

LA SIMBIOSIS MICORRÍZICA ARBUSCULAR EN PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) SOMETIDAS A ESTRÉS HÍDRICO. PARTE II RESPUESTA BIOQUÍMICA

Mycorrhizae arbuscular symbiosis in rice plants (*Oryza sativa* L.) under water stress. Part II Biochemical response

Michel Ruiz-Sánchez^{1✉}, Déborah Geada², Yaumara Muñoz Hernández³, Alexeis Martínez³, Yoerlandy Santana³, Mileisy Benítez³, Ricardo Aroca⁴ y Juan M. Ruiz-Lozano⁴

ABSTRACT. It is estimated that the world population will continue to increase; however the water resources available to meet crop right now is not enough, it is working to find alternatives that save water and maintain or increase agricultural crop yields. The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is certainly a way that contributes to such purposes. The research was conducted at the Experimental Station of Zaidín, Granada, Spain, in plastic pots with plants of mycorrhizal and non-mycorrhizal rice in semi-controlled conditions, with three water supplies, no stress (25 mL), moderate stress (10 mL) and severe stress (5 mL) for 15 days, with the aim of evaluating the effect of the inoculation of *Rhizoglyphus intraradices* in rice plants under water stress and then retrieved on some biochemical parameters. The results showed that the symbiosis HMA reduces the accumulation of hydrogen peroxide and oxidative damage to lipids from an increased accumulation of the antioxidant glutathione. The combined effects of plant metabolism improved after a period of water stress and can be suggested as indicators under conditions of water deficit in plants

Key words: antioxidants, symbiosis, drought, stress, rice

RESUMEN. Se estima que la población mundial continúe en ascenso; sin embargo, el recurso hídrico disponible para enfrentar las cosechas en estos momentos no es suficiente, es por ello que se trabaja en buscar alternativas que ahorren agua y mantengan o incrementen los rendimientos en los cultivos agrícolas. El uso de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es sin lugar a dudas, una vía que contribuye a tales propósitos. La investigación se realizó en la Estación Experimental del Zaidín, Granada, España, en macetas plásticas, con plantas de arroz micorrizadas y no micorrizadas, en condiciones semi-controladas, con tres suministros de agua, sin estrés (25 mL), estrés moderado (10 mL) y estrés intenso (5 mL), durante 15 días, con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizoglyphus intraradices* en plantas de arroz sometidas a estrés hídrico y después de recuperadas, en algunas variables bioquímicas. Los resultados mostraron que la simbiosis HMA reduce la acumulación de peróxido de hidrógeno y el daño oxidativo a los lípidos a partir de un incremento en la acumulación del antioxidante glutatión. Estos efectos combinados mejoraron el metabolismo de plantas después de un periodo de estrés hídrico y se pueden sugerir como indicadores ante condiciones de déficit hídrico en plantas de arroz micorrizadas.

Palabras clave: antioxidantes, simbiosis, sequía, estrés, arroz

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700.

² Universidad de la Habana, Cuba.

³ Universidad Hermanos Saíz Montes de Oca. Pinar del Río. Calle Martí final. Pinar del Río, Cuba.

⁴ Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, España.

✉ mich@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

La sequía es el factor limitante más importante para la producción agrícola y se está convirtiendo en un problema creciente en muchas regiones del mundo (1, 2). En el caso del arroz (*Oryza sativa* L.) es una limitación importante para su producción en los ecosistemas de secano. Se estima que 18 millones de toneladas (t) anuales o el 4 % de la producción

total de arroz se pierde por la sequía (3), cantidad que ha sido valorada de forma conservadora por los EE.UU. en 3,6 mil millones dólares. Adicionalmente, es importante destacar que no sólo la falta de agua reduce el potencial de rendimiento, sino también la época y la duración de la sequía en relación con los procesos fenológicos (4).

Según informes de la FAO, las Naciones Unidas estimó que la población mundial crecerá de 6,3 billones de habitantes en el 2003 a 8 billones en el 2025, por lo que se plantea que la producción de arroz debe crecer en un 40 % para satisfacer su demanda mundial, donde habrá menos disponibilidad de agua y tierra cultivable^A (5).

Ante el avance inminente de la desertificación y la sequía, los productores instrumentan diferentes estrategias para mitigar los efectos adversos de estos fenómenos en sus cosechas. Una de esas estrategias es la utilización de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (6, 7). Se ha demostrado que los HMA pueden proteger a las plantas hospederas contra los efectos perjudiciales del déficit de agua, deficiencia en la absorción de nutrientes (fósforo), protección contra patógenos, entre otras problemáticas (8, 9, 10, 11, 12). Los estudios realizados hasta la fecha, han sugerido varios mecanismos por los que la simbiosis planta-HMA puede aliviar los efectos de la sequía en las plantas hospederas. Los más importantes son la absorción directa y la transferencia de agua a través de las hifas fúngicas al huésped (13, 14, 15), cambios en las propiedades de retención de agua del suelo (9), mejor ajuste osmótico de las plantas MA (6, 7), la mejora del intercambio de gases en la planta y uso eficiente del agua (13), así como la protección contra el daño oxidativo generado por la sequía (16, 17, 18, 19).

Este último mecanismo se ha reconocido como crucial (10, 18), pues muchas de las reacciones degenerativas están asociadas con varias tensiones ambientales, incluidos los déficit de agua, que dan lugar a la producción de especies reactivas de oxígeno (reactive specieses of oxygen (ROS)) en las plantas, causando un estrés oxidativo adicional. De forma general las ROS abarcan no solo los radicales libres como el superóxido (O_2^-) y los radicales hidroxilo (OH^\cdot), sino también el peróxido de hidrógeno (H_2O_2); asimismo, se conoce que el oxígeno singlete y radicales OH^\cdot son tan reactivos que su producción debe reducirse al mínimo (20), mientras que O_2^- y H_2O_2 se sintetizan en tasas muy elevadas, incluso en condiciones óptimas (21, 22). Estos radicales y sus derivados se encuentran entre las especies más reactivas conocidas en química, capaces de

reaccionar de manera indiscriminada y causar un daño oxidativo a las biomoléculas. Esto propicia la ocurrencia de fenómenos tales como la peroxidación lipídica y la desnaturalización de las proteínas (23).

Teniendo en cuenta todo lo antes planteado, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizoglossum intraradices* en plantas de arroz sometidas a estrés hídrico a los 30 días, después del trasplante (DDT) y después de recuperadas (DR), sobre algunas variables bioquímicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en la Estación Experimental del Zaidín, Granada, España, en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) bajo condiciones semi-controladas, para lo cual se empleó el cultivar de ciclo corto INCALP-5. En la etapa inicial (semillero) se inoculó el 50 % de las del semillas con *Rhizoglossum intraradices*, a razón de 100 g por cada kg de sustrato. Las plantas se trasplantaron a los 15 días después de la germinación (DDG) a macetas de 400 g. También se realizó otra inoculación en el momento del trasplante (5 g de inóculo por maceta), justo debajo de las raíces de arroz.

CONDICIONES EXPERIMENTALES

Las plantas fueron cultivadas entre 60-70 % de humedad relativa, las temperaturas de día y noche fueron de 23 y 19 °C, respectivamente, con un fotoperiodo de 16 horas luz y ocho de oscuridad y una intensidad de la luz de 250 $\mu E m^{-2} s^{-1}$, medido con un Licor (Lincoln, NE, EE.UU. modelo LI-188B).

Durante los primeros 30 días después del trasplante (DDT), cada planta recibió 25 mL de solución nutritiva (24), con el fósforo (P) reducido al 25 %, a fin de evitar la inhibición de la colonización de los HMA. Este volumen de solución nutritiva se aplicó tres veces por semana en días alternos. Los tratamientos testigos (sin estrés hídrico) recibieron los 25 mL de solución nutritiva tres veces por semana. El estrés hídrico moderado consistió en la aplicación de la misma cantidad de nutrientes disueltos en 10 mL de agua. El estrés hídrico intenso, consistió en la aplicación de la misma cantidad de nutrientes disueltos en 5 mL de agua.

Tratamientos:

- T1. plantas MA+25 mL (Testigo)
- T2. plantas MA+10 mL
- T3. plantas MA+5 mL
- T4. plantas noMA+25 mL (Testigo)
- T5. plantas noMA+10 mL
- T6. plantas noMA+5 mL

^AFAO. *Perspectivas de cosechas y situación alimentaria* [en línea], 2010, [Consultado: 4 abril 2015], Disponible en: <www.fao.org/docrep/013/a1972s/a1972s00.pdf>.

Los tratamientos fueron distribuidos siguiendo un diseño completamente aleatorizado. Los datos de cada muestreo fueron sometidos a análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), seguido por la prueba de Duncan para ($p \leq 0,05$) (25).

SUELO Y MATERIAL BIOLÓGICO

El sustrato empleado consistió en una mezcla de suelo procedente de la Estación Experimental del Zaidín, Granada, España, tamizado (2 mm), con arena (<1 mm) y vermiculita, en proporción 1:2:6, suelo, arena y vermiculita (v/v/v). La arena y la vermiculita fueron esterilizadas a 120 °C, durante 20 minutos y el suelo se esterilizó a vapor fluyente (a 100 °C, durante 1 h, tres días consecutivos). El suelo tenía un pH de 8,1 (agua); 1,81 % de materia orgánica y las siguientes concentraciones de nutrientes (mg kg^{-1}): nitrógeno (N) 2,5; fósforo (P) 6,2 ($\text{NaHCO}_3\text{-P}$ extraíble); potasio (K) 132. El hongo micorrízico arbuscular utilizado fue el aislado EEZ 01, perteneciente a la colección de la Estación Experimental del Zaidín, Granada, España.

La evaluación se realizaron después de transcurrido el periodo de estrés hídrico a los 45 DDT y de la recuperación de las plantas (25 días después del estrés) a los 70 DDT, donde se evaluó el potencial hídrico foliar (MPa), el contenido de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (nmol g^{-1} masa seca (MS)), así como el daño oxidativo de membrana, mediante la valoración del malondialdehído (MDA) (nmol g^{-1} MS), el contenido de glutatión reducido (nmol g^{-1} MS), y de ascorbato reducido (nmol g^{-1} MS).

PARÁMETROS MEDIDOS

POTENCIAL HÍDRICO

Se utilizó un sistema integrado por el microvoltímetro HR- 33T, conectado a una cámara psicrométrica C52 (Wescor Inc, Logan, UT, USA), tal como describe Porcel (16). Se tomó un disco de la parte central de la hoja, perteneciente al tercio superior de la planta ($0,0005 \text{ m}^2$ de diámetro) y se colocó en la cámara. Se estabilizó la temperatura y el vapor de agua del disco durante 15 minutos antes de realizar la lectura de potencial hídrico con el microvoltímetro. Se expresó en (MPa).

CONTENIDO DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

El contenido de peróxido de hidrógeno se determinó en las hojas (26), con ligeras modificaciones descritas por otro autor (27) a 508 nm absorbancia en el espectrofotómetro (Hitachi, modelo U-1900, Japón).

DAÑO OXIDATIVO A LÍPIDOS

El daño oxidativo a lípidos se determinó mediante la lectura de la absorbancia a 532 nm y 600 nm (28)

en espectrofotómetro (Hitachi, modelo U-1900, Japón), este parámetro se estimó a partir del contenido de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico y se expresó como equivalentes de MDA (23). La curva de calibración se realizó con MDA, en el rango de 0,1-10 nmol. El blanco para todas las muestras se preparó mediante la sustitución de la muestra por el medio de extracción.

CONTENIDO DE GLUTATIÓN REDUCIDO

El contenido de glutatión se determinó a 412 nm de absorbancia. Se realizó una curva patrón a partir de una solución patrón de glutatión (50 mM) con las siguientes concentraciones: 0, 10, 20, 30, 40 y 50 μM (29).

CONTENIDOS DE ASCORBATO REDUCIDO

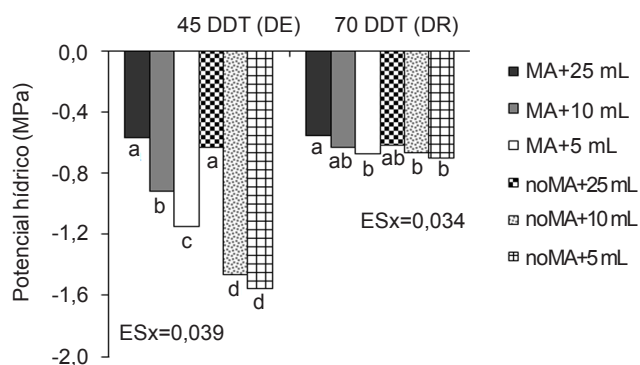
El ascorbato se cuantificó por fotometría (30), tras la reducción de 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP). La absorbancia se midió inmediatamente a 524 nm. El contenido de ascorbato se calculó por referencia a una curva patrón con ácido ascórbico 2 mM con 0; 0,2; 0,3 y 0,4 mM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera parte de este artículo se analizó y discutió la respuesta de las plantas de arroz inoculadas o no y sometidas a diferente intensidad de estrés hídrico, desde el punto de vista fisiológico de la eficiencia fotosintética, porcentaje de colonización simbiótica en la raíz, masa fresca parte aérea y radical, además del contenido de prolina (31).

En la Figura 1, se muestra el potencial hídrico de las plantas MA y noMA sometidas a estrés por un periodo de 15 días (evaluadas a los 45 DDT). Los resultados corroboraron el efecto inducido por un déficit hídrico en las plantas, con potenciales que se hacen más negativos con respecto a los tratamientos testigo que fueron menos negativos (MA+25 mL y noMA+25 mL), sin diferencias significativas entre MA y noMA. Por otra parte, es importante destacar que los potenciales hídricos de los tratamientos MA (10 y 5 mL) fueron menos negativos que los noMA (10 y 5 mL), comportamiento que ha sido informado por otros autores en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) (16, 32), respectivamente.

Después de recuperadas las plantas (70 DDT), el potencial hídrico disminuyó en los tratamientos que fueron sometidos a estrés hídrico, al punto de no encontrarse diferencias entre las plantas MA con 10 mL y el testigo, y a su vez, las plantas regadas con 5 mL y las de 10 mL. En el caso de las plantas noMA, no se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos.



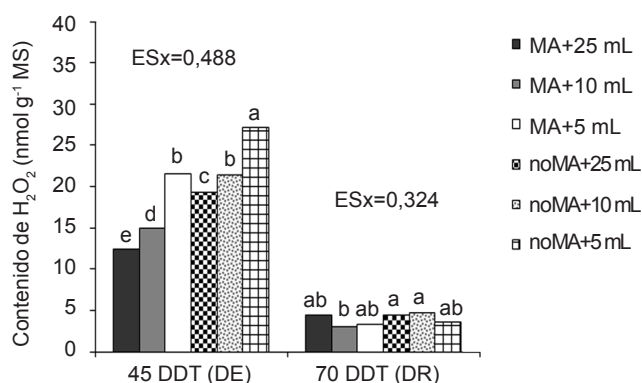
Medias con letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$) según la prueba de Duncan.

Figura 1. Potencial hídrico (MPa) de las plantas de arroz inoculadas o no con el hongo micorrízico arbuscular *Rhizoglyphus intraradices* sometidas a estrés hídrico y evaluadas después del estrés (DE) y de la recuperación (DR).

El incremento o la disminución del potencial hídrico de las plantas están muy relacionados con la presencia de la asociación micorrízica y con el momento en el que se aplicó el estrés hídrico, además de la severidad del mismo. Este comportamiento puede deberse a que las hifas del hongo mejoran este indicador, al igual que la conductividad hidráulica de la raíz, lo cual disminuye la resistencia de esta al paso del agua (7, 8), aspecto que ha sido comprobado en plantas de maíz (*Zea mays*) inoculadas con HMA y expuestas a estrés hídrico (11) y en uva (*Vitis vinifera* L.) (33). El desarrollo de micelio extrarradical permite a las raíces tener un mayor acceso al agua del suelo y aumentar así su hidratación, lo que mejora el metabolismo vegetal, aún en condiciones de estrés ambiental (8, 9, 12).

ACUMULACIÓN DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

A los 45 DDT, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se acumuló en las plantas sometidas a estrés hídrico (Figura 2), especialmente en las plantas noMA y regadas con 5 mL de solución nutritiva (177 % de aumento en comparación con las plantas noMA bien regadas). Por el contrario, en las plantas MA regadas con 5 mL de solución de nutrientes, la acumulación de peróxido de hidrógeno aumentó (85 %) en comparación con las plantas MA bien regadas. En todos los regímenes hídricos, la cantidad de peróxido de hidrógeno acumulado fue mayor en las plantas noMA que en las plantas MA. Cuando las plantas se recuperaron del estrés hídrico durante 25 días adicionales (70 DDT), la cantidad de peróxido de hidrógeno acumulado en la parte aérea de la planta fue bajo y no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.



Medias con letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$) según la prueba de Duncan.

Figura 2. Contenido de peróxido de hidrógeno ($nmol\ g^{-1}\ MS$) en plantas de arroz inoculadas o no con el hongo micorrízico arbuscular *Rhizoglyphus intraradices* sometidas a estrés hídrico y evaluadas después del estrés (DE) y de la recuperación (DR).

La acumulación de H_2O_2 fue mayor en los tratamientos sometidos a sequía, especialmente en las plantas noMA y regadas con 5 mL de solución de nutrientes. Las plantas MA también aumentaron su acumulación de H_2O_2 , pero en menor medida que las plantas noMA. Similar comportamiento se observó en plantas de *Arabidopsis thaliana*, cuando fueron sometidas a estrés por sequía, además de reducir la transpiración y la apertura de los estomas (11, 19).

DAÑO OXIDATIVO A LÍPIDOS

El daño oxidativo a lípidos se midió como la cantidad de peróxidos lipídicos formados en los diferentes tratamientos (Tabla I). Los resultados mostraron claramente que en las plantas MA no aumentó la peroxidación de lípidos después del periodo de sequía (45 DDT). Por el contrario, las plantas noMA sometidas a sequía acumularon más peróxidos lipídicos que las correspondientes plantas MA. Este efecto fue visible incluso en las plantas no sometidas a sequía (un aumento del 97 %), aunque fue más evidente en las plantas sometidas a sequía (un aumento del 116 % en las plantas regadas con 10 mL de solución de nutrientes y de 155 % en las plantas regadas con 5 mL de solución de nutrientes). Después de la recuperación (70 DDT), el nivel de peróxidos lipídicos disminuyó en las plantas noMA, pero se mantuvo con mayor contenido de peróxido que las plantas MA. En ese caso, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos sometidos a estrés.

Tabla I. Daño oxidativo a lípidos (nmol MDA g⁻¹ MS) en plantas de arroz inoculadas con *G. intraradices* sometidas a estrés hídrico a los 30 días después del trasplante (DDT), evaluadas después del estrés hídrico (DE) y de la recuperación (DR).

Tratamientos	Cantidad de peróxidos lipídicos (nmol MDA g ⁻¹ MS)	
	45 DDT (DE)	70 DDT (DR)
MA+25 mL	289,09 e	289,08 d
MA+10 mL	321,16 d	321,15 c
MA+5 mL	313,85 d	313,85 cd
noMA+25 mL	571,40 c	420,91 b
noMA+10 mL	694,18 b	437,97 ab
noMA+5 mL	799,82 a	462,09 a
ES \bar{x}	14,554	9,075

Medias con letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$) según la prueba de Duncan.

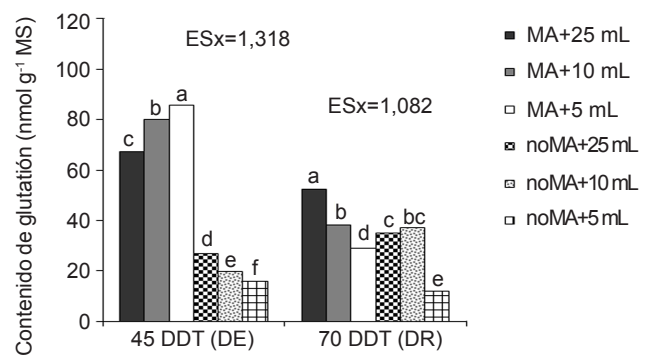
Las plantas de arroz son muy sensibles al estrés oxidativo (34). En consecuencia, la cantidad de peróxidos lipídicos fue cuantificada en la parte aérea de las plantas de arroz en los diferentes tratamientos. La peroxidación lipídica fue menor en las plantas MA tras el periodo de sequía (45 DDT), mientras que las plantas noMA acumularon cantidades importantes de peróxidos lipídicos. Similares resultados se observaron en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) inoculadas con MA, pero bajo condiciones de estrés por salinidad (35).

CONTENIDO DE GLUTATIÓN Y ASCORBATO REDUCIDO

Cuando las plantas fueron sometidas a estrés hídrico durante 15 días (45 DDT), la cantidad de glutatión acumulado fue considerablemente mayor en plantas MA que en plantas noMA (Figura 3).

Este efecto se observó en todos los regímenes de agua, incluyendo los testigos mantenidos con 25 mL de solución de nutrientes (66,73 % de aumento del contenido de glutatión). Sin embargo, las diferencias entre las plantas MA y plantas noMA en la cantidad de glutatión acumulado aumentó cuando la sequía fue más severa, alcanzando el 321,22 % de aumento en las plantas MA regadas con 5 mL de solución de nutrientes en comparación con sus correspondientes plantas noMA. Cuando las plantas se recuperaron de la sequía (70 DDT) el contenido de glutatión continuó siendo más alto en plantas MA que en las plantas noMA, a excepción de las plantas que habían sido previamente regadas con 10 mL de solución de nutrientes.

El glutatión existe con dos formas diferentes, la forma reducida y la forma oxidada; sin embargo, en las plantas el glutatión se mantiene exclusivamente en la forma reducida (36). Este ejerce su función de antioxidante al reaccionar con radicales superóxido, peróxido y oxígeno singlete para la formación de glutatión oxidado (18, 22, 23, 37).



Medias con letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$) según la prueba de Duncan.

Figura 3. Contenido de glutatión (nmol g⁻¹ MS) en plantas de arroz inoculadas o no con el hongo micorrizico arbuscular *Rhizogloium intraradices* sometidas a estrés hídrico y evaluadas después del estrés (DE) y de la recuperación (DR).

En cuanto al contenido de ascorbato (Tabla II), después del periodo de sequía (45 DDT), todos los tratamientos mostraron un alto nivel; sin embargo, las plantas noMA acumularon más ascorbato que las plantas MA. La acumulación de ascorbato disminuyó considerablemente después de la recuperación de la sequía (70 DDT) y, en este estadio no se encontraron diferencias importantes entre los tratamientos.

Tabla II. Contenido de ascorbato reducido (nmol g⁻¹ MS) en plantas de arroz inoculadas con *G. intraradices* sometidas a estrés hídrico a los 30 días después del trasplante (DDT), evaluadas después del estrés hídrico (DE) y de la recuperación (DR).

Tratamientos	Ascorbato reducido (nmol g ⁻¹ MS)	
	45 DDT (DE)	70 DDT (DR)
MA+25 mL	118,71 d	14,81 a
MA+10 mL	115,45 d	7,05 c
MA+5 mL	113,10 d	7,60 c
noMA+25 mL	128,24 c	11,01 b
noMA+10 mL	156,07 a	5,68 d
noMA+5 mL	152,60 b	8,22 c
ES \bar{x}	1,457	0,470

Medias con letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$) según la prueba de Duncan.

Estos resultados nos permiten inferir que las plantas MA muestran una mejora de la tolerancia al estrés, lo cual suele estar relacionado con la mejora del contenido de compuestos antioxidantes en las plantas (Figura 3; Tabla II). Dada la toxicidad de ROS, las plantas necesitan disponer de sistemas adecuados de desintoxicación que permitan la eliminación rápida de estos compuestos. Estos sistemas incluyen varias

enzimas antioxidantes y compuestos no enzimáticos como ascorbato, glutatión, flavonoides, carotenoides y tocoferoles (21, 38). Entre estos compuestos no enzimáticos, glutatión y ascorbato son metabolitos esenciales que regulan las funciones principales de las células y desempeñan un papel fundamental en la defensa antioxidante (22, 23, 39).

El ascorbato es un indicador importante para la desintoxicación reductora del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en las plantas. El peróxido generado directamente o después de la conversión de la superóxido dismutasa es inicialmente degradado a H₂O por peroxidasa de ascorbato utilizando ascorbato como donante de electrones (20, 39, 40).

Bajo estas condiciones, la respuesta antioxidante de la planta ante el estrés hídrico, se activa por diferentes mecanismos, puesto que en las plantas MA se acumula más glutatión a los 45 DDT; sin embargo, en el caso del ascorbato se acumula significativamente más en plantas noMA.

De esta investigación, en sentido general (Parte I y II), se puede concluir que las plantas de arroz se micorrizaron con porcentajes entre 20 y 50 % en condiciones aeróbicas. La micorrización tiene marcada influencia en el crecimiento de las plantas de arroz a largo plazo. La acumulación de prolina aumentó considerablemente, tanto en plantas MA como en plantas noMA, después de ser sometidas a estrés hídrico. En cualquier caso, la cantidad de prolina acumulada fue siempre menor en las plantas MA (31). Las plantas micorrizadas mostraron menor daño oxidativo propiciado por la acumulación del antioxidante glutatión y una tendencia a acumular menos peróxido y daño oxidativo a lípidos después del estrés.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se llevó a cabo en el marco del proyecto MICIN-FEDER AGL2008-00898 de la Estación Experimental del Zaidín, Granada, España y financiado por AECID (Grant MAE-AECID 2008/09 260940).

BIBLIOGRAFÍA

- Mostajeran, A. y Rahimi-Eichi, V. "Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves", *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, vol. 5, no. 2, 2009, pp. 264-272, ISSN 1818-6769.
- Aroca, R.; Porcel, R. y Ruiz-Lozano, J.M. "Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions", *Journal of Experimental Botany*, vol. 63, no. 1, 1 de enero de 2012, pp. 43-57, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/err266, [PMID: 21914658].
- Evenson, R.E. *Rice Research in Asia: Progress and Priorities*, (eds. Herdt, R.W. y Hossain, M.), edit. IRRRI, 1 de enero de 1996, p. 430, ISBN 978-0-85198-997-6.
- Jongdee, B.; Fukai, S. y Cooper, M. "Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice", *Field Crops Research*, vol. 76, no. 2-3, julio de 2002, (ser. Improving Tolerance to Abiotic Stresses in Rainfed Lowland Rice), pp. 153-163, ISSN 0378-4290, DOI 10.1016/S0378-4290(02)00036-9.
- Bernier, J.; Atlin, G.N.; Serraj, R.; Kumar, A. y Spaner, D. "Breeding upland rice for drought resistance", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 88, no. 6, 30 de abril de 2008, pp. 927-939, ISSN 1097-0010, DOI 10.1002/jsfa.3153.
- Ruiz-Lozano, J.M. y Aroca, R. "Host Response to Osmotic Stresses: Stomatal Behaviour and Water Use Efficiency of Arbuscular Mycorrhizal Plants" [en línea], eds. Koltai, H. y Kapulnik, Y., *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, 2.ª ed., edit. Springer Netherlands, 2010, pp. 239-256, ISBN 978-90-481-9488-9, [Consultado: 4 de abril de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9489-6_11>.
- Ruiz-Lozano, J.M.; Porcel, R.; Bárzana, G.; Azcón, R. y Aroca, R. "Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis to Plant Drought Tolerance: State of the Art" [en línea], ed. Aroca, R., *Plant Responses to Drought Stress*, edit. Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 335-362, ISBN 978-3-642-32652-3, [Consultado: 4 de abril de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-32653-0_13>.
- Smith, S.E.; Facelli, E.; Pope, S. y Smith, F.A. "Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas", *Plant and Soil*, vol. 326, no. 1-2, 19 de mayo de 2009, pp. 3-20, ISSN 0032-079X, 1573-5036, DOI 10.1007/s11104-009-9981-5.
- Maiti, D.; Toppo, N.N. y Variar, M. "Integration of crop rotation and arbuscular mycorrhiza (AM) inoculum application for enhancing AM activity to improve phosphorus nutrition and yield of upland rice (*Oryza sativa* L.)", *Mycorrhiza*, vol. 21, no. 8, 30 de marzo de 2011, pp. 659-667, ISSN 0940-6360, 1432-1890, DOI 10.1007/s00572-011-0376-0.
- Smith, S.E. y Smith, F.A. "Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales", *Annual Review of Plant Biology*, vol. 62, no. 1, 2011, pp. 227-250, ISSN 1543-5008, 1545-2123, DOI 10.1146/annurev-arplant-042110-103846, [PMID: 21391813].
- Bárzana, G.; Aroca, R.; Paz, J.A.; Chaumont, F.; Martínez-Ballesta, M.C.; Carvajal, M. y Ruiz-Lozano, J.M. "Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions", *Annals of Botany*, vol. 109, no. 5, 4 de enero de 2012, pp. 1009-1017, ISSN 0305-7364, 1095-8290, DOI 10.1093/aob/mcs007, [PMID: 22294476].
- Vallino, M.; Fiorilli, V. y Bonfante, P. "Rice flooding negatively impacts root branching and arbuscular mycorrhizal colonization, but not fungal viability", *Plant, Cell & Environment*, vol. 37, no. 3, 1 de marzo de 2014, pp. 557-572, ISSN 1365-3040, DOI 10.1111/pce.12177.

13. Aroca, R.; Ruiz-Lozano, J.M.; Zamarreño, Á.M.; Paz, J.A.; García-Mina, J.M.; Pozo, M.J. y López-Ráez, J.A. "Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants", *Journal of Plant Physiology*, vol. 170, no. 1, 1 de enero de 2013, pp. 47-55, ISSN 0176-1617, DOI 10.1016/j.jpplph.2012.08.020.
14. Gutjahr, C. y Parniske, M. "Cell and Developmental Biology of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis", *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, vol. 29, no. 1, 2013, pp. 593-617, DOI 10.1146/annurev-cellbio-101512-122413, [PMID: 24099088].
15. Gol, F.M.; Ashraf, S. y Taj, A.Z. "Effects of two species of mycorrhiza fungi and drought stress on chlorophyll a, b and total of *Ocimum basilicum*", *International Journal of Farming and Allied Sciences*, vol. 3, no. 10, 2014, pp. 1104-1108, ISSN 2322-4134.
16. Porcel, R.; Azcón, R. y Ruiz-Lozano, J.M. "Evaluation of the role of genes encoding for Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) during drought stress in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants", *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 65, no. 4, octubre de 2004, pp. 211-221, ISSN 0885-5765, DOI 10.1016/j.pmpp.2005.02.003.
17. Aroca, R.; Porcel, R. y Ruiz-Lozano, J.M. "Plant drought tolerance enhancement by arbuscular mycorrhizal symbiosis", ed. Fulton, S.M., *Mycorrhizal Fungi: Soil, Agriculture and Environmental Implications*, edit. Nova Science Publishers Inc, New York, 2011, pp. 229-240, ISBN 978-1-61122-659-1.
18. Noctor, G.; Mhamdi, A.; Chaouch, S.; Han, Y.; Neukermans, J.; Marquez-Garcia, B.; Queval, G. y Foyer, C.H. "Glutathione in plants: an integrated overview", *Plant, Cell & Environment*, vol. 35, no. 2, 1 de febrero de 2012, pp. 454-484, ISSN 1365-3040, DOI 10.1111/j.1365-3040.2011.02400.x.
19. Porcel, R.; Aroca, R. y Ruiz-Lozano, J.M. "Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review", *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 32, no. 1, 15 de marzo de 2011, pp. 181-200, ISSN 1774-0746, 1773-0155, DOI 10.1007/s13593-011-0029-x.
20. Gill, S.S. y Tuteja, N. "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants", *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, no. 12, diciembre de 2010, pp. 909-930, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
21. Mahmood, Q.; Ahmad, R.; Kwak, S.-S.; Rashid, A. y Anjum, N.A. "Ascorbate and Glutathione: Protectors of Plants in Oxidative Stress" [en línea], eds. Anjum, N.A., Chan, M.-T., y Umar, S., *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, edit. Springer Netherlands, 2010, pp. 209-229, ISBN 978-90-481-9403-2, [Consultado: 16 de mayo de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9404-9_7>.
22. Scheibe, R. y Beck, E. "Drought, Desiccation, and Oxidative Stress" [en línea], eds. Lüttge, U., Beck, E., y Bartels, D., *Plant Desiccation Tolerance*, edit. Springer Berlin Heidelberg, 2011, (ser. Ecological Studies, no. ser. 215), pp. 209-231, ISBN 978-3-642-19105-3, [Consultado: 16 de mayo de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-19106-0_11>.
23. Suzuki, N.; Koussevitzky, S.; Mittler, R. y Miller, G. "ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress", *Plant, Cell & Environment*, vol. 35, no. 2, 1 de febrero de 2012, pp. 259-270, ISSN 1365-3040, DOI 10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x.
24. Hoagland, D.R. y Arnon, D.I. "The water-culture method for growing plants without soil.", *Circular. California Agricultural Experiment Station*, vol. 347, no. 2, 1950, p. 32, ISSN 0096-0721, CABDirect2.
25. Duncan, D.B. "Multiple Range and Multiple F Tests", *Biometrics*, vol. 11, no. 1, 1 de marzo de 1955, pp. 1-42, ISSN 0006-341X, DOI 10.2307/3001478.
26. Patterson, B.D.; MacRae, E.A. y Ferguson, I.B. "Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV)", *Analytical Biochemistry*, vol. 139, no. 2, junio de 1984, pp. 487-492, ISSN 0003-2697, DOI 10.1016/0003-2697(84)90039-3.
27. Aroca, R.; Irigoyen, J.J. y Sánchez-Díaz, M. "Drought enhances maize chilling tolerance. II. Photosynthetic traits and protective mechanisms against oxidative stress", *Physiologia Plantarum*, vol. 117, no. 4, 1 de abril de 2003, pp. 540-549, ISSN 1399-3054, DOI 10.1034/j.1399-3054.2003.00065.x.
28. Dhindsa, R.S.; Plumb-Dhindsa, P. y Thorpe, T.A. "Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase", *Journal of Experimental Botany*, vol. 32, no. 1, 2 de enero de 1981, pp. 93-101, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/32.1.93.
29. Smith, S.E. y Read, D. *Mycorrhizal Symbiosis* [en línea], 3.ª ed., edit. Academic Press, London, 2008, p. 800, ISBN 978-0-12-370526-6, [Consultado: 4 de abril de 2015], Disponible en: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123705266500210>>.
30. Leipner, J.; Fracheboud, Y. y Stamp, P. "Acclimation by suboptimal growth temperature diminishes photooxidative damage in maize leaves", *Plant, Cell & Environment*, vol. 20, no. 3, 1 de marzo de 1997, pp. 366-372, ISSN 1365-3040, DOI 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-76.x.
31. Ruiz Sánchez, M.; Polón Pérez, R.; Vázquez Del Llano, B.; Muñoz Hernández, Y.; Cuéllar Olivero, N. y Ruiz-Lozano, J.M. "La simbiosis micorrizica arbuscular en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estrés hídrico: Parte I. Mejora la respuesta fisiológica", *Cultivos Tropicales*, vol. 33, no. 4, diciembre de 2012, pp. 47-52, ISSN 0258-5936.
32. Mujica Pérez, Y. y Batlle Sales, J. "Funcionamiento de la inoculación líquida con hongos micorrizicos arbusculares (HMA) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)", *Cultivos Tropicales*, vol. 34, no. 4, diciembre de 2013, pp. 5-8, ISSN 0258-5936.
33. Vandeleur, R.K.; Sullivan, W.; Athman, A.; Jordans, C.; Gilliam, M.; Kaiser, B.N. y Tyerman, S.D. "Rapid shoot-to-root signalling regulates root hydraulic conductance via aquaporins", *Plant, Cell & Environment*, vol. 37, no. 2, 1 de febrero de 2014, pp. 520-538, ISSN 1365-3040, DOI 10.1111/pce.12175.

34. Volkov, R.A.; Panchuk, I.I.; Mullineaux, P.M. y Schöffl, F. "Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis", *Plant Molecular Biology*, vol. 61, no. 4-5, 1 de julio de 2006, pp. 733-746, ISSN 0167-4412, 1573-5028, DOI 10.1007/s11103-006-0045-4.
35. Maheshwari, R. y Dubey, R.S. "Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings", *Plant Growth Regulation*, vol. 59, no. 1, 26 de mayo de 2009, pp. 37-49, ISSN 0167-6903, 1573-5087, DOI 10.1007/s10725-009-9386-8.
36. Zhong, H.; Chao, H.; Zhi, Z. y Huai, W. "Changes in antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress", *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, vol. 59, 2007, pp. 128-33, ISSN 0927-7765.
37. Ding, S.; Lu, Q.; Zhang, Y.; Yang, Z.; Wen, X.; Zhang, L. y Lu, C. "Enhanced sensitivity to oxidative stress in transgenic tobacco plants with decreased glutathione reductase activity leads to a decrease in ascorbate pool and ascorbate redox state", *Plant Molecular Biology*, vol. 69, no. 5, 29 de noviembre de 2008, pp. 577-592, ISSN 0167-4412, 1573-5028, DOI 10.1007/s11103-008-9440-3.
38. Latowski, D.; Surówka, E. y Strzałka, K. "Regulatory Role of Components of Ascorbate–Glutathione Pathway in Plant Stress Tolerance" [en línea], eds. Anjum, N.A., Chan, M.-T., y Umar, S., *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, edit. Springer Netherlands, 2010, pp. 1-53, ISBN 978-90-481-9403-2, [Consultado: 4 de abril de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9404-9_1>.
39. Jubany-Marí, T.; Munné-Bosch, S. y Alegre, L. "Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate", *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, no. 5, mayo de 2010, (ser. Antioxidants and redox regulation in plants), pp. 351-358, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2010.01.021.
40. Sofo, A.; Cicco, N.; Paraggio, M. y Scopa, A. "Regulation of the Ascorbate–Glutathione Cycle in Plants Under Drought Stress" [en línea], eds. Anjum, N.A., Chan, M.-T., y Umar, S., *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, edit. Springer Netherlands, 2010, pp. 137-189, ISBN 978-90-481-9403-2, [Consultado: 4 de abril de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9404-9_5>.

Recibido: 26 de junio de 2014

Aceptado: 19 de diciembre de 2014

¿Cómo citar?

Ruiz-Sánchez, Michel; Geadá, Déborah; Muñoz Hernández, Yaumara; Martínez, Alexis; Santana, Yoerlandy; Benítez, Mileisy; Aroca, Ricardo y Ruiz Lozano, Juan M. La simbiosis micorrízica arbuscular en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estrés hídrico. Parte II: Respuesta bioquímica. [en línea]. *CultivosTropicales*, 2015, vol. 36, no. 3, pp. 88-95. ISSN 1819-4087. [Consultado: ____]. Disponible en: <-----/>.