

CAMBIOS INDUCIDOS POR EL ALUMINIO EN LA MORFOGÉNESIS RADICULAR DEL ARROZ

Idioleidy Álvarez[✉], Ofelia Sam e Inés Reynaldo

ABSTRACT. With the objective of determining the changes caused by aluminium on rice (*Oryza sativa*) seedling root morphogenesis of the Cuban variety INCA LP-7, an experiment was developed where the levels of aluminium used to impose stress were 0, 20 and 100 mg.L⁻¹. During the study, some morphological variables like root length and adventitious root number were analyzed, while root apices were processed by the traditional method for light microscopy, to evaluate anatomical variables such as root diameter, number and diameter of xylem vessels in its cross section. Results allowed to know the changes caused by aluminium on root system morphology and anatomy, making evident how much damage is provoked by aluminium toxic concentrations on this crop, mainly taking into account that any root disorder will rebound on the successful development of plant and its yield.

Key words: plant anatomy, roots, rice, aluminium, stress

RESUMEN. Con el objetivo de determinar los cambios provocados por el aluminio en la morfogénesis radicular de plántulas de arroz (*Oryza sativa*) de la variedad cubana INCA LP-7, se desarrolló un experimento donde los niveles de aluminio empleados para imponer el estrés fueron de 0, 20 y 100 mg.L⁻¹. Durante el estudio se analizaron algunas variables morfológicas, como la longitud radicular y el número de raíces adventicias, mientras que los ápices radiculares se procesaron por el método tradicional para microscopía óptica, para la evaluación de variables anatómicas, como el diámetro de la radícula y el número y diámetro de los vasos del xilema, en la sección transversal de esta. Los resultados permitieron conocer los cambios provocados por el aluminio en la morfología del sistema radical, así como en la anatomía de la radícula y evidenciaron cuánto daño pueden provocar en el arroz las concentraciones tóxicas de aluminio, sobre todo si se tiene en cuenta que cualquier alteración que se produzca en la raíz, repercutirá en el exitoso desarrollo de la planta, así como en su rendimiento.

Palabras clave: anatomía de la planta, raíces, arroz, aluminio, estrés

INTRODUCCIÓN

El aluminio es el metal más abundante en la corteza terrestre y está localizado fundamentalmente como complejos alumino-silicato, los cuales liberan fácilmente Al³⁺, un ion fitotóxico que actúa sobre la acidificación del suelo (1). En suelos ácidos el aluminio es el elemento que más influye negativamente sobre la producción de las cosechas, afectando más del 40 % de la agricultura mundial (2).

La respuesta de las plantas a la toxicidad por aluminio puede variar, dependiendo del grado de tolerancia que exhiba la especie en cuestión para este metal y de la concentración en que se encuentre este elemento en el medio (3).

Precisamente por ser la raíz el órgano de absorción por excelencia, en ella se localizan la mayoría de las afectaciones (4). Específicamente dentro de la raíz, se ha comprobado que la zona de transición, localizada en el ápice, es quien juega el papel principal en la percepción y respuesta al aluminio (3, 5).

Cambios en la morfología radical han sido observados ante la presencia de aluminio. Este elemento afecta importantes procesos como la división y elongación celular, lo que conlleva a una reducción del crecimiento radical (6,7). Esta inhibición del crecimiento en las raíces promueve el desarrollo de un sistema radical ramificado, para lograr el exitoso funcionamiento de la planta (8, 9, 10).

Los estudios de la estructura radical y sus modificaciones ante el estrés por aluminio son escasos, sobre todo en Cuba, donde no se han publicado resultados en este sentido, razones por las cuales resulta interesante estudiar los cambios en la morfología de las radículas de plántulas de arroz, de una variedad cubana, germinadas con diferentes niveles de aluminio en el medio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, donde se utilizaron semillas de la variedad cubana de arroz: INCA LP-7.

Para el desarrollo exitoso de los experimentos, se confeccionaron pequeñas cámaras de germinación en placas de Petri. Se montaron cinco placas por tratamiento y se colocaron 25 semillas en cada una. Posteriormente fueron llevadas a la cámara de crecimiento, con

Ms.C. Idioleidy Álvarez, Investigador; Dra.C. Ofelia Sam y Dra.C. Inés Reynaldo, Investigadoras Titulares del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700.

✉ ialvarez@inca.edu.cu

12 horas luz y 12 horas oscuridad, con una temperatura de 21/26°C (noche/día).

Se desarrollaron tres tratamientos, controlando el pH en 4 y en los cuales el nivel de Al^{3+} suministrado al medio en forma de AlCl_3 varió de la siguiente forma:

Tratamiento	1	2	3
$\text{mg.L}^{-1} \text{AlCl}_3$	0 (control)	20	100

Los sistemas radicales de 20 plántulas por placa se evaluaron a los siete días después germinadas las semillas y las variables analizadas fueron las siguientes:

- ★ longitud radicular
- ★ número de raíces adventicias
- ★ diámetro de la radícula a nivel de la zona de transición
- ★ número de vasos del xilema
- ★ diámetro de los vasos

Para las mediciones de las variables estudiadas, se muestrearon 20 plántulas por tratamiento.

Para el análisis de las variables histológicas se tomó una sección de 2 mm aproximadamente, correspondientes a la zona de transición de las radículas. Estas secciones fueron fijadas en paraformaldehído al 4 % e incluidas en resina Epón. Después de confeccionados los bloques, éstos fueron seccionados en un ultramicrotomo *LKB* con cuchillas de vidrio y se obtuvieron secciones transversales de $1 \mu\text{m}$ de espesor que fueron teñidas con azul de toluidina al 0.1 % y observadas en un microscopio óptico de luz, *Olimpus*. Las imágenes fueron tomadas con una cámara digital acoplada al microscopio óptico. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Los resultados experimentales fueron sometidos a un ANOVA de Clasificación Simple. En los casos que se encontraron diferencias significativas, se compararon las medias según la Dócima de Tukey, para el 5 % de probabilidad del error. Para el análisis estadístico, fue utilizado el paquete estadístico STATGRAPHICS Versión 4.1 en ambiente Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los valores de la longitud de la radícula, donde se aprecia una tendencia a disminuir esta, con el aumento de las concentraciones de aluminio. Este comportamiento pone de manifiesto la toxicidad del aluminio sobre la variedad en estudio, sobre todo si se tiene presente que la radícula es, dentro del sistema radical, la estructura que garantiza la mayor parte de la absorción en el estadio de plántula.

Como se puede apreciar en la Figura 1, no existen diferencias significativas entre la longitud radicular de plántulas controles y plántulas tratadas con 20 mg.L^{-1} de Al^{3+} , lo cual no fue así para las plántulas tratadas con 100 mg.L^{-1} , donde sí se encontraron diferencias significativas. Este hallazgo hace pensar que una concentración de aluminio superior a esta pudiera ser realmente intolerable para las plántulas y aunque el arroz es de los cereales de grano pequeño (arroz, trigo y cebada) el que

posee mayor grado de tolerancia al aluminio (11), pudiera verse afectada la supervivencia de la planta.

Estos resultados coinciden con otros planteamientos acerca de que el aluminio induce inhibición del crecimiento radical en raíces de chícharo (12). En maíz, arroz y trigo también se han realizado estudios que han demostrado la disminución en la longitud de las raíces como síntoma de toxicidad ante el aluminio y que está dado por la concentración del metal en los ápices radicales (6, 7, 13).

La inhibición del crecimiento radicular observada ante la exposición al aluminio pudiera deberse a que el metal interfiere directa o indirectamente en el proceso de división celular, ejerciendo su efecto tóxico sobre este, lo cual ha sido probado en ápices radicales de varias especies (14).

Sin embargo, a pesar de que muchos resultados apuntan a los efectos del aluminio sobre la división celular, se ha demostrado que la elongación es el proceso afectado primeramente por la exposición al aluminio, aún sin haber transcurrido el tiempo suficiente para completar un ciclo celular, lo cual ha sido también comprobado (5, 8, 9).

Independientemente de que dos grandes tendencias intentan explicar la influencia negativa del aluminio sobre el crecimiento radical, se puede afirmar que este elemento desencadena mecanismos que inhiben rápidamente la elongación radical y que a su vez afecta otros procesos como el ciclo celular, que refuerzan la inhibición del crecimiento radicular observada y que fue generada por los eventos primarios de la respuesta al estrés.

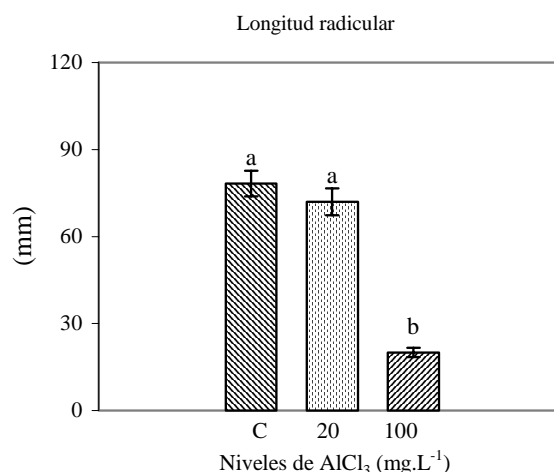


Figura 1. Longitud radicular de plántulas de la variedad de arroz INCA LP-7, crecidas con 0, 20 y 100 mg.L^{-1} de aluminio en el medio (nótese cómo las plántulas tratadas con dosis de 100 mg.L^{-1} muestran una reducción marcada en la longitud de su radícula). Las barras y letras representan el error estándar y la significación, según Tukey a $p < 0.05$

Al determinar el número de raíces adventicias, se observó cómo las plántulas que fueron tratadas con dosis de 20 y 100 mg.L⁻¹ de aluminio difirieron significativamente de las plántulas del control (Figura 2).

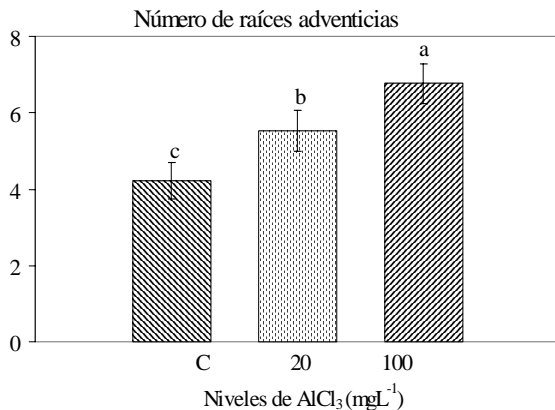


Figura 2. Número de raíces adventicias emitidas por plántulas de la variedad de arroz INCA LP-7, crecidas con 0, 20 y 100 mg.L⁻¹ de aluminio en el medio. Las barras y letras representan el error estándar y la significación, según Tukey a p<0.05

La planta de arroz no desarrolla una raíz principal, sino un sistema radical ramificado, del cual depende el funcionamiento de la planta, por lo que la emisión de raíces adventicias puede constituir una característica que le permita fortalecer el sistema radical e incrementar así la absorción de nutrientes y agua, proceso que es vital para la planta y que puede verse afectado por concentraciones tóxicas de aluminio (14).

Similar a la variable anterior se aprecia cierta tendencia, en este caso de incremento en la medida en que se hacen mayores las concentraciones de aluminio. Este comportamiento evidencia que el desarrollo de este tipo de raíces es una respuesta de las plántulas, ya que permite aumentar el área de absorción que se afecta con la presencia del metal y una mejor fijación de la planta al suelo. Este desarrollo del sistema radical es una característica que determina en gran medida el desarrollo exitoso de ellas (9).

Como se puede observar en la Figura 3, hubo diferencias significativas entre las plántulas del control y las tratadas con 100 mg.L⁻¹. La exposición al aluminio puede haber provocado en esta zona radicular, cambios estructurales en células y tejidos, los cuales determinan probablemente el engrosamiento zonal observado, teniendo en cuenta lo planteado por otros autores, quienes observaron cambios en las propiedades eléctricas de la membrana, formación de calosa a nivel de los plasmodesmos y cambios en la integridad estructural del citoesqueleto en esta zona (9).

La longitud (Figura 1) y el grosor radicular (Figura 3) exhibieron una relación importante, de forma que en la medida en que disminuyó la longitud radicular, se incrementó su diámetro, comportamiento que pudiera ser

una respuesta a las condiciones desfavorables; ante una afectación del crecimiento en longitud de la radícula, generar un engrosamiento y así mantener el área de absorción radicular.

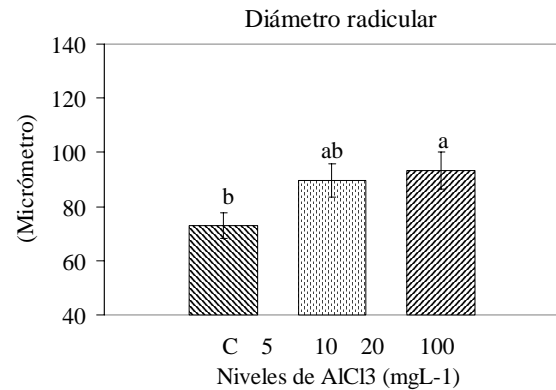


Figura 3. Diámetro de la radícula de plántulas de la variedad de arroz INCA LP-7, crecidas con 0, 20 y 100 mg.L⁻¹ de aluminio en el medio. Las barras y letras representan el error estándar y la significación según Tukey a p<0.05

En este mismo sentido, las imágenes de la Figura 4 muestran engrosadas las secciones transversales de las radículas, ante la exposición con aluminio. En la imagen correspondiente a las plántulas controles (a) se puede ver la estructura característica de esta, con las células poliédricas perfectamente distribuidas y organizadas. Sin embargo, en las correspondientes a las plántulas estresadas (b, c), se puede observar una desorganización de la estructura radicular, que se incrementa con la concentración de Al³⁺, provocando un engrosamiento de la radícula.

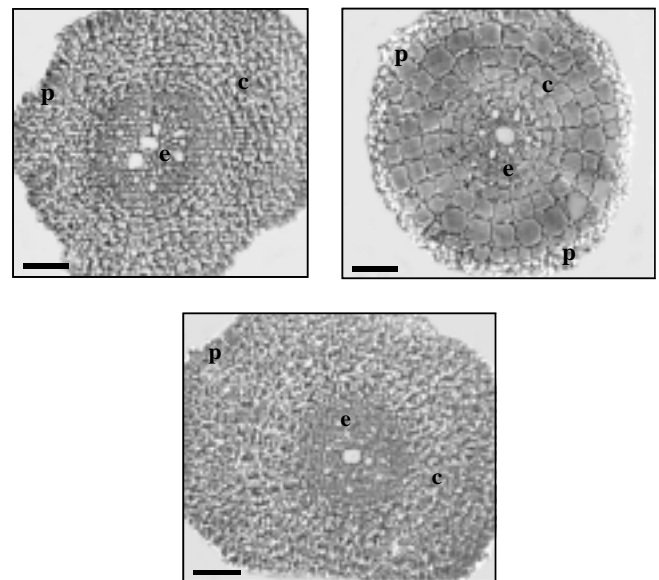


Figura 4. Microfotografías tomadas sobre las secciones transversales de la radícula de plántulas de arroz, crecidas con dosis de 0(a), 20(b) y 100(c) mg.L⁻¹ de aluminio. e: estela, p: protodermis, c: corteza. La barra representa 10 mm.25 x

En un experimento realizado con raíces de cebada, se observó que una disminución en la longitud celular de las raíces estuvo acompañada por una expansión radical de ellas, especialmente en células de la corteza interna, lo que sugiere que el aluminio afecta la orientación del crecimiento celular (14). En este mismo sentido, otros autores plantean que una orientación alterada del crecimiento celular, unido a una inusual división periclinal, puede resultar en un engrosamiento local de raíces de maíz tratadas con aluminio (15, 16).

La Figura 5 muestra secciones transversales ampliadas de las radículas de plántulas controles (a) y estresadas (b y c), en las cuales se pueden apreciar los vasos del xilema. Las radículas de las plántulas control muestran un vaso central rodeado de varios vasos de menor calibre y a su alrededor se pueden apreciar células con su estructura normal. Esta misma estructura de los vasos se observó en el resto de los tratamientos, pero en la medida en que se incrementó la concentración de Al^{3+} en el medio, el número de vasos que rodeaban el vaso central tendió a ser mayor y a su vez de menor calibre (Tabla I). Además, se hace evidente cómo se comienza a perder la forma celular, de manera que en la imagen correspondiente al tratamiento más severo (c), ya no se puede distinguir la estructura poligonal de las células que rodean los vasos del xilema.

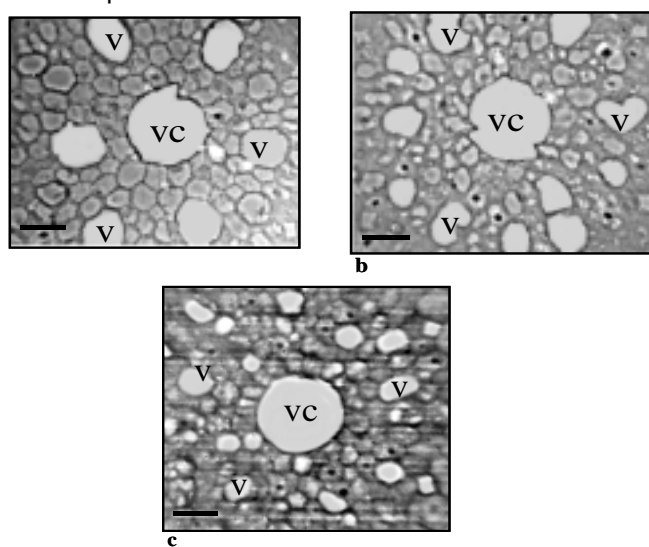


Figura 5. Microfotografías de la estela o zona central de la radícula de plántulas crecidas con dosis de 0(a), 20(b) y 100(c) $mg.L^{-1}$ de aluminio. vc: vaso central, v: vasos adyacentes. La barra representa 4 mm.100x

Tabla I. Tabla de valores promedio del número de vasos y el diámetro de estos para cada tratamiento

Tratamiento	Control	20 $mg.L^{-1}$	100 $mg.L^{-1}$
Número de vasos	6.4 ± 0.28	7.8 ± 0.31	8.6 ± 0.30
Diámetro de los vasos (μm)	3.83 ± 0.26	3.43 ± 0.17	3.25 ± 0.16

Esta modificación estructural puede ser una consecuencia del engrosamiento local de la radícula, al que nos referimos anteriormente. La propia desorganización y expansión celular inducida por el estrés, hace que los vasos del xilema se compriman y, por tanto, se vean obligados a reducir su luz. La planta trata de garantizar su funcionamiento normal y una forma de mantener su área de transporte y que no se vea afectada su nutrición, es generando nuevos vasos.

Resultados similares fueron publicados en raíces de maíz, pero sometidas a estrés salino, y se observó un incremento en el número de los vasos y una disminución en el diámetro de estos (8, 16).

Los resultados obtenidos en este trabajo ponen en evidencia las afectaciones que provoca el estrés por aluminio en la estructura radical de las plántulas de arroz, las cuales dependen en gran medida de la especie y variedad en estudio. Se pudo determinar que ante este elemento tóxico, las plántulas mostraron una disminución en el crecimiento de su radícula, provocando un acortamiento de ellas y emitieron un mayor número de raíces adventicias. Las afectaciones provocadas por este estrés se hicieron evidentes tanto en la morfología externa como interna, ya que las células radicales se mostraron alteradas y desorganizadas, provocando un engrosamiento local de las radículas y modificaciones en los vasos conductores del xilema en ellas.

Estos resultados preliminares demuestran la importancia del estudio del estrés por aluminio en plantas de arroz; sobre todo si se tiene en cuenta que cualquier alteración que se produzca en la raíz repercutirá en la integridad de la planta.

REFERENCIAS

1. Moffat, A. S. Engineering plants to cope with metals. *Science*, 1999, vol. 285, p. 369-370.
2. Kochian, L. V. Cellular mechanism of aluminium toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Mol. Biol.*, 1995, vol. 46, p. 237-260.
3. Cobbett, C. S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*, 2000, vol. 123, p. 825-832.
4. Schwarzerova, K.; Zlenkova, S.; Nick, P. y Opatrn, Z. Aluminium induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. *Plant and Cell Physiology*, 2002, vol. 43, no. 2, p. 207-216.
5. Silva, I.; Smyth, J.; Moxley, D.; Carter, T.; Allen, N. y Ruffy, T. Aluminium accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 123, p. 543-552.
6. Yamamoto, Y.; Kobayashi, Y. y Matsumoto, H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminium, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 125, p. 199-288.

7. Vázquez, M. D.; Poschenrieder, C.; Corrales, I. y Barceló, J. Change in apoplastic aluminium during the initial growth response to aluminium by roots of a tolerant maize variety. *Plant. Physiol.*, 1999, vol. 199, p. 435-444.
8. Blancaflor, E.; Jones, D. L. y Girol, S. Alterations in the cytoskeleton accompany aluminium induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. *Plant Physiology*, 1998, vol. 118, no. 1, p. 159.
9. Sivaguru, M.; Fujiwara, T.; Samaj, J.; Baluska, F.; Yang, Z.; Osawa, H.; Maeda, T.; Mori, T.; Volkman, D. y Matsumoto, H. Aluminium induced 1-3-B-D-Glucan inhibits cell to cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminium toxicity in plants. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 124, p. 991-1005.
10. Sivaguru, M.; Baluska, F.; Volkman, D.; Felle, H. y Horst, W. Impacts of aluminium on the cytoskeleton of the maize root apex. Short term effects on the distal part of the transition zone. *Plant Physiology*, 1999, vol. 119, no. 3, p. 1073.
11. Álvarez, P.; Cortés, J.; Ferrada, D.; Leyton, C. y Sans, J. Determinación experimental del límite absoluto de tolerancia (LAT), para cuatro metales pesados (Cd, Pb, Mo y Cu) en raíces adventicias de bulbos de cebolla *Allium cepa* L. *Agricultura Técnica*, 1995, vol. 55, no. 2, p. 86-94.
12. Yamamoto, Y.; Kobayashi, S.; Devi, R.; Rikishi, S. y Matsumoto, H. Aluminium toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiology* 2002, vol. 128, no. 1, p. 63.
13. Feng, J. y Hiradate, S. Form of aluminium for uptake and translocation in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Planta*, 2000, vol. 211, p. 355-360.
14. Ciamporova, M. Diverse responses of root cell structure to aluminum stress. *Plant Soil*, 2000, vol. 226, p. 113-116.
15. Horst, W. J.; Schmohl, N.; Kollmeier, M.; Baluska, F. y Sivaguru, M. Does aluminium affect root growth of maize through interaction with the cell wall-plasma membrane cytoskeleton continuum?. *Plant Soil*, 1999, vol. 215, p. 163-174.
16. Sivaguru, M.; Baluska, F.; Volkman, D.; Felle, H. y Horst, W. J. Impacts of aluminium on the cytoskeleton of the maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone. *Plant. Physiol.*, 1999, vol. 119, p. 1073-1082.

Recibido: 8 de abril de 2003

Aceptado: 7 de octubre de 2004

CURSOS DE POSGRADO

Precio: 350 CUC

Fisiología vegetal

Coordinador: Dr.C. Inés Reynaldo Escobar

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval

Fecha: a solicitud

Duración: 80 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (64) 86-3773
Fax: (53) (64) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu