

APORTES AL CONOCIMIENTO DE LA APLICACIÓN DEL ESTRÉS HÍDRICO Y LA INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍZICO ARBUSCULARES EN EL CULTIVO DEL ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.).

UNIDADES EJECUTORAS PRINCIPALES: ¹Unidad Científico Tecnológica de Base “Los Palacios”, (UCTB Los Palacios), perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas y ²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

AUTORES PRINCIPALES: Michel Ruiz Sánchez¹, Juan Adriano Cabrera Rodríguez², José Miguel Dell’Amico Rodríguez², Ricardo Polón Pérez¹; Juan Manuel Ruiz Lozano³

OTROS AUTORES: Ricardo Aroca³; Lázaro A. Maqueira López¹; Rubén Alfonso Caraballo⁴; Yaumara Muñoz Hernández⁵; Yoerlandy Santana Baños⁵; Alexei Yoan Martínez Robaina⁵ y Dayana Friol Guzmán¹.

COLABORADORES:

Rosario Azcón (Estación Experimental del Zaidín, EEZ)
Alexander Miranda Caballero (UCTB, INCA)
Kalyanne Fernández Suárez (UCTB, INCA)
Yakelin Rodríguez Yon (INCA)
Eduardo Iván Jerez Mompie (INCA)
Noraida de Jesús León (UCTB, INCA)
Walfredo Torres de la Noval (INCA)
Aymara García López (INCA)
Ramón Rivera Espinosa (INCA)
Miriam de la Caridad Núñez Vázquez (INCA)
María Caridad González Cepero (INCA)
Gustavo Crespo Flores (INCA)
Guillermo S. Díaz López (UCTB, INCA)
Francisco Cueva Pérez (UCTB, INCA)
Dunieski Domínguez Palacios (Instituto Provincial de Suelo, Pinar del Río)

OTRAS ENTIDADES PARTICIPANTES: ³Estación Experimental del Zaidín, Granada, España (EEZ); ⁴Instituto de Investigaciones de Granos y ⁵Universidad de Pinar del Río.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:

Michel Ruiz Sánchez
Unidad Científico Tecnológica de Base “Los Palacios”. Km 1 ½ Carretera La Francia, Los Palacios, Pinar del Río, CP. 22 900. Teléf. (53) 48 54 7120.
E-mail: mich@inca.edu.cu

RESUMEN

Aunque en Cuba se ha trabajado en la aplicación del estrés hídrico (Polón *et al.*, 2007) y en la inoculación con Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo del arroz (Ortiz *et al.*, 1996; Hernández y Cueva, 1999) de forma independiente, se demostró la efectividad de ambas estrategias en el ahorro de agua, incremento del rendimiento agrícola y mejora

en la tolerancia al estrés abiótico. No obstante, se desconocía el efecto de estas alternativas cuando se aplican de forma conjunta. Por tal motivo, se realizaron diferentes investigaciones con el objetivo de evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica de la planta de arroz al déficit hídrico y a la inoculación con HMA. Se corroboró el incremento del rendimiento agrícola a partir de la suspensión de lámina de agua durante la fase vegetativa, por un periodo de 15 días, tanto en plantas sin inocular como en plantas inoculadas con HMA. Se determinó que las especies *Rhizoglosum intraradices* y *Glomus cubense* contribuyeron de forma positiva a la tolerancia de la planta de arroz al déficit hídrico, provocando una disminución en el daño oxidativo a lípidos y del contenido de peróxido de hidrógeno foliar, a la vez que, se incrementó el contenido de prolina, de glutatión reducido foliar y el potencial hídrico. También a partir del potencial hídrico foliar se define valores críticos de potencial hídrico y se estableció una categorización del estado hídrico de la planta de arroz.

La suspensión de la lámina de agua y la inoculación con HMA incrementaron el rendimiento agrícola, lo cual contribuye a la **sustitución de importaciones y al ahorro de agua de riego**, además de que, se definen las especies de HMA eficientes (*Rhizoglosum intraradices* y *Glomus cubense*) para las condiciones de suelo Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Petroférrico y el momento para la suspensión de la lámina de agua.

Estos resultados constituyen **APORTE CIENTIFICO** al conocimiento del efecto positivo del déficit hídrico en plantas de arroz inoculadas o no con HMA, además de que son **NOVEDOSOS**, se demuestra que los HMA tienen la capacidad de colonizar las raíces de plantas de arroz cultivadas en condiciones de anaerobiosis y atendiendo a las modificaciones de oxidación-reducción que se producen en el suelo, diferentes cepas de HMA manifiestan una efectividad similar. Se define que en general a valores de potencial hídrico menor de -1,20 MPa disminuye el rendimiento de la planta. Se establece una categorización del estrés hídrico en plantas de arroz a partir del potencial hídrico foliar. Se demuestra que, en condiciones de anaerobiosis seguida de la imposición de un estrés por déficit de agua, la inoculación con HMA en plantas de arroz favorece el crecimiento y desarrollo, mejora el potencial hídrico, la conductancia estomática, disminuye el daño oxidativo a lípidos e incrementa el contenido de glutatión reducido. Estos resultados están **ACREDITADOS** en dos artículos en revistas internacional de impacto (*Journal of Plant Physiology*, 2010 y 2011), uno en la revista *Acta Agronómica Colombiana* (2015), seis en *Cultivos Tropicales* (2010 -2016) y una en la revista *Avances* (2016). Los resultados se presentaron en 16 eventos nacionales e internacionales y se recibió un premio destacado SIDAM 2016, dos CITMA Provincial (2013 y 2016), un premio destacado en el Fórum Estudiantil Universitario 2015 y dos premios FÓRUM de base 2012 y 2016. El **APORTE SOCIAL** se evidencia en la formación de profesionales y estudiantes en Agronomía, se defendió una Tesis de Doctorado, una de Especialidad y seis Tesis de Diploma. Se anexan avales de especialistas extranjeros de la Estación Experimental del Zaidín, Granada España; del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Murcia, España y del Instituto de Ecología, A. C., de Veracruz, México).

COMUNICACIÓN CORTA

INTRODUCCIÓN

La planta de arroz tiene la particularidad de ser semiacuática y se cultiva tradicionalmente con inundación continua durante la mayor parte de su ciclo de desarrollo (Hattori *et al.*, 2011); pero tiene pocas adaptaciones a las condiciones de agua limitada y es sensible a la sequía

(Kamoshita *et al.*, 2008). A pesar de lo mencionado, la exposición del cultivo a condiciones de estrés por déficit de agua en alguna etapa de su desarrollo, ha favorecido el incremento del rendimiento agrícola, tal como se informó por diferentes investigadores IRRI, 1993; Fukai y Cooper, 1996; Polón *et al.*, 1995; Polón *et al.*, 2001; Polón, 2007). En Cuba actualmente, los cultivares de arroz presentan un potencial de rendimiento que supera las 7 t ha⁻¹. Sin embargo, a pesar de que en el país existen condiciones de clima y de suelo favorables para el crecimiento y desarrollo de este cereal, en los últimos 20 años el rendimiento agrícola en este cultivo no supera las 3,4 t ha⁻¹ como promedio (ONEI, 2014). La disponibilidad limitada de agua de riego provocada por la sequía que se viene manifestando es una de las causas que han incidido negativamente en los bajos rendimientos agrícolas de este cultivo.

Ante esta problemática, una alternativa pudiera ser el uso de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), que en asociación con la planta contribuyen a protegerla frente al daño oxidativo generado por la sequía (Porcel *et al.*, 2012; Aroca *et al.*, 2012), a través de la absorción directa y la transferencia de agua por las hifas del hongo hacia la planta hospedera (Ruiz-Lozano y Azcón, 1995; Augé *et al.*, 2008; Ruth *et al.*, 2011), mejorando así el intercambio gaseoso, la eficiencia en el uso del agua y el ajuste osmótico de la planta, tal como han expresado Ruiz-Lozano *et al.* (2012).

Teniendo en cuenta todo lo anterior, se desarrollaron un conjunto de investigaciones con el **objetivo** de evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica del arroz a la aplicación del estrés hídrico y a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron varios experimentos en la Unidad Científico Tecnológica de Base “Los Palacios”, perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y en la Estación Experimental del Zaidín (EEZ, CSIC), Granada, España, en condiciones controladas, semicontroladas y de campo, con el cultivar de arroz INCA LP-5 de ciclo corto, el cual se cultivó en condiciones de anaerobiosis y aerobiosis, y se inoculó con diferentes especies de HMA. Además, se aplicó un estrés hídrico, mediante la suspensión de la lámina de agua en diferentes momentos de la fase vegetativa del cultivo. El periodo de exposición a déficit hídrico siempre fue de 15 días.

En sentido general los tratamientos evaluados fueron: plantas de arroz cultivadas en condiciones inundadas, expuestas a déficit hídrico mediante la suspensión de la lámina de agua. Plantas inoculadas con diferentes cepas de HMA y no inoculadas que se cultivaron con una lámina de agua. Plantas de arroz inoculadas con HMA y no inoculadas expuestas a diferentes alturas de lámina de agua. Plantas de arroz inoculadas con HMA y no inoculadas expuestas o no a estrés hídrico a los 30 días después del trasplante en condiciones inundadas y plantas de arroz cultivadas en condiciones de aerobiosis y expuestas o no a reducción del suministro hídrico.

Las especies de HMA que se emplearon fueron: *Claroideoglomus claroideum*, Schenck y Smith (Schüßler y Walker, 2011); *Glomus cubense* Y. Rodr. y Dalpé (Rodríguez *et al.*, 2011), *Rhizogloium intraradices*, N.C. Schenck & G.S. Sm. Sieverd., G.A. Silva & Oehl comb. nov. (Sieverding *et al.*, 2014) y *Funneliformis mosseae*, Nicol. y Gerd. Walker y Schüßler (Schüßler y Walker, 2011), procedentes del cepario del INCA.

RESULTADOS

Efecto de la suspensión de la lámina de agua el cultivo de arroz. Condiciones semicontroladas

La suspensión de la lámina de agua por un periodo de 15 días en tres momentos diferentes de la fase vegetativa del arroz de trasplante a los 30, 40 y 50 días después del trasplante (DDT)

provocó un estrés hídrico en la planta, que se manifestó a través de una reducción del crecimiento y desarrollo aéreo, el potencial hídrico foliar (Ψ_h) y la conductancia estomática (CE). Sin embargo, se incrementó la masa radical de la planta. Desde el punto de vista bioquímico, se incrementó el contenido de prolina (PRO), de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el daño oxidativo a lípidos (DOL) y el contenido del antioxidante glutatión (GLT), a la vez que disminuyó el ascorbato reducido (ASC). En sentido general, se comprobó que el efecto del estrés hídrico aplicado a los 30 DDT indujo una respuesta beneficiosa en el cultivo, no siendo así cuando este se aplicó a los 40 y 50 DDT. Estos resultados se encuentran publicados en la revista *Cultivos Tropicales*, 2016 y en la Tesis de Doctorados 2015.

Transcurrido el periodo de recuperación, o sea, en el momento de la cosecha, en cuanto al crecimiento y desarrollo de las plantas, la suspensión de la lámina de agua a los 30 DDT, provocó que, tanto la altura, la masa fresca aérea y radical fueron superiores a las plantas del tratamiento testigo. A partir del análisis del Ψ_h , se evidenció la recuperación de las plantas al déficit hídrico, así como desde el punto de vista bioquímico, debido a que no se encontraron diferencias entre el testigo con lámina de agua (Sin Estrés) y la suspensión de la misma a los 30 DDT; por el contrario, continuaron siendo superiores los valores de PRO, H_2O_2 y DOL, cuando las plantas se expusieron a estrés hídrico a los 40 y 50 DDT. El ASC y el GLT, disminuyeron en estos últimos tratamientos respecto a los 30 DDT y al testigo. Este comportamiento sugiere el consumo de la producción de estas moléculas, como mecanismo para contrarrestar el incremento del H_2O_2 y a su vez el DOL, compuestos que se generaron posiblemente, por el déficit hídrico inducido, cercano a la fase reproductiva y que el periodo de recuperación fue menor. Sumado a esto la influencia que ejerce el proceso de senescencia al final del ciclo biológico de las plantas, que provoca producción de Especies Reactivas de Oxígeno. Estos resultados se encuentran publicados en la Tesis de Doctorados, 2015.

Aun cuando, las plantas expuestas a déficit hídrico a los 40 y 50 DDT, mostraron un comportamiento fisiológico y bioquímico inferior al manifestado por las plantas del tratamiento estresado a los 30 DDT, estas presentaron valores superiores a las del testigo en el rendimiento agrícola y sus componentes (panículas por planta y granos llenos por panícula). Este comportamiento indicó la efectividad positiva de la suspensión de la lámina de agua en periodos tempranos de la fase vegetativa, como vía para incrementar el rendimiento agrícola y sus componentes. Estos resultados se encuentran publicados en la Tesis de Doctorados, 2015.

Condiciones de campo y en área demostrativa

La suspensión de la lámina de agua por un periodo de 15 días en tres momentos diferentes de la fase vegetativa del arroz de trasplante (30, 40 y 50 DDT) incrementó el rendimiento agrícola entre un 15 y un 35 % con respecto al control inundado cuando se suspendió la lámina de agua a los 30 DDT, corroborando la respuesta que se encontró en condiciones semicontroladas, desde el punto de vista fisiológico y bioquímico. Se logró un ahorro de agua de $1\,931,4\text{ m}^3\text{ ha}^{-1}$ en el cultivo del arroz al utilizar la tecnología de siembra por trasplante, con respecto al tratamiento inundado en todo su ciclo ($7\,331,20\text{ m}^3\text{ ha}^{-1}$). El agua ahorrada pudiera incrementar el área bajo riego en un 11,19 %. Estos resultados se encuentran publicados en Tesis de Grado, 2013; Tesis de Especialidad, 2015 y revista *Avances*, 2016.

Efecto de la inoculación con HMA en el cultivo del arroz

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tienen la capacidad de colonizar las raíces de plantas de arroz, cultivadas en condiciones de anaerobiosis y atendiendo a las modificaciones de oxidación-reducción que se producen en el suelo, diferentes cepas de HMA manifiestan una

efectividad similar. Además de la condición de anaerobiosis, las características morfológicas de la planta de arroz (tipos de raíces, tejido aerénquima, transporte de oxígeno y exudados radicales), son determinantes para el establecimiento y desarrollo de la colonización micorrízica en edades tempranas del cultivo. Para las condiciones de suelo (Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Petroférico) y cultivo evaluadas, la eficiencia simbiótica superior se obtuvo con las cepas *R. intraradices*, *G. cubense* y *C. claroideum*, en función del incremento en el ahijamiento y la masa seca aérea, aunque siempre las cepas *R. intraradices* y *G. cubense* estuvieron entre las cepas de HMA que manifestaron mayor efecto positivo en el desarrollo de las plantas. A medida que la altura de la lámina de agua fue mayor, disminuyó la colonización micorrízica y la densidad visual, comportamiento que se puede explicar, debido a la disminución de la concentración de oxígeno. Estos resultados se encuentran publicados en la revista *Cultivos Tropicales*, 2016 y en la Tesis de Doctorados, 2015.

La presencia de la lámina de agua en el cultivo, afecta el establecimiento de la simbiosis micorrízica, debido a un retardo en la germinación de las esporas de HMA, provocado por la existencia de cantidades limitadas de oxígeno en el suelo, además de condicionar un efecto de dilución de los exudados radicales, los cuales que constituyen moléculas señales en la interacción planta-HMA, como pudieran ser las estrigolactonas. A partir de un crecimiento avanzado de la planta, esta tiene la capacidad de transportar cantidades mayores de oxígeno a la raíz y la zona rizoférica, a la vez que incrementa los exudados señales para la simbiosis planta-HMA.

Aun cuando, se observó colonización micorrízica en la planta de arroz, ésta se puede considerar baja, motivada fundamentalmente por la condición de anaerobiosis y lo antes expuesto. La lámina de agua también, provoca modificaciones en la arquitectura de las raíces de la planta de arroz, que conduce al predominio de raíces con mayor tejido aerénquima, dejando menos espacio al tejido cortical, siendo precisamente este último tejido en el que se establece el hongo micorrízico arbuscular en la raíz. Estos resultados se encuentran publicados en la revista *Cultivos Tropicales*, 2016; *Acta Agronómica Colombiana*, 2015; Tesis de Grado, 2012 y en la Tesis de Doctorados, 2015.

Efecto de la suspensión de la lámina de agua el cultivo de arroz inoculado con hongos micorrízicos arbusculares

En condiciones aeróbicas las plantas de arroz se micorrizaron con porcentajes entre 13 y 50 %, micorrización que tuvo marcada influencia en el crecimiento de las plantas de arroz a largo plazo. La acumulación de PRO aumentó considerablemente, tanto en plantas MA (inoculadas con HMA), como en plantas noMA (no inoculadas con HMA) después de aplicar el estrés hídrico. En cualquier caso, la cantidad de PRO fue siempre menor en las plantas HMA. Las plantas micorrizadas mostraron menor DOL propiciado por la acumulación del antioxidante GLT y una tendencia a acumular menos H₂O₂ y DOL después del estrés. La inoculación de plantas de arroz con HMA y expuestas a estrés hídrico en periodos tempranos de su desarrollo vegetativo, modifica la fisiología y bioquímica de la planta de forma tal que, cuando se repone el suministro hídrico, éstas fueron capaces de recuperarse e incrementar el rendimiento agrícola. Estos resultados se encuentran publicados en la revista *Journal of Plant Physiology*. 2011; 2010; *Cultivos Tropicales*, 2015; 2012 y en la Tesis de Doctorados, 2015.

La aplicación del estrés hídrico por un periodo de 15 días en tres momentos diferentes de la fase vegetativa del arroz de trasplante a los 30, 40 y 50 días después del trasplante (DDT) también provocó en las plantas inoculadas con HMA una reducción en el crecimiento y desarrollo, pero superior a las no inoculadas. Estas mostraron, además un Ψ_h y CE mayor. Se

establece una categorización del grado de estrés hídrico para el arroz, a partir del Ψ_h y el rendimiento relativo (RR%), por el método de Cate y Nelson (1972), además de los niveles críticos de potencial hídrico, como indicadores del estado hídrico de la planta. Estos resultados se encuentran publicados la Tesis de Doctorados, 2015.

Desde el punto de vista bioquímico, en las plantas inoculadas con HMA, disminuyó la acumulación de PRO, a la vez que aumentó el H_2O_2 , el DOL y el contenido del antioxidante GLT, con respecto a las plantas no inoculadas y de forma similar disminuyó el ASC. En sentido general, la aplicación del estrés hídrico en las plantas inoculadas a los 50 DDT mostró un comportamiento superior a las no inoculadas, pero continuó siendo inferior su respuesta ante esta condición, respecto aquellos que fueron estresadas a los 30 DDT. Con la aplicación del estrés hídrico en condiciones de campo 30, 40 y 50 DDT incrementó el rendimiento agrícola en un 47, 37 y 19 %, respectivamente y en combinación con la inoculación con HMA incrementó además el rendimiento agrícola en un 18, 16 y 2 %, respectivamente. Estos resultados se encuentran publicados la Tesis de Doctorados, 2015.

El arroz cultivado en condiciones de aerobiosis inoculado con la cepa *Rhizoglyphus intraradices* expuesto a un periodo de estrés hídrico en la fase vegetativa mejora la respuesta fisiológica y bioquímica de la planta e incrementa su crecimiento y desarrollo, a su vez se evidencia un comportamiento similar al encontrado en condiciones de anaerobiosis después de un periodo de estrés hídrico y de la recuperación. La coinoculación de HMA con *Azospirillum brasilense* mejoraron el efecto positivo de los HMA, desde el punto de vista fisiológico y bioquímico de la planta ante una condición de déficit hídrico. Estos resultados se encuentran publicados en la revista *Journal of Plant Physiology*. 2011; 2010; *Cultivos Tropicales*, 2015; 2012 y en la Tesis de Doctorados, 2015.

Impacto científico y social del resultado

Esta investigación constituye un resultado fundamental orientado, es **NOVEDOSO** y tiene un valioso **APORTE CIENTÍFICO** al conocimiento de la aplicación del estrés hídrico y la inoculación con Hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.), desde el punto de vista fisiológico y bioquímico. La propuesta de la categorización del potencial hídrico en arroz, resulta una herramienta teórica y práctica para caracterizar el estado hídrico de la planta, además de contar con valores críticos de potencial, que sugieren cuando realizar el riego en el cultivo. Esto resultados no solo tienen importancia teórica sino también práctica, a partir de que, se tienen resultados validados en campo y que en la actualidad se continúa trabajando en la misma, lo cual pudiera contribuir a la **sustitución de importaciones**, pero debe profundizarse en los análisis económicos y los cálculos de los gastos reales de agua, además de la reducción de fertilizantes químicos. Estos **APORTES CIENTÍFICOS** del trabajo no han sido informados en premios anteriores.

Estos resultados se emplean como ejemplos prácticos para la docencia, en postgrado, en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Pinar del Río, Agraria de La Habana y en Guantánamo, así como y centros de investigación en el extranjero (España). Tal práctica ha mostrado resultados satisfactorios, pues los estudiantes logran vincular en la práctica cotidiana y en la producción las enseñanzas teóricas. Los productores pueden incrementar su producción agrícola, además de ahorra agua de riego, que puede ser utilizada para sembrar otras superficies, lo cual se convierte en un elemento de alto **IMPACTO SOCIAL**.