia. Previamente, se determinó si las variables presentaban distribución normal mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y mediante

Q-Q plots de los residuos. También se realizaron gráficos de dispersión de los residuos versus los valores predichos. Se ajustaron modelos para heterogeneidad de variancias y/o datos correlacionados mediante el módulo de modelos lineales generales y mixtos (MLM). Las variables ITPSA e ITPST que no presentaron un buen ajuste, se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución Gamma en el módulo MLGM de Infostat.

El modelo estadístico lineal utilizado para las variables LTP y NR que se evaluaron en dos fechas fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + \phi_{ijl} + \beta_l + \tau_i + \delta_j + \gamma_k + (\tau\delta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\delta\gamma)_{jk} + (\tau\delta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijk} es la observación debido a la i-ésima familia del l-ésimo bloque, en el j-ésimo tratamiento y en la k-ésima fecha; μ representa la media poblacional; ϕ_{ijl} es la covariable LTP evaluada al inicio del ensayo; β_l es el efecto del l-ésimo bloque; τ_i es el efecto de la i-ésima familia; δ_j es el efecto del j-ésimo tratamiento; γ_k es el efecto de la k-ésima fecha; $(\tau\delta)_{ij}$ es el efecto de la interacción entre la i-ésima familia y el j-ésimo tratamiento; $(\tau\gamma)_{ik}$ es el efecto de la interacción entre la i-ésima familia y la k-ésima fecha; $(\delta\gamma)_{jk}$ es el efecto de la interacción entre el j-ésimo tratamiento y la k-ésima fecha; $(\tau\delta\gamma)_{ijk}$ es el efecto de la interacción entre la i-ésima familia, el j-ésimo tratamiento y la k-ésima fecha; ε_{ijkl} es el término de error de la ijkl observación debido a la variación ambiental.

El modelo estadístico lineal utilizado para las variables evaluadas únicamente al final del ensayo fue:

$$Y_{ijl} = \mu + \phi_{ijl} + \beta_l + \tau_i + \delta_j + (\tau\delta)_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: Y_{ij} es la observación debido a la i-ésima familia del l-ésimo bloque, en el j-ésimo tratamiento; μ representa la media poblacional; ϕ_{ijl} es la covariable LTP evaluada al inicio del ensayo; β_l es el efecto del l-ésimo bloque; τ_i es el efecto de la i-ésima familia; δ_j es el efecto del j-ésimo tratamiento; $(\tau\delta)_{ij}$ es el efecto de la interacción entre la i-ésima familia y el j-ésimo tratamiento; ε_{ijkl} es el término de

error de la ij_l observación debido a la variación ambiental.

En los casos en que se detectaron diferencias significativas ($p<0,05$), se realizó la prueba de comparaciones múltiples DGC, con el objetivo de detectar cuáles familias, tratamientos o fechas difirieron significativamente en la media de los caracteres evaluados.

4.2 Estimación de los componentes de variancia y parámetros genéticos

Las estimaciones de los componentes de variancia son empleadas para determinar la proporción de la variancia fenotípica explicada por efectos genéticos y la proporción de la variancia genética total explicada por efectos genéticos aditivos. La heredabilidad expresa la proporción de la variancia total que es atribuible a los efectos medios de los genes y esto es lo que determina el grado de parecido entre parientes (Franco, 2014).

Los componentes de variancia (varianza familiar, ambiental y fenotípica) se estimaron a partir de las esperanzas de los cuadrados medios obtenidas en los análisis de variancia de cada variable para cada tratamiento a los 29 días de iniciados los mismos.

Se estimó la heredabilidad en sentido estricto en base a la media familiar (h^2_{PFM}) para cada variable evaluada a los 29 días de iniciados los tratamientos y para cada tratamiento a partir de las esperanzas de los cuadrados medios utilizando la siguiente fórmula (Nguyen y Sleper, 1983):

$$h^2_{PFM} = \frac{\sigma^2 f}{\sigma^2 f + \sigma^2 / r}$$

Donde

- $\sigma^2 f$ es la variancia genética existente entre las FMH y surge de:

$$\sigma^2 f = (CMF - CME) / r$$

- σ^2 es la variancia del error que expresa la variación ambiental y es igual al CME
- r son las repeticiones

4.3 Asociación lineal

La asociación entre dos caracteres que pueden ser directamente observados es la correlación de valores fenotípicos o correlación fenotípica. Se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson utilizando Infostat. Se trata de una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las mismas.

4.4 Análisis de componentes principales

Con los datos obtenidos, se aplicó análisis de componentes principales (ACP). Este análisis se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo de este análisis es poder condensar la información obtenida, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad posible. El mismo se realizó mediante Análisis de Componentes Principales del paquete estadístico Infostat utilizando la matriz de correlación de las variables.

RESULTADOS

En la Tabla 3 se presentan los indicadores estadísticos y p-values promedio de todas las FMH para las variables estudiadas. La triple interacción (FMH*Fecha*Tratamiento) resultó significativa para las variables NR y LTP. Existió interacción entre FMH y tratamiento para las variables LR, PFA, PSA, PSR y PST. Los índices de tolerancia fueron afectados por los tratamientos y las FMH.

Tabla 3. Comportamiento promedio de las FMH de *Lotus tenuis* para todas las variables estudiadas. Media, coeficiente de variación (C.V.), desvío estándar (D.E.), valores mínimo y máximo y p-valor para FMH, tratamiento, interacción FMH y Tratamiento e interacción FMH, tratamiento y Fecha.

Variable (unidad)	Media	C.V.	D.E.	Mínimo	Máximo	p-valor Tratamiento	p-valor FMH	p-valor FMH*Tratamiento	p-valor FMH*Tratamiento*Fecha
NR 16 ddi	7,12	22,89	1,63	2,00	11,00	<0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001
NR 29 ddi	12,57	34,67	4,36	1,00	34,00				
LTP (cm) 16 ddi	15,95	30,37	4,84	2,00	30,50	<0,0001	<0,0001	0,0052	0,0126
LTP (cm) 29 ddi	18,81	32,39	6,09	2,00	41,00				
PFA (g)	2,94	51,25	1,50	0,02	8,69	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-
LR (cm)	9,96	22,89	1,84	2,50	14,50	<0,0001	<0,0001	0,0007	-
PSA (g)	0,52	54,61	0,28	0,01	1,58	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-
PSR (g)	0,15	74,09	0,11	0,004	1,23	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-
PST (g)	0,67	56,17	0,37	0,01	2,17	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-
ITPSA	0,68	67,19	0,45	0,03	3,54	<0,0001	<0,0001	0,4117	-
ITPST	0,64	64,23	0,41	0,02	2,66	0,0035	<0,0001	0,4452	-

En color gris se indican los casos con diferencias significativas ($p<0,05$). NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total; ITPSA: Índice de tolerancia del peso seco aéreo; ITPST: Índice de tolerancia del peso seco total. ddi: días desde el inicio de los tratamientos.

1. Efectos de los tratamientos salino, inundado y salino-inundado

En la tabla 4 se observa el comportamiento promedio de todos los genotipos evaluados en cada tratamiento para cada una de las variables. En el caso de NR y LTP que se evaluaron en dos fechas, se observa que las plantas no detuvieron su crecimiento en ninguno de los tratamientos, presentando medias mayores en la segunda fecha respecto a la primera. En la primera fecha de medición hubo una reducción de NR respecto al control únicamente en el tratamiento I. En la segunda fecha, existió una disminución en el número de ramificaciones con respecto al control sin diferencias significativas ($p>0,05$) entre los tratamientos S, I y S-I. Para la variable LTP, en la primera fecha, se observó una disminución respecto al control para los tratamientos S y S-I, sin diferencias significativas entre sí, mientras que no se detectó efecto del tratamiento I. En la segunda fecha no existieron diferencias significativas entre el control y el tratamiento I, pero si existió una reducción de la longitud del tallo principal en los tratamientos S y S-I , siendo el estrés salino el que generó una mayor reducción. Las variables relacionadas con las raíces (LR y PSR) presentaron una tendencia similar entre sí, reduciéndose en las tres condiciones de estrés con respecto al control, pero más notablemente en los tratamientos I y S- I . Tanto en la variable PFA como PSA los cuatro tratamientos tuvieron diferencias significativas siendo el tratamiento S el que presentó menor peso fresco aéreo promedio, mientras que la combinación S-I , mostró mayor reducción del peso seco aéreo. Por último, hubo una reducción del PST en condiciones de estrés respecto al control, siendo el tratamiento S-I el que más afectó el peso seco total, mientras los tratamientos S e I no presentaron diferencias significativas entre sí.

Tabla 4: Efecto de los tratamientos salinos sobre las variables evaluadas en 9 FMH de *Lotus tenuis*. Medias ± errores estándar y porcentajes de reducción de las variables respecto del control por efecto de la concentración salina, inundación y salino-inundado.

Variable (unidad)	Fecha	Tratamientos			
		C	I	S	SI
NR (n°)	16 ddi	7,50 ± 0,12 C	6,69 ± 0,10 D	7,18 ± 0,12 C	7,20 ± 0,12 C
	29 ddi	14,75 ± 0,35 A	12,18 ± 0,30 B	11,32 ± 0,28 B	11,55 ± 0,27 B
LTP (cm)	16 ddi	17,43 ± 0,28 B	17,55 ± 0,29 B	14,30 ± 0,28 D	14,62 ± 0,29 D
	29 ddi	20,82 ± 0,35 A	21,97 ± 0,32 A	15,17 ± 0,22 C	16,94 ± 0,32 B
LR (cm)	29 ddi	10,67 ± 0,13 A	9,53 ± 0,18 C	10,22 ± 0,10 B	9,54 ± 0,14 C
PFA (g)	29 ddi	3,99 ± 0,11 A	3,27 ± 0,10 B	2,04 ± 0,04 D	2,46 ± 0,07 C
PSA (g)	29 ddi	0,74 ± 0,02 A	0,52 ± 0,02 B	0,45 ± 0,01 C	0,38 ± 0,01 D
PSR (g)	29 ddi	0,23 ± 0,01 A	0,11 ± 4,9E-03 C	0,14 ± 4,4E-03 B	0,10 ± 4,0E-03 C
PST (g)	29 ddi	0,96 ± 0,03 A	0,63 ± 0,02 B	0,58 ± 0,01 B	0,47 ± 0,01 C

Letras distintas entre filas y entre columnas en cada variable indican diferencias significativas ($p<0,05$). NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total. ddi: días desde el inicio de los tratamientos.

2. Comportamiento de las FMH a 16 y 29 días de iniciados los tratamientos

Se presentan los resultados del comportamiento de las 9 FMH para cada variable *per se* evaluada a los 16 y 29 ddi.

2.1 Caracteres relacionados con la estructura de planta

Las variables NR, LTP, y LR están relacionadas a la estructura de la planta y su habilidad de establecimiento.

2.1.1 Número de ramificaciones

En la primera fecha de evaluación (Figura 5), las FMH 1, 2 y 10 no presentaron diferencias significativas entre ellas ni entre los tratamientos. Lo mismo ocurrió con las FMH 3 y 5 pero estas presentaron menores NR en todos los tratamientos que las tres FMH mencionadas con anterioridad. Las familias 8 y 11 mostraron una reducción del NR en condiciones de estrés respecto al control.

En la segunda fecha (Figura 6), las FMH 1 y 2 resultaron las de mayor NR, sin presentar diferencias entre sí, y siendo las de mayor número de ramificaciones en las tres condiciones de estrés, a pesar de presentar reducción respecto al control. Las FMH 7, 8, 10 y 11 presentaron una reducción del NR en condiciones de estrés respecto al control en esta fecha y medias inferiores a las FMH 1 y 2, excepto el control de la familia 7 que no presentó diferencias con las familias antes mencionadas. Las familias 3 y 13 no presentaron diferencias entre los tratamientos y la familia 5 presentó menor NR en el tratamiento salino. Además estas tres FMH presentaron menor número de ramificaciones que las demás en el control.

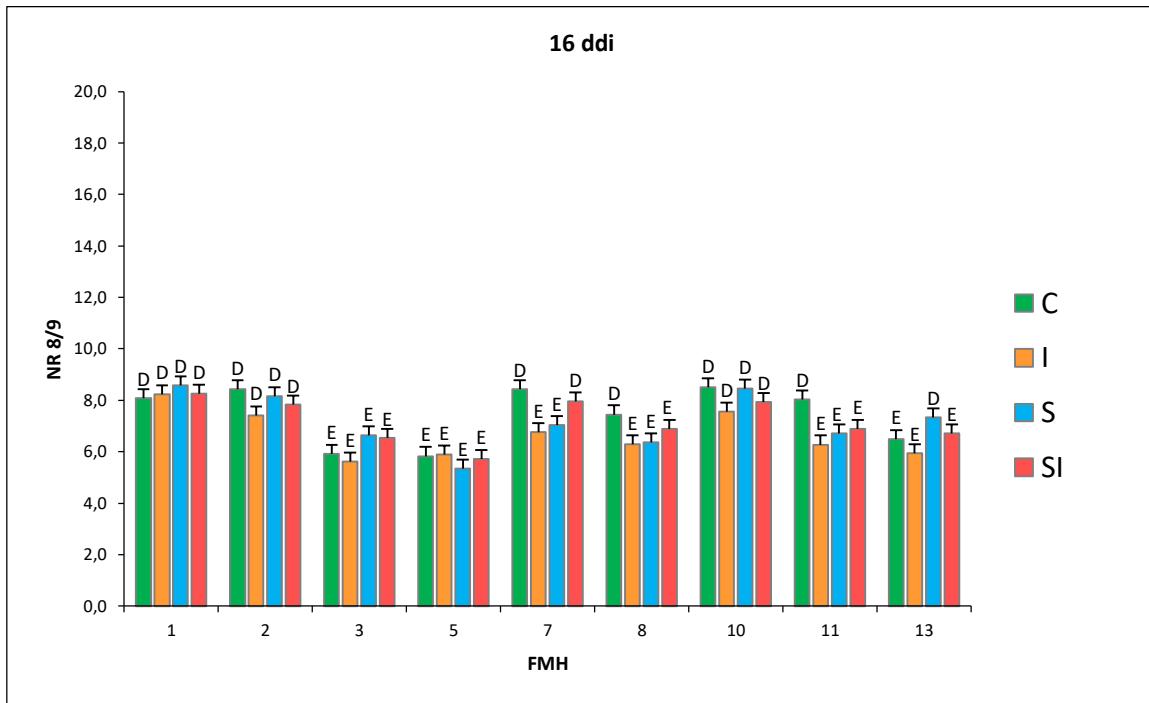


Figura 5. Número de ramificaciones promedio de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 16 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; I: Inundado; S: Salino; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

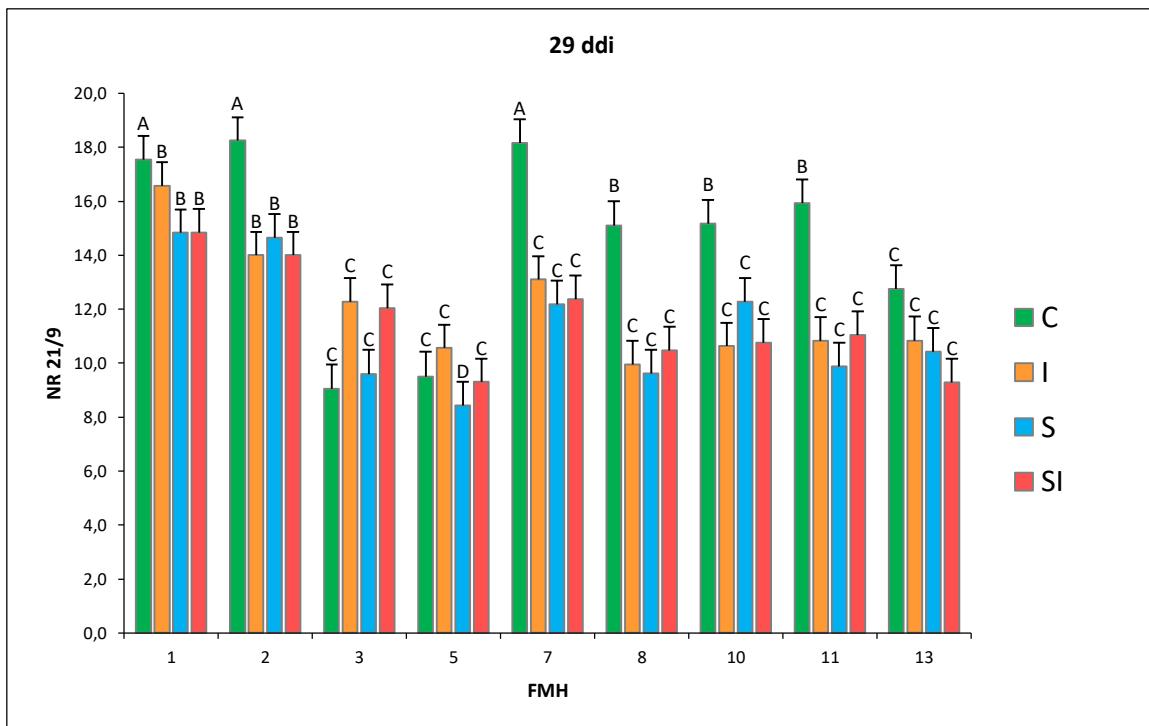


Figura 6. Número de ramificaciones promedio de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; I: Inundado; S: Salino; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.1.2 Longitud del tallo principal

En la primera fecha de evaluación (Figura 7), la mayor parte de las familias no presentó diferencias entre el control y el tratamiento de I. La familia 13 fue la que mayor longitud presentó en esa condición. Las FMH 8, 10, 11 y 13 presentaron mayor LTP que las demás en el tratamiento S-I. Se puede observar que las FMH 3 y 5 fueron las de menor longitud en todos los tratamientos, con una media significativamente mayor en el tratamiento de I que en los demás. Esta tendencia se acentúa en la segunda fecha de evaluación (Figura 8), en la que estas familias mantuvieron una baja longitud. En esta fecha, la FMH 13 fue la de mayor longitud en el tratamiento I y en el S-I , mientras que, en el tratamiento S, todas las familias, excepto la 3 y la 5, presentaron medias similares para la variable.

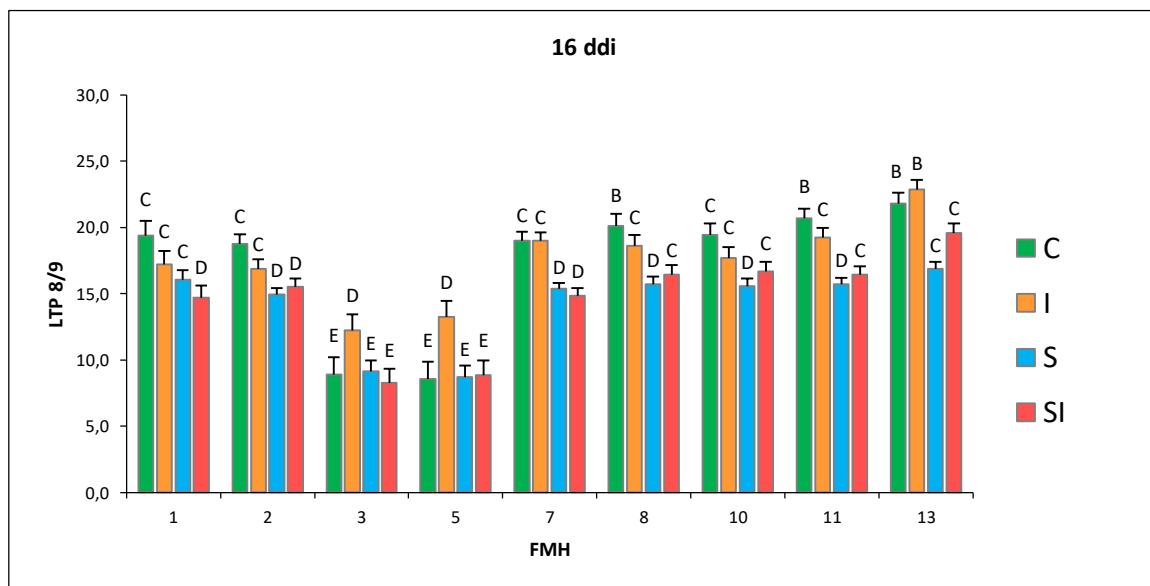


Figura 7. Longitud del tallo principal promedio de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 16 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; I: Inundado; S: Salino; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

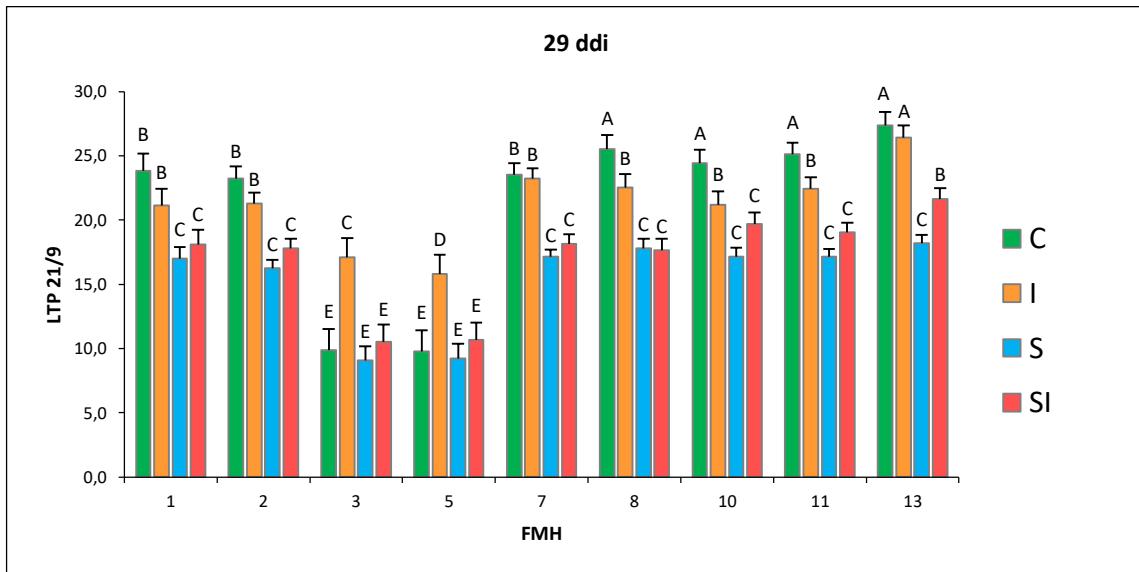


Figura 8. Longitud del tallo principal promedio de las 9 FMH a de *L. tenuis* los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; I: Inundado; S: Salino; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.1.3 Longitud de raíz

La familia 1 tuvo una longitud de raíz significativamente mayor bajo el tratamiento S, con diferencias notables respecto a los demás tratamientos (Figura 9). Las familias 2, 3 y 5 no tuvieron diferencias entre el control y el tratamiento de S, mientras que en los tratamientos de I y S-I presentaron menor longitud de raíz. Es destacable que la familia 2 presentó mayor longitud que las demás en el tratamiento S, sin diferencias significativas respecto al control. Las familias 7, 10 y 11 presentaron medias similares para la variable en todos los tratamientos, sin diferencias entre ellos. Las familias 8 y 13, tuvieron diferencias en los tratamientos de S, I y S-I comparación con el control, pero no se observaron diferencias significativas entre los mismos.

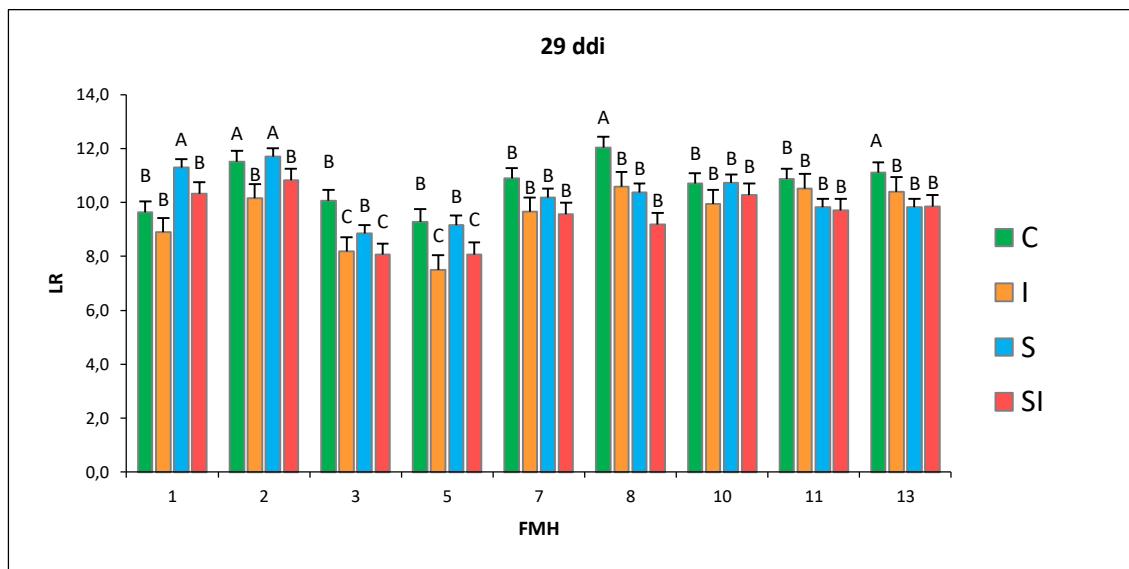


Figura 9. Longitud raíz promedio de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; S: Salino; I: Inundado; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.2 Caracteres relacionados con la producción de biomasa

Las variables PFA, PSA, PSR y PST están relacionadas con la producción de materia seca de la planta y resultan de importancia en la productividad de *L. tenuis*.

2.2.1 Peso fresco aéreo

La mayor parte de las FMH presentaron mayor PFA en el control que en los demás tratamientos y se vieron más afectadas en los tratamientos S y S-I que en el de I (Figura 10). Las tres excepciones son las FMH que menor peso fresco presentaron en el control. De ellas, la FMH 13 no presentó diferencias entre el control y el tratamiento I, pero sí con el S y el S-I. Las FMH 3 y 5 presentaron un peso fresco en el control inferior a los de todos los tratamientos de las demás familias, sin diferencias con los tratamientos S y S-I y con un PFA significativamente superior en el tratamiento I. Las familias 1 y 2 presentaron mayor PFA en el tratamiento combinado que las demás. No existieron diferencias entre FMH en los tratamientos I y S, a excepción de la 3 y la 5 que como ya se mencionó presentaron PFA inferior en todos los casos.

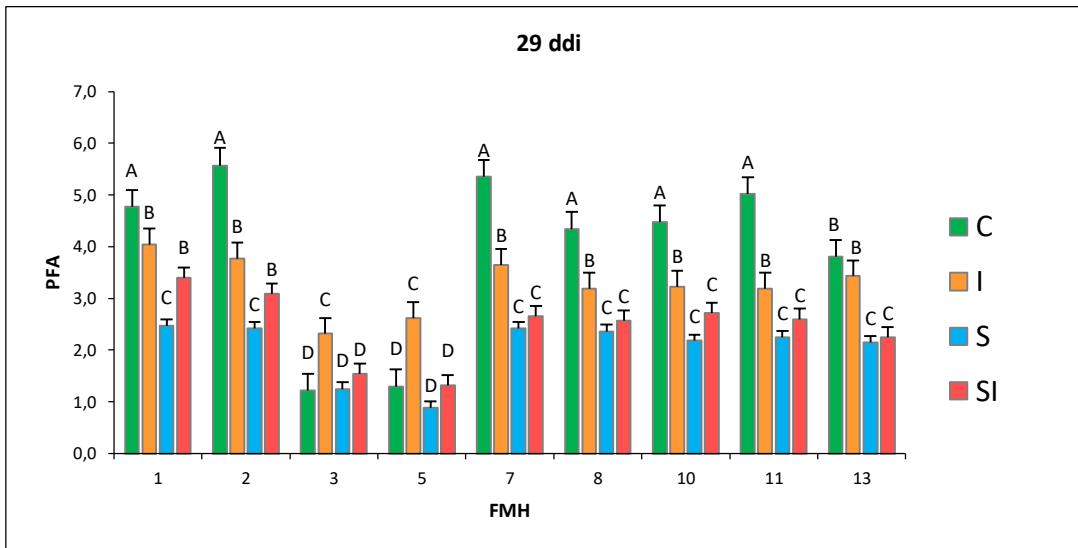


Figura 10. Peso fresco aéreo de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; S: Salino; I: Inundado; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.2.2 Peso seco aéreo

En todas las familias excepto en la 3 y la 5 existió una reducción del PSA en condiciones de estrés respecto al control (Figura 11). En las FMH 8 y 13 el tratamiento de S-I presentó menor peso seco aéreo que los otros dos y que el mismo tratamiento en las demás FMH. La FMH 1 se destacó en el tratamiento I. Para esta variable también las medias del control de las FMH 3 y 5 resultaron bajas, y el tratamiento más destacado para ellas fue el de I.

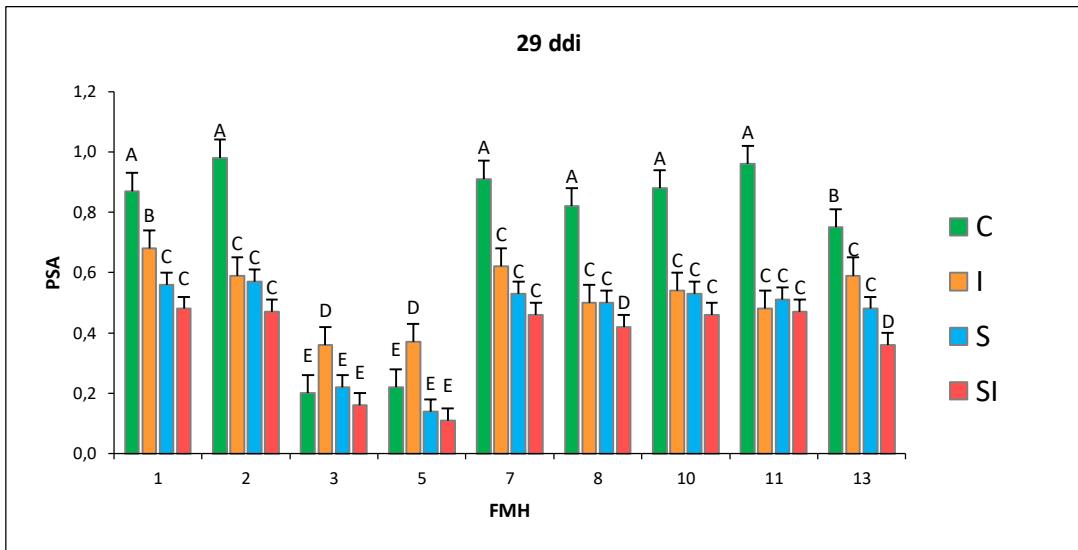


Figura 11. Peso seco aéreo de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; S: Salino; I: Inundado; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.2.3 Peso seco de raíz

Las familias 2, 7 y 11 presentaron mayor peso seco de raíz que las demás en el control (Figura 12). Todas ellas presentaron diferencias entre el control y las condiciones de estrés. En el caso de la familia 2, presentó mayor PSR en el tratamiento S que en los otros dos tratamientos, mientras las familias 7 y 11 no presentaron diferencias entre los tres tratamientos de estrés. La FMH 8 tampoco presentó diferencias entre dichos tratamientos. Las familias 3 y 5 fueron las de menor PSR en todos los tratamientos, sin presentar diferencias significativas entre ellos. Las familias 1 y 10 no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento S y el control, pero presentaron una reducción del peso de raíz en los otros dos tratamientos. Por último, el tratamiento que más afectó a la FMH 13 en cuanto al peso seco de raíz fue el de S-I, en el que no presentó diferencias con las familias 3 y 5.

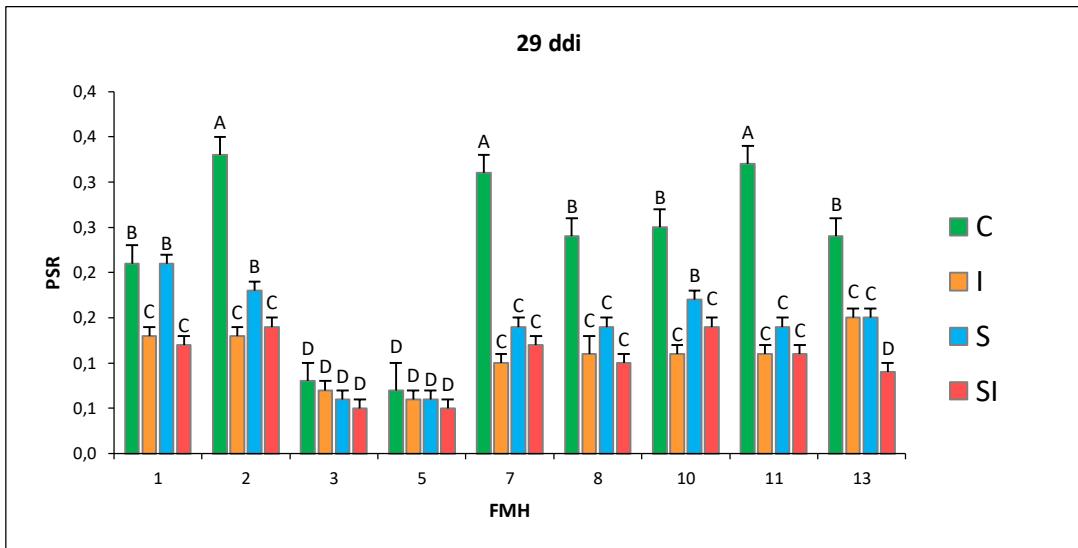


Figura 12. Peso seco raíz de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; S: Salino; I: Inundado; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

2.2.4 Peso seco total

Todas las familias excepto la 3 y la 5 presentaron una reducción significativa del peso seco total en condiciones de estrés respecto al control (Figura 13). Las familias 1, 2, 7, 8, 10 y 11 no presentaron diferencias entre los tratamientos de S, I y S-I. Las familias 3 y 5 tuvieron bajo PST con respecto a las demás FMH, aunque el tratamiento de I presentó mayor PST incluso que el control. Sin considerar a las familias 3 y 5, la familia 13 presentó menor PST bajo la condición de salinidad e inundación que las demás.

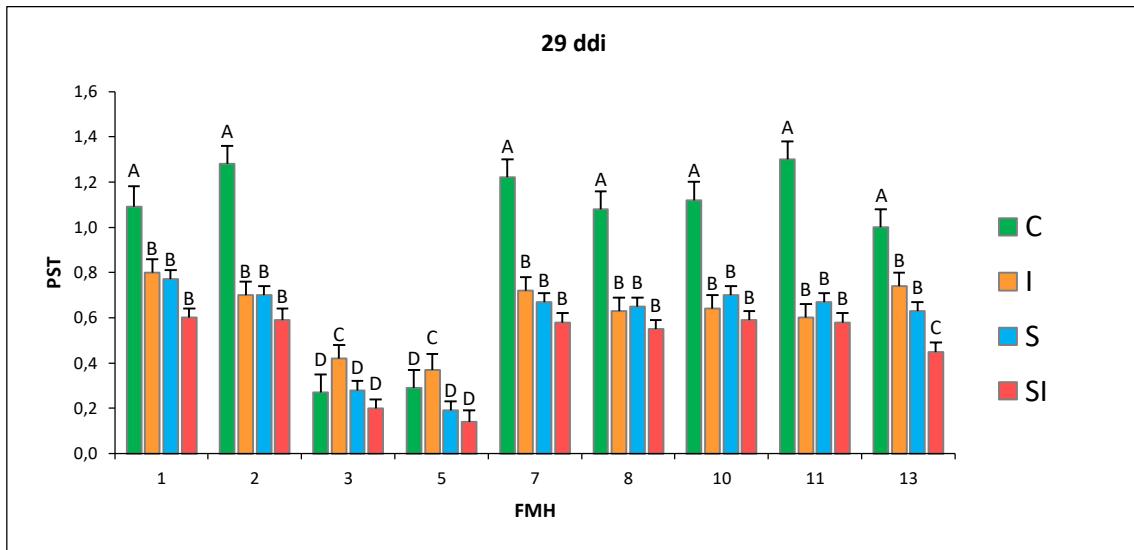


Figura 13. Peso seco total de las 9 FMH de *L. tenuis* a los 29 ddi para cada tratamiento. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. C: Control; S: Salino; I: Inundado; SI: Salino-Inundado. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

3. Índices de tolerancia

Se presentan los resultados obtenidos a partir de la estimación de los índices de tolerancia para PSA y PST a los 29 ddi. En estas variables no existió interacción familia*tratamiento (Tabla 3).

3.1 Índice de tolerancia del peso seco aéreo

Para el ITPSA, se observaron diferencias entre las familias (Figura 14). Las familias 2, 7, 8, 10 y 11 fueron las de menor tolerancia, aunque no hubo diferencias significativas entre ellas. Al contrario, las familias 3 y 5 fueron las de mayor tolerancia. Por otro lado, las familias 1 y 13, fueron de tolerancia intermedia con respecto a las otras FMH.

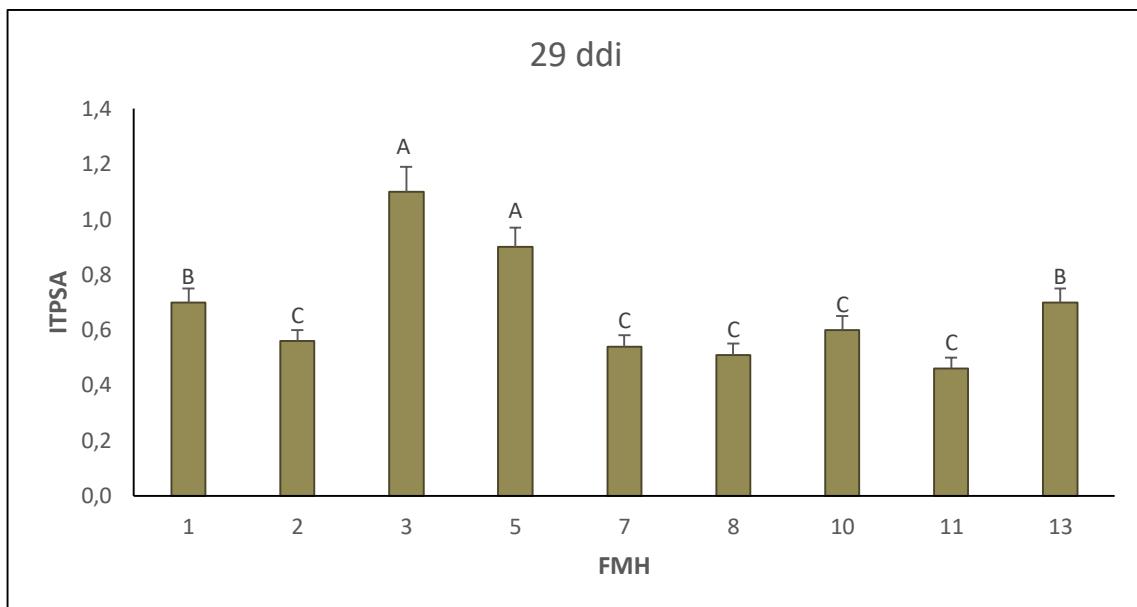


Figura 14. Índice de tolerancia del peso seco aéreo de las 9 FMH de *L. tenuis*. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

3.2 Índice de tolerancia del peso seco total

Para el ITPST, se observaron diferencias significativas entre las FMH (Figura 15). Las familias 2, 7, 8 y 11 presentaron un comportamiento similar sin diferencias, con un ITPST bajo. Las familias, 1, 10 y 13 tuvieron un índice de tolerancia intermedio, sin diferencias entre ellas. Por último, las familias 3 y 5 presentaron el mayor índice de tolerancia.

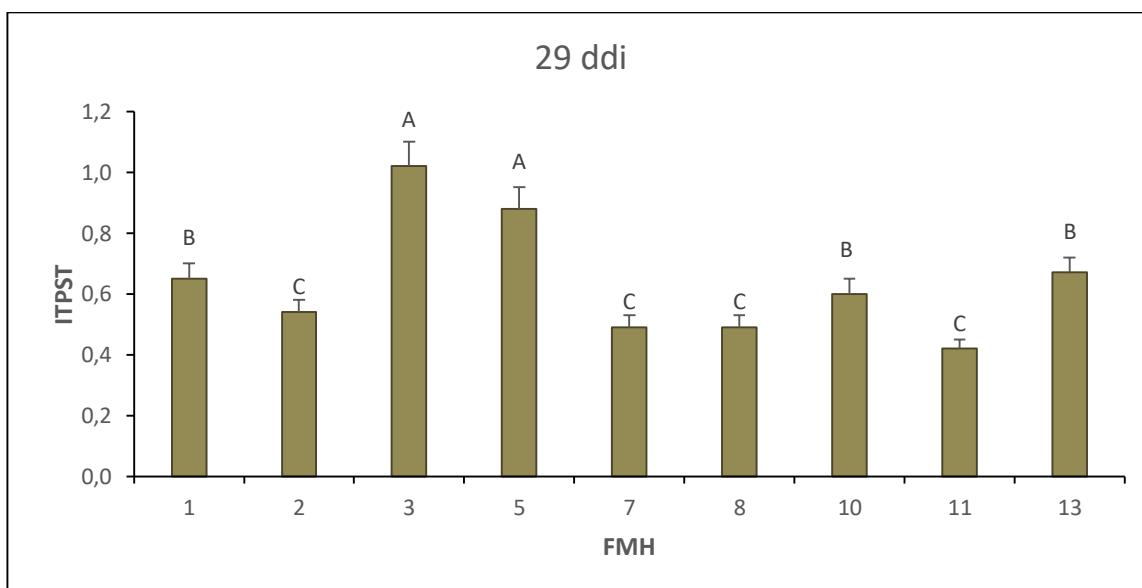


Figura 15. Índice de tolerancia del peso seco total de las 9 FMH de *L. tenuis*. Las barras verticales representan a las medias \pm E.E. Letras distintas indican diferencias significativas entre FMH ($p<0,05$) según el test de comparaciones múltiples DGC.

4. Relación entre productividad y tolerancia

Se construyeron gráficos de dispersión para identificar familias con alta productividad en etapa juvenil y buena tolerancia. En el tratamiento I, puede observarse que las FMH 1 y 13 superan la media tanto para PSA como para ITPSA ubicándose en el cuadrante superior derecho (Figura 16). Mientras que las FMH 11 y 8 pueden considerarse de baja productividad y tolerancia a la inundación.

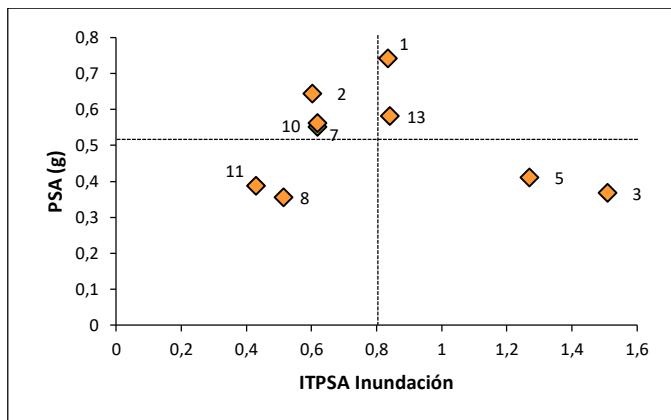


Figura 16. Identificación de FMH promisorias de *L. tenuis* según su tolerancia a la inundación y la producción de materia seca. PSA: peso seco aéreo; ITPSA: índice de tolerancia del peso seco aéreo. Las líneas vertical y horizontal corresponden a las medias de ITPSA y PSA.

En la figura 17 puede considerarse a las familias 1 y 13 como propicias para combinar tolerancia a la salinidad y productividad superior a la media en el tratamiento S, mientras que las familias 11 y 8 fueron de baja tolerancia y productividad.

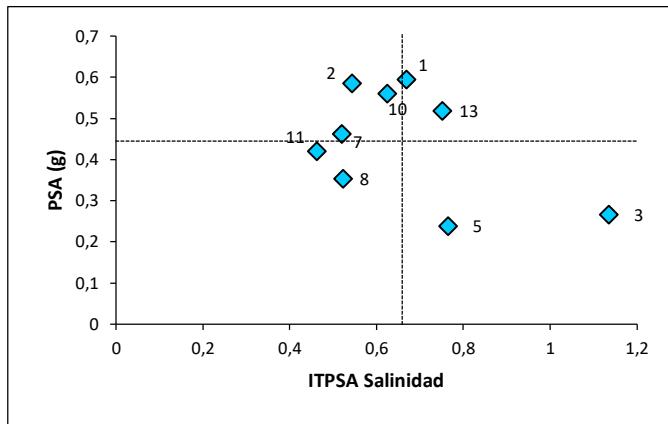


Figura 17. Identificación de FMH promisorias de *L. tenuis* según su tolerancia a la salinidad y la producción de materia seca. PSA: peso seco aéreo; ITPSA: índice de tolerancia del peso seco aéreo. Las líneas vertical y horizontal corresponden a las medias de ITPSA y PSA.

En el tratamiento combinado de salinidad e inundación, las familias 1, 2, 7, 10 y 11 presentaron PSA superior a la media (Figura 18), pero solo la familia 1 se ubicó en el cuadrante superior derecho. La familia 13, que presentó una alta productividad y tolerancia en los tratamientos individuales, presentó baja productividad y tolerancia cuando ambos tratamientos se combinaron. La familia 8 también tuvo baja productividad y tolerancia en esta combinación.

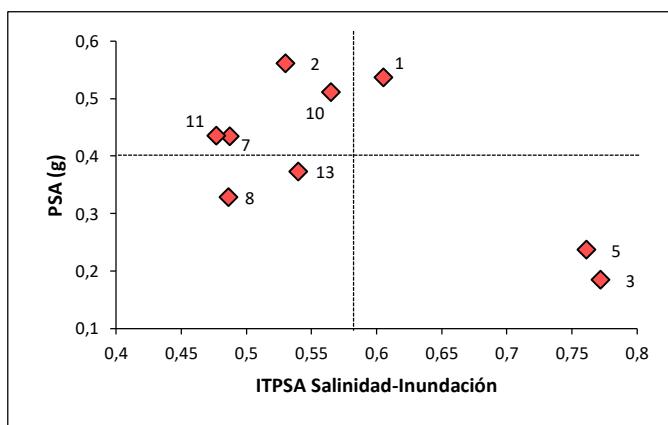


Figura 18. Identificación de FMH promisorias de *L. tenuis* según su tolerancia a la salinidad-inundación y la producción de materia seca. PSA: peso seco aéreo; ITPSA: índice de tolerancia del peso seco aéreo. Las líneas vertical y horizontal corresponden a las medias de ITPSA y PSA.

En las tres figuras puede observarse que las familias 3 y 5 son las de mayor tolerancia, pero también las de menor productividad. Esta elevada tolerancia se debió a que no presentaron diferencias entre el control y las condiciones de estrés, e incluso en el tratamiento de inundación su peso seco fue superior al control.

5. Estimación de los componentes de variancia y parámetros genéticos- Heredabilidad en sentido estricto

Para cada una de las variables estudiadas y para cada tratamiento, se detallan en la tabla 5 los valores de los componentes de varianza, así como también los valores de h^2 en sentido estricto calculados en base al análisis de la media familiar (h^2_{PMF}). De acuerdo con Stanfield (1971), los caracteres se consideran de heredabilidad alta cuando ésta es mayor que 0,50, de heredabilidad media entre 0,20 y 0,50 y de heredabilidad baja si es menor a 0,20. Los resultados muestran que para todas las variables estudiadas (NR, ALT, LR, PFA, PSA, PSR y PST) la heredabilidad es alta para todos los tratamientos.

Tabla 5. Estimación de los componentes de variancia y de la heredabilidad en sentido estricto (h^2) para cada variable y tratamiento.

Variable	Varianza familiar (σ^2_{FMH})				Varianza ambiental (σ^2_E)				Varianza fenotípica (σ^2_{PMF})				h^2_{PMF}			
	C	S	I	SI	C	S	I	SI	C	S	I	SI	C	S	I	SI
NR 16 ddi	6,266	7,236	5,617	4,033	1,900	1,716	1,704	1,527	7,216	8,094	6,469	4,796	0,868	0,893	0,868	0,840
NR 29 ddi	42,594	26,716	26,419	20,140	21,167	10,201	10,328	7,553	53,178	31,817	31,583	23,916	0,800	0,839	0,836	0,842
LTP 16 ddi	97,955	39,913	45,400	62,145	12,566	9,787	15,864	11,406	104,238	44,806	53,332	67,848	0,939	0,890	0,851	0,915
LTP 29 ddi	187,508	51,958	43,248	72,564	23,730	9,917	22,632	14,783	199,373	56,916	54,564	79,955	0,940	0,912	0,792	0,907
PFA	13,754	1,751	1,976	2,531	1,544	0,286	1,406	0,698	14,526	1,894	2,679	2,880	0,946	0,924	0,737	0,878
PSA	0,451	0,099	0,087	0,090	0,059	0,019	0,049	0,026	0,481	0,109	0,112	0,103	0,938	0,912	0,781	0,874
PSR	0,039	0,014	0,004	0,006	0,019	0,003	0,003	0,003	0,048	0,015	0,006	0,007	0,804	0,903	0,750	0,800
PST	0,788	0,191	0,131	0,145	0,116	0,033	0,067	0,039	0,846	0,207	0,164	0,164	0,931	0,920	0,796	0,881
LR	3,973	4,867	3,209	5,498	2,966	1,273	3,608	2,498	5,456	5,504	5,013	6,747	0,728	0,884	0,640	0,814

NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total; ITPSA: Índice de tolerancia del peso seco aéreo; ITPST: Índice de tolerancia del peso seco total. ddi: días desde el inicio de los tratamientos. C: Control; S: tratamiento salino; I: tratamiento de inundación; SI: tratamiento salino-inundado.

6. Correlaciones fenotípicas

Las correlaciones fenotípicas de Pearson entre caracteres fueron significativas ($p<0,05$) y positivas, excepto entre el número de ramificaciones y la longitud de raíz, que no presentaron correlación. En la tabla 6 se observa una alta correlación entre PFA PSA y PST con LTP a los 29 ddi y entre PFA y NR a los 29 ddi. Las variables de producción de materia seca se encuentran altamente correlacionadas entre sí.

Tabla 6. Coeficiente de Correlación de Pearson entre las variables evaluadas. Se indican los coeficientes de Correlación de Pearson que resultaron significativos. En gris se observan las correlaciones mayores a 0,70.

	NR 16 ddi	NR 29 ddi	LTP 16 ddi	LTP 29 ddi	PFA	PSA	PSR	PST
NR 29 ddi	0,70							
LTP 16 ddi	0,39	0,37						
LTP 29 ddi	0,35	0,41	0,92					
PFA	0,57	0,71	0,70	0,75				
PSA	0,60	0,69	0,72	0,74	0,93			
PSR	0,50	0,57	0,52	0,52	0,69	0,75		
PST	0,61	0,69	0,70	0,72	0,91	0,98	0,87	
LR			0,39	0,38	0,37	0,43	0,43	0,45

NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total; ITPSA: Índice de tolerancia del peso seco aéreo; ddi: días desde el inicio de los tratamientos.

7. Análisis de Componentes Principales

Con el fin de sintetizar y agrupar toda la información previamente analizada, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para todos los caracteres evaluados, a excepción de los índices de tolerancia (IT). La mayor parte de la variabilidad está explicada por la CP 1 (76,2 %) y todas las variables contribuyen positivamente a la misma (Tabla 7). La CP 2 explica el 9,9 % de la variabilidad y las variables que más contribuyen a la misma son LTP (positivamente) y NR

(negativamente) en las dos fechas. La CP 1 separa a las familias en el control respecto de las condiciones de estrés ubicándolas a la derecha del gráfico por presentar mayores valores para las variables analizadas (Figura 19).

Como ya se mencionó al analizar cada variable en forma individual, las familias 3 y 5 presentaron bajo crecimiento en todos los tratamientos, incluso en el control, y el tratamiento en el que presentaron mayores medias fue en el de inundación, es por eso que se ubican a la izquierda. No se ve un agrupamiento claro por condición de estrés, aunque las familias sometidas a inundación se ubican hacia arriba, en relación a las variables relacionadas con la longitud del tallo.

Tabla 7. Autovectores (e) correspondientes a la CP1 (e1) y a la CP2 (e2) para las variables incluidas en el análisis de componentes principales.

Variables	e1	e2
NR 16 ddi	0,285	-0,486
LTP 29 ddi	0,323	0,513
NR 16 ddi	0,327	-0,429
LTP 29 ddi	0,328	0,509
PFA	0,359	0,052
LR	0,264	0,103
PSA	0,376	-0,015
PSR	0,346	-0,202
PST	0,375	-0,063

En negrita se indican los autovectores de las variables que más aportan a los ejes. NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total; ITPSA: Índice de tolerancia del peso seco aéreo; ddi: días desde el inicio de los tratamientos.

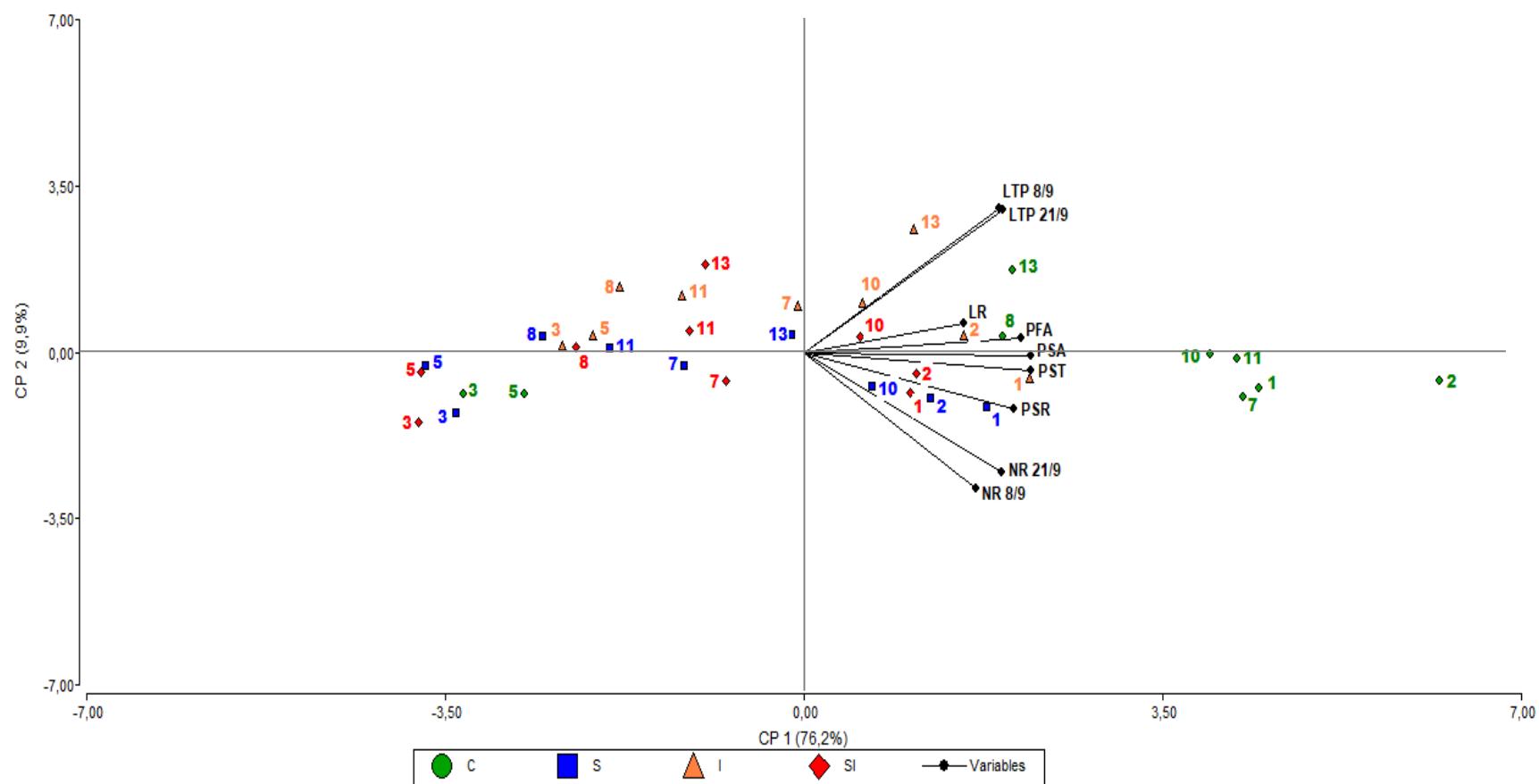


Figura 19. Análisis de componentes principales de las variables *per se* utilizando como criterios de clasificación las FMH de *L. tenuis* y los tratamientos. NR: Número de ramificaciones; LTP: Longitud del tallo principal; PFA: Peso fresco total; LR: Longitud de raíz; PSA: Peso seco aéreo; PST: Peso seco total; ITPSA: Índice de tolerancia del peso seco aéreo. C: Control; S: tratamiento salino; I: tratamiento de inundación; SI: tratamiento salino-inundado.

DISCUSIÓN

La salinidad del suelo es uno de los principales factores que afecta a la producción agrícola, limitando el crecimiento, el rendimiento y la calidad de los cultivos (Ashraf, 2009; FAO, s. f.; Munns & Gillham, 2015; Yamaguchi & Blumwald, 2005). A su vez, las inundaciones afectan el establecimiento de las leguminosas forrajeras y, por lo tanto, la producción del forraje (Radović, Sokolović & Marković, 2009; Striker & Colmer, 2017). *L. tenuis* es una de las especies de leguminosas forrajeras más tolerantes a las condiciones restrictivas de la Pampa Inundable (Striker *et al.*, 2005). En este trabajo, se estudió el comportamiento de 9 FMH de *L. tenuis* en respuesta a la salinidad, inundación y la combinación de ambas condiciones durante la fase juvenil, evaluando características relacionadas con la estructura y producción de biomasa, con el objetivo de identificar y seleccionar germoplasma tolerante a estas condiciones.

Todos los individuos sobrevivieron a los tratamientos, lo cual indica la notable tolerancia de la especie a la salinidad y la inundación, reportada por numerosos estudios previos (Affinito, 2020; Antonelli, 2010; Mendoza *et al.*, 2005; Pesqueira, 2008; Striker *et al.*, 2005; Striker, 2012b). Sin embargo, se observaron diferencias entre los tratamientos, lo que llevó a que la salinidad, inundación y la combinación de ambos no tuviera el mismo impacto en las plantas. Las tres condiciones de estrés afectaron las variables de crecimiento evaluadas con excepción de la longitud del tallo principal promedio, que en el tratamiento de inundación no presentó diferencias significativas con el control, e incluso en algunas FMH fue mayor en el tratamiento inundación. Esto evidencia la existencia de una adaptación a nivel morfológico mediante la elongación de los órganos aéreos, incrementando así el área foliar por encima del nivel del agua (Striker, 2012b). Las plantas inundadas de especies tolerantes suelen ser más altas que sus contrapartes no inundadas como resultado de aumentos en los ángulos de inserción y la longitud de sus órganos aéreos. Esta respuesta facilita la fotosíntesis y captación de oxígeno en los órganos aéreos, y se corresponde con lo hallado en otras investigaciones sobre la especie en estudio (Di Bella *et al.*, 2020). Por otra parte, los tratamientos con NaCl (salinidad y la combinación de salinidad e

inundación) generaron una disminución significativa de la longitud del tallo principal. En condiciones salinas se produce una reducción de la capacidad de la planta para absorber agua debido a la disminución progresiva de la diferencia de potencial hídrico entre el medio salino y el citosol y al cierre de los estomas para limitar esta pérdida. Con las vías de entrada de agua a la planta afectadas por la salinidad, las células pierden turgencia, disminuyendo su tasa de elongación, lo cual afecta su crecimiento y función (Fricke & Peters, 2002; Passioura & Munns, 2000; Taiz & Zeiger, 2002; Yeo *et al.*, 1991). En este trabajo, esta situación se pudo observar para todas las variables evaluadas en condiciones salinas.

A su vez, la inundación del suelo no solo afecta a las raíces, sino que también altera la morfología de los brotes debido a la estrecha interdependencia funcional entre ambos (Striker, 2012b). Todas las variables excepto LTP presentaron valores promedio inferiores al control en el tratamiento inundación. Es destacable que el tratamiento mixto salinidad/inundación presentó mayores LTP y PFA que cuando el estrés estuvo provocado únicamente por la salinidad. Esto mostraría que la inundación podría tener un efecto atenuante sobre el estrés salino en la especie y coincide con lo reportado por Antonelli (2010). Sin embargo, en este trabajo no se observó la misma situación al evaluar el peso seco aéreo y total, a pesar de que PFA está altamente correlacionado con PSA y PST. Es posible que el mayor PFA en el tratamiento combinado se debiera a una mayor hidratación y turgencia de los tejidos debido a la inundación, y no a un mayor peso de materia seca.

Es de importancia analizar las diferentes asociaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados en etapa juvenil, ya que se encuentran asociados con la capacidad de establecimiento de la especie. Según Busqué *et al.* (2007), la densidad de tallos junto con alguna variable indicadora de su tamaño promedio puede considerarse como la medida más objetiva de vigor o persistencia de la especie en la pastura. Coinciendo con esto, en este estudio podemos observar correlaciones altas entre el número de ramificaciones a los 29 días con el peso fresco y seco aéreo y el peso seco total. Franco (2014), Franco Elisei (2018) y Affinito (2014) en trabajos realizados con FMH derivadas de las mismas poblaciones que las FMH de este estudio, habían encontrado correlación positiva

y significativa entre el vigor de crecimiento inicial y el número de tallos vegetativos, lo cual también coincide con lo hallado por otros autores (Mujica & Rumi, 1998; Busqué *et al.*, 1999; Ixtaina & Mujica, 2010). Ixtaina y Mujica (2010) también hallaron una correlación significativa entre el número de tallos vegetativos y el peso seco aéreo en *L. tenuis*, lo que los llevó a considerar que el número de tallos podría utilizarse como carácter confiable para la selección indirecta del rendimiento de materia seca, además de que resulta un rasgo importante en la determinación de la ocupación inicial del tapiz y la habilidad competitiva de las plántulas. En cuanto a la longitud del tallo principal, también presentó asociación con la producción de materia seca en las dos fechas de evaluación de la variable, aunque la alta asociación a los 16 ddi es destacable ya que podría permitir también la selección indirecta temprana.

El análisis de componentes principales muestra también la asociación existente entre todas las variables consideradas en este estudio, ya que todas presentan autovectores positivos en la primera componente principal, que es la que explica el 76,2 % de la variabilidad. La segunda componente principal mostraría que la longitud y el número de tallos podrían tener una asociación negativa, pero la misma explica solo el 9,9 % de la variabilidad. Podría pensarse que, en condiciones de inundación, en las que las plantas priorizan la supervivencia a partir de la elongación, se daría antagonismo entre estas dos variables, sin embargo, en este estudio la correlación entre estos caracteres resultó significativa y positiva incluso al considerar únicamente los datos del tratamiento I (resultados no presentados).

Las variables relacionadas con la raíz (longitud y peso seco), disminuyeron para los tres tratamientos respecto al control, pero esta reducción fue más marcada en inundación e inundación con salinidad. En especies tolerantes a la inundación, se ha reportado una reducción en la biomasa de las raíces en condiciones de exceso hídrico mientras se favorece el desarrollo de la parte aérea lo que lleva a un aumento en la relación vástago/raíz para facilitar las tasas de transpiración (citas contenidas en García & Mendoza, 2014).

Diversos estudios muestran que la variabilidad genética presente en forrajeras ofrece la posibilidad de desarrollar genotipos con mayor nivel de tolerancia a estrés (Francois, 1988, Láuchi & Epstein, 1984, Smith *et al.*, 1981). Al comparar el comportamiento de las 9 FMH de *L. tenuis* se encontró variabilidad fenotípica entre las mismas bajo las condiciones de estudio para los parámetros de crecimiento evaluados y en la tolerancia, siendo coincidente con la afirmación de Kirkbride (1999) de que por ser una especie alógama y presentar una importante variabilidad morfo-fisiológica, puede suponerse que, durante el proceso de naturalización en Argentina, se han generado genotipos y poblaciones con diferentes niveles de tolerancia a variadas condiciones adversas. La variabilidad entre germoplasma de la especie encontrada coincide con la reportada en trabajos previos tanto en condiciones de salinidad (Ixtaina & Mujica, 2004; Pesqueira, 2008; Schachtman & Kelman, 1991; Teakle *et al.*, 2010), inundación (Di Bella *et al.*, 2020), y en el estrés combinado (Teakle *et al.*, 2006). En evaluaciones previas del grupo de trabajo, se había hallado variabilidad entre FMH en condiciones salinas (Affinito, 2020; Franco, 2014; Franco Elisei, 2018).

En el presente estudio, al comparar la tolerancia a estreses a partir de los índices ITPSA e ITPST no se encontró interacción entre FMH y tratamiento, pero sí existieron diferencias entre FMH. Las FMH 3 y 5 fueron las de mayor tolerancia y las familias 2, 7, 8 y 11 las de menor tolerancia. Si bien es importante considerar estos índices porque dan idea de la plasticidad de cada familia frente a cambios en el ambiente, es de importancia en etapas juveniles que la familia presente buena productividad en peso seco aéreo bajo las condiciones estudiadas ya que esto repercute en la capacidad de establecimiento y competitividad inicial. El estado que comprende el período desde que la semilla germina hasta que la plántula está desarrollada es considerado el más crítico dentro del ciclo de vida de las plantas y durante la cual es más susceptible a sufrir daños físicos por factores bióticos y abióticos, con la consecuente pérdida de individuos (Scheneiter, 2022). La tasa de crecimiento inicial y el vigor de las plántulas de las especies forrajeras afecta su capacidad para competir con malezas y con otras especies de la pastura, afectando su establecimiento y la composición de las mezclas (Cooper, 1977). Los cultivares de una misma especie pueden diferir en

el vigor de crecimiento inicial, por lo que es una característica importante para el mejoramiento (Beuselinck *et al.*, 1994; Cooper, 1977), sobre todo para lograr un establecimiento temprano en condiciones adversas del suelo (como la salinidad y el anegamiento) que les permita mayor persistencia (García & Mendoza, 2014). Si se tiene esto en cuenta, las familias 3 y 5 no son recomendables en ningún caso ya que fueron las de menor productividad inicial. Las familias 1 y 13 tuvieron un buen desempeño en tratamientos individuales con salinidad e inundación, pero la familia 13 presentó baja productividad y tolerancia cuando se combinaron estos tratamientos. En este sentido, en suelos con salinidad, pero sin anegamiento, así como en suelos anegados sin salinidad, las familias 1 y 13 serían las familias más propicias. En condiciones donde tanto la salinidad como el anegamiento están presentes simultáneamente, que es la situación más común en los bajos de la pampa húmeda, la familia 1 demuestra ser conveniente, generando buena productividad y tolerancia. Es importante destacar que, si bien los resultados hallados en el presente estudio permiten detectar FMH promisorias, deberían validarse en condiciones de uso de la especie, ya que en dichos ambientes ocurren procesos biológicos, químicos y físicos, que podrían modificar estos resultados. Además, la tolerancia a estrés suele variar según el estadío de desarrollo de la planta (Shah *et al.*, 2018), por lo que deberían evaluarse las plantas adultas de estas familias y su persistencia. También sería interesante evaluar la recuperación post-inundación, ya que se ha encontrado que las respuestas de las plantas durante el período de inundación, no siempre concuerdan con las respuestas que muestran una vez finalizada la exposición al estrés (Striker, 2012a, 2012b, Parad *et al.*, 2013). Esto se debe a que puede ocurrir que una mala performance durante la inundación implique que la planta prioriza reservas y energía para un posterior período de recuperación, y que post-estrés su comportamiento sea mejor en dichas plantas que en otras con mejor crecimiento durante el estrés (Striker, 2012b).

La heredabilidad representa una medida de la importancia relativa de la variación heredable respecto a la variación fenotípica (Falconer & Mackay, 1996), y en este trabajo se calculó en base a la media fenotípica familiar por tratamiento (Nguyen & Sleper, 1983). Se encontró alta heredabilidad para todas las variables

estudiadas, bajo estrés salino, inundación y la combinación de ambos. Franco (2014) y Andrés & Rosso (2007) habían hallado altos valores de heredabilidad para caracteres relacionados con el crecimiento inicial de plántulas de *L. tenuis*. Estos valores podrían deberse a la presencia de una alta varianza genética aditiva o a un reducido efecto del ambiente. La alta varianza genética heredable resultaría auspiciosa para futuros programas de mejoramiento de la especie, ya que estos caracteres determinan la velocidad de crecimiento de las plántulas y con ello el éxito de implantación, y a su vez están asociado a la acumulación de materia seca posterior (Franco, 2014).

CONCLUSIONES

- A partir de este trabajo se acepta la hipótesis de que existe comportamiento diferencial entre familias de medios hermanos (FMH) de *Lotus tenuis* frente a la salinidad e inundación en fase vegetativa juvenil.
- Todos los individuos sobrevivieron a los tratamientos, indicando una notable tolerancia de la especie a la salinidad e inundación durante, aunque las tres condiciones de estrés afectaron los parámetros de crecimiento evaluados. En general, la estrategia de la especie frente a la sumersión parcial sería el escape, elongando sus tallos.
- Se observó variabilidad fenotípica entre las familias en las variables de crecimiento y en los índices de tolerancia bajo las condiciones estudiadas. Al considerar la relación entre la tolerancia a los estreses y la productividad, en condiciones de salinas o en inundación en forma individual, las familias 1 y 13 serían las más propicias para ser seleccionadas en futuros programas de mejoramiento. En situaciones de salinidad e inundación en conjunto, la familia 1 sería una opción favorable. Estos resultados, deberían validarse en condiciones reales de uso de la especie, en otras etapas del desarrollo y debería tenerse en cuenta la capacidad de recuperación de las FMH.
- Se encontró alta heredabilidad para todas las variables estudiadas bajo estrés salino, inundación y la combinación de ambos, lo cual es propicio para futuros programas de mejoramiento de la especie.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrol, IP; Yadav, JSP; Massoud, FI. (1988). Salt-affected soils and their management. Rome, Italy, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 131.
- Affinito, MA. (2020). Participación del antiporter vacuolar NHX1 de *Lotus tenuis* en la tolerancia a salinidad. Tesis Doctorado en Ciencias Agrarias. AR, UNR. 207 p.
- Andrés, A; Rosso, B. (2007). Characterization of *Lotus glaber* germplasm from Buenos Aires province – Argentina. *Lotus Newsletter* 37(1): 24.
- Antonelli, CJ. (2010). Estrés por inundación en leguminosa del género *Lotus*: estudios morfológicos, anatómicos, fisiológicos, moleculares y su relación simbiótica con rizobios. Tesis Doctorado, AR, UBA. 95 p.
- Armstrong, W. (1980). Aeration in higher plants. In *Advances in botanical research* (Vol. 7, pp. 225-332). Academic Press.
- Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* 27(1): 84-93.
- Aschi-Smiti, S; Chaièbi W; Brouquisse, R; Ricard B; Saglio P. (2003). Assessment of enzyme induction and aerenchyma formation as mechanisms for flooding tolerance in *Trifolium subterraneum* 'Park'. *Ann. Bot.* 91, 195-204.
- Barrett-Lennard, E. G. (2003). The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. *Plant and soil*, 253, 35-54.
- Barrett-Lennard, E. G., & Shabala, S. N. (2013). The waterlogging/salinity interaction in higher plants revisited–focusing on the hypoxia-induced disturbance to K⁺ homeostasis. *Functional Plant Biology*, 40(9), 872-882.
- Bennett, S. J., Barrett-Lennard, E. G., & Colmer, T. D. (2009). Salinity and waterlogging as constraints to saltland pasture production: a review. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 129(4), 349-360.
- Berasain Gomes de Freitas, I; Duret Vignolo, L; Sosa Reverditto, E. (2015). Evaluación de la implantación de tres mezclas forrajeras en siembra directa. *Physiology*. 9:25-46.

- Beuselinck, P. R., Bouton, J. H., Lamp, W. O., Matches, A. G., McCaslin, M. H., Nelson, C. J., ... & Volenec, J. J. (1994). Improving legume persistence in forage crop systems. *Journal of Production Agriculture*, 7(3), 311-322.
- Bradford, K. J., & Hsiao, T. C. (1982). Stomatal behavior and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology*, 70(5), 1508-1513.
- Busqué, J., Joaquin, N., & Herrero, M. (2007). Atributos funcionales de las plantas y su implicación para el manejo de pasturas tropicales. In: Manejo y Utilizacion de Pasturas Tropicales. Pasturas Tropicales, Volumen Especial. Herrero, M. and Ramirez, A.(Eds.). CIAT, Colombia.
- Buxton, D. R. (1996). Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal feed science and technology*, 59(1-3), 37-49.
- Clua, A. A., Gimenez, D. O., & Fernández, L. V. (1997). Increase in forage yield in narrowleaf birdsfoot trefoil (*Lotus tenuis* Waldst & Kit ex Willd) in a permanent pasture with foliar applied gibberellic acid (GA3), and phosphorus. *Plant growth regulation*, 21, 223-228.
- Colmer, T.D. (2003). Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. *Plant Cell Environ.* 26, 17-36.
- Colmer, T.D., M.C.H. Cox y L.A.C.J. Voesenek. (2006). Root aeration in rice (*Oryza sativa*): evaluation of oxygen, carbon dioxide, and ethylene as possible regulators of root acclimatization. *New Phytol.* 170, 767-778.
- Colmer TD, Greenway H. (2011). Ion transport in seminal and adventitious roots of cereals during O₂ deficiency. *Journal of Experimental Botany* 62,39-57.
- Cooper, C. S. (1977). Growth of the legume seedling. *Advances in agronomy*, 29, 119-139.
- Coppi, G. O. (2010). La agriculturización en el contexto de una nueva ruralidad: Nuevos actores pluriactivos en el departamento Río Primero de la provincia de Córdoba. *Geograficando*, 6(6).
- Di Bella, CE; Kotula, L; Striker, GG; Colmer, TD. (2020). Submergence tolerance and recovery in Lotus: Variation among fifteen accessions in response to partial and complete submergence. *Journal of Plant Physiology* 249: 153180.

Di Rienzo, JA; Casanoves, G; Balzarini, MG; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, CW. (2017). Infostat - Sofware estadístico. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Else, M. A., Tiekstra, A. E., Croker, S. J., Davies, W. J., & Jackson, M. B. (1996). Stomatal closure in flooded tomato plants involves abscisic acid and a chemically unidentified anti-transpirant in xylem sap. *Plant physiology*, 112(1), 239-247.

Entio, L. J., & Mujica, M. M. (2014). Variabilidad del número de tallos en plántulas de *Lotus tenuis* creciendo en alta densidad. *Phyton*, 83(2), 243-250.

Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C. (1996) Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition, Pearson Education Ltd, Essex.

FAO. (s. f.). Salt-affected soils - FAO Soils Portal. Recuperado 1 de febrero de 2025, de <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/>

Fiedler, S., Vepraskas, M. J., & Richardson, J. L. (2007). Soil redox potential: importance, field measurements, and observations. *Advances in agronomy*, 94, 1-54.

Franco, M. (2014). Estudio de la variabilidad genética en familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* sometidas a estrés salino. Tesis Maestría en Genética Vegetal, AR, UNR. 131 p.

Franco Elisei, D. (2018). Estudio de la tolerancia a salinidad en etapas vegetativas tempranas de germoplasma de *Lotus tenuis*. TFG Ingeniería agronómica, AR, UNNOBA. 56 p.

Francois, L. E. (1988). Salinity effects on three turf bermudagrasses. *Hortscience*, 23: 706- 708.

Fricke, W., & Peters, W. S. (2002). The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology*, 129(1), 374-388.

García, I., & Mendoza, R. (2014). Lotus tenuis seedlings subjected to drought or waterlogging in a saline sodic soil. *Environmental and Experimental Botany*, 98, 47-55.

- Greenway, H; Munns, R. (1980). Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31(1): 149-190.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hirabayashi, Y., Mahendran, R., Koirala, S., Konoshima, L., Yamazaki, D., Watanabe, S., Kim, H. y Kanae, S. (2017). Global flood risk under climate change. *Nature Climate Change*, 3: 816-821.
- Hoagland, DR; Arnon, DI. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Bulletin*, 347, 1-32.
- Insausti, P., Grimoldi, A. A., Chaneton, E. J., & Vasellati, V. (2001). Flooding induces a suite of adaptive plastic responses in the grass *Paspalum dilatatum*. *New Phytologist*, 152(2), 291-299.
- Ixtaina, VY; Mujica, MM. (2004). Variability in the salt tolerance in *Lotus glaber* Mill. genotypes selected in situ in a saline basin of the Flooding Pampas (Province of Buenos Aires, Argentina). *Revista Pastos (España)* 2004.
- Ixtaina, V. Y., & Mujica, M. M. (2010). Respuesta del vigor de plántula de poblaciones de *Lotus tenuis* a variaciones contrastantes de disponibilidad de agua, luz y nutrientes. *Agrociencia*, 44(1), 31-41.
- Justin, S. H. F. W., & Armstrong, W. (1987). The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New phytologist*, 465-495.
- Kade, M., Pagani, E., & Mendoza, R. (2003). A morphological study of populations of *Lotus glaber* Mill.(Fabaceae). *Agronomie*, 23(3), 203-207.
- Kirkbride, J. H. (1999). Lotus systematics and distribution. *Trefoil: The Science and Technology of the Lotus*, 28, 1-20.
- Kolb, R.M. y C.A. Joly. (2009). Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: Metabolic, morphological and growth responses. *Flora* 204, 528-535.
- Kozlowski, T. T. (1997). Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree physiology*, 17(7), 490-490.

- Kozlowski, T. T., & Pallardy, S. G. (1984). Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. *Flooding and plant growth, 1984*, 165-193.
- Lambrechtsen, NC; Wills, BJ; Douglas, GB. (1986). Management and uses of *Lotus tenuis* (Narrow-leaved birdsfoot trefoil). Plant Materials Handbook for Soil Conservation. Wellington, p.271-274.
- Läuchi, A., & Epstein, E. (1984). Mechanisms of salt tolerance in plants. California Agriculture, 38(10), 18-20.
- Mendoza, R., Escudero, V., & García, I. (2005). Plant growth, nutrient acquisition and mycorrhizal symbioses of a waterlogging tolerant legume (*Lotus glaber* Mill.) in a saline-sodic soil. *Plant and soil*, 275, 305-315.
- Mendoza, R. E., Pagani, E. A., & Pomar, M. C. (2000). Variabilidad poblacional de *Lotus glaber* en relación con la absorción de fósforo del suelo.
- Miñón, D; Sevilla, G; Montes, L; Fernandez, O. (1990). *Lotus tenuis*: leguminosa forrajera para la Pampa Deprimida. Balcarce, INTA, 15.
- Mujica, M. D. L. M., & Rumi, C. P. (1998). El crecimiento inicial de *Lotus glaber* afectado por la remoción y el sombreado de los cotiledones. Revista de la Facultad de Agronomía, 103(2), 127-133.
- Munns, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, cell & environment*, 16(1), 15-24.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R; Gillham, M. (2015). Salinity tolerance of crops - what is the cost? New Phytologist 208(3): 668-673.
- Munns, R; James, RA; Gillham; Matthew; Flowers, TJ; Colmer, TD. (2016). Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops. Functional Plant Biology 43(12): 1103-1113.
- Munns, R; Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual review of plant biology 59: 651-681.
- Mustroph, A. (2018). Improving flooding tolerance of crop plants. Agronomy 8(9): 160.

- Nguyen, H. T., & Sleper, D. A. (1983). Theory and application of half-sib matings in forage grass breeding. *Theoretical and applied genetics*, 64, 187-196.
- Parad, G. A., Zarafshar, M., Striker, G. G., & Sattarian, A. (2013). Some physiological and morphological responses of *Pyrus boissieriana* to flooding. *Trees*, 27, 1387-1393.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Passioura, J. B., & Munns, R. (2000). Rapid environmental changes that affect leaf water status induce transient surges or pauses in leaf expansion rate. *Functional Plant Biology*, 27(10), 941-948.
- Paz, R., Sánchez, D., Pieckenstain, F., Maiale, S., Sannazzaro, A., Cuevas, J., ... & Ruiz, O. (2005). Molecular and biochemical approximation of polyamine roles in tolerance mechanisms to salt stress in *Lotus* spp. *Lotus Newslett*, 35, 31-32.
- Pesqueira, J. (2008). Cambios bioquímicos, morfológicos y ecofisiológicos en plantas del género *Lotus* bajo estrés salino. Tesis doctoral, ES, Universidad Politécnica de Valencia. 172 p.
- Pesqueira, J; Fracaroli, V, Vértiz, P; Andrés, A; Rosso, B; Ruiz, OA; Pieckenstain, F. (2007). Evaluación de parámetros fisiológicos, morfológicos y bioquímicos de la respuesta al estrés salino de diferentes accesiones de *Lotus tenuis*. *Lotus Newsletter*, 37(1): 28-29.
- Pezeshki, S. R. (2001). Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3), 299-312.
- Pezeshki, S. R., & DeLaune, R. D. (1998). Responses of seedlings of selected woody species to soil oxidation-reduction conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 40(2), 123-133.
- Radović, J., Sokolović, D., & Marković, J. J. B. A. H. (2009). Alfalfa-most important perennial forage legume in animal husbandry. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25(5-6-1), 465-475.

- Real, D., Warden, J., Sandral, G. A., & Colmer, T. D. (2008). Waterlogging tolerance and recovery of 10 Lotus species. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(4), 480-487.
- Rompani, J. M (2016). Efecto del estrés salino en el contenido y la composición de las pectinas y en el contenido de fibra detergente neutro de la pared celular de tallos de *Lotus tenuis*. Trabajo Final Ingeniería en Producción Agropecuaria, AR, UCA.
- Schachtman, D. P., & Kelman, W. M. (1991). Potential of *Lotus* germplasm for the development of salt, aluminium and manganese tolerant pasture plants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 42(1), 139-149.
- Scheneiter, O. (2022). Unidad 4. Siembra y establecimiento de pasturas. [Material de curso]. Forrajicultura, Ing. Agronómica, ECANA, UNNOBA.
- Seago Jr, J. L., Marsh, L. C., Stevens, K. J., Soukup, A., Votrubová, O., & Enstone, D. E. (2005). A re-examination of the root cortex in wetland flowering plants with respect to aerenchyma. *Annals of botany*, 96(4), 565-579.
- Shabala, S; Munns, R. (2017). Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms. Plant Stress Physiology. 2 ed. Boston, UK, CAB International, p.24-63.
- Shah, L. R., Sharma, A., Nabi, J., & Rathore, J. P. (2018). Breeding approaches for abiotic stress management in vegetable crops. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 1023-1028.
- Smith, D., Dobrenz, A. K., & Schonhorst, M. H. (1981). Response of alfalfa seedling plants to high levels of chloride- salts. *Journal of Plant Nutrition*, 4(2), 143-174.
- Stanfield, W. D. (1971). Genética. Teoría y 400 Problemas Resueltos. Serie Schaum.
- Stoffella, S. L., Posse, G., & Collantes, M. B. (1998). Variabilidad fenotípica y genotípica de poblaciones de *Lotus tenuis* que habitan suelos con distinto pH. *Ecología Austral*, 8(1), 057-063.

- Striker, G. G. (2012a). Time is on our side: the importance of considering a recovery period when assessing flooding tolerance in plants. *Ecological Research*, 27, 983-987.
- Striker, G. G. (2012b). Flooding stress on plants: anatomical, morphological and physiological responses. *Botany*, 1(1), 3-28.
- Striker, GG; Colmer, TD. (2017). Flooding tolerance of forage legumes. *Journal of Experimental Botany* 68(8): 1851-1872.
- Striker, GG; Insausti, P; Grimoldi, AA; Ploschuk, EL; Vasellati, V. (2005). Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* and *Lotus glaber* Mill. *Plant and Soil*. 276(1-2): 301-311.
- Taboada, M. A., & Micucci, S. N. (2009). Respuesta de las propiedades físicas de tres suelos de la Pampa deprimida al pastoreo rotativo. *Ciencia del suelo*, 27(2), 147-157.
- Taiz, L; Zeiger, E. (2002). Plant physiology. 3 ed. Sinauer Associates, 690 p.
- Teakle, N. L. (2008). *Comparative Molecular Physiology of Salt and Waterlogging Tolerance in Lotus Tenius and L. Corniculatus: Towards a Perennial Pasture Legume for Saline Land*. University of Western Australia.
- Teakle, NL; Amtmann, A; Real, D; Colmer, TD. (2010). *Lotus tenuis* tolerates combined salinity and waterlogging: Maintaining O₂ transport to roots and expression of an NHX1-like gene contribute to regulation of Na⁺ transport. *Physiologia Plantarum* 139(4): 358-374.
- Teakle, NL; Real, D; Colmer, TD. (2006). Growth and ion relations in response to combined salinity and waterlogging in the perennial forage legumes *Lotus corniculatus* and *Lotus tenuis*. *Plant and Soil* 289(1-2): 369-383.
- Udovenko, GV. (1977). Resistencia de las plantas cultivadas a la salinidad. Leningrado, Kolos, 215.
- Vartapetian, B. B., & Jackson, M. B. (1997). Plant adaptations to anaerobic stress. *Annals of Botany*, 79(suppl_1), 3-20.
- Vignolio, OR; Fernández, ON; Maceira, NO. (1999). Flooding tolerance in five populations of *Lotus glaber* Mill. (Syn. *Lotus tenuis* Waldst. et. Kit.). *Australian Journal of Agricultural Research* 50(4): 555-560.

- Voesenek, LA; Bailey-Serres, J. (2015). Flood adaptive traits and processes: an overview. *New Phytologist*, 206: 57-73.
- Voesenek, LA; Colmer, TD; Pierik, R; Millenaar, FF; Peeters, AJM. (2006). How plants cope with complete submergence. *New phytologist*, 170(2): 213-226.
- Voesenek, L. A. C. J., Rijnders, J. H. G. M., Peeters, A. J. M., Van de Steeg, H. M., & De Kroon, H. (2004). Plant hormones regulate fast shoot elongation under water: from genes to communities. *Ecology*, 85(1), 16-27.
- Watson, L., y Dallwitz, M. J. (1992). The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Version: 2013. *Lotus corniculatus, L. tenuis and L. pedunculatus (as L. major)*; Eng. Bot. 368–370, 1864.
- Yamaguchi, T; Blumwald, E. (2005). Developing salt-tolerant crop plants: Challenges and opportunities. *Trends in Plant Science* 10(12): 615-620.
- Yeo, A. R., Lee, K. S., Izard, P., Boursier, P. J., & Flowers, T. J. (1991). Short-Term and Long-Term Effects of Salinity on Leaf Growth in Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 42(240), 881-889.