

# IDENTIFICACIÓN DE CULTIVARES DE ARROZ CON ALTA CAPACIDAD DE AJUSTE OSMÓTICO PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA TOLERANCIA A LA SEQUÍA<sup>1</sup>

Thaura Ghneim-Herrera\*, Arnaldo Rosales\*\*,  
Marwan Aguilar\*\*, Alejandro J. Pieters\*,  
Iris Pérez Almeida\*\*\* y Gelis Torrealba\*\*\*\*

## RESUMEN

Su disección genética, mediante la identificación de loci de caracteres cuantitativos (QTLs), es parte de la estrategia para el mejoramiento genético de la tolerancia a la sequía en accesiones del germoplasma nacional. Como primer paso dentro de esta estrategia de caracterizar la capacidad de ajuste osmótico (AO) en 7 cultivares de arroz de riego ('Araure 4', 'Araure 50', 'Cimarrón', 'Fonaiap 1', 'Fonaiap 2000', 'Línea 17' y 'Venezuela 21') sometidos a déficit hídrico bajo condiciones de invernadero. El grado de ao varió significativamente entre los cultivares estudiados en el rango 0,08-0,5 MPa. 'Fonaiap 2000' mostró la mayor capacidad de AO con valores ~0,5 MPa; esto estuvo asociado a la acumulación de carbohidratos bajo condiciones de sequía. Los síntomas de estrés hídrico (enrollamiento foliar) aparecieron más tardíamente en 'Fonaiap 2000' que en el resto de los cultivares y a potenciales hídricos más negativos ( $\psi_h \sim -3,1$  MPa), lo cual evidencia la efectividad del AO para el mantenimiento de un estatus hídrico favorable. Los valores de AO medidos son similares al de otras variedades de arroz utilizadas en la actualidad para el mapeo de QTLs asociados a esta característica, lo cual hace de 'Fonaiap 2000' una candidata para el desarrollo de poblaciones de mapeo, y una fuente potencial para el mejoramiento de esta característica dentro del germoplasma nacional.

**Palabras Clave:** Arroz; *Oryza sativa* L.; tolerancia a la sequía; mejoramiento genético; ajuste osmótico; QTLs; 'Fonaiap 2000'.

---

1 Trabajo financiado por el Programa BID-FONACIT II, sub-proyecto F-2004000371 y Fonacit a través del financiamiento F-2001000902.

\* Investigadores y \*\*Profesionales Asociado a la Investigación. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Apdo. 21827. Caracas, Venezuela.  
E-mail: thgneim@ivic.ve

\*\*\* Investigadores. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Apdo 2103. Maracay, estado Aragua. Venezuela.

\*\*\*\* Investigador. INIA. CIAE Guárico. Apdo N°14. Zona Postal 2312. Estado Guárico. Venezuela.

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

## IDENTIFICATION OF RICE CULTIVARS WITH HIGH OSMOTIC ADJUSTMENT CAPACITY FOR THE GENETIC IMPROVEMENT OF DROUGHT TOLERANCE<sup>1</sup>

Thaura Ghneim-Herrera\*, Arnaldo Rosales\*\*,  
Marwan Aguilar\*\*, Alejandro J. Pieters\*,  
Iris Pérez Almeida\*\*\* y Gelis Torrealba\*\*\*\*

### SUMMARY

Its genetic dissection, through the identification of quantitative trait loci (QTLs) is an important component of the strategy for the genetic improvement of drought tolerance in local rice cultivars. As a first step within this strategy, we measured the capacity of osmotic adjustment (OA) in 8 local rice varieties ('Araure 4', 'Araure 50', 'Cimarrón', 'Línea 17', 'Fonaiap 1', 'Fonaiap 2000' and 'Venezuela 21') subjected to water deficit (drought) under glasshouse conditions. The OA values varied between 0.08-0.6 MPa. 'Fonaiap 2000' showed the highest capacity for OA with values ca. 0.5 MPa. In this cultivar, OA was associated with the accumulation of carbohydrates under drought stress. Drought stress symptoms (leaf rolling) appeared later and at more negatives leaf water potentials ( $\psi$  ~ -3.1 MPa) in 'Fonaiap 2000' than in the rest of the cultivars studied, indicating that OA is an effective mechanism for maintaining a favorable water status. The values of OA measured in this study are similar to those reported for other cultivars used for mapping QTLs associated to this trait. Thus, 'Fonaiap 2000' appears as a good candidate for developing mapping populations for QTL identification and as a potential donor for the improvement of osmotic adjustment capacity in our rice germplasm.

**Key Words:** Rice; *Oryza sativa* L.; drought tolerance; osmotic adjustment; QTLs; 'Fonaiap 2000'.

---

1 Trabajo financiado por el Programa BID-FONACIT II, sub-proyecto F-2004000371.

\* Investigadores y \*\*Profesionales Asociado. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Apdo. 21827. Caracas, Venezuela. E-mail: thgneim@ivic.ve

\*\*\* Investigadores. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Apdo 2103. Maracay, estado Aragua. Venezuela.

\*\*\*\* Investigador. INIA. CIAE Guárico. Apdo N°14. Zona Postal 2312. Estado Guárico. Venezuela.

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

## INTRODUCCIÓN

El ajuste osmótico (AO) es un mecanismo adaptativo mediante el cual, bajo condiciones de estrés, las plantas son capaces de acumular solutos. Esta acumulación de solutos resulta en la disminución del potencial osmótico y en el mantenimiento de altos potenciales de turgencia, lo cual permite el mantenimiento de diversas funciones celulares (Blum 1988).

El AO, definido como la reducción del potencial osmótico mediante el incremento de la concentración intracelular de solutos, representa una característica clave en la determinación de la tolerancia a la sequía en arroz, *Oryza sativa* L., particularmente en variedades de riego.

La capacidad de AO ha sido propuesta como una característica clave en la determinación de la tolerancia a la sequía exhibida por diversas especies de cultivo. En arroz se ha demostrado que el AO representa un mecanismo efectivo para retrasar el enrollamiento foliar (EF), la muerte de tejidos foliares y la senescencia bajo condiciones de sequía (Hsiao *et al.* 1984). Sin embargo, una relación clara entre la capacidad de AO y el rendimiento bajo condiciones de sequía no ha sido claramente demostrada para esta especie.

En este estudio se señala el grado de AO en 9 cultivares de arroz, 7 de ellos pertenecientes al germoplasma nacional y examinando el papel de este mecanismo en el retraso de la aparición de síntomas de estrés hídrico como el EF.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** Las semillas de los cultivares Araure 4, Araure 50, Cimarrón, Fonaiap 1, Fonaiap 2000, Línea 17 y Venezuela 21 fueron suministradas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP). Estos cultivares representan accesiones del germoplasma nacional de arroz, cultivados bajo condiciones de riego. Las semillas de las variedades testigos ‘Nipponbare’ (*O. sativa*, spp. *japónica*, variedad de secano) e ‘IR64’ (*O. sativa*, spp. *indica*, variedad de riego) se obtuvieron a través del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Colombia).

**Condiciones experimentales.** Los experimentos se realizaron bajo condiciones de invernadero en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC-Centro de Ecología) durante los meses de julio-agosto del 2005. Las semillas de los distintos cultivares fueron germinadas secuencialmente con la finalidad de hacer coincidir sus fechas de floración y realizar mediciones simultáneas en todos los materiales.

Dos semanas luego de la germinación, las plántulas fueron transplantadas a cilindros de PVC (0,10 x 0,35 m) rellenos con suelo proveniente del campo experimental del Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Guárico (Bancos de San Pedro), suplementado con N-P-K a una tasa de 150-80-80 kg ha<sup>-1</sup>.

Se cultivaron un total de 24 plantas por cultivar (una planta por cilindro), las cuales se mantuvieron bajo condiciones de irrigación hasta alcanzar 50% de floración. A partir de este momento, se inició el tratamiento de sequía en la mitad de las plantas de cada cultivar mediante la suspensión del riego. La mitad restante (control) recibió irrigación durante el resto del experimento.

**Determinación de  $\psi_h$ ,  $\psi_s$ , CRA, AO, CNE y EF.** Se realizaron mediciones inter-diarias del potencial hídrico ( $\psi_h$ ), potencial osmótico ( $\psi_s$ ), contenido relativo de agua (CRA) y concentración de carbohidratos no estructurales (CNE) al amanecer (6:00-7:00 a.m) y al mediodía (12:00-1:00 p.m) durante 12 días en los tratamientos de sequía y control. Todas las mediciones se realizaron por triplicado sobre hojas banderas completamente expandidas. Para la medición de  $\psi_h$  se utilizó una cámara de presión Soilmoisture Modelo 3000 (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Bárbara, USA).

El  $\psi_s$  se calculó utilizando la ecuación de van Hoff, a partir de los valores de osmolalidad obtenidos con un osmómetro Wescor Modelo 5520 (Wescor Inc, Utah, USA). El CRA fue calculado según Barrs y Weatherley (1962), con rehidratación por 4-h y posterior desecación a 80 °C por 48-h.

El grado de AO se calculó según Ludlow *et al.* (1983), con cada  $\psi_s$  corregido por su respectivo CRA y utilizando una constante de 18% como la fracción apoplástica de agua en arroz (Turner *et al.* 1986). La concentración de CNE se determinó siguiendo la metodología descrita

por Dubois *et al.* (1956). El grado de enrollamiento foliar (EF) se evaluó al mediodía (12:00-1:00 p.m) siguiendo el sistema descrito por el Instituto Internacional de Investigaciones en Arroz (IRRI 2002).

**Desarrollo radical.** Las plantas control de cada variedad fueron cosechadas al final de cada experimento a fin de determinar su desarrollo radical. Se midieron 6 plantas por variedad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La severidad y progreso del estrés hídrico en los cultivares estudiados fueron monitoreados a través de la aparición de síntomas de EF. El EF es un mecanismo de evasión que permite a las especies de gramíneas, incluido el arroz, disminuir el área foliar expuesta y minimizar la transpiración bajo condiciones de déficit hídrico (O'Toole, 1982).

La ocurrencia y grado de EF son ampliamente utilizados como indicadores visuales de la susceptibilidad de variedades de arroz al déficit hídrico (IRRI 2002), mayor el grado de enrollamiento menor la tolerancia a la sequía.

Los cultivares analizados en este estudio muestran diferencias en relación a la aparición de los primeros síntomas de EF y al estatus hídrico ( $\psi_h$ ) al cual el máximo enrollamiento de las hojas es alcanzado (Cuadro 1). Usando estos criterios, 'Fonaiap 2000' exhibe la mayor tolerancia pues muestra el máximo EF luego de 12 días sin riego (DDS) y con  $\psi_h$  muy negativos, mientras que en los cultivares más susceptibles éste se observa a los 4 DDS (Cuadro 1).

Una relación directa entre la ocurrencia de EF y la capacidad de realizar AO ha sido demostrada en algunas variedades de arroz (Hsiao *et al.*, 1984). En este estudio se encuentra que la menor susceptibilidad de 'Fonaiap 2000' al estrés hídrico, medida como el retraso en la ocurrencia de EF, está asociada a un alto grado de AO (Cuadro 2). De hecho, 'Fonaiap 2000' exhibe el mayor grado de AO entre los cultivares locales estudiados. En contraposición, los cultivares locales más susceptibles al déficit hídrico en este estudio tales como 'Venezuela 21' (Cuadro 1) exhibieron una baja capacidad de AO (Cuadro 2).

**CUADRO 1.** Relación entre el grado de enrollamiento foliar (EF), el potencial hídrico ( $\psi_h$ ) y los días bajo tratamiento de sequía (DDS) en los cultivares estudiados.

	$\psi_h$ control (-MPa)	$\psi_h$ (-MPa) al grado EF indicado 1	9	DDS al grado EF 9
Araure 4	1,7 $\pm$ 0,1	1,8	2,9	6
Araure 50	1,5 $\pm$ 0,0	1,7	4,3	6
Cimarrón	1,9 $\pm$ 0,2	-	3,3	8
Fonaiap 1	1,5 $\pm$ 0,1	1,6	3,3	8
Fonaiap 2000	1,3 $\pm$ 0,3	2,2	3,4	12
Venezuela 21	1,6 $\pm$ 0,2	1,9	2,3	4
Línea 17	1,7 $\pm$ 0,1	2,6	3,8	6
Nipponbare	1,4 $\pm$ 0,1	1,8	2,8	4
IR64	1,5 $\pm$ 0,2	2,5	No obs.	No obs.

**CUADRO 2.** Ajuste osmótico, concentración de carbohidratos no estructurales (CNE) y longitud de la raíz principal en los cultivares estudiados.

	Ajuste osmótico (MPa)	Concentración de CNE ( $\mu\text{mol cm}^{-2}$ )		Longitud de raíz principal (cm)
		Control	Sequía	
Araure 4	0,14 $\pm$ 0,04	10,2 $\pm$ 1,6	9,2 $\pm$ 1,8	37,8 $\pm$ 4,0
Araure 50	0,11 $\pm$ 0,07	12,7 $\pm$ 2,6	13,8 $\pm$ 0,1	34,4 $\pm$ 4,8
Cimarrón	0,21 $\pm$ 0,15	12,5 $\pm$ 6,5	15,1 $\pm$ 0,8	29,9 $\pm$ 5,5
Fonaiap 1	0,18 $\pm$ 0,09	18,1 $\pm$ 1,6	14,0 $\pm$ 2,7	28,1 $\pm$ 5,3
Fonaiap 2000	0,43 $\pm$ 0,16	14,0 $\pm$ 1,3	18,4 $\pm$ 1,4	40,3 $\pm$ 5,8
Venezuela 21	0,16 $\pm$ 0,03	14,1 $\pm$ 3,8	15,9 $\pm$ 9,5	31,5 $\pm$ 12,7
Línea 17	0,15 $\pm$ 0,04	9,1 $\pm$ 0,4	7,6 $\pm$ 0,5	37,4 $\pm$ 5,9
Nipponbare	0,08 $\pm$ 0,04	16,1 $\pm$ 1,1	14,0 $\pm$ 0,2	32,9 $\pm$ 5,7
IR64	0,56 $\pm$ 0,18	11,5 $\pm$ 2,4	17,4 $\pm$ 2,0	26,5 $\pm$ 5,9

El EF 1 corresponden al inicio del doblamiento de la hoja, mientras EF 9 a hojas apretadamente enrolladas (IRRI 2002). IR64 no exhibió EF 9 al final del experimento (12 días). Se incluyen como referencia los valores de  $\psi_h$  medidos en las plantas control de cada cultivar. Los valores de  $\psi_h$  mostrados corresponden a las mediciones realizadas al mediodía. Los valores de  $\psi_h$  representan el promedio  $\pm$  desviación estándar (n=3).

La identidad de los solutos acumulados en el proceso de ajuste osmótico en respuesta al déficit hídrico varía según la especie de cultivo; estos solutos incluyen cationes inorgánicos, ácidos orgánicos, aminoácidos y carbohidratos (Turner y Jones 1980). En arroz, sin embargo, la identidad de los solutos osmoticamente activos no ha sido claramente demostrada (Nguyen *et al.* 1997). En este estudio se observó que 'Fonaiap 2000' e 'IR64', los dos cultivares con los mayores valores de ajuste osmótico, mostraron un incremento de la concentración de carbohidratos no estructurales bajo condiciones de sequía (Cuadro 2), lo cual indica un posible papel de estos compuestos en el proceso de ajuste osmótico observado.

En algunas variedades de arroz, el retraso en la aparición del enrollamiento foliar está asociado con una mayor capacidad para evitar la deshidratación mediante el desarrollo de un sistema radical profundo (Fukai y Cooper 1995). Así, un desarrollo diferencial de raíces puede ser un factor determinante de las diferencias en la tolerancia a la sequía exhibida por distintas variedades de arroz. Entre los cultivares estudiados, 'Fonaiap 2000' exhibió la mayor longitud radical (Cuadro 2). Sin embargo, ésta no fue significativamente diferente a las exhibidas por 'Venezuela 21' y la 'Línea 17', dos cultivares comparativamente más susceptibles al déficit hídrico.

Las mediciones de AO y CNE se realizaron luego de 3D bajo sequía. Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar (n=3). Los de longitud de la raíz principal representan el promedio  $\pm$  desviación (n=6).

En experimentos previos en los que se compararon 'Fonaiap 2000' y 'Araure 4', resultó evidente que 'Fonaiap 2000' presenta una relación raíz-vástago (R/V) alta (0,8) que se mantiene invariable con la sequía, mientras en 'Araure 4' la R/V se incrementa en un 20 % pero en un valor menor que en 'Fonaiap 2000' (0,6) (Pieters y El-Souki, datos sin publicar). Sin embargo las diferencias en R/V no significaron variaciones en la

velocidad de deshidratación con la suspensión del riego (Pieters y El-Souki, 2005). Estos resultados indican que, al menos bajo nuestras condiciones experimentales, las diferencias en tolerancia observadas no están directamente relacionadas con la profundidad de raíces. No obstante, potenciales diferencias en el desarrollo radical entre los cultivares estudiados podrían ejercer un efecto importante sobre las respuestas de éstas al déficit hídrico en condiciones de campo.

El AO ha sido propuesto como un mecanismo clave para el mejoramiento genético de la tolerancia a la sequía. Sin embargo, no existen evidencias claras de que la mayor capacidad de AO exhibida por algunas variedades de arroz se traduzca en un mayor rendimiento bajo condiciones de estrés (Fukai y Cooper, 1995). Los resultados obtenidos en este estudio indican que las diferencias en el grado de AO observadas entre los cultivares locales estudiados se relacionan con su susceptibilidad/tolerancia a la sequía, cuando ésta es cuantificada mediante el grado de EF.

Sin embargo, experimentos adicionales, tanto bajo las condiciones experimentales utilizadas en este estudio como en campo, se requieren para establecer la relación entre el AO, el grado de EF y la respuesta de cada variedad al déficit hídrico en términos de rendimiento.

Diversos trabajos indican que la capacidad de realizar AO es mayor en variedades de arroz de riego que en variedades de secano y que existe dentro de cada grupo variabilidad genética para este carácter (Fukai y Cooper 1995). Los resultados obtenidos en este estudio muestran que dentro del grupo de cultivares del germoplasma nacional existe una amplia variación en el grado de AO alcanzado bajo condiciones de sequía (0,08-0,5 MPa) como se aprecia en el Cuadro 2.

En este estudio el grado de AO fue calculado utilizando la metodología propuesta por Ludlow *et al.* (1983). Comparaciones entre los datos del trabajo y los obtenidos por otros investigadores mediante la misma metodología (Babu *et al.*, 1999) ubican a 'Fonaiap 2000' como una variedad con capacidad de AO media. Específicamente, 'Fonaiap 2000' exhibe valores de AO similares a 'IR64', una variedad de riego incluida en este estudio como referencia (Babu *et al.*, 1999).

La capacidad de AO exhibida por 'Fonaiap 2000' indica que esta variedad podría ser utilizada como progenitor en el desarrollo de poblaciones de

mapeo de QTLs reguladores de la capacidad de AO y como potencial donante de este carácter en programas de mejoramiento genético de la tolerancia a la sequía.

Los resultados de esta investigación ponen de manifiesto la complejidad de la respuesta del arroz al déficit hídrico. Así mismo, evidencian la necesidad de evaluar la tolerancia a la sequía de una manera integrada, involucrando aspectos y procesos a varios niveles de organización.

## CONCLUSIONES

- Los cultivares estudiados exhiben distinta tolerancia a la sequía, cuando ésta es medida como el grado de EF bajo condiciones de estrés hídrico. Estas diferencias se relacionan con el grado de AO exhibido por los distintos cultivares. 'Fonaiap 2000' mostró la mayor tolerancia pues los primeros síntomas de EF aparecieron a  $\psi_h$  más negativos que en el resto de los cultivares, y a su vez exhibió el mayor grado de AO.
- La acumulación de CNE exhibida por 'Fonaiap 2000' bajo condiciones de sequía indica un posible papel de estos compuestos en el proceso de AO observado.
- Aún cuando este estudio indica una posible relación entre el grado de AO y la tolerancia a la sequía exhibida por los cultivares de arroz estudiados, se requieren experimentos adicionales para establecer la relación entre el AO, el grado de EF y la respuesta de cada cultivar al déficit hídrico en términos de rendimiento.
- 'Fonaiap 2000' exhibe una capacidad de AO media lo cual hace de esta variedad una candidata para el desarrollo de poblaciones de segregantes para el mapeo de QTLs, y una fuente potencial para el mejoramiento de esta característica dentro del germoplasma nacional.

## AGRADECIMIENTO

Agradecemos especialmente el apoyo brindado por la Unidad de Ecología Genética (Centro de Ecología, IVIC) y al FONACIT.

## BIBLIOGRAFÍA

- BABU R.C, M.S. PATHAN, A. BLUM and H.T. NGUYEN. 1999. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Sci.* 39:150-158.
- BARRS, H. D. and P. E. WEATHERLEY. 1962. A re-examination of the turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15:413-428.
- BLUM, A. 1988. Drought resistance. **In:** Plants breeding for stress environments. CRC Press, Boca Ratón, Florida. pp. 43-76.
- DUBOIS, M., K. A. GILLES and J. K. HAMILTON. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- FUKAI, S. and M. COOPER. 1995. Development of drought resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. *Field Crop Research* 40:67-86.
- HSIAO, T. C., J. C. O'TOOLE, E. B. YAMBAO y N. C. TURNER. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol.* 75: 338-341.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (IRRI). 2002. Standard Evaluation System for Rice. IRRI. Los Baños, Filipinas. 56 pp.
- LUDLOW, M. M., A. C. P. CHU, R. J. CLEMENTS and R. G. KERSLAKE. 1983. Adaptation of species of *Centrosema* to water stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 10:119-130.
- NGUYEN, H. T., R. C. BABU and A. BLUM. 1997. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Sci.* 37:1 426-1 434.
- O'TOOLE, J. C. 1982. Adaptation of rice to drought prone environments. Drought resistance in crops with emphasis on rice. IRRI, Los Baños, Filipinas. p. 195-213.
- PIETERS, A. J. and S. EL-SOUKI. 2005. Effects of drought during grain filling on PS II activity in rice. *J Plant Phys.* 162:903-911.

TURNER, N. C. and M. M. JONES. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. **In:** N.C. Turner, P.J. Kramer, eds, *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. John Wiley y Sons, New York. pp. 78-103.

TURNER, N. C., J. C. O'TOOLE, R. T. CRUZ, E. B. YAMBAO, S. AHMAD, O. S. NAMUCO and M. DINGKUHN. 1986. Response of seven diverse rice cultivars to water deficit. II. Osmotic adjustment, leaf elasticity, leaf extension, leaf death, stomatal conductance and photosynthesis. *Field Crop Res.* 13:273-286.