

EFECTO DE LA ASPERSIÓN FOLIAR CON BB-16 EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE ARROZ CUANDO SON SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON NaCl DURANTE SIETE DÍAS.

Lisbel Martínez González, Yanelis Reyes Guerrero, Lissy Rosabal Ayán, Luis Miguel Mazorra Morales, Miriam Núñez Vázquez

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, CUBA, e-mail lisbel@inca.edu.cu.

Introducción

Los brasinoesteroides (BR) están considerados actualmente como la sexta clase de hormonas vegetales. Estos compuestos naturales, que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, tienen efectos pleiotrópicos en las plantas, entre los que se destaca su efecto estimulador del crecimiento (Sasse, 2003). En los últimos años, varios autores han estudiado la protección que los BR le confiere a las plantas ante determinados tipos de estrés tanto bióticos como abióticos (Kagale *et al.*, 2007; Núñez *et al.*, 2007). La salinidad es uno de los estrés ambientales que afecta la producción arrocera del país, ya que se conoce que este tipo de estrés limita el crecimiento y la productividad del cultivo. Algunos autores han informado que los brasinoesteroides son capaces de revertir los efectos adversos que la salinidad provoca en el crecimiento de plantas jóvenes de arroz (Anuradha y Rao, 2001; Anuradha y Rao, 2003). En nuestro país existen algunas formulaciones a base de análogos espirostánicos de brasinoesteroides obtenidas por el Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, conocidas como Biobras-6 (BB-6), Biobras-16 (BB-16) y MH-5. Estos análogos espirostánicos sintetizados en nuestro país son mucho más económicos que los brasinoesteroides naturales y, por lo tanto, mucho más factible su futura aplicación práctica en la agricultura. En particular el BB-16 ha tenido muy buenos resultados en el aumento del rendimiento de los cultivos y en particular en el cultivo del arroz (Díaz *et al.*, 2003; Morejón *et al.*, 2007). Además, se ha evaluado, en condiciones controladas, el efecto del tratamiento a las semillas de arroz en la inducción de tolerancia al estrés salino. Sin embargo, muy poco se ha estudiado si la aspersión foliar de este compuesto, en condiciones ambientales, revierte los daños provocados por el estrés salino en las plantas. Por estas razones, el objetivo central de este trabajo fue evaluar si la aspersión foliar con una formulación (BB-16) que tiene como ingrediente activo un análogo espirostánico de brasinoesteroides era capaz de revertir el efecto que provoca el estrés salino en el crecimiento de plántulas de arroz variedad J-104 en dos épocas de plantación diferentes.

Materiales y Métodos

Para dar cumplimiento al objetivo propuesto, se utilizaron semillas de arroz (*Oryza sativa L.*) de la variedad Jucarito-104 (J-104) considerada como susceptible al estrés salino (Alfonso, 1998) y se sumergieron en agua destilada durante 24 horas. Posteriormente, se colocaron en placas Petri; en la oscuridad, para propiciar la germinación y a las 48 horas, las semillas germinadas se trasplantaron a potes que contenían suelo Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso (Instituto de Suelos, 1999) y se introdujeron en cestas plásticas que contenían agua corriente. Se dejaron crecer 3 plantas por pote y se colocaron 20 potes por cesta. Las cestas se colocaron dentro de un umbráculo para evitar el efecto de las precipitaciones. En el momento de emergencia de la tercera hoja verdadera, se realizó la aspersión foliar con el Biobras-16. Las concentraciones utilizadas fueron 0.01, 0.1 y 1 μmolesL^{-1} y la entrega fue de 0.1 mL de solución promedio por planta. Se asperjaron 120 plantas por tratamiento y se dejaron 120 como tratamiento control. En ese momento, las plantas se dividieron en dos grupos de 60 plantas, uno se colocó en cestas a

las cuales se les adicionó solución nutritiva Hoagland diluida y el otro se colocó en cestas que contenían solución nutritiva Hoagland diluida suplementada con 100 mmolesL⁻¹ de NaCl. A los siete días, las plantas que estaban sometidas a tratamiento salino, se colocaron en solución nutritiva Hoagland diluida, durante 14 días, para evaluar la recuperación.

Las evaluaciones de crecimiento (altura, longitud de las raíces, masa seca de la parte aérea y de las raíces) se realizaron a 12 plantas por tratamiento, al iniciar y finalizar el tratamiento salino y a los siete y 14 días de recuperación.

Se ejecutaron dos repeticiones del experimento, una se inició el 24 de diciembre del 2009 y la otra el 25 de mayo del 2010, respectivamente. Se registraron las temperaturas mínimas, medias y máximas y las humedades relativas medias durante la etapa de crecimiento inicial de las plántulas (desde el trasplante hasta la imposición del tratamiento con NaCl), durante el período de tratamiento con NaCl (siete días) y durante la fase de recuperación (14 días) en las dos repeticiones del experimento (Tabla 1).

Los datos de cada repetición se procesaron mediante el cálculo de las medias y los intervalos de confianza a $p \leq 0.05$.

Tabla 1. Temperaturas y humedad relativa media predominantes durante la fase de crecimiento, período de tratamiento con NaCl y fase de recuperación de las plántulas de arroz var. J-104 de las dos repeticiones del experimento

Fases	Temp. máx		Temp. mín.		Temp. media		H.R. media	
	Primera Repetición	Segunda repetición						
Etapa de crecimiento de las plántulas	24.6 ± 1.6	33.1 ± 0.5	13.6 ± 1.7	22.0 ± 0.9	19.4 ± 1.4	26.4 ± 1.1	76.0 ± 3.2	79.5 ± 1.8
Período de tratamiento con NaCl	26.8 ± 1.4	33.4 ± 0.4	15.5 ± 1.5	23.4 ± 0.6	21.3 ± 1.0	27.9 ± 0.4	73.7 ± 7.7	77.1 ± 3.0
Fase de recuperación de las plántulas	25.0 ± 1.9	31.8 ± 0.4	13.9 ± 1.9	22.7 ± 0.5	19.6 ± 1.4	26.2 ± 0.4	71.2 ± 3.9	83.5 ± 1.4

Resultados y discusión

En la figura 1 se presenta el comportamiento de la longitud de la parte aérea de las plántulas en las dos repeticiones del experimento. Como se puede observar, en la primera repetición el tratamiento con NaCl no afectó este indicador ni se observó influencia de la aspersión foliar con BB-16. Sin embargo, en la segunda repetición, el período de tratamiento con NaCl inhibió la longitud de la parte aérea durante la recuperación y solamente el tratamiento de Biobras-16 a la concentración de 0.1 μ molesL⁻¹, fue capaz de proteger a las plántulas, estimulando de forma significativa en comparación con el tratamiento control con NaCl, el alargamiento celular de las mismas en estas condiciones.

Esta diferencia en la respuesta de las plantas ante el tratamiento con NaCl en ambas repeticiones, puede estar relacionada con las condiciones meteorológicas imperantes durante la ejecución de las mismas. Como se puede observar en la Tabla 1, en la primera repetición, tanto la temperatura máxima, como la mínima y la media, durante la ejecución del experimento, fue aproximadamente de 7 a 8°C más baja que en la segunda repetición y es bien conocido, el efecto que la temperatura ejerce en el crecimiento del arroz, pues la temperatura óptima para la

fase vegetativa de este cultivo es de 25-30°C y temperaturas menores ocasionan un retraso en el crecimiento (Yoshida, 1981), lo cual puede ser observado en este trabajo. Es de destacar, que en la etapa de 4-5 hojas, que es en la que se realiza el experimento, las plantas de arroz son muy sensibles a las variaciones de temperatura, ya sea disminución o aumento de la temperatura óptima (Sánchez y Socorro, 2008).

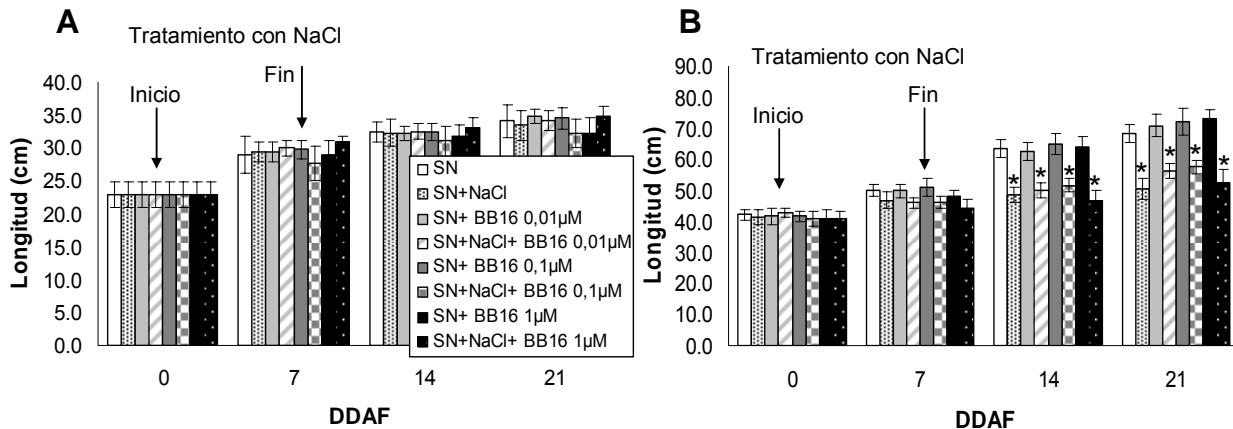


Figura 1. Efecto de la aspersión foliar de BB16 en la longitud de la parte aérea de plántulas de arroz de la variedad J-104 sometidas a 100 mmolesL⁻¹ de NaCl **A.** Primera Repetición. **B** Segunda Repetición. **DDAF:** Días después de la aspersión foliar. En todos los casos las barras indican los intervalos de confianza ($p \leq 0.05$) y los asteriscos los tratamientos que difieren significativamente de sus controles respectivos sin NaCl.

En la longitud de las raíces se observa que en la primera repetición no se evidenció el efecto del análogo de brasinoesteroide (figura 2A), mientras que en la segunda si se observó un efecto positivo del Biobras-16, a la concentración de 0.1 μ molesL⁻¹, a los 7 días de recuperación (14 días después de la aspersión foliar DDAF). (Figura 2B)

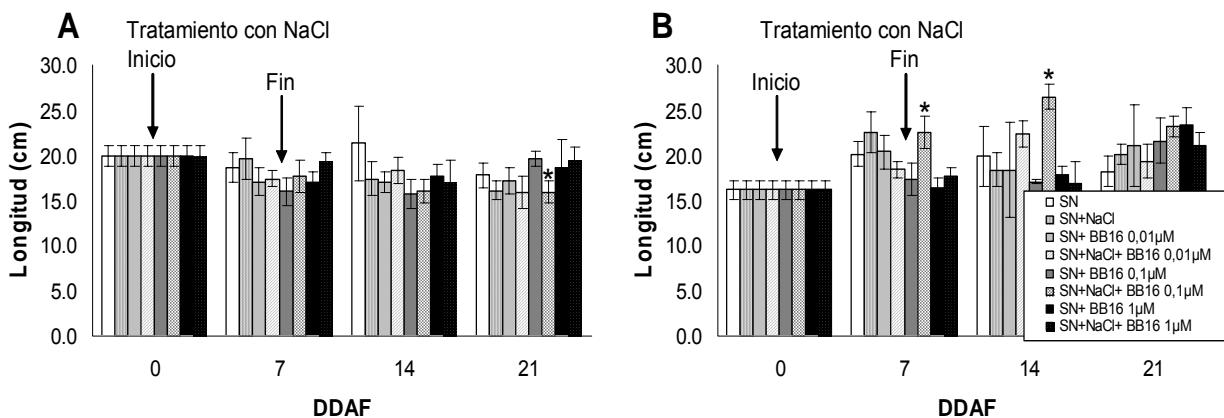


Figura 2. Efecto de la aspersión foliar de BB16 en la longitud de la raíz de plántulas de arroz de la variedad J-104 sometidas a 100 mmolesL⁻¹ de NaCl **A.** Primera Repetición. **B** Segunda Repetición. **DDAF:** Días después de la aspersión foliar. En todos los casos las barras indican los intervalos de confianza y los asteriscos, las diferencias significativas con relación a sus respectivos controles.

En cuanto a la masa seca de la parte aérea, no se encontraron afectaciones en este indicador una vez finalizado el tratamiento con NaCl en ninguna de las dos repeticiones del experimento. Sin embargo, a los 7 días de recuperación (14 DDAF) el tratamiento con NaCl aumentó de forma significativa la masa seca de las plántulas en la primera repetición, y solamente las concentraciones de 0.01 y 1 μmolesL^{-1} de Biobras-16 conservaron este efecto. Sin embargo, en la segunda repetición se observó una reducción significativa de este indicador durante la recuperación, excepto en el tratamiento de 1 μmolesL^{-1} , a los siete días de recuperación (14 DDAF) que mantuvo niveles similares a su control respectivo sin NaCl.

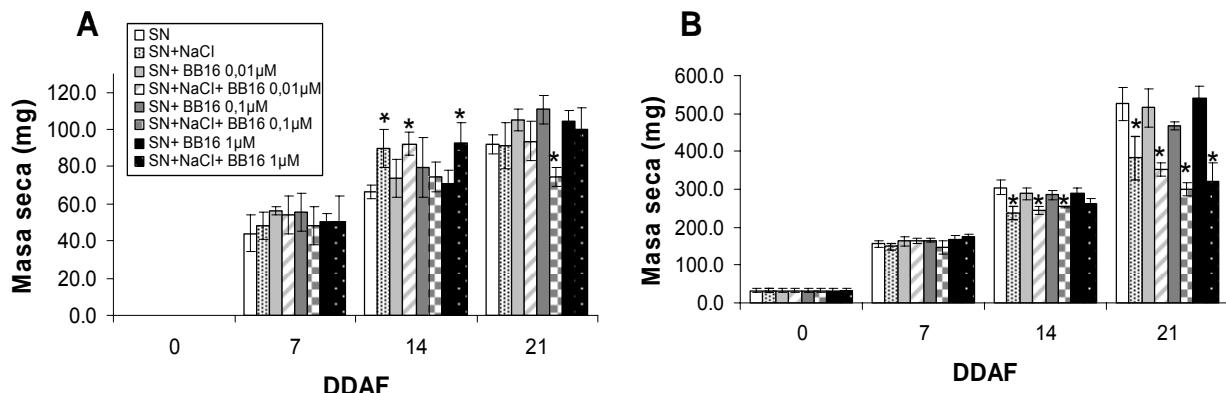


Figura 3. Efecto de la aspersión foliar de BB16 en la masa seca de la parte aérea de plántulas de arroz de la variedad J-104 sometidas a 100 mmolesL^{-1} de NaCl **A.** Primera Repetición. **B** Segunda Repetición. **DDAF:** Días después de la aspersión foliar. En todos los casos las barras indican los intervalos de confianza y los asteriscos, las diferencias significativas con relación a sus respectivos controles.

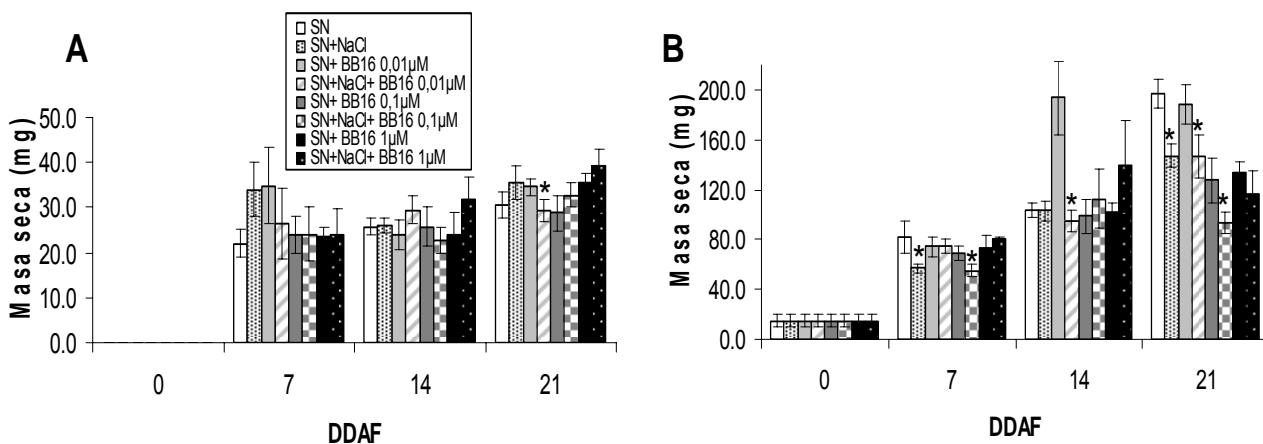


Figura 4. Efecto de la aspersión foliar de BB16 en la masa seca de las raíces de plántulas de arroz de la variedad J-104 sometidas a 100 mmolesL^{-1} de NaCl **A.** Primera Repetición. **B** Segunda Repetición. **DDAF:** Días después de la aspersión foliar. En todos los casos las barras indican los intervalos de confianza y los asteriscos, las diferencias significativas con relación a sus respectivos controles.

En la masa seca de las raíces el estrés salino provocó un aumento significativo de este indicador en la primera repetición (Figura 4A), que no fue observada en las plantas asperjadas

con BB-16. El comportamiento en la segunda repetición fue diferente, ya que la salinidad disminuyó significativamente la masa seca de las raíces en las plantas controles al finalizar el período de tratamiento con NaCl y a los 14 días de la recuperación (21 DDAF); sin embargo, las plantas asperjadas con 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BB-16 no modificaron significativamente los niveles de masa seca una vez finalizado el estrés ni durante la recuperación (Figura 4B).

Se ha demostrado que el tratamiento a las semillas por siete días con EBL (1 μM) fue capaz de incrementar significativamente las velocidades de crecimiento de las raíces y la parte aérea de las plántulas de arroz variedad INCA LP-7 (menos sensible) en medio salino (100 mM NaCl), mientras que en la variedad J-104 (más sensible) el tratamiento con EBL (0.1 μM) fue el mejor, aunque solo aumentó la masa fresca de las raíces (Núñez, 2006). El MH-5 fue capaz de incrementar significativamente la altura de las plántulas, la longitud del sistema radical, las masas fresca y seca y el contenido relativo de agua, con respecto a las plantas no tratadas, ante déficit hídrico en dos variedades de arroz (Perla de Cuba y J-104), siendo más notable su efecto en la variedad Perla de Cuba, más tolerante (García *et al.*, 2005). Este comportamiento al parecer está relacionado con un mayor contenido relativo de agua y una menor tasa de transpiración observada en la variedad Perla de Cuba.

Diferentes análogos evaluados en la variedad de arroz Perla de Cuba incrementaron la masa seca de las plántulas en condiciones de salinidad (Núñez, 2003). Por otra parte, el Biobras-16 a las concentraciones de 0.001 y 0.01 mg.L⁻¹ fue capaz de estimular la actividad de algunas enzimas antioxidantes de plántulas de arroz crecidas *in vitro* en un medio suplementado con 75 mM de NaCl, aunque no se evaluó si este comportamiento estaba asociado a la protección contra este estrés (Núñez *et al.*, 2003-2004).

El tratamiento de las semillas con los análogos de brasinoesteroides BB-16 y BB-6 fue capaz de revertir los efectos adversos de la salinidad en las variedades de arroz J-104 e INCA LP-7. En el caso del BB-16, las mejores respuestas para ambas variedades se obtuvieron con la concentración de 0.005 mg.L⁻¹ del análogo. Sin embargo, en el caso del BB-6 las mejores respuestas, en las variedades J-104 e INCA LP-7, se obtuvieron con las concentraciones de 0.5 y 0.005 mg.L⁻¹ y 0.05 mg.L⁻¹, respectivamente (Núñez *et al.*, 2007).

En este experimento que se realizó en condiciones ambientales y se repitió en dos épocas del año diferentes, quedó evidenciado la influencia que la temperatura ambiente ejerce en la respuesta de las plantas al estrés por NaCl y a la aspersión foliar con BB-16. Teniendo en cuenta, que no existen antecedentes en la literatura del efecto que la aspersión foliar con Biobras-16 puede ejercer en el crecimiento de plántulas de arroz tratadas con NaCl, se hace necesario continuar investigando en este sentido, dada la posibilidad de poder utilizar en un futuro esta formulación como una alternativa para mejorar el crecimiento e incrementar los rendimientos del arroz en áreas afectadas por salinidad.

Referencias bibliográficas

- **Alfonso, R. I.** (1998) Determinación de parámetros genético-fisiológicos indicadores del estrés hídrico para su empleo en el mejoramiento genético del arroz (*Oryza sativa L.*) y la estabilidad varietal. Tesis de grado.
- **Anuradha, S., Rao, S.** (2001) Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa L.*). *Plant Growth Regul* **33**: 151-153
- **Anuradha, S., Rao, S.** (2003) Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa L.*) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increase nitrate reductase activity. *Plant Growth Regul* **40**: 29-32
- **Díaz, S. H., Morejón, R., Nuñez, M.** (2003) Effects of Biobras-16 on rice (*Oryza sativa L.*) yield and other characters. *Cultivos Tropicales* **24**: 35-40

- **García, A., Rodríguez , T., Héctor, E., Núñez, M.** (2005) Efecto del análogo de brasinoesteroide MH-5 en el crecimiento del arroz (*Oryza sativa L.*) en condiciones de déficit hídrico. *Cultivos Tropicales* **26**: 87-91
- **Instituto de Suelos** (1999) Nueva clasificación de los suelos de Cuba. La Habana : Agrinfor. Cuba. MINAGRI. 64
- **Kagale, S., Divi, U. K., Kroccho, J. E., Keller, W. A., Krishna, P.** (2007) Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta* **225**: 353-364
- **Morejón, R., Díaz, S. H., Nuñez, M.** (2007) Uso del Biobras-16 en áreas arroceras de pequeños productores de la provincia de Pinar del Río. *Cultivos Tropicales* **28**: 91-93
- **Núñez, M.** (2003) Synthesis and practical applications of brassinosteroid analogs. En: *Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity*. Netherlands:Kluwer Academic Publishers,
- **Núñez, M., Mazorra, L. M., Martínez, L., González, M. C., Robaina, C.** (2007) Análogos de brasinoesteroides revierten parcialmente el impacto del estrés salino en el crecimiento inicial de las plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa L.*). *Cultivos Tropicales* **28**: 95-99
- **Núñez, M., Mazorra,L.M., Martínez,L., González, M. C., Robaina,C.** (2006) Influencia de la 24-epibrassinolida y un análogo espirostánico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa L.*) en medio salino. *Cultivos Tropicales* **27**: 75-82
- **Núñez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L. M., Siquiera, W. J., Zullo, M. A. T.** (2003-2004) Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biol. Plant.* **47**: 67-70
- **Sánchez, S., Socorro, M.** (2008) Tecnología del cultivo del arroz en pequeña escala. . *In* EM Oliva., ed. Biblioteca ACTAF
- **Sasse, J. M.** (2003) Physiological actions of brassinosteroids: an update. *J. Plant Growth Regul.* **22**: 276-288
- **Yoshida, S.**, ed (1981) Fundamentals of rice crop science. International Rice Research Institute Los Banos, Philippines.