

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



RESPUESTA ANATÓMICA Y ULTRAESTRUCTURAL A  
LA TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN GENOTIPOS SENSIBLES Y  
TOLERANTES DE MAÍZ (*Zea mays* L.)

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS  
CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA  
PRESENTA

M. en C. MARIA ELENA MONTERO VILLALOBOS

MONTERRÉY, N. L.

NOVIEMBRE

TM

SB19

.M2

M6

c.1



1080087110

961213

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

Respuesta anatómica y ultraestructural al estrés de salinidad en genotipos sensibles y tolerantes de maíz (*Zea mays* L.)



M. en C. MARIA ELENA MONTERO VILLALOBOS

**RESPUESTA ANATOMICA Y ULTRAESTRUCTURAL AL ESTRÉS DE SALINIDAD EN GENOTIPOS SENSIBLES Y TOLERANTES DE MAIZ (*Zea mays* L.).**

M. en C. JORGE HERNÁNDEZ PINERO  
Director

**TESIS**

PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS  
CON ESPECIALIDAD EN BOTANICA

PRESENTA

DRA. HILDA GAMEZ GONZ  
Vocal

**M. en C. MARIA ELENA MONTERO VILLALOBOS.**



SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

NOVIEMBRE DE 1998

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1998

TM  
SB 291  
022  
M6



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SUBDIRECCION DE POSTGRADO**

**Respuesta anatómica y ultraestructural al estrés de salinidad en genotipos  
sensibles y tolerantes de maíz (*Zea mays* L.)**

**TESIS**

**PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS  
CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA**

**PRESENTA**

**M. en C. MARIA ELENA MONTERO VILLALOBOS**

**COMISIÓN DE TESIS**

  
M. en C. **JORGE HERNÁNDEZ PIÑERO**  
Director

  
DR. **RATIKANTA MAITI**  
Codirector

  
DRA. **HILDA GAMEZ GONZALEZ**  
Vocal

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Jorge Hernández Piñero, M. Sc., por su dirección, sugerencias y revisión de este escrito.**

**Al Dr. R. K. Maití, por su orientación y valiosa ayuda en el desarrollo del presente trabajo.**

**A la Dra. Hilda Gámez, por sus consejos y revisión del presente trabajo.**

**Al Dr. Rahim Foroughbakhch, por sus recomendaciones y sugerencias en la elaboración de este proyecto.**

**Al M.C. Roberto Mercado Hernández y al Biól. Roberto Mercado Montero por su invaluable ayuda en la elaboración del presente escrito.**

**A la Biól. Rosa Ma. Gonzalez Garcia, M.C. Javier Ruiz Steele, M.C. Joaquín Fernández Solís, M.C. Mario Silva G. e Ing. Ismael Cruz M. por su cooperación en la realización del trabajo experimental.**

**A las Sritas. Ada M. Ita Garay y Carolina C. Briones por su ayuda en la elaboración de los cortes histológicos.**

**A la Memoria de mi inolvidable amiga**

**Bióloga Rosa María González García una estrella refulgente en el firmamento.**



## **DEDICATORIA**

**A mis padres: Sra. Guadalupe Villalobos García y Sr. Emiliano Montero Marqués, con profundo respeto, cariño y admiración.**

**A mi esposo e hijo por ser de gran apoyo y pilares en la culminación de este logro.**

**A mi hermana Sra. Juanita Montero V.**

**A mis cuñados: María de la Luz, Martha, Juan, Angel, Fernando y Jesús.**

**A mis sobrinos: Yazmín, Fernando y Merlina.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A) Genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L) control y tratado.

Figura 1. B) Genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L) control y tratado.

Figura 2. Genotipo tolerante (D-878) control y tratado, y genotipo sensible (B-830) control y tratado de maíz (*Zea mays* L).

Figura 3. Medias aritméticas de las variables del genotipo sensible de maíz (*Zea mays* L.) para los dos grupos: control y salinidad (NaCl 0.2 M).

Figura 4. Medias aritméticas de las variables del genotipo tolerante de maíz (*Zea mays* L.) para los dos grupos: Control y salinidad (NaCl 0.2 M).

Figura 5. Medias aritméticas de las variables en los grupos control en maíz (*Zea Mays* L):

Figura 6. Medias aritméticas de las variables en los grupos tratados en maíz (*Zea mays* L.) (NaCl 0.2 M).

Figura 7. Cloroplasto del mesófilo del control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L)

Figura 8. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L)

Figura 9. Cloroplasto del mesófilo del genotipo tolerante (D-878) tratado de maíz (*Zea mays* L)

Figura 10. Cloroplasto del mesófilo del genotipo tolerante (D-878) tratado de maíz (*Zea mays* L)

Figura 11. Cloroplasto de la vaina de Kranz del genotipo tolerante (D-878) tratado de maíz (*Zea mays* L)

Figura 12. Formaciones cristalinas en genotipo tolerante (D-878) tratado de maíz (*Zea mays* L)

Figura 13. Cloroplasto del mesófilo del control del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L)

Figura 14. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el control del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L)

Figura 15. Cloroplasto del mesófilo del genotipo sensible (B-830) tratado de maíz (*Zea mays* L)

**Figura 16. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el genotipo sensible (B-830) tratado de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 17. Meristemo del control del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 18. Meristemo del genotipo sensible tratado (B-830) de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 19. Meristemo del control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 20. Meristemo del genotipo tolerante (D-878) tratado de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 21. Mitocondrias del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L)**

**Figura 22. Mitocondrias del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L)**

## **CONTENIDO**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>Página 1</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>Página 5</b>
<b>IMPORTANCIA</b>	<b>Página 9</b>
<b>OBJETIVO</b>	<b>Página 10</b>
<b>HIPOTESIS</b>	<b>Página 11</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>Página 12</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>Página 15</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>Página 25</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>Página 30</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>Página 32</b>

## INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays* L.) desde la cultura prehispánica, ha sido alimento básico de los mexicanos y de la mayoría de los países de América Latina. Existen innumerables indicios arqueológicos e históricos que indican que este cultivo fue la base de la alimentación en una gran parte de la población de la América precolombina que abarca desde la actual Canadá al Norte hasta la Patagonia en el Sur. Se sabe que en algunas culturas precolombinas, como la Maya, Inca y la Azteca, el maíz además fue utilizado en la celebración de rituales religiosos . En este sentido, se han encontrado granos en tumbas Incas del Perú, mientras que en cuevas de Arizona se han hallado mazorcas de más de 4,000 años. El 50% de las áreas de cultivo en México, consta de maíz utilizándose principalmente para la producción de grano y forraje (Aguilera, 1975). El maíz dulce se usa como verdura y en muchas confituras. El líquido resultante de la maceración de los granos se emplea en la producción de antibióticos, mientras que el glúten se usa en la fabricación de fibras sintéticas, plásticos, celofán y películas fotográficas (Jugenheimer, 1954), así como en la producción de aceite y alcohol.

Desde principios de este siglo, los científicos han intentado obtener un maíz más nutritivo. Aunque los cereales proporcionan más del 70% de la proteína que consume la humanidad, constituye un alimento de baja cantidad y

calidad protéica. En cuanto a su valor nutritivo, la mayor deficiencia del maíz consiste en que contiene pocas cantidades de triptofano y lisina, aminoácidos esenciales que el hombre y los animales monogástricos deben obtener de sus alimentos y que no pueden sintetizar (Pinstrup 1971).

En América Latina, el maíz es uno de los alimentos básicos más importantes entre las familias de ingresos bajos; por lo tanto, el mejoramiento de la calidad protéica del mismo ofrece una oportunidad única para reducir deficiencias protéicas entre la población (Andersen,1971). El cultivo del maíz se siembra bajo condiciones de temporal y de riego en la mayoría de los Estados de México. Los factores más relevantes que limitan su rendimiento son la salinidad, la sequía y las altas temperaturas en sitios áridos y semiáridos. En el Estado de Nuevo León se cosecharon 24,697 Has. en 1979, con un promedio de rendimiento de 2,277 ton/ha.. Esta producción no ha aumentado en forma importante en los últimos años, ya que según reportes del INIFAP el rendimiento promedio nacional fue de 2.3 ton/ha para el año 1997, con una producción de 18.5 millones de ton., lo cual cubrió el 82% de la demanda nacional de 23 millones de ton.

Por ello, es importante seleccionar variedades que sean tolerantes a dichos factores ambientales de estrés y estudiar los mecanismos fisiológicos y anatómicos que permiten a la planta ser tolerante a estas condiciones. En este

sentido, los cambios ultraestructurales nos darán información útil para entender los mecanismos de tolerancia y para ayudar a seleccionar de un modo más certero a los genotipos tolerantes.

La determinación de las características ultraestructurales, anatómicas típicas de la raíz, tallo y hojas de genotipos de maíz tolerantes a estrés de salinidad, podría servir de indicadores certeros en la selección de genotipos tolerantes para su posterior utilización en regiones que presentan estos factores. Asimismo, los cambios estructurales que se detecten contribuirán al entendimiento de los mecanismos fisiológicos que se generan en respuesta al estrés.

En la actualidad se han realizado muchos trabajos para determinar el efecto de salinidad, sequía y altas temperaturas en el crecimiento y desarrollo del maíz, pero hay poca información de cómo estos factores afectan la ultraestructura en esta planta, o cuáles características podrían presentar las células de plantas tolerantes que difieran de plantas sensibles

El objetivo de este trabajo es determinar algunas respuestas anatómicas y ultraestructurales a la alta salinidad en hoja de plántulas de maíz tolerantes y sensibles a este tipo de estrés, tales como: el tamaño de las células epidérmicas, estomas y vasos conductores mediante Microscopía óptica. Así como cambios ultraestructurales en los cloroplastos, mitocondrias y en el

meristemo de la hoja , utilizando Microscopía Electrónica de Transmisión.

Se realizó especial énfasis en determinar los cambios ocurridos en los cloroplastos, ya que en ellos se realizan las funciones básicas de la productividad y crecimiento de la planta. Este organelo está rodeado de una doble membrana que controla el tránsito de moléculas hacia dentro y fuera. En el interior tiene material amorfo, gelatinoso y rico en enzimas. A la región interior del cloroplasto se le llama estroma. Embebidos en éste se encuentran los tilacoides; cada uno está limitado por una membrana, pero debido a lo aplanado se ven como capas de doble membrana. A intervalos más frecuentes se localizan las pilas de tilacoides empaquetados en una región llamada grana en la cual se encuentra clorofila y otros pigmentos que se asocian a lipoproteínas y están en estrecha relación con moléculas de proteína, enzimas, y aceptores-transportadores.



## ANTECEDENTES

En el Noreste de México el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos de temporal, al cual diversos factores limitan su crecimiento y productividad, entre estos se encuentran la salinidad, la sequía, las altas y bajas temperaturas, plagas, baja fertilidad y enfermedades (Maiti *et al.*, 1992).

**Salinidad:** Es un factor que inhibe el crecimiento, produce disminución de la fotosíntesis causada por la reducción de la apertura de los estomas en cultivos de maíz y frijol; sin embargo, la fertilización con CO<sub>2</sub> tiende a restaurar el crecimiento normal, el grosor de la hoja, el área foliar y la elongación de entrenudos (Schwarz, 1984 y Kayani S.A. 1988). Se ha observado que el NaCl disminuye la fluidez de la membrana celular (Lynch, J. *et al.* 1988), el crecimiento del tallo y las raíces (Soliman, M.F. 1988), el crecimiento de las yemas (Pan, S.M. *et al.* 1988), disminuye la absorción del ion NO<sub>3</sub> (Kostyukovich, 1988), en el polen de las plantas cultivadas en medio salino es afectada la actividad de la amilasa e invertasa (Dhingra, H.R, *et al.* 1986). Se afecta además diferencia de potencial entre el embrión-endospermo, la plúmula y radícula (Rubstova, M.S. 1984), se presenta reducción del área foliar y la proporción del peso de la hoja (Cramer *et al.* 1994 b). Por otro lado, la tasa de elongación de las hojas en plantas control y las sujetas a salinidad

fueron inhibidas por la exposición de 1.2 ppm. de etileno; con ésto se concluye que el etileno no está involucrado en la elongación de las hojas en plantas de maíz en estrés de salinidad (Cramer, 1992). A nivel de ultraestructura callos de variedades de sorgo tolerantes a este estrés muestran movilización y utilización de azúcares en respuesta a los cambios osmóticos (Mir Araujo, 1996) Similarmente (Olmos y Hellin 1996) encontraron lo mismo en *Pisum sativum*.

**Sequía:** Este factor en plantas de maíz afecta el grosor de la lámina media, tamaño, número de células y cloroplastos (Tretyakov *et al.* 1985), el crecimiento de las hojas se reduce así como la secreción de protones en el apoplasto (Volkenburghy y Boyer, 1985), el potencial osmótico se torna más negativo (Sobrado, 1986), la membrana que envuelve al cloroplasto se rompe, los tilacoides se dilatan, hay distorsión del cloroplasto (Roth, 1996), los grana no se distinguen fácilmente y hay mucha acumulación de lípidos (Ristic y Cass, 1993), se afecta la actividad de la enzima nitrato-reductasa en las hojas (Horiguchi, 1986), el número de granos, tasa de crecimiento y acumulación de biomasa es menor (Lorens *et al.*, 1987). Existen plantas de maíz tolerantes a este estrés debido al aumento de prolina en las raíces (Takur, 1987), también se encontró incremento de esta sustancia en las hojas (Niemi, *et al.* 1988), y a la baja tasa de evapotranspiración (Wang, *et al.* 1988).

**Altas temperaturas:** Las temperaturas óptimas en las que crecen las plantas de maíz son de 23 a 32 °C, las letales y subletales van de un rango de 40 a 45 °C (Zhang *et al.* 1994), temperaturas mayores de 30 °C después del desarrollo de la octava hoja afecta la digestibilidad (Stuik, *et al.* 1986), hay crecimiento y acumulación de materia seca (Martinello y Lorenzoni, 1981), mientras que la rehidratación de las hojas se debe a la estabilidad térmica de la membrana del cloroplasto (Ristic y Cass, 1992). Por su parte, el calor afecta la estructura del cloroplasto, rompiendo la membrana del mismo y dilatando a muchos de los tilacoides (Ristic y Gifford, 1992).

En cuanto a los efectos ultraestructurales de estos tipos de estrés, no muchos reportes se encuentran en la bibliografía. Estudios realizados a este nivel en el cloroplasto del mesófilo de maíz etiolado bajo alta y baja intensidad de luz, demostraron que la cantidad del complejo de proteína clorofilico y las lamelas de los grana son reducidas en poca intensidad de luz (Nyitrai *et al.* 1994). En hojas bandera, el contenido de clorofila, la tasa de fotosíntesis, la cantidad de grana lamelar, el estroma de la lamela y del cloroplasto fue mayor que en las hojas basales, medias y terminales (Wang y Hu, 1988), a su vez los cloroplastos de la banda del haz tienen mayor número de nucleótidos que los cloroplastos del mesófilo (Lindbeck *et al.* 1989). En plantas tolerantes al calor se encontró que no tienen cera epicuticular en la

sexta hoja, pero hubo un gran depósito en la quinta hoja en líneas susceptibles (Noblz *et al.* 1985).

Tanguiling *et al.* (1987), demostraron que el potencial de agua en las hojas inferiores, la elongación y el rango de transpiración en plantas de arroz sujetas a estrés hídrico declinaron más rápidamente que en el maíz y en la soya.

## **IMPORTANCIA Y ORIGINALIDAD**

La importancia de este trabajo radica en que la determinación de las características ultraestructurales típicas de la hoja de genotipos de maíz (*Zea mays* L.) resistentes a estrés de salinidad, podrían servir de indicadores certeros de la selección de genotipos resistentes para su posterior utilización en regiones que presenten este factor. Así mismo, los cambios anatómicos que se detecten contribuirán al entendimiento de los mecanismos fisiológicos que se generen en respuesta al estrés.

## **OBJETIVO GENERAL**

**Determinar la respuesta morfoanatómica y ultraestructural al estrés de salinidad en genotipos resistentes y susceptibles de maíz (*Zea mays* L.).**

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1. Determinar el efecto de la salinidad en las células epidérmicas, y tamaño de estomas en la hoja, mediante microscopía óptica en los genotipos seleccionados.**
- 2. Determinar el efecto de la salinidad en el cloroplasto y mitocondria en la hoja, utilizando microscopía electrónica de transmisión en genotipos resistentes y susceptibles de maíz (*Zea mays* L.).**
- 3. Determinar el efecto de la salinidad en el meristemo de la hoja, utilizando microscopía electrónica de transmisión en genotipos resistentes y susceptibles de maíz (*Zea mays* L.).**

## **HIPOTESIS**

**La respuesta en el maíz (*Zea mays* L.) al estrés de salinidad, se manifiesta en los cambios ultraestructurales en la hoja de diferentes genotipos de maíz.**

## **MATERIALES Y METODOS**

El presente trabajo se efectuó en el laboratorio de Botánica y en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Los genotipos tolerantes y susceptibles utilizados en este trabajo fueron seleccionados de acuerdo a resultados obtenidos por Fernández (1997). El germoplasma que presenta las propiedades de estructura y crecimiento más tolerantes a la salinidad correspondió en este estudio a la variedad comercial D-878, mientras que el genotipo más sensible al estrés salino resultó ser la variedad B-830.

Los genotipos anteriormente mencionados fueron sembrados en vasos de unicel de 300ml de capacidad. Se utilizó perlita como sustrato, colocándose 5 semillas de cada genotipo en los vasos, realizándose 5 repeticiones por tratamiento. Una vez sembradas las semillas (los vasos control se regaron con agua destilada) tanto al genotipo tolerante como al susceptible se les agregó una única dosis de 140ml de solución salina de NaCl a 0.2 M. Los vasos se mantuvieron húmedos añadiendo 40ml de agua destilada cada 2 días, tanto a los tratados como a los vasos control; éstos últimos se colocaron en una superficie elevada para evitar contaminación con la solución salina. Al presentarse la emergencia se realizó un aclareo dejándose 3 plantas por vaso.



Después de 15 días las plántulas fueron extraídas, tomándose muestras al azar de los genotipos tolerantes y sensibles, así como de sus controles. Los órganos muestreados fueron: parte media de la segunda hoja, meristemo de la segunda hoja, raíz a una distancia de 1 cm del tallo y meristemo de raíz..

Se cortaron trozos pequeños de 1 a 3 mm<sup>3</sup> de cada uno de estos órganos y se sumergieron en viales que contenían solución fijadora de glutaraldehído al 5% en Buffer de fosfatos 0.1 M. Allí se mantuvieron las muestras en refrigeración a 4 °C hasta posterior procesamiento. El material luego se postfijó en OsO<sub>4</sub> 1-2% durante 1 hora y posteriormente se deshidrató en etanol en concentraciones crecientes de 50-70-80-90-95 y 100%, pasándose luego a óxido de propileno; posteriormente las muestras se infiltraron e incluyeron en resina Spurr de baja viscosidad. Se obtuvieron cortes semifinos y ultrafinos con un ultramicrotomo Porter- Blumm MT-1 con cuchillas de vidrio. Previamente a la obtención de un corte transversal ultrafino es posible obtener un corte semifino de la muestra para su observación en un microscopio óptico; permitiendo así el registro de un área relativamente mucho mayor que la observada en el microscopio electrónico, lo cual hace posible la determinación cuantitativa de algunas variables anatómicas, como tamaños celulares y diámetros de vasos conductores. Los cortes semifinos de los diferentes tejidos fueron coloreados con azul de toluidina y observados al microscopio óptico. A

su vez, los cortes ultrafinos obtenidos se contrastaron con acetato de uranilo al 3% en solución acuosa y citrato de plomo al 0.01% pH 12 y se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-9 a 65 KV de voltaje de aceleración.

En observaciones de la anatomía de la hoja al microscopio óptico se realizaron mediciones del diámetro (largo y ancho) de las células epidérmicas y del metaxilema en vasos conductores de la hoja. Así mismo, se realizaron mediciones de largo y ancho de estomas y se determinó el índice estomático para cada grupo estudiado.

A los resultados cuantitativos obtenidos se les aplicó análisis de varianza factorial y comparación múltiple de medias (Zar, 1974). De modo similar, se realizaron determinaciones cuantitativas sobre micrografías electrónicas obtenidas de cloroplastos en hoja, tanto los del mesófilo como los de la vaina de Kranz. Estas mediciones correspondieron a: tamaño de cloroplastos, largo y ancho de los grana, tamaño y número de gránulos de almidón.

## **RESULTADOS**

### **CAMBIOS MORFOLOGICOS GENERALES:**

A los 15 días de la germinación, las plantas del genotipo sensible a la salinidad (B-830) mostraron una altura, vigor y crecimiento radicular menor que las del genotipo tolerante (D-878), las cuales mostraron un mayor crecimiento en todas sus partes vegetativas, tanto en los controles como en los tratamientos (Figs.1 y 2)

### **MICROSCOPIA OPTICA:**

Las observaciones realizadas en el microscopio óptico en cortes de hoja de los genotipos B-830 (susceptible) y D-878 (tolerante) sometidos al estrés de salinidad así como los controles, revelaron que existen diferencias en las células epidérmicas y meristemo. En el genotipo tolerante se presentó mayor tamaño de las células epidérmicas con respecto al genotipo sensible, mientras que en el meristemo hubo mayor división celular y células más elongadas.

El largo promedio de las células epidérmicas en el control del genotipo sensible fue de 108.08  $\mu\text{m}$ , mientras que en el tratamiento de estrés salino este valor se redujo a 99.70  $\mu\text{m}$  (Tabla 1 y Fig. 3). Sin embargo, el análisis

estadístico no mostró que ésta sea una diferencia significativa ( $F = 1.79$ ,  $P < 0.05$ ). Resultados similares se observaron para el ancho de las células de la epidermis así como para el ancho y largo de los estomas. La única variable que presentó diferencia significativa ( $F = 6.46$ ,  $P < 0.05$ ) entre el control y el tratado fue el largo de los estomas.

Cuando se comparó el control del genotipo tolerante D-878 y el sometido a estrés de salinidad, el largo promedio de las células epidérmicas y de los estomas mostraron diferencia altamente significativa ( $F = 7.45$  y  $91.41$  respectivamente (ver Tabla 2 y Fig. 4), mientras que las demás variables (ancho de células epidérmicas, ancho de estomas e índice estomático) no presentaron diferencia significativa.

Un resultado bastante interesante se pudo encontrar al seleccionar los grupos controles para comparar si hay variaciones entre los genotipos: Se encontró una gran variabilidad en todos los parámetros medidos (ver Tabla 3 y Fig. 5). El índice estomático presentó una diferencia menor , pero aún significativa ( $F = 7.00$ ,  $P < 0.05$ ) entre los valores promedios para ambos genotipos.

El análisis de varianza entre los genotipos sometidos al estrés de salinidad (Tabla 4 y Fig. 6), se encontró que el ancho, tanto de células epidérmicas como de estomas mostraron diferencias altamente significativas

entre los genotipos ( $F = 7.72$  y  $F = 27.33$  respectivamente), mientras que el largo de las células epidérmicas mostró una diferencia menor ( $F = 4.18$ ,  $P < 0.05$ ). Por otra parte, el largo de estomas y el índice estomático no mostraron diferencias significativas.

Con el propósito de determinar la interacción entre el genotipo tolerante (D-878) y el sensible (B-830) sometidos a estrés de salinidad se realizó un análisis de varianza factorial (Tabla 5) encontrándose que sólo en el largo de los estomas hubo interacción altamente significativa ( $F = 20.88$ ,  $P < 0.01$ ), con las demás variables no se presentó diferencia significativa.

## **MICROSCOPIO ELECTRONICO DE TRANSMISION**

### **Observaciones en la Hoja**

#### **Genotipo Tolerante (control):**

Los cloroplastos en el control del genotipo tolerante D-878 mostraron un aspecto normal característico en todas las zonas analizadas de la hoja. Sus tilacoides se observaron bien organizados dentro del estroma tanto en las células del mesófilo (Fig. 7) como en las de la vaina de Kranz (Fig. 8). Los cloroplastos del mesófilo fueron ligeramente más grandes y de tamaño más

uniforme que los de la vaina de Kranz, midiendo 5.69  $\mu\text{m}$  y 5.01  $\mu\text{m}$  respectivamente (Tabla 6). Dentro de los cloroplastos de las células de la vaina de Kranz se encuentran grandes gránulos de almidón, midiendo alrededor de 1  $\mu\text{m}$  en promedio y ocupan la mayor parte del volumen total del organelo, mientras que en los cloroplastos de las células del mesófilo el almidón es escaso. Los grandes gránulos de almidón en la vaina de Kranz se observan electrón-transparentes debido a que su contenido ha sido extraído en su mayor parte durante el procesamiento para microscopía electrónica. Por su parte, los tilacoides de los cloroplastos del mesófilo forman gran cantidad de granas, las cuales midieron alrededor de 0.3  $\mu\text{m}$  de ancho. Los tilacoides de la vaina de Kranz se distribuyen a lo largo del cloroplasto por entre los gránulos de almidón formando granas sólo en escasas ocasiones. Los cloroplastos en su interior presentan además pequeños gránulos osmiofílicos distribuidos azarosamente en el estroma. Estos parecen ser más abundantes en los cloroplastos del mesófilo de la hoja.

#### **Genotipo tolerante (tratado):**

Los cloroplastos del genotipo tolerante sometido a estrés salino (NaCl 0.2 M) redujeron su tamaño, especialmente aquellos de las células del

mesófilo, los cuales redujeron su tamaño en un 40% con respecto al control, pasando de 5.69  $\mu\text{m}$  de largo a 3.47  $\mu\text{m}$  en promedio (Tabla 6). Los cloroplastos de las células de la vaina de Kranz se redujeron sólo en un 10%. Frecuentemente se observó un cambio de forma, sobre todo en los cloroplastos del mesófilo (Fig. 9) en algunos casos se observaron de forma bastante esférica aunque presentando tilacoides y granas todavía ordenados (Fig. 10). Con respecto a los gránulos osmiofílicos, éstos se observan distribuidos de forma azarosa en el estroma, aunque su frecuencia no es uniforme entre los cloroplastos, ya que algunos se presentan abundantemente, mientras que en otros sólo se observan escasamente.

Un cambio importante fue la reducción notable en el tamaño de los gránulos de almidón, especialmente en los cloroplastos de las células de la vaina de Kranz (Fig. 11). Esta reducción en el diámetro fue de más del 50% con respecto al control, pasando de 0.98 a 0.44  $\mu\text{m}$  (Tabla 6). Sin embargo, la frecuencia de gránulos de almidón incrementa en el tratamiento al pasar de una frecuencia promedio de entre 9 y 10 gránulos por cloroplasto a 15 (Tabla 7). El número de tilacoides por grana incrementa ligeramente con el tratamiento. Asimismo, la cantidad de granas por cloroplasto también aumenta ligeramente.

Es interesante notar que es posible observar en el citoplasma de las célula, formaciones cristalinas que aparentemente se originan por exceso de acumulación salina (Fig. 12)

### **Genotipo Sensible (control):**

Los cloroplastos en la variedad sensible sin ser sometida a estrés salino presentan un aspecto normal con abundantes tilacoides y gran cantidad de granas en su interior, tanto en los cloroplastos del mesófilo (Fig. 13) como en la vaina de Kranz (Fig. 14). Sin embargo, su tamaño es más pequeño que los del genotipo tolerante. Los gránulos de almidón están prácticamente ausentes del interior de los cloroplastos del mesófilo. Las granas en general miden alrededor de 0.2  $\mu\text{m}$  de largo (Tabla 7). Similarmente, los gránulos osmiofilicos se presentan con menor frecuencia que en el genotipo tolerante. No es común observar a los tilacoides de la vaina de Kranz formando granas.

### **Genotipo sensible (tratado):**

El tamaño de los cloroplastos disminuyó con el sometimiento al estrés salino en forma similar a como ocurrió en el genotipo tolerante (Tabla 6). Es decir, los cloroplastos de las células del mesófilo se afectaron en mayor



proporción que los de la vaina de Kranz. En los primeros la reducción fue del orden del 30%. Aunque se observaron algunos cloroplastos del mesófilo con desorganización estructural, la mayoría continuó presentando tilacoides y granas todavía ordenados (Fig. 15). Los cloroplastos de la vaina de Kranz (Fig. 16) casi no presentan granas formadas y con frecuencia se observan grupos de tilacoides extendidos laxamente y en forma paralela a lo largo del organelo. En algunos casos, estos tilacoides se extienden hasta más de la mitad de la longitud del cloroplasto. Los gránulos osmiofilicos se observan distribuidos de forma azarosa en el estroma, aunque no se observan en abundancia. Al igual que en el genotipo tolerante, se evidenció una reducción notable en el tamaño de los gránulos de almidón, especialmente los contenidos en los cloroplastos de las células de la vaina de Kranz (Tabla 6). Sin embargo, esta reducción en el tamaño fue sólo del 38% en comparación con el 55% del genotipo tolerante, pasando de 1.18  $\mu\text{m}$  en el control a 0.73  $\mu\text{m}$  en el tratamiento. Por otro lado, la frecuencia de gránulos de almidón por cloroplasto no sufrió ningún cambio significativo. Asimismo, el número de tilacoides por grana se mantiene aún después del tratamiento. Sin embargo, la cantidad de granas por cloroplasto disminuye de 23 a 19 (Tabla 7).

proporción que los de la vaina de Kranz. En los primeros la reducción fue del orden del 30%. Aunque se observaron algunos cloroplastos del mesófilo con desorganización estructural, la mayoría continuó presentando tilacoides y granas todavía ordenados (Fig. 15). Los cloroplastos de la vaina de Kranz (Fig. 16) casi no presentan granas formadas y con frecuencia se observan grupos de tilacoides extendidos laxamente y en forma paralela a lo largo del organelo. En algunos casos, estos tilacoides se extienden hasta más de la mitad de la longitud del cloroplasto. Los gránulos osmiofílicos se observan distribuidos de forma azarosa en el estroma, aunque no se observan en abundancia. Al igual que en el genotipo tolerante, se evidenció una reducción notable en el tamaño de los gránulos de almidón, especialmente los contenidos en los cloroplastos de las células de la vaina de Kranz (Tabla 6). Sin embargo, esta reducción en el tamaño fue sólo del 38% en comparación con el 55% del genotipo tolerante, pasando de 1.18  $\mu\text{m}$  en el control a 0.73  $\mu\text{m}$  en el tratamiento. Por otro lado, la frecuencia de gránulos de almidón por cloroplasto no sufrió ningún cambio significativo. Asimismo, el número de tilacoides por grana se mantiene aún después del tratamiento. Sin embargo, la cantidad de granas por cloroplasto disminuye de 23 a 19 (Tabla 7).

## **Observaciones de las Mitocondrias del Tejido Foliar**

Tanto en el control del genotipo sensible B-830 (Fig. 21) como en el del genotipo tolerante D-878 (Fig. 22) las mitocondrias son redondeadas y muestran la organización típica de este organelo en plantas, mostrando crestas mitocondriales bien definidas encerradas en una doble membrana. La diferencia importante encontrada con respecto a este organelo es que el tamaño es marcadamente mayor en el control de la variedad tolerante que en la sensible, midiendo 0.66 y 0.41  $\mu\text{m}$  respectivamente (Tabla 8). Sin embargo, las dimensiones mitocondriales en cada genotipo no sufren cambios notables al ser sometidas a estrés salino.

## **Observaciones en el Meristemo de hoja.**

### **Genotipo Sensible (control).**

Las células son más pequeñas que las del genotipo tolerante, el citoplasma es más denso, se observa la incipiente formación de organelos subcelulares y gran división celular (Fig. 17).

### **Genotipo Sensible (tratado)**

Se observa una aparente menor división celular con respecto al control debido a que se nota una menor densidad de células. Sus células son más elongadas que en el control y el número de inclusiones citoplasmáticas se reduce. Probablemente la vacuolización de las células inicia al someterse al estrés temprano, lo cual conlleva a una elongación mayor (Fig. 18).

### **Genotipo Tolerante (control)**

Tanto en las muestras controles del genotipo sensible B-830 como en el genotipo tolerante D-878 se observó abundante cantidad de organelos en formación incipiente o protoplastidios. Estos últimos luego formarán principalmente a los cloroplastos y mitocondrias. Las células presentan una gran cantidad de gránulos osmiofílicos y almidón; son más elongadas y el tamaño y número de inclusiones citoplasmáticas se reduce (Fig. 19).

### **Genotipo Tolerante (tratado)**

Las células son más anchas, hay mayor vacuolización, vesículas reducidas, mayor cantidad de gránulos osmiofílicos y almidón (Fig. 20).

**Aunque en las células meristemáticas de la hoja en los genotipos bajo estrés salino se observa mayor vacuolación, el citoplasma aparenta poseer un contenido más denso.**

## **DISCUSION**

**El presente trabajo se planteó para determinar algunas características ultraestructurales y anatómicas de las hojas de genotipos de maíz susceptibles y tolerantes al estrés de salinidad para así ayudar a un mejor entendimiento de los mecanismos que le confieren dicha tolerancia. En este sentido, se observó que en el genotipo de maíz tolerante al estrés de salinidad las células epidérmicas y los estomas mostraron mayor tamaño que el genotipo sensible. Es probable que esta característica le confiera a las plantas tolerantes una mayor capacidad de regular el potencial hídrico de modo tal que traiga como resultado en los estomas la transferencia osmótica de agua de las células subsidiarias a las oclusivas, lo cual tenga implicación en las características dadas de tolerancia (Salisbury F. y C. Ross 1994).**

**Al someter a estrés salino a ambos genotipos se mostraron cambios morfológicos aparentes, como la altura de la planta, vigor, etc., y en la estructura anatómica las dimensiones celulares determinadas variaron de una forma bastante importante. El análisis de varianza factorial sólo mostró variación significativa en el largo de las células epidérmicas y de los estomas, quedando las demás variables inalteradas. Sin embargo, las diferencias son altamente significativas en todos los parámetros medidos entre los controles**

del genotipo sensible y del tolerante. De modo similar, el control del genotipo tolerante muestra un crecimiento más acelerado, mayor producción de biomasa y mayor vigor que el control del genotipo sensible. Según datos obtenidos anteriormente por Fernández 1997, estas diferencias presentes en plantas no sometidas a estrés nos pueden permitir hacer un diagnóstico sobre su capacidad de tolerancia.

Las diferencias entre los controles del genotipo tolerante y del sensible son también notorias a nivel ultraestructural. En este trabajo, se hizo especial énfasis en determinar los cambios ocurridos en los cloroplastos, ya que en ellos se realizan las funciones básicas de la productividad y crecimiento de la planta.

En el genotipo tolerante se presentó diferencia en el tamaño de los cloroplastos, mitocondrias y gránulos de almidón, siendo mayores en este que en el sensible, debe tener también relación con las propiedades de tolerancia de la planta. El mayor volumen de cada cloroplasto y el mayor número de granas formadas en cada uno, le confiere a las plantas tolerantes una mayor capacidad fotosintética que, si bien disminuye por efecto del estrés salino, aún puede mantenerse lo suficientemente alta como para contrarrestar los efectos nocivos generados.

Asimismo, las unidades mitocondriales más grandes en las células tolerantes que en las sensibles, conllevan a pensar que en las primeras haya una mayor área membranosa para llevar a cabo los procesos enzimáticos respiratorios de producción de energía capaces de suplir la energía demandada por los procesos fisiológicos responsables de atenuar los efectos de la alta concentración de sales (Salisbury y Ross 1994).

Por su parte, el mayor contenido de almidón, según se observa en las micrografías electrónicas, suministra en forma abundante el material energético para llevar a cabo reacciones enzimáticas propias de los mecanismos fisiológicos involucrados en la tolerancia, así como la energía necesaria en los mecanismos activos osmoreguladores.

La disminución del tamaño de estos gránulos en los cloroplastos, permite pensar en su desdoblamiento a azúcares, los cuales pasan posteriormente al citoplasma aumentando el potencial osmótico de la célula y contrarestando así la disminución del potencial hídrico en los espacios extracelulares producidos por la mayor concentración salina en los mismos.

En cuanto a los efectos adversos del estrés salino a nivel ultraestructural, son pocos los reportes encontrados al respecto, sin embargo, los cambios observados en los cloroplastos de las plantas sometidas a estrés salino son similares a aquellos mostrados en plantas cuando se someten a altas



temperaturas (Roth, 1996). La cantidad de grana lamelar es mayor en el genotipo tolerante que en el sensible, efecto parecido a lo encontrado por Wang y Hu (1988) en plantas de maíz sometidas a estrés de altas temperaturas, lo que da una idea del por qué de su mayor eficiencia fotosintética.

Por otra parte, hay una cierta acumulación de lípidos, como ha sido también reportado por Ristic y Cass (1994), por lo que podría pensarse que esta condición le proporciona más energía utilizada en disminuir las diferencias de presión osmótica.

En cuanto al aumento en número de los gránulos de almidón en el cloroplasto mas no en su tamaño es un efecto parecido al observado en callos de sorgo tolerantes al estrés de sequía (Mir Araujo, 1996) y en *Pisum sativum* (Olmos y Hellim, 1996). Esto hace suponer que el disminuído tamaño de los gránulos de almidón facilita su transformación en otros carbohidratos más simples, como la sacarosa, la cual es una fuente de energía en las células fotosintéticas y se transloca con facilidad a través del floema hasta llegar a los tejidos en crecimiento activo, en los que se utiliza como fuente de energía para impulsar el crecimiento. En cuanto al efecto observado en el meristemo del genotipo tolerante, se mostró mayor crecimiento y elongación celular que el genotipo sensible al ser sometidos a estrés salino. Probablemente, la

vacuolización en las células meristemáticas comienza más temprano en las plantas tratadas, lo cual conlleva a una mayor elongación celular.

## **CONCLUSIONES**

1. El diámetro de las células epidérmicas de la hoja en el genotipo tolerante fue mayor que en el sensible.

2. Aunque la forma de los cloroplastos del genotipo tolerante se afecte al ser la planta sometida al estrés salino, su organización interna se mantiene y hay una mayor cantidad de grana lamelar que en el genotipo sensible sometido a estrés.

3. Los cloroplastos de la vaina de Kranz contienen abundante cantidad de gránulos de almidón de gran tamaño. Esta reserva aparentemente se utiliza para contrarrestar los efectos del estrés salino a través de su desdoblamiento en azúcares osmóticamente activos que restauren el balance osmótico o como compuestos energéticos que suministran energía a los procesos fisiológicos involucrados en la tolerancia (transporte activo, etc.)

4. El meristemo de la hoja en el genotipo sensible presenta células más pequeñas y con menor cantidad de gránulos de almidón con respecto al tolerante.

5. El genotipo tolerante muestra mayor tamaño en las mitocondrias que el genotipo sensible, independientemente de su sometimiento al estrés salino. Este hallazgo podría relacionarse con una mayor área membranosa

**mitocondrial que conlleva a una mayor respiración y capacidad de desarrollar los procesos metabólicos requeridos durante el estrés salino.**

## RESUMEN

En el noreste de México diversos factores limitan el crecimiento y productividad del maíz (*Zea mays*; L.), siendo la alta salinidad de los suelos uno de los más importantes. Se ha reportado que el estrés salino produce diversas alteraciones fisiológicas y morfológicas (Cramer, *et al*, 1994; Kayani, *et al*, 1988; Lynch, *et al*, 1988 y Achwarz, 1984). Este trabajo tiene como objetivo determinar la respuesta anatómica y ultraestructural al estrés de salinidad en genotipo tolerantes y susceptibles de maíz. Los genotipos B-830 (susceptible) y D-878 (tolerante), fueron sembrados en vasos de poliuretano y perlita a concentraciones de 0.2 M de NaCl. A los 15 días después de emergencia, trozos de meristemo y lámina de la segunda hoja se fijaron en glutaraldehído 5% en Buffer de fosfato a 0.12 M. Posteriormente el material fue postfijado en tetróxido de Osmio, deshidratado e incluido en resina Spurr. Cortes semifinos fueron analizados por microscopía óptica, mientras que cortes ultrafinos se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-9. Se observó un mayor tamaño de las células epidérmicas en las plantas tolerantes. En las sensibles, las células del meristemo fueron más pequeñas y con menor división celular : en las variedades sometidas al estrés, se observó desorganización tilacoidal en general, lo cual fue más marcado en el genotipo susceptible. Los cloroplastos del mesófilo, en el genotipo tolerante, frecuentemente mostraron dilatación y tomaron apariencia esférica, mientras que reducen su tamaño en la variedad susceptible. Por otro lado, los cloroplastos de la vaina de Kranz se mostraron diferentes entre ambas variedades, encontrándose grandes gránulos de almidón en la tolerante, los cuales disminuyen en tamaño y aumentan en número al someterse al estrés. Estos gránulos se presentan en mucho menor frecuencia y tamaño en la variedad susceptible, aunque se observó un considerable aumento en número luego del tratamiento. Por otra parte, aunque no hubo cambio aparente en la estructura mitocondrial entre tratamientos, las mitocondrias de la variedad susceptible mostraron menor tamaño y número que aquellas de la variedad tolerante. Estas observaciones sugieren una acumulación de materiales energéticos que implican la movilización y utilización de azúcares en respuesta a los cambios osmóticos del tejido sometido a estrés. Respuestas similares se reportan al evaluar la ultraestructura de callos de variedades de sorgo tolerantes a la salinidad (Mir-Araujo, 1996). Olmos y Hellin (1996), también encontraron altos niveles de organelos y lípidos que podrían funcionar como agentes de ajuste osmótico en *Pisum sativum*. Por lo tanto, la variedad tolerante presenta mayores ventajas sobre la susceptible al poseer un mayor contenido de gránulos de almidón, así como mitocondrias con mayor volumen y área membranosa para desarrollar estos procesos energéticos de forma más eficiente.

## LITERATURA CITADA

- Aguilera, U. J. y R. Robles. 1975. Cultivo de sorgo (grano y/o forraje). sorgo (*Sorghm vulgare* pers.) en producción de grano y forrajes. LIMUSA. pp.1-140.
- Andersen. 1977. Maíz de alta calidad proteica: Ed. Limusa, México.
- Cramer, G.R. 1992. Kinetics of maize leaf elongation. 111. Silver thiosulfate increase the yield salt-stressed plants, but ethylene is not involved, plant physio., 100 (2):1044-1047.
- Cramer, G.R., G.J. Albertico, and C Schmidt. 1994 b. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids Australian J. Plant physiol., 21(5):675-692.
- Dhingra, H. R. et al. 1986. Effect of NaCl salinity on the activities of amylase and invertase in *Zea mays* L. pollen. Annals-of-Botany. 57:1. 101-104.
- Fernández S. 1997. Evaluación de 23 híbridos de maíz (*Zea mays*) para su vigor de las plántulas y resistencia a diferentes factores de estrés. Tesis, Maestría, Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. México.
- Horiguchi, T. 1986. Effect of water deficiency on water potentials and nitrate reduction in leaves. Bulletin-of-the-Faculty of Agriculture,-Kagoshima-University. Nq.37, 83-87.

- Jugenheimer y Silow. 1954. Results of cooperative hybrid maize test in European and Mediterranean Countries. Food and Agr. Organization U.N., FAO Agr. Development paper No. 42. 1954.
- Kayani, S. A. et al. 1988. Effects of NaCl salinity on shoot growth, stomatal size and its distribution in *Zea mays* L. Pakistan-Journal-of-Botany. 75-81.
- Kostyukovich, M. F. et al. 1988. Ion uptake by maize plants in relation to cation composition and pH of the salt solution. Izvestiya-Timiryazevskoi-Sel' Skokhhozyaistvennoi-Akademii. No.4, 74-80.
- Lindbeck, A.G., C.R.J. Rose, M.E. Lawrence and J.V. Possingham. 1989. The chloroplast nucleotids of the bundle sheath and mesophyll cells of *Zea mays*. Physiologia Plantarum, 75:1, 7-12.
- Lorens, et al. 1987. Differences in drought resistance between two corn hybrids. Water relations and root length density. Agronomy-Journal. 79:5, 802-807.
- Lynch, J et al. 1988. Salinity affects intracellular calcium in corn cell protoplasts. Plant-Physiology. 87:2, 351-356.
- Maiti, R. K., P. J. Hernández., L. S. Martínez. 1992. Variability in leaf cuticular wax and in "glossy" *Sorghum* genotypes (*S.bicolor* L. Moench), and its possible relation to shoot fly (*Atherigona soccata*.

- Romd) and drought resistance at the seedling state. *Publicaciones Biológicas, U.A.N.L.* 6:159-168.
- Martinello, P. and C. Lorenzoni. 1985. Physiological test form water and heat stress on maize population (*Zea mays*. L.). *Genética Agraria.* 39(3):331-332.
- Mir, A. I. 1996. Estudio de la respuesta de cuatro genotipos de sorgo "glossy" y uno "no glossy" a factores de estress(salinidad, y exposición a un herbicida en desarrollo de plántula y callo. I.T.E.S.M. (Tesis Inédita).
- Niemi, S. And S. N. Hassan. 1988. Effect of drought and Np levels 6 n the growth of soybeen and corn plants. *Mesopotamia-Journal of Agriculture* 20:3,101-113, 17 ref.
- Noble, A.D., P.L. Greenfield, and V.J. Bandu. 1985. Difference between heat tolerant and a heat-sensitive maize with respect to leaf blade micro-morphology and cuticular anatomy. *Procceding of the fifteenth annual congress of the south African society of crop production.* 1985. 699-716:9 ref. Pietermaritzburg, South Africa.
- Nyitra, P., C. Sarvari, A. Keresstres, and F. Lang. 1994. Organization thylakoid membranes in low-lighth grown maiza seedlings. Effect of lincom and cintreatment, *Journal of Physiology* 144:337-375, 36 ref.



- Olmos, E. And H. Hellin. 1996. Cellular adaptation from salt-tolerant cell line of *Pisum sativum*. J. Plant Physiol. 148. Pp 727-734.
- Pan, S. M. 1988. The effects of salt stress on acid phosphatase activity of *Zea mays*. Botanical-Bulletin-of-Academia-Sinica. Taiwan. 29:1, 33-38.
- Per Pinstrup-Andersen. 1971. La Factibilidad de introducir maíz opaco-2 para el consumo humano en Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Peterson, T. A. 1985. Sodium-flux, ion-compartmentation and membrane-ultrastructure studies related to plant salt tolerance. Dissertation-Abstracts-International,-B-Science-and Engineering. 46:2.
- Ristic, Z. And D. D. Cass. 1992. Chloroplast structure after water and high-temperature stres in two lines of maize that differ in endogenous levels of abscisic acid. International Journal of Plant Science. 153:2, 186-196.
- Ristic, Z. D. J. Gifford And D. D. Cass. 1992 Dehidratation, damage to the plasma and membrane and thylakoids, and heat-shock proteins in lines of maize differing in endogenous levels of abscisic acid and drought resistance. Journal of Plant Physiology. 139:4, 467-473.
- Roth, R., L. M. Hall, T. P. Brutnell and J. A. Langdale. 1996. Bundle sheath defective a mutation that disrupts the coordinated devlopment of bundle sheath and mesophyll cell in maize leaf. Plant Cell. 8(5):915-927.

- Rubtsova, M. S. 1984. Changes in the electrical properties of maize grains, of the flint type and with the opaque-2 gene, following treatment with salts, mannitol and nucleases *Fiziol., Elektrofiziol. I biokhimiya s-kh.rast.* 27-50.
- Salisbury F. y C. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Editorial Iberoamérica S.A. de C.V.
- Schultes, N. P., T. P. Brutnell, A. Allen, S. E. Dellaporta, T. Nelson and J. Chen. 1996. Leaf permease 1 gene of maize is required for chloroplast development. *Plant Cell*, 8(3):463-475.
- Schwarz, M. 1984. Morphological and growth responses to salinity at high level carbon dioxide. *Proceedings, sixth International congress on soilless culture*, Lunteren, 1984, 565-570; 4 ref Wageningen, Hetherlands; Isosc.
- Sobrado, M. 1986. Tissue water relations and leaf growth of tropical corn cultivars under water deficits. *Plant Cell and Environment* 9:6, 451-457.
- Soliman, M. F. 1988. Effect of salinity on growth and micro nutrient composition of corn plants. *Agrochimica*. 32:4, 337-348.
- Stoilov, M. and K. Vinarova. 1984. Some fatures of the ultrastructural organization of chloroplasts and pigment composition in a light-green

mutant of maize. 3 nats. Konf. Tsitogenet. Mezhdunar. Uchastie, ploudiv. okt. 8-12, 1984. T. I. 1984, 142-145. Sofia, Bulgaria.

Struik, P. C. et al. 1986. Effects of temperature during different stages of development on growth and digestibility of forage maize (*Zea mays* L.). Netherlands Journals of Agriculture Science. 33:4, 405-420.

Tanguling, Y. And D. Otoole. 1987. Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential transpiration, and nutrient uptake of rice, maize and soybean. 103:2, 155-168, 21 ref.

Thakur. 1987. Aminoacid spectrum and water stress in roots of maize cultivars during juvenile periods. Annals-of-plants-physiology. 1(1,10-18.

Tretyakov, N. N., E. I. Koshkin and S. M. Nesterova. 1985. The mesostructural organization of leaves of two maize ecotypes under moisture deficit. Izvestiya Timiryazevskoi Sel' skokhozyaistve nnoi Akademii No 6:94-101.

Volkenburgh, E. And J. S. Boyer. 1985. Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. Plant Physiol. 77(1):190-194.

Wang, W. et al. 1988. Some aspects of plant cuticular transpiration. Acta-Phytophysiologica-Sinica. 14:2, 123-129.

- Wang, Q. Y. And C. H. Hu. 1988. Ultrastructure of chloroplast and photosynthetic properties of the leaves at different positions in maize. *Acta Botánica Sinica*. 30(2):146-150.
- Zar, J. H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Biological Science Series. Englewood Cliffs, N.J.
- Zhang, J. H. He, M. D. Chen. 1994. Effect of temperature on seed germination and seedling emergence in pop corn. *Journal of Shanghai. Agricultura Collage*, 12(4):257-259.

GENOTIPO SENSIBLE		ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS		ANALISIS DE VARIANZA
		MEDIA ( $\mu\text{m}$ )	DESV. EST.	
L. EPIDERMIS	a	108.08	32.13	1.79 NS
	b	99.70	30.46	
A. EPIDERMIS	a	21.14	6.01	0.05 NS
	b	20.88	5.67	
L. ESTOMAS	a	27.10	3.20	6.46 *
	b	24.98	4.96	
A. ESTOMAS	a	18.44	2.29	0.02 NS
	b	18.52	3.29	
INDICE. ESTOMATICO	a	9.32	4.29	0.17 NS
	b	9.75	3.86	

Tabla 1. Estadísticas descriptivas (media y desviación estándar) y análisis de varianza (F) de las variables del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays* L.) en la comparación de los tratamientos (a=Control b=Salinidad, NS=No significativo \*=Significativo, L=largo, A=ancho)

GENOTIPO TOLERANTE		ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS		ANALISIS DE VARIANZA
		MEDIA( $\mu\text{m}$ )	DESV. EST.	
L. EPIDERMIS	a	141.52	42.44	7.45 **
	b	116.44	49.22	
A. EPIDERMIS	a	26.94	8.31	1.72 NS
	b	24.78	8.14	
L. ESTOMAS	a	31.48	3.04	91.41 **
	b	24.20	4.44	
A. ESTOMAS	a	23.62	4.09	1.18 NS
	b	22.68	4.56	
INDICE. ESTOMATICO	a	12.00	3.53	2.26 NS
	b	10.84	2.27	

Tabla 2. Estadísticas descriptivas (media y desviación estándar) y análisis de varianza (F) de las variables del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays* L.) en la comparación de los tratamientos (a=Control b=Salinidad, NS=No significativo \*\*=Altamente significativo, L=largo, A=ancho).

CONTROLES		ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS		ANALISIS DE VARIANZA
		MEDIA( $\mu\text{m}$ )	DESV. EST.	
L. EPIDERMIS	a	141.52	42.44	19.73 **
	b	108.08	32.13	
A. EPIDERMIS	a	26.94	8.31	15.98 **
	b	21.14	6.01	
L. ESTOMAS	a	31.48	3.04	49.42 **
	b	27.10	3.19	
A. ESTOMAS	a	23.62	4.09	60.97 **
	b	18.44	2.29	
INDICE. ESTOMATICO	a	12.00	3.53	7.00 *
	b	9.32	4.29	

Tabla 3. Estadísticas descriptivas (media y desviación estándar) y análisis de varianza (F) de las variables, comparando los dos genotipos de maíz (*Zea mays* L.) en el grupo control (a=Genotipo tolerante D-878 b=Genotipo sensible B-830, \*=Significativo, \*\*=Altamente significativo, L=largo, A=ancho).

TRATAMIENTOS		ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS		ANALISIS DE VARIANZA
		MEDIA( $\mu\text{m}$ )	DESV. EST.	
L. EPIDERMIS	a	116.44	49.22	4.18 *
	b	99.70	30.46	
A. EPIDERMIS	a	24.78	8.14	7.72 **
	b	20.99	5.67	
L. ESTOMAS	a	24.20	4.44	0.69 NS
	b	24.98	4.96	
A. ESTOMAS	a	22.68	4.76	27.33 **
	b	18.52	3.29	
INDICE. ESTOMATICO	a	10.84	2.27	1.74 NS
	b	9.75	3.86	

Tabla 4. Estadísticas descriptivas y análisis de varianza de las variables, comparando los genotipos tratados de maíz (*Zea mays* L.) en: a=Genotipo tolerante b=Genotipo sensible. NS=No significativo \*=Significativo \*\*=Altamente significativo. L=largo, A=ancho.

VARIABLE	ANALISIS DE VARIANZA		
	Entre Genotipos	Entre Tratamientos	Interacción Genotipos-Tratamientos
L. EPIDERMIS	20.36 **	9.053 **	2.26 NS
A. EPIDERMIS	23.097 **	1.44 NS	0.89 NS
L. ESTOMAS	10.16 **	69.29 **	20.88 **
A. ESTOMAS	81.28 **	0.69 NS	0.97 NS
INDICE. ESTOMATICO	8.29 **	0.32 NS	1.48 NS

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza factorial (NS=No significativo. \*=Significativo y \*\*=Altamente significativo) de genotipos de maíz (*Zea mays* L.) tolerante (D-878) y sensible (B-830). (L=largo, A=ancho)

				CLOROPLASTOS		ALMIDON ( $\mu\text{m}$ )	GRANA ( $\mu\text{m}$ )
				KRANZ ( $\mu\text{m}$ )	MESOFILO ( $\mu\text{m}$ )		
T O L E R A N T E	D 8 7 8	CONTROL	MEDIA	5.01	5.69	0.978	0.293
			SD	1.25	1.63	0.328	0.148
		TRATADO	MEDIA	4.51	3.47	0.440	0.160
			SD	1.30	1.02	0.170	0.060
S E N S I B L E	B 8 3 0	CONTROL	MEDIA	4.61	4.98	1.180	0.220
			SD	1.55	1.88	0.020	0.100
		TRATADO	MEDIA	4.52	3.59	0.730	0.200
			SD	1.29	1.09	0.370	0.090

Tabla 6. Estadísticas descriptivas los cloroplastos, almidón y grana de los genotipos tolerante (D-878) y sensible (B-830), de maíz (*Zea mays* L.) con los tratamientos: control y tratado.

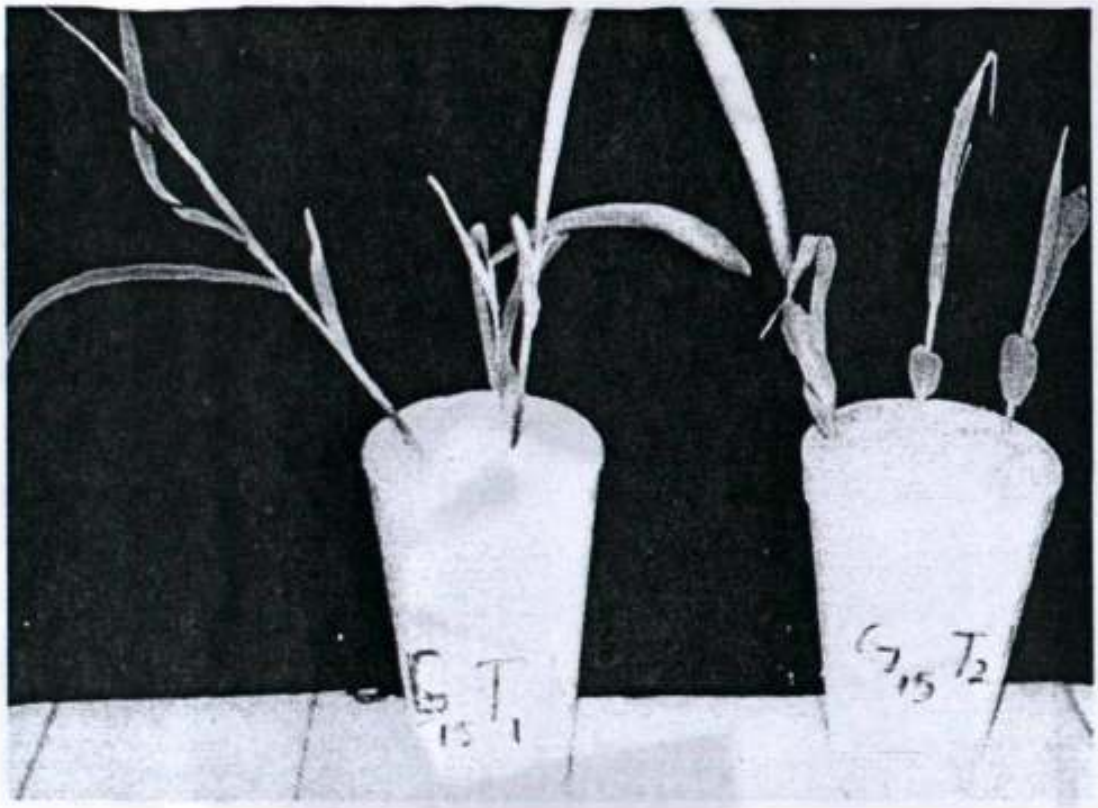
				GRANA/CLOR.	TILAC./GRANA	ALMIDON/CLOR.
T O L E R A N T E	D 8 7 8	CONTROL	MEDIA	28.00	8.09	9.66
			SD	3.16	3.94	
		TRATADO	MEDIA	32.00	9.57	15.00
			SD		5.43	
S E N S I B L E	B 8 3 0	CONTROL	MEDIA	22.50	11.23	7.00
			SD	1.65	5.21	
		TRATADO	MEDIA	19.00	11.08	6.00
			SD	5.00	4.77	0.70

Tabla 7. Estadísticas descriptivas de las relaciones grana/cloroplasto, tilacoide/grana y almidón/cloroplasto de los genotipos tolerante (D-878) y sensible (B-830), de maíz (*Zea mays* L.) en los tratamientos: control y tratado (NaCl 0.2 M).

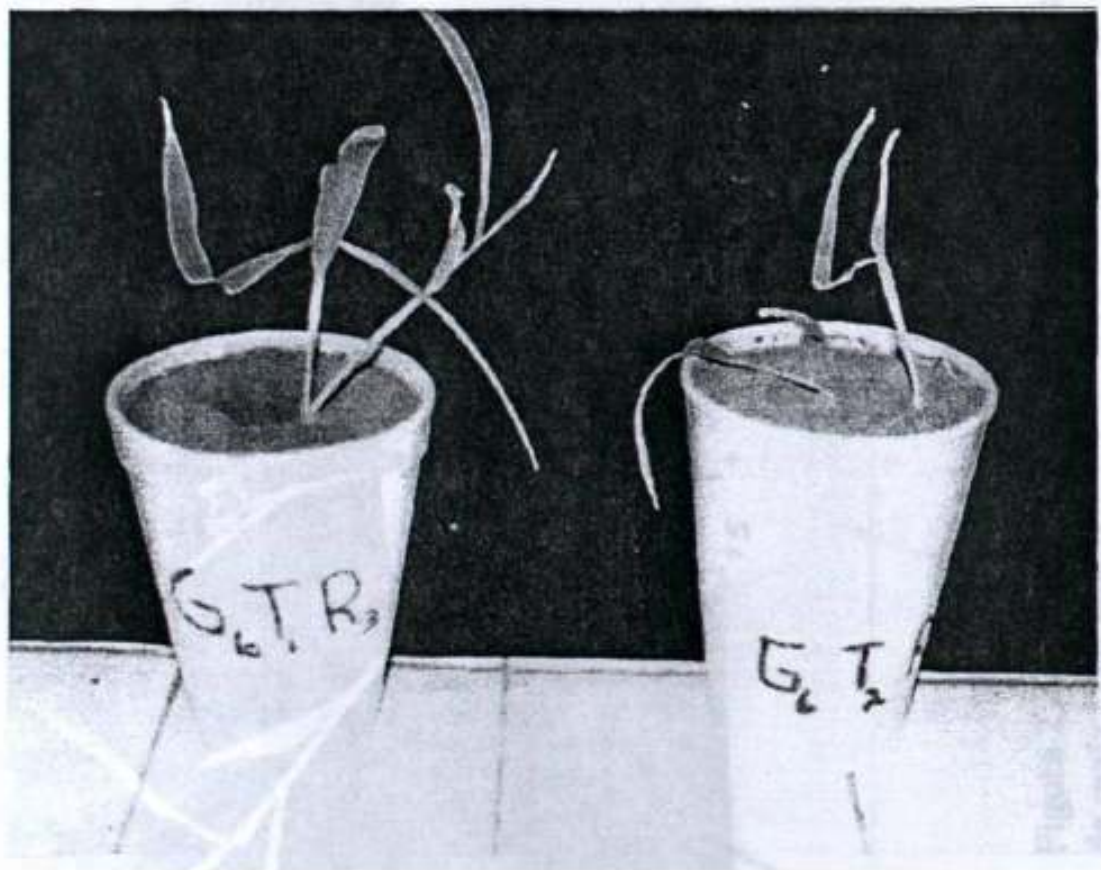
				MITOCONDRIA
T O L E R A N T E	D 8 7 8	CONTROL	MEDIA	0.664
			SD	0.189
		TRATADO	MEDIA	0.640
			SD	0.140
S E N S I B L E	B 8 3 0	CONTROL	MEDIA	0.410
			SD	0.180
		TRATADO	MEDIA	0.440
			SD	0.000

Tabla 8. Estadísticas descriptivas de las mitocondrias de los genotipos tolerante D-878 y sensible B-830, de maíz (*Zea mays* L.) en los tratamientos: control y tratado (NaCl 0.2 M).





**Figura 1. A) Genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) control y tratado.**



**Figura 1. B) Genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*) control y tratado.**

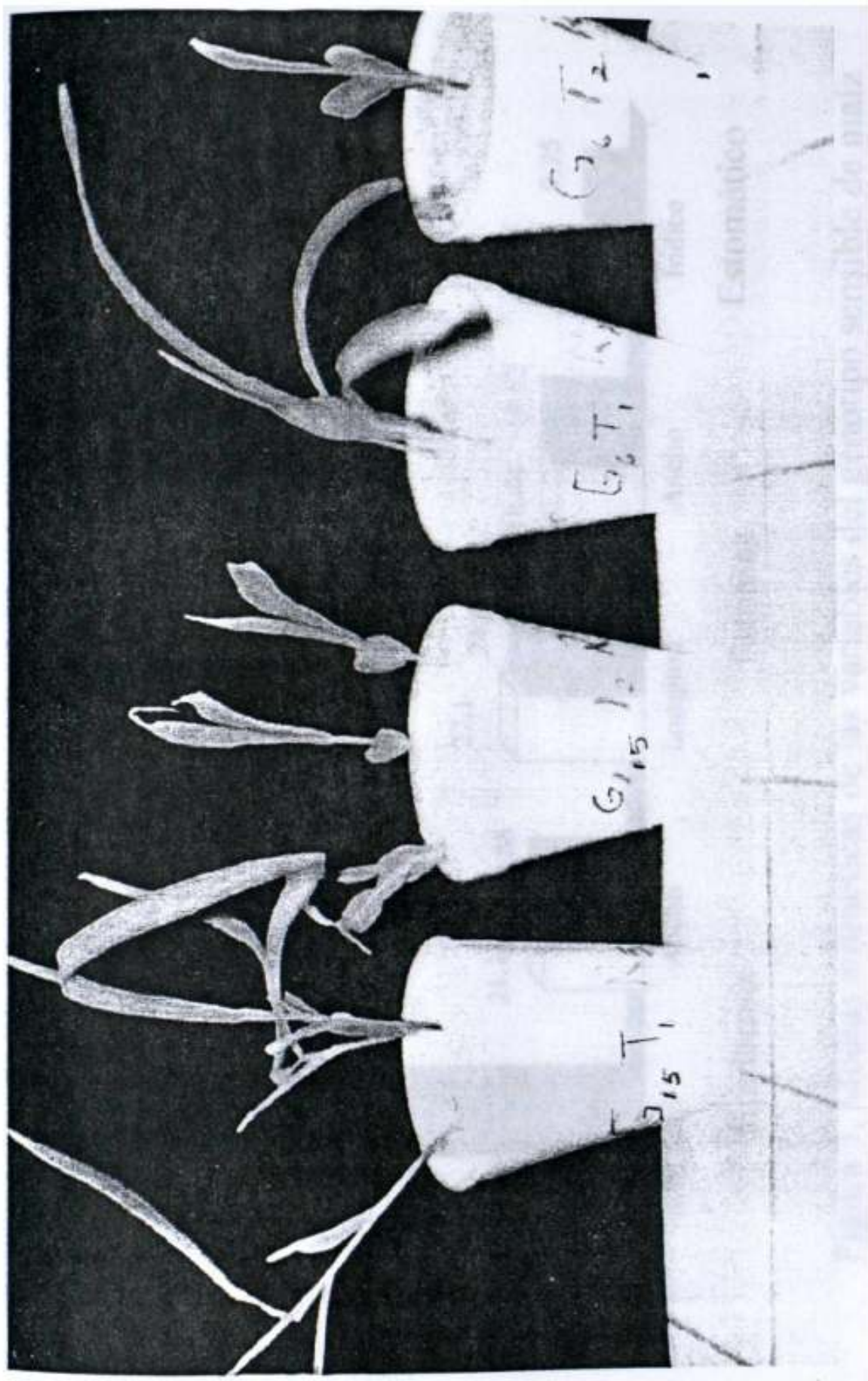


Figura 2. Genotipo tolerante (D-878) control y tratado, y genotipo sensible (B-830) control y tratado, de maíz (*Zea mays*).

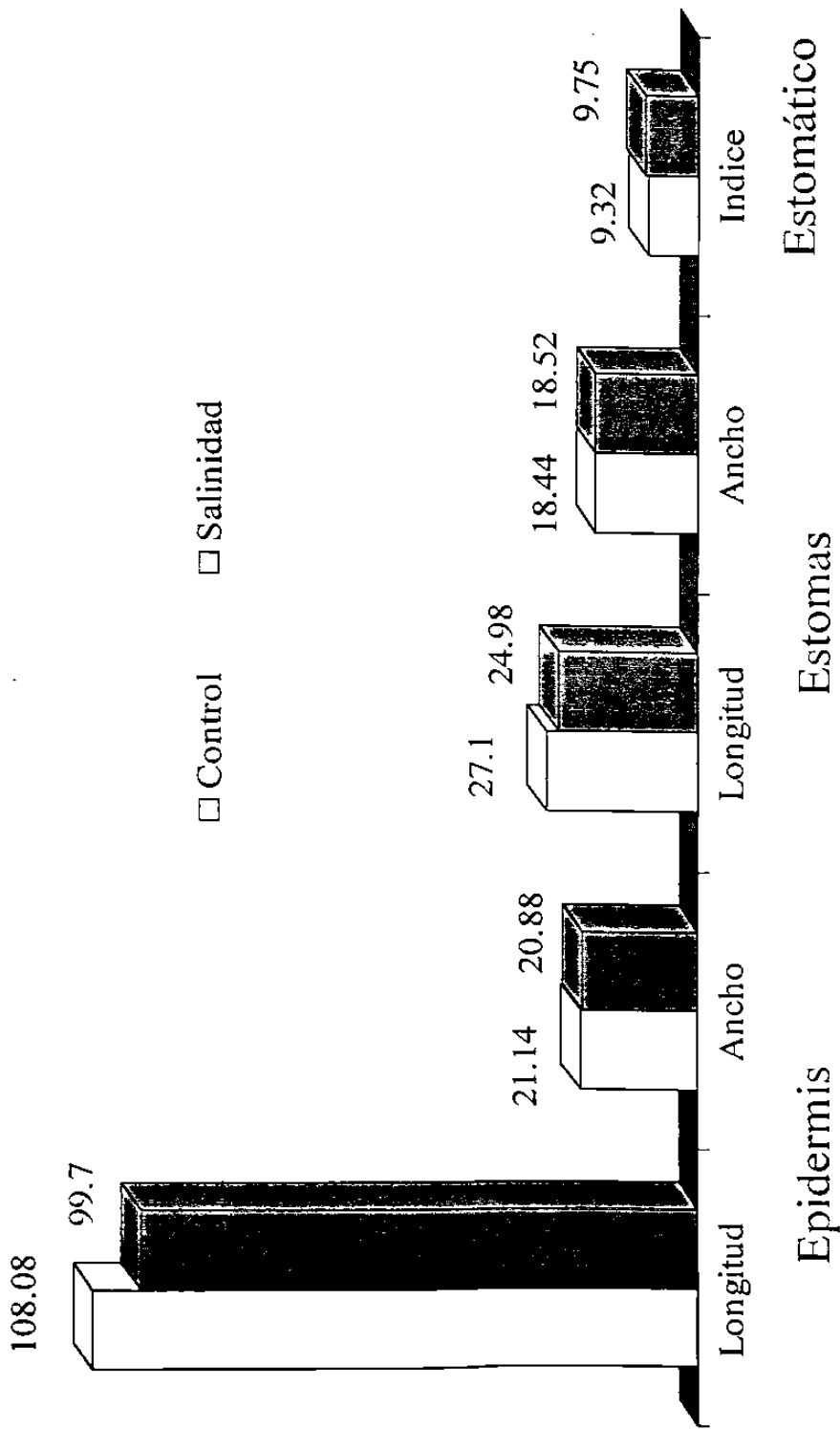


Figura 3. Medias aritméticas de las variables del genotipo sensible de maíz (*Zea mays* L.) para los dos grupos: Control y Salinidad (NaCl 0.2 M).

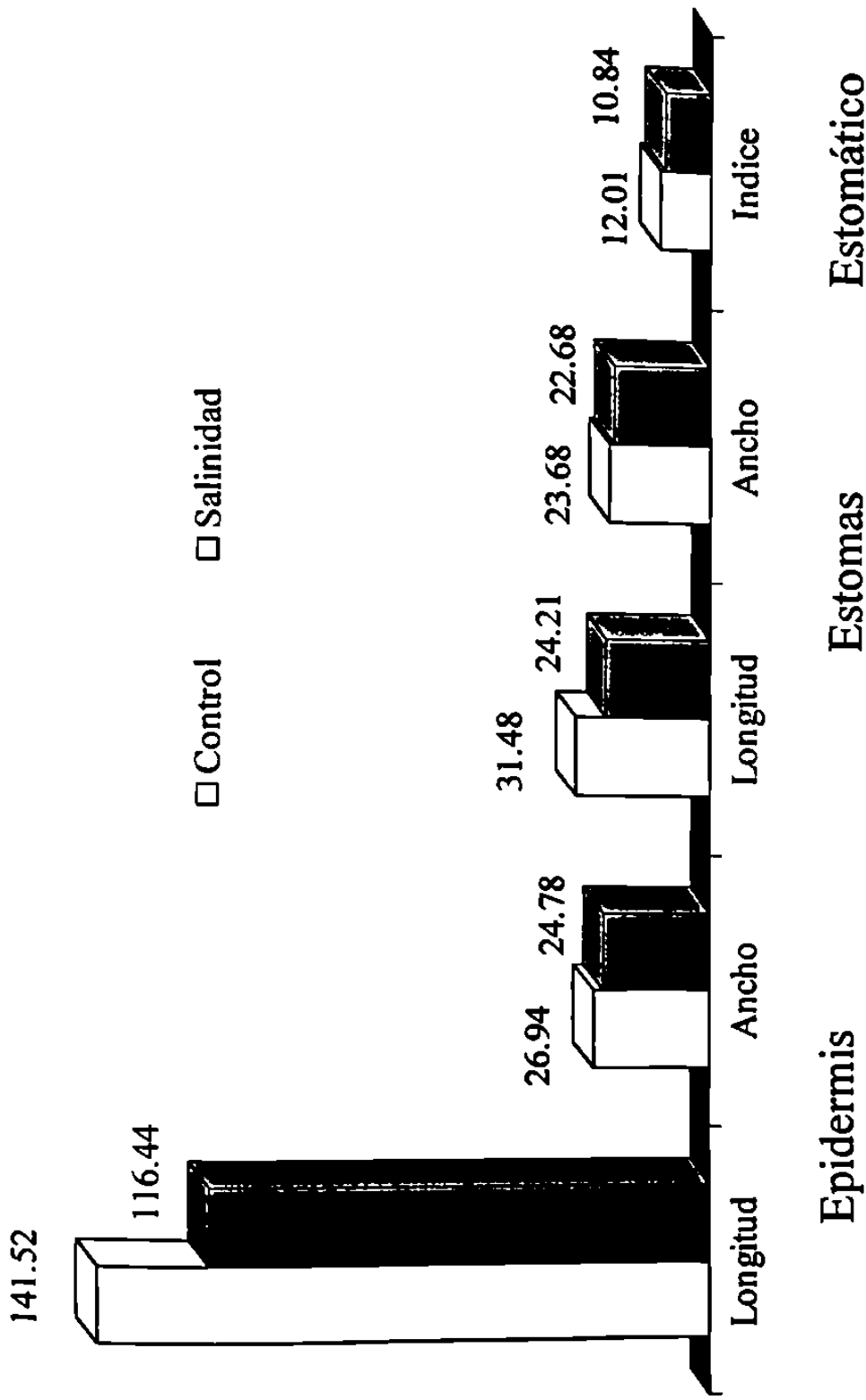


Figura 4. Medias aritméticas de las variables del genotipo tolerante de maíz (*Zea mays* L.) para los dos grupos: Control y Salinidad (NaCl 0.2 M).

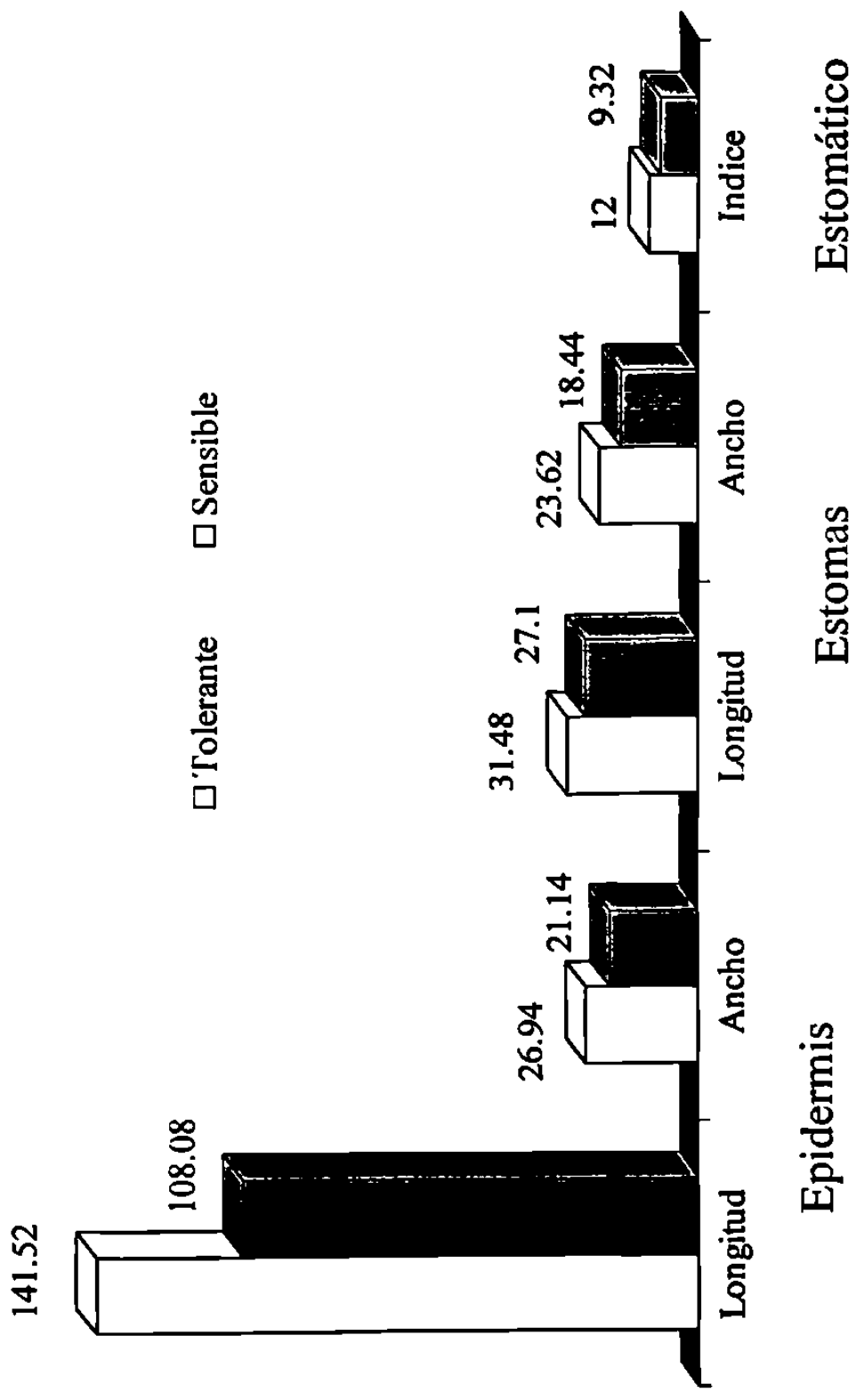


Figura 5. Medias aritméticas de las variables en los grupos control en maíz (*Zea mays* L.).

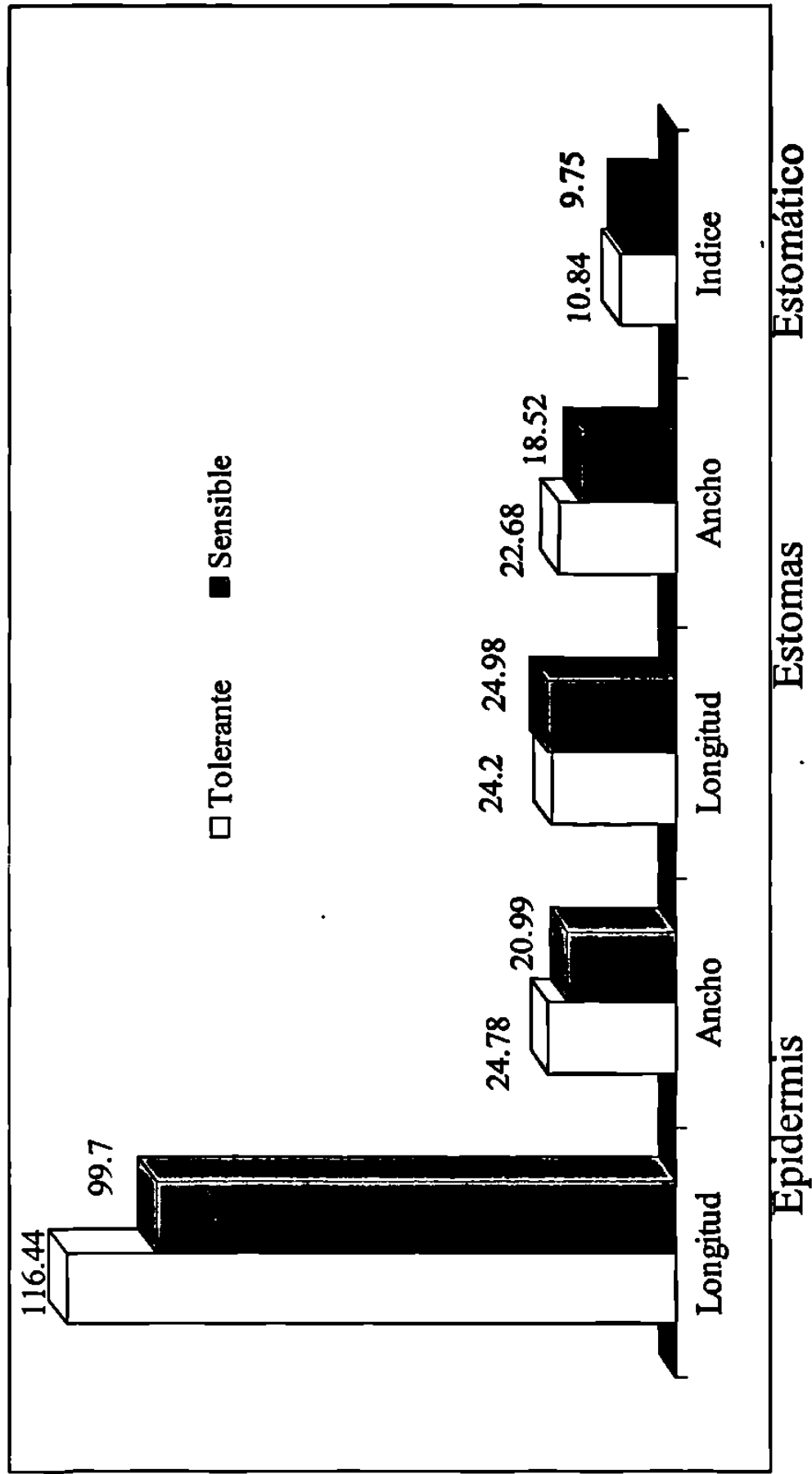
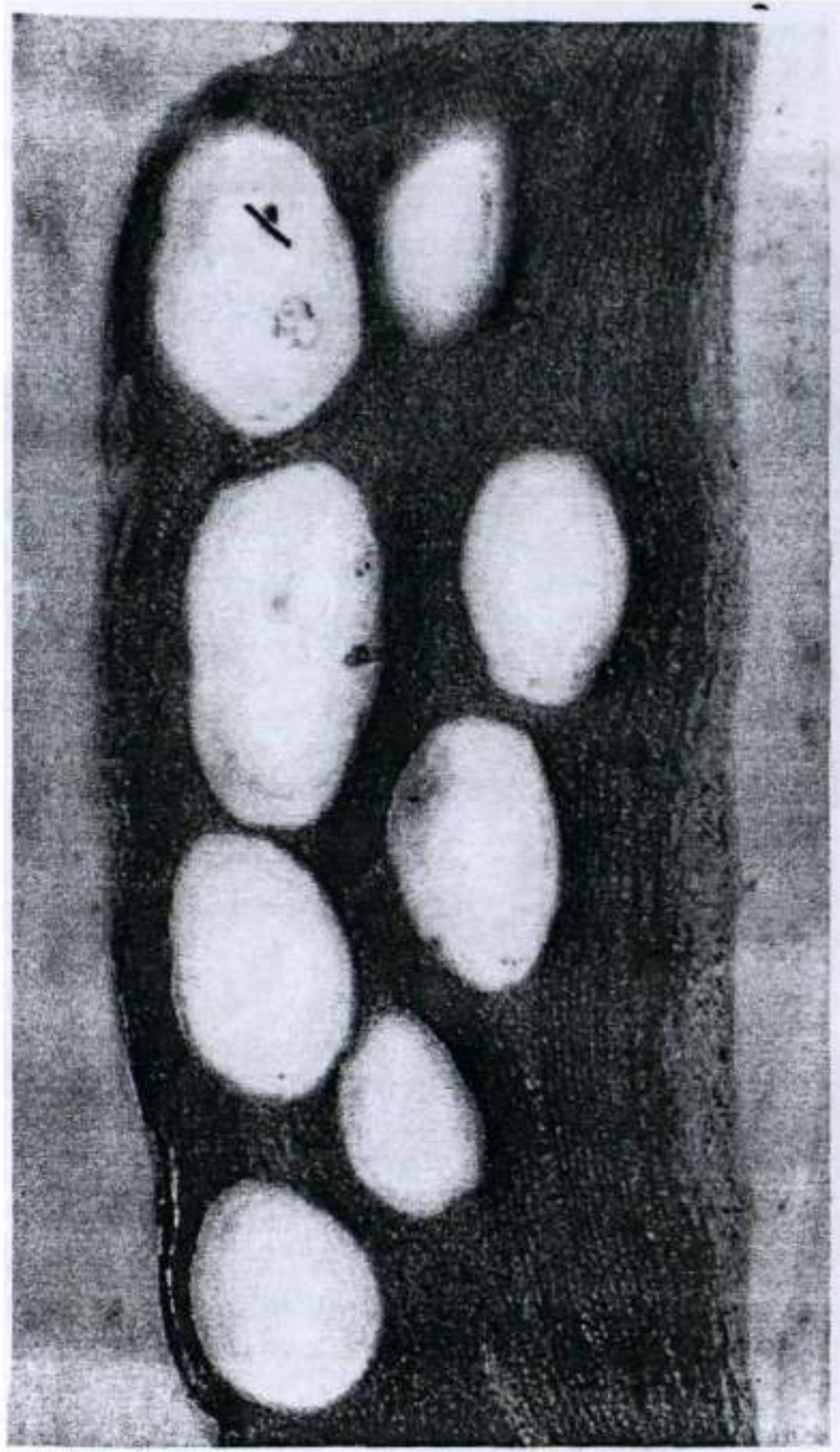


Figura 6. Medias aritméticas de las variables de las variabes en los grupos tratados en maíz (*Zea mays* L.) (NaCl 0.2 M).

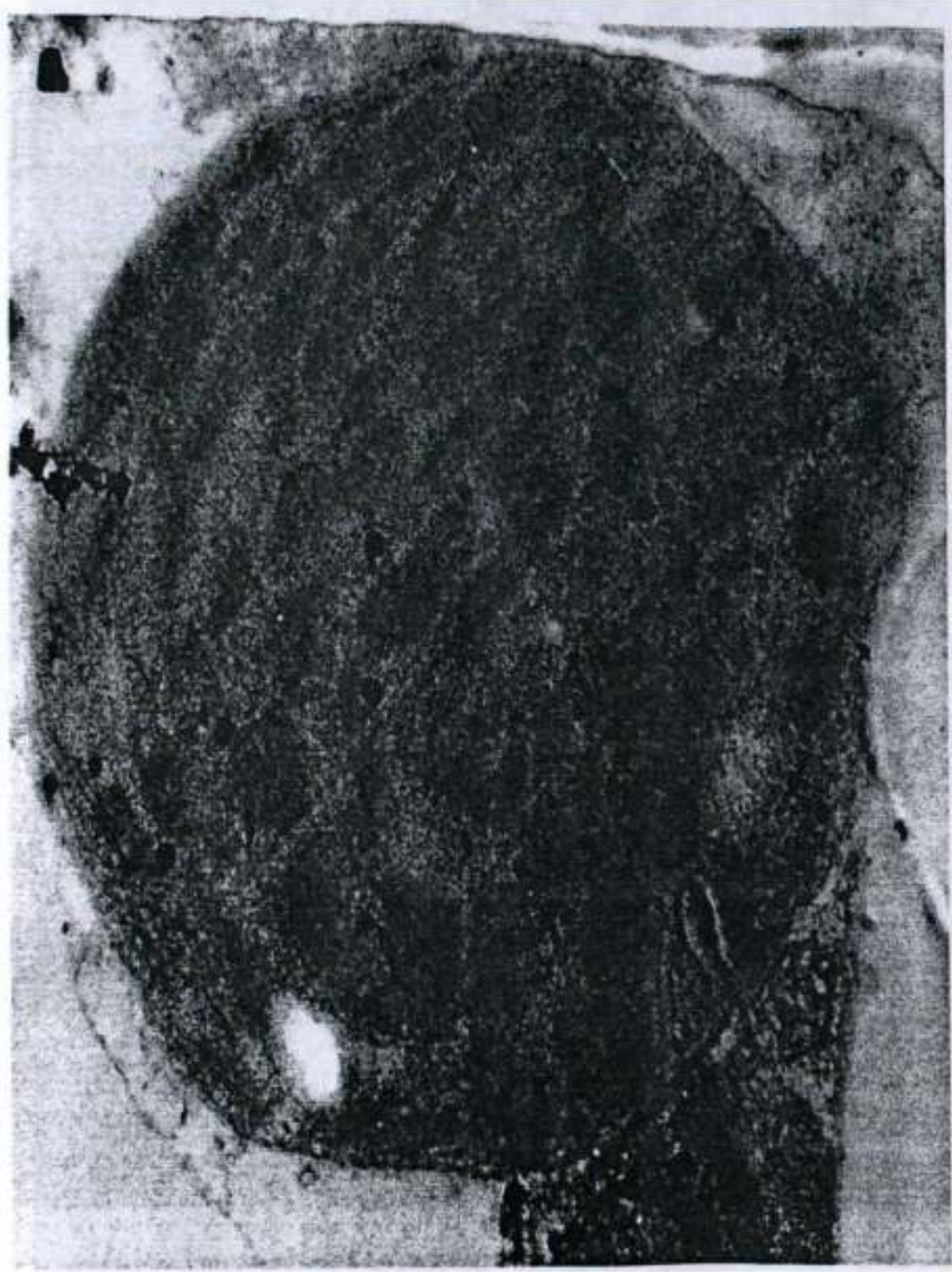


**Figura 7. Cloroplasto del mesófilo del control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 29,220X. Los grana están organizados y la forma del cloroplasto bien definida.**



**Figura 8. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 25,324X. Granos de almidón de gran tamaño, pero en menor número que en el tratado.**

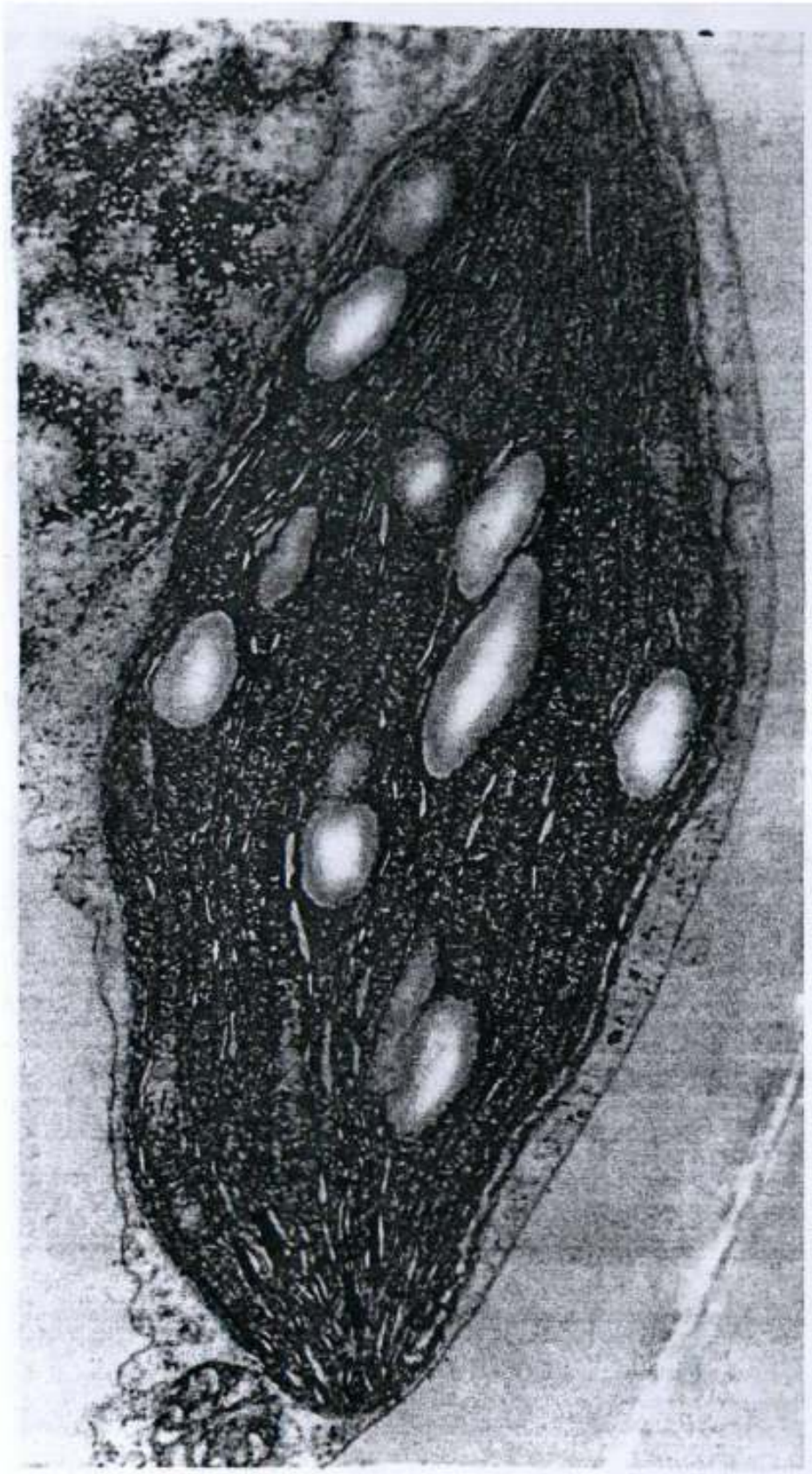




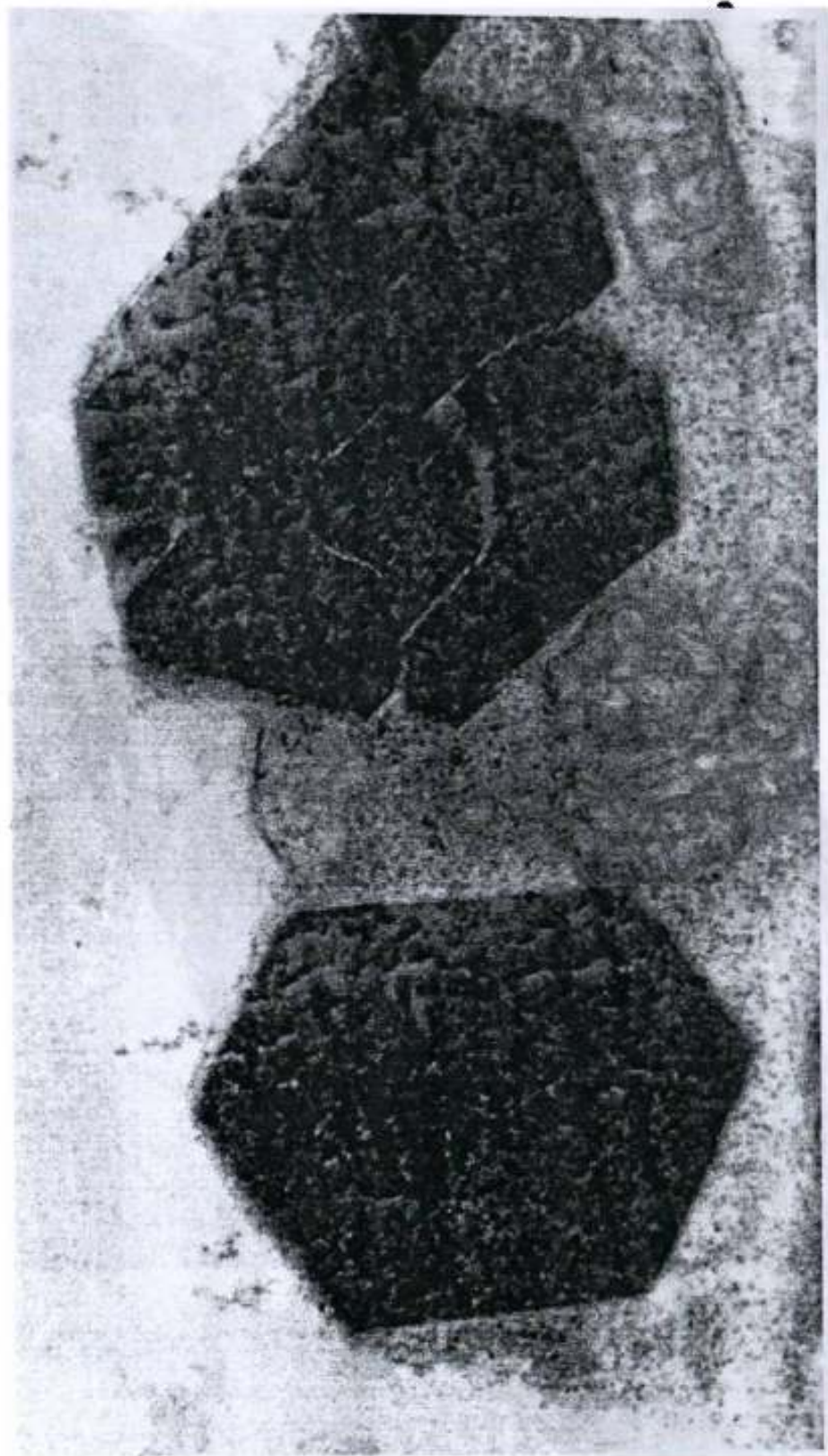
**Figura 9. Cloroplasto del mesófilo del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) tratado. Aumento: 25,324X. Mostrando forma esférica.**



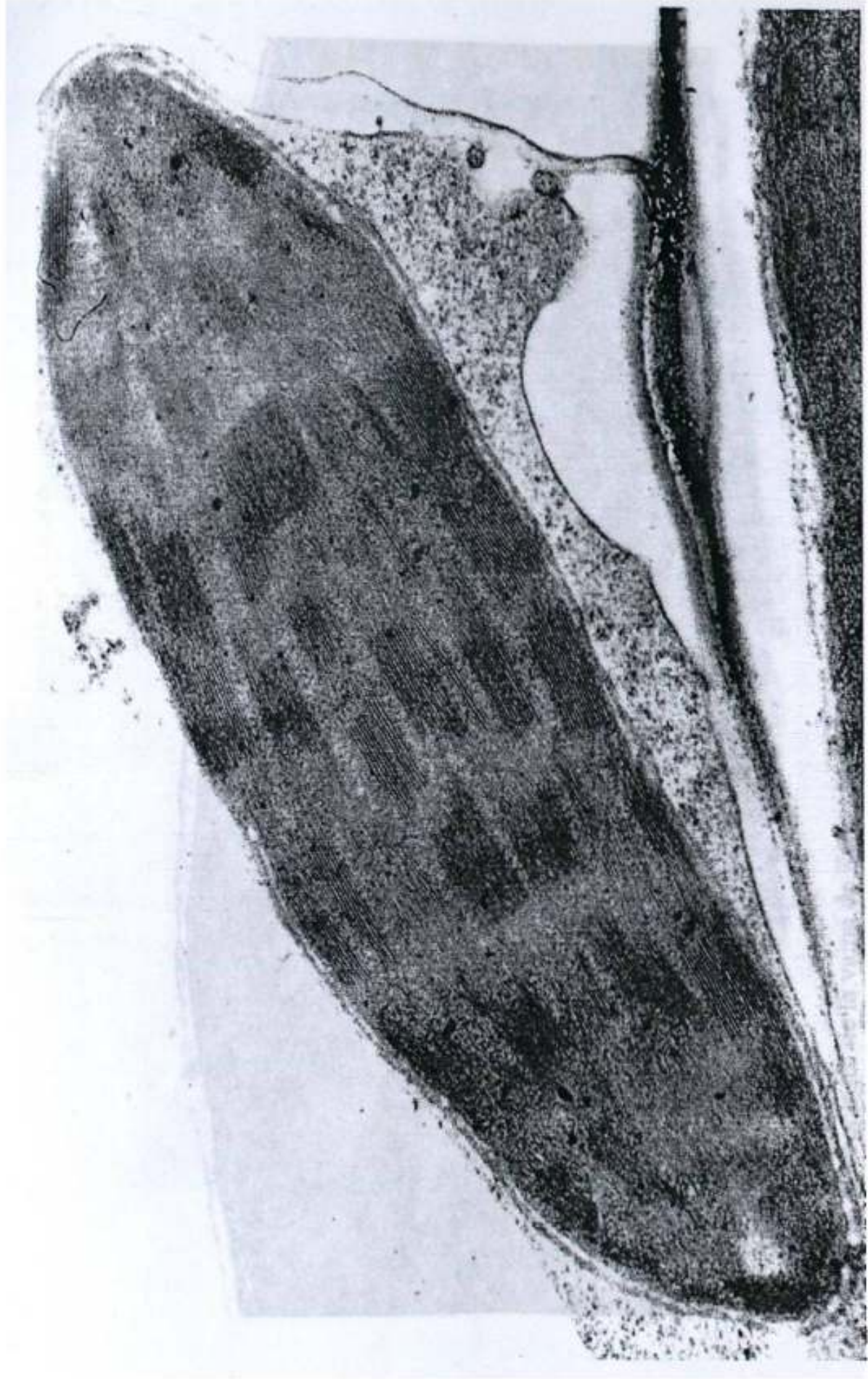
**Figura 10. Cloroplasto del mesófilo del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) tratado. Aumento: 22,889X. Observándose de forma oblonga.**



**Figura 11. Cloroplasto de la vaina de Kranz del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) tratado. Aumento: 32,640X. Mostrando una gran cantidad de gránulos de almidón.**



**Figura 12. Formaciones cristalinas en genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) tratado.  
Aumento: 37,536X.**



**Figura 13. Cloroplasto del mesófilo del control del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*). Aumento 48,700X. El cloroplasto con formada finida y los grana bien organizados.**

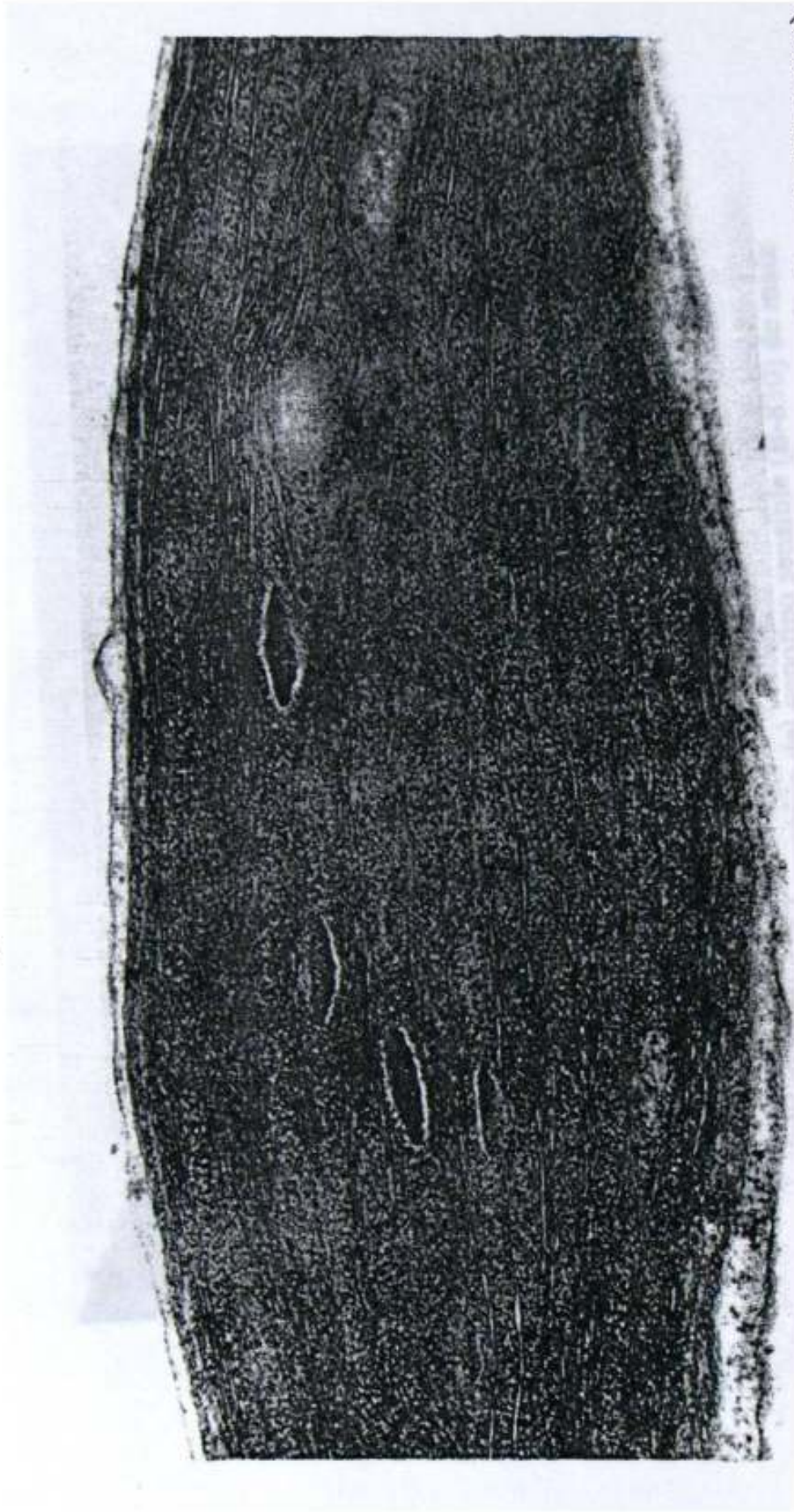
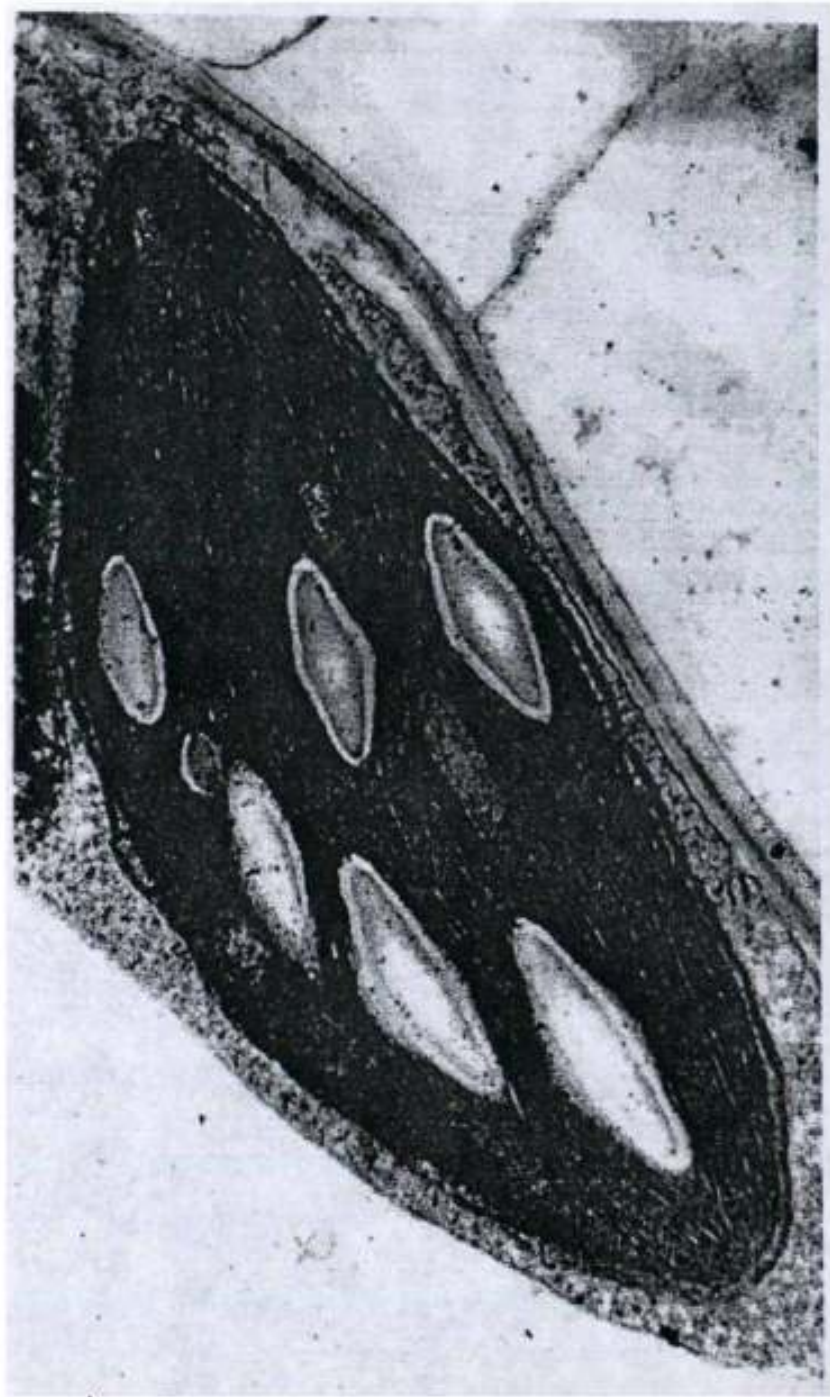


Figura 14. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el control del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 41,779X. Gránulos de almidón en menor número y tamaño que el genotipo tolerante.

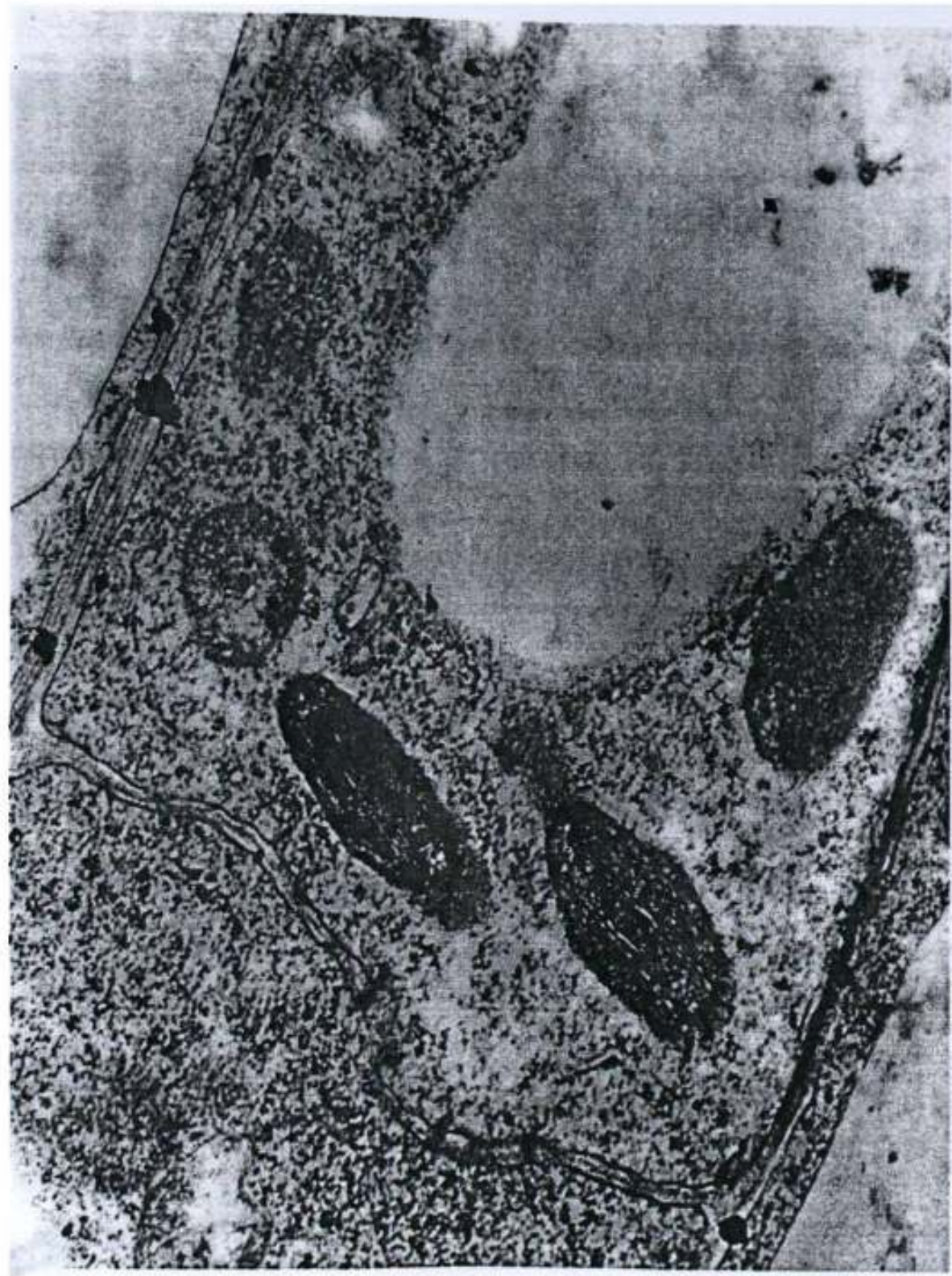


**Figura 15. Cloroplasto del mesófilo del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*) tratado. Aumento: 22,848X. El cloroplasto de forma regular y los grana de menor tamaño que el control.**

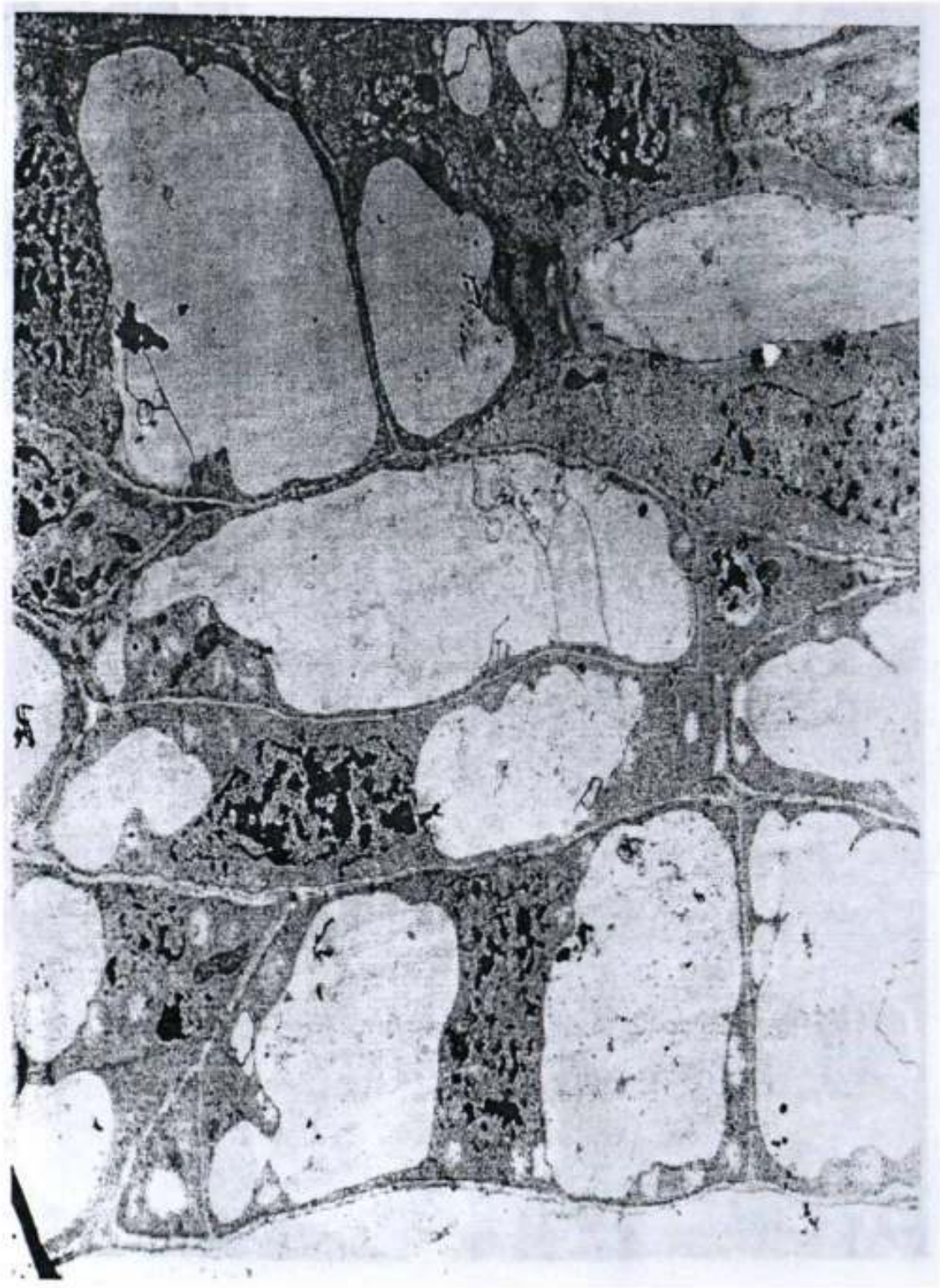


**Figura 16. Cloroplasto de la vaina de Kranz en el genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 22,848X.**

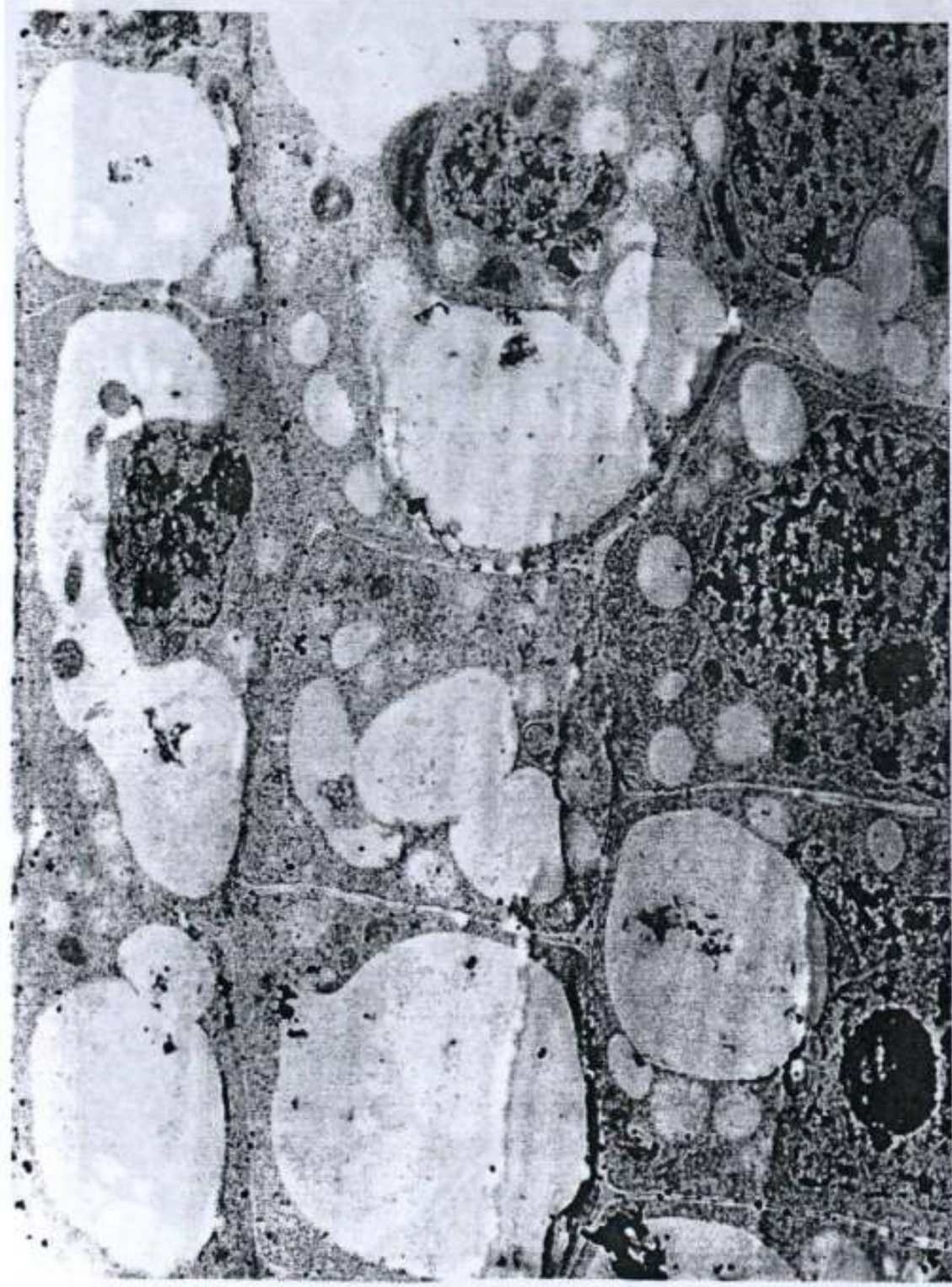




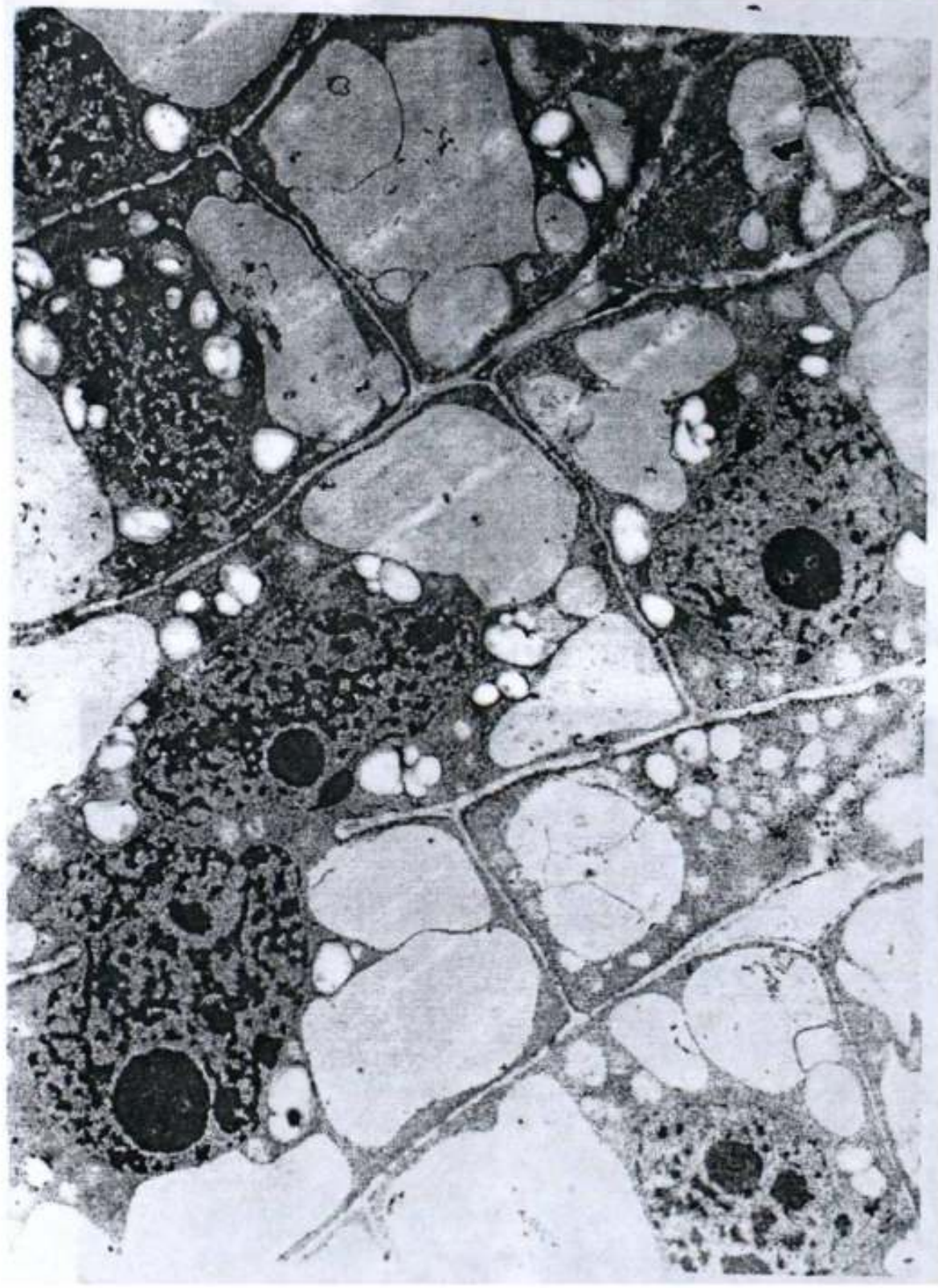
**Figura 17. Meristemo del control del genotipo sensible (B-830) de maiz (*Zea mays*).  
Aumento: 34,272X.**



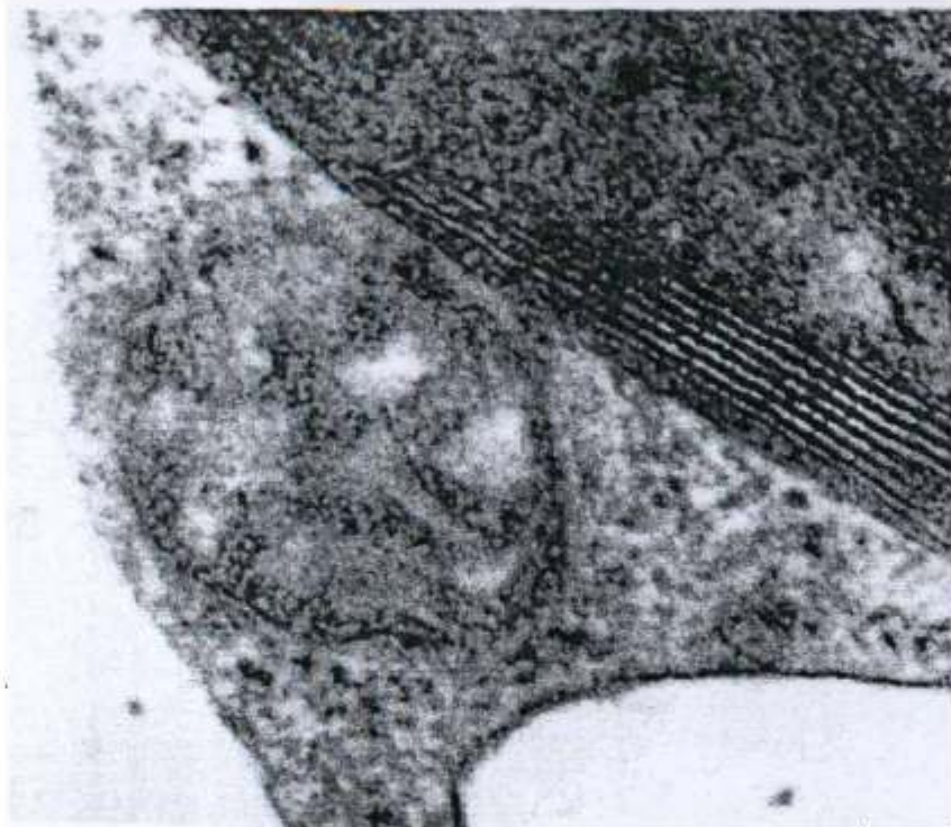
**Figura 18. Meristemo del genotipo sensible tratado (B-830) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 8,232X. Observándose la formación de vacuolas.**



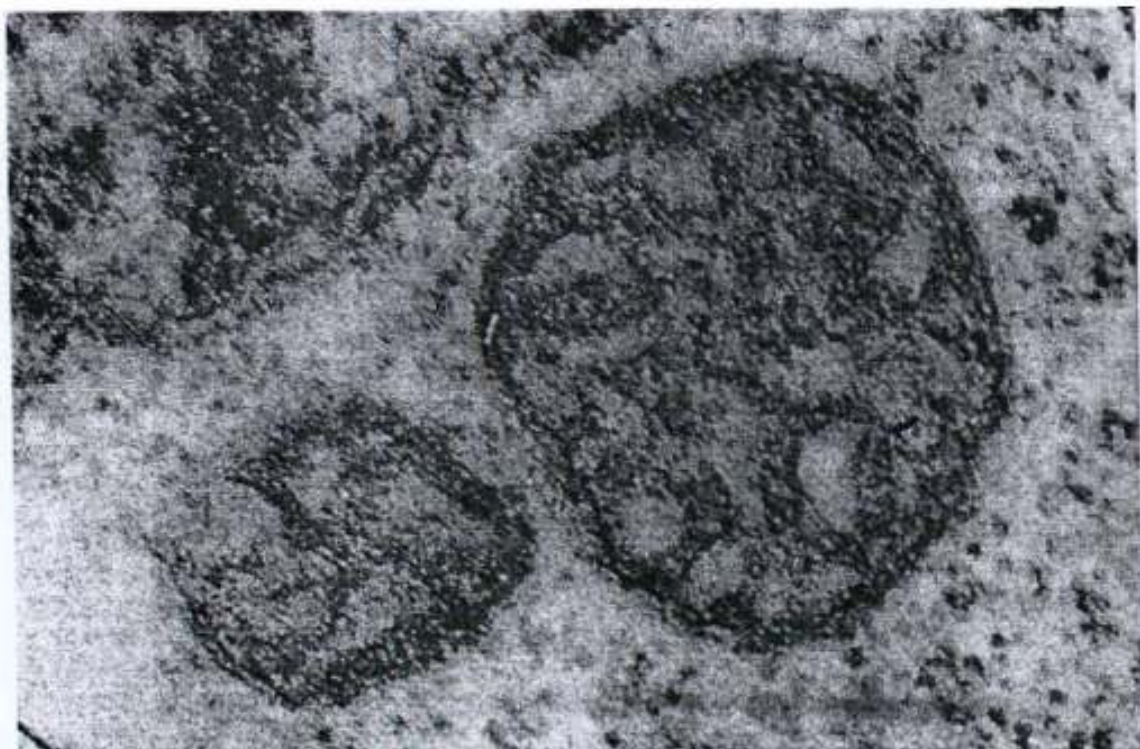
**Figura 19.** Meristemo del control del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 9,996X. Observándose mayor número de células que el sensible.



**Figura 20.** Meristemo del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*) tratado. Aumento: 5,880X. Observándose gran cantidad de gránulos de almidón.



**Figura 21.** Mitocondrias del genotipo sensible (B-830) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 85,680X.



**Figura 22.** Mitocondrias del genotipo tolerante (D-878) de maíz (*Zea mays*). Aumento: 85,680X. Observándose mayor número y tamaño que en el sensible.

