

## DIFFERENTIAL EFFECT OF SALINITY ON GROWTH, NUTRIENT CONCENTRATION AND CHLOROPHYLL IN SUGARCANE VARIETIES MEX 69-290 AND CP 72-2086

### EFFECTO DIFERENCIAL DE LA SALINIDAD EN CRECIMIENTO, CONCENTRACIÓN NUTRIMENTAL Y CLOROFILA EN VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR MEX 69-290 Y CP 72-2086

Odón Castañeda-Castro<sup>1</sup>, Miriam Cristina Pastelín-Solano<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>,  
Eduardo Ariel Solano-Pastelín<sup>3</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Prolongación de Oriente 6 No. 1009, 94340 Orizaba, Veracruz, México. (odcastaneda@uv.mx; mpastellin@uv.mx). <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. (tlibia@colpos.mx). <sup>3</sup>Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Camino Peñuela-Amatlán, Peñuela, Amatlán de los Reyes, Veracruz 94945, Mexico. (eduardoarielp@gmail.com). <sup>4</sup>Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba. 94953 Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. (fernandg@colpos.mx).

#### ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) is moderately sensitive to salinity and the effects on plant performance vary according to stress level and genotype. This study aimed to evaluate the effect of salt stress induced by application of different NaCl levels in the irrigation solution on plant height, indirect index of chlorophylls (SPAD), and macronutrients concentration (N, P, K, Ca, Mg, and S) and Na in leaves of two sugarcane varieties: CP 72-2086 and Mex 69-290. The experiment was set in a completely randomized design with a 2×5 factorial arrangement. The study factors were sugarcane variety (CP 72-2086 and Mex 69-290) and NaCl concentration (0.0, 71.8, 143.6, 215.4, and 282.7 mM NaCl). Salinity as a single factor negatively affected plant height, SPAD units and N and P concentration in leaves; Ca concentrations increased, while K, Mg and S remained unaffected by the tested NaCl levels. Mex 69-290 grew higher and concentrated greater levels of N and K. Interactions of factors showed that salinity reduced growth in both varieties, but this reduction was more pronounced in CP 72-2086. SPAD units were also significantly reduced by salinity in both varieties. Concentrations of N and P in leaves decreased in both varieties in response to NaCl, while those of K and Ca increased in Mex 69-290. Concentration of Na was higher in Mex 69-290 which exhibited better performance than

#### RESUMEN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbridos) tiene sensibilidad moderada a la salinidad y los efectos de ésta en el rendimiento de la planta varían según el nivel de estrés y el genotipo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del estrés salino inducido por la aplicación de niveles de NaCl diferentes en la solución de riego en altura de la planta, índice indirecto de clorofilas (SPAD), concentraciones de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg y S) y Na en hojas de dos variedades de caña de azúcar: CP 72-2086 y Mex 69-290. El experimento se estableció en diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 2×5. Los factores de estudio fueron la variedad de caña de azúcar (CP 72-2086 y Mex 69-290) y la concentración de NaCl (0.0, 71.8, 143.6, 215.4 y 282.7 mM NaCl). La salinidad como factor único afectó de manera negativa la altura de la planta, unidades SPAD y concentración de N y P en las hojas; las concentraciones de Ca aumentaron, mientras que las de K, Mg y S no mostraron efecto de los niveles de NaCl probados. La variedad Mex 69-290 alcanzó mayor altura y concentró niveles mayores de N y K. Las interacciones de factores mostraron que la salinidad redujo el crecimiento en ambas variedades, pero dicha reducción fue más marcada en CP 72-2086. Las unidades SPAD presentaron reducción significativa por la salinidad en ambas variedades. La concentración de N y P en hojas disminuyó en ambas variedades en respuesta al NaCl, mientras que la de K y Ca aumentó en Mex 69-290. La concentración de Na fue mayor en Mex 69-290, la cual exhibió un desempeño mejor que CP 72-2086. La concentración de Na en las hojas aumentó en proporción directa con las concentraciones de

\* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8496-2095>

Received: February, 2021. Approved: October, 2021.

Published in *Agrociencia* 55: 597-610. 2021.

CP 72-2086. Sodium concentrations in leaves increased in direct relation to the tested NaCl concentrations. Mex 69-290 reached higher concentrations of Na in leave tissues but displayed better health than CP 72-2086. Thus, the variety Mex 69-290 showed more efficient Na-tolerance mechanisms related to Ca and K concentrations, and an indirect chlorophyll index better than CP 72-2086.

**Key words:** Poaceae, *Saccharum* spp., plant nutrition, osmotic stress, sodium chloride, soil sodium content.

## INTRODUCTION

The Mexican variety Mex 69-290 comes from the hybridization between the Mexican varieties Mex 56-476 and Mex 53-142 under those rainfed conditions that predominate in Córdoba, Veracruz (Senties-Herrera *et al.*, 2018). The American variety CP 72-2086 was produced by crossing the varieties CP 62-374 and CP 63-588 from Canal Point, Florida under irrigated conditions (Schueneman *et al.*, 2008). Therefore, they may exhibit different responses under osmotic stress.

The sugarcane agroindustry has great social, cultural, political and economic importance in Mexico, since its annual production of 53.8 million Mg (tons) is valued at 2.59 billion USD. It accounts for 11.6% of the total value generated by agro-industrial raw materials and is the second most important agricultural product in the country, just after maize (USDA, 2019). Mexico is the sixth among the largest producers of sugarcane in the world; its cultivated area is around 800 thousand ha per year. The 164 397 sugarcane farmers and 51 mills in the sector generate annually 450 000 direct jobs (11.35% of food agroindustry total), which benefit 2.3 million people (Gómez-Merino *et al.*, 2017; USDA *et al.*, 2019). This agroindustry is the main economic activity in 15 states, and there are 261 municipalities where sugarcane is planted and processed; roughly estimated, it is present in 667 of the 2546 municipalities in the country (USDA, 2019).

Increased productivity and reduced production costs are some of the challenges the sugarcane industry needs to meet to become more competitive. Sugarcane breeding programs and the evaluation of the responses of different genotypes to contrasting environmental conditions and stresses are some of

NaCl probadas. Mex 69-290 alcanzó concentraciones más altas de Na en los tejidos de las hojas, pero mostró mejor salud que CP 72-2086. Por lo tanto, la variedad Mex 69-290 mostró mecanismos de tolerancia al Na más eficientes en relación con las concentraciones de Ca y K y un mejor índice indirecto de clorofila que CP 72-2086.

**Palabras clave:** Poaceae, *Saccharum* spp., nutrición vegetal, estrés osmótico, cloruro de sodio, contenido de sodio del suelo.

## INTRODUCCIÓN

La variedad mexicana Mex 69-290 proviene de la hibridación entre las variedades mexicanas Mex 56-476 y Mex 53-142 bajo las condiciones de secano predominantes en Córdoba, Veracruz (Senties-Herrera *et al.*, 2018). La variedad estadounidense CP 72-2086 se produjo cruzando las variedades CP 62-374 y CP 63-588 de Canal Point, Florida, bajo condiciones de riego (Schueneman *et al.*, 2008). Por lo tanto, pueden presentar diferentes respuestas al estrés osmótico.

La agroindustria de la caña de azúcar es de gran importancia social, cultural, política y económica en México, ya que su producción anual de 53.8 millones de Mg (toneladas) está valorada en 2.59 mil millones de dólares. La caña de azúcar representa el 11.6% del valor total generado por las materias primas agroindustriales y es el segundo producto agrícola más importante del país, sólo después del maíz (USDA, 2019). México es el sexto productor principal de caña de azúcar del mundo; su superficie cultivada es de alrededor de 800 mil ha al año. Los 164 397 productores de caña y 51 ingenios del sector generan 450 000 empleos directos anuales (11.35% del total de la agroindustria alimentaria), los cuales benefician a 2.3 millones de personas (Gómez-Merino *et al.*, 2017; USDA, 2019). Esta agroindustria es la actividad económica principal en 15 estados y existen 261 municipios donde se siembra y procesa la caña de azúcar; una estimación aproximada es que está presente en 667 de los 2546 municipios del país (USDA, 2019).

El aumento de la productividad y la reducción en los costos de producción son algunos de los desafíos que la industria de la caña de azúcar debe enfrentar para ser más competitiva. Los programas de mejora genética de caña de azúcar y la evaluación de las respuestas de los diversos genotipos a estrés ambiental

the strategies that would help cane producers to meet these aims (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Moreover, to protect and enhance production is of pivotal importance for Mexico, since it is one of the most vulnerable countries to the negative effects of global climate change in agriculture.

Sugarcane is moderately sensitive to soil salinity and the effects on crop yield vary according to the level of stress imposed by salinity and the genotype (Mansoori *et al.*, 2014). Climate change causes heat stress, with a concomitant depletion of groundwater resources and increase of saline contamination of inland soils, especially in arid, semi-arid and coastal agricultural areas, which are more vulnerable to climate change impacts on soil salinity. Since 60% of the Mexico territory is dominated by arid and semi-arid lands, and Mexico is highly vulnerable to climate change, our study is decisive to assess the potential of these sugarcane varieties for their further establishment in soils exhibiting constraints due to salinity. The hypothesis in this study was that the evaluated varieties would display different strategies to cope with salt stress. Thus, the aim of this study was to analyze the effects of different levels of NaCl applied through irrigation water on plant height, indirect index of chlorophylls measured by SPAD units, and concentrations of macronutrients and Na in the varieties CP 72-2086 and Mex 69-290.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental conditions and plant material

The experiment was carried out in a rectangular-shaped A-frame greenhouse covered with 600-gauge polyethylene in Amatlán de los Reyes, Veracruz, Mexico (18° 51' N, 96° 55' W, altitude 720 m). The zone has a tropical, humid climate, with summer rains and mean annual temperature of 20 °C, maximum of 35 °C and minimum of 10 °C. Mean annual rainfall is 1807 mm.

Three-month-old sugarcane (*Saccharum* spp.) plants of the varieties CP 72-2086 and Mex 69-290 propagated *in vitro* were established in a substrate (Table 1) which consisted of a mixture of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v).

### Treatments

The sugarcane plants were treated for 25 d with different concentrations of sodium chloride 0.0, 71.8, 143.6, 215.4,

y condiciones contrastantes son algunas de las estrategias que ayudarían a los productores de caña a cumplir estas metas (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Además, proteger y mejorar la producción es de importancia vital para México, ya que es uno de los países más vulnerables a los efectos negativos del cambio climático global en la agricultura.

La caña de azúcar tiene sensibilidad moderada a la salinidad del suelo y los efectos en el rendimiento del cultivo varían de acuerdo con el nivel de estrés impuesto por la salinidad y el genotipo (Mansoori *et al.*, 2014). El cambio climático causa estrés por calor, con un agotamiento concomitante de los recursos de agua subterránea y un incremento en la contaminación salina de los suelos tierra adentro, en especial en áreas agrícolas áridas, semiáridas y costeras, las cuales son más vulnerables a los impactos del cambio climático en la salinidad del suelo. Ya que el 60% del territorio de México está dominado por tierras áridas y semiáridas, y México muestra vulnerabilidad alta al cambio climático, nuestro estudio es decisivo para evaluar el potencial de estas variedades de caña de azúcar para su establecimiento futuro en suelos que presentan limitaciones por salinidad. La hipótesis de este estudio fue que las variedades evaluadas mostrarían estrategias diferentes para hacer frente al estrés salino. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar los efectos de niveles de NaCl diferentes aplicados a través de irrigación en la altura de la planta, índice indirecto de clorofilas medido por unidades SPAD y concentraciones de macronutrientes y Na en las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones experimentales y material vegetal

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de base rectangular y techo triangular cubierto con polietileno calibre 600 en Amatlán de los Reyes, Veracruz, México (18° 51' N, 96° 55' O, altitud de 720 m). La zona tiene un clima tropical húmedo, con lluvias en verano y temperatura media anual de 20 °C, máxima de 35 °C y mínima de 10 °C. La precipitación media anual es de 1807 mm.

Plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) de tres meses de edad de las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 propagadas *in vitro* se establecieron en un sustrato (Cuadro 1) consistente en una mezcla de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v).

**Table 1. Physical and chemical properties of the substrate used to test the response of sugarcane (*Saccharum spp.*) CP 72-2086 and Mex 69-290 varieties to different supplied concentrations of sodium chloride (NaCl) under greenhouse conditions for 25 d.****Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del sustrato utilizado para probar la respuesta de la caña de azúcar (*Saccharum spp.*) variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 a concentraciones diferentes de cloruro de sodio (NaCl) suministradas en condiciones de invernadero durante 25 d.**

| Texture               | Clay  | Silt  | Sand  | OM    | FC                                  | PWP                    | pH    | EC                    | CEC   | Ca                                    | Mg     | K                            | Na                           |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|------------------------|-------|-----------------------|-------|---------------------------------------|--------|------------------------------|------------------------------|
|                       | %     |       |       |       | (cm <sup>3</sup> cm <sup>-3</sup> ) |                        |       | (dS m <sup>-1</sup> ) |       | (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) |        |                              |                              |
| Sandy loam            | 16.72 | 22.00 | 61.28 | 18.57 | 0.49                                | 0.37                   | 6.42  | 0.86                  | 34.08 | 25.50                                 | 17.70  | 0.56                         | 0.05                         |
| N                     | P     | K     | Ca    | Mg    | Na                                  | Fe                     | Cu    | Mn                    | Mo    | B                                     | Cl     | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |
| (g kg <sup>-1</sup> ) |       |       |       |       |                                     | (mg kg <sup>-1</sup> ) |       |                       |       |                                       |        |                              |                              |
| 9.70                  | 0.006 | 0.022 | 0.103 | 0.017 | 0.092                               | 0.085                  | 0.046 | 0.09                  | 0.04  | 0.67                                  | 125.01 | 106.40                       | 47.60                        |

The substrate consisted of a mixture of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v). OM: Organic Matter; FC: Field Capacity; PWP: Permanent Wilting Point; EC: Electrical Conductivity; CEC: Cation Exchange Capacity. ♦ El sustrato consistió en una mezcla de bagazo de caña de azúcar compostado y Agrolita® (75/25; v/v). OM: Materia Orgánica; FC: capacidad de campo; PWP: punto de marchitamiento permanente; EC: conductividad eléctrica; CEC: Capacidad de intercambio catiónico.

and 282.7 mM NaCl, which corresponded to 0.08, 7.02, 12.2, 18.3, and 24.6 dS m<sup>-1</sup>, of electric conductivity. Solutions of sodium chloride at different concentrations according to the treatments were manually supplied through irrigation water (100 mL per pot) every 72 h without providing any additional nutrient solution. Analytical grade sodium chloride was provided by Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany).

#### Plant height and indirect chlorophyll determination

Plant growth was evaluated by measuring plant height at the end of the saline treatments. A Stanley Power Lock 3.5 m (12') measuring tape (Stanley; Towson, MD, USA) was used to evaluate this variable. The chlorophyll index was measured indirectly by SPAD units using a SPAD-502 Plus chlorophyll meter (Konica Minolta; Tokyo, Japan). The third youngest leaf of each plant was selected, and readings were taken at the end of the saline treatments. Each treatment had 10 replicates.

#### Nutrient analysis

Nutrient analysis was carried out at the end of the 25-d treatment period. Plant leaves were dried at 72 °C for 48 h in a forced-air oven (Riossa Hof-125; Monterrey, NL, Mexico). Once dried, the samples were ground in a laboratory mill (Thomas-Wiley Model 4; Philadelphia, PA, USA) with a 1.0-mm sieve. Nitrogen (N) concentrations were determined by the semi-micro Kjeldahl method, while the concentrations of P, K, Ca, S, Mg, and Na were determined through wet digestion of the

#### Tratamientos

Las plantas de caña de azúcar se trataron durante 25 d con concentraciones diferentes de cloruro de sodio 0.0, 71.8, 143.6, 215.4 y 282.7 mM NaCl las cuales correspondieron a 0.08, 7.02, 12.2, 18.3 y 24.6 dS m<sup>-1</sup> de conductividad eléctrica. El cloruro de sodio se suministró de forma manual en concentraciones diferentes según los tratamientos por medio del riego (100 mL por maceta) cada 72 h sin agregar ninguna solución nutritiva adicional. El cloruro de sodio grado analítico se obtuvo de Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania).

#### Altura de la planta y determinación indirecta de clorofila

El crecimiento de las plantas se evaluó con la medición de altura de planta al final de los tratamientos salinos. Una cinta métrica Stanley Power Lock de 3.5 m (12') (Stanley; Towson, MD, EE. UU.) se utilizó para medir esta variable. El índice de clorofila se midió indirectamente a través de unidades SPAD con un medidor de clorofila SPAD-502 Plus (Konica Minolta; Tokio, Japón). La tercera hoja más joven de cada planta se seleccionó y se tomaron lecturas al final de los tratamientos salinos. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones.

#### Análisis de nutrimentos

El análisis de nutrimentos se llevó a cabo al final del período de tratamiento de 25 d. Las hojas de las plantas se secan a 72 °C durante 48 h en un horno de aire forzado (Riossa

dry material with a mixture of perchloric and nitric acid. The obtained extracts were read in an inductively coupled plasma optical emission spectrometry equipment (Agilent 725 ICP-OES; Mulgrave, Victoria, Australia). All reagents were provided by Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany).

### Experimental design and statistical analysis

The experiment was established in a completely randomized design with a 2×5 factorial arrangement. The study factors were the variety (Mex 69-290 and CP 72-2086) and the sodium chloride concentration in the irrigation solution (0, 71.8, 143.6, 215.4, and 287.2 mM NaCl). The experimental unit was a 1 L pot with one plant each and ten replicates per treatment. With the data obtained, an ANOVA and means comparison test (Tukey;  $p \leq 0.05$ ) were performed using SAS®.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Effect of NaCl factor on plant height and indirect chlorophyll index

The means of plant height and indirect chlorophyll index were expressed as a function of the NaCl concentration used in irrigation. Both variables were significantly affected, especially in plants exposed to 215.4 and 282.7 mM NaCl (Table 2).

Hof-125; Monterrey, NL, México). Una vez secas, las muestras se molieron en un molino de laboratorio (Thomas-Wiley Modelo 4; Filadelfia, PA, EE. UU.) con un tamiz de 1.0 mm. Las concentraciones de nitrógeno (N) se determinaron por el método semi micro Kjeldahl, en tanto que las concentraciones de P, K, Ca, S, Mg y Na se determinaron por digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico. Los extractos obtenidos se leyeron en un equipo de espectrometría de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (Agilent 725 ICP-OES; Mulgrave, Victoria, Australia). Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemania).

### Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se estableció un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 2×5. Los factores de estudio fueron la variedad (Mex 69-290 y CP 72-2086) y la concentración de cloruro de sodio en la solución de riego (0, 71.8, 143.6, 215.4 y 287.2 mM NaCl). La unidad experimental fue una maceta de 1 L con una planta cada una y diez repeticiones por tratamiento. Con los datos obtenidos se realizó un ANOVA y una prueba de comparación de medias (Tukey;  $p \leq 0.05$ ) con SAS®.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del factor NaCl en la altura de la planta y el índice indirecto de clorofila

Las medias de la altura de la planta y el índice indirecto de clorofila se expresaron en función de la

**Table 2. Effect of the NaCl factor on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.**

**Cuadro 2. Efecto del factor NaCl en altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD en plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto por bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.**

| NaCl concentration (mM) | Plant height (cm) | Indirect chlorophyll index (SPAD units) |
|-------------------------|-------------------|-----------------------------------------|
| 0.0                     | 108.72 ± 4.26 a   | 15.82 ± 2.30 a                          |
| 71.8                    | 101.33 ± 5.42 ab  | 14.23 ± 1.31 a                          |
| 143.6                   | 96.89 ± 6.25 ab   | 14.02 ± 0.77 a                          |
| 215.4                   | 92.21 ± 3.11 b    | 12.27 ± 1.31 b                          |
| 282.7                   | 87.89 ± 3.07 b    | 12.20 ± 2.03 b                          |

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) among NaCl treatments. ♦ Las medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de NaCl.

### Effect of variety factor on plant height and indirect chlorophyll index

The variety Mex 69-290 reached a greater height and outperformed ( $p \leq 0.05$ ) CP 72-2086. Additionally, leaves of Mex 69-290 displayed a better and healthier phenotype as compared to CP 72-2086. The indirect chlorophyll index at 25 d after treatment showed no significant differences between the two varieties (Table 3).

### Effect of the interaction between the variety $\times$ NaCl factors on plant height and indirect chlorophyll index

By observing the results of the effect of the interaction of the study factors, it can be inferred that the varieties had different responses to salinity (Table 4). Although in both varieties there was a negative relationship between growth and NaCl concentration, in the variety CP 72-2086 a growth inhibition of greater magnitude was observed than in the variety Mex 69-290 in all the evaluated NaCl concentrations.

In similar studies, ten sugarcane varieties that were evaluated in response to salt stress (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, and 8.0 dS m<sup>-1</sup>) supplied by the irrigation water for 60 d displayed reduced growth as salinity increased (Simões *et al.*, 2016). In the varieties RB 86-7515 and RB 86-3129, the application of NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, and 200 mM NaCl) in the nutrient solution reduced the concentrations of chlorophyll from approximately 3.5 mg g<sup>-1</sup> in control

concentración de NaCl utilizada en el riego. El efecto fue significativo en ambas variables, en especial en las plantas expuestas a 215.4 y 282.7 mM NaCl (Cuadro 2).

### Efecto del factor variedad en altura de la planta e índice indirecto de clorofila

La variedad Mex 69-290 alcanzó una altura mayor y superó ( $p \leq 0.05$ ) a la CP 72-2086. Además, las hojas de Mex 69-290 mostraron un fenotipo mejor y más saludable comparadas con CP 72-2086. El índice indirecto de clorofila 25 d después del tratamiento no mostró diferencias significativas entre las dos variedades (Cuadro 3).

### Efecto de la interacción entre los factores variedad $\times$ NaCl en altura de la planta e índice indirecto de clorofila

Al observar los resultados del efecto de la interacción de los factores de estudio se puede inferir que las variedades tuvieron respuestas diferentes a la salinidad (Cuadro 4). Aunque hubo relación negativa entre crecimiento y concentración de NaCl en ambas variedades, se observó una inhibición del crecimiento de mayor magnitud en la variedad CP 72-2086 que en la variedad Mex 69-290 con todas las concentraciones de NaCl evaluadas.

En estudios similares, diez variedades de caña de azúcar que se evaluaron en respuesta al estrés salino (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 dS m<sup>-1</sup>) inducido a través del agua de riego durante 60 d mostraron

**Table 3. Effect of variety on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.**

**Cuadro 3. Efecto de la variedad en altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD en plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.**

| Variety    | Plant height (cm) | Indirect chlorophyll index (SPAD units) |
|------------|-------------------|-----------------------------------------|
| CP 72-2086 | 101.5 $\pm$ 5.9 b | 12.9 $\pm$ 2.4 a                        |
| Mex 69-290 | 106.5 $\pm$ 8.4 a | 14.4 $\pm$ 2.3 a                        |

Means  $\pm$  SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey;  $p \leq 0.05$ ) between varieties. ♦ Medias  $\pm$  DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey;  $p \leq 0.05$ ) entre variedades.

**Table 4.** Effect of the interaction of the variety  $\times$  NaCl factors on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

**Cuadro 4.** Efecto de la interacción de los factores variedad  $\times$  NaCl en altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

| Variety    | NaCl (mM) | Plant height (cm)    | Indirect chlorophyll index (SPAD units) |
|------------|-----------|----------------------|-----------------------------------------|
| CP 72-2086 | 0.0       | 110.91 $\pm$ 4.39 ab | 14.25 $\pm$ 1.27 ab                     |
|            | 71.8      | 105.11 $\pm$ 5.28 ab | 14.10 $\pm$ 1.06 ab                     |
|            | 143.6     | 101.12 $\pm$ 3.26 b  | 12.28 $\pm$ 2.08 bc                     |
|            | 215.4     | 98.11 $\pm$ 4.17 c   | 11.47 $\pm$ 1.23 bc                     |
|            | 287.2     | 95.31 $\pm$ 2.45 c   | 10.78 $\pm$ 0.89 c                      |
| Mex 69-290 | 0.0       | 125.85 $\pm$ 6.15 a  | 15.28 $\pm$ 0.32 a                      |
|            | 71.8      | 120.25 $\pm$ 7.16 a  | 14.37 $\pm$ 1.01 ab                     |
|            | 143.6     | 116.43 $\pm$ 4.21 ab | 11.26 $\pm$ 0.42 ab                     |
|            | 215.4     | 114.31 $\pm$ 3.36 ab | 10.24 $\pm$ 2.83 cd                     |
|            | 287.2     | 110.14 $\pm$ 2.37 ab | 8.32 $\pm$ 0.91 d                       |

Means  $\pm$  SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) among treatments. ♦ Medias  $\pm$  DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos.

plants to less than 0.5 mg g<sup>-1</sup> in plants exposed to 200 mM NaCl, and the reduction of chlorophyll was higher in RB 86-7515 (Willadino *et al.*, 2011).

The indirect chlorophyll index was reduced ( $p \leq 0.05$ ) in both varieties starting at 215.4 mM NaCl concentration, with the largest reduction occurring in the variety Mex 69-290, contrary to what was observed in plant height. These results also coincide with those by Shomeili *et al.* (2011), who evaluated the chlorophyll index of the variety CP 48-103 *in vitro* and in hydroponics in response to different NaCl levels (0, 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8% NaCl) and found that the index decreased as the salt concentration in the medium was increased. However, values were much lower compared to other studies, ranging from 2.3 units in control plants to 1.7 in plants treated with 0.8% NaCl, differences that can be attributed to the experimental conditions and plant age (60 and 150 d for the *in vitro* culture and the hydroponic system). In ten sugarcane varieties (Uthong 6, Khon Kaen 80, K 86-161, Khon Kaen 3, 03-4-425, KU60-1, Phill 66-07, B 34-164, Uthong 2, and LF 82-2122) subjected to different water deficit levels, Jangpromma *et al.* (2010) reported an average SPAD unit values of 32.8, within a minimum and maximum range of 23.8 and 38.3, which are higher

un crecimiento reducido a medida que aumentaba la salinidad (Simões *et al.*, 2016). En las variedades RB 86-7515 y RB 86-3129, la aplicación de NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 y 200 mM NaCl) en la solución nutritiva redujo las concentraciones de clorofila aproximadas de 3.5 mg g<sup>-1</sup> en plantas testigo a menos de 0.5 mg g<sup>-1</sup> en plantas expuestas a 200 mM NaCl, y la reducción de clorofila fue mayor en RB 86-7515 (Willadino *et al.*, 2011).

El índice indirecto de clorofila se redujo ( $p \leq 0.05$ ) en ambas variedades a partir de la concentración de 215.4 mM NaCl, con la reducción mayor en la variedad Mex 69-290, contrario a lo observado en altura de planta. Estos resultados también coinciden con los de Shomeili *et al.* (2011), quienes evaluaron el índice de clorofila de la variedad CP 48-103 *in vitro* y en hidroponía en respuesta a diferentes niveles de NaCl (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8% NaCl) y encontraron que el índice disminuyó a medida que la concentración de sal se incrementó en el medio. Sin embargo, los valores fueron mucho menores en comparación con otros estudios, oscilando desde 2.3 unidades en las plantas testigo hasta 1.7 en plantas tratadas con NaCl al 0.8%, diferencias que se pueden atribuir a las condiciones experimentales y a la edad de la planta (60 y 150 d para el cultivo *in vitro* y sistema

than those recorded in the experimental conditions of this study; and also higher than those reported by Shomeili *et al.* (2011).

Mansoori *et al.* (2014) tested four salinity levels (0, 3, 6, and 9 dS m<sup>-1</sup>) in seven sugarcane genotypes and found that the indirect chlorophyll index measured through SPAD units decreased in all genotypes as the salinity level increased in the irrigation water. In the variety C 1051-73 cultivated *in vitro*, concentrations of chlorophyll *a* decreased from more than 200 µg g<sup>-1</sup> fresh weight in control plants to less than 150 µg g<sup>-1</sup> fresh weight in plants exposed to 200 mM NaCl. As well as chlorophyll *b* decreased from nearly 120 µg g<sup>-1</sup> fresh weight in control plants to approximately 80 µg g<sup>-1</sup> fresh weight in plants treated with either 100 or 150 mM NaCl (Gómez *et al.*, 2017).

#### Effect of NaCl factor on macronutrient concentrations

Sugarcane varieties were established in a substrate mixture composed of composted filter cake and Agrolita® (75/25; v/v). Agrolita® is a sterile inert substrate that is chemically stable in neutral and acid pH; filter cake may contain different concentrations of sulphites, phosphate, organic carbon and some amount of N, Ca, Fe, and Mg (Sahu, 2018). Also known as press mud, filter cake is a residue produced by drum filters in sugar processing during juice clarification. As a fresh by-product, it may contain 75-80% moisture, 2-5% sugar and 5-10% fibre. The concentrations of plant mineral nutrients of filter cake vary among studies.

Meunchang *et al.* (2005) and Wongkoon *et al.* (2014) reported 1.8% total N, 0.96% total P, 0.39% total K, 7.1% total Ca, and 0.40% total Mg, with 48% organic matter, a C/N ratio of 14, 52% ash, pH 7.7, and EC 0.80 dS m<sup>-1</sup>. Gonçalves *et al.* (2018) found 71% humidity, 70% organic matter, 14.3 g kg<sup>-1</sup> N, 16.90 g kg<sup>-1</sup> P, 1.5 g kg<sup>-1</sup> K, 23 g kg<sup>-1</sup> Ca, 3.4 g kg<sup>-1</sup> Mg, 405.6 g kg<sup>-1</sup> C, 28.3 g kg<sup>-1</sup> C/N ratio, and pH 6.6. Under the experimental conditions of this study, the substrate composed of 75% composted sugarcane filter cake and 25% Agrolita® contained 0.97% N, 22.1 mg kg<sup>-1</sup> K, 6.39 mg kg<sup>-1</sup> P, 102.6 mg kg<sup>-1</sup> Ca, and 17.4 mg kg<sup>-1</sup> Mg, with 18.57% organic matter, a pH value of 6.42, and an EC of 0.86 dS m<sup>-1</sup>. Since physical and chemical properties, and especially the concentrations of mineral nutrients in

hidropónico). En diez variedades de caña de azúcar (Uthong 6, Khon Kaen 80, K 86-161, Khon Kaen 3, 03-4-425, KU60-1, Phill 66-07, B 34-164, Uthong 2 y LF 82-2122) sometidas a diferentes niveles de déficit hídrico, Jangpromma *et al.* (2010) registraron valores unitarios promedio de SPAD de 32.8, con un mínimo de 23.8 y un máximo de 38.3, los cuales son superiores a los registrados en las condiciones experimentales de este estudio, y también mayores que los obtenidos por Shomeili *et al.* (2011).

Mansoori *et al.* (2014) probaron cuatro niveles de salinidad (0, 3, 6 y 9 dS m<sup>-1</sup>) en siete genotipos de caña de azúcar y encontraron que el índice indirecto de clorofila medido a través de unidades SPAD disminuyó en todos los genotipos a medida que aumentaba el nivel de salinidad en el agua de riego. En la variedad C 1051-73 cultivada *in vitro*, las concentraciones de clorofila *a* disminuyeron desde más de 200 µg g<sup>-1</sup> de peso fresco en plantas testigo a menos de 150 µg g<sup>-1</sup> de peso fresco en plantas expuestas a 200 mM NaCl. Así mismo, la clorofila *b* disminuyó desde casi 120 µg g<sup>-1</sup> de peso fresco en plantas testigo a 80 µg g<sup>-1</sup> aproximados de peso fresco en plantas tratadas con 100 o 150 mM NaCl (Gómez *et al.*, 2017).

#### Efecto del factor NaCl en las concentraciones de macronutrientes

Las variedades de caña de azúcar se establecieron en una mezcla de sustrato compuesta por bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v). La Agrolita® es un sustrato inerte estéril, químicamente estable en pH neutro y ácido. El bagazo fino del jugo filtrado de caña puede contener concentraciones diferentes de sulfitos, fosfato, carbono orgánico y alguna cantidad de N, Ca, Fe y Mg (Sahu, 2018). También conocido como lodo de prensa o torta de filtrado, el bagazo de cachaza es un residuo producido por los filtros de tambor en el procesamiento del azúcar durante la clarificación del jugo. Como subproducto fresco, el bagazo de cachaza puede contener 75-80% de humedad, 2-5% de azúcar y 5-10% de fibras. Las concentraciones de nutrientes minerales del bagazo de cachaza compostado varían entre los estudios.

Meunchang *et al.* (2005) y Wongkoon *et al.* (2014) reportaron 1.8% de N total, 0.96% de P total, 0.39% de K total, 7.1% de Ca total y 0.40% de Mg total, con 48% de materia orgánica, una relación C/N de 14.52% de cenizas, pH 7.7 y conductividad

filter cake vary, absorption and contents of essential elements in plant tissues are consequently affected.

Sugarcane filter cake is one of the most employed sources of organic matter used to increase agricultural productivity, including that of sugarcane (Sahu, 2018). When filter cake is composted, the amounts of organic matter and mineral nutrients are prone to increase (Wongkoon *et al.*, 2014), while the effects of salt stress may be reduced by composted filter cake (Sebastian *et al.*, 2009).

Thus, we observed that concentrations of N and P in leaves were reduced ( $p \leq 0.05$ ) as the concentrations of NaCl in the irrigation water increased. Treatments did not affect K, Mg and S concentrations, whereas Ca concentrations increased with the application of 215.4 and 287.2 mM NaCl, compared to the control. Concentrations of Na in leaf tissues were positively related to the NaCl concentration in the irrigation water (Table 5).

#### Effect of variety factor on macronutrient concentration

When analyzing the effect of the variety factor, Mex 69-290 exhibited higher concentrations of N and K as compared to CP 72-2086 with ( $p \leq 0.05$ ) statistical difference (Table 6). In response to cadmium stress, the variety CP 72-2086 also showed reduced N concentrations in leaves (Trejo-Téllez *et al.*, 2014). Concentrations of P, Ca, Mg, and S showed no significant effects in the tested treatments.

eléctrica (CE)  $0.80 \text{ dS m}^{-1}$ . Gonçalves *et al.* (2018) encontraron 71% de humedad, 70% de materia orgánica,  $14.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ N}$ ,  $16.90 \text{ g kg}^{-1} \text{ P}$ ,  $1.5 \text{ g kg}^{-1} \text{ K}$ ,  $23 \text{ g kg}^{-1} \text{ Ca}$ ,  $3.4 \text{ g kg}^{-1} \text{ Mg}$ ,  $405.6 \text{ g kg}^{-1} \text{ C}$ ,  $28.3 \text{ g kg}^{-1}$  relación C/N y pH 6.6. Bajo las condiciones experimentales de este estudio, el sustrato compuesto por 75% de bagazo de cachaza compostado y 25% de Agrolita® contenía 0.97% N, 22.1 mg kg<sup>-1</sup> K, 6.39 mg kg<sup>-1</sup> P, 102.6 mg kg<sup>-1</sup> Ca y 17.4 mg kg<sup>-1</sup> Mg, con 18.57% de materia orgánica, un valor de pH de 6.42 y CE de  $0.86 \text{ dS m}^{-1}$ . Ya que las propiedades físicas y químicas, y en especial las concentraciones de nutrientes minerales en la cachaza varían, la absorción y el contenido de elementos esenciales en los tejidos vegetales se afectan en consecuencia.

El bagazo de cachaza es una de las fuentes de materia orgánica más utilizadas para aumentar la productividad agrícola, incluida la de la caña de azúcar (Sahu, 2018). Cuando este residuo agroindustrial se somete a compostaje, las cantidades de materia orgánica y nutrientes minerales tienden a aumentar (Wongkoon *et al.*, 2014), mientras que los efectos del estrés salino pueden reducirse mediante la cachaza compostada (Sebastian *et al.*, 2009).

Así observamos que las concentraciones de N y P en las hojas se redujeron ( $p \leq 0.05$ ) a medida que la concentración de NaCl aumentó en el agua de riego. Los tratamientos no afectaron las concentraciones de K, Mg y S; en tanto que las concentraciones de Ca aumentaron con la aplicación de 215.4 y 287.2 mM NaCl, en comparación con el testigo. Las concentraciones de Na

**Table 5. Effect of NaCl concentration on macronutrients and Na concentrations in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.**

**Cuadro 5. Efecto de la concentración de NaCl en la concentración de macronutrientes y Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.**

| NaCl<br>(mM)          | N          | P          | K         | Ca         | Mg        | S         | Na<br>(mg kg <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|------------------------------|
| (g kg <sup>-1</sup> ) |            |            |           |            |           |           |                              |
| 0.0                   | 16.9±0.36a | 1.2±0.14a  | 5.9±0.91a | 4.8±0.63c  | 2.1±0.26a | 1.0±0.13a | 122.5±20.46e                 |
| 71.8                  | 16.6±1.27a | 0.8±0.10b  | 5.2±1.05a | 5.6±0.70bc | 1.8±0.26a | 0.8±0.10a | 1159.1±238.38cd              |
| 143.6                 | 12.9±0.55b | 0.7±0.05b  | 5.9±0.58a | 5.7±0.42bc | 1.9±0.13a | 0.7±0.07a | 3197.9±314.57c               |
| 215.4                 | 13.4±0.62b | 0.9±0.07ab | 5.7±0.53a | 8.6±0.63a  | 2.4±0.12a | 0.9±0.06a | 6073.9±613.54b               |
| 287.2                 | 13.3±0.73b | 0.7±0.09b  | 6.3±1.57a | 7.4±0.91ab | 2.2±0.34a | 0.7±0.11a | 8553.2±1612.79a              |

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) among NaCl treatments. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos con NaCl.

**Table 6. Effect of variety factor on the concentration of macronutrients and Na in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salts stress in greenhouse conditions for 25 d.****Cuadro 6. Efecto del factor variedad en la concentración de macronutrientes y Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.**

| Variety    | N          | P         | K         | Ca<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Mg        | S          | Na<br>(mg kg <sup>-1</sup> ) |
|------------|------------|-----------|-----------|-----------------------------|-----------|------------|------------------------------|
| CP 72-2086 | 14.0±1.04b | 0.9±0.14a | 4.8±0.71b | 6.02±1.04a                  | 2.0±0.24a | 0.8±0.10a  | 3648.1±1581.61a              |
| Mex 69-290 | 15.2±1.21a | 0.8±0.10a | 6.8±0.93a | 6.6±0.86a                   | 2.2±0.24a | 0.9±0.10 a | 3994.5±1952.23a              |

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical difference (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) between varieties. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre variedades.

The varieties also showed no significant differences in Na concentration.

#### Effect of variety × NaCl interaction on macronutrient concentrations

Interactions of the variety × NaCl factors affected ( $p \leq 0.05$ ) the concentrations in the majority of the determined macronutrients (Table 7). As the NaCl level increased, N concentrations decreased and this reduction was different ( $p \leq 0.05$ ), starting at 143.6 mM NaCl concentration upwards, and N lower than

en los tejidos foliares tuvieron relación directa positiva con la concentración de NaCl en el agua de riego (Cuadro 5).

#### Efecto del factor variedad en la concentración de macronutrientes

Al analizar el efecto del factor variedad, Mex 69-290 presentó concentraciones mayores de N y K en comparación con CP 72-2086 con diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 6). En respuesta al estrés por cadmio, la variedad CP 72-2086 también mostró

**Table 7. Effect of the interaction of the variety × NaCl factors on the concentration of macronutrients and Na in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.****Cuadro 7. Efecto de la interacción de los factores variedad × NaCl en la concentración de macronutrientes y Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.**

| Variety    | NaCl<br>(mM) | N            | P          | K<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | Ca          | Mg        | S         | Na<br>(mg kg <sup>-1</sup> ) |
|------------|--------------|--------------|------------|----------------------------|-------------|-----------|-----------|------------------------------|
| CP 72-2086 | 0.0          | 16.4±0.18abc | 1.2±0.14a  | 5.3±0.90ab                 | 4.4±0.50c   | 2.0±0.28a | 0.9±0.12a | 103±16.9c                    |
|            | 71.8         | 14.9±1.31bcd | 0.9±0.10ab | 4.8±0.65ab                 | 5.9±0.72abc | 1.9±0.23a | 0.8±0.09a | 1326±196.4c                  |
|            | 143.6        | 12.1±0.53d   | 0.7±0.08ab | 5.2±0.69ab                 | 5.2±0.49bc  | 1.9±0.21a | 0.7±0.07a | 3374±470.2bc                 |
|            | 215.4        | 14.5±0.10cd  | 0.9±0.09ab | 5.1±0.15ab                 | 9.1±0.81a   | 2.4±0.13a | 0.8±0.06a | 6841±233.5ab                 |
|            | 287.2        | 12.1±0.53d   | 0.6±0.11b  | 3.8±1.09b                  | 6.3±1.04abc | 1.7±0.36a | 0.6±0.11a | 6596±1830.7b                 |
| Mex 69-290 | 0.0          | 17.5±0.30ab  | 1.1±0.15ab | 6.6±0.99ab                 | 5.2±0.79bc  | 2.2±0.29a | 1.1±0.15a | 142±22.1c                    |
|            | 71.8         | 18.3±0.36a   | 0.7±0.11ab | 5.6±1.48ab                 | 5.2±0.76bc  | 1.7±0.33a | 0.8±0.13a | 992±287.4c                   |
|            | 143.6        | 13.6±0.18cd  | 0.7±0.01b  | 6.5±0.05ab                 | 6.2±0.14abc | 2.0±0.01a | 0.8±0.06a | 3022±55.7bc                  |
|            | 215.4        | 12.2±0.18d   | 0.8±0.04ab | 6.4±0.61ab                 | 8.1±0.39abc | 2.3±0.13a | 0.9±0.06a | 5307±667.3b                  |
|            | 287.2        | 14.5±0.20cd  | 0.8±0.04ab | 8.8±0.61a                  | 8.4±0.35ab  | 2.6±0.14a | 0.9±0.04a | 10510±527.9a                 |

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical difference (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) among treatments. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos.

the control. CP 72-2086 maintained ( $p \leq 0.05$ ) N concentrations lower than Mex 69-290.

In this study it is noteworthy that the lowest salinity level applied (71.8 mM) maintained similar N concentration to the control. Increasing salinity linearly reduced the N, P, K, and Mg contents in leaves of the variety RB 867515, but increased Ca, Cl and Na contents (de Lira *et al.*, 2019). These different responses may be attributed to the experimental conditions and tested genotypes. Varieties that exhibited improved salinity stress tolerance contain specific proteins with higher molecular weight under saline condition as compared to those grown under normal conditions, which may be related to higher concentrations of N in tissues (Saxena *et al.*, 2010). Genotypes with efficient mechanisms to cope with salt stress protect the photochemical system and capture reactive oxygen species such as the variety RB 86-7515. This variety exhibits an increased activity of ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT), among other anti-stress enzymes and metabolites (Willadino *et al.*, 2011).

The effect of salt stress on P concentration in plants varies depending on the genotype and culture conditions of the plants. Salinity reduces the P concentration in sugarcane, but this reduction is more pronounced in stems than in leaves in susceptible varieties (Si 94-050 and Co 85-036) contrasted with tolerant ones (C 92-038 and Co 85-004) (Gomathi and Thandapani, 2005). In the experimental conditions of our study, a reduced leaf P concentration was found in CP 72-2086 plants exposed to the highest NaCl concentration (287.2 mM) as compared to the control, whereas in Mex 69-290 no statistical difference among treatments was observed.

In the presence of high Na concentrations in the rhizosphere, K uptake and accumulation in plant tissues can be negatively affected (Shirazi *et al.*, 2005). Therefore, salt tolerance has been correlated with the ability of plants to absorb K instead of Na in saline conditions. In this study, differences ( $p \leq 0.05$ ) were only found with the highest NaCl level (287.2 mM), with contrasting K concentrations between varieties, CP 72-2086 displayed a lower mean than Mex 69-290.

In a saline soil with electrical conductivity of 7 dS m<sup>-1</sup>, Ca concentrations in leaves were reduced by 47.6% compared to the control for four evaluated

concentraciones reducidas de N en hojas (Trejo-Té-llez *et al.*, 2014). Las concentraciones de P, Ca, Mg y S no mostraron efecto significativo de los tratamientos probados. Las variedades tampoco mostraron diferencias significativas en la concentración de Na.

### **Efecto de la interacción variedad × NaCl en las concentraciones de macronutrientes**

Las interacciones de los factores variedad × NaCl afectaron ( $p \leq 0.05$ ) las concentraciones de la mayoría de los macronutrientes determinados (Cuadro 7). A medida que el nivel de NaCl aumentó, las concentraciones de N disminuyeron y esta reducción fue diferente ( $p \leq 0.05$ ) desde la concentración de 143.6 mM NaCl en adelante, y el N fue menor que el testigo. CP 72-2086 mantuvo ( $p \leq 0.05$ ) concentraciones de N más bajas que Mex 69-290.

En este estudio es notable que el nivel de salinidad más bajo aplicado (71.8 mM) mantuvo una concentración de N similar al testigo. El aumento en la salinidad redujo en forma directa los contenidos de N, P, K y Mg en hojas de la variedad RB 867515, pero incrementó los contenidos de Ca, Cl y Na (de Lira *et al.*, 2019). Estas respuestas diferentes se pueden atribuir a las condiciones experimentales y los genotipos probados. Las variedades que exhiben mejor tolerancia al estrés por salinidad contienen proteínas específicas con peso molecular mayor en condiciones salinas en comparación con las cultivadas en condiciones normales, lo cual puede relacionarse con concentraciones más altas de N en los tejidos (Saxena *et al.*, 2010). Los genotipos con mecanismos eficientes para hacer frente al estrés salino protegen el sistema fotoquímico y capturan especies reactivas de oxígeno, como la variedad RB 86-7515. Esta variedad exhibe una actividad mayor del ascorbato peroxidasa (APX) y catalasa (CAT), entre otras enzimas y metabolitos antiestrés (Willadino *et al.*, 2011).

El efecto del estrés salino en la concentración de P en las plantas varía según el genotipo y las condiciones de cultivo de las plantas. La salinidad reduce la concentración de P en la caña de azúcar, pero esta reducción es más marcada en los tallos que en las hojas en las variedades susceptibles (Si 94-050 y Co 85-036) en contraste con las tolerantes (C 92-038 y Co 85-004) (Gomathi y Thandapani, 2005). En las condiciones experimentales de nuestro estudio, se encontró una concentración de P foliar reducida en

sugarcane genotypes (Gomathi and Thandapani, 2005). In this study the Ca concentration increased in leaves of CP 72-2086, while in Mex 69-290 the Ca concentration remained similar ( $p > 0.05$ ), with a tendency to increase Ca as the NaCl level increased. This suggests the existence of different mechanisms of tolerance to the saline stress factor in the two evaluated varieties. Calcium is a vital element facing stress environments and drastically affects plant response to salinity due to its role as a second messenger that triggers tolerance mechanisms. Calcium plays a central and unifying role in signaling and phosphorylation of those proteins involved in sensing, uptake, transport and storage processes of different ions in plant cells (Manishankar *et al.*, 2018).

In response to salt stress,  $K^+$  and  $Ca^{2+}$  ions seem to be readily displaced from binding sites by  $Na^+$  ions, and the functional aspects associated with essential nutrients may become critically impaired (Barzana *et al.*, 2021). In glycophyte species such as rice, sufficient  $K^+$  and  $Ca^{2+}$  supply helps plants to overcome salt stress (Horie *et al.*, 2012). Salt stress causes deficiency of mineral nutrients in plants by interfering with availability, uptake and transport within the cells (Assaha *et al.*, 2017; Barzana *et al.*, 2021).

In this study, the salinity levels tested did not affect ( $p > 0.05$ ) Mg or S concentrations in any of the evaluated varieties. Magnesium is a key element involved in vital processes in plants, including photosynthesis, enzyme catalysis, and nucleic acid synthesis (Tanoi and Kobayash, 2015). Sulfur is related to a protective role against oxidative damage caused by salt stress, since the application of salts induce enzymes of the S-assimilatory pathway that help to neutralize or trace reactive oxygen species (Fatma *et al.*, 2016).

Filter cake has been extensively used as a source of nutrients, including in sugarcane farming, with well-documented positive impacts on plant growth and soil biochemical and physical properties (Wongkoon *et al.*, 2014). For example, mixing filter cake with sugarcane bagasse (2:1 ratio) helps N conservation during composting and it improves crop production (Meunchang *et al.*, 2005). In sugarcane, increased germination percentage and N content of soil following applications of filter cake were also reported (Elsayed *et al.*, 2008). Either applied fresh

las plantas CP 72-2086 expuestas a la concentración más alta de NaCl (287.2 mM) en comparación con el testigo, en tanto que en Mex 69-290 no se encontró diferencia estadística entre tratamientos.

En presencia de concentraciones de Na altas en la rizosfera, la absorción y acumulación de K en los tejidos vegetales puede recibir efecto negativo (Shirazi *et al.*, 2005). Por ello, la tolerancia a la sal se correlaciona con la capacidad de las plantas para absorber K en lugar de Na en condiciones salinas. En este estudio, sólo se encontró diferencia ( $p \leq 0.05$ ) con el nivel más alto de NaCl (287.2 mM), con concentraciones de K contrastantes entre variedades, CP 72-2086 presentó una media menor que Mex 69-290.

En un suelo salino con conductividad eléctrica de 7 dS  $m^{-1}$ , las concentraciones de Ca en hojas se redujeron en un 47.6% en comparación con el testigo en cuatro genotipos de caña de azúcar evaluados (Gomathi y Thandapani, 2005). En este estudio la concentración de Ca aumentó en hojas de CP 72-2086, mientras que en Mex 69-290 la concentración de Ca se mantuvo similar ( $p > 0.05$ ), con tendencia a incrementar Ca a medida que aumentaba el nivel de NaCl. Esto sugiere la existencia de mecanismos diferenciales de tolerancia al factor de estrés salino en las dos variedades evaluadas. El calcio es un elemento vital en ambientes de estrés y afecta en forma drástica la respuesta de las plantas a la salinidad debido a su papel como mensajero secundario que activa los mecanismos de tolerancia. El calcio juega un papel central y unificador en la señalización y fosforilación de las proteínas involucradas en los procesos de detección, captación, transporte y almacenamiento de iones diversos en las células vegetales (Manishankar *et al.*, 2018).

En respuesta al estrés salino, los iones  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  parecen ser desplazados con facilidad de los sitios de unión por los iones  $Na^+$ , y los aspectos funcionales asociados con los nutrientes esenciales pueden verse deteriorados de manera crítica (Barzana *et al.*, 2021). En especies glucofitas como el arroz, el suministro suficiente de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  ayuda a las plantas a superar el estrés salino (Horie *et al.*, 2012). El estrés salino causa deficiencia de nutrientes minerales en las plantas al interferir con disponibilidad, absorción y transporte dentro de las células (Assaha *et al.*, 2017; Barzana *et al.*, 2021).

En este estudio, los niveles de salinidad probados no afectaron ( $p > 0.05$ ) las concentraciones de Mg

or composted, filter cake is used as a structural soil amendment to counteract soil degradation, since it prevents soil crusting and cracking, allows adjusting the pH, improves drainage and promotes the natural growth of symbiotic bacteria and other beneficial microorganisms (Gonçalves *et al.*, 2018).

Accumulation of Na in older leaves and compartmentalization in vacuoles are part of a salt-tolerance mechanism developed by some plant species. Plants exposed to salt stress may exhibit enhanced accumulation of Na<sup>+</sup>, but reduced accumulation of K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup>, whereas that of Mg<sup>2+</sup> does not vary (Barzana *et al.*, 2021). In the sugarcane variety RB 86-7515 exposed to five irrigation water salinity levels (0.5, 2.0, 3.5, 5.0, and 6.5 dS m<sup>-1</sup>), an increase in Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> concentration was evident, while that of K<sup>+</sup> decreased (de Lira *et al.*, 2019). Salinity promotes leaf senescence and thus affects nutrient mobilization and crop yield (Barzana *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONS

As a single factor, salinity negatively affected plant height, indirect chlorophyll index, N and P concentrations in leaves. The variety factor significantly affected plant height but did not change the chlorophyll index.

Nutrient concentrations were affected both by the variety and the interaction between variety and sodium concentration. The Mex 69-290 variety showed more efficient salt stress tolerance mechanisms in relation to Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations, and an indirect chlorophyll index better than CP 72-2086.

## REFERENCES

- Assaha, D. V. M., A. Ueda, H. Saneoka, R. Al-Yahyai, and M. W. Yaish. 2017. The role of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transporters in salt stress adaptation in glycophytes. *Front. Physiol.* 8:509. DOI: 10.3389/fphys.2017.00509.
- Barzana, G., J. J. Rios, A. Lopez-Zaplana, J. Nicolas-Espinosa, L. Yepes-Molina, P. Garcia-Ibanez, and M. Carvajal. 2021. Interrelations of nutrient and water transporters in plants under abiotic stress. *Physiol. Plant.* 171: 595-619. DOI: 10.1111/ppl.13206.
- de Lira, R. M., E. F. F. Silva, G. F. da Silva, D. H. S. de Souza, E. M. R. Pedrosa, and L. C. Gordin. 2019. Content, extraction and export of nutrients in sugarcane under salinity and leaching fraction. *Rev. Bras. Eng. Agr. Amb.* 23: 432-438.
- Elsayed, M. T., M. H. Babiker, M. E. Abdelmalik, O. N. Mukhtar, and D. Montange D. 2008. Impact of filter mud applications on the germination of sugarcane and small-

o S en ninguna de las variedades evaluadas. El magnesio es un elemento clave involucrado en procesos vitales en las plantas que incluyen, fotosíntesis, catálisis enzimática y síntesis de ácidos nucleicos (Tanoi y Kobayash, 2015). El azufre se relaciona con un papel protector contra el daño oxidativo causado por el estrés salino, ya que la aplicación de sales induce a las enzimas de la vía de asimilación de S que ayudan a neutralizar o rastrear especies reactivas de oxígeno (Fatma *et al.*, 2016).

El bagazo de cachaza tiene un uso extenso como fuente de nutrientes, incluido el cultivo de la caña de azúcar, con impactos positivos bien documentados en el crecimiento de las plantas y las propiedades bioquímicas y físicas del suelo (Wongkoon *et al.*, 2014). Por ejemplo, mezclar bagazo de caña con bagazo de cachaza (en proporción 2:1) ayuda a conservar N durante el compostaje y mejora la producción de cultivos (Meunchang *et al.*, 2005). En cultivos de caña de azúcar también se observaron porcentajes de germinación y contenidos de N mayores en el suelo después de la aplicación del bagazo de cachaza (Elsayed *et al.*, 2008). Ya sea en fresco o compostado, el bagazo de cachaza se utiliza en la corrección estructural del suelo para contrarrestar la degradación, ya que previene la formación de costras y grietas, permite ajustar el pH, mejora el drenaje y promueve el crecimiento natural de bacterias simbióticas y otros microorganismos benéficos del suelo (Gonçalves *et al.*, 2018).

La acumulación de Na<sup>+</sup> en las hojas más viejas y la compartimentación en las vacuolas son parte de un mecanismo de tolerancia a la sal desarrollado por algunas especies de plantas. Las plantas expuestas al estrés salino pueden exhibir una acumulación de Na<sup>+</sup> mayor, pero una acumulación menor de K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>, mientras que la de Mg<sup>2+</sup> no varía (Barzana *et al.*, 2021). En la variedad de caña de azúcar RB 86-7515 expuesta a cinco niveles de salinidad en el agua de riego (0.5, 2.0, 3.5, 5.0 y 6.5 dS m<sup>-1</sup>) se evidenció un aumento en la concentración de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>, mientras que la de K<sup>+</sup> disminuyó (de Lira *et al.*, 2019). La salinidad promueve la senescencia de las hojas y por lo tanto afecta la movilización de nutrientes y el rendimiento de los cultivos (Barzana *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONES

Como factor único, la salinidad afectó de manera negativa altura de la planta, índice indirecto

- seeded plants and on soil and sugarcane nitrogen contents. *Bioresour. Technol.* 99: 4164-4168.
- Fatma, M., A. Masood, T.S. Per, F. Rasheed, and N.A. Khan. 2016. Interplay between nitric oxide and sulfur assimilation in salt tolerance in plants. *Crop J.* 4: 153-161.
- Gomathi, R., and T. V. Thandapani. 2005. Salt stress in relation to nutrient accumulation and quality of sugarcane genotypes. *Sugar Tech* 7: 39-47.
- Gómez, D., L. Hernández, B. Valle, J. Martínez, M. Cid, M. Escalona, M. Hernández, L. Yabor, G. T. S. Beemster, C. C. Tebbe, J. Papenbrock, and J. C. Lorenzo. 2017. Salinity induces specific metabolic changes in sugarcane shoot explants in temporary immersion bioreactors. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 90: 354-358.
- Gómez-Merino, F. C., L. I. Trejo-Téllez, J. Salazar-Ortiz, J. A. Pérez-Sato, H. E. Senties-Herrera, J. J. Bello-Bello, and N. Aguilar-Rivera. 2017. Diversification of the sugar agroindustry as a strategy for Mexico. *Agroproductividad* 10: 7-12.
- Gonçalves, J. C., N. C. Vasques, C. N. da Silva, E. A. S. Paccola, E. S. Filho, N. U. Yamaguchi, M. A. Andreazzi, and F. Gasparotto. 2018. Influence of the application of filter cake on soil chemical characteristics. *Chem. Eng. Trans.* 65: 775-780.
- Horie, T., I. Karahara, and M. Katsuhara. 2012. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice* 5(1): 11. DOI: 10.1186/1939-8433-5-11.
- Jangpromma, J., P. Songsri, S. Thammasirirak, and P. Jaisil. 2010. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using SPAD chlorophyll meter across different water stress conditions. *Asian J. Plant Sci.* 9: 368-374.
- Manishankar, P., N. Wang, P. Köster, A. A. Alatar, and J. Kudla. 2018. Calcium signaling during salt stress and in the regulation of ion homeostasis. *J. Exp. Bot.* 69: 4215-4226.
- Mansoori, M., M. Kayat, and A. Jorphi. 2014. Salinity stress evaluation on nutrient uptake and chlorophyll sugarcane genotypes. *J. Biodivers. Environ. Sci.* 5: 163-172.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, and R. W. Weaver. 2005. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. *Bioresour. Technol.* 96: 437-442.
- Sahu, O. 2018. Assessment of sugarcane industry: Suitability for production, consumption, and utilization. *Ann. Agrar. Sci.* 16: 389-395.
- Saxena, P., R.P. Srivastava, and M.L. Sharma. 2010. Studies on salinity stress tolerance in sugarcane varieties. *Sugar Tech* 12: 59-63.
- Schueneman, T. J., J. D. Miller, R. A. Gilbert, and N. L. Harrison. 2008. Sugarcane cultivar CP 72-2086. Descriptive Fact Sheet. University of Florida. IFAS Extension. SSAGR115. 4 p.
- Sebastian, S. P., C. Udayasoorian, R. M. Jayabalakrishnan, and E. Parameswari. 2009. Performance of sugarcane varieties under organic amendments with poor quality irrigation water. *Austr. J. Basic Appl. Sci.* 3: 1674-1684.
- de clorofila y concentraciones de N y P en las hojas. El factor variedad afectó altura de planta de modo significativo, pero no cambió el índice de clorofila.
- Las concentraciones de nutrientes recibieron efecto tanto de la variedad como de la interacción entre variedad y concentración de sodio. La variedad Mex 69-290 mostró mecanismos de tolerancia a la salinidad más eficientes en relación con las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^{+}$  y un índice indirecto de clorofila mayor que CP 72-2086.

—Fin de la versión en Español—



- Senties-Herrera, H. E., L. I. Trejo-Téllez, V. H. Volke-Haller, J. Cadena-Íñiguez, P. Sánchez-García, and F. C. Gómez-Merino. 2018. Iodine, silicon, and vanadium differentially affect growth, flowering, and quality components of stalks in sugarcane. *Sugar Tech* 20: 518-533.
- Shirazi, M. U., M. Y. Ashraf, M. A. Khan, and M. Naqvi. 2005. Potassium induced salinity tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2: 233-236.
- Shomeili, M., M. Nabipour, M. Meskarbashee, and H. R. Memari. 2011. Evaluation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) somaclonal tolerance to salinity via *in vitro* and *in vivo*. *HAYATI J. Biosci.* 18: 91-96.
- Simões, W. L., M. Calgaro, and D. S. Coelho. 2016. Growth of sugarcane varieties under salt stress. *Rev. Ceres* 63: 265-271.
- Tanoi, K., and N. I. Kobayashi. 2015. Leaf senescence by magnesium deficiency. *Plants* 4: 756-772.
- Trejo-Téllez, L. I., F. C. Gómez-Merino, L. Y. Rivera-Olivares, and O. Tejeda-Sartorius. 2014. Cadmium-induced changes in leaf nutrient concentrations in sugarcane. *J. Food Agric. Environ.* 12: 879-885.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2019. Mexico. Sugar Annual Production. USDA Foreign Agricultural Service. Global Agricultural Information Network. Washington, D. C. GAIN Report Number: MX9017.
- Willadino, L., R. A. de Oliveira Filho, E. A. da Silva Junior, A. G. Neto, and T. R. Camara. 2011. Salinity stress in two varieties of sugarcane: enzymes of the antioxidant system and chlorophyll fluorescence. *Rev. Cienc. Agron.* 42: 417-422.
- Wongkoon, T., S. Boonlue, and N. Riddech. 2014. Effect of compost made from filter cake and distillery slop on sugarcane growth. *KKU Res. J.* 19: 250-255.