

Efecto del análogo de brasinoesteroide DI-31 en la germinación y crecimiento temprano de cultivares de *Oryza sativa* (*Poaceae*) bajo estrés salino

Effect of brassinosteroid analogue DI-31 on germination and seedling stage of *Oryza sativa* (*Poaceae*) cultivars under saline stress

Alenna Vázquez-Glaría^{1,*}, Amanda Duvergel-Terry¹ y Loiret FG¹

¹Laboratorio de Fisiología Vegetal, Dpto. Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Avenida de la Universidad s/n entre Ronda y G, Vedado, Plaza de La Revolución, La Habana, Cuba. C.P. 10400. *Autor para correspondencia (e-mail: alenna@fbio.uh.cu).

RESUMEN

El arroz es el principal cultivo alimentario del mundo, y es afectado por la salinidad en los estadios tempranos del desarrollo. Los brasinoesteroides tienen la capacidad de revertir los efectos del estrés salino sobre la germinación y el crecimiento de plántulas, por lo que son buenos candidatos para su uso en cultivos de arroz bajo este tipo de estrés. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del análogo de brasinoesteroide DI-31 en la respuesta al estrés salino en los cultivares de arroz *Oryza sativa* 'INCA LP-5' y *Oryza sativa* 'Perla de Cuba', en cuanto a parámetros de la germinación y crecimiento en la fase de plántula. Se utilizaron semillas de los cultivares de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba', que fueron pretratadas con el análogo de brasinoesteroide DI-31 (a una concentración de 10^{-6} mol L⁻¹). Las semillas fueron colocadas en placas y en rolos con soluciones de 0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹ de NaCl durante 72 horas y siete días, respectivamente. Luego se midieron 12 parámetros de la germinación y la longitud de las plántulas. Los resultados obtenidos evidenciaron que el cultivar 'INCA LP-5' presenta mejores parámetros de la germinación y del crecimiento temprano bajo condiciones óptimas y de estrés salino. Por tanto, se pudo inferir que este cultivar pudiera ser más tolerante a la salinidad que el cultivar 'Perla de Cuba'. Por otra parte, el pretratamiento de las semillas con el análogo de brasinoesteroide DI-31 no tuvo efecto en la mayoría de los parámetros estudiados.

Palabras clave: arroz, plántula, salinidad, semilla, vigor

ABSTRACT

Rice is the main food crop in the developing world and is severely affected by salinity especially in early development stages. Brassinosteroids can reverse the effects of this stress on germination and seedling growth, being a good candidate for use in rice crops under saline of stress. The aim of this work was to evaluate the effect of the brassinosteroid analogue DI-31 on the germination and seedling growth of *Oryza sativa* 'INCA LP-5' and *Oryza sativa* 'Perla de Cuba' rice cultivars in response to salt stress. Seeds of the 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' rice cultivars were used, as well as the brassinosteroid analogue DI-31 (10^{-6} mol L⁻¹) for their pretreatment. The seeds were placed on plates and rolls with 0, 25, 50 and 100 mmol L⁻¹ NaCl solutions for 72 hours and seven days, respectively. Then 12 parameters of germination and seedling length were measured. Our results showed that the 'INCA LP-5' cultivar has better germination and early growth parameters under normal and salt stress conditions. It could be inferred that this cultivar could be more tolerant to salinity than the 'Perla de Cuba' cultivar. On the other hand, the pretreatment of the seeds with the brassinosteroid analog DI-31 had no effect on most of the parameters studied.

Keywords: rice, seedling, salinity, seed, vigor

Citación: Vázquez-Glaría, A., Duvergel-Terry, A. & Loiret, F.G. 2024. Efecto del DI-31 en la germinación y fase de plántulas de dos cultivares de arroz *Oryza sativa* (*Poaceae*) en condiciones de estrés salino. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 45: 121-134.

Recibido: 27 de octubre de 2023. **Aceptado:** 05 de diciembre 2023. **Publicado en línea:** 22 de noviembre de 2024. **Editor encargado:** Ana Gabriela López-García.

INTRODUCCIÓN

La salinidad de los suelos es un problema importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, especialmente en regiones áridas y semiáridas (Hussain & al. 2017). Alrededor del 6 % del área total de la Tierra, y un tercio de las áreas irrigadas, están afectadas por salinidad directa o por salinidad secundaria (Rahman & al. 2017). En Cuba, el 14,9 % de las áreas agrícolas y el 9,1 % de la superficie del país están afectadas por sales (ONEI 2022). La salinidad va en detrimento de numerosos procesos en las plantas, como la germinación de las semillas y el vigor de las plántulas (Sairam & Tyagi 2004). Además, la salinidad provoca en el suelo un bajo potencial osmótico, llevando a las plantas a un estrés osmótico, iónico y oxidativo (Akram & al. 2017). Asimismo, el estrés salino impacta negativamente, la masa seca y fresca

del vástago, la longitud de la raíz, el tamaño de las hojas, entre otros caracteres (Riaz & al. 2019).

El arroz es el principal cultivo alimentario del mundo en desarrollo y, a menudo, se ve gravemente afectado por la salinidad (Ganie & al. 2019). Bajo estrés salino, las plantas de arroz muestran alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas y toleran bajos niveles de salinidad sin comprometer el crecimiento y el rendimiento (Rahman & al. 2017), especialmente durante la germinación (Vibhuti & al. 2015) y la etapa de plántula (Hussain & al. 2017).

La tolerancia que poseen las plantas al estrés salino puede variar según la etapa de crecimiento en que se encuentren, donde los procesos más vulnerables son la germinación y el

crecimiento inicial de las plántulas (Villalobos & Fereres 2016). Es por ello que son fases muy importantes para su establecimiento en condiciones de estrés (Prakash & al. 2016).

Se ha demostrado que los brasinoesteroides (BRs) tienen la capacidad de revertir los efectos del estrés salino sobre la germinación y el crecimiento de plántulas, lo cual los convierte en buenos candidatos para su uso en cultivos de arroz bajo este tipo de estrés (Núñez & al. 2013). Los BRs son hormonas esteroidales que juegan un papel esencial en muchos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas, como la elongación y división celular, la diferenciación vascular, la reproducción y la senescencia, así como en la respuesta a diferentes estreses (Divi & Krishna 2009). Algunos estudios han demostrado que el pretratamiento de las semillas con BRs promueve su germinación en presencia de NaCl (Anuradha & Rao 2001).

Los brasinoesteroides naturales han sido ampliamente estudiados, pero presentan poca estabilidad en el campo y un elevado costo. En la actualidad, se propone el uso de análogos de brasinoesteroides que tengan una mayor duración a nivel de campo, además de que su síntesis resulta menos costosa. El Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química, Universidad de La Habana, se ha dedicado a la producción de análogos de brasinoesteroides como el DI-31. Sin embargo, existen pocas referencias acerca del efecto que tiene este compuesto en los primeros estadios del desarrollo del cultivo del arroz, especialmente en condiciones de estrés salino.

La selección de cultivares o la aplicación de productos que conlleven a una germinación rápida y uniforme, en condiciones de estrés salino, pueden ayudar al establecimiento temprano de las plántulas. En virtud de lo antes planteado, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del análogo del brasinoesteroide DI-31 en la respuesta al estrés salino en los cultivares de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' en cuanto a parámetros de la germinación y crecimiento en la fase de plántula.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material de estudio

En el presente estudio, se utilizaron semillas de dos cultivares cubanos de arroz (*Oryza sativa*): 'INCA LP-5' del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (Pérez & Castro 2000) y 'Perla de Cuba' producida por el Instituto de Investigaciones de Granos. La semilla fueron donadas por Frank Becerra Miranda, productor de semillas en la Finca "La perseverante", Aguada de Pasajeros, Cienfuegos. Para el pretratamiento de las semillas, se empleó el análogo de brasinoesteroide DI-31, producido en el Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana.

Toma de agua

Para obtener la curva de toma de agua se prepararon cinco grupos de cinco semillas de cada cultivar. Las semillas se pesaron en una balanza analítica *Sartorius*, modelo BSA124S

($e = 0,1$ mg), y luego se colocaron en agua destilada o en una solución de NaCl, a una concentración de 100 mmol L^{-1} durante 30 horas a temperatura ambiente ($27 - 30$ °C). La medición de la toma de agua se realizó cada 1,5 horas, eliminando el exceso de solución con papel de filtro. A las 30 horas se compararon los valores de masa de las semillas de los tratamientos (cultivares y concentración de NaCl), mediante un ANOVA bifactorial, luego de comprobar la normalidad y homogeneidad de varianza de los datos mediante las pruebas Shapiro-Wilk y Levene. En caso de obtener diferencias significativas, se realizó una Prueba de Tukey para conocer la diferencias entre los tratamientos. Se utilizó un nivel de significación de 0,05. El análisis estadístico se realizó con el programa *InfoStat* (2020).

Germinación

Las semillas de ambos cultivares se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 % y se enjuagaron con agua destilada estéril entre siete y diez veces hasta eliminar el olor a hipoclorito. Posteriormente, se embebieron en una solución del análogo de brasinoesteroide DI-31, a una concentración de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, y agua destilada durante una hora en agitación (100 rpm). A continuación, las semillas se colocaron en placas Petri con papel de filtro humedecido con 5 mL de agua destilada o en soluciones de NaCl ($25, 50$ y 100 mmol L^{-1}), se colocaron en una incubadora a 30 °C. Para cada tratamiento se emplearon cuatro placas Petri con 25 semillas cada una. Se contó el número de semillas que germinaron en cada placa a las 24, 48 y 72 h, considerando como germinadas las semillas en las que fuesen visibles la ruptura de la testa y la radícula.

Luego de completado el experimento, se calcularon los siguientes parámetros de germinación: Porcentaje de germinación a las 24 h (PG24), Porcentaje de germinación a las 48 h (PG48), Porcentaje de germinación a las 72 h (PG72), Índice de emergencia a las 24 h (IE24), Índice de emergencia a las 48 h (IE48), Sincronía (Z), Tiempo medio de la germinación (TMG), Coeficiente de velocidad de la germinación (CVG), Tasa de germinación (TG), así como el índice de vigor (V), según las fórmulas planteadas por Ranal & Santana (2006). Además, se midió la longitud de las plántulas con el empleo del programa *SmartRoot* de *ImageJ* (Schneider & al. 2012).

Todos los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA trifactorial, luego de verificar el cumplimiento de las premisas de normalidad y homogeneidad de varianza mediante las pruebas Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Los factores fueron cultivar, concentración de DI-31 y concentración de NaCl. En caso de obtener diferencias significativas, se realizó una Prueba de Tukey para conocer la diferencias entre los tratamientos. Se utilizó un nivel de significación de 0,05. Además, se realizó un análisis de componentes principales teniendo en cuenta los siguientes parámetros de la germinación: PG24, PG48, PG72, IE24, IE48, V, Z, TMG, CVG y TG. Para ello, se estandarizaron los datos, ya que no presentaban igual unidad de medida, y se empleó una matriz de correlación. Para seleccionar las variables de mayor contribución, se tomaron como significativos los valores de

los vectores propios, superiores a la media de los valores de menor y mayor valor de cada componente. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa *InfoStat* (2020).

Crecimiento de las plántulas

Semillas de ambos cultivares se desinfectaron y se embebieron, como se describió anteriormente. Después se ubicaron en papeles de germinación *Germitest*[®] de 28,3 cm de ancho por 18,8 cm de largo, enrollados y colocados de forma vertical dentro de una bolsa plástica cerrada herméticamente para mantener la humedad. Los papeles de germinación se humedecieron con 21 mL de soluciones con NaCl (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) y se pusieron en una incubadora durante 7 días a temperatura ambiente (27 – 30 °C). Transcurrido este tiempo, se midió la longitud de las raíces y de la parte aérea (vástago), con el empleo del programa *SmartRoot* de *ImageJ* (Schneider & al. 2012), además, se midió la masa fresca y seca.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA trifactorial luego de comprobar la normalidad y homogeneidad de varianza de los mismos mediante las pruebas Shapiro-Wilk y Levene. Los factores considerados fueron cultivar, concentración de DI-31 y concentración de NaCl. En caso de obtener diferencias significativas, se realizó una Prueba de Tukey para conocer cuáles de los tratamientos difieren. Se utilizó un nivel de significación de 0,05. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa *InfoStat* (2020).

RESULTADOS

Toma de agua

El aumento de la masa de las semillas de los cultivares 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' durante la imbibición en agua destilada y en 100 mmol L⁻¹ de NaCl siguió un comportamiento trifásico. La primera fase se caracterizó por un incremento rápido de la masa fresca en las primeras 15 horas. Posteriormente, en la fase II se observó un incremento más lento, manteniéndose estable en las siguientes 15 horas. A las 30 horas de imbibición se observó un mayor aumento de masa de las semillas, como resultado del comienzo de la Fase III (Figura 1). A las 18 horas, ya comenzada la fase II, no existieron diferencias entre los cultivares, pero si se observó el efecto de la concentración de NaCl, siendo mayor la masa de las semillas cuando se habían embebido en agua. Este comportamiento estuvo presente hasta el final de la curva. Sin embargo, a partir de las 21 horas se detectaron diferencias en la masa de las semillas entre los cultivares, siendo mayor en 'Perla de Cuba', manteniéndose así hasta las 30 horas, donde no existieron diferencias entre cultivares, pero si una marcada diferencia entre los tratamientos con sal y agua destilada.

Germinación

Los resultados evidenciaron que los parámetros de la germinación fueron afectados por el estrés salino en ambos cultivares de arroz (Tabla I), siendo más evidente para el cultivar 'Perla de Cuba' (Figura 2). Se observó una disminución en el PG24, a medida que aumentó la concentración de sal.

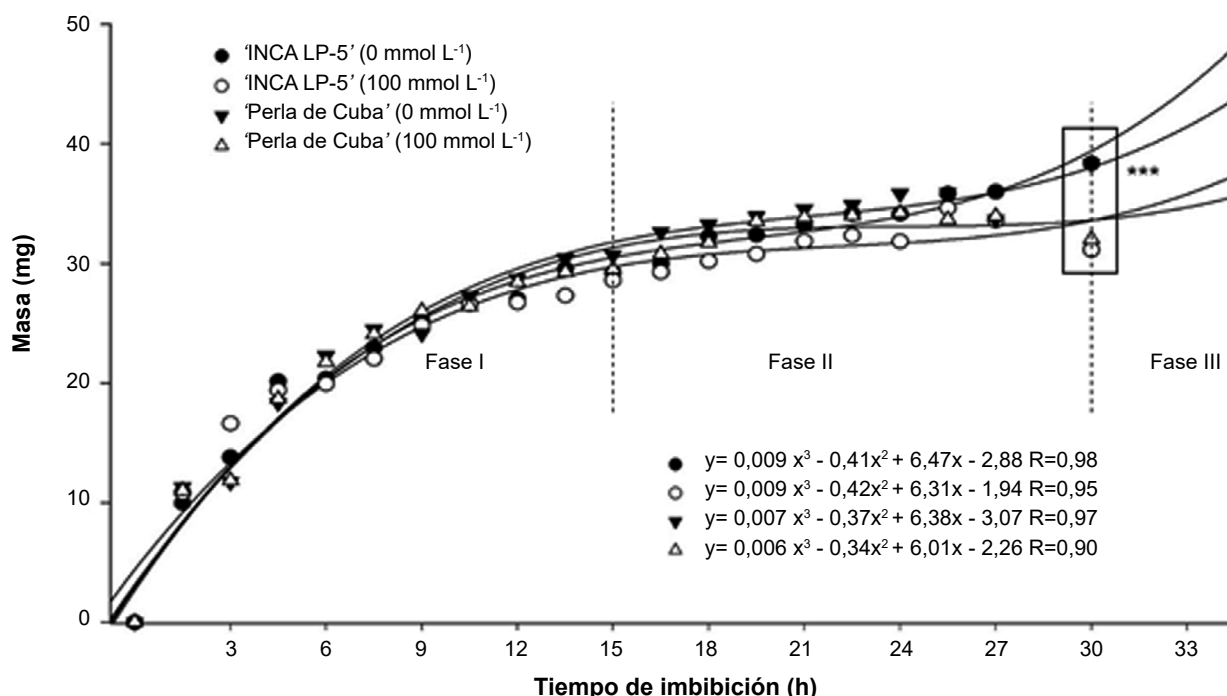


Fig. 1. Masa de las semillas de los cultivares de *Oryza sativa* 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' durante 30 horas de imbibición en agua destilada y en solución de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Las variables se ajustan a una curva polinómica de tercer grado. El recuadro señala la diferencias entre las semillas de ambos cultivares embebidas en la solución de sal y en agua destilada a las 30 horas, según la prueba Tukey (n = 5) (p < 0,05).

Fig. 1. Seed mass of 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' cultivars during 30 hours of imbibition in distilled water and in a 100 mmol L⁻¹ NaCl solution. The variables fit a third degree polynomial curve. The box indicates the point of the curve where significant differences were found between the treatments with NaCl according to Tukey test (n = 5) (p < 0.05).

Los menores valores de PG24 se observaron a 100 mmol L⁻¹ de NaCl, siendo 0 % para el cultivar 'Perla de Cuba' a dicha concentración (Figura 2). En general, se obtuvo un ligero aumento de PG24 cuando las semillas fueron pretratadas con el análogo de brasinoesteroide DI-31, cuyo mayor valor se obtuvo para el cultivar 'INCA LP-5' a 0 mmol L⁻¹ de NaCl. No obstante, este efecto fue más marcado para el cultivar 'Perla de Cuba' cuando las semillas fueron germinadas en las concentraciones de 25 y 50 mmol L⁻¹ de NaCl. Por otra parte, solo se obtuvieron valores significativamente menores de PG48 y PG72 para el cultivar 'Perla de Cuba' a la concentración de 100 mmol L⁻¹ de NaCl, cuando las semillas no fueron pretratadas con el análogo de brasinoesteroide (PG48 = 81 % y PG72 = 88 %).

Por otra parte, los mayores valores de Z se presentaron para el cultivar 'Perla de Cuba', cuyas semillas germinaron en 100 mmol L⁻¹ de NaCl, independiente de la presencia o no del brasinoesteroide DI-31. El menor valor de TMG corresponde al cultivar 'INCA LP-5' cuando sus semillas son pretratadas con DI-31, sin embargo, el cultivar mostró un aumento del 66 % del TMG, bajo condiciones de máximo estrés salino (100 mmol L⁻¹ de NaCl). Por otra parte el cultivar 'Perla de Cuba' mostró un aumento del 70 % bajo las mismas condiciones. Los máximos valores de CVG y TG fueron encontrados para 'INCA LP-5', cuando las semillas fueron tratadas con el análogo de brasinoesteroide DI-31 y fueron germinadas sin NaCl (CVG = 3,48 % y TG = 0,93) (Figura 2). El

estrés salino disminuyó significativamente dichos valores en ambos cultivares, alrededor del 72 %, para CVG, y 70 % para TG, respecto al control. Los valores cuantitativos de las variables que describen la germinación se muestran en el Anexo 1.

Luego de 72 horas de germinación, la longitud de la plántula fue menor en condiciones de estrés salino para ambos cultivares, siendo este factor el único que tuvo efecto en esta variable (pNaCl < 0,001). El tratamiento 100 mmol L⁻¹ de NaCl redujo esta variable en el cultivar 'Perla de Cuba' (~85 % del control) más que en 'INCA LP-5' (~60 % del control) para las semillas pretratadas o no con DI-31 mostrando diferencias significativas con el control (Figura 3).

El análisis de componentes principales (ACP) (Tabla II) muestra que las componentes principales (CP1 y CP2) explican el 94,6 % de la variabilidad de los 10 parámetros de la germinación analizados. La CP1 explicó un 84,1 % de la variabilidad total y las variables que más contribuyeron al mismo fueron PG24, IE24, IE48, TMG, CVG y V. Por otra parte, la CP2 justificó un 10,6 % de la variabilidad y los parámetros que más contribuyeron al mismo fueron PG48, PG72, y Z. En el cuadrante positivo de la CP1 se agrupan los tratamientos en los que las semillas fueron germinadas en concentraciones de sal menores de 100 mmol L⁻¹ (Figura 4). Los mismos se caracterizaron por presentar altos valores de PG24, TG, PG72 y Z. Hacia el cuadrante negativo de la misma

TABLA I

Efecto de los factores cultivar, concentración de DI-31 (0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹), concentración de NaCl (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) así como sus interacciones de primer y segundo orden en los parámetros de la germinación de dos cultivares cubanos de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' (media ± DE) n=4.

Los asteriscos muestran las diferencias significativas entre los tratamientos (p < 0,05 *, 0, 001 ***). PG24: Porcentaje de germinación a las 24 h; PG48: Porcentaje de germinación a las 48 h; PG72: Porcentaje de germinación a las 72 h; IE24: Índice de emergencia a las 24 h; IE48: Índice de emergencia a las 48 h; Z: Sincronía, TMG: Tiempo medio de la germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de la germinación; TG: Tasa de germinación.

TABLE I

Effect of the factors cultivar, DI-31 concentration (0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹) and NaCl concentration (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) as well as their first and second order interaction in germination parameters in two Cuban rice cultivars 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' (media ± DE) n=4.

The asterisks show the significant differences between treatments (p < 0.05*, 0.01**, 0.001***). PG24: Percentage of germination at 24 h; PG48: Percentage of germination at 48 h; PG72: Percentage of germination at 72 h; IE24: 24-h emergency index; IE48: 48-h emergency index; Z: Synchrony, TMG: Mean germination time; CVG: germination speed coefficient; TG: Germination rate.

| Parámetros de la germinación | PG24 (%) | PG48 (%) | PG72 (%) | IE24 (semilla h ⁻¹) | IE48 (semilla h ⁻¹) | Z | TMG (h) | CVG (%G) | TG (% día ⁻¹) |
|------------------------------|----------|----------|----------|---------------------------------|---------------------------------|-----|---------|----------|---------------------------|
| Factores | | | | | | | | | |
| Cultivar | *** | ns | ns | *** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Concentración DI-31 | *** | * | ns | *** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Concentración NaCl | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| Cultivar x [DI-31] | ** | ns | ns | * | ns | ns | ** | * | * |
| Cultivar x [NaCl] | ns | ns | ns | ns | ns | *** | ns | ns | ns |
| [DI-31] x [NaCl] | ns | ** | * | ns | ns | * | ns | ns | ns |
| Cultivar x [DI-31] x [NaCl] | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |

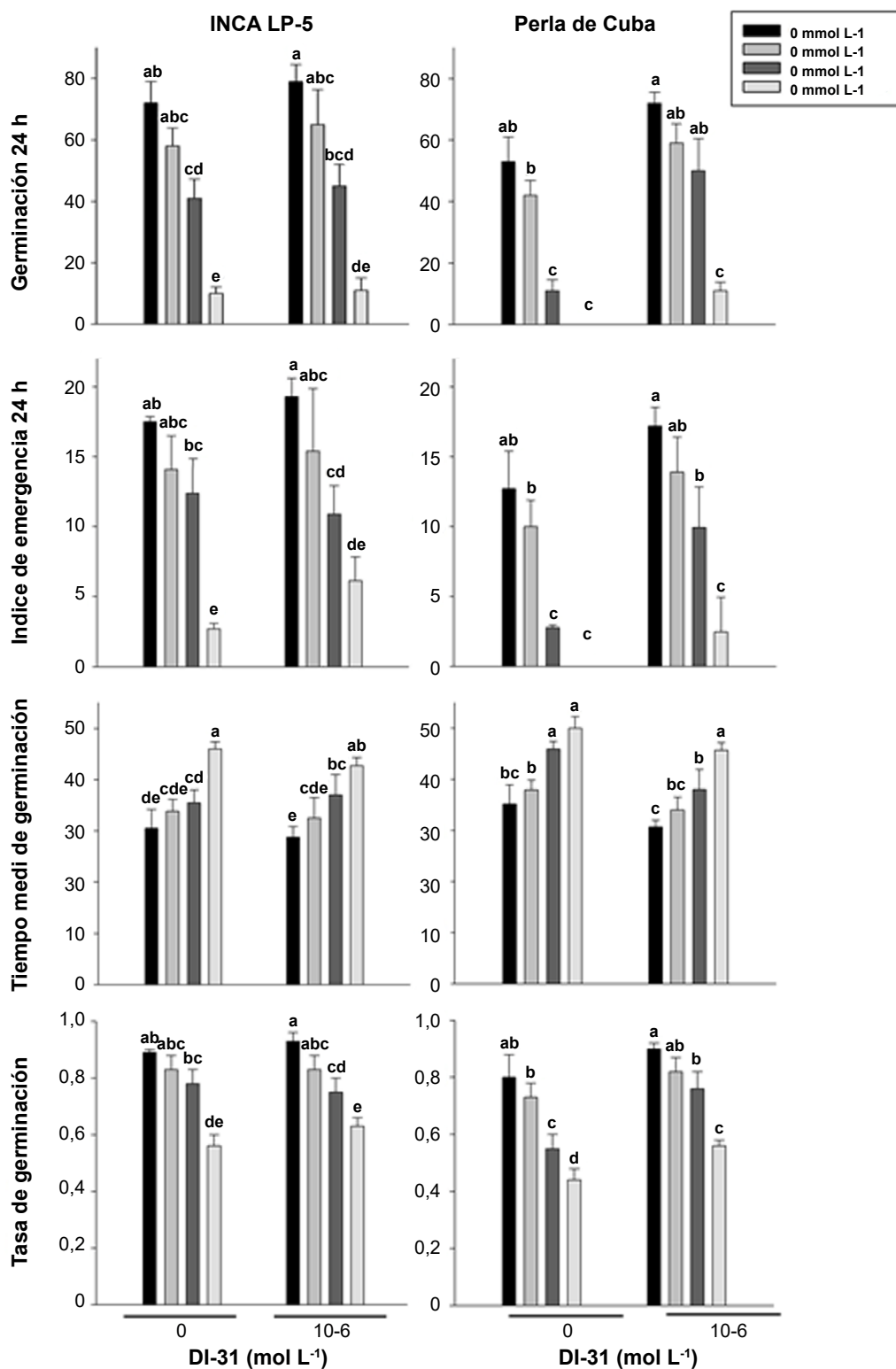


Fig. 2. Germinación a las 24 h, Índice de emergencia a las 24 h, Tiempo medio de germinación y Tasa de germinación de dos cultivares cubanos de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' pretratados con DI-31 (0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹) y germinados en soluciones salinas (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹ de NaCl). Los datos que se muestran son la media ± DE (n = 4) letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Tukey (NaCl x DI-31), (p < 0,05).

Fig. 2. Percentage of germination at 24 h, 24-h emergency index, Mean germination time, Germination rate of two Cuban rice cultivars 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' pretreated with DI-31 (0 and 10⁻⁶ mol L⁻¹) and germinated in salt solutions (0, 25, 50 and 100 mmol L⁻¹). The data shown are the mean ± SD (n = 4) different letters indicate significant differences between treatments according to Tukey test (NaCl x DI-31), (p < 0.05).

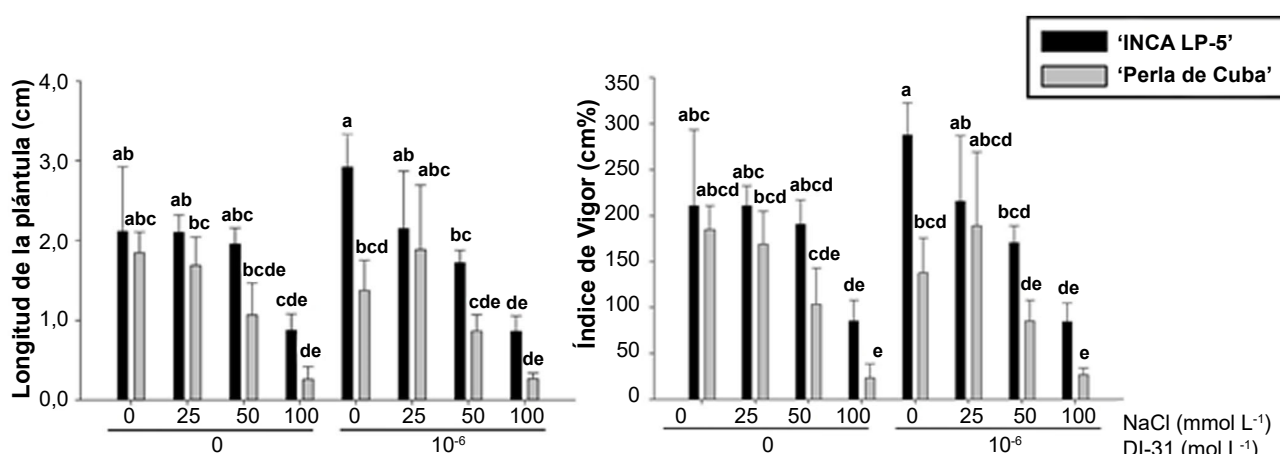


Fig. 3. Longitud de la plántula e índice de vigor de dos cultivares cubanos de arroz, 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' pretratados con DI-31 (0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹) y germinados en soluciones salinas (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹ de NaCl). Los datos que se muestran son la media \pm DE (n = 4) letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Tukey (variedad x NaCl x DI-31), Tukey (p < 0,05).

Fig. 3. Seedling length and vigor index of two Cuban rice cultivars, 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' pretreated with DI-31 (0 and 10⁻⁶ mol L⁻¹) and germinated in salt solutions (0, 25, 50 and 100 mmol L⁻¹). The data shown are the mean \pm SD (n = 4) different letters indicate significant differences between treatments according to Tukey test (NaCl x DI-31), (p < 0.05).

TABLA II

Autovalores, porcentaje de la varianza total, porcentaje acumulado y valores de los autovectores obtenido del Análisis de Componentes Principales (ACP) para los 10 parámetros de la germinación evaluados en dos cultivares cubanos de arroz, 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba'

Señalados en negrita los caracteres con mayor contribución a cada componente.

TABLA II

Eigenvalues, percentage of the total variance, accumulated percentage and values of the eigen-vectors obtained from the Principal Components Analysis (PCA) for the 10 germination parameters evaluated in two Cuban rice cultivars, 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba'

The characters with the greatest contribution to each component are indicated in bold.

| Componente | CP 1 | CP 2 |
|---|--------------|-------------|
| Autovalores | 8,40 | 1,06 |
| % Varianza total | 84,0 | 10,6 |
| % Acumulado | 84,0 | 94,6 |
| Autovectores | CP 1 | CP 2 |
| Porcentaje de germinación 24h | 0,34 | -0,16 |
| Porcentaje de germinación 48h | 0,29 | 0,52 |
| Porcentaje de germinación 72h | 0,27 | 0,52 |
| Índice de Vigor | 0,31 | -0,02 |
| Índice de emergencia 24h | 0,34 | -0,21 |
| Índice de emergencia 48h | -0,33 | 0,26 |
| Sincronía | -0,27 | 0,43 |
| Tiempo medio de germinación | -0,34 | 0,17 |
| Coefficiente de velocidad de la germinación | 0,33 | -0,29 |
| Tasa de germinación | 0,34 | -0,14 |

componente se agrupan los tratamientos cuyas semillas germinaron a una concentración de 100 mmol L⁻¹ de NaCl, además del tratamiento que combina el cultivar 'Perla de Cuba', cuyas semillas germinaron en una solución de 50 mmol L⁻¹ de NaCl (Figura 4). Estos tratamientos mostraron los más altos valores de TMG e IE48 y bajos valores para el resto de las variables estudiadas. Sin embargo, el tratamiento que combina el cultivar 'Perla de Cuba', cuyas semillas no fueron pretratadas y que germinaron a 100 mmol L⁻¹ de NaCl no muestra agrupación con ningún otro tratamiento. Estos agrupamientos evidencian el efecto negativo de altas concentraciones de NaCl, principalmente para el cultivar 'Perla de Cuba'.

Parámetros del crecimiento temprano

Se encontraron diferencias significativas entre los cultivares 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' para el parámetro longitud de la raíz (Tabla III). Los mayores valores para esta variable se encontraron en el cultivar 'INCA LP-5', los cuales representan aproximadamente el doble del cultivar 'Perla de Cuba'. El análogo de brasinoesteroide DI-31 tuvo un efecto positivo en el incremento de longitud de la raíz en ambos cultivares, siendo incluso mayor para ambos cultivares en la solución de 25 mmol L⁻¹ de NaCl (Figura 5). Sin embargo, se muestra una disminución significativa cuando se aplica una solución de 100 mmol L⁻¹ de NaCl, la cual no logra ser contrarrestada por el pretratamiento con DI-31. Por otra parte, no existen diferencias significativas para la variable longitud del vástago entre ambos cultivares para los tratamientos empleados. Esto ocurre con excepción del cultivar 'Perla de Cuba', pretratada con DI-31 y crecida en solución de 25 mmol L⁻¹ de NaCl, en cuyo caso esta variable mostró mayores valores que el cultivar 'INCA LP-5'. Nuevamente se observó una disminución significativa para ambos cultivares cuando se aplicó una solución de 100 mmol L⁻¹, observándose aproximadamente la mitad de los valores obtenidos para el control.

Otros parámetros del crecimiento analizados fueron la masa fresca y la masa seca de la raíz y el vástago. Se puede destacar que las plántulas, con mayores valores de masa fresca de la raíz (MFR) fueron aquellas que crecieron en soluciones de NaCl de 25 y 50 mmol L⁻¹. Esto ocurre tanto para las que sus semillas fueron pretratadas o no con DI-31.

El mayor valor de MFR se presentó para el cultivar 'Perla de Cuba' cuando las plántulas crecieron en una solución de 50 mmol L⁻¹ de NaCl y no fueron tratadas con el análogo (MFR = 75,2 mg). Sin embargo, se observaron valores significativamente menores cuando las plántulas crecieron en una solución de concentración 100 mmol L⁻¹. No obstante, se pudo observar un ligero aumento cuando las semillas fueron pretratadas con DI-31. Por otra parte, la masa seca de la raíz (MSR) siguió un comportamiento similar al MFR, observándose un aumento cuando las plántulas crecieron en solución de 25 y 50 mmol L⁻¹ de NaCl y una disminución significativa cuando se aplica 100 mmol L⁻¹. En este caso, el mayor valor pertenece al cultivar 'INCA LP-5', al ser tratado con DI-31 y crecido en 25 mmol L⁻¹ de NaCl (PSR = 9,35 mg). En cuanto a la masa fresca del vástago (MFV), se pudo observar que el cultivar 'INCA LP-5' obtuvo un valor significativa-

mente superior al resto de los tratamientos cuando sus semillas fueron tratadas con DI-31 y crecidas en agua destilada (203 mg). Tanto para esta variable como para la masa seca del vástago (MSV), se observó el mismo patrón que para la raíz, donde la máxima concentración de sal provocó una disminución significativa respecto al resto de los tratamientos. Sin embargo, para el parámetro MSV hay un aumento significativo cuando las semillas son tratadas con el análogo de brasinoesteroide respecto a las no tratadas crecidas en 50 Mmol L⁻¹ de NaCl (17,5 mg a 20,8 mg) para el cultivar 'Perla de Cuba'. Los valores cuantitativos de las variables que describen el crecimiento se muestran en el Anexo 2.

DISCUSIÓN

Variación en medio salino de la curva de toma de agua de las semillas de los cultivares cubanos de arroz 'Inca LP-5' y 'Perla de Cuba'

La germinación de las semillas incluye procesos fisiológicos y comienza con la toma de agua hasta la emergencia de la radícula (Bewley 1997). En el experimento realizado, la toma de agua de los cultivares de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' tiene un comportamiento trifásico semejante al modelo propuesto por Bewley (1997). La primera fase de la germinación

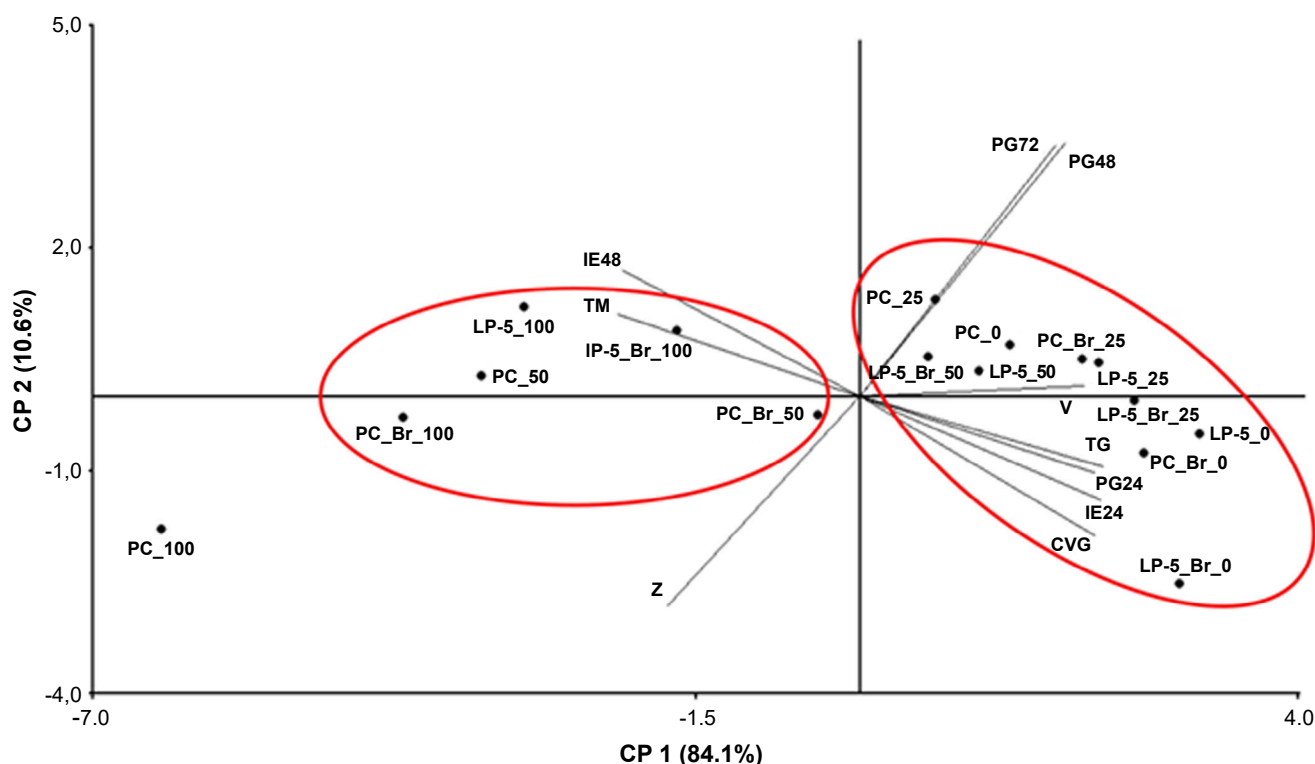


Fig. 4. Análisis de Componentes principales para 10 parámetros de la germinación medidos en dos cultivares cubanos de arroz, 'INCA LP-5' (LP-5) y 'Perla de Cuba' (PC) pretratados con DI-31: 0 mol L⁻¹ y 10⁻⁶ mol L⁻¹ (Br) y germinados en soluciones de NaCl: 0 mmol L⁻¹ (0), 25 mmol L⁻¹ (25), 50 mmol L⁻¹ (50) y 100 mmol L⁻¹ (100). PG24: Porcentaje de germinación a las 24 h; PG48: Porcentaje de germinación a las 48 h; PG72: Porcentaje de germinación a las 72 h; IE24: Índice de emergencia a las 24 h; IE48: Índice de emergencia a las 48 h; Z: Sincronía; TMG: Tiempo medio de la germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de la germinación; TG: Tasa de germinación; V: Índice de Vigor.

Fig. 4. Principal Component Analysis for 10 germination parameters measured in two Cuban rice cultivars, 'INCA LP-5' (LP-5) and 'Perla de Cuba' (PC) pretreated with DI-31: 0 mol L⁻¹ and 10⁻⁶ mol L⁻¹ (Br) and germinated in NaCl solutions: 0 mmol L⁻¹ (0), 25 mmol L⁻¹ (25), 50 mmol L⁻¹ (50) and 100 mmol L⁻¹ (100). PG24: Percentage of germination at 24 h; PG48: Percentage of germination at 48 h; PG72: Percentage of germination at 72 h; IE24: 24-h emergency index; IE48: 48-h emergency index; Z: Synchrony; TMG: mean germination time; CVG: germination speed coefficient; TG: Germination rate; V: Vigor Index.

TABLA III

Efecto de los factores cultivar ('INCA LP-5' y 'Perla de Cuba'), concentración de DI-31(0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹), concentración de NaCl (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) así como sus interacciones de primer y segundo orden en los parámetros del crecimiento temprano de dos cultivares cubanos de arroz 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' n=6. Los asteriscos muestran las diferencias significativas entre los tratamientos (p < 0,05*, 0,01**, 0,001***). LR: Longitud de la raíz; LV: Longitud del vástago; MFR: Masa fresca de la raíz; MFV: Masa fresca del vástago; MSR: Masa seca de la raíz; MSV: Masa seca del vástago.

TABLE III

Effect of the factors cultivar ('INCA LP-5' and 'Perla de Cuba'), DI-31 concentration (0 and 10⁻⁶ mol L⁻¹) and NaCl concentration (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) as well as their first and second order interaction in germination parameters in two Cuban rice cultivars 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba'

n=6. The asterisks show the significant differences between the cultivar, salt (NaCl), DI-31) treatments and their interactions according to three-way ANOVA for each parameter (p < 0.05*, 0.01**, 0.001***). LR: Root length; LV: Stem length; MFR: Fresh root mass; MFV: Fresh stem mass; MSR: Dry root mass; MSV: Dry stem mass.

| Parámetros del crecimiento temprano | LR (cm) | LV (cm) | MFR (mg) | MFV (mg) | MSR (mg) | MS (mg) | MSMSR |
|-------------------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|---------|-------|
| Factores | | | | | | | |
| Cultivar | *** | ns | ns | ns | | ns | ns |
| Concentración de DI-31 | *** | ns | ns | *** | ns | ns | ns |
| Concentración de NaCl | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| Cultivar x [DI-31] | * | ns | ns | ** | ns | ns | ns |
| Cultivar x [NaCl] | *** | *** | ** | * | * | ns | ** |
| [DI-31] x [NaCl] | *** | *** | *** | *** | ** | ns | *** |
| Cultivar x [DI-31] x [NaCl] | *** | ** | ns | ** | ns | * | *** |

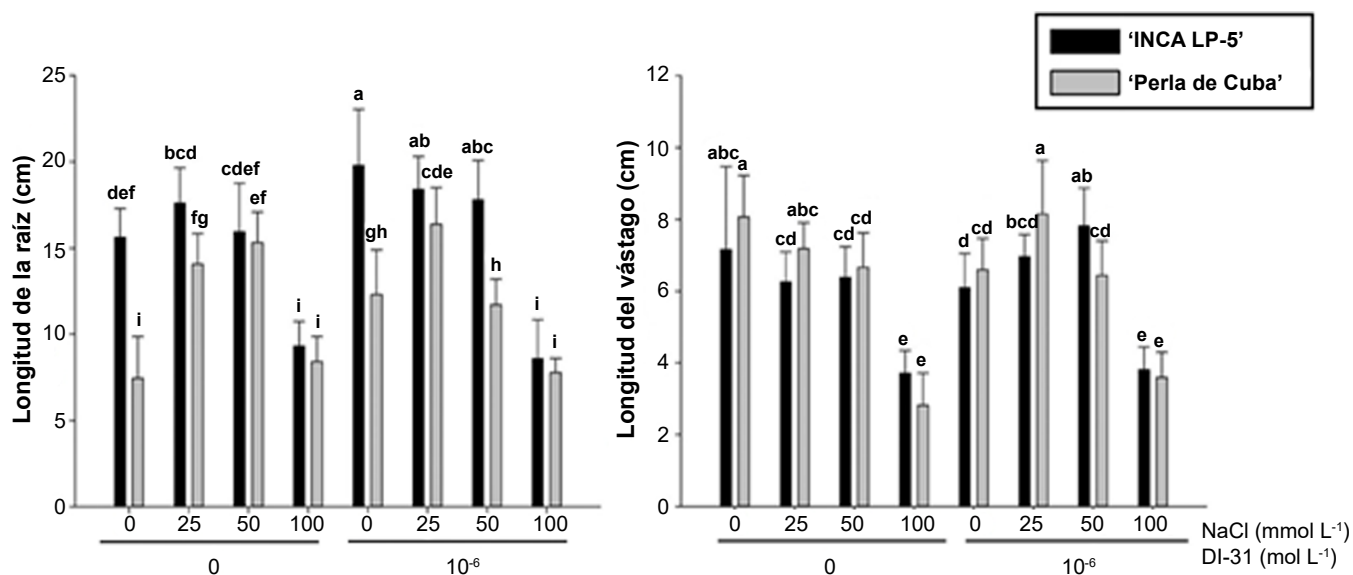


Fig. 5. Longitud de la raíz y del vástago de dos cultivares cubanos de arroz, 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba', pretratados con DI-31 (0 y 10⁻⁶ mol L⁻¹) y crecidos en rolos humedecidos con soluciones de cuatro concentraciones de sal (0, 25, 50 y 100 mmol L⁻¹) durante siete días. Los datos que se muestran son la media ± DE (n = 6) letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según el ANOVA trifactorial (cultivar x [NaCl] x DI-31) y la prueba de Tukey (p < 0,05).

Fig. 5. Root and shoot length of two Cuban rice cultivars, 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba', pretreated with DI-31 (0 and 10⁻⁶ mol L⁻¹) and grown in rolls moistened with solutions of four salt concentrations (0, 25, 50 and 100 mmol L⁻¹) for seven days. The data shown are the mean ± SD (n = 6) different letters indicate significant differences between treatments according to three-way ANOVA (variety x [NaCl] x DI-31) and Tukey test (p < 0.05).

para ambos cultivares tiene una duración de 15 horas, resultado obtenido previamente por Vázquez-Glaría & *al.* (2019) para estos mismos cultivares con agua destilada y una solución de 1 ppm de DI-31. Sin embargo, otros autores informaron que la Fase I de la toma de agua en *Oryza sativa* tuvo una duración de 20 horas (Yang & *al.* 2007) y 24 horas (Xu & *al.* 2017), tanto en agua destilada como en soluciones con sal. Estos resultados podrían ser contradictorios, ya que la presencia de NaCl disminuye el potencial de agua y se esperaría una disminución en su absorción. Sin embargo, Bewley & Black (1994) explican que la primera fase de toma de agua por las semillas involucra el movimiento de agua en el espacio libre (apoplasto) y que no depende del potencial osmótico de la solución. La fase I de la curva de toma de agua, también conocida como imbibición, se caracteriza por una rápida absorción de agua por parte de las semillas (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006), lo cual se refleja en el aumento de su masa fresca, tal como ocurre en este experimento.

Por otra parte, Yang & *al.* (2007), plantearon una duración de la Fase II hasta las 50 horas, diferente a lo obtenido en este experimento, en el que la fase II duró hasta las 30 horas, tiempo a partir del cual ya se observa el inicio de la fase III. Otros autores han indicado una duración de hasta las 84 horas de la fase II para cultivares de arroz en agua destilada (Cheng & *al.* 2017, Xu & *al.* 2017). Conjuntamente, Xu & *al.* (2017) encontraron que esta fase también se prolongó hasta las 96 h cuando las semillas fueron sumergidas en una solución salina. Esto representa otra diferencia con el presente trabajo, ya que, si bien existen diferencias en el aumento de masa fresca de las semillas cuando son embebidas en sal o en agua destilada, el tratamiento salino no prolongó la duración de la fase II. En esta fase, también conocida como fase de meseta, se reactiva el metabolismo en el embrión y la disminución en la toma de agua por causa de la salinidad en la misma se atribuye principalmente al estrés osmótico, debido al aumento de la concentración de solutos y la consecuente disminución del potencial de agua (Uçarlı 2021).

Otros autores como Yang & *al.* (2019) también informaron una disminución en la toma de agua de semillas de arroz a partir de concentraciones de sal de 100 y 150 mmol L⁻¹ respectivamente, sin que esto incida en la duración de la fase II. La diferencia en la duración de las dos primeras fases pudiera estar relacionada con un efecto de la temperatura, ya que el experimento se realizó a 30 °C y los experimentos de Yang & *al.* (2019) fueron a 26 °C. Este aumento en la toma de agua en los cultivares cubanos de arroz estudiados, en relación a la temperatura, fue descrito previamente por Kashaninejad & *al.* (2007), estos autores plantean que el contenido de humedad del grano aumenta con la temperatura lo cual se debe a cambios en la resistencia del grano a la difusión.

Por lo tanto, una temperatura más alta puede acortar el tiempo en que se alcanza un mayor contenido de humedad en el grano de arroz. Por otra parte, a partir de las 21 horas de imbibición

se pudo encontrar que existen diferencias significativas en el aumento de masa de las semillas entre los cultivares. En el presente trabajo, como en el de Vázquez-Glaría & *al.* (2019), el cultivar 'Perla de Cuba' mostró un mayor aumento en la masa del grano y por consiguiente en la toma de agua. Esto puede deberse al contenido de amilosa y amilopectina en semillas de arroz, lo cual determina diferencias en el contenido de azúcares reductores y oligosacáridos durante la germinación (Saman & *al.* 2008) y que podría influir en la toma de agua. Finalmente, ya en la fase III de toma de agua, se puede observar que existen diferencias en el aumento de masa de las semillas cuando estas son embebidas en agua destilada y en una solución de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Esto se debe no solo al estrés osmótico que ya se presentaba en la fase II, sino también al estrés iónico causado por el aumento de la concentración de NaCl (Uçarlı 2021). Tanto los efectos osmóticos como los iónicos del estrés salino conducen a la generación de un exceso de especies reactivas del oxígeno y daño oxidativo, que altera las proteínas, los lípidos y ácidos nucleicos o la estructura celular, incluida la membrana lipídica (Munns & Tester 2008). Todo esto hace que se vean afectados los procesos típicos de esta fase como son la movilización de los compuestos de reserva, la división celular y la consecuente elongación de la radícula y el establecimiento de la plántula (Bewley 1997).

Efecto del estrés salino en la germinación y el crecimiento temprano de cultivares cubanos de arroz

Está documentado que la presencia de sal en el medio dificulta la germinación y el establecimiento de plántulas, ya que obstaculiza eventos como la imbibición, la activación del metabolismo, la aparición de tejidos embrionarios y el establecimiento de plántulas (Hasanuzzaman & *al.* 2013). En el presente trabajo, el porcentaje de germinación (PG) solo fue afectado por la salinidad a las 24 horas, siendo de 0 % para el cultivar 'Perla de Cuba' cuando sus semillas son embebidas en una solución de 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Este resultado está en concordancia con autores como Li & *al.* (2020), Fogliatto & *al.* (2019), los cuales evidencian una caída del PG en cultivares de arroz a medida que aumenta la concentración de sal en el medio. No obstante, la mayoría de los autores concuerdan en que el efecto negativo de la salinidad en la germinación varía según la concentración de sal y el cultivar en estudio, como se observa en este estudio (Hasanuzzaman & *al.* 2013, Hussian & *al.* 2017, Li & *al.* 2020, Fogliatto & *al.* 2019,).

Si bien la salinidad no afectó considerablemente el PG de ambos cultivares a las 48 y 72 h, sí se pudo observar como el aumento de la concentración de sal afectó otros parámetros que definen la dinámica de la germinación como el IE, TG, Z, VG y TMG, como han informado otros autores (Hua-long & *al.* 2014). En este trabajo, se observó un aumento del TMG en los cultivares 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba' a medida que aumentó la concentración de sal. Por otra parte, se evidenció que el estrés salino provocó retraso en la germinación, ya que existe una diferencia de aproximadamente 15 horas para ambos cultivares entre

el tratamiento control y la máxima concentración de sal aplicada. Estos resultados, en concordancia con los de Fogliatto & al. (2019), evidencian que el estrés salino afecta los parámetros que definen la velocidad de la germinación.

La germinación es un fenómeno complejo que involucra cambios fisiológicos y bioquímicos que conducen a la activación del embrión. Se ha demostrado que el estrés salino disminuye significativamente los niveles de actividad de la α -amilasa y β -amilasa (Shereen & al. 2011, Hua-long & al. 2014, Liu & al. 2018) lo cual puede justificar los cambios en los parámetros de la germinación bajo condiciones de estrés salino encontrados en el presente trabajo. Shereen & al. (2011), además, encontraron que la disminución en la actividad de la α -amilasa era diferente en las siete líneas de arroz que estudió. Esta pudiera ser la razón por la que la mayor concentración de sal impuesta a las semillas de arroz, en este estudio, afectara significativamente más al cultivar 'Perla de Cuba' que al cultivar 'INCA LP-5' durante el proceso de germinación de las semillas. Por otra parte, la actividad de las enzimas α -amilasa y β -amilasa durante la germinación, también resulta un factor importante en el crecimiento y vigor de las plántulas (Shereen & al. 2011). En este estudio, se observó una reducción significativa en la longitud de las plántulas, tanto a las 72 horas como a los siete días de crecidas, y del índice de vigor cuando las semillas fueron germinadas en una solución de 100 mmol L⁻¹ de NaCl (Figuras 3, 5). Estos resultados son consistentes con estudios previos realizados en arroz y otras monocotiledóneas, los que demostraron una reducción del tamaño de la plántula con el aumento del estrés salino (Chen & al. 2021).

Una buena parte de las investigaciones antes mencionadas asumen la disminución de la longitud de la plántula en condiciones de estrés salino como una disminución del vigor. Según ISTA (2022), el vigor de la semilla es la suma de aquellas propiedades que determinan la actividad y rendimiento de lotes de semillas de germinación aceptable en una amplia gama de entornos. En este trabajo, se puede afirmar que hubo una disminución del vigor de la semilla bajo condiciones de estrés salino basándonos en varios criterios como son disminución significativa de la longitud de la plántula y del índice de vigor, así como la disminución significativa del IE24, el CVG y el TG, los cuales han sido informados como parte de la disminución del vigor (Yousof 2013).

Los resultados obtenidos del ACP muestran que el cultivar 'Perla de Cuba' es más susceptible al estrés salino que el cultivar 'INCA LP-5', al considerar los parámetros de germinación y vigor. Sin embargo, contrario a lo que se pudiera esperar, los parámetros del crecimiento LR y LV, MFV, MFR y MSV, MSR de ambos cultivares no se ven afectados cuando las plantas han crecido en una solución de 25 mmol L⁻¹ de sal durante siete días. Incluso, en algunos parámetros, como la LR, se puede observar un incremento, llegando a ser significativo para el cultivar 'Perla de Cuba'. En otros estudios se ha indicado un aumento de LR a bajas

concentraciones de sal (2 a 4 dS m⁻¹) en otros cultivares de arroz (Balkan & al. 2015, Vibhuti & al. 2015). Esta estimulación del crecimiento a bajas concentraciones de sal encontrada en este experimento ha sido descrita por Agathokleous & al. (2019) como hormesis. Es un fenómeno que se caracteriza por una respuesta adaptativa de las plantas a sustancias tóxicas, como el NaCl, que a bajas concentraciones estimula el crecimiento (Agathokleous & al. 2019).

Papel del análogo de brasinoesteroide DI-31 en la respuesta al estrés salino

En el trabajo, se evidenció que el efecto del pretratamiento de las semillas con análogo de brasinoesteroide DI-31 fue menor que el efecto del estrés salino en los parámetros de la germinación para los cultivares 'INCA LP-5' y 'Perla de Cuba'. Si bien en la mayoría de los parámetros no se mostraron diferencias significativas al tratar las semillas con DI-31, se pudo observar que el aumento en PG24, IE24, CVG, TG y la disminución del TMG fue mucho más marcado para el cultivar 'Perla de Cuba'. Jirakajornjaritkul & al. (2021) han evidenciado que la acción de los brasinoesteroides en la germinación es heterogénea. Esto se debe a que el efecto de la hormona depende de la especie e incluso del cultivar empleado, del tipo y concentración del brasinoesteroides aplicado, así como de la forma de aplicación.

Si bien el aumento de algunos parámetros de la germinación no fue significativo al tratar las semillas con DI-31, su efecto fue más evidente cuando la germinación ocurrió bajo condiciones de estrés salino. El efecto protector del análogo DI-31 observado para el cultivar 'Perla de Cuba' durante la germinación en condiciones de estrés salino ha sido demostrado con otros brasinoesteroides en algunos cultivares de arroz como IR-64 (Anuradha & Rao 2001) y otros cinco cultivares indios de arroz (Das & al. 2013).

Cuando analizamos los parámetros del crecimiento se observó un patrón similar al descrito anteriormente en cuanto al efecto del análogo de brasinoesteroide DI-31. No obstante, hay que destacar que existe un aumento en la longitud de la raíz cuando se aplica el brasinoesteroide y las plantas son crecidas en agua destilada; tal y como informaron Vázquez-Glaría & al. (2019) para estos mismos cultivares de arroz. Estos resultados de la estimulación del crecimiento de la raíz se han observado previamente para el cultivar cubano de arroz 'INCA LP-7', al utilizar los análogos cubanos Biobras-16 y Biobras-25 (Núñez & al. 2016).

CONCLUSIONES

El cultivar 'INCA LP-5' presenta mejores parámetros de la germinación y del crecimiento temprano en presencia o no de estrés salino. De esto se puede inferir que 'INCA LP-5' es más tolerante a la salinidad que el cultivar 'Perla de Cuba'. No obstante, se necesitarían otros parámetros e índices de tolerancia en diferentes estadios del desarrollo para hacer una clasificación final con respecto a la respuesta ante el estrés salino.

El pretratamiento de las semillas con DI-31 no tuvo efecto sobre la mayoría de los parámetros estudiados aunque mejoró la germinación del cultivar ‘Perla de Cuba’ en condiciones de estrés. Esto puede indicar que la germinación de cultivares susceptibles al estrés puede mejorar con el tratamiento de las semillas con DI-31.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de Frank Becerra Miranda, productor de semillas en la Finca “La perseverante”, Aguada de Pasajeros, Cienfuegos, por facilitarnos las semillas de arroz utilizado en el estudio. Los resultados de la presente investigación forman parte del proyecto PN223LH010-059 “Fundamentos fisiológicos de la productividad de cultivares cubanos de arroz” el cual recibió fondos de la OFGPI.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

A. Vázquez-Glaría y Loiret FG concibieron la idea de la investigación. A. Vázquez-Glaría redactó la primera versión del manuscrito. A. Vázquez-Glaría, Loiret FG, A. Duvergel-Terry desarrollaron la metodología y participaron en la redacción, edición y revisión del manuscrito.

CUMPLIMIENTO DE NORMAS ÉTICAS

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Aprobación de ética: Todos los autores han llevado a cabo el trabajo de laboratorio y de campo y la generación de datos de forma ética.

Consentimiento para la publicación: Todos los autores han dado su consentimiento para publicar este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agathokleous, E., Kitao, M. & Calabrese, E.J. 2019. Hormesis: a compelling platform for sophisticated plant science. *Trend Pl. Sci.* 24(4): 318–327. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004>

Akram, S., Siddiqui, M., Hussain, B., Abdullah, A.B., Mostofa, M., Hossain, M. & Tran, L. 2017. Exogenous glutathione modulates salinity tolerance of soybean [*Glycine Max* (L.) Merrill] at reproductive stage. *J. Pl Growth Regulat.* 36(4): 877-88. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9691-9>

Anuradha, S. & Rao, S. 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Pl. Growth Regulat.* 33: 151-153. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1017590108484>

Balkan, A., Genctan, T., & Bilgin, O. 2015. Response of rice (*Oryza sativa* L.) to salinity stress at germination and early seedling stages. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 52(2): 453–459.

Bewley, J.D. & Black, M. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Springer Science+Business Media. New York, USA. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1002-8>

Bewley, J. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell.* 9(7): 1055–1066. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>

Chen, X., Zhang, R., Xing, Y., Jiang, B., Li, B., Xu, X. & Zhou, Y. 2021. The efficacy of different seed priming agents for promoting sorghum germination under salt stress. *PLoS ONE.* 16(1): e0245505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245505>

Cheng, J., Wang, L., Zeng, P., He, Y., Zhou, R., Zhang, H., & Wang, Z. 2017. Identification of genes involved in rice seed priming in the early imbibition stage. *Pl. Biol. (Stuttgart).* 19(1): 61–69. <https://doi.org/10.1111/plb.12438>

Das, T., Shukla, Y.M., Poonia, T.C., Meena, M., & Meena, M.D. 2013. Effects of brassinolide on physiological characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) with different salinity levels. *Ann. Biol. (New Delhi).* 29(2): 228–231.

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2020 [actualización continua]. InfoStat. <https://www.infostat.com.ar>. 20 de septiembre de 2020

Divi, U.K. & Krishna, P. 2009. Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. *New Biotechnology.* 26(3/4): 131-36. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.07.006>

Finch-Savage, W. & Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171(3): 501-523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>

Fogliatto, S., Serra, F., Patrucco, L., Milan, M. & Vidotto, F. 2019. Effect of different water salinity levels on the germination of imazamox-resistant and sensitive weedy rice and cultivated rice. *Agronomy* 9(10): 658. <https://doi.org/10.3390/agronomy9100658>

Ganie, S., Molla, K., Henry, R., Bhat, K. & Tapan K. 2019. Advances in understanding salt tolerance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 132(4): 851-870. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03301-8>

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M., Ahmad, P., Chandna, R., Prasad, M. & Munir O. 2013. Enhancing plant productivity under salt stress: relevance of poly-pmics. En: Ahmad, P., Azooz, M. & Prasad, M. (Eds.). Salt Stress in Plants. Signalling, omics and adaptations. Springer. New York. Pp. 113-156. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6108-1_6

Hua-long, L., Han-jing, S., Jing-guo, W., Yang, L., De-tang, Z., & Hong-wei, Z. 2014. ScienceDirect Effect of Seed Soaking with Exogenous Proline on Seed Germination of Rice under Salt Stress. *J. N. E. Agric. Univ.* 21(3): 1–6. [https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(14\)60062-3](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(14)60062-3)

Hussain, S., Zhang, J., Chu, Z., Lian-Feng, Z., Xiao-Chuang, C., Sheng-Miao, Y., Bohr, J., Ji-Jie, H., & Qian-Yu, J. 2017. Effects of salt stress on rice growth, development characteristics, and the regulating ways: A review. *Journal of Integrative Agriculture* 16(11): 2357-2374. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61608-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61608-8)

ISTA Certificates. International Rules for Seed Testing. 2022. 1: i-1-14. <https://doi.org/10.15258/istarules.2022.01>

Jirakajornjaritkul, C., Srisaad, K., & Khaengkhan, P. 2021. Changes in germination of the aged rice seeds after priming with rice bran, husks, brassinosteroids and chitosan. *International Journal of Agricultural Technology.* 17(3): 871-882

Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., Rafiee, S. & Khomeiri, M. 2007. Study of hydration kinetics and density changes of rice (Tarom Mahali) during hydrothermal processing. *Journal of Food Engineering.* 79(4): 1383-1390. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.019>

Li, R., Chaicherdsakul, T., Kunathigan, V., Roytrakul, S., Paemane, A. & Kittisenachai S. 2020. Shotgun proteomic analysis of germinated rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Applied Science and Engineering Progress* 13(1): 76-85. <https://doi.org/10.14416/j.ijast.2018.12.001>

Liu, L., Xia, W., Li, H., Zeng, H., Wei, B., Han, S., & Yin, C. 2018. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers Pl. Sci.* 9(275): 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00275>

- Munns, R. & Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Rev. Pl. Biol.* 59(1): 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Núñez Vázquez, M., Reyes Guerrero, Y., Rosabal Ayan, L., Martínez L., González Cepero, M.C. & Pieters, A. 2013. Brasinoesteroides y sus análogos estimulan el crecimiento de plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. *Cultivos Tropicales*. 34 (1): <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v34n1/ctr11113.pdf>
- Núñez Vázquez, M., Pérez Domínguez, G., Martínez González, L., Reyes Guerrero, Y. & Coll García, Y. 2016. Análogos espirosteroides de brasinoesteroides estimulan el crecimiento de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. INCA LP-7 sometidas a estrés por NaCl. *Cultivos Tropicales*. 37(4): 152–159. DOI: 10.13140/RG.2.2.13952.64006
- ONEI 2022. Medio Ambiente. Pp. 7–62. En: Oficina Nacional de Estadística e Información (ed.). Anuario Estadístico de Cuba. La Habana, Cuba.
- Pérez, N. & Castro, R.I. 2000. New Short Cycle Rice Variety: 'INCA LP-5'. *Cultivos Tropicales* 21(4): 55. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193230160011>
- Prakash, C., Mithra, S., Singh, P., Mohapatra, T., & Singh, N. 2016. Unraveling the molecular basis of oxidative stress management in a drought tolerant rice genotype Nagina 22. *B.M.C. Genomics*. 17(774): 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3131-2>
- Rahman, A., Nahar, K., Al Mahmud, J., Hasanuzzaman, M., Hossain, M. & Fujita, M. 2017. Salt stress tolerance in rice: Emerging role of exogenous phytoprotectants. Pp. 139–174. En: Li, J. (ed.) *Advances in International Rice Research*, InTech, South China Agricultural University. China. <https://doi.org/10.5772/67098>
- Ranal, M. & de Santana, D. 2006. How and why to measure the germination process. *Brazil. J. Bot.* 29(1):1–11. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>
- Riaz, M., Arif, M., Ashraf, M., Mahmood, R., Yasmeen, T., Shakoore, M., Shahzad, S., Ali, M., Saleem, I., Arif, M. & Fahad, S. 2019. A comprehensive review on rice responses and tolerance to salt stress. Pp. 133-158. En: Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Nahar, K. & Biswas, J.K. (Eds.). *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814332-2.00007-1>
- Sairam, R.K. & Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.* 86(3): 407-421. <https://www.jstor.org/stable/24108735>
- Saman, P., Vázquez, J. & Pandiella, S. 2008. Controlled germination to enhance the functional properties of rice. *Process Biochem.* 43(12): 1377-1382. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.08.007>
- Schneider, C., Rasband, W. & Eliceiri, K. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature, Meth.* 9: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Shereen, A., Ansari, R., Raza, S., Mumtaz, S., Khan, M. & Khan, M. 2011. Salinity induced metabolic changes in rice (*Oryza sativa* L.) seeds during germination. *Pakistan Journal of Botany*. 43(3): 1659–1661. http://www.pakbs.org/pjbot/paper_details.php?id=2816
- Uçarlı, C. 2021. Effects of salinity on seed germination and early seedling stage. En: Fahad, S., Saud, S., Chen, Y. Wu, C. & Wang, D. (Eds.) *Abiotic Stress in Plants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93647>
- Vázquez-Glaría, A., Duvergel-Terry, A, Ortega-Rodés, P, , Ortega, E. Coll, Y & FG, L. 2019. El análogo de brasinoesteroides DI-31 varía la arquitectura de la raíz en los cultivares de interés INCA LP-5 y Perla de Cuba de *Oryza sativa* L. (Poaceae). *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*. 7(2),1-8.
- Vibhuti, C., Shahi, C., Bargali, K., & Bargali, S. 2015. Seed germination and seedling growth parameters of rice (*Oryza sativa* L.) varieties as affected by salt and water stress. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*. 85(1): 102-108. <https://doi.org/10.56093/ijas.v85i1.46046>
- Villalobos, F. & Fereres, E. (ed.). 2016. Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46116-8>
- Yang, H., Ji, J., Wang, C., Zhang, L., Wang, X., Song, P. & Song, P. 2019. Micro-nondestructive detection of the moisture and ion of rice seeds during germination under salt stress. *International Journal of Agricultural and Engineering*. 12(2):103-110. <https://www.ijabe.org/index.php/ijabe/article/view/4245/pdf>
- Yang, P., Li, X., Wang, X., Chen, H., Chen, F. & Shen, S. 2007. Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa* L.) seeds during germination. *Proteomics* 7(18): 3358-3368. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700207>
- Yousof, F. I. 2013. Effect of rice seed priming with calcium chloride (CaCl₂) on germination and seedlings vigor under salinity stress. *Journal of Plant Production J. Plant Production* 4(4): 523–535. <https://doi.org/10.21608/jpp.2013.72394>
- Xu, E., Chen, M., He, H., Zhan, C., Cheng, Y., Zhang, H. & Wang, Z. 2017. Proteomic analysis reveals proteins involved in seed imbibition under salt stress in rice. *Frontiers Pl. Sci.* 7, 2006: 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02006>

ANEXOS

Anexo 1

Parámetros de la germinación de dos cultivares cubanos de arroz 'INCALP-5' y 'Perla de Cuba' (media ± DE) n=4. Los asteriscos muestran las diferencias significativas entre los tratamientos cultivar, sal (NaCl), análogo de brasinoesteroide (DI-31) y sus interacciones según ANOVA trifactorial para cada parámetro ($p < 0,05 * 0,01 **$). Letras diferentes representan diferencias entre las medias según Tukey ($p < 0,05$). PG24: Porcentaje de germinación a las 24 h; PG48: Porcentaje de germinación a las 48 h; PG72: Porcentaje de germinación a las 72 h; IE24: Índice de emergencia a las 24 h; IE48: Índice de emergencia a las 48 h; Z: Sincronía, TM: Tiempo medio de la germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de la germinación; TG: Tasa de germinación.

Annex 1

Germination parameters of two Cuban rice cultivars 'INCALP-5' and 'Perla de Cuba' (mean ± SD) n=4. The asterisks show the significant differences between the cultivar, salt (NaCl), brassinosteroid analogue (DI-31) treatments and their interactions according to three-way ANOVA for each parameter ($p < 0.05 * 0.01 **$). Different letters represent differences between the means according to Tukey ($p < 0.05$). PG24: Percentage of germination at 24 h; PG48: Percentage of germination at 48 h; PG72: Percentage of germination at 72 h; IE24: 24-h emergency index; IE48: 48-h emergency index; Z: Synchrony, TM: Mean germination time; CVG: germination speed coefficient; TG: Germination rate.

| Parámetro | Variedad | DI-31 (10 ⁻³ mol L ⁻¹) | | | | | | | | | | Efecto de los factores |
|---------------------------------|---------------|---|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | NaCl (0 mmol L ⁻¹) | NaCl (25 mmol L ⁻¹) | NaCl (50 mmol L ⁻¹) | NaCl (100 mmol L ⁻¹) | NaCl (0 mmol L ⁻¹) | NaCl (25 mmol L ⁻¹) | NaCl (50 mmol L ⁻¹) | NaCl (100 mmol L ⁻¹) | NaCl (25 mmol L ⁻¹) | NaCl (50 mmol L ⁻¹) | |
| PG24 (%) | INCALP-5 | 72,0 ± 0,0 ab | 58,0 ± 5,9 abc | 41,0 ± 6,2 cd | 10,0 ± 5,1 ef | 79,0 ± 5,4 a | 65,0 ± 11,3 abc | 45,0 ± 7,0 bcd | 25,0 ± 4,6 de | | | CV**, BR**, NaCl**, CV x BR** |
| | Perla de Cuba | 53,0 ± 7,9 abcd | 42,0 ± 4,8 cd | 11,0 ± 3,6 ef | 0,00 ± 0,0 f | 72,0 ± 3,5 ab | 59,0 ± 6,2 abc | 50,0 ± 10,4 bcd | 11,0 ± 2,7 ef | | | |
| PG48 (%) | INCALP-5 | 100 ± 7,6 a | 100 ± 0,0 a | 99,0 ± 10,3 a | 98,0 ± 2,7 a | 97,0 ± 10,3 ab | 100 ± 0,3 a | 99,0 ± 7,6 a | 97,0 ± 12,0 a | | | BR**, NaCl**BR x NaCl** |
| | Perla de Cuba | 100 ± 0,0 a | 100 ± 0,0 a | 94,0 ± 14,0 ab | 81,0 ± 11,4 b | 99,0 ± 0,0 a | 100 ± 0,0 a | 97,0 ± 7,2 ab | 94,0 ± 10,1 ab | | | |
| PG72 (%) | INCALP-5 | 100 ± 7,6 a | 100 ± 0,0 a | 99,0 ± 10,3 a | 99,0 ± 10,3 a | 98,0 ± 8,7 ab | 100 ± 0,3 a | 99,0 ± 7,6 a | 98,0 ± 10,0 a | | | BR*, NaCl**BR x NaCl* |
| | Perla de Cuba | 100 ± 0,0 a | 100 ± 0,0 a | 97,0 ± 10,4 ab | 88,0 ± 8,8 b | 99,0 ± 0,0 a | 100 ± 0,0 a | 97,0 ± 7,2 ab | 97,0 ± 7,6 ab | | | |
| IE24 (semilla h ⁻¹) | INCALP-5 | 17,5 ± 0,3 ab | 14,1 ± 2,4 abcd | 12,4 ± 2,5 bcde | 2,88 ± 0,4 f | 19,3 ± 1,6 a | 15,4 ± 4,4 abcd | 10,9 ± 2,0 cde | 6,14 ± 1,7 ef | | | CV**, NaCl**BR**, CV x BR** |
| | Perla de Cuba | 12,7 ± 2,7 bcd | 10,0 ± 1,9 de | 2,78 ± 0,2 f | 0,00 ± 0,0 f | 17,2 ± 1,3 abc | 13,9 ± 2,5 abcd | 9,95 ± 2,9 de | 2,47 ± 1,7 f | | | |
| IE48 (semilla h ⁻¹) | INCALP-5 | 13,0 ± 0,7 e | 19,6 ± 4,8 def | 23,0 ± 5,0 cde | 41,1 ± 3,2 ab | 8,72 ± 2,4 f | 17,0 ± 8,9 def | 26,1 ± 6,0 cde | 35,1 ± 4,0 abc | | | CV**, NaCl** BR** |
| | Perla de Cuba | 22,5 ± 7,4 cde | 27,8 ± 3,9 bcd | 40,8 ± 6,6 ab | 43,8 ± 4,6 a | 13,4 ± 2,7 ef | 20,1 ± 5,1 def | 28,1 ± 7,9 bcd | 42,5 ± 4,1 a | | | |
| Z | INCALP-5 | 0,59 ± 0,01 bcde | 0,51 ± 0,04 de | 0,50 ± 0,02 e | 0,74 ± 0,09 abcd | 0,68 ± 0,09 abcde | 0,58 ± 0,09 bcde | 0,51 ± 0,04 de | 0,60 ± 0,09bcde | | | NaCl**, CV x BR**NaCl x BR** |
| | Perla de Cuba | 0,51 ± 0,02 cde | 0,50 ± 0,02 e | 0,75 ± 0,19 abc | 0,85 ± 0,15 a | 0,59 ± 0,04 bcde | 0,51 ± 0,04 de | 0,54 ± 0,10 cde | 0,79 ± 0,14 ab | | | |
| TM (h) | INCALP-5 | 30,5 ± 0,3 fg | 33,8 ± 2,4 defg | 35,5 ± 2,5 def | 46,0 ± 1,3ab | 28,8 ± 2,0 g | 32,5 ± 4,4 defg | 37,0 ± 3,0 cde | 42,1 ± 1,5 bc | | | CV**, NaCl** BR**, CV x BR** |
| | Perla de Cuba | 35,2 ± 3,7 defg | 37,9 ± 1,9 cd | 45,9 ± 1,5 ab | 50,0 ± 2,3 a | 30,7 ± 1,3 efg | 34,0 ± 2,5 defg | 38,0 ± 3,9 cd | 45,7 ± 1,4 ab | | | |
| CVG (%G) | INCALP-5 | 3,27 ± 0,0 ab | 2,97 ± 0,2 bc | 2,82 ± 0,2 bcd | 2,17 ± 0,1 ef | 3,48 ± 0,2 a | 3,12 ± 0,4 abc | 2,71 ± 0,2 cd | 2,38 ± 0,1 def | | | CV**, NaCl** BR**, CV x BR* |
| | Perla de Cuba | 2,86 ± 0,3 bcd | 2,64 ± 0,1 cde | 2,17 ± 0,1 ef | 1,99 ± 0,8 f | 3,26 ± 0,1 ab | 2,95 ± 0,2 bc | 2,65 ± 0,2 cde | 2,18 ± 0,1 ef | | | |
| TG (% día ⁻¹) | INCALP-5 | 0,89 ± 0,01 abc | 0,83 ± 0,05 abcd | 0,78 ± 0,05 bcd | 0,66 ± 0,04 fg | 0,93 ± 0,03 a | 0,83 ± 0,05 abcd | 0,75 ± 0,05 de | 0,63 ± 0,03 ef | | | CV**, NaCl** BR**, CV x BR** |
| | Perla de Cuba | 0,80 ± 0,08 abcd | 0,73 ± 0,08 de | 0,55 ± 0,04 fg | 0,44 ± 0,04 g | 0,90 ± 0,02 ab | 0,82 ± 0,05 abcd | 0,76 ± 0,06 cde | 0,56 ± 0,02 fg | | | |

ANEXOS

Anexo 2. Parámetros del crecimiento de dos cultivares cubanos de arroz 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' (media ± DE) n=6. Los asteriscos muestran las diferencias significativas entre los tratamientos cultivar, sal (NaCl), análogo de brasiosteroides (DI-31) y sus interacciones según ANOVA trifactorial para cada parámetro ($p < 0,05^*$, $0,01^{**}$). Letras diferentes representan diferencias entre las medias según Tukey ($p < 0,05$). MFR: Peso fresco de la raíz; MFT: Peso fresco del tallo; MSR: Peso seco de la raíz, MST: Peso seco del tallo.

Annex 2. Growth parameters of two Cuban rice cultivars 'INCA LP-5' and 'Perla de Cuba' (mean ± SD) n=6. Asterisks show significant differences between treatments cultivar, salt (NaCl), brassinosteroid analogue (DI-31) and their interactions according to three-way ANOVA for each parameter ($p < 0,05^*$, $0,01^{**}$). Different letters represent differences between the means according to Tukey ($p < 0,05$). MFR: Root fresh weight, MFT: Stem fresh weight, MSR : Dry weight of the root, MST: Dry weight of the stem.

| Parámetros del crecimiento temprano | Cultivar | DI-31 (0 mol L ⁻¹) | | | | | DI-31 (10 ⁻⁶ mol L ⁻¹) | | | | | Efecto de los factores |
|-------------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---|---------------------------------|---------------------------------|--|----------------------------------|------------------------|
| | | NaCl (0 mmol L ⁻¹) | NaCl (25 mmol L ⁻¹) | NaCl (50 mmol L ⁻¹) | NaCl (100 mmol L ⁻¹) | NaCl (250 mmol L ⁻¹) | NaCl (0 mmol L ⁻¹) | NaCl (25 mmol L ⁻¹) | NaCl (50 mmol L ⁻¹) | NaCl (100 mmol L ⁻¹) | NaCl (250 mmol L ⁻¹) | |
| MFR (mg) | INCA LP-5 | 30,0 ± 9,1 gh | 70,8 ± 11,1 ab | 70,6 ± 9,5 ab | 44,4 ± 8,3 efgh | 32,7 ± 9,65 fgh | 64,2 ± 4,9 abc | 64,7 ± 5,7 abc | 48,9 ± 4,9 cdef | NaCl **, CV x NaCl *BR x NaCl** | | |
| | Perla de Cuba | 24,3 ± 4,9 h | 66,2 ± 9,1 abc | 75,2 ± 9,3 a | 37,9 ± 3,7 efgh | 48,7 ± 6,4 cdefg | 67,3 ± 10,0 ab | 59,9 ± 6,5 abcd | 41,7 ± 4,2 defg | | | |
| MFT (mg) | INCA LP-5 | 154 ± 8,5 bc | 164 ± 10,8 bc | 141 ± 14,6 c | 105 ± 5,7 d | 203 ± 14,1 a | 162 ± 12,6 bc | 152 ± 11,4 bc | 109 ± 4,5 d | BR **, NaCl **, CV x BR*, BR x NaCl*, CV x NaCl x BR** | | |
| | Perla de Cuba | 162 ± 12,8 bc | 171 ± 19,8 b | 139 ± 8,8 | 109 ± 4,5 d | 166 ± 12,2 b | 162 ± 7,9 bc | 154 ± 9,2 bc | 111 ± 8,9 d | | | |
| MSR (mg) | INCA LP-5 | 7,75 ± 1,3 abc | 8,76 ± 0,7 abc | 9,05 ± 0,3 ab | 4,96 ± 0, e | 7,56 ± 0,3 bc | 9,35 ± 1,1 a | 8,36 ± 0,6 abc | 4,91 ± 0,3 e | CV*, NaCl**, CV x NaCl* BR x NaCl** | | |
| | Perla de Cuba | 5,86 ± 1,1 de | 8,68 ± 0,4 abc | 9,22 ± 0,3 ab | 5,33 ± 0,8 e | 7,14 ± 0,5 cd | 9,07 ± 0,80 ab | 7,71 ± 0,8 bc | 5,05 ± 0,8 e | | | |
| MST (mg) | INCA LP-5 | 21,6 ± 4,3 abc | 20,9 ± 1,5 abc | 18,3 ± 1,4 bc | 11,4 ± 0,4 d | 22,6 ± 1,4 ab | 21,4 ± 1,4 abc | 19,1 ± 1,1 abc | 11,7 ± 0,8 d | NaCl**, CV x NaCl x BR* | | |
| | Perla de Cuba | 23,3 ± 2,3 a | 20,8 ± 1,9 abc | 17,5 ± 1,2 c | 10,4 ± 0,45 d | 20,8 ± 1,3 abc | 20,9 ± 1,1 abc | 20,8 ± 2,4 abc | 11,6 ± 1,0 d | | | |
| MST/MSR | INCA LP-5 | 2,80 ± 0,5 bc | 2,35 ± 0,1 bcde | 2,02 ± 0,2 cde | 2,37 ± 0,4 bcde | 3,02 ± 0,2 b | 2,33 ± 0,9 bcde | 2,30 ± 0,2 bcde | 2,35 ± 0,6 bcde | NaCl**, CV x NaCl** BR x NaCl** | | |
| | Perla de Cuba | 4,07 ± 0,7 a | 2,40 ± 0,2 bcde | 1,91 ± 0,2 e | 2,00 ± 0,3 de | 2,90 ± 0,2 b | 2,33 ± 0,2 bcde | 2,74 ± 0,6 bcd | 2,38 ± 0,4 bcde | CV x NaCl x BR* | | |