

Respuesta de diferentes líneas y cultivares de arroz sometidos a bajas temperaturas en condiciones controladas

Sandra H Díaz Solís¹, Fernando Pérez de Vida², Juan Rosas Caissols³, Rogelio Morejón Rivera¹

¹Departamento de Mejoramiento Genético de Arroz, Unidad Científico Tecnológica de Base Los Palacios. Carretera La Francia km 1½. Los Palacios. Pinar del Río. Cuba. CP 24440.
e-mail: shdiaz@inca.edu.cu

²Departamento de Mejoramiento Genético de Arroz, INIA Treinta y tres - Estación Experimental del Este. Ruta 8 km 281 CC42. Treinta y Tres. Treinta y Tres. Uruguay. CP 33000.

³Laboratorio de Biotecnología, INIA Treinta y tres - Estación Experimental del Este. Ruta 8 km 281 CC42. Treinta y Tres. Treinta y Tres. Uruguay. CP 33000.

RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el cultivo alimentario más importante del mundo y fuente primaria de alimentos para más de un tercio de la población mundial. Las bajas temperaturas están entre los principales estreses abióticos que afectan los rendimientos de este cereal. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de diferentes líneas y cultivares de arroz en estado de plántula, al estrés por bajas temperaturas en condiciones controladas. Se estudiaron 172 líneas y cultivares que fueron sometidos a 5 °C durante 24 horas, cuando las plántulas tenían de tres a cuatro hojas. Las evaluaciones se realizaron mediante medición de la fluorescencia clorofílica y escala visual. Se obtuvo un amplio rango de respuestas, lo cual indicó una gran diversidad alélica para la sensibilidad a las bajas temperaturas en el germoplasma estudiado. Un grupo de 30 cultivares respondió de manera más favorable al frío y los más destacados resultaron tener valores Fv/Fm entre 0.80 y 0.89. Se encontró una relación significativa entre la evaluación visual y la fluorescencia clorofílica. El coeficiente de correlación reveló una relación moderadamente fuerte entre ambas variables. Los materiales vegetales tolerantes se identificaron de modo más consistente. En cambio, la dispersión entre métodos se incrementó hacia los de mayor susceptibilidad.

Palabras clave: evaluación visual, fluorescencia clorofílica, *Oryza sativa*, tolerancia a frío

Response of different lines and cultivars of rice subjected to low temperatures under controlled conditions

ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is the most important food crop in the world and primary source of food for more than a third of the population. The low temperatures are among the main abiotic stresses that affect the yield of this cereal. The objective of this work was to determinate the response of different lines and cultivars of rice in seedling state to low temperature stress under controlled conditions. 172 lines and cultivars were studied. It were subjected to 5 °C for 24 hours, when the plants were about three to four leaves. The evaluations were conducted by measured of chlorophyll fluorescence and visually. A wide range of response was obtained, which indicated a high allelic diversity for the low temperatures sensitivity in the studied germplasm. A group of 30 cultivars responded more favorably to the cold and the most prominent cultivars showed Fv/Fm values between 0.80 and 0.89. A significant relationship between visual evaluation and chlorophyll fluorescence was found. The correlation coefficient revealed a moderately strong relationship between both variables. Tolerant plant materials were more consistently identified. However, the dispersion between methods increased to more susceptible cultivars.

Keywords: cold tolerance, chlorophyll fluorescence, *Oryza sativa*, visual evaluation

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el alimento básico de la mitad de la población humana. A diferencia de otros cereales como el trigo

(*Triticum aestivum* L.) y la cebada (*Hordeum vulgare* L.), las plantas de arroz son sensibles al estrés por bajas temperaturas, lo cual a menudo se traduce en disminución de la productividad, especialmente en las regiones

donde se cultiva la subespecie *índica* por tener mayor sensibilidad. Este factor abiótico puede tener impactos negativos sobre las plantas de arroz durante la germinación, el crecimiento vegetativo, así como en etapas reproductivas con reducción de hasta un 25% de la producción final (Clayton y Neves, 2011; Lima *et al.*, 2012; Pereira da Cruz *et al.*, 2013).

En general, los síntomas visibles provocados por temperaturas adversas durante el estado vegetativo del cultivo son baja germinación, clorosis de las hojas, retraso o detención del desarrollo, reducción de la capacidad de formar macollas y hasta muerte de plantas (Kim y Tai, 2011; Yang y Zhang, 2012; Zhang *et al.*, 2014).

Los estudios de la tolerancia a bajas temperaturas en los programas de mejoramiento genético generalmente se basan en evaluaciones visuales en condiciones de campo. Estas llevan más tiempo y resultan azarosas porque depende de que se manifiesten las condiciones ambientales apropiadas. Según Andaya y Mackill (2003) este tipo de evaluación está sujeta a la interacción genotipo/ambiente y a variaciones diarias a lo largo de la temporada de cultivo y a través de los años, esto torna el proceso lento, ineficiente y sujeto a la ocurrencia de condiciones ambientales aptas para el tamizado. En particular, la intensidad del tratamiento de bajas temperaturas empleado, la duración de la exposición y la evaluación de la recuperación son importantes para una estimación efectiva de la tolerancia a bajas temperaturas (Lou *et al.*, 2007), lo que puede predecirse y ajustarse solamente si se trabaja en condiciones controladas.

Por tanto, la selección de materiales vegetales tolerantes a las bajas temperaturas, en condiciones de laboratorio, en la fase de germinación y durante el establecimiento de las plántulas resulta ventajosa pues generalmente se corresponde con la respuesta en la etapa reproductiva cuando se evalúa en condiciones de campo (Castillo y Alvarado, 2002; Ye *et al.*, 2009).

El estudio de la respuesta de cultivares a bajas temperaturas, en la fase vegetativa del desarrollo, permite hacer progresos desde el punto de vista genético para fortalecer los procesos de establecimiento y rápido crecimiento del cultivo (Deambrosi *et al.*, 1997), pues la tolerancia en esta fase podría contribuir

significativamente al permitir siembras más tempranas y/o enfrentar períodos con bajas temperaturas.

En este sentido, se han desarrollado numerosas metodologías para la determinación de la tolerancia a bajas temperaturas en estado de plántula, y la utilización de escalas de evaluación visual representa una gran ventaja práctica en evaluaciones que involucran un gran número de materiales vegetales (Pacheco, 2011). Asimismo, en investigaciones sobre el tema se ha usado el análisis de la fluorescencia clorofílica. Estos han demostrado alteraciones estructurales y funcionales en el aparato fotosintético de plantas sometidas a tratamientos de bajas temperaturas (Kim *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009a; Lee *et al.*, 2009b; Bonnacarrere *et al.*, 2011; Saad *et al.*, 2012).

En los últimos años, debido al incremento de la inestabilidad climática, se ha venido trabajando aceleradamente en la obtención de materiales vegetales con tolerancia a estrés abiótico y como resultado del trabajo de mejora genética se han obtenido un grupo de cultivares y líneas de arroz para las condiciones de bajas temperaturas que sería interesante evaluarlos combinando algunas de las metodologías informadas. Teniendo en cuenta la problemática enunciada, esta investigación tuvo como objetivo determinar la respuesta de diferentes líneas y cultivares de arroz, en estado de plántula, al estrés por bajas temperaturas bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental del Este perteneciente al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA Treinta y Tres) de Uruguay.

Material vegetal

Se emplearon semillas de 172 materiales vegetales de arroz de los tipos *índicas* y *japónicas* que incluyeron líneas experimentales avanzadas del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA Treinta y Tres (164), cultivares cubanos (6), y los cultivares controles 'INIA Tacuarí' (tolerante) e 'INIA Olimar' (susceptible) (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de materiales vegetales de arroz en estudio de respuesta a bajas temperaturas bajo condiciones controladas.

No.	Material vegetal	No.	Material vegetal	No.	Material vegetal
1	L4806	60	L5793	120	L6485
2	L3821 CA	61	INIA Olimar	121	L6479
3	L4811	62	FL005307-13M-24-Mb	122	L6492
4	L3790 CA	63	FL005090-8M-12-Mb	123	L6478
5	L4816	64	FL005090-8M-11-Mb	124	L6488
6	L4814	65	FL005310-1P-13-M	125	L6495
7	L4820	66	FL005307-13M-19-M	126	L6465
8	FL01986-16P-2-5-1	67	FL005089-14M-2-M	127	L6708
9	FL02635-7P-5-1-6	68	FL005226-2M-29-M	128	L6700
10	FL04225-CA-5P	69	FL005088-6M-23-M	129	L6685
11	FL03195-2P-3-3P	70	FL005090-8M-11-M	130	L6611
12	FL01983-19P-2-5-6	71	FL005307-13M-40-M	131	L6610
13	FL04489-12M-1P-6M	72	FL005088-6M-20-Mb	132	L6643
14	FL04542-9M-6P-5M	73	FL005090-8M-5-M	133	L6659
15	FL04530-3M-8P-4M	74	FL005090-8M-12-M	134	L6567
16	FL04546-7M-7P-6M	75	FL005274-6M-6-M	135	L6627
17	FL04518-7M-43P-4M	76	FL005089-14M-24-M	136	L6662
17	FL04459-6M-3P-4M	77	FL05463-1P-4-1P-3P-M	137	L6669
18	FL04538-3M-47P-4M	78	FL05482-8P-4-2P-1P-M	138	L6671
19	FL04337-18M-18P-5M	79	FL05516-8P-3-5P-1P-M	139	L6672
20	FL04489-12M-1P-6M	80	FL05564-8P-1-2P-2P-M	140	L6767
21	FL04337-18M-9P-4M	81	FL05602-12P-3-1P-2P-M	141	L6757
22	FL04337-18M-18P-5M	82	FL04459-6M-21P-4M-1	142	L6758
23	FL04337-18M-9P-4M	83	FL04459-6M-21P-4M-1-2P	143	L6748
24	IRGA 417	84	FL04459-6M-21P-4M-2-1	144	L6809
25	IR50	85	FL04459-6M-21P-4M-2-3	145	L6811
26	Hua-Qui	86	FL04540-2M-10P-5M-1	146	L6972
27	IRGA 423	87	FL04540-2M-23P-5M-1	147	L6966
28	IRGA 424	88	FL04534-5M-8P-4M-3P-M	148	L6970
29	INIA Cuaró	89	FL05383-1P-8-2P-M	149	L6898
30	El Paso 144	90	FL05383-1P-8-4P-M	150	L6848
31	M202	91	FL04518-7M-33P-5M-2P-M	151	L6849
32	L2825CA	92	L6309	152	L6834
33	INIA Tacuarí	93	L6315	153	L6916
34	L5913	94	L6317	154	L6861
35	L5903	95	L6320	155	L6889
36	L5912	96	L6318	156	L3616
37	L5825	97	L6314	157	L5502
38	L5823	98	L6312	158	C289
39	L5805	99	L6386	159	CL146
40	L5830	100	L6388	160	CL244
41	L5941	101	L6399	161	Bluebelle
42	L5945	102	L6410	162	L5287
43	L5937	103	L6416	163	Puita
44	L5850	104	L6437	164	Quilla
45	L5879	105	L6434	165	EP144 USA
46	L5855	106	L6329	166	JAPONES
47	L5916	107	L6328	167	Cuba PR-1
48	L5920	108	L6325	168	Cuba PR-2
49	L5897	109	L6333	169	Cuba PR-3
50	L5893	110	L6334	170	Cuba PR-4
51	L5896	111	L6327	171	Cuba PR-5
52	L5797	112	L6331	172	Cuba PR-6
53	L6168	113	L6326		
54	L5904	114	L6519		
55	L5816	115	L6530		
56	L5949	116	L6531		
57	L5881	117	L6559		
58	L5894	118	L6562		

Evaluación de la respuesta al estrés por bajas temperaturas

Para la evaluación de la tolerancia a bajas temperaturas se utilizó la metodología desarrollada por Cruz (2004) en el Fondo Latinoamericano de Arroz de Riego (FLAR).

De cada material vegetal se evaluaron 10 plántulas. Estas fueron obtenidas a partir de semillas, que se sembraron en almacigueras de 46 x 70 cm, con 294 alvéolos de 2.5 x 2.5 x 7.0 cm. Por cada alvéolo se sembró una semilla, con una distancia de siembra de aproximadamente 3 cm entre cada una.

Se empleó suelo de tipo planosol subeútrico proveniente de la Unidad Experimental Villa Sara. Una vez germinadas las semillas, las plántulas se mantuvieron en invernáculo, donde recibieron riegos diarios, en un régimen de temperaturas que varió entre 18 °C (mínima nocturna) y 28 °C (máxima diurna) y la humedad ambiente se mantuvo entre 65 y 80%, a excepción de las horas de tratamiento con bajas temperaturas.

Cuando las plántulas alcanzaron de tres a cuatro hojas fueron sometidas a 5 °C durante 24 horas en cámara de crecimiento (KOIKA con doble compartimiento y control independiente de temperatura), alternando horas diurnas y nocturnas y disponiendo de luz solar.

Posteriormente, se determinó la fluorescencia clorofílica del tejido foliar (Pérez de Vida *et al.*, 2009) con el uso de un fluorímetro (FMSI Hansatech Fluorometer, King's Lynn Instrument Ltd., King's Lynn, UK). Esta variable se midió a los 30 minutos posteriores al tratamiento y se verificó que las plantas no tuvieran otro factor de estrés

(desecamiento, exceso de calor) ya que constituye una evidente fuente de variación indeseable en el experimento. El indicador utilizado fue el cociente de fluorescencia variable/fluorescencia máxima (F_v/F_m), donde $F_v = F_m - F_0$, donde F_m : valor máximo de la fluorescencia y F_0 : valor mínimo de la fluorescencia.

Además, en el invernáculo a los siete días posteriores al tratamiento se determinó visualmente el grado de clorosis y necrosis en las hojas, y el retardo del crecimiento. Para ello se utilizó la escala visual de severidad de síntomas descrita en el Sistema de Evaluación Estándar para Arroz (IRRI, 1996), con grados del 1 (tolerante) al 9 (susceptible) (Tabla 2). Tanto la fluorescencia clorofílica como la evaluación visual se realizaron sobre tres repeticiones del experimento.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el Programa Estadístico MINITAB, versión 5.0 con el cual se realizó un análisis de regresión lineal para las variables fluorescencia clorofílica y evaluación visual (variable dependiente) con una evaluación del modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la evaluación de los 172 materiales vegetales (líneas y cultivares) se obtuvo un amplio rango de respuesta, lo cual indicó una gran diversidad alélica para la tolerancia a bajas temperaturas en el germoplasma estudiado. En este caso, considerando ambas variables (evaluación visual y fluorescencia clorofílica), del material vegetal evaluado un grupo de 30 (Tabla 3) mostró la mejor respuesta o consistencia en su tolerancia. En ese grupo se

Tabla 2. Escala de evaluación de plántulas de arroz para tolerancia a bajas temperaturas (IRRI, 1996).

Valor	Características de las plántulas
1	Plántulas verde oscuro, tasa de crecimiento normal.
3	Plántulas verde claro, ligeramente atrofiadas, leve retraso en el crecimiento.
5	Plántulas amarillentas, moderadamente atrofiadas, retraso en el crecimiento.
7	Plántulas marrones, severamente atrofiadas, retraso de crecimiento.
9	Plántulas muertas.

Tabla 3. Materiales vegetales de arroz en estudio de mejor respuesta a bajas temperaturas bajo condiciones controladas.

Tipo	Materiales vegetales	
Indica	1.	FL04489-12M-1P-6M
	2.	Hua-Qui
	3.	IRGA 424
	4.	FL-04534-5M-8P-4M-3P-M
	5.	FL04518-7M-33P-5M-2P-M
Japónica	6.	L2825CA
	7.	INIA Tacuarí
	8.	L6320
	9.	L6318
	10.	L6314
	11.	L6312
	12.	L6410
	13.	L6329
	14.	L6328
	15.	L6325
	16.	L6333
	17.	L6334
	18.	L6327
	19.	L6331
	20.	L6326
	21.	L6530
	22.	L6531
	23.	L6559
	24.	L6502
	25.	L6479
	26.	L6478
	27.	L6708
	28.	L6685
	29.	L6611
	30.	M202

encuentran líneas con valores superiores al control tolerante utilizado ('INIA Tacuarí'). Se destacan las líneas experimentales L6329 y L6399 de adecuada respuesta también en fase reproductiva (Pérez de Vida y Díaz, 2010).

El método usado fue efectivo para determinar la tolerancia en aquellos materiales vegetales donde no se conocía la respuesta y se confirmó por el método empleado en aquellos que habían mostrado tolerancia en otros estudios similares.

Las pérdidas debido al estrés por bajas temperaturas dependen precisamente de la temperatura, del período de exposición y de la etapa de desarrollo en la cual se encuentre la planta. En este sentido, el banco de germoplasma del Centro Internacional de Agricultura Tropical-Fondo Latinoamericano de Arroz de Riego posee materiales de arroz tolerantes a bajas temperaturas en estado de plántula, algunos combinan esta tolerancia con la de germinación y muy pocos son tolerantes en los tres estados (Cruz, 2013). Ello sugiere la necesidad de continuar las evaluaciones de los cultivares con buena respuesta en este

estudio en la etapa reproductiva por ser el estadio reproductivo el más susceptible frente a un estrés de baja temperatura y donde ocurren los mayores daños.

En otras investigaciones se observó que la diferencia en la respuesta a bajas temperaturas entre cultivares de tipo indica y de tipo japónica era muy marcada. En cambio, se manifestaron respuestas contrastantes dentro del grupo de líneas provenientes de cruzamientos japónica x indica; así mismo algunas líneas de respuesta más extrema que los controles, lo que atribuyen a la existencia de una amplia variabilidad para la tolerancia a frío en fase de plántula (Pachecoy, 2011). Los resultados de este trabajo de manera general coinciden con lo informado al resultar más tolerantes los cultivares de tipo japónica, mostrando algunos de ellos mejor respuesta que el control tolerante. Sin embargo en este caso no hay en esa población materiales vegetales provenientes de cruzamientos entre ambos grupos.

Diversos factores físicos o químicos de estrés ambiental como temperaturas bajas afectan la

función del fotosistema II de manera directa o indirecta, lo cual modifica la emisión de la fluorescencia. Por ello, los cambios en la emisión de la fluorescencia, pueden utilizarse para revelar mecanismos de respuesta y la cuantificación de respuestas al estrés. En la mayoría de los casos, la relación F_v/F_m se utiliza para evaluar la sensibilidad o tolerancia a frío, ya que indica la máxima eficiencia fotoquímica de fotosistema II. En el presente estudio los materiales vegetales en los cuales se observó una mejor tolerancia al frío mostraron valores de F_v/F_m entre 0.80 y 0.89. En concordancia con lo anterior, Pérez de Vida *et al.* (2009) informaron que estos valores son similares a los esperados en plantas en ausencia de estrés.

En este sentido, los resultados coinciden con los obtenidos en un ensayo similar a este estudio donde se evaluó la tolerancia al frío de 109 líneas experimentales en estado de plántula (utilizando variables morfológicas y fisiológicas). Los autores encontraron que el 86.5% de los materiales vegetales evaluados fueron tolerantes al frío, 10.8% intermedios y 2.7% susceptibles. Además, constataron que el tratamiento de frío resultó en mortalidad para el control susceptible y muy poco daño en el control tolerante. Las líneas analizadas mostraron valores de F_v/F_m entre 0.40 y 0.86, y el 87.3% de ellos valores mayores que 0.80 (Donoso *et al.*, 2015).

Entre los cultivares con menor tolerancia se encontró 'INIA Olimar' (control susceptible) y los cultivares 'FL-04540', 'FL-005090' y 'FL-005307'. De forma general, el mayor porcentaje de los cultivares de origen FLAR (70.21%), alcanzaron valores iguales o mayores a siete en la evaluación visual. Asimismo, solo tres de ellos lograron valores de fluorescencia superiores a 0.80 ('FL-04489-12M-1P-6M', 'FL-04534-5M-8P-4M-3P-M' y 'FL-4518-7M-33P-5M-2P-M'), lo que sugiere cierto grado de tolerancia según esta técnica. Se conoce que manteniendo la hoja (o planta entera) en la oscuridad se da un nivel mínimo (F_0). Al recibir luz saturante (FA), F alcanza un valor máximo (F_m). La altura relativa de este pico es indicador de la integridad del sistema fotosintético. En hojas sanas es mayor y baja sustancialmente según el grado de daño por estreses abióticos como las bajas temperaturas. En hojas mantenidas en oscuridad, esta emisión es la

primera reacción detectada en fracción de segundos posterior a la irradiación con luz saturante (FA) y es alternativa a la canalización de la energía de saturación de electrones como energía fotoquímica o disipación de calor. Estos procesos ocurren a continuación lo cual se refleja en el descenso inmediato de la emisión de fluorescencia (Pérez de Vida *et al.*, 2009).

Por otra parte, el cultivar 'C-289' (Koshihikari/INIA Tacuarí) mostró valores de fluorescencia superiores a 0.80; mientras que en la evaluación visual, una semana después del tratamiento, alcanzó 6.5 en la escala del 1 al 9. El cultivar tolerante chileno 'Quilla', presentó un valor de fluorescencia F_v/F_m inferior a 0.80.

Las diferencias en ordenamiento de los cultivares entre métodos estaría indicando que ambos proveen información diferente y complementaria. Con la evaluación visual se obtiene una estimación de la capacidad de recuperación de las plantas a eventos de estrés. Por otra parte, se ha constatado que algunos cultivares más susceptibles tienden a mantener su sistema fotosintético con relativa integridad (valores F_v/F_m entre 0.6 y 0.8) post tratamiento de frío. Sin embargo, expresan un efecto residual o adicional posterior a esa determinación de modo que expresan síntomas de clorosis y detenimiento en crecimiento, resultantes en altos valores de escala visual (Pérez de Vida *et al.*, 2009).

La figura 1 muestra los resultados del ajuste al modelo lineal para describir la relación entre la evaluación visual y la fluorescencia.

La ecuación del modelo ajustado fue: evaluación visual = $11.95 - 8.171 * \text{Fluorescencia}$. Dado que el p-valor en la tabla del ANOVA (Tabla 4) fue inferior a 0.01, existió relación significativa entre evaluación visual y la fluorescencia clorofílica para un nivel de confianza del 99%. El R^2 indicó que el modelo explicó un 24.5% de la variabilidad en la evaluación visual y el coeficiente de correlación reveló una relación moderadamente fuerte entre las variables, donde valores superiores de fluorescencia se asocian a valores bajos en la escala visual.

La comparación de la evaluación visual realizada en el presente trabajo, con otras variables fisiológicas asociadas a la respuesta

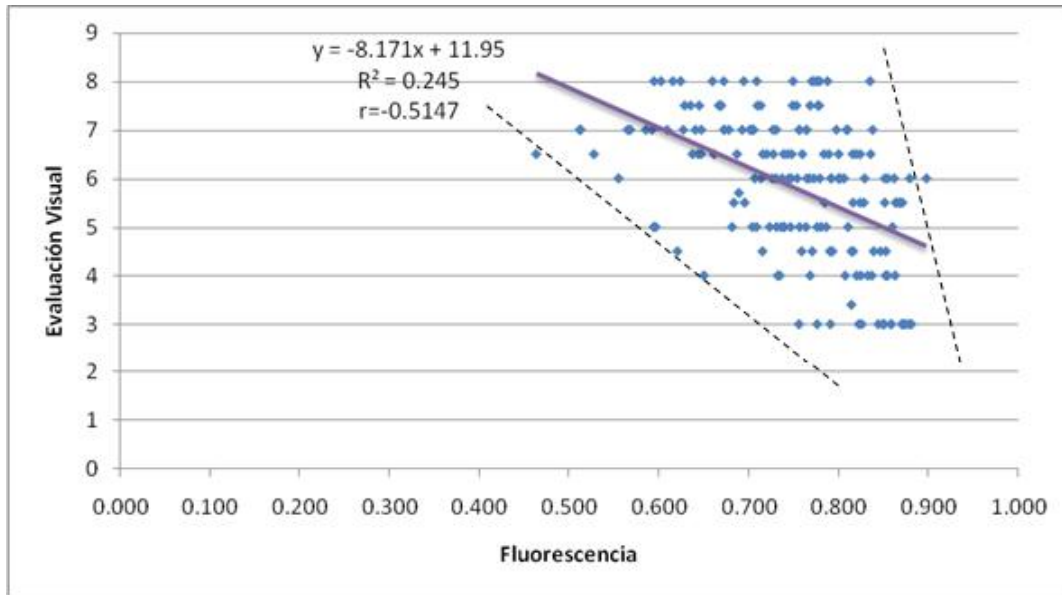


Figura 1. Relación entre valores de fluorescencia y evaluación visual en materiales vegetales de arroz sometidos a estrés por bajas temperaturas en condiciones controladas.

Tabla 4. ANOVA para la relación entre la evaluación visual y la fluorescencia clorofílica.

Fuente	Análisis de la varianza				
	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	99.3182	1	99.3182	63.35	0.0000
Residuo	269.665	172	1.56782		
Total (Corr.)	368.983	173			

del arroz a las bajas temperaturas, ha sido realizada también por Kim y Tai (2011), quienes igualmente lograron identificar cultivares que superaron al control tolerante.

Los materiales vegetales tolerantes se identificaron de modo más consistentes (Figura 1). En cambio, la dispersión entre métodos se incrementó hacia cultivares de mayor susceptibilidad. En general, la evaluación mediante fluorescencia clorofílica resultó menos variable (CV=11.79%) respecto a la evaluación visual (CV=25.14%). Resultados similares se obtuvieron en trabajos de este tipo realizados por Pérez de Vida *et al.* (2009).

En la figura 2 se representa la respuesta de los cultivares utilizados como controles. En el cultivar ‘INIA Tacuarí’ (control tolerante), los valores estuvieron más concentrados,

mientras que en el cultivar ‘INIA Olimar’ (control susceptible) resultaron más dispersos. Este resultado pudo deberse a variaciones en la evaluación de la fluorescencia clorofílica en este cultivar susceptible.

Se considera que ambos métodos de valoración de la tolerancia aportan información sobre procesos diferentes afectados por las bajas temperaturas en esta fase del estado vegetativo (plántula). Según Pérez de Vida *et al.* (2009), la evaluación visual a los siete días del tratamiento con bajas temperaturas constituye una estimación de efectos residuales y de una relativa capacidad de recuperación frente al estrés. Asimismo, estos autores plantean que esta respuesta diferencial puede deberse a varias causas que conducen a la fotoinhibición causada por frío como por ejemplo: daño oxidativo por transferencia

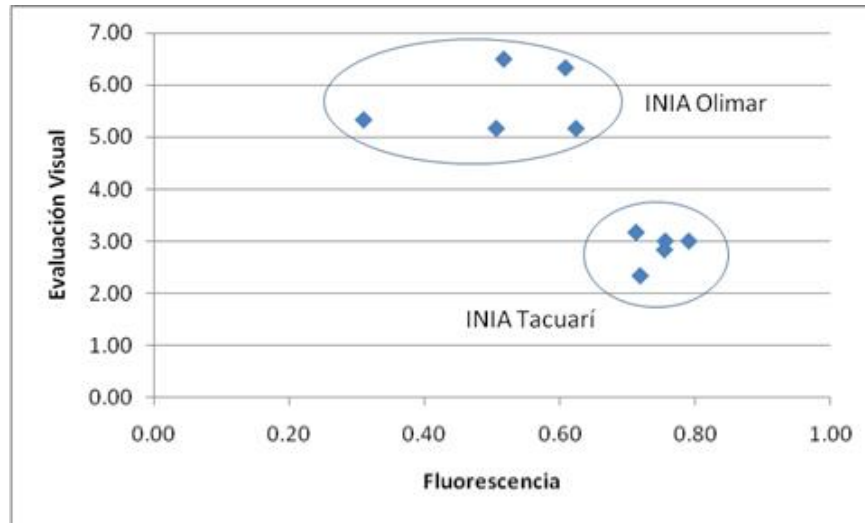


Figura 2. Relación entre los valores de fluorescencia clorofílica y evaluación visual para los controles tolerante ('INIA Tacuarí') y susceptible ('INIA Olimar') a bajas temperaturas en el cultivo del arroz bajo condiciones controladas.

excesiva de energía al oxígeno, energía que no se canaliza como energía fotoquímica por baja demanda (esta baja demanda se debe a la no activación de enzimas relacionadas a la asimilación de CO_2), menor capacidad de reparación del PSII (disminución de la síntesis de D1; destrucción de enzimas del fotosistema; inhibición de la formación de zeaxantina y antheraxantina (pigmentos fotosintéticos), compuestos encargados de la disipación del exceso de energía como calor. En general se reconoce al material vegetal indica como menos tolerante (Pereira da Cruz *et al.*, 2013), y se ha identificado que presentan contenidos inferiores de la proteína D1 del fotosistema II.

CONCLUSIONES

A partir de la evaluación visual y de la fluorescencia clorofílica, se lograron identificar materiales vegetales de arroz tolerantes a bajas temperaturas en condiciones controladas. Los resultados demostraron que la aplicación de estos métodos constituye una ventaja ya que permiten la selección temprana de tolerancia al factor abiótico estudiado.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Biotecnología para América Latina y el Caribe de la Universidad de las Naciones Unidas (UNU-BIOLAC) por apoyar la pasantía que permitió la realización de este estudio. A los técnicos y especialistas del

Programa de Mejora Genética de Arroz de la Estación Experimental del Este, perteneciente al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA Treinta y Tres) de Uruguay, que me acogieron con cariño y contribuyeron al éxito del presente trabajo.

REFERENCIAS

- Andaya VC, Mackill, DJ (2003) Mapping of QTL associated with cold tolerance during the vegetative stage in rice. *Journal of Experimental Botany* (54): 2579–2585
- Bonnecarrere V, Borsanib P, Iazb D, Capdevielle F, Blanco P, Monza J (2011) Response to photooxidative stress induced by cold in japonica rice is genotype dependent. *Plant Sci* (180): 726–732
- Castillo D, Alvarado JR (2002) Caracterización de germoplasma de arroz para tolerancia a frío en la etapa de germinación. *Agricultura Técnica* 62 (4): 596-605
- Clayton S, Neves PC (2011) Country snapshot: Brazil. *Rice Today* (10): 16–17
- Cruz M (2013) Tolerancia al frío en arroz: evaluación de germoplasma en condiciones controladas, validación en campo y producción de poblaciones mejoradas. Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias Agrarias con Énfasis en Fitomejoramiento, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia
- Cruz M (2004) Metodologías para evaluación de la tolerancia al frío en las etapas de germinación y

- floración del arroz (*Oryza sativa* L.) y estudio genético del estrés producido por el frío en la etapa de germinación. Tesis de Maestría. Universidad del Valle Facultad de Ciencias, Cali, Colombia
- Deambrosi E, Méndez R, Roel A (1997) Estrategia en la producción de arroz para un mejor aprovechamiento de las principales variables climáticas, Serie Técnica 89. INIA Treinta y Tres, Uruguay
- Donoso G, Cabas P, Paredes M, Becerra V, Balzarini M (2015) Cold tolerance evaluation of temperate rice (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) genotypes at seedling stage. *Gayana Bot* 72 (1): 01-13; doi: 10.4067/S0717-66432015000100001
- International Rice Research Institute (IRRI) (1996) Standard Evaluation System for Rice. The International Network for Genetic Evaluation of Rice (INGER) The International Rice Testing Program (IRTP), Philippines
- Kim SJ, Lee SC, Hong SK, An K, An G, Kim SR (2009) Ectopic expression of a cold-responsive OsAsr1 cDNA gives enhanced cold tolerance in transgenic rice plants. *Mol. Cells* 27 (4):449–458; doi: 10.1007/s10059-009-0055-6
- Kim SI, Tai TH (2011) Evaluation of seedling cold tolerance in rice cultivars: a comparison of visual ratings and quantitative indicators of physiological changes. *Euphytica* 178(3):437-447; doi: 10.1007/s10681-010-0343-4
- Lee, DG, Ahsan N, Lee SH, Lee JJ, Bahk JD, Kang KY (2009a) Chilling stress-induced proteomic changes in rice roots. *J Plant Physiol* 166 (1): 1–11; doi: 10.1016/j.jplph.2008.02.001
- Lee SC, Kwon SY, Kim SR (2009b) Ectopic expression of a cold-responsive Cu/Zn superoxide dismutase gene, SodCc1, in transgenic rice (*Oryza sativa* L.). *J Plant Biol* 52(2): 154–160; doi: 10.1007/s12374-009-9017-y
- Lima MG, Lopes NF, Zimmer PD, Meneghello GE, Mendes CR, Amarante L (2012) Enzyme expression in indica and japonica rice cultivars under saline stress. *Acta Sci Biol Sci* 34(4): 473–481; doi: 10.4025/actasciobiols.v34i4.8535
- Lou Q, Chen L, Sun Z, Xing Y, Li J, Xu X, Mei H, Luo A (2007) Major QTL associated with cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 158(1): 87–94; doi: 10.1007/s10681-007-9431-5
- Pachecoy MI (2011) Tolerancia a frío en estadios tempranos del desarrollo en arroz: caracterización fenotípica de germoplasma de origen diverso y variación alélica en genes candidatos. Trabajo de Tesis para optar al Título de MAGISTER SCIENTIAE en Producción Vegetal. Facultad De Ciencias Agraria Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Argentina
- Pereira da Cruz R, Sperotto RA, Cargnelutti D, Adamski JM, Terra TF, Fett JP (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food and Energy Security* 2 (2): 96–119; doi: 10.1002/fes3.25
- Pérez de Vida F, Díaz S (2010) Respuesta a bajas temperaturas en estadios reproductivos de cultivares de arroz. En: INIA (ed) Resultados Experimentales 2009-2010, Ecofisiología del cultivo del arroz, pp. 24-27. INIA Treinta y Tres Estación Experimental del Este, Uruguay
- Pérez de Vida F, Bonnacarrère V, Rosas JE, López A, Ramírez D, Barrios A (2009) Respuesta a bajas temperaturas en estadios vegetativos de cultivares elite y avanzados del Programa de mejoramiento Genético de INIA. En: INIA (ed) Resultados Experimentales 2008-2009, Mejoramiento Genético, pp. 8-12. INIA Treinta y Tres Estación Experimental del Este, Uruguay
- Saad BR, Fabre D, Mieulet D, Meynard D, Dingkuhn M, Al-Doss A (2012) Expression of the *Aeluropus littoralis* AISAP gene in rice confers broad tolerance to abiotic stresses through maintenance of photosynthesis. *Plant Cell Environ* 35(3): 626–643; doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02441.x
- Yang A, Dai X, Zhang WH (2012) A R2R3-type MYB gene, OsMYB2, is involved in salt, cold, and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot* 63 (7): 2541–2556; doi: 10.1093/jxb/err431
- Ye H, Du H, Tang N, Li X Xiong L (2009) Identification and expression profiling analysis of TIFY family genes involved in stress and phytohormone responses in rice. *Plant Mol Biol* 71(3): 291–305; doi: 10.1007/s11103-009-9524-8
- Zhang Qi, QiuHong C, Shaoling W, Yahui H, Zhilong W (2014) Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice* 7(1): 24; doi:10.1186/s12284-014-0024-3

Recibido: 07-10-2016
Aceptado: 11-11-2016