

OLIGOGALACTURÓNIDOS ESTIMULAN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE ARROZ CULTIVADAS EN MEDIO SALINO

Oligogalacturonides enhance rice seedling growth cultivated in saline medium

Miriam Núñez Vázquez✉, Lisbel Martínez González y Yanelis Reyes Guerrero

ABSTRACT. Oligogalacturonides compounds are able to enhance defense responses and regulate plant growth and development; however, there is scarce information about the effects of these compounds on plants grown under abiotic conditions, particularly, under salt stress. For this reason, an experiment was performed where different concentrations (0, 10 and 20 mg L⁻¹) of an oligogalacturonides mixture was applied by INCA LP-7 rice seed treatment during 24 hours and by addition to Hoagland nutritive solution supplemented with NaCl 100 mmol L⁻¹ after seed germination. The pots containing the germinated seeds were placed in a light room with a 16 hours photoperiod and a temperature of 25±2 °C for 13 days. At the end of this period, growth indicators such as srens and root length, dry weight of both organs and some leaf biochemical indicators were evaluated. Salt treatment during 13 days only decreased significantly the length of both seedling organs of this cultivar and the inhibition on root and shoot length was total and partially reverted by the seed treatment with MOGs 20 mg L⁻¹. This response was corresponded to a significant decrease of leaf proline concentration and an increase of peroxidases enzyme activity.

RESUMEN. Los oligogalacturónidos son compuestos capaces de estimular respuestas de defensa y de regular el crecimiento y desarrollo de las plantas; sin embargo, no existe apenas información acerca de los efectos que estos compuestos ejercen cuando las plantas crecen en condiciones de estrés abióticos y particularmente, en condiciones de estrés salino. Por tal motivo, se ejecutó un experimento donde se aplicaron diferentes concentraciones (0, 10 y 20 mg L⁻¹) de una mezcla de oligogalacturónidos (MOGs) tanto por tratamiento a las semillas de arroz cv. INCA LP-7 durante 24 horas como por adición a la solución nutritiva Hoagland suplementada con NaCl 100 mmol L⁻¹, una vez germinadas las semillas. Los potes que contenían las semillas germinadas se colocaron en un cuarto de luces con un fotoperíodo de 16 horas y una temperatura 25±2 °C durante 13 días. Al final de este período, se evaluaron los indicadores de crecimiento longitud de vástago y de raíces, así como la masa seca de ambos órganos y algunos indicadores bioquímicos de las hojas de las plántulas. El tratamiento salino por 13 días solo disminuyó, significativamente, la longitud de ambos órganos de las plántulas de este cultivar, siendo revertida total y parcialmente la inhibición que se produjo en la longitud de las raíces y del vástago, respectivamente por el tratamiento a las semillas con MOGs 20 mg L⁻¹. Esta respuesta se correspondió con una disminución significativa en la concentración de la prolina y un incremento en la actividad de las peroxidases en las hojas.

Key words: abiotic stress, oligosaccharines, *Oryza sativa* L.

Palabras clave: estrés abiótico, oligosacarinas, *Oryza sativa* L.

INTRODUCCIÓN

El estrés salino afecta el crecimiento vegetativo, la floración y formación de frutos causando una reducción marcada en el crecimiento y desarrollo de las plantas,

además de que provoca una producción acelerada de especies reactivas de oxígeno que deben ser estrictamente controladas para evitar el estrés oxidativo y por ende, una posible muerte celular. Dentro de las estrategias recomendadas para mitigar los efectos de este tipo de estrés, además del uso de cultivares tolerantes, la mejora del manejo del agua de irrigación, se encuentra el uso de diversas prácticas agrícolas (1).

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Carretera Tapaste, Km 3½, Gaveta Postal 1. San José de las Lajas, Mayabeque. Cuba. CP 32700
✉ mnunez@inca.edu.cu

Una de las prácticas agrícolas utilizadas actualmente es la aplicación de bioestimulantes. De esta forma, los brasinoesteroides solos o en combinación con poliaminas han demostrado ser capaces de incrementar la tolerancia de las plantas al estrés salino (2–4). Particularmente, en plantas de arroz, no sólo los brasinoesteroides sino también la aplicación de productos a base de sus análogos espirostánicos y de oligosacarinas como la quitosana han estimulado el crecimiento de las plantas sometidas a estrés por NaCl (5,6).

Dentro de los bioestimulantes, también se encuentran los oligogalacturónidos, compuestos capaces de estimular respuestas de defensa en las plantas, incluyendo la acumulación de especies reactivas de oxígeno y proteínas relacionadas con la patogénesis, que protegen las plantas contra infecciones de patógenos. Actualmente, ellos son considerados como verdaderos patrones moleculares asociados a daños que activan la inmunidad innata en las plantas. Además, pueden estar involucrados en la activación de respuestas a heridas mecánicas y pueden actuar como reguladores del crecimiento y desarrollo de las plantas, principalmente a través de su antagonismo con las auxinas (7).

En Cuba, se han realizado diversas investigaciones para evaluar la efectividad de la aplicación de una mezcla de oligogalacturónidos no sólo en diferentes procesos biotecnológicos (8,9), sino además, en el crecimiento, el rendimiento y la calidad de los frutos de plantas de diferentes especies vegetales (10–12). No obstante, existe muy poca información acerca de los efectos que la aplicación de esta mezcla ejerce en las plantas cuando éstas son sometidas a estrés abiótico y especialmente, a estrés salino. Por este motivo, el objetivo central de este trabajo fue determinar los efectos que la aplicación de una mezcla de oligogalacturónidos ejerce en plántulas de arroz sometidas a estrés por NaCl.

MATERIALES Y MÉTODOS

Partiendo de los resultados de ensayos anteriores donde se probaron varias concentraciones de la mezcla de oligogalacturónidos y diferentes modos de aplicación de la misma (datos no publicados), se ejecutó un experimento donde se trataron semillas de arroz cv. INCA LP-7, durante 24 horas, con diferentes concentraciones (0, 10 y 20 mg L⁻¹) de una mezcla de oligogalacturónidos, MOGs, (producto obtenido por el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, a partir de la hidrólisis enzimática del ácido péctico proveniente de la pectina de cítricos). Una vez finalizados los tratamientos, las mismas se colocaron en placas Petri con agua destilada para su germinación en la

oscuridad a una temperatura de 25±2 °C. A las 48 horas, las semillas germinadas se transfirieron a potes a los cuales se les adicionaron 50 x 10⁻³ L de solución nutritiva Hoagland diluida (1:1) suplementada con NaCl 100 mmol L⁻¹, excepto a una parte de las semillas imbibidas en agua destilada, las cuales se colocaron en potes que contenían la solución anterior con la adición de la MGOs en dos concentraciones (10 y 20 mg L⁻¹). Los potes se pusieron en un cuarto de luces con un fotoperíodo de 16 horas y una temperatura de 25±2 °C. A los 13 días, se seleccionaron 25 plántulas por tratamiento para medir las longitudes del vástago y las raíces y se conformaron cinco muestras de cinco plantas cada una para determinar la masa seca de parte aérea y raíces. Además, se tomaron tres muestras de hojas por tratamiento para realizar las determinaciones de las concentraciones de prolina y proteínas solubles totales y las actividades de las enzimas antioxidantes peroxidasa (EC 1.11.1.7) y catalasa (EC 1.11.1.6). Las técnicas utilizadas para realizar dichas determinaciones son las referidas anteriormente (5).

El experimento se repitió en dos ocasiones y los valores promedios de todos los indicadores fueron procesados estadísticamente utilizando análisis de varianza de clasificación simple según Statgraphics plus 5.1. Para discriminar las diferencias entre las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey para p ≤ 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos mostraron que la presencia de NaCl 100 mmol L⁻¹ en la solución nutritiva durante 13 días solamente afectó significativamente la longitud del vástago y de las raíces de las plántulas de arroz cv. INCA LP-7, mientras que las masas secas de estos órganos no mostraron diferencias significativas. El tratamiento a las semillas de arroz con MOGs en una concentración de 20 mg L⁻¹, durante 24 horas, revirtió total y parcialmente la inhibición inducida por la presencia del NaCl en la longitud de las raíces y del vástago, respectivamente. Este tratamiento estimuló significativamente la masa seca de las plántulas, en comparación con las plántulas procedentes de semillas tratadas con agua y crecidas en presencia de sal (Tabla I). La inclusión de la MGOs en el medio de crecimiento de las plántulas, en cualquiera de las dos concentraciones ensayadas, solamente favoreció el crecimiento de la parte aérea de las plántulas.

Investigaciones realizadas anteriormente han demostrado el efecto estimulante de los oligogalacturónidos en el alargamiento de las raíces de plantas de pepino (13) y de alfalfa (14). Este efecto dependió de las concentraciones utilizadas, lo cual se confirma con estos resultados (Tabla I).

Hay que destacar que en estos casos se aplicaron oligogalacturonidos con grado de polimerización entre 10 y 15; sin embargo, el uso de trimeros resultaron elicitores activos de las defensas de las plantas, pero inhibieron el crecimiento de posturas de *Arabidopsis* (15). Recientemente, se informó que la adición al medio de cultivo de una mezcla de oligosacarinas (1 mg L^{-1}) derivadas de la pared celular de las plantas no estimuló la longitud de las raíces de plántulas de *Arabidopsis* después de 15 días de cultivo con la presencia de NaCl (16).

Adicionalmente, al grado de polimerización de los oligogalacturonidos y a la concentración que se utilice, en el presente trabajo se reveló la importancia del modo de aplicación de estos compuestos, ya que el tratamiento a la semilla con 20 mg L^{-1} fue más efectivo en la estimulación del crecimiento de las plántulas de arroz, que la adición de esta misma concentración en el medio de crecimiento.

Por otra parte, se ha informado que la aplicación de la mezcla de oligogalacturonidos conocida como Pectimorf® a plantas de frijol modificó los patrones de distribución y morfogénesis estomática, lo que pudiera favorecer el crecimiento adecuado de las plantas en ambientes desfavorables (17). Esta respuesta de los estomas a la aplicación de los oligogalacturonidos, pudiera favorecer una mayor asimilación de CO_2 en condiciones de estrés y por ende, estar asociada con la mayor masa seca de la parte aérea que se encontró en todas las plántulas de arroz tratadas con la MOGs, con independencia del modo de aplicación y de las concentraciones empleadas.

Conociendo que la prolina es un aminoácido que se acumula en plantas sometidas a estrés abióticos y que el estrés salino puede generar un estrés oxidativo y por ende, se puede estimular la defensa antioxidante en las plantas, en la Tabla II se muestran los resultados del comportamiento de algunos indicadores bioquímicos relacionados con la respuesta de las plantas a esta condición de estrés.

Tabla I. Influencia de diferentes concentraciones y modos de aplicación de una mezcla de oligogalacturonidos (MOGs) en algunos indicadores del crecimiento de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 sometidas a tratamiento de NaCl 100 mmol L^{-1} durante 13 días

Tratamientos	Longitud (cm)		Masa seca (mg planta^{-1})	
	Vástago	Raíces	Parte aérea	Raíces
Imb. Agua (Control)	19,4 a	8,1 a	9,9 ab	6,1 ab
Imb. Agua + NaCl	12,4 d	6,8 cd	9,2 b	5,5 b
Imb. MOGs 10 mg L^{-1} + NaCl	14,6 bc	7,1 bc	11,2 a	5,9 ab
Imb. MOGs 20 mg L^{-1} + NaCl	14,9 bc	8,0 ab	11,0 a	6,3 a
Imb. Agua+ MOGs 10 mg L^{-1} + NaCl	14,2 c	6,4 cd	10,9 a	6,2 ab
Imb. Agua+ MOGs 20 mg L^{-1} + NaCl	15,8 b	6,1 d	11,1 a	5,9 ab
E.S. \bar{x}	0,37*	0,25*	0,30*	0,18*

Letras iguales representan medias que no difieren significativamente según prueba de rangos múltiples de Tukey para $p \leq 0,05$. Imb, imbibición

Tabla II. Efecto de la aplicación exógena de una mezcla de oligogalacturonidos (MOGs) en el comportamiento de algunos indicadores bioquímicos de las hojas de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 sometidas a NaCl 100 mmol L^{-1} por 13 días

Tratamientos	Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ M.F.}$)	Proteínas solubles totales ($\text{mg g}^{-1} \text{ M.F.}$)	Peroxidasa ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$)	Catalasa ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$)
Imb. Agua (Control)	0,016 c	1,10 a	0,202 a	0,598 c
Imb. Agua + NaCl	0,027 a	0,90 bc	0,123 c	0,883 a
Imb. MOGs 10 mg L^{-1} + NaCl	0,023 b	0,80 c	0,166 ab	0,871 a
Imb. MOGs 20 mg L^{-1} + NaCl	0,015 c	0,9 bc	0,191 a	0,572 c
Imb. Agua+ MOGs 10 mg L^{-1} + NaCl	0,018 c	1,0 ab	0,121 c	0,590 c
Imb. Agua + MOGs 20 mg L^{-1} + NaCl	0,025 ab	1,0 ab	0,140 bc	0,750 b
E.S. \bar{x}	0,0064*	0,03*	0,008*	0,02*

Letras iguales representan medias que no difieren significativamente según prueba múltiple de Tukey a $p \leq 0,05$ (n=6). Imb, imbibición

La presencia de NaCl 100 mmol L⁻¹ en la solución nutritiva estimuló significativamente la concentración de prolina y la actividad de la enzima catalasa en las hojas de las plántulas de arroz cv. INCALP-7, mientras hubo una reducción significativa de la concentración de proteínas solubles totales y de la actividad de la enzima peroxidasa. Una respuesta similar de la prolina, las proteínas solubles totales y de la actividad específica de la enzima catalasa fueron obtenidas en plantas de arroz variedad Pusa Basmati-1 de doce días de edad sometidas a estrés por NaCl (1).

La aplicación exógena de la mezcla de oligogalacturónidos fue capaz de modificar este comportamiento, a tal punto que las plantas procedentes del tratamiento a las semillas con 20 mg L⁻¹ durante 24 horas, exhibieron valores de todos los indicadores, excepto de la concentración de proteínas solubles totales, que no difirieron significativamente de los mostrados por las plántulas del tratamiento control. Este comportamiento unido a que este tratamiento fue el de mejor comportamiento en los indicadores del crecimiento, sugiere que el mismo puede inducir la protección de las plántulas de este cultivar ante condiciones de estrés por NaCl.

Actualmente, está claro que la prolina tiene papeles multifuncionales en las plantas, que además de ser un osmoprotector, la prolina puede actuar como un potente antioxidante no enzimático, puede estabilizar el DNA, las membranas y los complejos de proteínas, y provee una fuente de carbono y nitrógeno para el crecimiento posterior al estrés (18). Esto explica el incremento de este indicador en las plántulas de arroz sometidas a estrés por NaCl y la disminución de la concentración de prolina en las hojas de las plántulas cuyas semillas fueron tratadas con la mezcla de oligogalacturónidos confirma el resultado informado, anteriormente, por otros autores quienes encontraron, durante la fase de aclimatización, una disminución de la prolina libre foliar en vitroplantas de banano tratadas con soluciones de oligogalacturónidos sugiriendo que las mismas sufrieron menos el estrés provocado por el traspaso de una condición *in vitro* a una *ex vitro* (19).

La reducción significativa que se produjo en la concentración de proteínas solubles totales en las hojas de las plantas sometidas a estrés, fue revertida de forma parcial, aunque no significativamente, por la presencia de la mezcla de oligogalacturónidos en el medio de crecimiento (Tabla II). Resultados similares fueron informados en plantas de albahaca cuyas raíces fueron sumergidas en una solución de una mezcla de oligogalacturónidos previo al trasplante y posteriormente, sometidas a déficit hídrico (20).

En cuanto a la influencia de la mezcla de oligogalacturónidos en las actividades de las enzimas antioxidantes en plantas sometidas a estrés salino no se han encontrado antecedentes, ya que,

generalmente, se señala que los oligogalacturónidos estimulan proteínas relacionadas con la patogénesis, tanto solos (21) como en combinación con oligómeros de quitosana (22). Sin embargo, en este trabajo se observó que el tratamiento a las semillas con la MOGs estimuló significativamente la actividad de la enzima peroxidasa en medio salino en comparación con las plantas cuyas semillas fueron imbibidas en agua; sin embargo, la inclusión de éste en el medio, en las dos concentraciones ensayadas, no influyó en este indicador.

Estos resultados reflejan una vez más, la importancia del modo de aplicación en la respuesta de las plantas a los oligogalacturónidos. No obstante, estos constituyen los primeros resultados que se informan relacionados con la influencia que una mezcla de oligogalacturónidos ejerce en plantas de arroz sometidas a estrés por NaCl. Por esta razón, se hace necesario continuar investigando y profundizar en este sentido, de forma tal, que de confirmarse estos resultados, posteriormente, no sólo esclarecer el modo de acción de estos compuestos en plantas sometidas a estrés abióticos, sino también, poder llegar a proponer una metodología de aplicación práctica de este tipo de compuesto para mitigar los efectos adversos que el estrés salino provoca en el cultivo del arroz.

CONCLUSIONES

La aplicación exógena de una mezcla de oligogalacturónidos y especialmente, el tratamiento a las semillas durante 24 horas con una solución de 20 mg L⁻¹ estimula significativamente el crecimiento de plántulas de arroz cv. INCALP-7 en medio salino. Esta respuesta se correspondió con una disminución significativa de la concentración de prolina en las hojas y de la actividad de la enzima catalasa y con un incremento en la actividad de la enzima peroxidasa, alcanzando valores similares a las plantas del tratamiento control sin NaCl y sin oligogalacturónidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sharma I, Ching E, Saini S, Bhardwaj R, Pati PK. Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;69:17-26. doi:10.1016/j.plaphy.2013.04.013
2. Wani AS, Tahir I, Ahmad SS, Dar RA, Nisar S. Efficacy of 24-epibrassinolide in improving the nitrogen metabolism and antioxidant system in chickpea cultivars under cadmium and/or NaCl stress. *Scientia Horticulturae*. 2017;225:48-55. doi:10.1016/j.scienta.2017.06.063
3. Slathia S, Sharma A, Chodhary SP. Co-application of 24-epibrassinolide and putrescine enhances salinity tolerance in *Solanum lycopersicum* L. by modulating stress indicators and antioxidant system. *International Journal of Pharma and Bio Science*. 2013;4(1):70-85.

4. Mir BA, Khan TA, Fariduddin Q. 24-epibrassinolide and spermidine modulate photosynthesis and antioxidant systems in *Vigna radiata* under salt and zinc stress. *International Journal of Advanced Research*. 2015;3(5):592-608.
5. Reyes Guerrero Y, Martínez González L, Núñez Vázquez M. Aspersión foliar con Biobras-16 estimula el crecimiento de plantas jóvenes de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a un tratamiento con NaCl. *Cultivos Tropicales*. 2017;38(1):155-66.
6. Martínez González L, Reyes Guerrero Y, Falcón Rodríguez A, Núñez Vázquez M. Efecto del tratamiento a las semillas con quitosana en el crecimiento de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar INCA LP-5 en medio salino. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(1):143-50.
7. Ferrari S, Savatin DV, Sicilia F, Gramegna G, Cervone F, De Lorenzo G. Oligogalacturonides: plant damage-associated molecular patterns and regulators of growth and development. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2013 [citado 2 de abril de 2018];13. doi:10.3389/fpls.2013.00049
8. Borges García M, Reyes ADM, Zayas AJM, Destrade BR. Efecto de Pectimorf® en el enraizamiento *in vitro* de plantas de 'FHIA-18' (*Musa* AAAB). *Biología Vegetal*. 2015;15(4):227-32.
9. Izquierdo H, González MC, Nuñez M. Estabilidad genética de las plantas de banano (*Musa* spp.) micropropagadas con reguladores del crecimiento no tradicionales. *Biología Vegetal*. 2014;31(1):18-22.
10. García SML, Martínez JV, Avendaño LAN, Padilla SMC, Izquierdo OH, Sahagún P, et al. Acción de oligosacáridos en el rendimiento y calidad de tomate. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 2009;32(4):295-301.
11. Ramos Hernández L, Arozarena DNJ, Lescaille AJ, García CF, Tamayo AY, Castañeda HE. Dosis de pectimorf® para enraizamiento de esquejes de guayaba var. Enana Roja Cubana. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2013;4(spe6):1093-105.
12. Ayala-Boza PJ, Tornés ON, Reynaldo EI. Efecto de biofertilizantes y Pectimorf en la producción de soya (*Glycine max* L.) en condiciones de secano. *Revista Granma Ciencia*. 2013;17(2).
13. Spiro MD, Bowers JF, Cosgrove DJ. A comparison of oligogalacturonide and auxin-induced extracellular alkalization and growth responses in roots of intact cucumber seedlings. *Plant Physiology*. 2002;130(2):895-903. doi:10.1104/pp.006064
14. Camejo D, Martí MC, Jiménez A, Cabrera JC, Olmos E, Sevilla F. Effect of oligogalacturonides on root length, extracellular alkalization and O₂⁻ accumulation in alfalfa. *Journal of Plant Physiology*. 2011;168(6):566-75. doi:10.1016/j.jplph.2010.09.012
15. Davidsson P, Broberg M, Kariola T, Sipari N, Pirhonen M, Palva ET. Short oligogalacturonides induce pathogen resistance-associated gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*. 2017;17(19):17-9. doi:10.1186/s12870-016-0959-1
16. Castro Donoso BM. Comparación de la respuesta morfológica y la expresión génica al estrés salino en plantas de *Arabidopsis thaliana* tratadas con oligosacarinas de origen natural [Trabajo presentado para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología]. [Quito]: Universidad de las Américas; 2016. 55 p.
17. Álvarez Bello I, Reynaldo Escobar I. Efecto del Pectimorf® en el índice estomático de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*. 2015;36(3):82-7.
18. Rejeb KB, Abdely C, Savouré A. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014;80:278-84. doi:10.1016/j.plaphy.2014.04.007
19. Izquierdo H, Nuñez M, González MC, Proenza R, Cabrera JC. Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatación de vitropiantas de banano (*Musa* spp.) del clon FHIA-18 (AAAB). *Cultivos Tropicales*. 2009;30(1):37-42.
20. Ojeda Silvera CM. Efecto de un producto bioactivo compuesto por oligogalacturónidos como mitigador del estrés hídrico en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) [Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales]. [Baja California Sur]: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste; 2015. 150 p.
21. Larskaya IA, Gorshkova TA. Plant oligosaccharides — outsiders among elicitors? *Biochemistry (Moscow)*. 2015;80(7):881-900. doi:10.1134/S0006297915070081
22. van Aubel G, Cambier P, Dieu M, Van Cutsem P. Plant immunity induced by COS-OGA elicitor is a cumulative process that involves salicylic acid. *Plant Science*. 2016;247:60-70. doi:10.1016/j.plantsci.2016.03.005

Recibido: 7 de noviembre de 2017

Aceptado: 9 de marzo de 2018