

INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LAS RADÍCULAS DE PLÁNTULAS DE ARROZ (*Oryza sativa*)

Ofelia Sam[✉]

ABSTRACT. The morphological disorders of rice (*Oryza sativa*) seedling rootlets affected by salinity were studied in INCA-LP-10 cv., which has a certain salt-tolerance degree. Seeds were germinated in two saline concentrations, besides a separate control treatment just with water. After five days, rootlets were sampled, fixed to formaldehyde at 4 % and later processed until they were included in Epon resin. The semi-thin cuts were stained with blue toluidine. Longitudinal rootlet sections showed that salinity provoked morphological changes, according to NaCl concentrations employed, which mainly consisted of rootlet morphological changes and disorganized tissues, then opening large cavities among cell lines.

Key words: salinity, rice, plant anatomy, radicle, *Oryza sativa*

RESUMEN. Las alteraciones en la morfología de radículas de plántulas de arroz (*Oryza sativa*) por efecto de la salinidad fueron estudiadas en la variedad INCA LP-10, considerada con cierto grado de tolerancia a la salinidad. Las semillas fueron puestas a germinar en dos concentraciones salinas y un tratamiento control con agua sola por separado. Pasados cinco días, las radículas fueron muestreadas, fijadas en formaldehído al 4 % y posteriormente procesadas hasta su inclusión en resina Epón. Se obtuvieron cortes semifinos, que fueron teñidos con azul de toluidina. En las secciones longitudinales de las radículas, se pudo apreciar que la salinidad provocó cambios en la morfología radicular, de acuerdo con las concentraciones de NaCl empleadas, que consistieron fundamentalmente en cambios de la morfología radicular y desorganización de los tejidos, abriéndose grandes cavidades entre las filas de células.

Palabras clave: salinidad, arroz, anatomía de la planta, radícula, *Oryza sativa*

INTRODUCCIÓN

El arroz es uno de los cultivos muy extendidos en el mundo, lo que ha conllevado a que se realicen numerosos estudios en diversos aspectos, considerándose como un modelo para las comparaciones genómicas de las plantas (1). Sus características nutricionales y gustativas hacen que en Cuba el arroz continúe siendo un producto básico en la dieta de la mayoría de la población; es por ello que se desarrolla un amplio programa de mejoramiento en este cultivo, tendiente a la obtención de plantas con las cualidades de tolerancia a los estrés que son más frecuentes en las plantaciones de arroz, haciéndose especial énfasis entre los abióticos de sequía y salinidad.

Como se conoce, los estrés influyen activamente en el rendimiento y funcionamiento de las plantas, ya que usualmente inhiben el crecimiento y la división celular, así como influyen en la síntesis proteica y de otros compuestos, y afectan la morfología y ultraestructura (2, 3, 4, 5, 6) y, en el caso del estrés de salinidad, actúan directamente sobre la morfología e integridad de las subestructuras celulares (7).

Algunos tipos de plantas presentan modificaciones morfológicas adicionales, como son: las células buliformes, especializadas en la acumulación de sal, o glándulas para la excreción de sal, entre otras.

Algunos afirman que la mayoría de las angiospermas y los cultivos principales son incapaces de tolerar altas concentraciones de NaCl y que los suelos que contienen concentraciones de sal sobre 100 milimolar aparecen en la naturaleza y las tierras salinizadas aumentan anualmente (8); esto conlleva a que cualquier esfuerzo que se haga, con vistas a conocer la influencia de la salinidad en los cultivos de interés agrícola, sea importante.

Por todo lo anteriormente expuesto y considerando que en el cultivo del arroz no ha quedado suficientemente demostrado el efecto de la salinidad a nivel histológico, sobre todo en lo concerniente a la raíz, que la literatura en la que se trata de este aspecto en arroz es escasa y que no se conocen muchas de las características histológicas específicas de las nuevas variedades, se realizó el presente estudio, con el objetivo de determinar la influencia de diferentes concentraciones de sal (NaCl) en las características histológicas de las radículas de plántulas de arroz de una variedad nueva, con cierto grado de tolerancia a este estrés.

Dra.C. Ofelia Sam, Investigadora Titular del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, CP 32 700, La Habana, Cuba.

✉ sam_morejon@yahoo.com

MATERIALES Y MÉTODOS

Se pusieron a germinar semillas de la variedad de arroz (*Oryza sativa*) INCA LP-10, en placas Petri con papel de filtro y agua destilada para el tratamiento control, en cámara de crecimiento con 12 h de luz y 12 de oscuridad a 28°C día/18°C noche y de igual forma se procedió, sustituyendo el agua destilada por las soluciones salinas de NaCl, con 75 mM para el tratamiento moderado y 150 mM para el tratamiento severo.

A los cinco días después de puestas a germinar se realizó el muestreo; para ello se tomaron las radículas de cada tratamiento por separado, de las que se obtuvieron porciones de 3 mm de longitud, a partir del ápice de la radícula hacia su base. Posteriormente fueron fijadas en formaldehído al 4 % toda la noche a 4°C, después se lavaron tres veces durante 5 min. en PBS y se comenzó la deshidratación en serie creciente de etanol, comenzando por 30 % durante una hora en cada uno, hasta etanol absoluto, donde se hicieron tres cambios a una hora cada uno. Seguidamente se pasó a etanol/óxido de Propileno (1:1, v/v) durante 5 min., después a óxido de Propileno absoluto durante 10 min. tres veces y se comenzó la infiltración con óxido de Propileno/resina Epón (1:1) con agitación y a temperatura ambiente durante 45 min., al final de los cuales se pasó a resina Epón pura, donde las muestras permanecieron a 4°C y con agitación toda la noche, quedando listas para la polimerización en cápsulas de gelatina y en estufa a 60°C durante 16 horas.

Las secciones semi finas de 2 µm de grosor se obtuvieron con cuchillas de vidrio en un Ultratome LKB, se montaron en portaobjetos, se tiñeron con azul de toluidina al 0.01 % y fueron observadas y fotografiadas en un microscopio Olympus con cámara digital acoplada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran las secciones longitudinales de las radículas de plántulas de la variedad INCA LP-10 del tratamiento control (Figura 1A), para que se pueda ver la forma de la radícula de esta variedad en su estado original, así como la organización zonal; se pueden apreciar la cofia, el ápice y el aspecto general de la organización tisular, aunque sin distinguir los detalles en ellos. En la Figura 1B, a mayor aumento, se pueden apreciar las características titulares de las diferentes zonas: la cofia, formada por varias capas de células, que en su parte central más interna guardan características meristemáticas, rodeada de células que en la medida en que se desarrollan van siendo más alargadas y pierden esas características; a continuación y en una posición sub apical, se encuentra el meristemo radicular, bien organizado en filas de células que originarán los demás tejidos de una raíz de primer orden de este tipo de plantas.

La organización de los tejidos jóvenes (Figura 1B) se presenta en filas a lo largo del eje longitudinal de la radícula con pequeños espacios entre ellas, pues aún no se ha desarrollado el aerénquima ni existen otras cavidades, lo que le da un aspecto bastante compacto cuando no han recibido los tratamientos salinos.

En la Figura 2 se presentan las secciones longitudinales de las radículas de plántulas con el tratamiento salino moderado; en 2A se ve que este tratamiento influyó en la morfología radicular, provocando cambios en los tejidos, lo que se evidenció en las cavidades entre las filas de células, que se aprecian cuando se comparan con las del tratamiento control; esto se acentúa más en la zona cortical. Aunque en general la radícula mantuvo sus estructuras y la cofia con escasas capas de células, lo referente a las cavidades y la desorganización celular en las capas de la corteza, se puede apreciar más detalladamente en la Figura 2B.

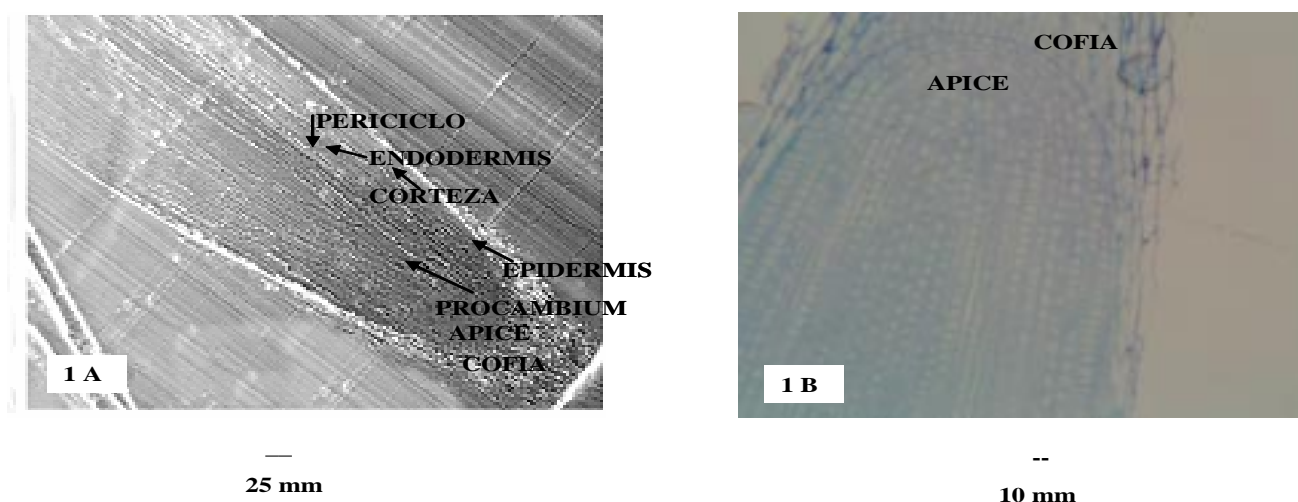


Figura 1. Secciones longitudinales de radículas de las plántulas del tratamiento control de la variedad INCA LP-10, A) con menos aumento, mostrando las características morfológicas de ellas y las diferentes zonas de la radícula y B) más ampliado, donde se aprecia la organización y las características tisulares de las radículas que no han recibido tratamiento salino

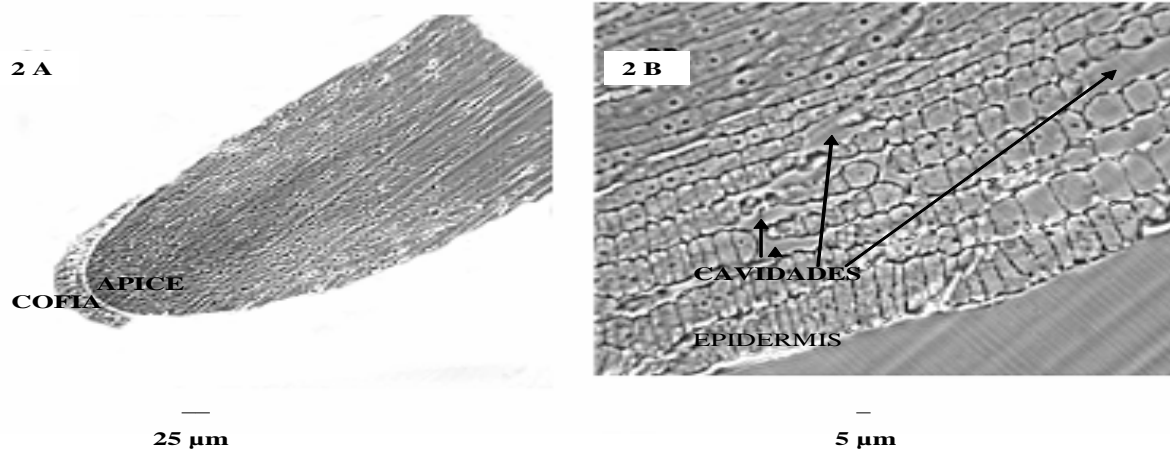


Figura 2. Secciones longitudinales de radículas de las plántulas del tratamiento salino moderado, mostrando los cambios ocasionados en los tejidos de la variedad INCA LP-10, A) con menos aumento y B) más ampliado. Nótese el aumento de tamaño de los espacios entre las filas de células y las cavidades

En la Figura 3 se aprecian los daños ocasionados por el NaCl a alta concentración (150 mM); aunque las semillas germinaron y hubo desarrollo inicial de la radícula, su morfología cambió totalmente (Figura 3A) y en los tejidos no se observó la organización característica correspondiente a las diferentes estructuras (3B), incluida la cofia, que no mantuvo su integridad y las células que la constituyen no se pudieron desarrollar; con este tratamiento las grandes cavidades se observan no solo en el tejido cortical, sino también en la zona más hacia el centro de la radícula, donde debía desarrollarse el tejido vascular, con lo que queda claro que el tratamiento de 150 mM es demasiado severo para esta etapa de desarrollo de las plántulas de esta variedad.

En cuanto al efecto de la salinidad en el crecimiento y la morfología de las plantas, se ha desarrollado un mo-

delo biofísico, que confirma el papel crítico de la morfología de la raíz en las propiedades hidráulicas relacionadas con la tolerancia a la salinidad y al déficit hídrico. La identificación de genes, basándose en la correlación entre la exposición al estrés salino y la expresión del gen en las raíces y otros órganos (9), ha proporcionado datos que son exitosos, si se usan como parte de una estrategia para mejorar la tolerancia de la planta a la sal y se agrega que la identificación de esos genes que influyen en la tolerancia a ese estrés ha avanzado, pero una aproximación para entender el mecanismo específico de adaptación de la raíz a condiciones de estrés salino y osmótico, no ha sido totalmente dilucidada y no se sabe todavía cuáles son los genes responsables de los cambios en la morfología de las raíces, que puedan ser también beneficiosos en la presencia de estrés salino.

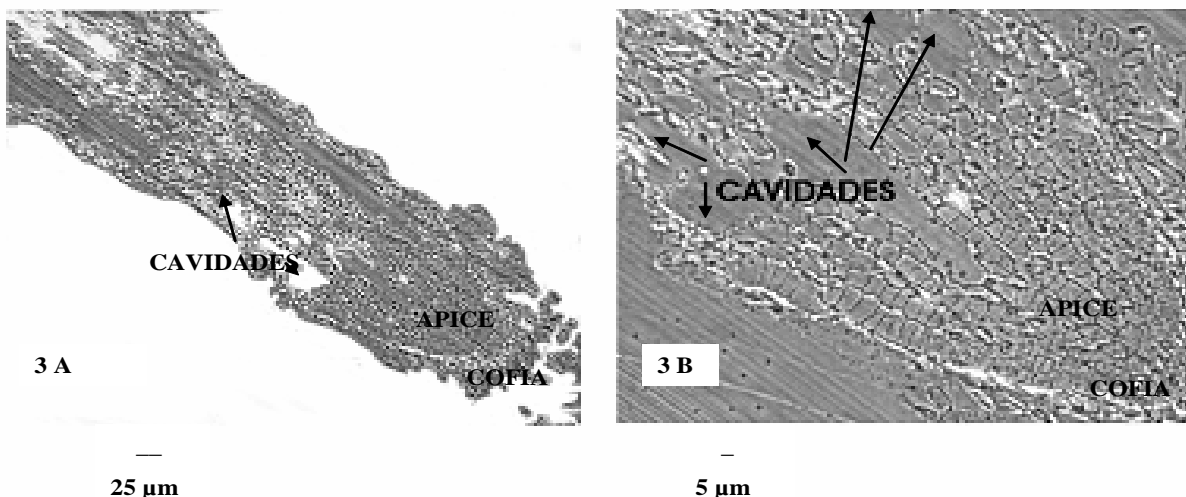


Figura 3. Secciones longitudinales de radículas de las plántulas del tratamiento salino severo, mostrando los cambios ocasionados en los tejidos de la variedad INCA LP-10, A) con menos aumento, donde se aprecian las deformaciones morfológicas provocadas por ese nivel de estrés y B) con los detalles más ampliados de la desorganización tisular y los cambios en la morfología radicular

En *Arabidopsis*, se ha podido probar que el estrés salino interfiere con la regulación del ciclo celular en el nivel transcripcional, resultando una respuesta adaptativa de crecimiento (10) y que en las células epidérmicas inmediatamente después de sometidas a estrés hiperosmótico con tratamientos de 100/100 mM manitol/sorbitol, la turgencia de las células decayó de 0.65 a cerca de 0.25 Mpa. Después del estrés, se recobró la turgencia y se incrementó la absorción de K^+ , Cl^- y Na^+ en células de la raíz (11). Por otro lado, se señala que hay diferencias significativas en la tolerancia a la salinidad entre las plantas (12).

En este caso, la germinación no presentó dificultades en los tratamientos salinos, lo que permitió decir que las semillas de la variedad de arroz INCA LP-10 toleran las concentraciones de NaCl empleadas en este estudio para esa etapa, aunque en las posteriores sea más sensible y se conoce del estudio realizado en la germinación de yerbas halófitas perennes (13), donde al probar varios regímenes de luz, temperatura y concentraciones salinas en este fenómeno, observaron que el incremento en la salinidad inhibió progresivamente la germinación de todas esas especies y que esta fue baja en todos los tratamientos salinos.

Las concentraciones de NaCl empleadas en el presente estudio, permitieron ver el efecto negativo que tuvieron sobre la morfología radicular y organización tisular de ellas, sobre todo en el tejido cortical con la concentración menor y en su totalidad para el tratamiento severo, con el que ocurrió la desorganización total de los tejidos y su estructura, perdiendo la radícula su forma característica. El hecho de que ocurriera la germinación con este último tratamiento, demuestra que la variedad utilizada en este trabajo presenta cierto grado de tolerancia a las concentraciones de NaCl utilizadas, tanto para la germinación como en las primeras etapas del crecimiento radicular, con lo que se pudieron ver los cambios fundamentales que provoca la salinidad.

REFERENCIAS

1. Shimamoto, K. y Kyojuka, J. Rice as a model for comparative genomics of plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002, vol. 53, p. 399-419.

2. Smertenko, A.; Drábek, P.; Viklický, V. y Opatrný, Z. Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. *Plant Cell Environ.*, 1997, vol. 20, p. 1534-1542.
3. Allakhverdiev, S. I.; Sakamoto, A.; Nishiyama, Y.; Inaba, M. y Murata, N. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 123, p. 1047-1056.
4. Ajayi, A. E. y Olofayo, A. A. Evaluation of two temperature stress indices to estimate grain sorghum yield and evapotranspiration. *Agron. J.*, 2004, vol. 96, p. 1282-1287.
5. Schoffl, F.; Panikulangara, T. J.; Eggers-Schumacher, G.; Wunderlich, M. y Stransky, H. Galactinol synthase 1, a novel HSF-target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 136, no. 2.
6. Sinsawat, V.; Lepner, J.; Stamp, P. y Fracheboud, Y. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L) grown at control or high temperature. *J. Environ. and Exp. Botany*, 2004, vol. 521, no. 2.
7. Sam, O.; Ramirez, C.; Coronado, M. J.; Testillano, P. S. y Risueño, M. C. Changes in tomato leaves induced by NaCl stress: leaf organization and cell ultrastructure. *Biología Plantarum*, 2004, vol. 47, no. 3, p. 361-366.
8. Sanders, D. The salty tale of *Arabidopsis*. *Current Biology*, 2000, vol. 10, no. 13, p. 486-488.
9. Maggio, A.; Hasegawa, P. M.; Bressan, R. A.; Consiglio, M. F. y Joly, R. J. Unraveling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Aust. J. Plant Physiol.* 2001, vol. 28, no. 10, p. 999-1004.
10. Bursens, S.; Himanen, K.; Cotte, B. van de, Beckman, T.; Vanontagu, M.; Inzé, D. y Verbruggen, N. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2000, vol 211, p. 632-640.
11. Shabala, S. N. y Lew, R. R. Turgor regulation in osmotically stressed *Arabidopsis* epidermal root cells. Direct support for the role of inorganic ion uptake as revealed by concurrent flux and cell turgor measurements. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 129, p. 290-299.
12. Lee, G.; Duncan, R. R. y Carrow, R. N. Salinity tolerance of seashore *Paspalum* ecotypes: Shoot growth response criteria. *HortSciences*, 2004, vol. 5, p. 1138-1142.
13. Khan, M. A. y Gulzar, S. Light, salinity and temperature effects on the seed germination of perennial grasses. *Amer. J. of Bot.*, 2003, vol. 90, p. 131-134.

Recibido: 6 de diciembre de 2005

Aceptado: 5 de febrero de 2007