

CONTRIBUCIÓN DE ^{14}C -FOTOASIMILADOS AL LLENADO DE LOS GRANOS DE ARROZ EN CONDICIONES DE DÉFICIT HÍDRICO

Aymara García¹, Maydelín Dorado², Zoila Palacio² e Isel Pérez²

¹ *Instituto de Investigaciones de Riego y Drenaje, Cuba, aymara@iird.cu*

² *Instituto de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tropical, "Alejandro de Humboldt", Cuba*

Introducción

La aplicación de períodos de déficit hídrico a través de la suspensión temporal del riego en las plantas durante la fase de crecimiento vegetativo, ha sido una alternativa para reducir el consumo de agua, propiciar el desarrollo y crecimiento de las macollas e incrementar el rendimiento en granos (IIArroz, 2005). Sin embargo, no se han estudiado los mecanismos fisiológicos de respuesta de las plantas, que puedan explicar una productividad mayor en estas condiciones.

Uno de los mecanismos que se puede aprovechar para incrementar la supervivencia y el rendimiento de las plantas al estrés, es favoreciendo la acumulación y partición de los fotoasimilados en órganos fuentes y sumideros. Existen evidencias que demuestran el efecto del déficit hídrico en la relación que se establece entre los órganos fuente y sumidero. Estos cambios en la partición de fotoasimilados, pudieran provocar una influencia positiva en el llenado de los granos y el rendimiento agrícola.

Los fotoasimilados se consideran una forma temporal de acumular productos fotosintéticos que posteriormente, se translocan hacia los granos para la formación del rendimiento (Hirano *et al.*, 2005). La distribución de los fotoasimilados en varios órganos de la planta de arroz como en la hoja bandera, las vainas foliares, y el tallo como fuente de carbohidratos para el llenado de los granos, ha posibilitado conocer la contribución de estos asimilados al rendimiento en grano en diferentes condiciones de cultivo (He *et al.*, 2005).

En trabajos anteriores, Yang y Zhang (2006) demostraron mediante la alimentación de la hoja bandera con $^{14}\text{CO}_2$, que la inducción de déficit hídrico controlado en la fase de llenado de granos de arroz y trigo, favorece la movilización y transferencia de los carbohidratos no estructurales previamente almacenados desde las estructuras vegetativas hacia los granos.

Recientemente, se informó sobre el efecto del déficit hídrico en la acumulación de biomasa y el contenido de carbohidratos solubles durante el llenado de los granos para diferentes entrenudos del tallo de plantas trigo (Ehdaie *et al.*, 2006). Sin embargo, aún no se cuenta con suficiente información acerca de la distribución de los fotoasimilados en los tallos de arroz y específicamente en los diferentes entrenudos. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del déficit hídrico inducido en la fase de macollamiento sobre la distribución de ^{14}C -fotoasimilados así como la incorporación de ^{14}C a la síntesis de almidón en diferentes órganos de plantas de arroz y su posible contribución al crecimiento de los granos.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el Instituto de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tropical (INIFAT) en La Habana. Se estudió la variedad cubana de arroz Jucarito 104 (J-104). Las semillas de J-104, se esterilizaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y se colocaron en placas Petri a temperatura ambiente, para su germinación. Se sembraron de forma directa tres semillas pre-germinadas 100 macetas (0,25 m de diámetro, 0,31 m de altura y 10 kg de capacidad), que contenía suelo Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso típico (Instituto de Suelos, 1999), proveniente del Instituto de Investigaciones del Arroz (IIArroz). Las macetas se mantuvieron al aire libre y se realeatorizaron cada siete días dentro del área experimental.

El suelo se preparó de acuerdo a técnicas de fangueo y las siembras se hicieron en Febrero de 2002 (época seca) y Abril de 2003 (época lluvia) (IIArroz, 2005). La dosis de fertilizantes y el momento de aplicación se efectuó según lo recomendado en el instructivo del cultivo (IIArroz, 2005). Se registraron las variables climáticas: temperatura máxima y mínima (°C), humedad relativa (%) y las precipitaciones (mm).

El riego para la germinación y el crecimiento inicial de las plantas se realizó según lo descrito por el IIArroz (2005). El aniego se estableció a los 15 DDS (días después de la siembra) con un volumen inicial de agua de 9 L por maceta. Posteriormente, el riego se efectuó para mantener una lámina de agua de 50 mm por encima de la superficie del suelo. En la fase de macollamiento, se aplicaron dos tratamientos de manejo de agua. El primero consistió en mantener 50 plantas en condiciones de aniego con una lámina de agua de 50 mm (Control) hasta 15 días antes de la cosecha. El segundo fue la interrupción del riego por 14 días (Déficit) en 50 plantas a los 57 DDS en el 2002 y en otras 50 plantas, a los 50 DDS en el 2003 (IIArroz, 2005). Posteriormente, en las plantas sometidas a déficit hídrico, se reestableció el riego de la misma forma que en el tratamiento control. Durante la interrupción del riego las macetas se protegieron de la lluvia con nylon de polietileno. Las macetas se distribuyeron según el diseño completamente aleatorizado.

El contenido de humedad en el suelo a 10 cm de profundidad en la maceta, se monitoreó de forma gravimétrica desde los 7 hasta 14 días después del déficit (DDD) siguiendo la metodología descrita por Tarjuelo (2005).

A los 15 DDD, se seleccionaron cinco plantas por tratamiento (control y déficit) en cada período de siembra. Se evaluó la altura de las plantas (cm), el área foliar del tallo principal (TP, cm²), la masa seca del TP y de la parte área (g), el contenido relativo de agua (%) y el número de hijos por planta.

El análisis de la distribución de ¹⁴C-fotoasimilados se realizó a los siguientes órganos del tallo principal (TP): lámina y vaina de la hoja bandera (HB), tres entrenudos superiores (Pedúnculo, Ped; Segundo Entrenudo, Ent2; Tercer Entrenudo, Ent3) y en los granos. Se seleccionaron cinco plantas individuales al azar de cada tratamiento (control y déficit), cuando en el TP estuviera emergiendo la panícula, período que se consideró como la antesis.

La técnica para la alimentación de la lámina de la HB del TP con ¹⁴C se realizó según la metodología diseñada por Cruz-Aguado y Pérez (2000) para el trigo. Las plantas se marcaron con ¹⁴CO₂ en la antesis, 10 días y 25 días después de la antesis (DDA) por 24 h, momento en que fueron cosechadas. Se realizaron tres extracciones por muestra con etanol al 80 %. La radiactividad se midió en el contador de centelleo líquido Wallac 1409. Los residuos insolubles en etanol se trataron con HClO₄ (30 %) y los extractos se disolvieron en cóctel de centelleo líquido para posteriormente medir la radiactividad.

La distribución en la planta del ¹⁴CO₂ fijado por la lámina de la HB, se determinó según lo informado por Cruz-Aguado *et al.* (1999) y Yang y Zhang (2006). La proporción de ¹⁴C incorporado a la síntesis de almidón en cada órgano se calculó como la razón entre la radiactividad en la fracción perclórica y la radiactividad total (fracción etanólica + fracción perclórica). Los datos expresados en porcentaje se transformaron a raíz cuadrada para garantizar la homogeneidad de varianzas. Las medias de cada tratamiento se compararon mediante análisis de varianza factorial utilizando el programa STATGRAPHICS Plus sobre Windows versión 5.0 (1994-2000). Las diferencias entre las medias se establecieron mediante la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey HSD al 95%.

Resultados y Discusión

El crecimiento de las plantas en la época de lluvia fue mayor que en la época seca. En ambas épocas de siembra, el área foliar del TP, número de tallos por planta, la masa seca de la parte aérea y del tallo principal (TP) así como el contenido relativo de agua (CRA) en la parte aérea y

la raíz, se redujeron en las plantas sometidas a déficit hídrico en la fase de macollamiento respecto a las que se mantuvieron en aniego durante todo el ciclo de cultivo.

En condiciones de déficit hídrico inducido en la fase de macollamiento una menor disponibilidad de agua en el suelo que para la época seca provocó las mayores reducciones en el área foliar y la masa seca aérea, 18 y 40 %, respecto a la época de lluvia.

Las plantas han desarrollado mecanismos para sobrevivir ante condiciones adversas. La distribución y partición de fotoasimilados entre órganos fuente y sumideros, pudiera contribuir a dilucidar los mecanismos de respuesta dentro del metabolismo del carbono, lo cual juega un papel importante en la adaptación a la sequía. Sin embargo, tales estudios no se han descrito previamente en plantas arroz expuestas a déficit hídrico en la fase de macollamiento.

En este estudio la distribución de la marca isotópica en la planta se determinó en la antesis, 10 y 25 DDA, momentos que enmarcan una etapa importante del llenado de los granos de arroz. En las épocas de siembra analizadas, la distribución de ^{14}C -fotoasimilados e incorporación de ^{14}C al almidón (Figuras 1 y 2), difirió para la lámina y vaina de la HB, los tres entrenudos superiores y los granos desde la antesis hasta los 25 DDA. Estas variaciones, parecen ser consecuencia de las diferencias en la cantidad de asimilados disponibles en estos órganos del TP (Cruz-Aguado *et al.*, 1999; Ehdaie *et al.*, 2006). No obstante, en las dos épocas de siembra, al comprar los entrenudos del TP el porcentaje mayor de ^{14}C -fotoasimilados e incorporación de ^{14}C al almidón desde la antesis hasta los 10 DDA se encontró en el tercero, (Figuras 1 y 2), lo que pudiera suponer que los niveles mayores de carbohidratos se localizan en este entrenudo. En arroz, estudios efectuados por He *et al.* (2005), demostraron concentraciones diferentes de carbohidratos en segmentos de vainas foliares, siendo estos niveles menores en el segmento apical y mayores hacia el basal; vinculado a una actividad mayor de enzimas que participan en el metabolismo del almidón.

En la antesis, la mayor proporción de ^{14}C -fotoasimilados se encontró en la lámina de la HB (Figura 1), órgano que constituye la principal fuente suministradora de carbohidratos durante el llenado de los granos en trigo (Cruz-Aguado y Pérez, 2000). Sin embargo en las plantas del déficit hídrico, hubo reducción en el porcentaje de ^{14}C -fotoasimilados en la época seca; mientras que éste se incrementó en el tercer entrenudo y los granos en las dos épocas de siembra. La incorporación de ^{14}C al almidón fue mayor en el tercer entrenudo, la lámina y vaina de la HB (Figura 2). En las plantas expuestas a déficit hídrico en la fase de macollamiento, el porcentaje de ^{14}C en la síntesis del almidón, se incrementó en el segundo y tercer entrenudo en la época seca y en la vaina de la HB y los granos para la época de lluvia.

A los 10 DDA, el porcentaje de ^{14}C -fotoasimilados fue máximo en los tres entrenudos del TP y la vaina de la HB (Figura 1), lo cual supone que desde la antesis hasta los 10 DDA, pudiera ocurrir movilización de los asimilados probablemente acumulados en la lámina de la HB hacia estas estructuras, teniendo en cuenta que en este órgano se redujo la proporción de ^{14}C -fotoasimilados. En este momento de la antesis, los entrenudos y la vaina de la HB probablemente funcionan como órganos sumideros de asimilados y se convierten en los principales sitios de acumulación de estos compuestos (Cruz-Aguado *et al.*, 1999). Los valores del porcentaje de ^{14}C en el almidón a los 10 DDA (Figura 2), tienden a ser mayores en los tres entrenudos superiores del TP y similares en la lámina y vaina de la HB, comparados a los obtenidos en la antesis.

A los 25 DDA, la proporción de ^{14}C -fotoasimilados e incorporación de ^{14}C al almidón (Figuras 1 y 2), fueron menores en los tres entrenudos del TP, la lámina y vaina de la HB, con una reducción mayor en el tercer entrenudo. La mayor proporción de ^{14}C -fotoasimilados y la incorporación de ^{14}C a la síntesis del almidón se destinaron hacia los granos, donde alcanzó valor máximo. En el período posterior a los 10 DDA, identificado como grano lechoso, y hasta la madurez fisiológica que la acumulación de almidón en los granos es intensa (He *et al.*, 2005). Esto explica el porcentaje mayor de ^{14}C -fotoasimilados hacia los granos y una proporción menor a las estructuras vegetativas.

Durante el período de la antesis analizado, los cambios en las proporciones de ¹⁴C-fotoasimilados y la incorporación de ¹⁴C al almidón en la lámina y vaina de la HB, los tres entrenudos del TP y granos, pudieran indicar variaciones en la relación que se establece entre los órganos fuente y sumidero, la cual determina el movimiento de estos fotoasimilados según se ha indicado en trigo por Cruz-Aguado y Pérez (2000). Los cambios en las proporciones de ¹⁴C-fotoasimilados en la vaina de la HB y los entrenudos del TP pudieran asociarse con el proceso de la transición de estos órganos de fuente a sumideros.

En el tratamiento control, un área foliar mayor evidenció en estas plantas que los fotoasimilados producidos mediante la fotosíntesis que tiene lugar en ese período, pudieran sostener el llenado de los granos; de manera tal que la movilización de las reservas acumuladas en las vainas foliares y los entrenudos del TP sean menores. Según señalaron Cruz-Aguado *et al.* (1999) en condiciones no limitantes de agua, la fotosíntesis satisface la demanda de fotoasimilados de los órganos en crecimiento en trigo. Sin embargo, en este experimento el déficit hídrico generó cambios en la proporción de carbono retenido en los órganos estudiados (Figuras 1 y 2), con disminución en el porcentaje de ¹⁴C-fotoasimilados y la incorporación de ¹⁴C al almidón a los 25 DDA, siendo mayor la reducción en los asimilados destinados hacia el tercer entrenudo.

La contribución de los fotoasimilados de reserva almacenados en las vainas y los tallos se ha abordado con profundidad durante el proceso de llenado de los granos en arroz (He *et al.*, 2005). La distribución y partición de los ¹⁴C-fotoasimilados en los tres entrenudos superiores del TP durante el llenado de los granos, constituye un aspecto que no se ha informado en el arroz cultivado en condiciones de déficit hídrico inducido en la fase de macollamiento. La identificación del fragmento de tallo para estimar el destino de ¹⁴C-fotoasimilados y ¹⁴C al almidón resultaría ventajosa; porque los resultados demostraron que la disponibilidad de los fotoasimilados difirió de acuerdo a la posición que ocupan los entrenudos en el TP (Figuras 1 y 2). Los fotoasimilados acumulados en el TP en los entrenudos y particularmente en el tercero, pudieran constituir una fuente alternativa importante de carbohidratos para el llenado de los granos de arroz en condiciones de déficit hídrico.

La disminución en la proporción de ¹⁴C-fotoasimilados e incorporación de ¹⁴C al almidón en los diferentes órganos del TP después de los 10 hasta los 25 DDA; pudiera indicar la movilización de los asimilados almacenados en esas estructuras hacia otros órganos receptores o sumideros como los granos donde se observó un aumento significativo en la acumulación de los fotoasimilados. De acuerdo a los estudios realizados por Hirano *et al.* (2005), un aumento en la actividad de las enzimas α amilasa y ramificación del almidón, reguladoras de la síntesis del almidón en el endospermo, pudiera explicar una movilización mayor de los fotoasimilados a partir de los 10 DDA hasta la madurez. Sin embargo, aún no se ha informado el mecanismo que explica un incremento en la actividad estas enzimas ante condiciones de déficit hídrico.

Una aproximación a los factores relacionados con la movilización de estos compuestos desde las hojas y los tallos hacia otras estructuras receptoras o sumideros pudiera obtenerse a través de la evaluación de las variaciones en la biomasa de la panícula durante la fase de llenado de los granos, que evidencian como las reservas de los fotoasimilados sostienen el crecimiento de los granos cuando disminuye el proceso de la fotosíntesis.

La biomasa de la panícula se incrementó significativamente desde la antesis hasta los 25 DDA (Figura 3). En ambos períodos de siembra, las plantas con déficit hídrico presentaron mayor biomasa de la panícula en el TP que las controles. En la época seca se observaron los valores mayores de biomasa comparado a la época de lluvia.

El incremento en el tamaño del sumidero expresado por la biomasa de la panícula pudiera provocar una movilización mayor de los ¹⁴C-fotoasimilados acumulados en los entrenudos del TP y la vaina de la HB. El crecimiento activo de las panículas comenzó a partir de los 10 DDA (Figura 3), y coincidió que desde ese momento y hasta los 25 DDA disminuyó significativamente la proporción de ¹⁴C-fotoasimilados y la incorporación del carbono a la síntesis de almidón en estos órganos; mientras los fotoasimilados se incrementaron en los granos (Figuras 1 y 2). Esto

sugiere que en este caso el llenado de los granos estuvo afectado por la disponibilidad de fotoasimilados, y fue necesaria la movilización de las reservas almacenadas en los tallos (Cruz-Aguado *et al.*, 1999).

La actividad del sumidero determina la descarga de los carbohidratos en el floema y la entrada del carbono al metabolismo celular; por tanto pudiera influir en la movilización de las reservas de carbohidratos acumuladas en las vainas y los tallos. La actividad del sumidero se incrementó alrededor de los 10 DDA, provoca un aumento en la masa seca de la panícula, la cual contribuye al desarrollo de los tejidos del endospermo debido a mayor deposición de la materia seca en los granos (Yang y Zhang, 2006).

En la época seca se encontró una biomasa mayor de la panícula (Figura 3), y pudiera asociarse al efecto de las condiciones ambientales sobre la actividad del sumidero. En la fase reproductiva, las temperaturas máximas y mínimas aumentaron en 1.5 y 1.1°C respectivamente; mientras que en la maduración, la temperatura máxima fue superior en 1.9 °C; en comparación a la época de lluvia. En este sentido Cruz-Aguado y Pérez (2000), demostraron que el incremento de la temperatura influyó negativamente en la actividad del sumidero, que provocó una translocación menor de ¹⁴C-fotoasimilados y un crecimiento menor de los granos en trigo.

Los resultados anteriores explican las ventajas, desde el punto de vista fisiológico, de la interrupción del riego en la fase de macollamiento para incrementar la distribución de ¹⁴C-fotoasimilados e incorporación del ¹⁴C al almidón en la variedad J-104. Las evidencias de una mayor disminución del ¹⁴C-fotoasimilados y del ¹⁴C en la síntesis del almidón en los tres entrenudos del TP y la vaina de la HB, así como un incremento en la proporción de estos asimilados hacia los granos indican la movilización de los carbohidratos desde estas estructuras vegetativa. Los carbohidratos de reserva del tallo pudieran contribuir al crecimiento de la panícula en condiciones de déficit hídrico. La identificación de variedades con una elevada capacidad para acumular y movilizar fotoasimilados puede ser una estrategia para una adaptación mayor de variedades de arroz a déficit hídrico.

Referencias

- Cruz-Aguado JA, Pérez I. Translocación y partición de ¹⁴C fotoasimilados en trigo, variedad Cuba C-204. *Agronomía Tropical*. 50(1): 41-58, 2000.
- Cruz-Aguado JA, Reyes F, Rodés R, Pérez I, Dorado M. Effect of source to sink ratio on partitioning of dry matter and ¹⁴C-photoassimilates in wheat during grain filling. *Ann Bot* 83: 655-665, 1999.
- Edhaie B, Alloush GA, Madore MA, Waines JG. Genotypic variations for stem reserves and mobilization in wheat: II. Postanthesis changes in internode water-soluble carbohydrates. *Crop Sci* 46: 2093-2103, 2006
- He HY, Koike M, Ishimaru T, Ohsugi R, Yamagishi T. Temporal and spatial variations of carbohydrate content in rice leaf sheath and their varietal difference. *Plant Prod Sci* 8(5): 546-552, 2005.
- Hirano T, Daito Y, Ushimaru H, Michiyama H. The effect of the amount of nitrogen fertilizer on starch metabolism in leaf sheath of japonica and indica rice varieties during heading period. *Plant Prod Sci* 8(2): 122-130, 2005.
- IIArroz. Instituto de Investigaciones del Arroz. Instructivos Técnicos para el Cultivo del Arroz, 113 pp, 2005.
- Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. Nueva Versión de Clasificación Genética de los suelos de Cuba, 64 pp, 1999.
- Tarjuelo JM. El agua en el suelo In: El riego por aspersión y su tecnología. Ediciones Mundiprensa, 19-54 pp, 2005.
- Yang J, Peng S, Zhang Z, Wang Z, Visperas RM, Zhu Q (2002) Grain dry matter yields and partitioning of assimilates in Japonica/ Indica hybrid rice. *Crop Sci* 42: 766-772.
- Yang J, Zhang J (2006) Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytologist*, 169:223-236.

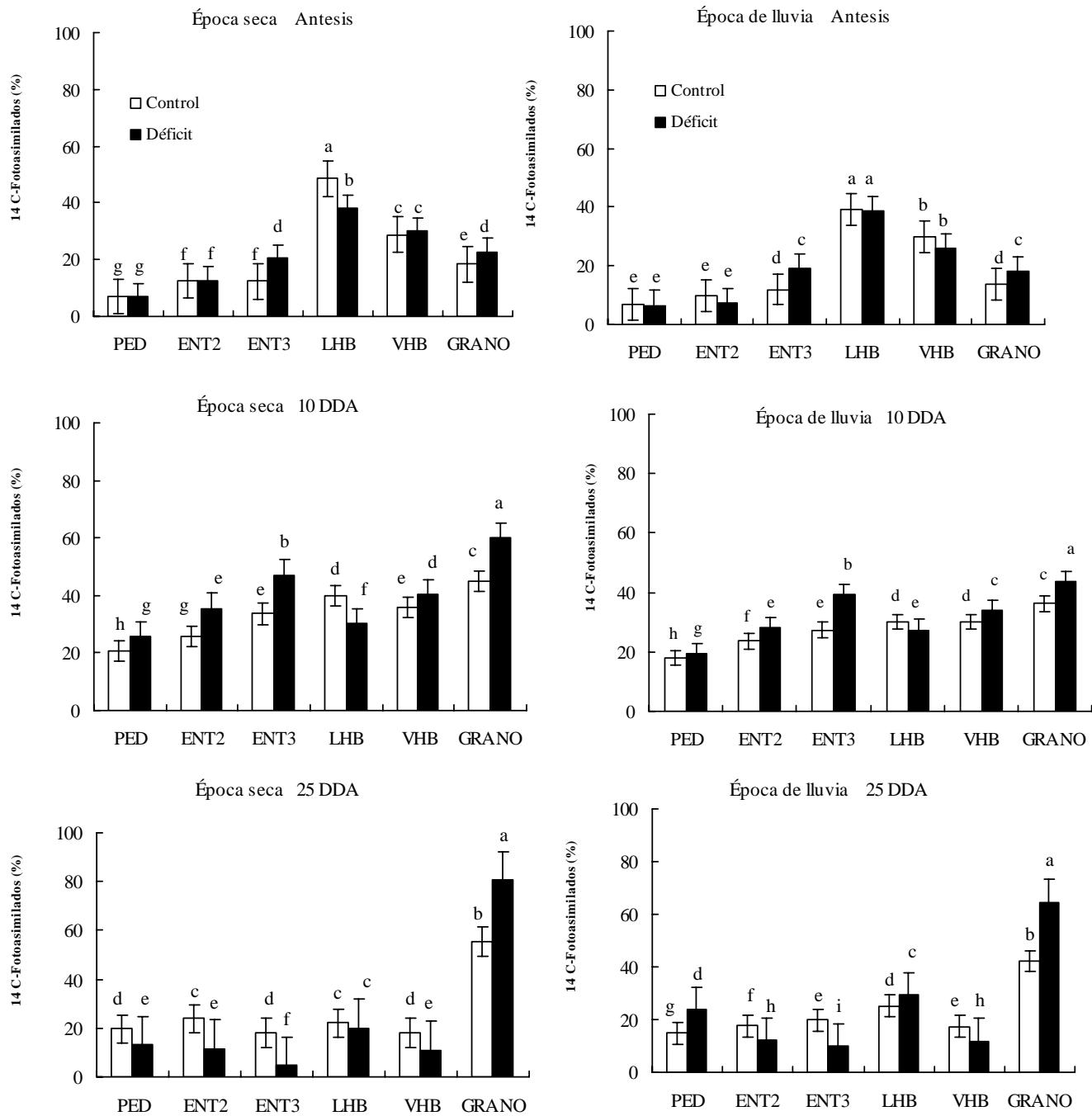


Figura 1. Distribución de ^{14}C -fotoasimilados en la antesis 10 y 25 DDA para diferentes órganos del tallo principal (TP): lámina de la hoja bandera (LHB), vaina de la hoja bandera (VHB), pedúnculo (Ped), segundo entrenudo (Ent2), tercer entrenudo (Ent3) y en los granos. Los resultados corresponden a plantas de arroz (var. J-104) desarrolladas en condiciones de aniego durante todo el ciclo (Control) y expuestas a déficit hídrico (Déficit) en la fase de macollamiento a los 57 y 50 DDS para las épocas de siembra seca y lluvia, respectivamente. Medias con letras iguales no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey HSD. Las líneas verticales en las barras indican el error estándar de la media (n=5)

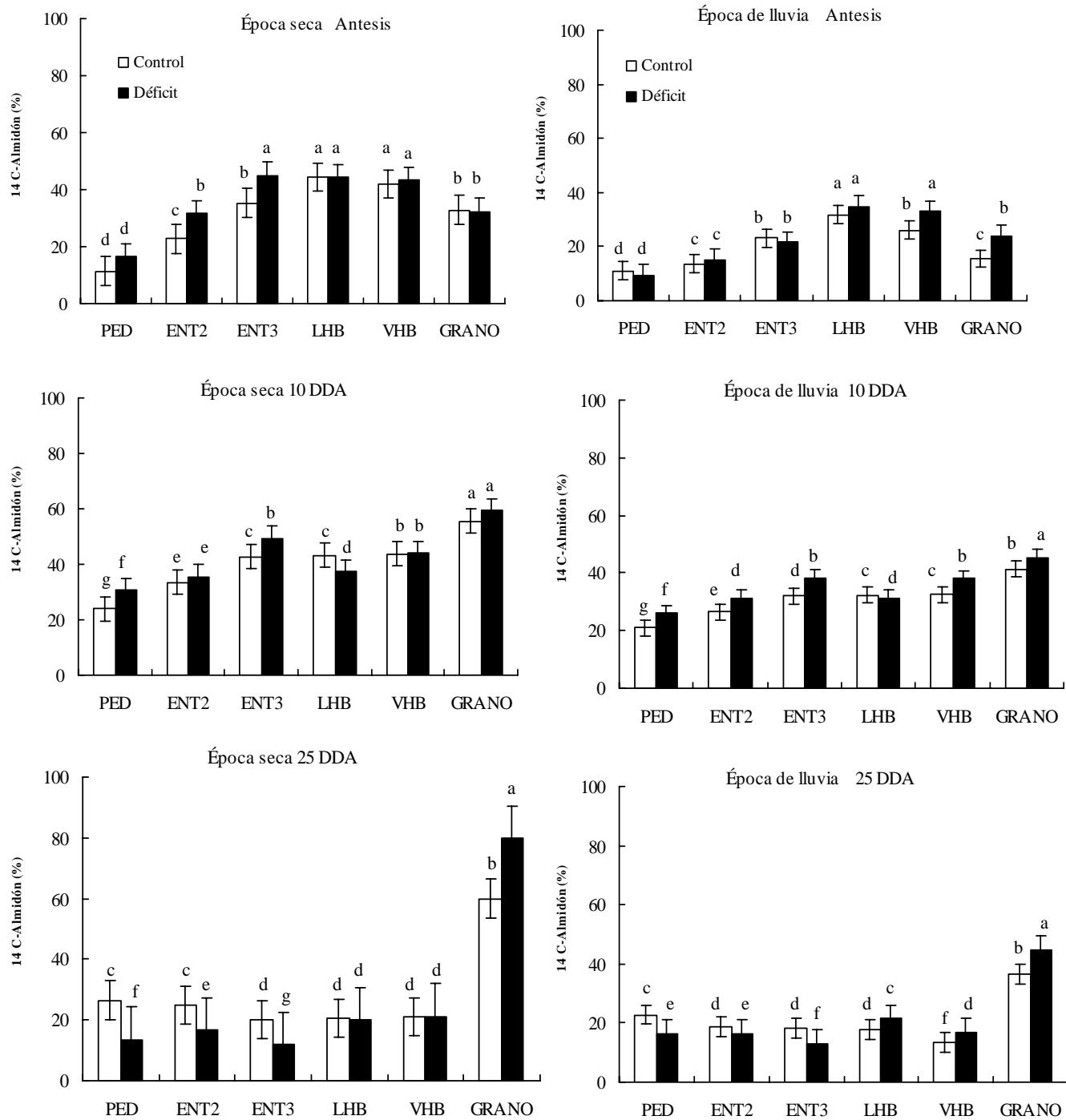


Figura 2. Incorporación de ^{14}C al almidón en la antesis 10 y 25 DDA para diferentes órganos del tallo principal (TP): lámina de la hoja bandera (LHB), vaina de la hoja bandera (VHB), pedúnculo (Ped), segundo entrenudo (Ent2), tercer entrenudo (Ent3) y en los granos. Los resultados corresponden a plantas de arroz (var. J-104) desarrolladas en condiciones de aniego durante todo el ciclo (Control) y expuestas a déficit hídrico (Déficit) en la fase de macollamiento a los 57 y 50 DDS para las épocas de siembra seca y lluvia, respectivamente. Medias con letras iguales no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey HSD. Las líneas verticales en las barras indican el error estándar de la media (n=5)

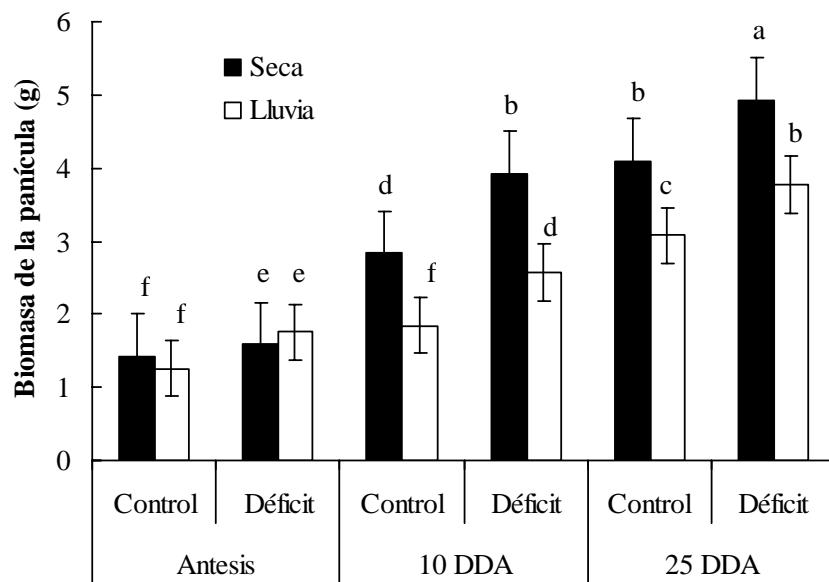


Figura 3. Biomasa de la panícula (g) del tallo principal (TP) en la antesis, 10 y 25 días después de la antesis (DDA). Los datos se obtuvieron en plantas de arroz (Var. J-104) cultivadas en condiciones de aniego durante todo el ciclo (Control) y expuestas a déficit hídrico (Déficit) en la fase de macollamiento a los 57 y 50 DDS en las épocas de siembra seca y lluvia, respectivamente. Las líneas verticales en las barras indican el error estándar (n=5)