

COMPORTAMIENTO DEL APARATO FOTOSINTÉTICO DE LA HOJA BANDERA DURANTE EL LLENADO DE GRANO EN LÍNEAS F4 TOLERANTES A FRÍO

Juan Vilas¹; Ayelen Gazquez¹; Alfonso Vidal²; Rodolfo Bezu²; Andrés Rodríguez¹; Santiago Maiale¹

Palabras Claves: arroz, selección, fluorescencia, fotosíntesis

INTRODUCCIÓN

Las características climáticas de la Argentina presentan una limitante en el rendimiento, la mayor parte de las áreas óptimas para el cultivo de arroz (*O. sativa*) presentan tipologías de clima templado con marcada amplitud térmica que coinciden con las etapas vegetativas del ciclo de crecimiento de la planta. En dicha zonas, la temperatura mínima media en las etapas vegetativas más tempranas promedian los 13 °C, además, el crecimiento del arroz se ve afectado a temperaturas cercanas o inferiores a 15 °C (Nakagahra et al., 1997).

Ciertos parámetros fisiológicos pueden ser una herramienta para explicar porque el arroz retrasa su crecimiento en condiciones de temperaturas subóptimas. El aparato fotosintético (AP) y en especial el fotosistema II (FSII), es un objetivo sensible que se afecta en condiciones de estrés por frío (Strauss et al. 2007, Pagter et al. 2008). Determinar la fluorescencia de la clorofila y su cambio a lo largo del tiempo brinda información del estado del FSII, herramienta que puede ser usada en proyectos de mejoramiento.

Podría pensarse que aquellas plantas que tengan una capacidad fotosintética mayor deberían tener mejores potenciales de rendimiento. La valoración de los parámetros de intercambio gaseoso, fotosíntesis neta (P_n), conductancia estomática (GS) y eficiencia de uso del agua instantánea (WUEi) calculado como P_n/GS , brinda otro enfoque del estado fisiológico de las plantas cultivadas.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el aparato fotosintético de la hoja bandera durante el llenado de grano en diferentes familias parentales F4 con tolerancia a temperaturas subóptimas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivos de plantas: Se utilizó la metodología descrita en Gazquez et al (2015) con modificaciones. Semillas provenientes de siete familias segregantes F3 fueron germinadas en oscuridad a 30°C durante un periodo de 3-4 días. Las plántulas fueron cultivadas en cámara de cultivo, en condiciones de hidroponía con solución de riego descrita en Yoshida (1976), con un fotoperiodo de 12hs/12hs con una intensidad lumínica de 240 PAR (umoles s⁻¹ m⁻²), humedad promedio del 60% y un ciclo térmico día/noche 28°C/24°C. Cuando las plantas llegan a hoja 3 se registra la longitud de crecimiento en cm desde la base de la planta hasta el extremo de la hoja (tiempo inicial), luego las plantas se colocan a una cámara de cultivo Percival ® con las condiciones de cultivo antes descrita, cambiando el ciclo térmico a 21°C/13°C (día/noche). A los cinco días se vuelve a registrar el largo de planta, se estima el crecimiento haciendo la diferencia de longitud entre el día cinco y día cero.

Selección de plantas F4: Se eligieron aquellas plantas que tenían un crecimiento mayor a 10 cm a los cinco días de tratamiento y que representaron el 10% de cada familia. Un total de cuarenta y cuatro (44) fueron seleccionadas colocadas en macetas individuales y cultivadas a campo dentro de piletas inundadas.

Fluorescencia de la clorofila: Tres hojas por planta fueron usadas para registrar la fluorescencia transiente de la clorofila, para ello se utilizó un fluorómetro comercial (PocketPEA, Hansatech Instruments). Con los datos obtenidos se realizó el análisis OJIP (Stirbet y Govindjee, 2011) que permite caracterizar el funcionamiento del fotosistema II.

¹ IIB-INTECH, Int. Marino Km 8, Chascomús, Buenos Aires, Argentina e-mail:

smaiale@intech.gov.ar

² Programa Arroz, FCAyF, UNLP

Se analizaron los siguientes parámetros: Plabs (índice de performance de la conservación de la energía absorbida); Fv/Fm (rendimiento cuántico máximo de la fotoquímica primaria); ABS/RC (tamaño aparente de la antena de un centro de reacción activo); DI/CS (energía disipada por unidad de sección transversal excitada).

Determinación de parámetros de intercambio gaseoso: Para medir la tasa de intercambio gaseoso se utilizó un sistema portátil de fotosíntesis (TPS-2 Portable Photosynthesis System, MA, USA).

Procesamiento de las plantas: Se midió el área de hoja bandera (tres por maceta), las plantas fueron cosechadas manualmente y se evaluó: número de espiguillas por panoja, peso mil granos (PMG), porcentaje de semillas vanas (% Vaneo).

Análisis estadístico: Los datos obtenidos se graficaron con el programa Prism GrpPad 5.0. El análisis estadístico fue realizado con el software InfoStat (Grupo InfoStat, Córdoba, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado de la selección en cámara de cultivo usando el intervalo de temperatura 13/21 °C obtuvimos un total de cuarenta y cuatro plantas (44) F4 que cumplieron con nuestros criterios de selección fijados, plantas que superen los 10 cm de crecimiento después de 5 días y que representen el 10% de la población. Las 44 plantas F4 seleccionadas corresponden a 6 familias parentales provenientes de cruzamientos realizados entre una variedad de buenas características agronómicas y una variedad tolerante a temperaturas subóptimas de crecimiento que fueron seleccionadas con los criterios antes mencionados.

Nuestros resultados muestran que hay diferencias de Pn y Gs entre las diferentes familias, siendo las plantas correspondientes a la familia 59-8 las que presentan valores mayores de estos coeficientes indicando que la eficiencia fotosintética de esta familia es mayor.

Por otra parte calculamos la eficiencia de uso del agua instantáneo (WUEi= Pn/GS), donde encontramos que la familia 29-6 presentó un alto valor de WUEi mostrando diferencias significativas con los valores hallados en las familias 59-8 y 29-1. Este comportamiento encontrado es debido a los bajos valores de GS de la familia 29-6 indicando que estas plantas tienen una menor capacidad de evaporación del agua y por ende una mayor eficiencia del uso de este elemento (Tabla 1).

Familia	Pn ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	GS ($\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$)	WUEi ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$)	Crecimiento
59-8	20,273 a	354 a	0,059 b	10,30 a
59-7	17,46 ab	293 ab	0,065 ab	10,65 a
29-1	14,962 ab	257 abc	0,057 b	10,20 a
29-4	19,559 a	269 abc	0,074 ab	10,30 a
29-6	15,954 ab	171 c	0,092 a	10,33 a
54-9	12,817 b	194 bc	0,097 ab	10,68 a

Tabla 1: Fotosíntesis neta (Pn), Conductividad estomática (GS), Eficiencia del uso del agua instantánea (WUEi) y crecimiento en 6 familias de plantas F4. Se realizó ANOVA con posttest de tukey. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Una de las causas de la senescencia de las plantas es la disminución del contenido de clorofila el cual se evidencia por la pérdida del color verde en las hojas. A la capacidad para mantener lo tejidos fotosintéticos activos se lo denomina Stay Green, y puede ser utilizado como criterio de selección en estudios de mejoramiento. Los datos de Stay green fueron registrados a partir del panojamiento a intervalos de 6 a 9 días dependiendo de las condiciones climáticas desde el 3 de febrero hasta el 9 de marzo de 2015.

El análisis del registro de los parámetros de fluorescencia en función del tiempo (Figura 1) mostró una tendencia donde el Plabs tiene una menor caída para las familias 59-8 y 54-9 evidenciada por un valor menor en la pendiente (Tabla 1). Al igual que para el Plabs la familia 54-9 mostró una menor caída de Fv/Fm este mismo resultado fue encontrado en la familia 29-4 (Figura 1B). A diferencia de lo hallado en los registros del Plabs las familias con menor caída de Fv/Fm mostraron los valores iniciales más altos de Fv/Fm. Esto también

contrasta con los datos del Plabs obtenidos al día 21 ya que se obtuvieron valores similares en todas las familias analizadas. DI/CS no manifestó una tendencia lineal (Tabla 1).

No necesariamente el Stay Green tiene que estar asociado con la actividad fotosintética como ocurre con la familia 59-8 que posee una menor caída de Plabs y una mayor tasa de Pn y GS, comportamiento que no ocurre en la familia 54-9.

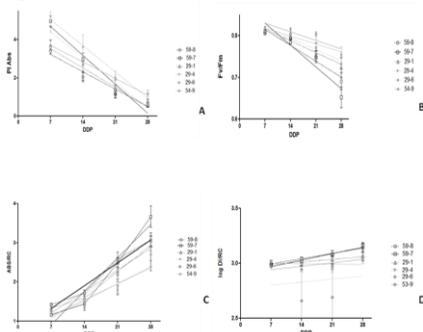


Figura 1: Cambio a través del tiempo en algunos parámetros del fotosistema II en la hoja bandera de 6 familias de arroz en F4.

A) Plabs (índice de performance), B) Fv/Fm (rendimiento cuántico máximo de la fotoquímica primaria), C) ABS/RC (tamaño aparente de antena), D) DI/CS (energía disipada por sección transversal excitada). En cada caso se muestra la línea de tendencia del cambio. Las medidas fueron tomadas 7, 14, 21 y 28 días después del inicio del pajeamiento (DPP).

Familia	PI abs		Fv/Fm		ABS/RC		DI/CS	
	R ²	p	R ²	p	R ²	p	R ²	p
59-8	0.76	10 ⁻⁴	0.641	10 ⁻⁴	0.778	10 ⁻⁴	0.367	0.0003
59-7	0.81	10 ⁻⁴	0.634	10 ⁻⁴	0.769	10 ⁻⁴	0.472	10 ⁻⁴
29-1	0.70	10 ⁻⁴	0.461	3,0·10 ⁻⁴	0.713	10 ⁻⁴	0.130	0.08(ns)
29-4	0.75	10 ⁻⁴	0.467	9,0·10 ⁻⁴	0.784	10 ⁻⁴	0.005	0.7 (ns)
29-6	0.71	10 ⁻⁴	0.550	10 ⁻⁴	0.749	10 ⁻⁴	0,072	0.09(ns)
54-9	0.684	10 ⁻⁴	0.473	2,0·10 ⁻⁴	0.625	10 ⁻⁴	0.333	0.003

Tabla 2: Parámetros de regresión lineal de las graficas mostradas en la figura 1 para 6 familias de plantas F4.

Se analizaron los componentes de rendimiento para las diversas familias seleccionadas (Tabla 3). Se puede observar que las familias con mayor área de hoja bandera (HB) alcanzan mejores valores de espiguilla por panoja (E/panoja). No se registraron diferencias en el porcentaje de vaneo (% vaneo) entre las diferentes familias, mostrando valores bajos siendo este un comportamiento deseado para cultivares comerciales (Tabla 3).

Familia	E/panoja	HB (cm ²)	PMG (gr.)	% Vaneo
59-8	114,19 a	28,10 a	30,55 c	10,20 a
59-7	62,78 d	16,17 c	35,24 b	11,23 a
29-1	79,01 bc	20,37 bc	38,24 a	6,55 a
29-4	93,29 b	18,38 bc	35,29 b	7,61 a
29-6	65,97 cd	15,68 c	33,55 b	10,10 a
54-9	120,65 a	23,59 ab	30,95 c	7,07 a

Tabla 3: Espiguillas por panoja (E/panoja), área de hoja bandera (HB), peso de mil granos (PMG) y porcentaje de vaneo (%vaneos) en 6 familias de plantas F4. Se realizó ANOVA con posttest de tukey. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

La Tabla 4 muestra correlaciones entre diferentes parámetros fisiológicos y los valores de los componentes de rendimiento de cosecha obtenidos. Para los valores que mostraron una tendencia de caída lineal: Plabs, Fv/Fm y ABS/RC, se obtuvieron la inversa de la pendiente a través del tiempo del ensayo y con ellas se realizaron los cálculos.

Hay una correlación positiva entre el Plabs, E/panoja y HB y esto parecería sugerir que una mayor permanecía verde genera un mayor flujo de energía al destino (panoja) .Esto concuerda con los datos mostrados en la Tabla 4 y en donde la correlación de pearson entre HB y E/panoja es de 0,8708 y significativa (p < 0,024).

Parámetros	E/Panoja	HB (cm ²)	PMG (gr.)	% Vaneo
1/m (Plabs)	0,821 *	0,822 *	-0,469	0,549
1/m (Fv/Fm)	0,320	-0,031	0,024	-0,887*
Pn	-0,018	0,144	-0,070	-0,474
GS	0,188	0,487	-0,044	0,317
Pn/GS	-0,173	-0,484	-0,259	0,100
1/m (ABS/RC)	0,725	0,366	-0,260	-0,820*

Tabla 4: Correlación de Pearson entre parámetros de fluorescencia, fotosíntesis y componentes de rendimiento para 6 familias F4.

Un asterisco significa significancia $p < 0,05$.

No se observó una correlación entre los parámetros de rendimiento y el valor de Fv/Fm (eficiencia cuántica máxima de PSII), lo que concuerda con los datos mostrados en Zhang et al. (2015). Pero si se observa un correlación negativa entre la inversa de la pendiente de Fv/Fm y el %vaneo, esto significa que a una mas estable conservación de Fv/Fm a través del envejecimiento de la hoja resulta en un menor tasa de vaneo. También la inversa de la pendiente del tamaño de antena correlaciona negativamente con % vaneo. Esto puede deberse a que una menor tamaño de antena indica una mejor distribución de la energía en los centros de reacción activos y por lo tanto un menor estrés y en definitiva un menor decaimiento del aparato fotosintético.

CONCLUSIÓN

Nuestros resultados indican que los parámetros resultantes del análisis OJIP pueden servir como indicadores del mantenimiento de la actividad de la hoja bandera durante el llenado de granos en arroz y que los mismos pueden utilizarse como herramienta en selección de germoplasma.

BIBLIOGRAFIA

- GAZQUEZ, A, et al. Physiological response of multiple contrasting rice (*Oryza sativa* L.) cultivars to suboptimal temperature. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v201, p117-127, 2015.
- NAKAGAHARA, M. et al. Rice genetic resources: history, conservation, investigative characterization and use in japan. **Plant Molecular Biology**, v35, p69-77, 1997.
- STIRBET, A; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal Photochemistry Photobiology B**; v104: p236–257, 2011.
- STRAUSS, AJ, et al. The role of low soil temperature in the inhibition of growth and PSII function during dark chilling in soybean genotypes of contrasting tolerance. **Physiologia Plantarum**, v131: p89-105, 2007.
- PAGTER, M, et al. Effects of chilling temperatures and short photoperiod on PSII function, sugar concentrations and xylem sap ABA concentrations in two *Hydrangea* species. **Plant Science**, v175: p547–555, 2008.
- ZHANG M, et al. Photochemical properties in flag leaves of a super-high-yielding hybrid rice and a traditional hybrid rice (*Oryza sativa* L.) probed by chlorophyll a fluorescence transient **Photosynth Research**, on line DOI 10.1007/s11120-015-0151-8, 2015 .
- YOSHIDA, S. et al. **Laboratori Manual for Physiological studies of rice**. Los baños, IRRI, 1976