

# **<sup>1</sup>BAJAS TEMPERATURAS: CAMBIOS EN ALGUNOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS EN ARROZ**

Maiale, S.<sup>1</sup>; Pinciroli, M.<sup>2</sup>; Campestre, P.<sup>1</sup>; Rodríguez, A.<sup>1</sup>; Scelzo, L.<sup>2</sup>; Bezus, R.<sup>2</sup>; Ruiz, O.<sup>1</sup>; Vidal, A.<sup>2</sup>

Palabras clave: clorofila, putrescina, espermidina, espermina

## **INTRODUCCION**

El arroz es originario de zonas tropicales y subtropicales, susceptible a temperaturas por debajo de 15°C (Nakagahra *et al.*, 1997). En Argentina, el área de cultivo abarca zonas de clima templado, con importantes deficiencias térmicas que afectan fundamentalmente la emergencia, siendo clave en la definición del área de cultivo y la época de siembra. El estrés por frío produce amarillamiento o clorosis por foto-inhibición (Krause, 1988). Yoshida *et al.*, (1996) han observado que temperaturas entre 15 y 17°C producen clorosis y su magnitud depende del cultivar. Por otro lado, las poliaminas son compuestos orgánicos policatiónicos esenciales para el desarrollo y la diferenciación de los organismos vivos, siendo las más abundantes en la naturaleza las diaminas putrescina (Put) y cadaverina (Cad), la triamina espermidina (Espd) y la tetraamina espermina (Espm), (Cohen, 1998). Tajima y Kabaki (1981) demostraron que la aplicación de Espd exógena puede disminuir el daño por frío en plántulas, mientras Lee *et al.*, (1995) encontraron una correlación positiva entre la tolerancia de 11 cultivares y los niveles endógenos de Put. Akiyama y Jin (2007) clonaron y caracterizaron un gen de la biosíntesis de Put que es inducida por frío.

El objetivo de este trabajo fue estudiar algunos cambios fisiológicos y bioquímicos que ocurren en genotipos de arroz de diferentes orígenes genéticos sometidos a condiciones de bajas temperaturas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se ensayaron 4 genotipos de arroz, dos de origen tropical, IRGA 417 y RP2 y dos del Programa Arroz, seleccionados en una región de condiciones térmicas subóptimas: R1-1 y Don Ignacio FCAYF (DI). Las semillas, previa desinfección con hipoclorito de sodio (0,55g/l, 10 min), se sembraron en bandejas con vermiculita:perlita (1:1p/p). Se colocaron en un Fitotron Percivall con temperaturas de 13°C/21°C y fotoperíodo de 13hs. y se regaron con solución Yoshida. Se determinó porcentaje de emergencia a 17, 26 y 29 días después de siembra (DDS). Las plantas se cosecharon a los 53 DDS y se cuantificó: peso fresco (PF), peso seco (PS), contenido de agua (CA), clorofila a, b y total (Alet, 2008) y contenido de poliaminas libres: putrescina (Put), espermidina (Espd) y espermina (Espm) (Maiale *et al.*, 2004). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Al finalizar la experiencia, la suma térmica acumulada fue de 369°GD, calculada según el Método Residual de Brown base de 10°C.

---

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico de Chascomús, UNSAM-CONICET, camino circunvalación laguna Km 6, Chascomús, Argentina. E-mail: smaiale@intech.gov.ar

<sup>2</sup> Programa Arroz, Universidad Nacional de La Plata, calle 66 y 168, La Plata, Argentina. mpinciroli@agro.unlp.edu.ar, polic18@yahoo.com.ar, andresrodriguez@intech.gov.ar, scliliana@hotmail.com, bezus@agro.unlp.edu.ar, ruiz@intech.gov.ar, avidal@agro.unlp.edu.ar

Con el objeto de analizar las diferencias de los parámetros estudiados entre genotipos se realizó un ANOVA de una vía, utilizando el software GraphPad Prism®, las medias se compararon por Tukey. Posteriormente y para estudiar la relación de los parámetros entre sí, se realizó una matriz de correlación de Pearson.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 podemos observar el porcentaje de emergencia a los 17, 26, 29 DDS. Si bien la emergencia en las variedades RP2 y DI fue inicialmente más lenta, a los 26 días se registró alrededor de 90 % de emergencia en todos los genotipos sin diferenciarse entre sí.

**Tabla 1.** Porcentaje de emergencia de los genotipos a los 17, 26, 29 DDS y Valores medios de PS, PF y CA a los 53 DDS.

	17 DDS	26 DDS	29 DSS	PF (mg/pl)	PS (mg/pl)	CA (%)
R1-1	88,0	96,0	96,0	0,13 a	0,02 a	84,2 ab
IRGA 417	74,7	96,0	96,0	0,03 c	0,01bc	83,6 b
RP2	25,3	89,3	90,7	0,04 c	0,01c	85,7 a
DI	30,7	90,7	90,7	0,07 b	0,01b	85,3ab

Ref. DDS: días después de siembra, PF: peso fresco, PS: peso seco, CA: contenido de agua. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En términos generales, R1-1 presentó los valores mayores de PF y PS, le siguió DI y los menores correspondieron a RP2 e Irga 417 (Tabla 1).

Estas diferencias pueden atribuirse tanto a la diferente sensibilidad al frío como a las características propias de los cultivares en cuanto a vigor. El genotipo con mayor CA fue RP2 (85,7%), el menor IRGA 417 (83,6%) aunque las diferencias entre valores extremos representan sólo un 2,5 %.

Tanto el contenido de clorofila *a* como el total fue superior en R1-1, menor en DI, IRGA 417 e inferior en RP2 (Tabla 2), mientras que el contenido de clorofila *b* fue equivalente para los genotipos tolerantes R1-1 y DI e inferior para los sensibles RP2 e Irga 417. Coincidiendo con Yoshida *et al.*, (1996) los patrones de clorofila observados, en especial de clorofila *b*, respondieron a lo esperado.

**Tabla 2.** Contenido de clorofila *a*, *b* y total en plántulas de arroz crecidas en un régimen de 13°C – 21°C.

	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total
R1-1	0,7352 a	0,3109 a	1,0461 a
IRGA 417	0,3281 c	0,1709 b	0,4990 c
RP2	0,2285 d	0,1663 b	0,3947 d
DI	0,6664 b	0,2798 a	0,9462 b

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,001$ ).

Las variedades más sensibles al frío presentaron visibles síntomas de amarillamiento, mientras los genotipos correspondientes al Programa Arroz de la UNLP mantuvieron su color característico.

Los niveles de poliaminas presentaron distintos comportamientos según los genotipos (Tabla 3). Los valores de Put fueron mayores para DI y menores para IRGA 417; los valores de Espd fueron equivalentes en DI, R1-1 y RP2 e inferiores en IRGA 417 y los valores de Espm fueron significativamente mayores en los cultivares sensibles IRGA 417 y RP2 y menores en R1-1 y DI.

**Tabla 3.** Contenido de poliaminas libres en plántulas de arroz crecidas en un régimen de 13°C – 21°C (expresados en nmol/g.PF)

	Put	Espd	Espm
R1-1	288,28 ab	983,25 a	420,77 b
IRGA 417	160,60 b	688,30 b	627,10 a
RP2	380,76 ab	1010,64 a	587,63 a
DI	484,28 a	1073,95 a	357,78 b

Ref: Put: Putrescina, Espd: espermidina, Espm: espermina. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

El patrón de Put difiere de lo observado por Lee *et al.*, (1995) quienes encontraron una correlación positiva entre niveles de Put y tolerancia al frío sometiendo las plantas a un estrés más intenso (5°C). En nuestra experiencia esta proporción se altera encontrando las mayores concentraciones de Espd y Espm. Además, los valores de Espm resultaron mayores en los genotipos más sensibles y menores en los seleccionados en condiciones de indisponibilidad térmica.

Las diferencias observadas con la bibliografía pueden deberse a una etapa diferente en el proceso metabólico de las poliaminas consecuencia de un estrés moderado. Durante el desarrollo de esta experiencia, si bien las temperaturas fueron reducidas, asemejándose a una situación posible de campo, siempre estuvieron por encima de las mínimas de crecimiento (Arguissain, 2006). Posiblemente sometiendo las plántulas a condiciones más extremas se hubiera modificado la proporción relativa de las poliaminas al momento de la extracción.

**Tabla 4.** Matriz de correlación para los parámetros estudiados

	Espd	Esp m	Cl a	Cl b	Cl T	PF	PS	CA
Put	0,801	-0,530	0,2836	0,3455	0,298	0,092	0,037	0,632(*)
Espd		-0,544	0,4180	0,495	0,467	0,301	0,252	0,597(*)
Espm			-0,860(***)	-0,853(***)	-0,861(***)	-0,614(*)	-0,591(*)	-0,103
Cl a				0,983(***)	0,999 (***)	0,832(***)	0,820(**)	-0,119
Cl b					0,872(***)	0,853(***)	0,853(***)	0,004
Cl T						0,844(***)	0,831(***)	-0,091
PF							0,997(***)	-0,191
PS								-0,255

Ref. Valores r de Pearson, \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ). Put: Putrescina, Espd: espermidina, Espm: espermina, Cl a: clorofila a, Cl b: clorofila b, Cl T: clorofila total, PS: peso seco, PF: peso fresco, CA: contenido de agua.

En la Tabla 4 se puede observar la matriz de correlación entre los parámetros estudiados. Tanto el PF como el PS se correlacionaron en forma positiva con los contenidos de clorofilas a, b y total y negativamente con el de Espm. De esta manera se puede decir que un mayor crecimiento en condiciones de estrés, estaría asociado a mayores contenidos de clorofila y menores de Espm. Los valores elevados de Espm en las variedades sensibles a bajas temperaturas estarían corroborando el compromiso de esta poliamina con el estrés

abiótico. Como es de esperar, los valores de clorofila se correlacionaron entre sí. Los valores de CA no se correlacionaron con los de PF y PS, mientras estos últimos presentaron una alta correlación entre sí. Los valores de Put y de Espd se correlacionaron sólo con CA, mientras los de poliaminas no se correlacionaron entre sí.

## CONCLUSIÓN

Los genotipos del Programa resultaron más tolerantes a bajas temperaturas, pudo observarse un mayor crecimiento y mayor contenido de clorofila que les permitió conservar su color característico a lo largo de la experiencia.

Los niveles elevados de espermina aparecen en los genotipos más sensibles al estrés por frío, lo que indicaría su relación con el estrés abiótico.

Se recomienda realizar esta experiencia en condiciones de campo, ya que investigadores del Programa Arroz de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) han observado una relación entre las respuestas al estrés por frío en experiencias de laboratorio con el comportamiento de los genotipos a campo (Pincirolí *et al.*, 2005).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIYAMA, T.; JIN, S. Molecular cloning and characterization of an arginine decarboxylase gene up-regulated by chilling stress in rice seedlings. *Journal of Plant Physiology*, v.164, p. 645-654, 2007.
- ALET, A. Evaluación del Rol de las Poliaminas en la Señalización del Estrés Abiótico en Vegetales. Tesis Doctoral Universidad Nacional de San Martín. Chascomus, 25/04/2008.
- ARGUISAIN, G. G. Ecofisiología del cultivo de arroz. In: BENAVIDEZ R. A. (Dir.) *El Arroz. Su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos*. Concepción del Uruguay: EdicionesUNL-Eduner, 2006, cap. 13, p.75-94.
- COHEN, S. Guide to the polyamines. Oxford University Press, New York, Oxford, 1998. 595 p.
- KRAUSE, G. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiology Plantarum*, v. 74, p. 566- 574, 1988.
- LEE, T. M.; LUR, H.S.; CHU, C. Abscisic acid and putrescine accumulation in chilling-tolerant rice cultivars. *Crop Science*, v. 35, p. 502–508, 1995.
- MAIALE, S.; SANCHEZ, D.; GUIRADO, A.; VIDAL, A.; RUIZ, O. Spermine accumulation in salt stress. *Journal of Plant Physiology*, v.161, p. 35-42, 2004.
- NAKAGAHARA, M.; OKUNO, K.; VAUGHAN, D. Rice genetic resources: hystory, conservation, investigative characterization and use in japan. *Plant Molecular Biology*, v. 35, p. 69-77, 1997.
- PINCIROLI, M.; MAILE, S.; BEZUS, R.; VIDAL, A. A. 2005. Arroz: efecto de la aplicación de GA3 en distintos genotipos de los primeros estadios del desarrollo de la planta en condiciones térmicas subóptimas. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 4; 2005, Santa María. *Anais*, Santa María-RS-Brasil, 09 al 12 de agosto de 2005. p. 218 – 220
- TAJIMA, K.; KABAKI, N. Effects of sugars and several growth regulators on the chilling injury of rice seedling. *Japanese Journal of Crop Science*, v. 50, p. 411-412, 1981.
- YOSHIDA, R.; KANNO, A.; SATO, T.; KAMEYA, T. Cool-temperature-induced chlorosis in rice plant: I. Relationship between the induction and a disturbance of etioplast development. *Plant Physiology*, v.110, n. 3, p. 997-1005, 1996.