

# Ensayo de Investigación

## Respuesta fisiológica y bioquímica de dos poblaciones de mijo a seis niveles de salinidad

### Physiological and biochemical response of two millet populations to six salinity levels

Adriana Basilio Apolinar<sup>1</sup>, Jorge Covarrubias Prieto<sup>1</sup>, Luis Eugenio González de la Vara<sup>2</sup>,  
J. Gabriel Ramírez-Pimentel<sup>1</sup>, Cesar L. Aguirre Mancilla<sup>1</sup>, Gabriel Iturriaga<sup>1</sup>, Juan Carlos Raya Pérez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México Campus Roque

<sup>2</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato

Autor de correspondencia:

\*juancarlos.raya@gmail.com

Recibido: 18-05-2023 Aceptado: 03-01-2024 (Artículo Arbitrado)

#### Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica de dos poblaciones de mijo (*Panicum miliaceum* L.) (Rojo y Blanco) a seis concentraciones de NaCl en semilla y en etapa de plántula. Las semillas fueron tratadas con 0, 50, 100, 200, 300 y 400 mM de NaCl y se midió el porcentaje de germinación y el índice de vigor. En la etapa de plántula, las unidades experimentales fueron regadas con la respectiva solución salina. Diez días después del tratamiento salino se recogieron las muestras y se determinó el contenido de clorofila y carotenoides, se determinó la actividad de la peroxidasa (POD) y el contenido de prolina. La población Roja presentó un porcentaje de germinación y un crecimiento de raíz superior a la población Blanca. Las concentraciones superiores a 100 mM de NaCl disminuyeron significativamente la tasa de germinación y la longitud de brote. La población Blanca presentó mayor contenido de pigmentos fotosintéticos; las concentraciones de 50 y 100 mM de NaCl indujeron significativamente mayor contenido de clorofila a, clorofila b y clorofila total. La población Blanca presentó mayor actividad para la POD, mayor contenido de prolina en raíz y menor contenido en hoja respecto a la población Roja. En general, la población Roja presentó mayor capacidad germinativa e índice de vigor. Las concentraciones menores a 100 mM de NaCl resultaron benéficas para el mijo en la acumulación de pigmentos fotosintéticos que están directamente relacionados con el aparato de la fotosíntesis.

**Palabras clave:** Clorofila, POD, prolina, salinidad.

#### Abstract

The physiological and biochemical response of two populations of millet (*Panicum miliaceum* L.) (Red and White) to six concentrations of NaCl in seed and seedling stage was evaluated. The seeds were treated with 0, 50, 100, 200, 300 and 400 mM NaCl and percentage germination, vigor index were measured. In the seedling stage, the experimental units were irrigated with the respective saline solutions mentioned. 10 days after the saline treatment, the samples were collected and the chlorophyll and carotenoid content was determined, the peroxidase activity (POD) and the proline content were determined. The Red population presented a higher germination percentage and root growth than the White population. Concentrations higher than 100 mM of NaCl significantly decreased the germination rate and shoot length. The White population presented a higher content of photosynthetic pigments; concentrations of 50 and 100 mM NaCl induced significantly higher chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content. The White population presented higher activity for the POD, higher root proline content and lower leaf content compared to the Red population. In general, the Red population presented higher germination capacity and vigor index. Concentrations less than 100 mM of NaCl were beneficial for millet in the accumulation of photosynthetic pigments that are directly related to the photosynthesis apparatus.

**Keywords:** Chlorophyll, POD, proline, salinity.

#### Introducción

La salinidad es un estrés abiótico que puede darse de manera natural o por las actividades humanas; representa una amenaza para la producción agrícola, ya que daña el crecimiento y desarrollo de las plantas en las diferentes etapas (Yuan et al., 2021). Cerca de 1000 millones de hectáreas de tierra son afectadas por la salinidad, lo cual representa un 7 % de la superficie

global; cada año, entre 0.3-1.5 millones de hectáreas de suelo se vuelven tierras no productivas para la agricultura debido a la salinidad (Hopmans et al., 2021). Las pérdidas en el rendimiento de los principales cultivos son del 15-90 % (Jha et al., 2021). La saturación de NaCl conduce a una tensión osmótica que minimiza el potencial hídrico, afectando los procesos de absor-

ción de agua y nutrientes del suelo (Hnilickova et al., 2021). La toxicidad iónica debido al estrés salino genera estrés oxidativo y un exceso en la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROS), que dañan las membranas celulares y afectan los procesos fisiológicos y bioquímicos (Yuan et al., 2021). La emergencia de una plántula es un proceso biológico fundamental en el ciclo de crecimiento y desarrollo de una planta: el incremento de las concentraciones de sal retrasa o disminuye la tasa de germinación de la semilla, probablemente por la toxicidad y el cambio del potencial osmótico en la célula (Mukami et al., 2020).

El estrés salino conduce a una elevada concentración de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  mientras que reduce los niveles de  $\text{K}^+$  en las hojas de mijo; el desbalance nutricional y/o la desviación de energía para la remoción de sal o para la síntesis de solutos afecta el crecimiento y desarrollo de la planta (Mukami et al., 2020). El estrés salino afecta el contenido de clorofila a través de la degradación de esta y la destrucción de las estructuras de los cloroplastos (Zhang et al., 2020). La supervivencia de las plantas a las condiciones de estrés implica una evolución adaptativa, a través de cambios en la estructura morfológica, en la fisiología, síntesis de compuestos solubles y el sistema antioxidante (Yuan et al., 2021). El alto contenido de prolina libre se ha relacionado con la tolerancia al estrés salino en mijo, que posiblemente actúa contra el estrés oxidativo; las variedades tolerantes tienen un mecanismo de defensa eficiente y efectivo (Mukami et al., 2020). La alta tolerancia al estrés salino de mijo cola de zorro (*Setaria italica* L.) se ha asociado con la mejora en el contenido de agua, con el ajuste osmótico a través de la acumulación de prolina y menor daño a la clorofila (Akter et al., 2020). El NaCl regula negativamente la biogénesis y las vías de señalización del ácido giberélico (GA) (Shu et al., 2017). La deficiencia de GA bioactiva ( $G_1$ ,  $G_4$ ) reprime la germinación de la semilla al disminuir la actividad de la  $\alpha$ -amilasa a través de una menor expresión del gen que la codifica, por consiguiente, limita la disponibilidad de los carbohidratos y proteínas de reserva que proporcionarían energía y sustrato a la nueva planta (Liu et al., 2018).

El mijo es ampliamente utilizado en regiones áridas y semiáridas; su eficiencia en el uso de agua y nutrientes permite apoyar la conservación del agua en la agricultura sostenible. Sin embargo, el mejoramiento genético de los mijos para la tolerancia al estrés abiótico

se ha avanzado muy poco o se ha llevado a cabo en regiones muy aisladas del mundo (Yuan et al., 2021). El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica de dos poblaciones de mijo proso a seis niveles de salinidad.

## Materiales y métodos

El experimento se realizó en la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Tecnológico Nacional de México campus Roque, Celaya, Guanajuato, México. Las semillas de mijo (*Panicum miliaceum*) fueron adquiridas en el mercado local. El experimento se estableció en el ciclo primavera-verano de 2021. Se evaluó el crecimiento de dos poblaciones de mijo, Rojo y Blanco (semillas roja y blanca), en seis concentraciones de NaCl. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con un arreglo factorial de  $2 \times 6$ , el factor *A* correspondió a las dos poblaciones de mijo y el factor *B* correspondió a las dosis de NaCl (0 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM, 300 mM, y 400 mM). La semilla se sembró directamente en macetas con capacidad de un litro rellenas de Peat moss (Premier®); fueron regadas a capacidad de campo y fertilizadas con el producto comercial 17-17-17 (NPK) utilizando la dosis recomendada por el fabricante; cada maceta contenía cuatro plantas. La temperatura fue de 30 °C/23 °C (día/noche). Para los ensayos de las diferentes concentraciones de NaCl, se suministraron las respectivas soluciones salinas a las plantas a los 20 días después de la siembra (DDS) y las muestras fueron recogidas a los 30 DDS para los análisis posteriores. Se realizó una prueba de germinación y otra de vigor, empleando las concentraciones de NaCl descritas.

El porcentaje de germinación de la semilla se calculó de acuerdo con las reglas de análisis de semillas (ISTA), utilizando cuatro repeticiones de 50 semillas. Las semillas se colocaron en hojas para germinar previamente humedecidas, fueron enrolladas y se incubaron a 25 °C durante siete días. El índice de vigor se estimó con base en el crecimiento lineal de la raíz y de brote. Sobre una línea central trazada en el papel germinador, se colocaron las cariósides de tal forma que la emergencia de la radícula del embrión quedara orientada hacia abajo. Posteriormente, se cubrió con papel germinador y se humedeció; los rollos fueron incubados a 25 °C en oscuridad durante siete días. Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas. Se anotó el número de plántulas normales cuyos extremos es-

taban localizados en los espacios entre las diferentes líneas paralelas (ISTA, 1987).

El contenido de clorofila y carotenoides se determinó de acuerdo con Lichtenthaler (1987). Las hojas frescas sin venas se molieron en nitrógeno líquido, se mezcló con acetona al 80 % y se centrifugó a 10 000 rpm a 4 °C en la microcentrífuga Sorvall™ Legend™ Micro 21R Thermo Scientific™. El sobrenadante se transfirió a un frasco ámbar; se repitió el procedimiento hasta obtener lavados sin coloración verde. El sobrenadante se transfirió a un matraz aforado de 10 o 25 mililitros (mL) de acuerdo con el número de lavados y se aforó con acetona al 80 %. Se leyeron las absorbancias a las longitudes de onda 663 nm, 647 nm y 470 nm en el espectrómetro de absorbancia de microplacas xMark™ BIO-RAD.

La actividad de la POD (EC.1.1.1.7) se evaluó de acuerdo al método descrito por Balois-Morales et al. (2018). Se molió 1 g de material vegetal en siete mL de una solución fría que contenía 100 mM de Tris-HCl pH 7 y polivinilpirrolidona (PVP40) al 1 %: se centrifugó a 18510 x g por 20 minutos a 4 °C. La mezcla de reacción consistió en 2.5 mL de Tris-HCl a 100 Mm pH 7, 0.25 mL de guayacol a 100 mM, 0.1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.25 % y 0.15 mL de sobrenadante y se registró el cambio de absorbancia a 460 nm en el lector de microplacas xMark™ BIO-RAD. Los resultados se reportaron como unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína (U mg<sup>-1</sup> Prot). Una unidad se definió como el cambio de absorbancia de 0.001 en un minuto. El contenido de proteína se cuantificó por el método de Bradford (1976).

El contenido de prolina se cuantificó por el método de Bates et al. (1973). Se molieron 3 g de tejido vegetal en 30 mL de ácido sulfosalicílico al 3 % y se centrifugó a 5000 rpm por cinco minutos. Para la reacción se tomaron 0.6 mL de sobrenadante; se le

**Tabla 1.** Cuadrados medios, grados de libertad y significancia estadística para las variables porcentaje de germinación, longitud de brote y de raíz de mijo sometido a diferentes concentraciones de NaCl. Celaya, Gto. P-V 2021.

Fuente	GL	Germinación (%)	Longitud de brote (cm)	Longitud de raíz (cm)
Bloque	2	14.08	0.01	0.02
Población (P)	1	1406.25**	1.18ns	154.13**
NaCl (N)	5	3323.65**	56.81**	50.16**
P*N	5	390.45**	10.70**	6.88**
Error	24	5.58	0.35	0.51
CV %		3.20	13.13	10.33

GL: grados de libertad, \*\* significancia estadística al nivel 0.01 de probabilidad; ns: indica no significativo. **Fuente:** Elaboración propia.

añadió 0.6 mL de ácido sulfosalicílico al 3 %, 0.4 mL de ninhidrina ácida, 0.4 mL de ácido acético glacial y se incubó a 97 °C durante una hora. La reacción se detuvo por choque térmico por cinco minutos. Una vez a temperatura ambiente, se agregó un mL de tolueno y se agitó en vortex por un minuto; se tomó la fase orgánica y se leyó la absorbancia a 520 nm.

## Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) usando SAS versión 9.4 (SAS Institute, Cary, North Caroline, USA). La interacción genotipo\*[NaCl] se analizó con R (4.2.2) usando el paquete “Metan”.

## Resultados y discusión

### Germinación e índice de vigor

En el análisis de varianza (Tabla 1) se observaron diferencias altamente significativas en el factor genotipo, en el factor de NaCl y en su interacción para las variables germinación y longitud de raíz. La variable longitud de brote mostró diferencias altamente significativas en el factor NaCl y en la interacción con genotipos (Tabla 1). Esto indica que, la germinación y el desarrollo de la raíz del mijo tienen diferente respuesta al ambiente. La longitud de brote mostró diferencias significativas por las concentraciones de NaCl. En la comparación de medias (Tabla 2), se observó que la población Rojo presentó mayor porcentaje de germinación y mayor longitud de raíz comparada con la población Blanco, lo que indica que la blanca es más afectada por la sal. El porcentaje de germinación y la longitud de brote disminuyeron significativamente a partir de la dosis de 100 Mm de NaCl, mientras que la longitud de raíz disminuyó significativa-

**Tabla 2.** Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para las variables índice de vigor y el porcentaje de germinación de semillas de mijo a diferentes concentraciones de NaCl. Celaya, Gto. P-V 2021.

Factores	Niveles	Germinación (%)	Longitud de brote (cm)	Longitud de raíz (cm)
Población	Rojo	80.17 a	4.29 a	9.01 a
	Blanco	67.67 b	4.65 a	4.88 b
NaCl	Testigo	92.00 a	8.01 a	8.20 a
	50 mM	93.50 a	7.48 a	9.13 a
	100 mM	86.00 b	5.26 b	8.64 a
	200 mM	79.50 c	4.11 c	7.99 a
	300 mM	59.50 d	1.66 d	6.36 b
	400 mM	33.00 e	0.33 e	1.36 c

Medias con la misma letra dentro de la misma variable son estadísticamente iguales (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). **Fuente:** Elaboración propia.

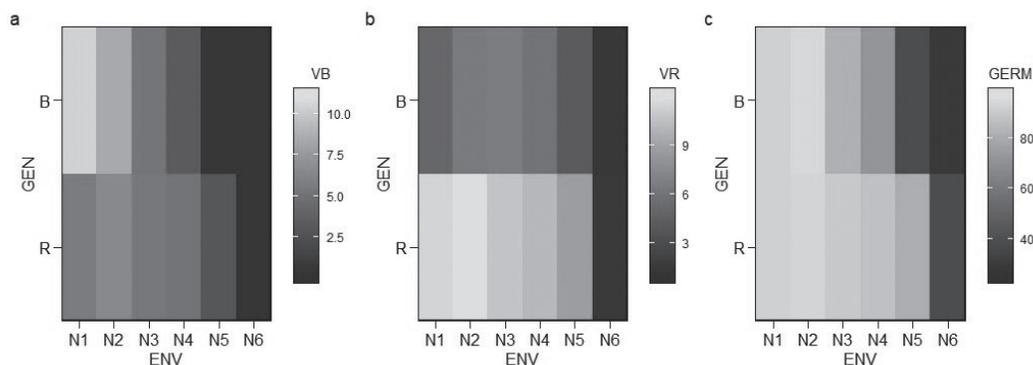
mente a partir de la dosis de 300 mM; estas características son afectadas diferencialmente por la concentración salina. La estabilidad de los genotipos tolerantes a ambientes salinos en cuanto a la germinación se atribuye a un alto índice de vigor en comparación con los genotipos susceptibles (Anju et al., 2019). El desarrollo de la raíz es una característica importante en la tolerancia de las plantas al estrés salino; es el primer órgano que controla la entrada y la traslocación de la sal y de los nutrientes; la capacidad de mantener el potencial osmótico en las células y la rápida compartimentalización de los iones salinos le permite mantener la turgencia y la división celular (Mukami et al., 2020). El alto porcentaje de germinación y mayor longitud de raíz de la población Rojo indican la tolerancia de esta para crecer en ambientes salinos. El NaCl afecta negativamente la germinación de la semilla a través de la alteración de las vías de las fitohormonas relacionadas con el proceso germinativo. La regulación coordinada de la señalización de las auxinas y las giberelinas en periodos de estrés se requiere para mejorar el desarrollo de la pared celular (Yuan et al., 2021). El NaCl regula positivamente la biogénesis del ácido abscísico (ABA), un inhibidor endógeno de la germinación (Shu et al., 2017). El NaCl induce la expresión de un gen perteneciente a la familia DELLA que reprime la ruptura de la cubierta seminal de la semilla durante la germinación.

La interacción de los factores para las variables germinación y vigor se muestra en la Figura 1. La población Blanco presentó mayor longitud de brote con las dosis de 0 y 50 mM de NaCl respecto a la población Rojo (Figura 1a); la población Rojo presentó mayor longitud de raíz respecto a la población Blanco (Figura 1b). En condiciones de estrés salino, la planta gasta una gran cantidad de energía para el mecanismo de

remoción de sal a costa de otros procesos fisiológicos y metabólicos, afectando el transporte de nutrientes y el proceso de la división y expansión celular; por lo tanto, las plantas presentan menor crecimiento y desarrollo (Anju et al., 2019). En la variable germinación, la población Rojo mostró mejor comportamiento en las diferentes dosis de NaCl aplicadas, respecto a la población Blanco (Figura 1c). La alta tasa de germinación y el alto contenido de prolina se ha relacionado con la tolerancia al estrés salino en mijo tolerante a salinidad (Jha et al., 2021). La dosis de 400 mM de NaCl puede considerarse un estrés extremo para el mijo; fue donde se observó una drástica disminución del porcentaje de germinación de la semilla. Dos genotipos de mijo perla tolerantes a la salinidad presentaron 50% y 33% de germinación con la dosis de 400 mM de NaCl (Toderich et al., 2018). Las semillas de *Panicum coloratum* no germinaron en ensayos con 400 mM de NaCl (Cardamone et al., 2018).

### Contenido de pigmentos fotosintéticos

En el análisis de varianza (Tabla 3) se observaron diferencias altamente significativas para las variables contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides en ambos factores (Población y NaCl) y en su interacción; esto indica que el contenido de pigmentos fotosintéticos es influenciado por el ambiente y por el genotipo. En la comparación de medias (Tabla 4), se observó que la población Blanco presentó mayor contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides respecto a la población Rojo. En el factor NaCl, la dosis de 50 mM de NaCl aumentó significativamente el contenido de clorofila *a*; las dosis de 50 mM y 100 mM de NaCl aumentaron significativamente el contenido de clorofila *b* y clorofila total; posteriormente, disminuyeron ( $P \leq 0.05$ ) el



**Figura 1.** Interacción de factores (Población\*NaCl) para las variables: (a) longitud de brote (VB), (b) longitud de raíz (VR) y (c) porcentaje de germinación (GERM) de mijo en 0, 50, 100, 200, 300 y 400 mM de NaCl (N1, N2, N2, N3, N4, N5 y N6). GEN: población. **Fuente:** Elaboración propia.

contenido de pigmentos fotosintéticos con el aumento de la concentración de NaCl. El fotosistema I (PSI) coordina varias moléculas de clorofila *a* que absorben por encima de 700 nm y el fotosistema II (PSII) coordina más moléculas de clorofila *b* que absorben en regiones de 470 y 650 nm (Bos et al., 2017). Debido a que los dos fotosistemas funcionan en serie, requieren que sus velocidades de transporte de electrones estén equilibradas, esto a través del proceso “transición de estado”, el cual implica el movimiento de un grupo especial de antenas LHClI (complejo cosechador de luz) entre el PSI y PSII (Bos et al., 2017). O bien, pueden ajustar la proporción de las moléculas de clorofila en PSI/PSII; también pueden ajustar el número de complejos y el tamaño de las antenas en el PSII (Wientjes et al., 2017). Algunas proteínas de las antenas dependen de los niveles de clorofila *b*; la clorofila *b* recolecta luz y participa en la formación de vías para la migración de la energía luminosa dentro de la antena y de la antena a los fotosistemas; la clorofila *b* es importante para el montaje correcto de LHClI, también es importante para el apilamiento y empaque de la grana (Voitsekhojskaja, 2015).

Los bajos niveles de sales ejercen un efecto positivo en el crecimiento de algunas plantas como el ajo (*Allium sativum* L.) (Astaneh et al., 2019), el tomillo (*Thymus vulgaris* y *T. daenensis*) (Emami et al., 2019). Las concentraciones de NaCl por debajo de 100 mM mejoraron significativamente el contenido de carotenoides y la tasa fotosintética en estas plantas (Emami et al., 2019). Y en este caso, el mijo mostró una respuesta favorable en concentraciones iguales o menores a 100 mM de NaCl. Los niveles bajos de sal podrían ayudar a mantener la integridad de los complejos proteicos de la membrana tilacooidal y proteger las reacciones fotoquímicas (Asrar et

**Tabla 3.** Cuadrados medios, grados de libertad y significancia estadística para las variables contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y de carotenoides en mijo cultivado en diferentes concentraciones de NaCl, Celaya, Gto. P-V 2021.

Fuente	GL	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides
Bloque	2	0.03	0.38	0.22	0.01
Población (P)	1	10.26**	1.92**	21.01**	0.18**
NaCl (N)	5	6.49**	6.17**	23.16**	0.42**
P*N	5	1.00**	4.32**	5.30**	0.46**
Error	24	0.08	0.15	0.24	0.01
CV %		4.53	13.75	5.40	12.51

GL: grados de libertad, \*\* indica significancia estadística al nivel 0.01 de probabilidad. Fuente: Elaboración propia.

al., 2017). El Cl<sup>-</sup> ejerció un efecto positivo en el peso seco y crecimiento foliar de las plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*); el agrandamiento de las células foliares promovidas por el Cl<sup>-</sup> causó una menor densidad estomática y menor conductancia estomática, lo cual disminuyó el consumo de agua y por lo tanto, mejoró las relaciones agua-planta; la difusión de CO<sub>2</sub> y el rendimiento fotosintético mejoraron a través de una mayor densidad de cloroplastos más pequeños (Franco-Navarro et al., 2019).

En la Figura 2 se muestra la interacción de los factores para el contenido de pigmentos fotosintéticos. Se puede observar que la dosis de 50 mM de NaCl promovió mayor contenido de clorofila *a* en la población Blanco (Figura 2a); las dosis de 50 mM y 100 mM de NaCl promovieron mayor contenido de clorofila *b* y clorofila total en la población Blanco (Figura 2a y 2b) respecto a la población Rojo. Posteriormente, el contenido de pigmentos fotosintéticos en mijo disminuyó con el aumento de las concentraciones de NaCl. La población Blanco presentó mayor contenido de carotenoides (Figura 2d) a 0 mM de NaCl, posteriormente, disminuyó con las diferentes concentraciones de NaCl en las dos poblaciones. Los carote-

**Tabla 4.** Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para las variables contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y de carotenoides en mijo cultivado en diferentes concentraciones de NaCl. Celaya, Gto. P-V 2021.

Factores	Niveles	Clorofila <i>a</i> µg/cm <sup>2</sup>	Clorofila <i>b</i> µg/cm <sup>2</sup>	Clorofila total µg/cm <sup>2</sup>	Carotenoides µg/cm <sup>2</sup>
Población	Rojo	5.69 b	2.61 b	8.30 b	0.70 b
	Blanco	6.76 a	3.08 a	9.83 a	0.85 a
NaCl	0 mM	6.43 bc	2.47 b	8.90 c	1.23 a
	50 mM	7.99 a	4.14 a	12.12 a	0.52 c
	100 mM	6.55 b	4.09 a	10.63 b	0.63 c
	200 mM	5.98 c	2.23 bc	8.21 cd	0.83 b
	300 mM	5.28 d	2.40 bc	7.68 de	0.56 c
	400 mM	5.12 d	1.75 c	6.87 e	0.87 b

Medias con la misma letra dentro de la misma variable son estadísticamente iguales (Tukey, P≤0.05). Fuente: Elaboración propia.

noides pertenecen un grupo de moléculas de antena que absorben la energía luminosa y transfieren la energía a las moléculas de clorofila; los carotenoides exhiben su actividad antioxidante previniendo la formación de  $^1O_2$  al reaccionar con la clorofila en su estado triplete ( $^3Chl^*$ ) y con la clorofila excitada ( $Chl^*$ ) y disipando el exceso de energía luminosa (Das y Roychodhury, 2014).

El bajo contenido de clorofila en mijo sometido a salinidad se atribuye a la alta tasa de degradación y/o alteración de la actividad de las enzimas relacionadas con la biosíntesis de la clorofila inducida por el estrés salino (Yadav et al., 2020). Por ejemplo, el ácido aminolevulínico sintasa cataliza la síntesis del ácido D-aminolevulinico, el primer precursor de la biosíntesis de las clorofilas; la actividad de esta enzima se ve disminuida debido a la salinidad, mientras que se induce una alta actividad de la clorofilasa, una enzima que cataboliza la clorofila (Emami et al., 2019). Las proteínas y enzimas del sistema fotosintético como la Rubisco, PsbA, PsbO y PetD son dañadas por el estrés salino (Asrar et al., 2017). La degradación de las proteínas y las moléculas de clorofila en conjunto con los daños ultraestructurales limitan directamente la eficiencia fotosintética. Por consiguiente, se afecta la producción de asimilados para el desarrollo de la planta durante el estrés (Astaneh et al., 2019).

### Actividad de la POD y el contenido de prolina

En el análisis de varianza (Tabla 5) se observaron diferencias altamente significativas para las variables actividad de la POD y contenido de prolina en raíz y hoja en los dos factores (población y NaCl) y en la interacción de los factores. Esto indica que la respuesta

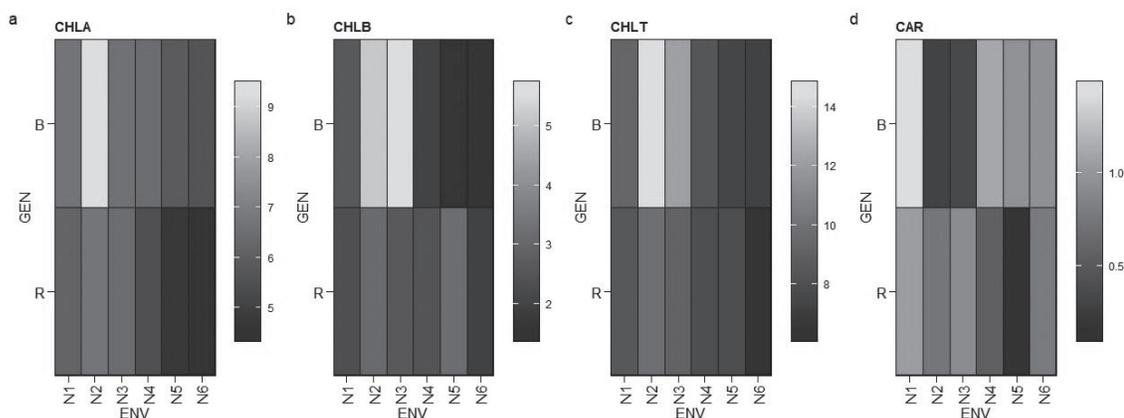
**Tabla 5.** Cuadros medios, grados de libertad y significancia estadística para las variables actividad de la POD y el contenido de prolina en hoja y raíz de mijo cultivado en diferentes concentraciones de NaCl. Celaya, Gto. P-V 2021.

Fuente	GL	POD hoja	Prolina raíz	Prolina hoja
Bloque	2	2.04	5.3E-07	3.6E-07
Población (P)	1	658.69**	0.018**	0.042**
NaCl (N)	5	34.97**	0.008**	0.081**
P*N	5	37.05**	0.002**	0.007**
Error	24	5.16	6.17E-06	7.05E-05
CV %		10.10	6.41	5.55

GL: grados de libertad, \*\* significancia estadística al nivel 0.01 de probabilidad. Fuente: Elaboración propia.

de estas variables es influenciada por el ambiente y por el genotipo. En la comparación de medias (Tabla 6) se observó que la población Blanco presentó mayor actividad en la POD. En el factor NaCl, la actividad de la POD no presentó diferencias significativas. En la interacción de los factores (Figura 3a) se puede observar que la población Blanco, la actividad de la POD aumentó con los niveles de NaCl; en la población Rojo no se observó algún cambio. La capacidad de tolerancia de mijo a la salinidad se atribuye a una mayor actividad de las enzimas antioxidantes; con frecuencia la actividad de las enzimas antioxidantes se ve estimulada en genotipos tolerantes cuando son sometidos a estrés (Avashthi et al., 2020; Anju et al., 2019). Sin embargo, la menor actividad de POD en la población Rojo podría indicar un menor impacto del estrés salino respecto a la población Blanco.

La población Blanco (Tabla 6) presentó mayor contenido de prolina en raíz y menor contenido en hoja respecto a la población Rojo. En el factor NaCl, el contenido de prolina en raíz y hoja aumentaron conforme aumentaban las concentraciones de NaCl.



**Figura 2.** Interacción de los factores (Población\*NaCl) para las variables: contenido de (a) clorofila a, (b) clorofila b, (c) clorofila total y (d) carotenoides en mijo sometido a 0, 50, 100, 200, 300 y 400 mM de NaCl (N1, N2, N3, N4, N5 y N6). GEN: Población. Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 6.** Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para las variables actividad de la POD y contenido de prolina en hoja y raíz de mijo cultivado en diferentes concentraciones de NaCl. Celaya, Gto. P-V 2021.

Factores	Niveles	POD U mg <sup>-1</sup> P PF	Prolina raíz μg mg <sup>-1</sup> PF	Prolina hoja μg mg <sup>-1</sup> PF
Población	Rojo	18.21 b	0.016 b	0.185 a
	Blanco	26.77 a	0.061 a	0.117 b
NaCl	Testigo	18.76 b	0.017 d	0.027 d
	50 mM	21.56 ab	0.017 d	0.105 c
	100 mM	25.04 a	0.021 cd	0.116 c
	200 mM	25.01 a	0.023 c	0.137 b
	300 mM	23.11 a	0.045 b	0.150 b
	400 mM	21.46 ab	0.110 a	0.372 a

Medias con la misma letra dentro de la misma variable son estadísticamente iguales (Tukey, P≤0.05). **Fuente:** Elaboración propia.

En la interacción de los factores (Figura 3a y 3b) se puede observar que, la población Blanco presentó mayor contenido de prolina en raíz y menor contenido en hoja; en las dos poblaciones, el contenido de prolina fue aumentando conforme aumentaba las concentraciones de NaCl. La alta acumulación de prolina con frecuencia se usa como un indicador del estrés por sequía; sin embargo, el estrés salino también altera el metabolismo de la prolina. La enzima NADPH oxidasa unida a la membrana es responsable de la acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la cual es necesaria para desencadenar la biosíntesis de prolina en raíces de trigo durante el estrés salino; la prolina cumpliría con el papel de antioxidante al formar un circuito de retroalimentación con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Liu et al., 2020).

En mostaza castaña (*Brassica juncea*) también se observó un incremento en el contenido de prolina cuando las plantas se sometieron a estrés salino; la alta actividad de la prolina deshidrogenasa (PDH) indicaría un mayor catabolismo de la prolina durante

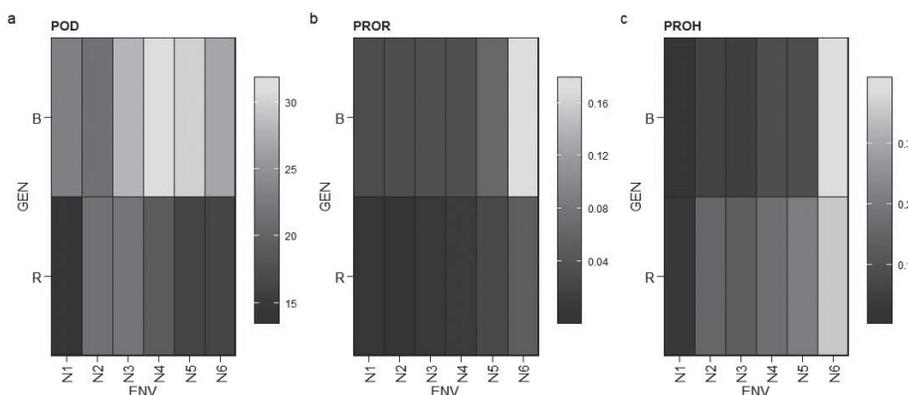
el estrés. En dos genotipos de mijo perla tolerante al estrés salino, el contenido de prolina aumentó 50 y 30 veces en plantas sometidas a estrés salino respecto al testigo (Toderich et al., 2018). La prolina ejerce un papel significativo en los procesos fisiológicos y bioquímicos; cumple con el rol de osmoprotector, actúa como antioxidantes y como fuente de nitrógeno y carbono, participa como una molécula de señalización, regula las funciones mitocondriales, estimula e induce una regulación positiva de genes relacionadas con la tolerancia al estrés salino (Alamri et al., 2020).

## Conclusiones

Las concentraciones iguales o menores de 100 mM de NaCl tuvieron un efecto positivo en mijo a través de un mayor contenido de clorofila, lo que posiblemente contribuyó a las actividades del sistema fotosintético. La estabilidad en el porcentaje de germinación e índice de vigor de la población Rojo podría indicar su tolerancia al estrés salino; es probable que la menor actividad de la POD se deba a un menor impacto del estrés y el alto contenido de prolina en hoja podría contribuir a su adaptación al ambiente salino. El mijo proso se podría recomendar para ambientes con algún grado de salinidad.

## Referencias

- Akter, S., Mannan, M., Mamun, M. and Islam, M. 2020. Physiological basis of salinity tolerance in foxtail millet. *Bangladesh Agronomy Journal*, 22(2): 11–24.
- Alamri, S., Hu, Y., Mukherjee, S., Aftab, T., Fahad, S., Raza, A., Ahmad, M. and Siddiqui, M. H. 2020. Silicon-induced postponement of leaf senescence is accompanied by modulation of antioxidative defense and ion homeostasis in mustard (*Brassica juncea*) seedlings exposed to salinity and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 157:47-59.



**Figura 3.** Interacción de los factores (población\*NaCl) para las variables: (a) actividad de la POD, contenido de prolina en (b) raíz y (c) hoja de mijo sometido a 0, 50, 100, 200, 300 y 400 mM de NaCl (N1, N2, N3, N4, N5 y N6). GEN: población. **Fuente:** Elaboración propia.

- Anju, UL., Doddagoudar, SR., Pattanashetti, SK., Gowda, B. and Vijaykumar, K. 2019. Influence of seed priming on seed germination, seedling growth, peroxidase activity, proline and total soluble sugar content of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) under salinity stress. *International Journal of Chemical Studies* 7: 508-514.
- Asrar, H., Hussain, T., Hadi, S. M. S., Gul, B., Nielsen, B. L. and Khan, M. A. 2017. Salinity induced changes in light harvesting and carbon assimilating complexes of *Desmostachya bipinnata* (L.) Stapf. *Environmental and Experimental Botany* 135: 86-95.
- Astaneh, R. K., Bolandnazar, S., Nahandi, F. Z., and Oustan, S. 2019. Effects of selenium on enzymatic changes and productivity of garlic under salinity stress. *South African Journal of Botany* 121:447-455.
- Avashthi, H., Pathak, R. K., Gaur, V. S., Singh, S., Gupta, V. K., Ramteke, P. W., and Kumar, A. 2020. Comparative analysis of ROS-scavenging gene families in finger millet, rice, sorghum, and foxtail millet revealed potential targets for antioxidant activity and drought tolerance improvement. *Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics* 9: 1-23.
- Balois-Morales, R., Jiménez-Zurita, J. O., Alia-Tejacal, I., López-Guzmán, G. G., Palomino-Hermosillo, Y. A. and Sánchez-Herrera, L. M. 2018. Antioxidant enzymes and antioxidant activity in two soursop selections (*Annona muricata* L.) from Nayarit, México stored at 15°C. *Revista Brasileira de Fruticultura* 41: e-083.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Bos, I., Bland, K. M., Tian, L., Croce, R., Frankel, L. K., van Amerongen, H. and Wientjes, E. 2017. Multiple LHClI antennae can transfer energy efficiently to a single Photosystem I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1858: 371-378.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cardamone, L., Cuatrin, A., Grunberg, K. and Tomás, M. A. 2018. Variability for salt tolerance in a collection of *Panicum coloratum* var. makarikariense during early growth stages. *Tropical Grasslands* 6: 134-147.
- Das, P., Manna, I, Sil, P, Bandyopadhyay, M. and Biswas, A. K. 2019. Exogenous silicon alters organic acid production and enzymatic activity of TCA cycle in two NaCl stressed indica rice cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry* 136: 76-91.
- Emami, B. Z., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F., and Reza, M. M. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crop and Products* 135: 311-320.
- Franco-Navarro, J. D., Rosales, M. A., Cubero-Font, P., Calvo, P., Álvarez, R., Diaz-Espejo, A. and Colmenero-Flores, J. M. 2019. Chloride as a macronutrient increases water use efficiency by anatomically driven reduced stomatal conductance and increased mesophyll diffusion to CO<sub>2</sub>. *The Plant Journal* 99: 815-831.
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., and Hnilicka, F. 2021. Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants* 10: 845.
- Hopmans, J. W., Qureshi, A. S., Kisekka, I., Munns, R., Grattan, S. R., Renegasamy, P. and Taleisnik, E. 2021) Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. *Advances in Agronomy* 169: 1-191.
- International Rules for Seed Testing, ISTA. 1987. Handbook of vigour tests methods. Zurich.
- Jha, S., Singh, J., Chouhan, C., Singh, O. and Srivastava, R. K. 2021. Evaluation of multiple salinity tolerance indices for screening and comparative biochemical and molecular analysis of Pearl Millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] Genotypes. *Journal of Plant Growth Regulation* 41, 1820-1834.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Liu, L., Huang, L., Lin, X. and Sun, C. 2020. Hydrogen peroxide alleviates salinity-induced damage through enhancing proline accumulation in wheat seedlings. *Plant Cell Reports* 39: 567-575.
- Liu, P., Gan, W., Su, S., Hauenstein, A. V., Fu, T. M., Brasher, B., Schwerdtfeger, C., Liang, A. C., Xu, M. and Wei, W. 2018. K63-linked polyubiquitin chains bind to DNA to facilitate DNA damage repair. *Science Signaling* 11: eaar8133.
- Mukami, A., Ng'etich, A., Syombua, E., Oduor, R. and Mbinda, W. 2020. Varietal differences in physiological and biochemical responses to salinity stress in six finger millet plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 26(8): 1569-1582.
- Shu, K., Qi, Y., Chen, F., Meng, Y., Luo, X., Shuai, H. and Yang, W. 2017. Salt stress represses soybean seed germination by negatively regulating GA biosynthesis while positively mediating ABA biosynthesis. *Frontiers in plant science* 8: 1372.
- Toderich, K., Shuyskaya, E., Rakhmankulova, Z., Bukarev, R., Khujazarov, T., Zhapaev, R., Ismail, S., Gupta, S., Yamanaka, N. and Boboev, F. 2018. Threshold tolerance of new genotypes of *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. to salinity and drought. *Agronomy* 8: 230.
- Voitsekhovskaja, O. V. and Tyutereva, E. V. 2015. Chlorophyll b in angiosperms: functions in photosynthesis, signaling and ontogenetic regulation. *Journal of Plant Physiology* 189: 51-64.
- Wientjes, E., Philippi, J., Borst, J. W., and van Amerongen, H. 2017. Imaging the Photosystem I/Photosystem II chlorophyll ratio inside the leaf. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1858: 259-265.
- Yadav, T., Kumar, A., Yadav, R. K., Yadav, G., Kumar, R. and Kushwaha, M. 2020. Salicylic acid and thiourea mitigate the salinity and drought stress on physiological traits governing yield in pearl millet-wheat. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27: 2010-2017.
- Yuan, YH., Li, J., Ma, HC., Yang, QH., Liu, CJ. And Feng, BL. 2021. Salt-tolerant broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) resists salt stress via modulation of cell wall biosynthesis and Na<sup>+</sup> balance. *Land Degrad Dev.* 32: 518- 532.
- Zhang, W. J., Zhang, X. J., Lang, D. Y., Li, M., Liu, H. and Zhang, X. H. 2020. Silicon alleviates salt and drought stress of *Glycyrrhiza uralensis* plants by improving photosynthesis and water status. *Biol. Plant* 64: 302-313.