

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**RELACION ENTRE CAPACIDAD DE ESTABLECIMIENTO Y GERMINACIÓN
BAJO ESTRÉS OSMÓTICO EN PASTO BANDERITA (*Bouteloua
curtipendula*)**

POR:

I.E. CARLOS GUSTAVO MONZÓN BURGOS

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAestrÍA EN CIENCIA

ÁREA MAYOR: RECURSOS NATURALES

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

MARZO DE 2022



Relación entre capacidad de establecimiento y germinación bajo estrés osmótico en pasto banderita (Bouteloua curtipendula). Tesis presentada por Carlos Gustavo Monzón Burgos como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias, ha sido aprobada y aceptada por:

Ph.D. Carlos Ortega Ochoa
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

D.Ph. Agustín Corral Luna
Secretario de Investigación y Posgrado

Ph.D. Iván Adrián García Galicia
Coordinador Académico

Dr. Carlos Raúl Morales Nieto
Presidente

Marzo 29 del 2022.

Fecha

Comité:
D.Ph. Alan Álvarez Holguín.
D.Ph. Raúl Corrales Lerma.
Dr. Guadalupe Nelson Aguilar
Palma.

AUTOR: CARLOS GUSTAVO
MONZON BURGOS
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA KM.1,
CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO
C.P. 31453

MARZO 2022

AGRADECIMIENTOS

A Dios por las oportunidades y personas que ha puesto en mi camino.

A mi madre Martha Burgos por el apoyo, motivación e insistirme en mejorar día con día.

A mis Hermanos y primos por su apoyo a distancia que, aunque estuvieron lejos, siempre estuvieron al pendiente de cómo iba el progreso de esta gran meta.

A I.E. Fátima González por su apoyo y motivarme a salir adelante.

Al M.C. Gustavo Quintana Martínez por su gran apoyo y orientación. Además de su disposición, por compartir su conocimiento y experiencias sobre las gramíneas.

A la Dra. Alicia Melgoza Castillo por su orientación y motivación de salir adelante

A mis amigos que estuvieron en el proceso de este viaje; M.C. Jesús Ochoa y M.V.Z. Pamela Hernández, por sus consejos y apoyo.

A mis compañeros del posgrado por sus apoyo y enseñanzas sobre temas desconocidos, en especial a I. E. Iván Grijalva.

A D. Ph. Alan Álvarez Holguín y D. Ph. Raúl Corrales Lerma, por sus consejos, que me han servido para un cambio de bien en mi persona.

Al Dr. Carlos Raúl Morales Nieto por su dedicación y paciencia al compartir sus conocimientos, palabras de motivación y todo el apoyo que me ha brindado.

Al CONACYT por el apoyo económico brindado.

DEDICATORIA

A mi Familia

A mis Amigos

A mis Maestros

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 19 de febrero de 1994 en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México.

2013 - 2018 Estudios de licenciatura en la carrera de Ingeniero en Ecología, egresado de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH.

2020 - 2021 Estudiante de maestría en ciencias con área mayor en Recursos Naturales y línea de investigación de Manejo y Mejoramiento de Pastizales.

Miembro del Colegio de Ingenieros en Ecología del estado de Chihuahua.

Miembro de la Sociedad Mexicana de Manejo de Pastizales.

RESUMEN

RELACIÓN ENTRE CAPACIDAD DE ESTABLECIMIENTO Y GERMINACIÓN
BAJO ESTRÉS OSMÓTICO EN PASTO BANDERITA (*Bouteloua curtipendula*)

POR:

I. E. CARLOS GUSTAVO MONZÓN BURGOS

Maestría en Ciencias en Recursos Naturales

Secretaria de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

En los últimos años se ha realizado programas de selección de genotipos de pastos con base en la resistencia al estrés osmótico durante la germinación. No obstante, existe poca información sobre la relación entre la resistencia al estrés osmótico y la capacidad de establecimiento en campo. Por esta razón, se evaluó la relación entre la capacidad de establecimiento en campo y la resistencia a estrés osmótico de seis genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*). La capacidad de establecimiento en campo se evaluó en dos localidades y durante dos años, a través de la emergencia (30 d después de la siembra), establecimiento (al final de la temporada de crecimiento) y la sobrevivencia (15 meses después de la siembra). La resistencia al estrés osmótico fue evaluada en cuatro potenciales osmóticos 0, -0.5, -1.0 y -1.5 MPa. Esta evaluación se realizó en cámaras de crecimiento, donde se cuantificó el porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, longitud de radícula y longitud de plúmula, densidad estomática y área estomática. Los genotipos de pasto banderita mostraron diferencias ($p < 0.05$) en

todas las variables evaluadas en campo y laboratorio. Además, la sobrevivencia en campo se relacionó significativamente ($p < 0.05$) con porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, densidad estomática y área estomática bajo estrés osmótico. Los resultados de este estudio sugieren que la resistencia al estrés osmótico en la etapa de germinación puede ser considerada como un criterio para seleccionar genotipos de pasto banderita de alta capacidad de establecimiento en campo.

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN ESTABLISHMENT CAPACITY AND GERMINATION UNDER OSMOTIC STRESS IN SIDEOATS GRAMA GRASS

(Bouteloua curtipendula)

BY:

CARLOS GUSTAVO MONZÓN BURGOS

In recent years, grass genotype selection programs have been carried out based on resistance to osmotic stress during germination. However, there is little information on the relationship between resistance to osmotic stress and field establishment capacity. For this reason, the relationship between establishment capacity in the field and resistance to osmotic stress of six outstanding genotypes of sideoats grama (*Bouteloua curtipendula*) was evaluated. The establishment capacity in the field was evaluated in two locations and during two years, through emergence (30 d after sowing), establishment (at the end of the growing season) and survival (15 months after sowing). The resistance to osmotic stress was evaluated in four osmotic potentials 0, -0.5, -1.0 and -1.5 MPa. This evaluation was carried out in growth chambers, where the germination percentage, germination speed index, radicle length and plumule length, stomatal density and stomatal area were quantified. The sideoats grama genotypes showed differences ($p < 0.05$) in all the variables evaluated in the field and laboratory. In addition, field survival was significantly ($p < 0.05$) related to germination percentage, germination rate index, stomatal density, and stomatal area under osmotic stress. The results of this study suggest that resistance to osmotic stress

in the germination stage can be considered as a criterion to select sideoats grama grass genotypes with high establishment capacity in the field.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE GRÁFICAS.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Situación de los Ecosistemas de Pastizales	3
Implicaciones en la Revegetación de Pastizales	4
Problemas en el establecimiento	5
Alternativas para mejorar establecimiento.....	6
Importancia de utilizar plantas nativas.....	6
Identificación de Genotipos.....	7
Pasto Banderita	7
Distribución de poblaciones de pasto banderita.....	8
Caracterización Estomática.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
LITERATURA CITADA.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Distribución y origen de los genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) utilizados en este estudio..	15

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pagina
1	Ubicación y características ambientales de los sitios de colecta de genotipos de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), evaluados en este estudio.....	15
2	Porcentaje de disminución de la germinación de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), bajo diferentes niveles osmóticos.....	29
3	Porcentaje de disminución del índice de velocidad de germinación de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), bajo diferentes niveles osmóticos....	30
4	Porcentaje de disminución de la longitud de plúmula de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), bajo diferentes niveles osmóticos.....	34
5	Porcentaje de disminución de la longitud de radícula de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), bajo diferentes niveles osmóticos.....	37
6	Comportamiento del área estomática y densidad estomática de genotipos sobresalientes (medias \pm error estándar) de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) bajo diferentes niveles de presión osmótica.....	40

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Pagina
1	Comportamiento de la precipitación en los dos años de evaluación en el Campo Experimental La Campana, Chihuahua (A) y el Campo Experimental Valle de Guadiana, Durango (B).....	14
2	Emergencia, establecimiento y sobrevivencia de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) sembrados en el estado de Chihuahua.....	22
3	Emergencia, establecimiento y sobrevivencia de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) sembrados en el estado de Durango, México.....	23
4	Porcentaje de germinación (A) e índice de velocidad de germinación (B) de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>), bajo diferentes niveles osmóticos.....	28
5	Comportamiento de la longitud de plúmula (A) y longitud de radícula (B) de genotipos sobresalientes de pasto banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) a diferentes niveles osmóticos.....	33
6	Correlación del porcentaje de sobrevivencia con la reducción de la geminación, índice de velocidad de germinación y reducción del índice de velocidad de germinación de genotipos sobresalientes de pastos banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) en Chihuahua (A, B, C) y Durango (D, E, F).....	37
7	Correlación del porcentaje de sobrevivencia con densidad y área estomática de genotipos sobresalientes de pastos banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>) al nivel osmótico de -0.5 MPa para Chihuahua (A, B) y Durango (C, D).....	45

INTRODUCCIÓN

Los pastizales ocupan alrededor del 37 % de la superficie terrestre del planeta (O'Mara, 2012). No obstante, alrededor de 680 millones de hectáreas de estos ecosistemas se encuentran deterioradas (Padilla y Sardiñas, 2005). Lo anterior es un problema de importancia mundial debido a que los pastizales proveen importantes servicios ecosistémicos, como son el secuestro de carbono, control de erosión y producción animal (O'Mara, 2012). Por esta razón, la implementación de programas de restauración de pastizales se ha intensificado en los últimos años a nivel mundial (Lewandrowski *et al.*, 2017). Sin embargo, la mayoría de estos programas han fracasado, debido a la baja capacidad de establecimiento que tienen la mayoría de las especies de pastos (James *et al.*, 2011; Larson *et al.*, 2015; Lewandrowski *et al.*, 2017).

La germinación y el desarrollo de plántula son factores determinantes para el establecimiento de pastos, debido a que durante estas etapas las plantas son más susceptibles al estrés (Almansouri *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2011). El estrés hídrico inhibe la germinación y el desarrollo de las plántulas y, por lo tanto, afecta al establecimiento de las plantas (Larson *et al.*, 2015; Merino-Martín *et al.*, 2017). En este sentido, los programas de restauración de pastizales demandan el diseño de estrategias de germinación para seleccionar especies o genotipos con mayores probabilidades de sobrevivir en condiciones de campo (Mummey *et al.*, 2016; Pedrini *et al.*, 2019).

Estudios previos han utilizado agentes químicos para inhibir el potencial osmótico y simular las condiciones de estrés hídrico *in vitro*, debido a que la germinación en laboratorio generalmente se correlaciona positivamente con la

emergencia en campo (Zang *et al.*, 2019). Algunas de estas simulaciones han sido realizadas con la finalidad de seleccionar especies o genotipos de pastos que puedan ser utilizados para restauración de pastizales. Por ejemplo, Sheikh-Mohamadi *et al.* (2018) evaluaron la germinación y desarrollo de plántulas de 20 genotipos de tres especies del género *Agropyron* para seleccionar materiales sobresalientes. Seepaul *et al.* (2012) analizaron el efecto del estrés osmótico sobre la germinación de cuatro genotipos de switchgrass (*Panicum virgatum*).

El pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) es una de las especies más utilizadas en restauración de pastizales en el sur de Estados Unidos y norte de México. Por esta razón, los efectos del estrés osmótico han sido previamente estudiados en esta especie, a través de experimentos en laboratorio. Biligetu *et al.* (2011) reportaron que el pasto banderita puede germinar en potenciales osmóticos de hasta -1.2 MPa. No obstante, Qi y Redmann (1993) evaluaron la germinación y supervivencia de plántulas de este pasto y encontraron que presenta una alta mortalidad bajo condiciones de estrés osmótico. De igual manera, Álvarez-Holguín *et al.* (2017) encontraron que la germinación y desarrollo de plántula bajo condiciones de estrés osmótico puede variar entre genotipos de esta especie. Los resultados de estos estudios sugieren que la capacidad de germinación y desarrollo de plántula bajo estrés osmótico pueden ser utilizados como criterios para seleccionar genotipos de pasto banderita. Sin embargo, se desconoce si realmente existe una relación entre estos parámetros y la capacidad de establecimiento en campo. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre la capacidad de

establecimiento en campo y la resistencia al estrés osmótico durante la germinación en pasto banderita.

REVISIÓN DE LITERATURA

Situación de los Ecosistemas de Pastizales

Los ecosistemas de pastizal representan el 37 % de la superficie del planeta, sin contar los territorios de Groenlandia y la Antártica (O'Mara, 2012). Estos ecosistemas están dominados por gramíneas y otra vegetación que provee bienes y servicios como alimentos, protección para la fauna, captura de carbono, cosecha de agua, entre otros. El 6.1 % de la superficie terrestre en México son de pastizales (Rzedowski, 2006). Estos se han visto deteriorados en su mayor parte por pastoreo extensivo, urbanización creación de carreteras, y la apertura de tierras para la agricultura (SEMARNAT, 2015). Por lo anterior, se tienen problemas como degradación del suelo, pérdida de vegetación, disminución de infiltración de agua a mantos freáticos, perdida de hábitat o refugio para la fauna, poniendo a estos ecosistemas en riesgo. Una alternativa a esta problemática es la restauración mediante establecimiento de gramíneas nativas de la región, adaptadas a las condiciones ambientales. Lo anterior, se complica en el norte de México debido a la poca disponibilidad de semilla de pastos y altos costos para su uso en programas de restauración de pastizales (Sáenz *et al.*, 2015).

Los pastizales tienen un papel importante en la captura de carbono, pero a consecuencia del cambio climático y practicas humanas, estos se han deteriorado de manera significativa en las últimas décadas (Paz-Pellat *et al.*, 2016). Otro problema que afecta a estos ecosistemas es la invasión de especies que desplazan a plantas nativas de importancia económica y ecológica. El resultado es la proliferación de plantas menos deseables de baja gustosidad por

el ganado y fauna silvestre. Además, por su ventaja de dispersión de semilla pueden cubrir grandes superficies en pocos años (Company *et al.*, 2019).

En el estado de Chihuahua el 70 % son tierras donde se practica la ganadería. En estas áreas se encuentran diferentes tipos de vegetación como matorrales, pastizales halófitos y bosque de coníferas (Estrada *et al.*, 2010). La vegetación presente ayuda a mejorar el nicho ecológico de las especies de fauna como aves, reptiles y mamíferos (Scheinvar *et al.*, 2017). Algunas especies de importancia ganadera por su alta gustosidad para el ganado en el norte de México son: pasto navajito (*Bouteloua gracilis*), banderita (*Bouteloua curtipendula*), gigante (*Leptochloa dubia*), punta blanca (*Digitaria californica*) y temprano (*Setaria machrostachya*; Morales y Melgoza, 2010; Quero *et al.*, 2012).

Implicaciones en la Revegetación de Pastizales

La resiembra de pastizales es una práctica que consiste en establecer vegetación a través de la diseminación artificial de semilla, utilizando especies con adaptación al ambiente. La revegetación de áreas de pastizal son una buena alternativa para la mejora del ecosistema. Lo anterior trae como consecuencia obtener recursos de buena calidad tanto de flora como de fauna, mejor infiltración de agua y se evita la erosión del suelo (Tácuna *et al.*, 2015; Schuster *et al.*, 2018). Sin embargo, la resiembra de pastizales es una actividad riesgosa y costosa, ya que el éxito de esta actividad depende de la cantidad y distribución de la precipitación. Los altos costos que representa el realizar una resiembra son debido a los precios de la semilla importada que fluctúan entre los 250 a 650 pesos por kilogramo (Curtis and Curtis Seed, 2022).

Además, es importante realizar una previa preparación de la cama de siembra para facilitar el establecimiento de los pastos, lo cual también implica altos costos. Otro aspecto por considerar al seleccionar una especie para la resiembra es que sea nativa, perenne de vida larga y con buen valor nutricional, así como la selección del área y época de siembra (Tácuna *et al.*, 2015).

Problemas en el establecimiento

Es importante considerar la influencia que tienen la precipitación y la temperatura ambiental en la especie seleccionada. Además, la oscilación térmica incrementa la probabilidad de ocurrencia de entre 14 y 20 grados de diferencia entre las temperaturas máxima y mínima. En la revegetación de pastizales, uno de los aspectos más importantes es el establecimiento, y el uso de algunas especies nativas y perennes con potencial en germinación, emergencia y desarrollo, (Velásquez *et al.*, 2015). Además, se debe tener en cuenta la calidad de la semilla, época de siembra, condiciones del suelo como grado compactación, aeración, nutrientes, pH, entre otros (Villagra *et al.*, 2017).

Para la restauración de un ecosistema existe la opción de realizarla a través de siembra directa o trasplante. Sin embargo, ambas opciones representan un alto costo el realizarlas (Stover *et al.*, 2017). Posada *et al.* (2013) sugieren realizar un programa previo de evaluación y selección de especies a través de un estudio de emergencia y establecimiento de plántulas, lo cual beneficiaría a los programas de restauración y remediación.

Alternativas para mejorar establecimiento

Se han utilizado diferentes alternativas para incrementar establecimiento de pastos en campo como es el uso de micorrizas, con lo cual se puede

incrementar la productividad forrajera en una resiembra (Iokoi, 2004). Otros estudios han utilizado a la mutagénesis como un método para inducir diversidad a través de la irradiación y obtener mutantes con características forrajeras deseables, mayor velocidad de crecimiento, entre otros (Álvarez *et al.*, 2017).

Otro aspecto importante a considerar cuando se realiza una resiembra es el uso de semilla de buena calidad. El éxito de una resiembra depende en gran medida del uso de semilla nueva con alta viabilidad, resultando en una mejor emergencia y establecimiento de la mezcla de las especies utilizadas (Morales, 2016; Lewandrowski *et al.*, 2017). Además, la caracterización morfológica y genética de materiales forrajeros ayuda a identificar genotipos con característica de resistencia a sequía (Morales *et al.*, 2007).

Importancia de utilizar plantas nativas

El utilizar plantas nativas para la restauración de pastizales y realizar un buen manejo del pastoreo, son prácticas recomendadas para lograr una funcionalidad ecológica y mejorar la condición de estos ecosistemas a través del tiempo (Boukhatem *et al.*, 2012). Otro beneficio del uso de plantas nativas es su resistencia a suelos de baja calidad para mantener la estructura y funcionalidad ecológica del hábitat presente (Possley y Maschinski, 2006). El uso de especies nativas puede favorecer el establecimiento, debido a que pueden resistir condiciones adversas presentes en estos ecosistemas, comparado con el uso de especies introducidas. El conservar la mayor diversidad genética nativa y realizar diferimiento en el ecosistema, beneficia a los programas de revegetación (Bischoff *et al.*, 2010).

Identificación de Genotipos

La recolección de ecotipos de gramíneas se ha visto limitada por las condiciones ambientales actuales, debido a que se encuentran cada vez menos poblaciones vegetales. El encontrar una alternativa para la conservación de recursos genéticos, permite obtener genotipos mediante la siembra directa por semilla. Estos programas de mejoramiento genético permiten identificar genotipos con características deseadas (Morales *et al.*, 2016). También, es de gran importancia llevar a cabo evaluaciones *ex situ*, sometiendo a los diferentes ecotipos a las mismas condiciones ambientales para observar y evaluar sus cualidades y comportamiento (Morales *et al.*, 2016).

Otro método para identificar genotipos con características sobresalientes es mediante la utilización de marcadores moleculares que demuestran la diversidad genética en especies de interés (Moreno *et al.*, 2018). Además, las características fenotípicas que se presentan en los genotipos de gramíneas, se deben en gran medida a el efecto del ambiente y la diversidad genética (Mora y Melgarejo, 2010).

Pasto Banderita

El pasto banderita es una gramínea perene de vida larga, con crecimiento de verano, así mismo. Esta gramínea se considera de importancia, debido a que su valor nutricional se mantiene durante sus etapas fenológicas (Schellenberg *et al.*, 2012). Otra ventaja es su buena capacidad de establecimiento y uso en programas de revegetación (Morales y Quero, 2008). El pasto banderita es una gramínea de porte amacollado con raíces ramificadas profundas y un crecimiento fibroso. Esta especie presenta hojas con longitudes de alrededor de 18 cm y 0.5 cm de ancho, con alturas de planta promedio de 80 cm. Además, es tolerante a

plagas, suelos salinos y recomendada para programas de resiembra de pastizales (Beltrán *et al.*, 2013). Muestra buen comportamiento de emergencia en suelos arenosos y arenos arcillosos, pero prefiere suelos de textura franco arenoso y arenoso franco con combinaciones de 20 % máximo de arcilla y mínimo de 50 % de arena (Esqueda *et al.*, 2004). Presenta diferentes formas de reproducción como la sexual, la vegetativa por amacollamiento y estolones y por reproducción apomíctica. Esta última es una forma de reproducción asexual donde existen variaciones en la célula huevo durante la gametogénesis. Este tipo de reproducción es una clonación natural donde la información genética del individuo se mantiene (Brukhin y Baskar, 2019).

Desde el punto de vista nutricional el pasto banderita presenta niveles nutricionales en las diferentes etapas fenológicas que varían en inflorescencia de 3.5 - 7.5 %, en tallos de 2.8 a 5.8 % y en hojas los valores fluctúan entre 7.8 - 14.8 % (Bernal-Flores *et al.*, 2017).

Distribución de poblaciones de pasto banderita

En México esta especie se distribuye de manera natural en una extensión de 548,719 km², localizada en el centro y norte; desde el sureste del estado de Chihuahua hasta la parte norte de Michoacán y Guerrero, en las áreas de pastizal nativo, ubicadas en la altiplanicie mexicana y el eje volcánico transversal. Es notoria la baja presencia de la especie y poca superficie con aptitud ambiental en las áreas bajas y planicies costeras en los litorales del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe. No obstante, se esperan cambios en las áreas con aptitud ambiental para la distribución de esta especie por efecto del cambio climático. De acuerdo con proyecciones realizadas por Martínez *et al.* (2020), las áreas con

aptitud ambiental disminuirán principalmente en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila y en menor medida en pequeñas áreas del centro y sur de México; el incremento previsto en el área con aptitud ambiental se presentará principalmente en el noreste de Chihuahua y en el centro-norte de Coahuila (Martinez *et al.*, 2020).

Caracterización Estomática

Para identificar genotipos con potencial para su uso en zonas áridas es importante la evaluación de sus estomas (Álvarez-Holguín *et al.*, 2018). La densidad y distribución de estomas que mayormente se encuentran en las hojas de las plantas está dada por las condiciones ambientales de temperatura, humedad relativa, velocidad del viento y disponibilidad de agua en suelo (Li *et al.*, 2017). Los estomas se encuentran en la epidermis foliar y las características de tamaño y densidad es diferente o varía de acuerdo a la especie. La estructura de los estomas se encuentra en la parte aérea, ya que así permite el intercambio de gases necesarios para su desarrollo, como son el CO₂, oxígeno, vapor de agua. Los estomas se cierran cuando las condiciones del ambiente son desfavorable para así perder el mínimo de agua de su estructura (Gil Marín *et al.*, 2006).

Las bajas precipitaciones o bajas condiciones de humedad en las zonas áridas y semiáridas son un problema a nivel mundial, donde las plantas están sometidas a estrés constante y muchas veces no completan su ciclo de vida o son desplazadas por otras plantas que logran soportar esas condiciones climáticas. Las plantas requieren de agua para su existencia y desarrollo, por lo cual es de gran importancia la cantidad de estomas y la manera en que se cierran

y abren sus estomas para evitar la pérdida de agua al ser liberada por los mismos (Rico, 1961).

También, la importancia de las estomas radica en que regulan el contenido de agua de la planta y la captura de gases para generar estructuras en su reproducción, todo esto está influenciado por el tamaño y la densidad de estomas, los cuales permitirán a la planta asegurar su sobrevivencia. Cabe mencionar que las plantas de zonas áridas por lo general mantienen sus estomas abiertos para la transpiración de agua, contrario a plantas de lugares muy húmedos que, al estar en suelos con bastante humedad, no necesitan tener los estomas abiertas, ya que la adsorción de agua la llevan a cabo por la parte de las raíces (Ponce, 2012). Por otra parte, el desarrollo de los estomas en los pastos es difieren en contraste a las dicotiledóneas, se ha visto que los estomas de mayor tamaño en pastos son mejores para el uso eficiente del agua, así mismo, las bajas densidades estomáticas son funcionales, los pastos pueden soportar más el estrés en zonas áridas y semiáridas (Hepworth *et al.*, 2018).

MATERIALES Y METODOS

Material de Evaluación

En septiembre y octubre del año 2018 se recolectó semilla de cuatro genotipos (B-689, B-592, B-508 y B-31) originarios del norte de México (Figura 1). Estos genotipos fueron seleccionados como sobresalientes en estudios realizados por Morales *et al.* (2008) y Morales *et al.* (2016), donde realizaron caracterizaciones morfológicas de poblaciones de pasto banderita. Adicionalmente, se adquirió semilla de dos variedades comerciales de pasto banderita, Vaughn registrada en Nuevo México, USA y Diana originaria de San Luis Potosí (Beltrán *et al.*, 2013). El Cuadro 1 detalla la localización y las condiciones ambientales de los sitios de los genotipos evaluados.

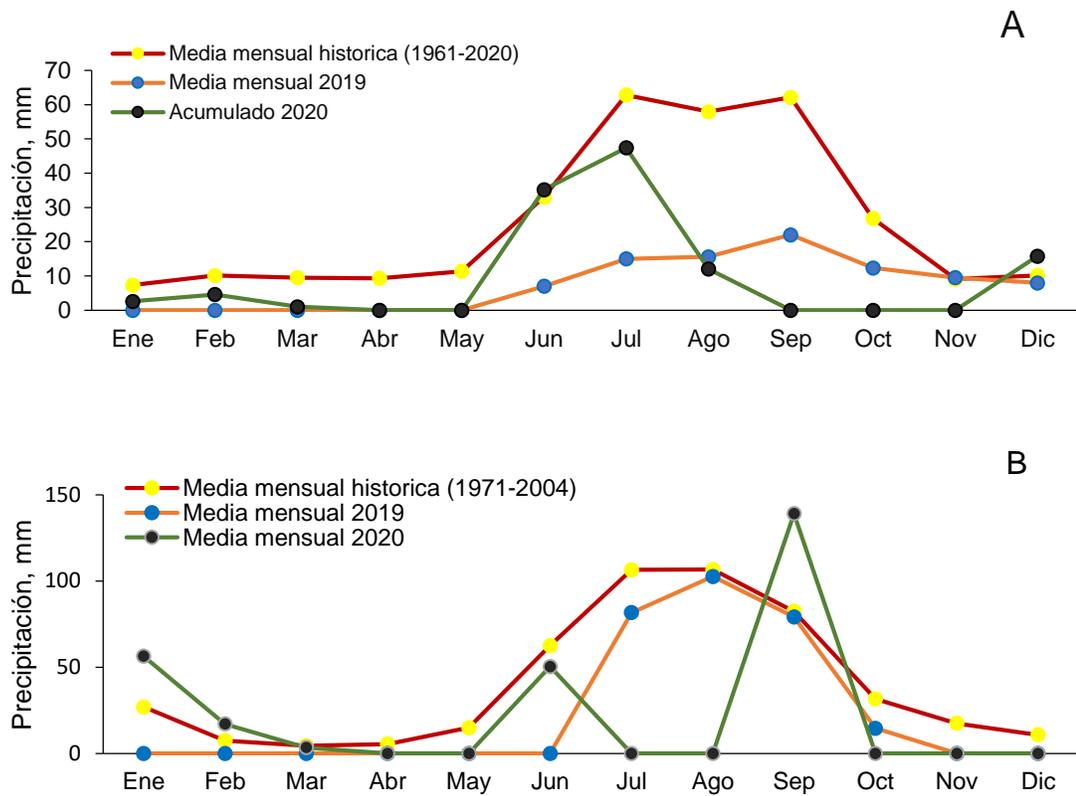
Establecimiento en Campo

La capacidad de establecimiento de los genotipos se evaluó mediante siembras realizadas en campo. Esta evaluación se realizó en dos localidades, en el Campo Experimental “La Campana”, Chihuahua, México (29°15' 16" N 106°22'41") y el Campo Experimental “Valle del Guadiana”, Durango (23°59'25" N, 104°37'23" O).

La siembra se llevó a cabo en agosto de 2019 al inicio de la temporada de lluvias. Esta se realizó en parcelas de 12 m² (3 x 4 m) para cada con seis repeticiones por genotipo. La densidad de siembra utilizada fue de 5 kg de semilla pura viable por hectárea. La preparación de la cama de siembra se realizó con una pasada de arado y rastreo cruzado. La rastra de discos utilizada tiene un ancho de corte de 4 m y está conformada por 24 discos de 28" de diámetro. La profundidad de preparación de la cama fue de 30 cm de profundidad. El diseño

experimental utilizado fue de bloques al azar y los bloques fueron colocados en contra de pendiente. Una vez preparada la cama de siembra, la semilla se dispersó al voleo y se cubrió de tierra con rastrillos a una profundidad aproximada de 1 cm.

Las variables evaluadas fueron emergencia (plantas m⁻²), establecimiento 90 días después de la siembra (DDS; plantas m⁻²), sobrevivencia 90 DDS (%), establecimiento 15 meses después de la siembra (MDS; plantas m⁻²) y sobrevivencia 15 MDS (%). La evaluación de emergencia se realizó en septiembre de 2019. Para ello, se tomaron al tres sub muestras de 1 m² dentro de cada parcela de 12 m². En cada sub muestra se contabilizó el total de plantas emergidas de pasto banderita. El establecimiento se evaluó durante dos años (2019 y 2020), a 90 días y 15 meses después de que se realizó la siembra. Las evaluaciones de establecimiento se realizaron a través del conteo total de plantas vivas en cada parcela, para ambas fechas de evaluación. E La sobrevivencia se calculó con base en el número establecidas respecto a las plantas emergidas. Este experimento fue desarrollado totalmente bajo condiciones de temporal. El comportamiento de la precipitación durante los dos años de evaluación y en las dos áreas de estudio puede observarse en la Gráfica 1



Gráfica 1. Comportamiento de la precipitación en los dos años de evaluación en el Campo Experimental La Campana, Chihuahua (A) y el Campo Experimental Valle de Guadiana, Durango (B).

Cuadro 1. Ubicación y características ambientales de los sitios de colecta de genotipos de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), evaluados en este estudio

Genotipo	Coordenadas Geográficas		Características Ambientales		
	Latitud (N)	Longitud (O)	Altitud (msnm)	TMA (°C)	PMA (mm)
B-689	29°04'2"	106°31'3"	2140	18.9	332
B-592	28°53'2"	105°47'4"	1233	20.4	308
B-508	29°57'2"	107°05'1"	1485	16.7	316
B-31	26°55'1"	105°48'2"	1834	16	332
Diana	23°38'0"	103°38'3"	2310	17.1	461
Vaughn	34°36'1"	105°15'0"	1830	11.6	398

TMA=Temperatura Media Anual; PMA=Precipitación Media Anual; Chih=Chihuahua; Zac=Zacatecas; NM=Nuevo México (CONAGUA, 2021; NOAA, 2021).

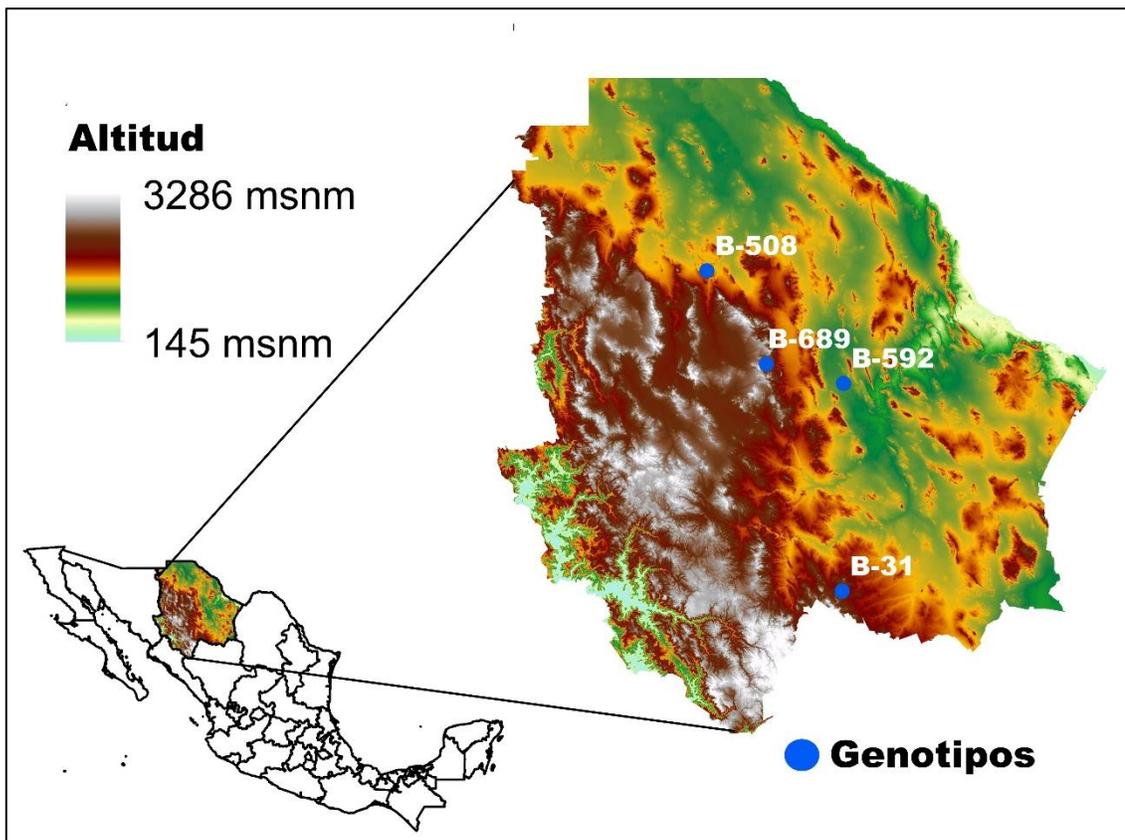


Figura 1. Distribución y origen de los genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) utilizados en este estudio.

Estrés Osmótico

La prueba se realizó en laboratorio y se utilizó como manitol agente osmótico. Los niveles osmóticos evaluados fueron: 0.0, -0.5, -1.0 y -1.5 MPa. La concentración de manitol se calculó con base a su peso molecular (182.17 g mol⁻¹), calculado mediante la fórmula propuesta por Vant'Hoff (Ruiz y Terenti, 2012)

$$\Psi_{\pi} = CiRT$$

Donde:

Ψ_{π} = potencial osmótico

C = concentración de la solución, expresada como molaridad (moles de soluto por kg de agua)

i = constante para la ionización del soluto (0.00545)

R = constante de los gases (0.00831 kg MPa Mol⁻¹ K⁻¹)

T = temperatura en grados Kelvin (298.15 °K)

La resistencia al estrés osmótico se evaluó mediante pruebas de germinación. Para ello, se emplearon cajas Petri de 90 mm de diámetro, provistas de algodón, papel filtro y 50 semillas. Cada caja Petri fue considerada una repetición y se utilizaron cuatro repeticiones por genotipo y por nivel osmótico. Las cajas Petri se colocaron al azar en una cámara de crecimiento a una temperatura de 26 (±3) °C. Cada caja fue regada con 25 ml de la solución correspondiente. Durante 21 d se realizaron conteos diarios de las semillas germinadas, donde se consideró como semilla germinada cuando la radícula o plúmula alcanzó aproximadamente los 0.5 cm.

Las variables evaluadas fueron porcentaje de germinación (%GE), índice de velocidad de germinación (IVG), longitud de radícula (LR) y longitud de plúmula (LP). El %G se obtuvo con el conteo total de semillas germinadas en un periodo de 21 d. La longitud de radícula y plúmula se midió el séptimo día del inicio de la germinación, en 12 plántulas (tres por repetición) por genotipo en cada nivel osmótico. El IVG se calculó mediante la ecuación propuesta por Maguire (1962) con modificaciones:

$$IVG = \sum \frac{(\%n_i)}{t}$$

Dónde:

IVG = velocidad de emergencia,

% n_i = porcentaje de semillas germinadas en cada día,

t = tiempo (día) en el que sucede la germinación.

Otras variables evaluadas fueron densidad estomática y área estomática. Estas variables se obtuvieron de 10 plántulas por genotipo y en dos niveles de estrés osmótico (0.0MPa y -0.5MPa). Las características estomáticas solamente fueron evaluadas en estos niveles debido a que en -1.0 y -1.5 MPa las plántulas no desarrollaron estomas. Para evaluar las variables estomáticas, se tomaron impresiones del haz foliar de las plúmulas con pegamento de cianoacrilato. Las impresiones se visualizaron en microscopio de contraste de fases (Software Zen 2 Core) y por plántula se evaluaron cinco campos ópticos de 0.0945 mm². En cada campo óptico, se obtuvo la densidad total de estomas (3,200) y se midió el área de 435 estomas por genotipo. En total, se evaluaron 300 campos ópticos y se midieron 75 estomas por genotipo y nivel osmótico.

Análisis Estadístico

Los datos del experimento en campo se analizaron por medio de análisis de varianza (ANDEVA) y una comparación de medias con la prueba de LSD (Diferencia mínima significativa) de Fisher. Previo a este análisis, el porcentaje de supervivencia fue transformado mediante al arco-seno (seno^{-1}) para que cumpliera con el supuesto de normalidad necesario para el ANOVA. Los datos de establecimiento se analizaron de manera individual para cada sitio de evaluación, Chihuahua y Durango.

Los tratamientos y repeticiones en los datos de estrés osmótico fueron distribuidos en un diseño completamente al azar. El modelo que se utilizó fue un arreglo factorial con dos factores (genotipo y nivel osmótico) y se ajustó de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = \mu + V_i + N_j + V_i * N_j + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ij} = variable de respuesta

μ = media general

V_i = efecto fijo del i-ésimo genotipo

N_j = efecto fijo del j-ésimo nivel osmótico

$V_i * N_j$ = efecto fijo de la interacción entre el i-ésimo genotipo y el j-ésimo nivel osmótico.

ε_{ijk} = error experimental.

La variable porcentaje de germinación también fue transformada mediante el arco-seno, antes el realizar el ANOVA. Finalmente, los datos de las variables

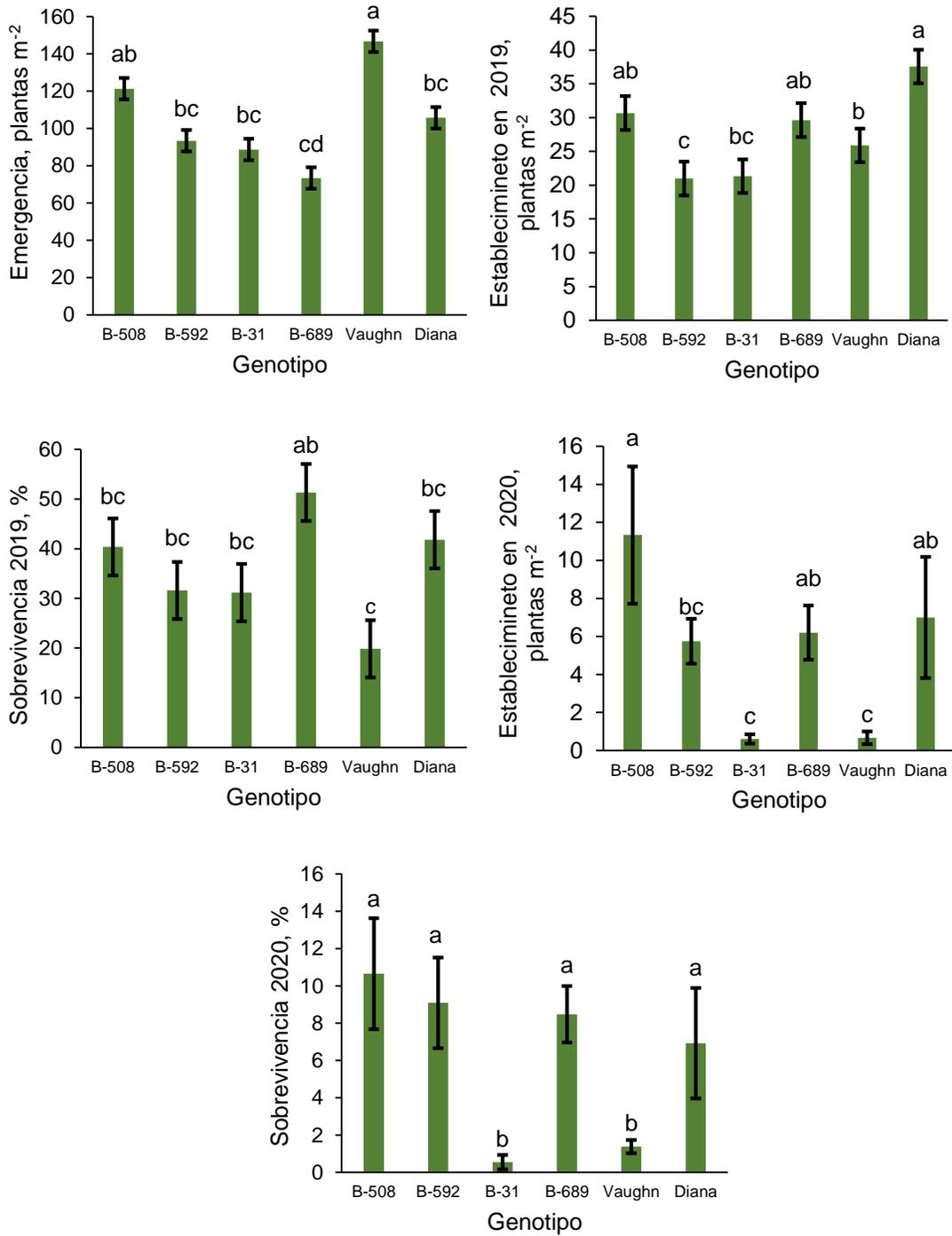
evaluadas en campo y laboratorio se relacionaron mediante análisis de correlación de Pearson y regresión lineal simple. Esto con la finalidad de evaluar si existe una relación entre la capacidad de establecimiento en campo y la resistencia al estrés osmótico evaluada en laboratorio. Todos los análisis estadísticos se realizaron a través del Software R 4.1.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

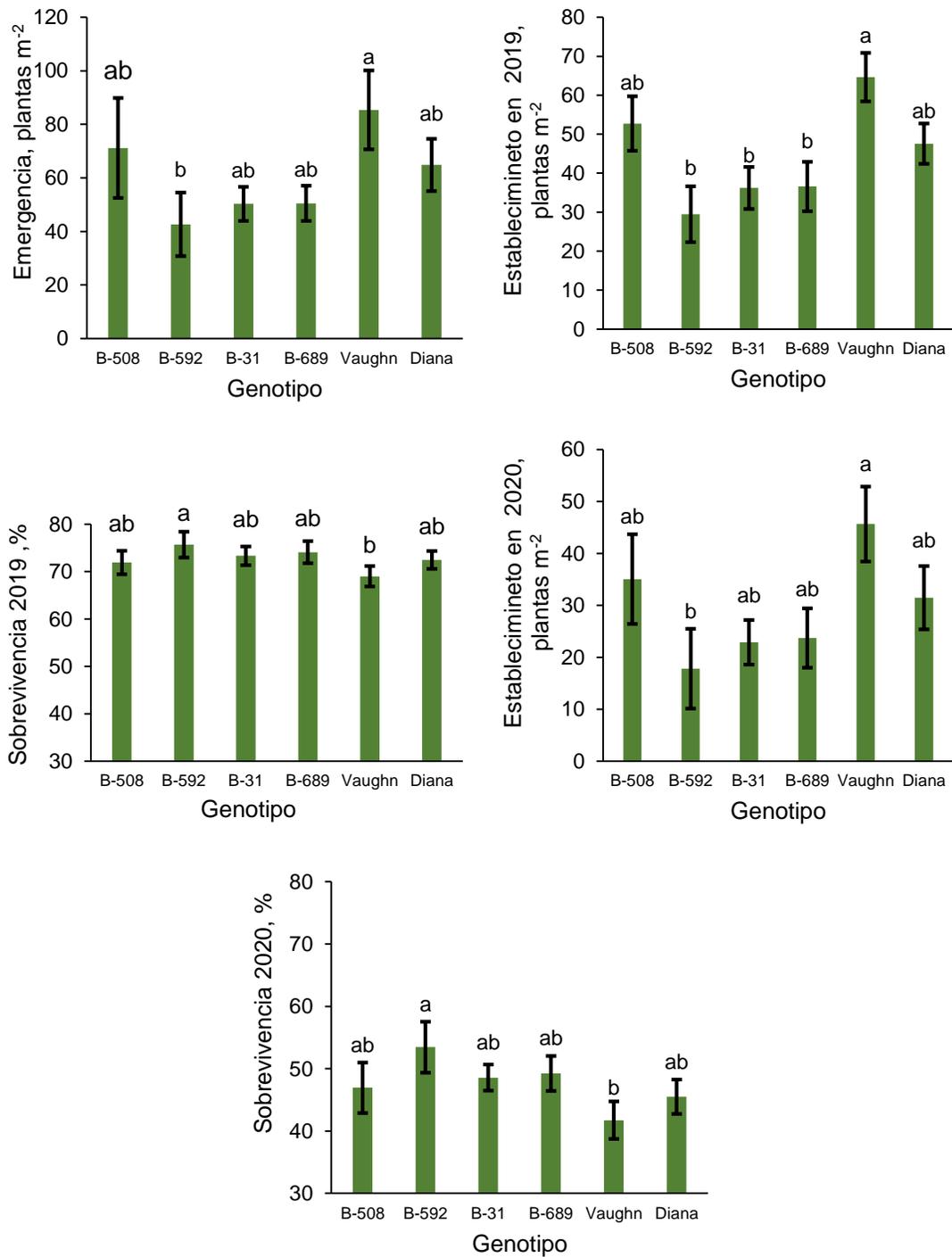
Establecimiento en Campo

En Chihuahua, los genotipos de pasto banderita sembrados en campo mostraron diferencias ($p < 0.05$) en emergencia, establecimiento 90 DDS, sobrevivencia 90 DDS, establecimiento 15 MDS y sobrevivencia 15 MDS. Los genotipos Vaughn y B-508 presentaron mayor ($p < 0.05$) emergencia, con 144.8 y 97.3 plantas m^{-2} , respectivamente. No obstante, Vaughn fue de los genotipos que presentaron menor establecimiento y sobrevivencia 15 MDS. De las plántulas 144.8 plantas m^{-2} emergidas de este genotipo, solamente se establecieron 25.8 plantas m^{-2} a los 90 DDS, lo que equivale a 19.8 % de sobrevivencia. Posteriormente, el establecimiento de este genotipo se redujo a solo 0.6 plantas m^{-2} y la sobrevivencia a 0.45 % a 15 MDS. Los genotipos con mayor establecimiento 15 MDS ($p < 0.05$) fueron B-508, B-592, B-689 y Diana, con de valores de 11.3, 5.75, 6.2 y 7.0 plantas m^{-2} , respectivamente (Gráfica 2).

La Gráfica 3 muestra el comportamiento de los genotipos de pasto banderita establecidos en el estado de Durango. Las variables emergencia, establecimiento 90 DDS, sobrevivencia 90 DDS, establecimiento 15 MDS y sobrevivencia 15 MDS también mostraron diferencias ($p < 0.05$) entre genotipos en esta localidad. Los genotipos Vaughn y B-508 presentaron mayor número de plantas emergidas, con 85.4 y 71.1 plantas m^{-2} , respectivamente. El genotipo Vaughn fue de los genotipos que presentaron mayor ($p < 0.05$) emergencia y establecimiento a 30 DDS y 15 MSD.



Gráfica 2. Emergencia, establecimiento y sobrevivencia de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) sembrados en el estado de Chihuahua.



Gráfica 3. Emergencia, establecimiento y sobrevivencia de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) sembrados en el estado de Durango, México.

No obstante, este genotipo también fue de los que obtuvo menor sobrevivencia a 30 DDS y 15 MDS. De las plantas emergidas de este genotipo (85.4 plantas m⁻²), solamente se establecieron 69.0 plantas m⁻² (69 %) a 30 DDS y 45.6 plantas m⁻² (41.7 %) a 15 MDS. Los genotipos B-508 y Diana fueron los que presentaron mayor ($p < 0.05$) emergencia, establecimiento 90 DDS, sobrevivencia 90 DDS, establecimiento 15 MDS y sobrevivencia 15 MDS.

Los resultados de esta evaluación sugieren que existen diferencias adaptativas entre genotipos, ya que la respuesta de algunos de ellos varió entre localidades. Por ejemplo, Vaughn fue de los genotipos que presentaron menor establecimiento y sobrevivencia en Chihuahua. En esta localidad, La precipitación durante el periodo de estudio fue ampliamente menor a la media histórica, Por otro lado, Vaughn también fue de los de mayor establecimiento en Durango, donde la precipitación se fue mayor que en Chihuahua (Gráfica 1). Lo anterior sugiere que el genotipo Vaughn es susceptible al estrés hídrico y presenta un establecimiento pobre en zonas de baja precipitación.

Por el comportamiento que mostraron en campo estos dos genotipos, se podrían seleccionar para su uso en la rehabilitación en condiciones similares a estas zonas. Estos resultados son congruentes con otros estudios de establecimiento de especies nativas, donde reportan en promedio 40 plantas m⁻² (Pedrinii *et al.*, 2021). Trabajos previos recomiendan que para lograr mayor probabilidad de éxito y preservar diversidad genética en programas de restauración, se deben utilizar genotipos locales evaluados previamente (Bischoff *et al.*, 2006; Bischoff *et al.*, 2010; Álvarez *et al.*, 2021).

A la fecha se han realizado diversos trabajos de investigación orientados a caracterizar la diversidad de especies nativas de pastizal, con la finalidad de identificar genotipos con potencial para rehabilitar pastizales deteriorados. Al respecto, Morales *et al.* (2008; 2010; 2016) caracterizaron la diversidad morfológica de gramíneas nativas como el pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en diferentes estados del norte de México. También, Sierra *et al.* (2014) caracterizó ecotipos de pasto banderita en Chihuahua. Estos investigadores evaluaron la diversidad morfológica en esta especie, pero no se enfocaron en evaluar el potencial de establecimiento de la diversidad de esta especie, característica importante en programas de resiembras de pastizales (Moreno-Gómez *et al.*, 2012).

Los genotipos Vaughn, Diana y B-689 evaluados en Chihuahua presentaron una densidad media de 30, 37, y 32 plantas m⁻², respectivamente, lo cual significa que presentaron un buen establecimiento. Sin embargo, todos los genotipos evaluados en Durango presentaron al menos 30 plantas m⁻², lo cual refleja que en este sitio la precipitación fue mayor que en el área experimental de Chihuahua (Gráfica 3). Puesto que, se considera que un establecimiento de ocho plantas m⁻² al primer año es bueno y de 30 plantas m⁻² es excelente (Quero-Carrillo *et al.*, 2014).

El genotipo Vaughn presentó menor ($p < 0.05$) sobrevivencia en ambos sitios evaluados. Estos resultados demuestran que existen genotipos locales con potencial adaptativo a las condiciones áridas y semiáridas del norte de México, comparados con otras variedades comerciales como la Vaughn, originaria de Nuevo México, USA. El comportamiento anterior demuestra que las lluvias de

primavera son erráticas, lo cual influye en una baja densidad y tamaño de las plantas en campo, alta mortandad y bajo establecimiento (Hoen, 1968), ya que la emergencia está relacionada con la tasa de establecimiento (McCormick *et al.*, 2014).

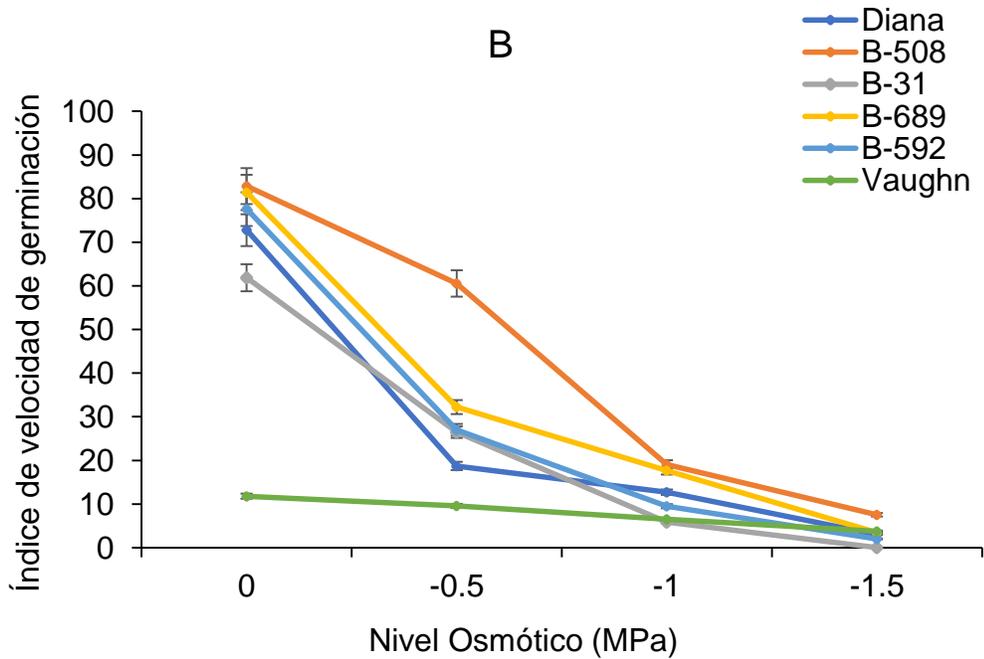
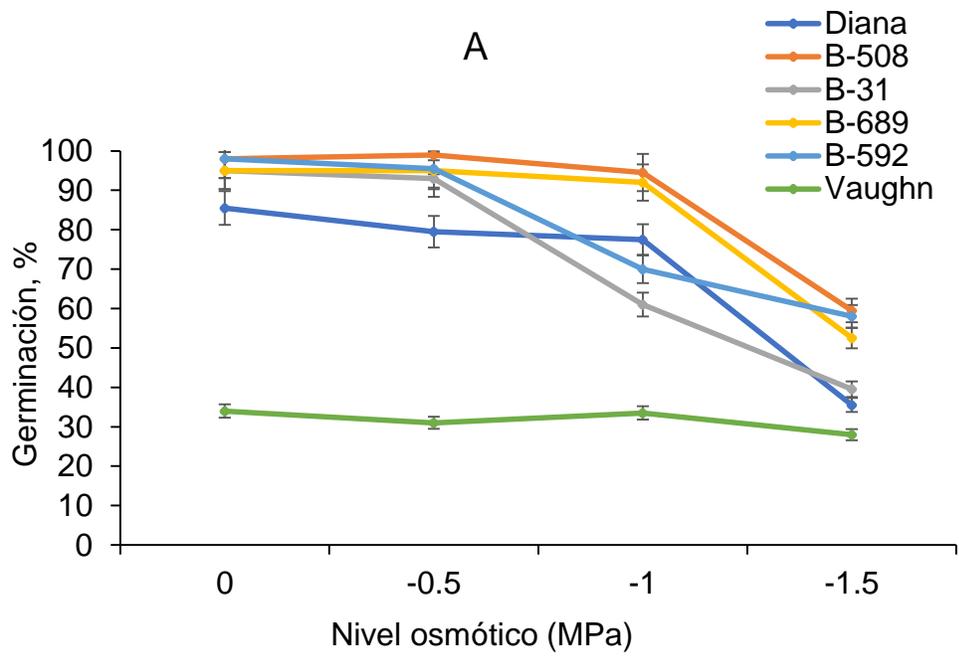
Estrés Osmótico

Se obtuvieron diferencias ($p < 0.05$) entre genotipos y nivel osmótico. El genotipo B-508 obtuvo el mayor porcentaje de germinación, seguido de B-689. Sin embargo, Vaughn fue la variedad que mostró menor porcentaje de germinación, pero mantuvo su germinación a medida que se incrementaba el nivel osmótico (Gráfica 4 A; Cuadro 2). Por otra parte, el índice de velocidad de germinación (IVG) mostró diferencias ($p < 0.05$). Los genotipos B-508 y B-689 fueron los que presentaron el mayor IVG en todos los niveles osmóticos. El menor IVG lo presentó la variedad Vaughn (Gráfica 4 B) y mantuvo este IVG aún a presiones osmóticas de -1.5 MPa (Gráfica 4 B; Cuadro 3).

En general, al incrementar el potencial osmótico desde 0.0 MPa hasta -1.5 MPa, el porcentaje de germinación se vio afectado ($p > 0.5$) en los genotipos Diana, B-508, B-689 y B-592. El genotipo B-592 fue el más susceptible al estrés osmótico, ya que su germinación disminuyó de 29 a 41 % a niveles de -1.0 y -1.5 MPa, respectivamente. Los genotipos que mostraron mejor comportamiento en la variable germinación a -1.5 MPa fueron Vaughn (17 %) y B-31 (11 %). La disminución de la germinación a este nivel osmótico en el resto de los genotipos fluctuó entre 39 y 58 % (Cuadro 2). La germinación es una etapa determinante para la sobrevivencia y establecimiento de los pastos (Li *et al.*, 2017). La baja disponibilidad de agua en el suelo de zonas áridas y semiáridas es el principal

factor limitante de la germinación y el desarrollo de las plántulas pastos (Goatley *et al.*, 2017). Es decir, el estrés osmótico impide el crecimiento y desarrollo de las plántulas, tal como: desarrollo de pigmentos (clorofila y carotenoides), rasgos fisiológicos y de fotosíntesis, la conductancia estomática y el uso eficiente del agua (Zhang *et al.*, 2010). Por esta razón, la tolerancia al estrés osmótico se considera como uno de los factores más importantes para el establecimiento de pastos en estas zonas (Dong *et al.*, 2011; Zang *et al.*, 2014).

En este sentido, los genotipos Vaughn y B-31 pudieran tener ventajas adaptativas y presentar mayor capacidad de establecimiento, debido a que fueron los únicos en donde no se afectó la germinación por efecto del estrés osmótico. No obstante, estos genotipos fueron los que presentaron menor ($p < 0.05$) porcentaje de sobrevivencia en la siembra realizada en Chihuahua, sitio donde se presentó menor precipitación durante la evaluación. Estos resultados sugieren que la capacidad de germinación bajo condiciones de estrés osmótico puede llegar a ser perjudicial durante el establecimiento en zonas áridas y semiáridas.



Gráfica 4. Porcentaje de germinación (A) e índice de velocidad de germinación (B) de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), bajo diferentes niveles osmóticos.

Cuadro 2. Porcentaje de disminución de la germinación de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), bajo diferentes niveles osmóticos

Genotipo	Germinación (%)		
	Nivel Osmótico (MPa)		
	-0.5	-1.0	-1.5
Diana	7.0	9.4	58.4 *
B-508	0.0	3.6	39.2 *
B-31	0.0	0.0	11.4
B-689	0.0	3.2	44.7 *
B-592	2.6	29.0 *	41.3 *
Vaughn	8.8	1.5	17.6

MPa = Mega Pascales.

* = indica que la disminución en germinación fue significativa (Dunnett; $\alpha = 0.05$), respecto a la del tratamiento testigo (0.0 MPa).

Cuadro 3. Porcentaje de disminución del índice de velocidad de germinación de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), bajo diferentes niveles osmóticos

Genotipo	Índice de Velocidad de Germinación		
	Nivel Osmótico (MPa)		
	-0.5	-1	-1.5
Diana	74.2*	32.0*	76.1*
B-508	26.9*	68.4*	60.4*
B-31	8.6	63.4*	34.2*
B-689	60.3*	45.2*	80.5*
B-592	65.2*	64.6*	78.9*
Vaughn	18.6	32.2	42.2

MPa = Mega Pascales.

* = indica que la disminución en índice de velocidad de germinación fue significativa (Dunnett; $\alpha= 0.05$), respecto a la del tratamiento testigo (0 MPa).

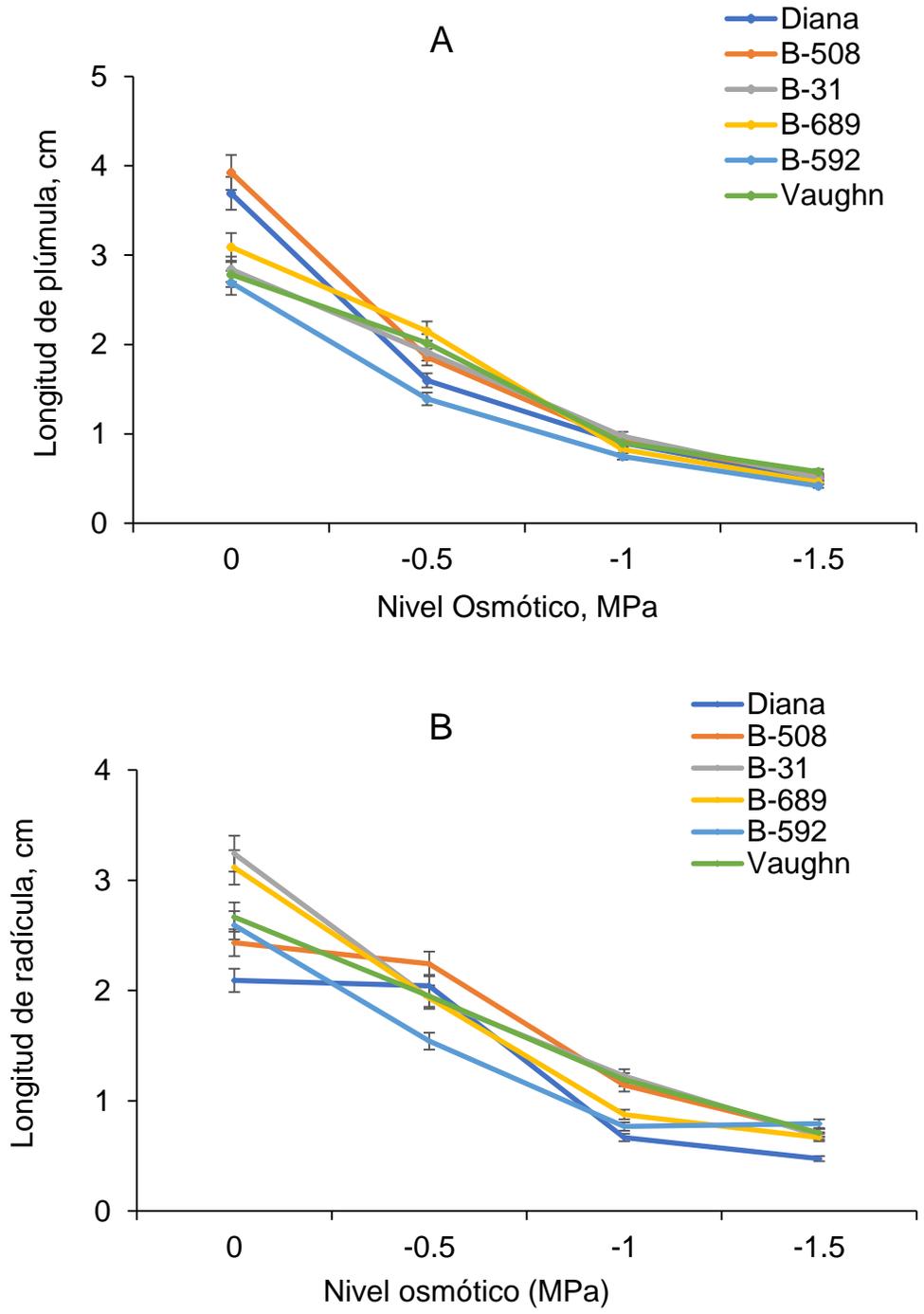
Comportamiento de Plúmula y Radícula

Al aplicar los niveles osmóticos en los genotipos se presentaron diferencias ($p < 0.05$) en longitud de plúmula y radícula. El genotipo B-31 fue de los que mostró mayor longitud de radícula y plúmula a un nivel osmótico de -1.0 MPa, sin embargo, la mayor longitud de plúmula al nivel osmótico de -1.5 MPa la presentó Vaughn (0.57 cm) y B-508 (0.53 cm), respectivamente. Sin embargo, en longitud de radícula, el único genotipo que se diferenció significativamente fue Diana y presentó la menor longitud de radícula a -1.5 MPa (Gráfica 5 A).

Plántulas que presenta plúmula y radícula largas en condiciones de estrés osmótico tienen mayor probabilidad sobrevivir y desarrollarse en zonas áridas y semiáridas (Mickky y Aldesuguy, 2017). Esto debido a que la radícula es la encargada de absorber agua para el mantenimiento de toda la plántula y la plúmula es la que capta radiación solar y CO_2 para la fotosíntesis una vez que se acaban las reservas de la semilla (Rodés y Collazo, 2006; Patanè *et al.*, 2012; Bafeel, 2014). La reducción de la longitud de plúmula es una expresión visible cuando la planta se encuentra en condiciones de estrés (Munns y Termaat, 1986). Por lo tanto, las hojas de plantas expuestas a mayores presiones osmóticas o suelos salinos normalmente son más cortas, comparadas con las que crecen en suelos con menor alcalinidad (Taleisnik *et al.*, 2009).

La longitud de plúmula de todos los genotipos disminuyó significativamente en todos los niveles osmóticos (Cuadro 4). Vaughn y B-31 fueron los genotipos menos afectados por el estrés osmótico, ya que presentaron menor disminución de longitud de plúmula conforme se disminuyó el potencial osmótico. Sin embargo, fueron los genotipos que lograron menor sobrevivencia

en campo en las dos localidades evaluadas. Este comportamiento se debe en gran medida a la capacidad que presenta cada genotipo para su adaptación y sobrevivencia. En otras palabras, una mayor longitud de plúmula, podría darles mayor capacidad para realizar la fotosíntesis durante la etapa de plántula (Rodés y Collazo, 2006). El bajo establecimiento que presentaron los genotipos Vaughn y B-31, podría ser resultado de que presentaron una reducida longitud de plúmula en campo.



Gráfica 5. Comportamiento de la longitud de plúmula (A) y longitud de radícula (B) de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) a diferentes niveles osmóticos.

Cuadro 4. Porcentaje de disminución de la longitud de plúmula de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), bajo diferentes niveles osmóticos

Genotipo y Variedad	Longitud de Plúmula (cm)		
	Nivel Osmótico (MPa)		
	-0.5	-1.0	-1.5
Diana	56.6*	75.6*	86.6*
B-508	52.6*	76.6 *	86.4*
B-31	32.5*	65.69*	81.5*
B-689	30.4*	73.3*	85.1*
B-592	48.2*	72.1*	84.5*
Vaughn	27.5*	67.6*	79.3*

MPa = Mega Pascales.

*indica que la disminución en longitud de plúmula fue significativa (Dunnett; $\alpha=0.05$), respecto a la del tratamiento testigo (0 MPa).

De igual manera se presentaron diferencias ($p < 0.05$) en el porcentaje de disminución de la longitud de radícula en todos los genotipos con excepción de Diana, B-508 y Vaughn ($p > 0.05$) al aplicar nivel osmótico desde -0.5 MPa hasta -1.5 MPa comparado con el testigo (0.0 MPa). En general el genotipo B-508 fue el menos afectado por el estrés osmótico y mostró mayor emergencia, establecimiento y sobrevivencia, en ambas localidades (Gráfica 5 B; Cuadro 5). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Borrajo *et al.* (2018) quienes reportan que la productividad de la hoja se correlaciona positivamente con el nivel de agua, y el valor se reduce significativamente bajo un fuerte estrés osmótico. Al comparar el comportamiento de los genotipos y variedades sometidas a niveles de -1.0 y -1.5 MPa, fueron Vaughn y B-31 los que mantuvieron los menores porcentajes de disminución del crecimiento de plúmula. Sin embargo, cuando se comparó el comportamiento de estos mismos genotipos y variedades, sometidas a -1.5 MPa, fue la variedad Diana la que mostró menor longitud de radícula. Los resultados obtenidos son congruentes con otros estudios de estrés osmótico en pastos, donde se menciona que la salinidad genera un estrés osmótico que afecta a la plúmula y radícula (Liu *et al.*, 2014).

En general el genotipo B-508 fue el menos afectado por el estrés osmótico y mostró mayor emergencia, establecimiento y sobrevivencia, en ambas localidades. Por lo anterior, se asume que el estrés osmótico puede inhibir el crecimiento de las plantas al causar privación de agua y toxicidad iónica, entre otros factores (Marcum, 1999; Ghoulam *et al.*, 2002). Además, se ha observado que el estrés osmótico conduce a una germinación reducida, crecimiento reducido e incluso la muerte de las plantas (Parida y Das, 2005; Li *et al.*, 2010).

Después de un evento de lluvia en la superficie se presenta un rápido desecamiento del suelo en zonas áridas, ya que se ha reportado que radículas largas pueden llegar a zonas más profundas del suelo, donde existe mayor disponibilidad de agua. Este comportamiento puede llegar a considerarse como ventaja durante la etapa crítica de

Cuadro 5. Porcentaje de disminución de la longitud de radícula de genotipos sobresalientes de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), bajo diferentes niveles osmóticos

Genotipo y Variedad	Longitud de Radícula (cm)		
	Nivel Osmótico (MPa)		
	-0.5	-1.0	-1.5
Diana	2.3	68.1*	77.2*
B-508	0.0	49.0*	68.4*
B-31	40.3*	62.2*	78.2*
B-689	37.9*	71.9*	78.6*
B-592	40.5*	70.4*	69.4*
Vaughn	26.8	55.3*	73.4*

MPa = Mega Pascales.

*indica que la disminución en longitud de radícula fue significativa (Dunnett; $\alpha=0.05$), respecto a la del tratamiento testigo (0 MPa).

establecimiento de las plántulas y supervivencia de plantas (Sala y Laurenroth, 1982; Busso y Bolletta 2007). Por la importancia de lo anterior, la longitud de plúmula es una variable importante para la supervivencia y establecimiento de plantas cuando se realizan programas de restauración de pastizales. También, para que las plantas puedan lograr una mejor asimilación de los nutrientes, es necesario que las plantas desarrollen radículas y plúmulas durante su etapa de establecimiento (Raven *et al.*, 1991). En este sentido, el genotipo B-508 pudiera mostrar mejor capacidad de establecimiento, debido a que mantuvo la menor disminución en longitud de radícula y mayor disminución en la longitud de plúmula en los niveles osmóticos, comportamiento importante que le confiere mayor probabilidad durante el establecimiento en campo. Es recomendable seleccionar genotipos que desarrollen raíces de mayor longitud. Puesto que, la longitud de raíz juega un rol importante para adsorber y almacenar agua, así como también, nutrientes que utilizara para asegurar su desarrollo estructural. (Le *et al.*, 2021). De igual manera, la relación raíz parte aérea esta asociada a el establecimiento de la planta en el medio ambiente. Una relación alta se debe a que la planta presenta más raíces, esta característica les permite sobrevivir a las bajas precipitaciones. Esta relación también está relacionada con la luz, donde si hay poca luz la planta tratara de desarrollar plúmulas mas grandes para maximizar la captura de luz y aprovechar los recursos de fotosíntesis (Allard *et al.*, 1991; Cruz, 1997; Dias-Filho, 2000).

Caracterización Estomática

El Cuadro 6 muestra el comportamiento de la densidad estomática y área estomática de los genotipos sometidos a dos niveles osmóticos. Se obtuvieron diferencias ($p < 0.05$) en densidad estomática a 0.0 MPa, En contraste, los genotipos B-508 con (91.0 ± 4.7 estomas mm^{-2}), Vaughn (115.1 ± 7.2 estomas mm^{-2}), B-689 (107.9 ± 5.9 estomas mm^{-2}) y B-31 (101.2 ± 5.1 estomas mm^{-2}) son estadísticamente iguales ($p > 0.05$) y presentaron la menor densidad, ahora bien, diferentes a B-592 (128.7 ± 7.4 mm^{-2}) y Diana (118.9 ± 5.9 estomas mm^{-2}) que mostraron la mayor densidad a este mismo nivel osmótico. No obstante, al aplicar el nivel osmótico de -0.5 MPa se presentaron diferencia ($p < 0.05$). Sin embargo, los genotipos que se diferenciaron a este nivel fueron Vaughn (148.1 ± 8.3) y B-31 (142.6 ± 5.3) que presentaron mayor densidad en contraste a B-689 (111.1 ± 6.8) y B-592 (113.4 ± 5.2) con la menor densidad. Por otra parte, al someterlos a -0.5 MPa todos los genotipos aumentaron la densidad estomática, mientras que el aumento de la densidad fue significativo en todos los genotipos ($p < 0.05$), B-689 y Diana no mostraron un cambio significativo (Cuadro 6).

El Cuadro 6 muestra el comportamiento del área estomática de los genotipos sometidos a dos niveles osmóticos. Así mismo, se observa como presentaron diferencias en el área estomática de los genotipos en 0.0 MPa ($p < 0.05$), Vaughn (236.2 ± 5.6) y B-592 (250.0 ± 6.8) fueron los que presentaron estomas más pequeños ($p < 0.05$) en el nivel de 0.0 MPa. Al aumentar el nivel osmótico a -0.5 MPa, se observa que presentaron diferencias en el área estomática de los genotipos ($p < 0.05$), Vaughn y Diana fueron diferentes al resto, presentando los estomas más pequeños ($p < 0.05$). Por otra parte, el estrés

Cuadro 6. Comportamiento del área estomática y densidad estomática de genotipos sobresalientes (medias \pm error estándar) de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) bajo diferentes niveles de presión osmótica

Genotipo	Nivel Osmótico			
	Densidad Estomática (estomas mm ⁻²)		Área Estomática (μm^2 estoma ⁻¹)	
	0.0 MPa	-0.5 MPa	0.0 MPa	-0.5 MPa
B-31	101.2 \pm 5.1 bc	142.6 \pm 5.3 a*	293.7 \pm 8.2 b	269.9 \pm 7.7 b*
B-508	91.0 \pm 4.7 c	130.3 \pm 5.6 ab*	345.8 \pm 9.3 a	274.9 \pm 7.1 b*
B-592	128.7 \pm 7.4 a	113.4 \pm 5.2 b*	250.0 \pm 6.8 c	281.2 \pm 8.4 ab*
B-689	107.9 \pm 5.9 abc	111.1 \pm 6.8 b	320.2 \pm 11.5 ab	311.8 \pm 11.3 a
Diana	118.9 \pm 5.9 ab	122.7 \pm 6.2 ab	287.5 \pm 7.7 b	255.7 \pm 6.9 bc*
Vaughn	115.1 \pm 7.2 abc	148.1 \pm 8.3 a*	236.2 \pm 5.6 c	239.1 \pm 6.5 c

Literales diferentes significan diferencias significativas entre genotipos ($p < 0.05$; Fisher). * indican diferencias entre niveles osmóticos para cada genotipo ($p < 0.05$; Dunnett).

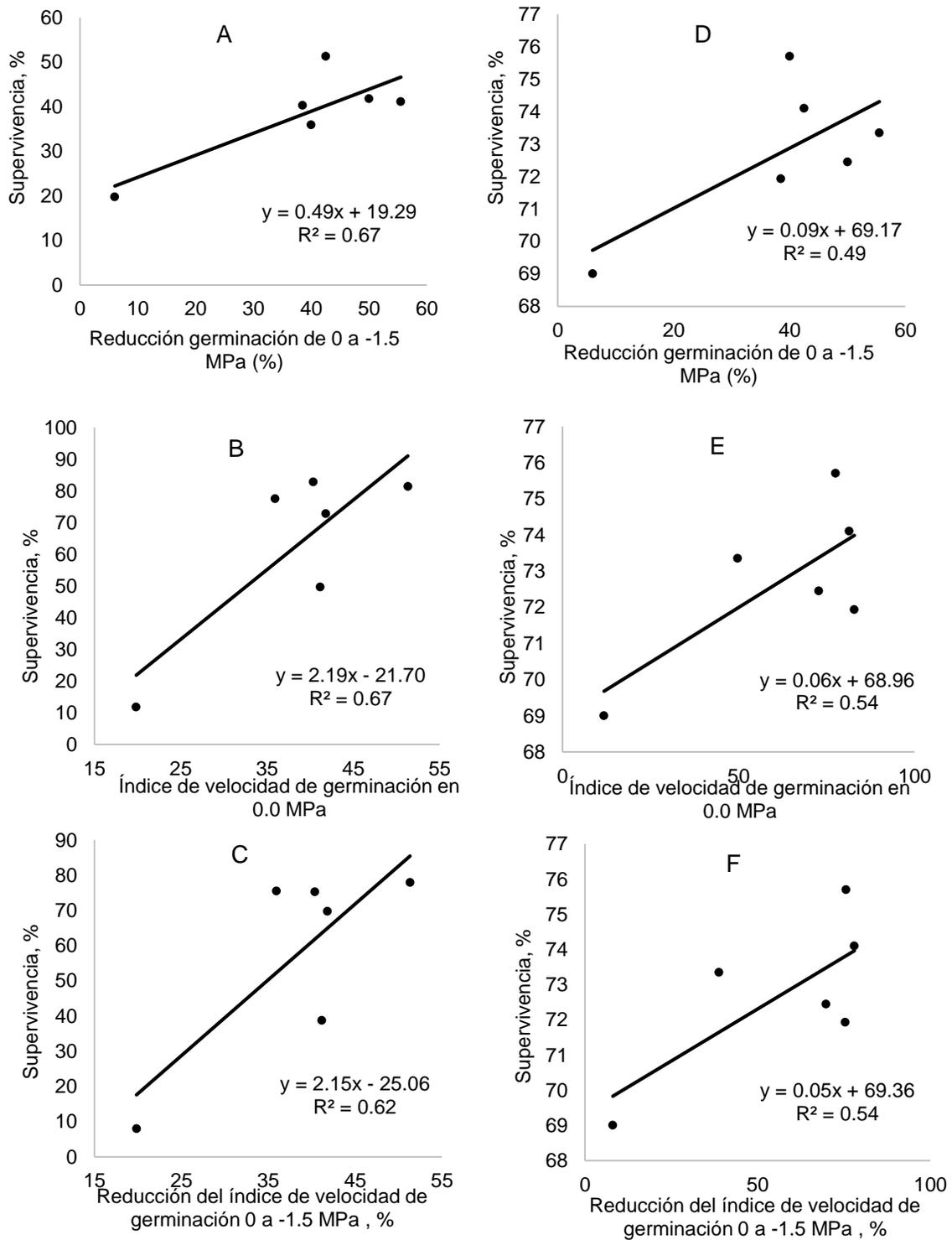
osmótico no afectó el área estomática de los genotipos Vaughn (239.1 ± 6.5) y B-689 (311.8 ± 11.3), ya que estos genotipos no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los niveles de 0.0 y -0.5 MPa. Por el contrario, el resto de los genotipos mostraron diferente área estomática ($p < 0.05$) en los niveles de 0.0 y -0.5 MPa. Los estomas contienen células guarda que se encuentran en la estructura epidérmica de la hoja, su función es realizar el intercambio de gases con la atmósfera de donde se obtiene dióxido de carbono (CO_2) del ambiente para aprovecharlo en su estructura y libera agua y oxígeno como elementos de desecho. Así mismo, pocos y pequeños estomas en pastos, puede resultar en una característica favorable para el uso eficiente del agua, asimilación de dióxido de carbono y lograr mejores índices de fotosíntesis (Bertolino *et al.*, 2019). Además, son esenciales para la salud de las plantas, ya que particularmente en las gramíneas, se muestran cambios en su estructura y son relevantes para adaptarse al entorno en que viven. Investigaciones realizadas han demostrado que especies o genotipos con bajas densidades de estomas, presentan mayor eficiencia en el uso del agua y llegar a ser más tolerantes a la sequía (Hughes *et al.*, 2017; Caine *et al.*, 2019; Dunn *et al.*, 2019). Las presencias de estas características son importantes para ser consideradas al seleccionar genotipos candidatos para su uso en la restauración de agostaderos. Al respecto, los genotipos B-689 y B-592 fueron los que presentaron esta característica (menor densidad) al aplicar el nivel osmótico de -0.5 MPa.

Otra característica a considerar es el área estomática, ya que se considera que esta variable se correlaciona negativamente con la asimilación de CO_2 . Sin

embargo, en condiciones alcalinas la mayoría de los coeficientes de intercambio gaseoso muestran una correlación significativa entre ellos, a excepción del índice de evapotranspiración, el cual se correlacionó con estomas de tamaños pequeños y bajas densidades (Naz *et al.*, 2010). Además de lo anterior, las propiedades de estos, varían en función de las características de la especie y de las condiciones ambientales (Zhu *et al.*, 2018). Sin embargo, otros estudios han reportado que los estomas muestran una correlación negativa con el tamaño y su densidad, independientemente de las variaciones ambientales, es decir, si se presentan altas densidades las estomas serán pequeños (Doheny-Adams *et al.*, 2012; Franks *et al.*, 2015). Por lo anterior y de acuerdo a los resultados de la presente investigación, el genotipo B-31 y las variedades Vaughn y Diana mostraron este comportamiento, por lo cual pudieran ser considerados con mayor potencial para resistir las variaciones ambientales y mantener una alta densidad estomática y de tamaño más pequeños.

Relación de Variables de Laboratorio y Campo

La Gráfica 6 muestra la relación del porcentaje de sobrevivencia con la reducción de la geminación a niveles osmóticos desde 0.0 hasta -1.5 MPa, IVG en 0.0 MPa y la reducción del IVG desde 0.0 hasta -1.5MPa, para Chihuahua (Gráfica 6 A, B, C) y Durango (Gráfica 6 D, E, F). Al correlacionar el porcentaje de supervivencia con la reducción en porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación y reducción en el índice de velocidad de germinación, se observó una asociación positiva ($p < 0.05$) a niveles osmótico desde 0.0 hasta -1.5 MPa en Chihuahua y Durango. Esta reducción de la germinación a un nivel osmótico desde 0.0 hasta -1.5 MPa para Chihuahua, mostró un coeficiente de

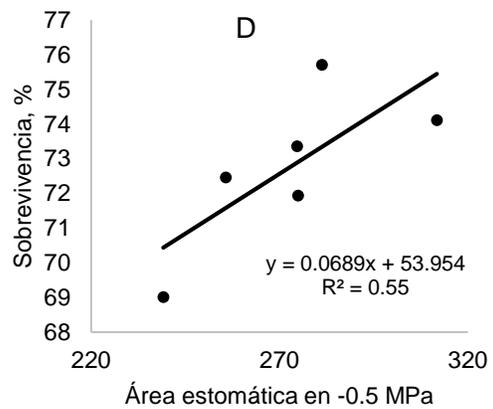
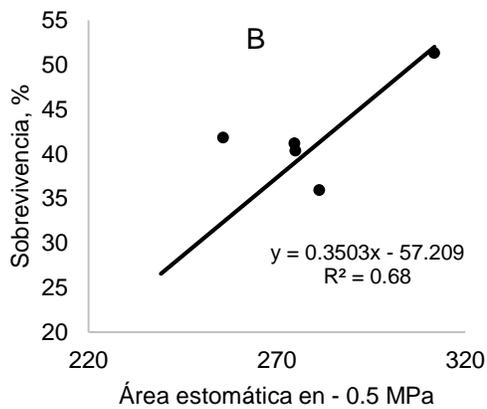
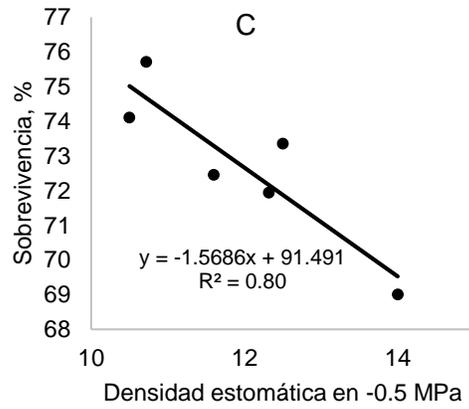
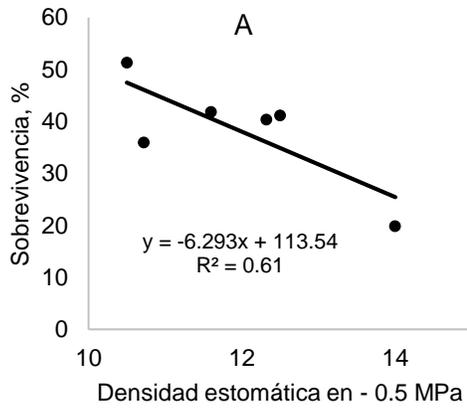


Gráfica 6. Correlación del porcentaje de supervivencia con la reducción de la germinación, índice de velocidad de germinación y reducción del índice de velocidad de germinación de genotipos sobresalientes de pastos banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua (A, B, C) y Durango (D, E, F).

determinación (R^2) de 0.67 (Gráfica 6 A) y de 0.49 para Durango (Gráfica 6 D). Esta variación podría estar influenciada por la baja precipitación (Gráfica 1) que se presentó en Chihuahua durante la evaluación de los genotipos. Al respecto, es importante considerar que la semilla de pasto banderita puede ser capaz de germinar si las condiciones ambientales son favorables (temperatura de 25-26 °C) y con bajos regímenes de precipitación (Biligtu *et al.*, 2011).

Por su parte, el índice de velocidad de germinación mostró una asociación moderada, sin embargo, fue positiva, ya que al correlacionarla con la sobrevivencia se obtuvo un R^2 de 0.67 (Gráfica 6 B) y R^2 de 0.54 (Gráfica 6 E) en Chihuahua y Durango, respectivamente, lo cual indica que no hubo variación. Al respecto Qian y Fry (1997) mencionan que el mecanismo de regulación osmótica de las plantas C4 ha sido poco estudiado, sin embargo, se ha observado que las gramíneas C4 tienen la capacidad de modular su permeabilidad a la humedad a corto plazo. Al respecto, la reducción del índice de velocidad de germinación desde el nivel de 0.0 MPa hasta -1.5 MPa mostró asociación positiva al correlacionarse con la sobrevivencia. Para Chihuahua se observó un R^2 de 0.62 (Gráfica 6 C) y para Durango este R^2 fue de 0.54 (Gráfica 6 F).

La Gráfica 7 muestra la correlación del porcentaje de sobrevivencia con la densidad y área estomática de seis genotipos de pastos banderita (*Bouteloua curtipendula*), sometidos a un nivel osmótico de -0.5 MPa para Chihuahua (A, B) y Durango (C, D). Al correlacionar el porcentaje de sobrevivencia con la densidad estomática se presentó una asociación negativa ($p < 0.05$) a un nivel osmótico de -0.5 MPa en los genotipos de Chihuahua y Durango con un R^2 de 0.61 y 0.80, respectivamente (Gráfica 7 A y C). Esta asociación negativa en densidad de



Gráfica 7. Correlación del porcentaje de sobrevivencia con densidad y área estomática de genotipos sobresalientes de pastos banderita (*Bouteloua curtipendula*) al nivel osmótico de -0.5 MPa para Chihuahua (A, B) y Durango (C, D).

estomas indica que los genotipos con menos estomas tienen mayor posibilidad de sobrevivir en condiciones de baja precipitación, ya que en ambientes atípicos las plantas pueden autorregularse, por lo que son capaces de modificar los estomas para adaptarse al medio ambiente (Hong *et al.*, 2018). Al respecto, los genotipos B-689 y B-592 en esta investigación presentaron la menor densidad de estomas a un nivel osmótico de -0.5 MPa. Sin embargo, al correlacionar el porcentaje de sobrevivencia con el área estomática se presentó una asociación positiva ($p < 0.05$) a un nivel osmótico de -0.5 MPa en los genotipos de Chihuahua y Durango con un R^2 de 0.68 y 0.55, respectivamente (Gráfica 7 B y D). Estudios realizados han reportado que una amplia gama de relaciones hídricas y características de los estomas depende en parte del patrón de crecimiento (Galmés *et al.*, 2007), lo cual podría indicar que las plantas con estomas de mayor tamaño pudieran sobrevivir a la etapa crítica de sobrevivencia de las plántulas bajo estas condiciones ambientales. Los genotipos B-689 y B-31 presentaron el mayor tamaño de estomas en esta investigación a un nivel osmótico de -0.5 MPa. Otros trabajos reportan que hay una alta flexibilidad del tamaño de los estomas y que este varía con la disponibilidad de agua y que este proceso puede estar estrechamente relacionado con la fotosíntesis y la eficiencia en el uso del agua (Xu y Zhou, 2008). En términos generales, las plantas muestran cambios morfológicos mínimos en un ambiente relativamente estable, debido a la evolución convergente (Schneider y Meyer, 2017). Por lo tanto, una buena opción es identificar genotipos de pasto banderita a partir de su variación morfológica para evaluar y seleccionar sus cualidades para su inclusión en la revegetación (Morales *et al.*, 2008). Existe evidencia donde, se muestra que bajo estrés hídrico

el área estomática disminuye, así mismo la transpiración muestra una asociación positiva con la densidad estomática (Doheny-Adams *et al.*, 2012; Tanaka *et al.*, 2013). Además, Chieppa *et al.* (2021) reportaron que la densidad estomática y el medio ambiente, principalmente, temperatura, aridez y corrientes del viento están altamente correlacionados. Lo anterior concuerda con los resultados del presente estudio, donde el área estomática y la densidad estomática se correlacionaron positiva y negativamente con el porcentaje de supervivencia, respectivamente.

Se ha reportado que los estomas pequeños tienen la ventaja de abrir y cerrar su estructura con mayor velocidad, lo que permite disminuir la transpiración e incrementar la asimilación de CO₂ (Drake *et al.*, 2013; Raven, 2014; Giday *et al.*, 2014). Sin embargo, en este trabajo se presentó una relación positiva entre área estomática y sobrevivencia. Es decir, que los genotipos con mayor área estomática fueron los de mayor sobrevivencia. Con base en lo anterior, seleccionar genotipos con base en sus características estomáticas podría ayudar a disminuir la pérdida por transpiración y, con ello, incrementar la capacidad de establecimiento de pastos nativos en programas de rehabilitación.

En los últimos años se ha realizado un gran número de estudios en laboratorio para analizar la germinación de especies de pastos bajo estrés osmótico (Van den Berg y Zeng, 2006; Chejara *et al.*, 2008; Biligetü *et al.*, 2011; Krichen *et al.*, 2014; Goatley *et al.*, 2017; Álvarez-Holguín *et al.*, 2017, Sheikh-Mohamadi *et al.*, 2018). Estos estudios señalan que las pruebas de germinación en laboratorio pueden ser útiles para predecir el establecimiento en campo, por lo que las utilizan para seleccionar especies o genotipos de alta capacidad de establecimiento. No obstante, pocas investigaciones se para evaluar si realmente

los experimentos de germinación bajo estrés osmótico pueden predecir lo que ocurre en campo. Por ejemplo, Bochet *et al.* (2007) evaluaron el establecimiento en campo y la germinación bajo estrés osmótico de 22 especies de plantas. Estos investigadores concluyen que la capacidad de germinar bajo estrés osmótico puede ser un indicador del establecimiento en ambientes semiáridos. Lo anterior contrasta con los resultados del presente estudio, donde la reducción de la germinación por estrés osmótico se relacionó positivamente la supervivencia en campo. En otras palabras, los genotipos más afectados por el estrés osmótico en la variable germinación fueron lo que presentaron mayor supervivencia en campo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La germinación bajo estrés osmótico se relacionó manera negativa con el establecimiento en campo. Además, el índice de velocidad de germinación, la longitud de plúmula y las características estomáticas también se relacionaron con lo que se observó en campo. El genotipo B-689 mostró ser sobresaliente entre todos los genotipos evaluados. Por esto, este genotipo pudiera ser considerado en programas de restauración de pastizal en zonas áridas y semiáridas del norte de México. De acuerdo a la relación que se observó entre resistencia al estrés osmótico y el establecimiento en campo, estas asociaciones sugieren considerar las pruebas de germinación para la evaluación de genotipos y su uso en resiembras. Es importante considerar el comportamiento bajo estrés osmótico para seleccionar genotipos que puedan ser recomendados para la revegetación de pastizal deteriorados. Sin embargo, es necesario realizar más investigación tendiente a evaluar aspectos abióticos y bióticos como temperaturas, precipitación, salinidad, patógenos y herbicidas.

LITERATURA CITADA

- Allard G., C. J. Nelson y S. G. Pallardy 1991. Shade effects on growth of tall fescue: I. Leaf anatomy and dry matter partitioning. *Crop Sci.* 31:163-167.
- Álvarez, A., R. Corrales, C. R. Morales, C. H. Avendaño y F. Villareal. 2017. Dosis óptima de irradiación gamma con Co⁶⁰ para inducción de mutagénesis en pastos. *Nov. Sci.* 9:65-82.
- Álvarez-Holguín, A., C. R. Morales-Nieto, R. Corrales-Lerma, C. H. Avendaño-Arrazate, H. O. Rubio-Arias y F. Villarreal-Guerrero. 2018. Caracterización estomática, concentración de clorofila y su relación con producción de biomasa en *Bouteloua curtipendula*. *Agron. Mesoam.* 29:251-261.
- Álvarez-Holguín, A., C.R. Morales-Nieto, R. Corrales-Lerma, J. A. Prieto-Amparan, F. Villarreal-Guerrero y R. A. Sánchez-Gutiérrez. 2021 Genetic structure and temporal environmental niche dynamics of sideoats grama [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] populations in Mexico. *PLoS ONE* 16:1-18.
- Bafeel, S. O. 2014. Physiological parameters of salt tolerance during germination and seedling growth of *Sorghum bicolor* cultivars of the same subtropical origin. *Saudi J. Biol. Sci.* 21:300-304.
- Baird, A. S., S. H. Taylor, J. Pasquet-Kok, C. Vuong, Y. Zhang, T. Watcharamongkol, C. Scoffoni, E. J. Edwards, P. A. Christin, C. P. Osborne y L. Sack. 2021. Developmental and biophysical determinants of grass leaf size worldwide. *Nature.* 592:242-247.
- Bell, A. y N. Smith. 2021. Soil Salinity Has Species-Specific Effects on the Growth and Nutrient Quality of Four Texas Grasses. *Rangeland Ecology & Management.* 77:39-45.
- Beltrán, S., C. A. Díaz, J. A. Alatorre, C. L. Osti, J. U. Morales, L. A. Eguiarte y H. G. Vázquez. 2013. "Banderilla Diana" *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr., nueva variedad de pasto para zonas áridas y semiáridas. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 4:217-221.
- Bernal, L., A. R. Quero, H. A. Zavaleta, P. Pérez, J. Valdez y M. E. Ortega. 2017. Digestibility-related histological attributes in *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. of Mexico. *Rev. Fitotec. Mex.* 40:299-308.
- Bertolino, L. T., R. S. Caine y J. E. Gray. 2019. Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. *Front. Plant Sci.* 10:225-236.
- Biligetü, B., M. P. Schellenberg, J. G. Mcleod, S. Prairie, A. Canada y S. Current. 2011. The effect of temperature and water potential on seed germination

- of poly-cross side-oats grama (*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.) population of Canadian prairie. *Seed Sci. Technol.* 39:74-81.
- Bischoff, A., L. Crémieux, M. Smilauerova, C. S. Lawson, S. R. Mortimer y J. Dolezal. 2006. Detecting local adaptation in widespread grassland species- The importance of scale and local plant community. *J. Ecol.* 94:1130-1142.
- Bischoff, A., T. Steinger y H. Müller-Schärer. 2010. The importance of plant provenance and genotypic diversity of seed material used for ecological restoration. *Restor. Ecol.* 18:338-348.
- Bochet, E., P. García-Fayos, B. Alborch, y J. Tormo. 2007. Soil water availability effects on seed germination account for species segregation in semiarid roadslopes. *Plant Soil.* 295:179-191.
- Borrajo, C. I., A. M. Sánchez-Moreiras y M. J. Reigosa. 2018. Morpho-physiological responses of tall wheatgrass populations to different levels of water stress. *PLoS One* 13:1-17.
- Boukhatem, Z. F., O. Domergue, A. Bekki, C. Merabet, S. Sekkour, F. Bouazza, R. Duponnois, P. de Lajudie y A. Galiana. 2012. Symbiotic characterization and diversity of rhizobia associated with native and introduced acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. *FEMS Microbiol Ecol.* 80:534-547.
- Brukhin, V. y R. Baskar. 2019. A brief note on genes that trigger components of apomixis. *J. Biosci.* 44:1-6.
- Busso, C. A. y A. I. Bolletta. 2007. Perennial grasses of different successional stages under various soil water inputs: Do they differ in root length diversity. *Interciencia* 32:205-212.
- Caine, R. S., X. Yin, J. Sloan, E. L. Harrison, U. Mohammed, T. Fulton, A. K. Biswal, J. Dionora, C. C. Chater, R. A. Coe, A. Bandyopadhyay, E. H. Murchie, R. Swarup, W. P. Quick y J. E. Gray. 2019. Rice with reduced stomatal density conserves water and has improved drought tolerance under future climate conditions. *New Phytol.* 221:371-384.
- Chejara, V. K., P. Kristiansen, R. D. Whalley, B. M. Sindel, y C. Nadolny. 2008. Factors affecting germination of coolatai grass (*Hyparrhenia hirta*). *Weed Sci.* 56:543-548.
- Chieppa, J., T. Brown, P. Giresi, T. E. Juenger, V. Resco de Dios, D. T. Tissue, y M. J. Aspinwall. 2021. Climate and stomatal traits drive covariation in nighttime stomatal conductance and daytime gas exchange rates in a widespread C4 grass. *New Phytol.* 229: 2020-2034.

- Company, T., P. Soriano, E. Estrelles y O. Mayoral. 2019. Seed bank longevity and germination ecology of invasive and native grass species from Mediterranean wetlands. *Folia Geobot.* 54:151-161.
- CONAGUA. Comisión Nacional del Agua. 2021. Servicio Meteorológico Nacional. En:<https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica/>. Consultado 17 Dic, 2021.
- Cruz, P. 1997. Effect of shade on the carbon and nitrogen allocation in a perennial tropical grass, *Dichanthium aristatum*. *J. Exp. Bot.* 48:15:24.
- Curtis and Curtis Seed. 2022. Price of Native Wonder - Native Grass Mixture. En: <https://curtisseed.com/native-wonder-native-grass-mixture/> Consultado 27 enero 2022.
- Dias-Filho M. B. 2000. Growth and biomass allocation of the C4 grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 35:2335-2341.
- Doheny-Adams, T., L. Hunt, P. J. Franks, D. J. Beerling y J. E. Gray. 2012. Genetic manipulation of stomatal density influences stomatal size, plant growth and tolerance to restricted water supply across a growth carbon dioxide gradient. *Philos. Trans. R. Soc.* 367:547-555.
- Dong, C. J., X. L. Wang, y Q. M. Shang. 2011. Salicylic acid regulates sugar metabolism that confers tolerance to salinity stress in cucumber seedlings. *Sci Hort.* 129:629-636.
- Drake, P. L., R. H. Froend, P.J y P. J. Franks. 2013. Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *J. Exp. Bot.* 64: 495-505.
- Dunn, J., L. Hunt, M. Afsharinagar, M. Al Meselmani, A. Mitchell, R. Howells, E. Wallington, A. J. Fleming y J. E. Gray. 2019. Reduced stomatal density in bread wheat leads to increased water-use efficiency. *J. Exp. Bot.* 70:4737-4747.
- Esqueda, M., R. Carrillo y M. Sosa. 2004. Emergencia y sobrevivencia de gramíneas inoculadas con biofertilizantes en condiciones de invernadero. *Tec. Pec. Méx.* 42:459-475.
- Estrada-Castillón, E. y J. Á. Villarreal-Quintanilla. 2010. Flora del centro del estado de Chihuahua, México. *Acta Bot. Mex.* 92:51-118.
- Estrada-Castillón, E., L. Scott-Morales, J. A. Villarreal-Quintanilla, E. Jurado-Ibarra, M. Cotera-Correa, C. Cantú-Ayala y J. García-Pérez. 2010. Clasificación de los pastizales halófilos del noreste de México asociados

- con perrito de las praderas (*Cynomys mexicanus*): Diversidad y endemismo de especies. *Rev. Mex. Biodivers.* 81:401-416.
- Franks, P. J., T. W. Doheny-Adams, Z. J. Britton-Harper y J. E. Gray. 2015. Increasing water-use efficiency directly through genetic manipulation of stomatal density. *New Phytol.* 207:188-195.
- Galmés, J., J. Flexas, R. Savé y H. Medrano. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: Responses to water stress and recovery. *Plant Soil.* 290:139-155.
- Ghoulam, C., A. Foursy y K. Fares. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 47:39-50.
- Giday, H., D. Fanourakis, K. H. Kjaer, I. S. Fomsgaard, y C. O. Ottosen. 2014. Threshold response of stomatal closing ability to leaf abscisic acid concentration during growth. *J. Exp. Bot.* 65:4361-4370.
- Gil Marín, J. A., R. Rodríguez, D. J. Cantú y A. Zermeño. 2006. Resistencia estomática, transpiración y potencial hídrico. *Terra Latinoam.* 24:355-365.
- Goatley, M., K. Hensler y S. Askew. 2017. Cool-season Turfgrass germination and morphological development comparisons at adjusted osmotic potentials. *Crop Sci.* 57:201-208.
- Hepworth, C., R. S. Caine, E. L. Harrison, J. Sloan, y J. E. Gray. 2018. Stomatal development: focusing on the grasses. *Curr. in Plan Bio.* 41:1-7.
- Hoen, K. 1968. The effect of plant size and developmental stage on summer survival of some perennial grasses. *Aust. J. Exp. Agric.* 8:190-196.
- Hong, T., H. Lin y D. He. 2018. Characteristics and correlations of leaf stomata in different *Aleurites Montana* provenances. *PLoS One* 13:1-10.
- Hughes, J., C. Hepworth, C. Dutton, J. A. Dunn, L. Hunt, J. Stephens, R. Waugh, D. D. Cameron y J. E. Gray. 2017. Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiol.* 174:776-787.
- Iokoi, Z. M. G. (USP). 2004. *Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos.* CWL Publ. Enterp. Inc., Madison. 352.
- James, J. J., T. J. Svejca y M. J. Rinella. 2011. Demographic processes limiting seedling recruitment in arid grassland restoration. *J. Appl. Ecol.* 48:961-969.

- Krichen, K., H. B. Mariem, y M. Chaieb. 2014. Ecophysiological requirements on seed germination of a Mediterranean perennial grass (*Stipa tenacissima* L.) under controlled temperatures and water stress. *S. Afr. J. Bot.* 94:210-217.
- Larson, J. E., R. L. Sheley S. P. Hardegree, P. S. Doescher y J. J. James, 2015. Seed and seedling traits affecting critical life stage transitions and recruitment outcomes in dryland grasses. *J. Appl. Ecol.* 52:199-209.
- Le S., C., Roumet, G. Durigan, L. Cancian y A. Fidelis. 2021. Variation in biomass allocation and root functional parameters in response to fire history in Brazilian savannas. *J. of Eco.* 109:4143-4157.
- Lewandowski, W., T. E. Erickson, K. W. Dixon y J. C Stevens. 2017. Increasing the germination envelope under water stress improves seedling emergence in two dominant grass species across different pulse rainfall events. *J. Appl. Ecol.* 54:997-1007.
- Li, J., Z. Cang, F. Jiao, X. Bai, D. Zhang y R. Zhai. 2017. Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 16:82-88.
- Li, R., F. Shi y K. Fukuda. 2010. Interactive effects of salt and alkali stresses on seed germination, germination recovery, and seedling growth of a halophyte *Spartina alterniflora* (*Poaceae*). *S. Afr. J. Bot.* 76:380-387.
- Liu, Y., Q. Wang, Y. Zhang, J. Cui, G. Chen, B. Xie, C. Wu y H. Liu. 2014. Synergistic and antagonistic effects of salinity and pH on germination in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *PLoS One* 9:23-25.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2:176-177.
- Manjarrez-Dominguez, C., A. Pinedo-Alvarez, C. Pinedo-Alvarez, F. Villarreal-Guerrero y L. Cortes-Palacios. 2015. Vegetation landscape analysis due to land use changes on arid lands. *Pol. J. Ecol.* 63:167-175.
- Marcum, K. B. 1999. Salinity tolerance mechanisms of grasses in the subfamily *chloridoideae*. *Crop Sci.* 39:1153-1160.
- Martinez, J. Á., N. Durán, R. José, D. R. González y S. Mena. 2020. Áreas con aptitud ambiental para [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México por efecto del cambio climático. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 11:49-62.
- Mas, J.F., A. Velázquez, J. R. Díaz-Gallegos, R. Mayorga-Saucedo, C. Alcántara, G. Bocco, R. Castro, T. Fernández y A. Pérez-Vega. 2004. Assessing land use/cover changes: A nationwide multidecade spatial database for Mexico. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf.* 5:249-261.

- McCormick, J. I., R. C. Hayes, G. D. Li, y M. R. Norton. 2014. A review of pasture establishment by under sowing with special reference to the mixed farming zone of south-eastern Australia. *Crop Pasture Sci.* 65:956-972.
- Merino-Martín, L., C. Courtauld, L. Commander, S. Turner, W. Lewandrowski y J. Stevens. 2017. Interactions between seed functional traits and burial depth regulate germination and seedling emergence under water stress in species from semi-arid environments. *J. Arid Environ.* 147:25-33.
- Miranda, T., A. Suset, A. Cruz y H. Machado. 2007. El Desarrollo sostenible. Perspectivas y enfoques en una nueva época. *Past. y Forr.* 30:191-204.
- Miyazawa, S. I., N. J. Livingston, D. H. Turpin. 2006. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa*, *P. deltoides*). *J. Exp. Bot.* 57:373-380.
- Mora, O. F. y A. B. Melgarejo. 2010. Variabilidad genética, diversidad fenotípica e identificación de genotipos sobresalientes de papa. *Rev. Méx. Cienc. Agri.* 1:579-592.
- Morales, C. R., A. Quero, J. Pérez, A. Hernández y O. Le-Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia* 42:767-775.
- Morales, C. R., R. Quero y C. Avendaño. 2007. Caracterización de la diversidad nativa del zacate banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.], mediante su nivel de ploidía en México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 45:263-278.
- Morales, C., C. A. Arrazate, A. M. Castillo, K. Del Carmen Gil Vega, A. Q. Carrillo, P. J. Guerra y M. M. Salvador. 2016. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 7:455-469.
- Morales, N. C. R. 2008. Metodología para la recolecta y conservación de germoplasma de plantas forrajeras en las zonas áridas y semiáridas de México. Folleto Técnico No. 21. Sitio Experimental "La Campana", INIFAP. Chihuahua, Chih.
- Morales, N. C. y A. Melgoza. 2010. Características productivas de zacates forrajeros importantes en el norte de México. Folleto Técnico No. 28. S. E. La Campana-Madera. INIFAP-SAGARPA. Chihuahua, Chih.
- Morales-Nieto, C. R., A. Quero-Carrillo, J. Pérez-Pérez, A. Hernández-Garay, y O. Le-Blanc. 2008. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de pasto banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] en México. *Agrociencia* 42:767-775.

- Moreno, E., A. Noelia, C. Peichoto y V. Solís. 2018. Variabilidad genética en poblaciones de *Elionurus muticus* (*Poaceae*) de corrientes, argentina, a partir de marcadores moleculares de ADN nuclear y cloroplástico. *Soc. Argentina Bot.* 53:267-278.
- Moreno, G. B., M. E. García, C. Q. Rascón y S. G. Aguado. 2012. Crecimiento y establecimiento de plántulas de *Bouteloua gracilis* (Kunth) Leg. ex Griffithis y *Eragrosti curvula* var. confera, bajo un régimen simulado de lluvia *Rev. Fitotec. Mex.* 35:299-308.
- Mummey, D. L., M. E. Herget, K. M. Hufford y L. Shreading. 2016. Germination timing and seedling growth of *Poa secunda* and the invasive grass, *Bromus tectorum*, in response to temperature: evaluating biotypes for seedling traits that improve establishment. *Ecol. Rest.* 34:200-208.
- Munns, R. y A. Termaat. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 13:143-160.
- Naz, N., M. Hameed, M. Ashraf, F. Al-Qurainy y M. Arshad. 2010. Relationships between gas-exchange characteristics y stomatal structural modifications in some desert grasses under high salinity. *Photosynthetica* 48:446-456.
- NOAA. National Oceanic and Atmospheric Administration. 2021. One step A NOAA Data Search Platform. En: <https://data.noaa.gov/onestop/>. Consultado 17 Dic, 2021.
- O'Mara, F. P. 2012. The role of grasslands in food security y climate change. *Ann. Bot.* 110:1263-1270.
- PACP-Ch, 2011. Plan de Acción para la Conservación y Uso Sustentable de los Pastizales del Desierto Chihuahuense en el Estado de Chihuahua 2011-2016. Eds. Guzmán-Aranda, J. C., J. Hoth y E. Blanco, Gobierno del Estado de Chihuahua, México.
- Padilla C. y Y. Sardiñas. 2005. Degradación y recuperación de los pastizales. *Revi. Cub. Cie. Agrí.* 39:515-521.
- Parida, A. K. y A. B. Das. 2005. Salt tolerance y salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60:324-349.
- Patanè, C., A. Saita, y O. Sortino. 2013. Comparative effects of salt and water stress on seed germination and early embryo growth in two cultivars of sweet sorghum. *J. Agron. Crop Sci.* 199:30-37.
- Paz-Pellat, F., J. Argumedo Espinoza, C. O. Cruz Gaistardo, J. D. Etchevers-Barra y B. H. J. De Jong. 2016. Spatial y temporal distribution of soil organic carbon in the terrestrial ecosystems of Mexico. *Terra Latinoam.* 34:289-310.

- Pedrini, S., W. Lewandowski, J. C. Stevens y K. W. Dixon 2019. Optimising seed processing techniques to improve germination and sowability of native grasses for ecological restoration. *Plant Biol.* 21:415-424.
- Pedrini, S., J. C. Stevens y K. W. Dixon. 2021. Seed encrusting with salicylic acid: A novel approach to improve establishment of grass species in ecological restoration. *PLoS One* 16:1-18.
- Ponce, A. 2012. Función ecológica de la contracción de raíces bajo sequía en especies de plantas suculentas: estudio de caso en agaváceas y cactáceas. Tesis de Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. San Luis Potosí. S.L.P. México.
- Posada, S., J. Cerón, J. Arenas, J. Hamedt y A. Álvarez. 2013. Evaluation of ryegrass (*Lolium* sp.) establishment in kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) paddocks using zero tillage. *Med. Vet. y Zootec.* 8:23-32.
- Possley, J. y J. Maschinski. 2006. Competitive Effects of the Invasive Grass *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb. on Pine Rockland Vegetation. *Nat. Areas J.* 26:391-395.
- Qi, M. Q. y R. E. Redmann. 1993. Seed germination and seedling survival of C3 and C4 grasses under water stress. *J. Arid Environ.* 24:277-285.
- Qian, Y. y J. D. Fry. 1997. Water relations y drought tolerance of four turfgrasses. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122:129-133.
- Quarrie, S.A. y H.G. Jones. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J. Exp. Bot.* 28:192-203.
- Quero-Carrillo AR., L. Miranda-Jiménez., F.J. Hernández-Guzmán. y F. Rubio-Aguirre. 2014. Mejora del establecimiento de praderas de temporal. Colegio de Postgraduados. Estado de México. México. Folleto Técnico. 31 p.
- Quero-Carrillo, A. R., J. F. Villanueva-Ávalos., C. R. Morales-Nieto., J. F., Enríquez-Quiroz., E. D. Bolaños-Aguilar, J. Castillo-Huchim y F. Herrera-Cedano. 2012. Manual de evaluación de recursos genéticos de gramíneas y leguminosas forrajeras. INIFAP-CIRPAC. Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. Folleto Técnico, 22 p.
- R Core Team. 2021. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raven, J. A. 2014. Speedy small stomata?. *J. Exp. Bot.* 65:1415-1424.
- Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichhorn. 1991. Biología de las plantas, volumen 2. 1a ed. Editorial Reverté. S. A. Barcelona, España.

- Rico, G. 1961. Relación entre el contenido de agua en el suelo y la apertura de estomas. *Acta Agro.* 11:63-85.
- Rodés, G. R. y O. M. Collazo. 2006. Manual de prácticas de fotosíntesis. 1a ed. Editorial las prensas de ciencias, UNAM. México.
- Ruiz, M. y O. Terenti. 2012. Germination of four grasses under salt stress. *Phyton.* 81:169-176.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 2006. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- Sáenz, E., R. Saucedo, C. Morales, P. Jurado, C. Lara, A. Melgoza y J. Ortega. 2015. Producción y calidad de semilla de pastos forrajeros como respuesta a la fertilización en Aldama, Chihuahua. *Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable* 9:111-119.
- Sala, O. E. y W. K. Lauenroth. 1982. Small rainfall events: an ecological role in semiarid regions. *Oec.* 53:301-304.
- Sánchez-Gutiérrez, R. A, J. Hanson, C. Jones, P. Jurado-Guerra, E. Santellano-Estrada, A. Melgoza-Castillo y C. Morales-Nieto. 2020. Caracterización morfológica de genotipos de pasto Buffel con potencial para producción de forraje y semilla. *Rev. Fitotec. Mex.* 3:343-347.
- Scheinvar, E., N. Gámez, G. Castellanos-Morales, E. Aguirre-Planter y L. E. Eguiarte. 2017. Neogene y Pleistocene history of *Agave lechuguilla* in the Chihuahuan Desert. *J. Biogeogr.* 44:322-334.
- Schellenberg, M. P., B. Biliget, G. J. McLeod y Z. Wang. 2012. Phenotypic variation of side-oats grama grass [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] collections from the Canadian prairie. *Can. J. Plant Sci.* 92:1043-1048.
- Schneider, R. F. y A. Meyer. 2017. How plasticity, genetic assimilation and cryptic genetic variation may contribute to adaptive radiations. *Mol. Ecol.* 26:330-350.
- Schuster, M. J., P. D. Wragg y P. B. Reich. 2018. Using revegetation to suppress invasive plants in grasslands y forests. *J. Appl. Ecol.* 55:2362-2373.
- Seepaul, R., B. Macoon y K. R. Reddy. 2012. Ecotypic differences in switchgrass seed germination responses to in vitro osmotic stress. *Seed Technology.* 34:173-182.
- SEMARNAT. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Ecosistemas terrestres. En: Informe de la situación del medio ambiente en México. <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Cap2 Ecosistemas.pdf>. Consultado 17 Dic, 2021.

- Sheikh-Mohamadi, M. H., N. Etemadi, A. Nikbakht, M. Farajpour, M., Arab y M. M Majidi. 2018. Wheatgrass germination and seedling growth under osmotic stress. *J. Agron.* 110:572-585.
- Sierra, T. J. S., M. M. H. Royo y R. E. Gutiérrez. 2014. El zacate banderita [*Bouteloua curtipendula* (Mich.) Torr.] en Chihuahua. INIFAP. Chihuahua, México.
- Silmara, C. y S. Juliano. 2004. Proceso germinativo de semillas de paneira sobre estrés hídrico y salino. *Pesqui. Agropec. Bras.* 39:24-31.
- Souza, F. H. D. D., M. Gusmão, M. Cavallari, y W. Barioni. 2020. Characterization of the potential of native grasses for use as lawns. *Ornam. Hortic.* 26:109-120.
- Stover, H. J., M. A. Naeth y S. R. Wilkinson. 2017. Relative performance of native cultivar y wild collected seed for grassland restoration. *Ecol. Eng.* 103:141-145.
- Stumpf, F., M. K. Schneider, A. Keller, A. Mayr, T. Rentschler, R. G. Meuli, M. Schaepman y F. Liebisch. 2020. Spatial monitoring of grassland management using multi-temporal satellite imagery. *Ecol. Indic.* 113:106201.
- Tácuna, R. E., L. Aguirre y E. R. Flores. 2015. Influencia de la revegetación con especies nativas y la incorporación de materia orgánica en la recuperación de pastizales degradados. *Ecol. Apl.* 14:191-200.
- Taleisnik, E., A. A. Rodríguez, D. Bustos, L. Erdei, L. Ortega y M. E. Senn. 2009. Leaf expansion in grasses under salt stress. *J. Plant Physiol.* 166:1123-1140.
- Tanaka, Y., S. S. Sugano, T. Shimada, y I. Hara-Nishimura. 2013. Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in *Arabidopsis*. *New Phytol.* 198:757-764.
- Van den Berg, L., y Y. J. Zeng. 2006. Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *S. Afr. J. Bot.* 72:284-286.
- Velásquez, M., F. Hernández, J. F. Cervantes y H. G. Gámez. 2015. Establecimiento de pastos nativos e introducidos en zonas semiáridas de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. San Luis Potosí, Mx.
- Villagra, P. E., C. B. Passera, S. Greco, C. Sartor, J. N. Aranibar, P. A. Meglioli, y C. V. Riveros. 2017. Uso de plantas nativas en la restauración y recuperación productiva de ambientes salinos de las zonas áridas de la

región del Monte, Argentina. Ambientes salinos y alcalinos de la Argentina. Universidad Católica de Córdoba-Orientación Gráfica Editora, Córdoba, Argentina. 419-444.

- Xu, Z. y G. Zhou. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *J. Exp. Bot.* 59:3317-3325.
- Zhang, A.; L. Cui, G. Pan, L. Li, Q. Hussain, X. Zhang, J. Zheng y D. Crowley. 2010. Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China. *Agric. Ecosyst. Environ.* 139:469-475.
- Zhang, Q., K. Rue, y J. Mueller. 2014. The effect of glycinebetaine priming on seed germination of six turfgrass species under drought, salinity, or temperature stress. *Hort Science* 49:1454-1460.
- Zhang, Q., S. Wang, y K. Rue. 2011. Salinity tolerance of 12 turfgrasses in three germination media. *Hort Science* 46:651-654.
- Zhang, Z., X. Luo, D. Chen, L. Chen y X. Hu. 2021. Seed germination traits predict seedling emergence rather than survival of *Stipa breviflora* in populations along a latitude gradient. *Land Degrad. Dev.* 32:4417-4429.
- Zhu, J., Q. Yu, C. Xu, J. Li, y G. Qin. 2018. Rapid estimation of stomatal density and Stomatal area of plant leaves based on object-oriented classification and its ecological trade-off strategy analysis. *Forests* 9:1-18.