



## ARTÍCULO REVISIÓN

## Envejecimiento acelerado de las semillas de arroz: su relación con la germinación, la generación de estrés oxidativo y la resistencia al deterioro

*Accelerated aging of rice seeds: its relationship with germination, generation of oxidative stress and resistance to deterioration*

Claudia Sánchez-Luaces <sup>1</sup> , Rosa Rodés <sup>2</sup> , Patricia Ortega-Rodés <sup>3</sup> , Loiret FG <sup>4\*</sup> 

### RESUMEN

1: Lab. Fisiología Vegetal,  
Departamento Biología Animal y  
Humana Facultad de Biología,  
Universidad de La Habana.  
cslu4ces@gmail.com

2,3,4: Lab. Fisiología Vegetal,  
Departamento Biología Vegetal,  
Facultad de Biología, Universidad  
de La Habana. rrodes@fq.uh.cu;  
portega@fq.uh.cu; loiret@fq.uh.cu

\*Autor para correspondencia:  
loiret@fq.uh.cu

El envejecimiento es un atributo no deseable de la semilla de arroz en el ámbito de la productividad, pues no solo afecta el rendimiento agrícola, sino también, la venta de semillas y los programas de cultivo. Sus efectos se evalúan periódicamente a través del porcentaje de germinación de los lotes de semillas. Sin embargo, resulta un proceso que consume tiempo de investigación, debido a que las semillas de arroz pueden mantener su viabilidad aproximadamente por un año. Como alternativa, se han desarrollado procedimientos que lo aceleran de forma artificial. Los factores que se emplean para acelerar el deterioro en muchas ocasiones coinciden con condiciones de almacenamiento no adecuadas, debido a lo cual resulta útil y oportuno este procedimiento para estudiar el envejecimiento de las semillas. Aunque la industria biotecnológica ha ampliado la gama de variedades que muestran diferencias en cuanto a la resistencia al deterioro, el envejecimiento continúa siendo un proceso impredecible, inherente a las semillas y que ocurre aún en condiciones de almacenamiento adecuadas. En esta revisión se compila información acerca de las características del envejecimiento acelerado de las semillas de arroz. Se propone en tres epígrafes 1) caracterizar la germinación de variedades de arroz en condiciones de envejecimiento acelerado, 2) describir los mecanismos que generan ROS en la semilla y su asociación con el proceso de envejecimiento acelerado, 3) comparar las características de la resistencia al envejecimiento entre variedades de arroz. Esta revisión brinda actualidad sobre la tríada que garantiza la homeostasis de la semilla: los generadores de especies reactivas del oxígeno, la defensa antioxidante y los mecanismos de reparación del ADN y de recuperación de la funcionalidad de proteínas.

**Palabras clave:** mitocondria, lipoxigenasas, semilla ortodoxa, especies reactivas del oxígeno, sistema antioxidante enzimático

Recibido: 2025-01-13

Aceptado: 2025-08-07

## ABSTRACT

*Aging is an undesirable attribute of rice seed in the field of productivity, since it not only affects agricultural yield due to the decrease in its quality and vigor, but also the sale of seeds and cultivation programs. Its effects are often evaluated through the germination percentage of the seed lots. However, it is a time-consuming process in research, as rice seeds can maintain their viability for approximately one year. Alternatively, procedures have been developed that artificially accelerate aging. The factors used to induce deterioration often resemble suboptimal storage conditions, making this procedure a practical and timely approach for studying seed aging. Although the development of the biotechnology industry has expanded the range of varieties that show differences in resistance to deterioration, aging continues to be an unpredictable process, inherent to seeds and that occurs even under adequate storage conditions. This review compiles information on the characteristics of accelerated aging in rice seeds. This review is structured into three sections: (1) to characterize the germination of rice varieties under accelerated aging conditions; (2) to describe the mechanisms responsible for the generation of reactive oxygen species (ROS) in seeds and their association with the accelerated aging process; and (3) to compare the traits related to aging resistance. This review provides an updated perspective on the triad that ensures seed homeostasis: the generators of reactive oxygen species, the antioxidant defense system, and the mechanisms involved in DNA repair and the restoration of protein functionality.*

**Keywords:** mitochondria, lipoxygenase, orthodox seed, reactive oxygen species, enzymatic antioxidant system

## INTRODUCCIÓN

Los cereales aportan nutrientes vitales a la dieta humana y, como parte del mundo moderno, su producción se ha industrializado, de ahí que formen parte de los alimentos básicos en los programas de seguridad alimentaria. De ellos, el arroz es el segundo cereal más consumido en el mundo y se estima que en los próximos 30 años aumente su demanda según lo haga la densidad poblacional (FAO, 2008). Las semillas de arroz pueden ser almacenadas largos periodos y aun así conservar su viabilidad (Arc *et al.*, 2011). Esta propiedad le agrega valor en la industria, pues contribuye a establecer ciclos de cultivo sistemáticos (FAO, 2008). Sin embargo, el envejecimiento es un proceso que depende del tiempo y las condiciones de almacenamiento (Hu *et al.*, 2009) y afecta no sólo el rendimiento, sino también, los programas de cultivo y la venta de semillas (Chhabra *et al.*, 2019).

El envejecimiento es un proceso fisiológico en el que se acumulan daños estructurales y metabólicos que afectan la integridad funcional de las semillas, lo cual se manifiesta a través de una pérdida progresiva de su calidad, vigor y viabilidad. En la actualidad se plantea que este proceso es consecuencia del desacople entre los generadores de especies reactivas del oxígeno (ROS, en inglés *reactive oxygen species*), la defensa antioxidante y los mecanismos que permiten la reparación del ADN (Yin *et al.*, 2016) así como la recuperación de la estabilidad y función de las

proteínas (Yin *et al.*, 2014; Petla *et al.*, 2016). El estrés oxidativo resultante conlleva a la ruptura de las membranas de los organelos y consecuentemente a la liberación de factores apoptogénicos al citosol, debido a lo cual se activa de forma irreversible la muerte celular. En la medida que una semilla envejece, la muerte de las células de su embrión deja de ser un proceso selectivo como ocurre durante el desarrollo embrionario (El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2011; Domínguez y Cejudo, 2014). De ahí que disminuya la probabilidad de su germinación y del posterior desarrollo de un individuo viable.

La dinámica de envejecimiento natural de las semillas de arroz no siempre resulta conocida para el investigador, ya que frecuentemente se realizan cruzamientos entre variedades con el fin de seleccionar características de interés para el consumo o para el cultivo. Las semillas de arroz pueden conservar su viabilidad aproximadamente un año, de ahí que cuando no se conoce la dinámica de envejecimiento, el estudio de este proceso, consume mucho tiempo de investigación. Como alternativa se han desarrollado procedimientos que aceleran de manera experimental el deterioro de las semillas exponiéndolas a entornos de altas temperatura (T) o humedad relativa (HR). La aceleración del envejecimiento ha permitido identificar en poco tiempo comportamientos de interés investigativo y, además, evaluar sus efectos sobre el desarrollo

posterior de la planta. Sin embargo, los mecanismos fisiológicos que lo explican no pueden considerarse homólogos a los que se generan durante el envejecimiento natural (Rajjou *et al.*, 2008). A pesar de esta limitación, en países tropicales y subtropicales con T y HR media anual altas durante la mayor parte del año, es probable que los mecanismos de deterioro en condiciones de almacenamiento sean similares a los del envejecimiento artificial y resulte, además de útil este proceder, oportuno.

El proceso de envejecimiento es inherente a todas las semillas y en particular a la semilla de arroz. En la actualidad, continúa siendo un proceso impredecible que ocurre aún en condiciones óptimas de almacenamiento. Por otro lado, en la medida que ha incrementado el número de variedades la resistencia al deterioro se muestra más heterogénea. De ahí que en esta revisión realizamos una compilación de evidencias científicas acerca de la temática con el objetivo de dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿cuáles son las características que posee el envejecimiento acelerado de las semillas de arroz? Para responder esta pregunta, caracterizamos la germinación del arroz en condiciones de envejecimiento acelerado, teniendo en cuenta las respuestas de diferentes cultivares. Además, describimos los mecanismos que generan ROS en la semilla y su asociación con el proceso de envejecimiento acelerado. Finalmente comparamos las características de la resistencia al envejecimiento.

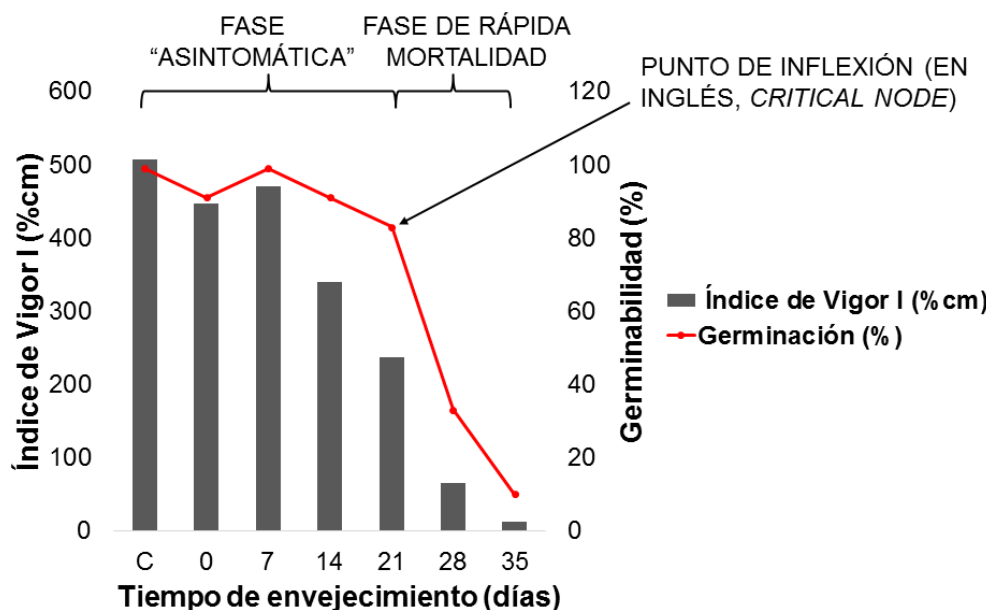
### GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ARROZ ENVEJECIDAS ACELERADAMENTE

En la actualidad, es un hecho bien establecido que el deterioro acelerado de las semillas de arroz depende del tiempo y las condiciones de almacenamiento. A medida que aumenta el tiempo de almacenamiento en condiciones no adecuadas, es más probable que las semillas presenten menor viabilidad, estén contaminadas y que el desarrollo de sus plántulas sea anómalo (Pérez-Bernal *et al.*, 2013). Aunque el envejecimiento se manifiesta individualmente en una semilla, sus efectos se evalúan sobre un grupo de semillas que pertenecen al mismo lote de conservación o de cosecha. Para monitorear este proceso se ha empleado tradicionalmente el porcentaje de germinación. La disminución de este indicador durante el tiempo de envejecimiento sigue

una dinámica sigmoidea en la que se diferencian dos fases, una denominada “asintomática” y una fase de rápida mortalidad (Walters *et al.*, 2010). Durante la fase “asintomática”, el porcentaje de germinación disminuye lentamente; sin embargo, las semillas pierden vigor significativamente (Kapoor *et al.*, 2011). El vigor no sólo tiene en cuenta la germinación sino también el desarrollo de la plántula posterior a la proyección de la radícula. De ahí que, colocamos comillas al nombre de esta fase, pues el porcentaje de germinación no es capaz de reflejar, por sí solo, el deterioro acumulado en etapas tempranas. Una característica de las semillas envejecidas de esta fase es que el deterioro acumulado puede ser reversible, lo cual ha sido demostrado en la recuperación de indicadores de germinación cuando se exponen a tratamientos antioxidantes (Xu, *et al.*, 2020). Por tanto, la fase “asintomática” es una fase de resistencia al envejecimiento y sugerimos que su duración pudiera ser un indicador complementario a la germinación de la calidad de las semillas.

La pérdida de la viabilidad comienza en el punto de inflexión de la curva de envejecimiento acelerado (en inglés, *critical node*), el cual aparece cuando el promedio de la germinación de semillas que han sido expuestas a condiciones de altas temperatura y humedad relativa es aproximadamente del 85 % (Yin *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019). El punto de inflexión, constituye un límite fisiológico en el cual la acumulación de daños estructurales y funcionales va comprometiendo progresivamente la viabilidad de las semillas más resistentes de un lote. La pendiente de la inflexión, así como la duración de las fases, “asintomática” y de rápida mortalidad, dependen de la variedad de arroz (Kapoor *et al.*, 2011; Ayala *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2018) y no pueden ser predichos teniendo en cuenta el porcentaje de germinación inicial o del lote sin envejecer (ver Tabla 1) (Kapoor *et al.*, 2011; Bijanzadeh *et al.*, 2017; Adesanya *et al.*, 2018), de ahí que cada variedad tiene una capacidad intrínseca de responder al deterioro.

Para evaluar los efectos del envejecimiento acelerado sobre la germinación, semillas de arroz del cv. Perla de Cuba fueron colocadas en el interior de una cámara cerrada a una T de 40°C y a una HR de 75 %. Cada 7 días fueron puestas a germinar 25 semillas en 4 placas Petri. Se evaluaron, el porcentaje de semillas germinadas respecto al total de semillas



**Figura 1.** Índice de vigor y germinación en porcentaje evaluados cada 7 días durante 35 días en semillas del cultivar Perla de Cuba expuestas a condiciones de envejecimiento acelerado. Se señalan las fases “asintomática” y de rápida mortalidad, así como el punto de inflexión. El vigor fue calculado como el producto del porcentaje de germinación y la sumatoria de las longitudes de la parte aérea y la radícula. N=4. C: control (semillas no envejecidas); 0: tiempo en el que se evaluaron los parámetros de germinación de semillas que estuvieron tres días expuestas a valores de alta humedad relativa y baja temperatura (T=8°C y HR=75 %); 7, 14, 21, 28 y 35: tiempo en el cual se evaluaron los parámetros de germinación de semillas que estuvieron expuestas a valores de altas humedad relativa y temperatura (T=40°C y HR=80 %).

**Figure 1. En Ingles .** Vigor index and percentage of germination evaluated every 7 days for 35 days in seeds of the rice cultivar “Perla de Cuba” exposed to accelerated aging conditions. The “asymptomatic” phase and the rapid mortality phase, as well as the critical node, are indicated. Vigor was calculated as de product of germination percentage and sum of shoot and radicle length. N=4. C: control (non-aged seeds); 0: time at which the germination parameters of seeds exposed for three days to high relative humidity and low temperature (T=8°C and RH=75%) were evaluated; 7, 14, 21, 28, and 35: time at which the germination parameters of seeds exposed to high relative humidity and temperature (T=40°C and RH=80%) were evaluated.

puestas en imbibición durante 96 h y el índice de vigor I, cuyas variables primarias igualmente fueron registradas a las 96 h. Ambos indicadores de la germinación fueron expresados como el promedio de las evaluaciones realizadas en las 4 placas de germinación.

En la figura 1 se muestra el porcentaje de germinación de semillas del cv. Perla de Cuba envejecidas artificialmente durante 35 días. El punto de inflexión aparece en las semillas envejecidas 21 días cuando poseen un 83 % de germinación. En la figura 1 también se muestra que la fase “asintomática” posee mayor duración que la fase de rápida mortalidad.

Además, la disminución del vigor ocurre durante la fase “asintomática” de forma más temprana que la del porcentaje de germinación. De acuerdo a estos resultados sugerimos que los efectos del envejecimiento deben ser analizados a través de indicadores que ofrezcan información complementaria a la germinación en porcentaje, lo cual podría enriquecer la interpretación del fenómeno y permitiría detectar diferencias en la calidad de los lotes que se comparen.

La dinámica de envejecimiento de las semillas de las variedades de arroz depende, además, de las condiciones empleadas para acelerarlo (ver Tabla 1).

Del grupo de factores que aumentan la probabilidad de deterioro, la HR y la T, son de los más estudiados, pues afectan considerablemente la germinación (Kapoor *et al.*, 2011; Bijanzadeh *et al.*, 2017; Adesanya *et al.*, 2018). Se conoce que la temperatura cataliza la velocidad de las reacciones biológicas, el transporte mediado, la difusión y puede estar asociada a la desnaturalización de las proteínas. Los altos valores de HR pueden conducir a cambios en el contenido de humedad de las semillas (Ellis *et al.*, 1992), específicamente en las de arroz el contenido de humedad puede variar con mayor facilidad debido a sus dimensiones físicas. Además, estas variaciones aumentan en la medida que lo hace la T (Kong *et al.*, 2014). De ambos factores, se considera que la HR puede generar daños más severos, pues el aumento del 1 % en el contenido de humedad de las semillas, acorta a la mitad su tiempo de vida (Chhabra *et al.*, 2019).

La Tabla 1 ejemplifica las diferencias entre variedades de arroz bajo tratamientos de envejecimiento acelerado. Se muestran las variedades de arroz analizadas, el porcentaje de germinación que poseen las semillas sin envejecer, el tiempo y las condiciones de envejecimiento, la referencia bibliográfica, así como indicadores calculados a partir de datos extraídos de los artículos correspondientes. Estos últimos son: la disminución de la germinabilidad,

la coordenada temporal del punto de inflexión, y la velocidad de cambio de la germinación. A continuación, se presentan las expresiones matemáticas empleadas para su cálculo.

En la Tabla 1 se muestra que *Oryza sativa* L. cv. wanhua no.11, variedad expuesta solo a altas temperaturas, demoró 17 meses en disminuir aproximadamente un 98 % su germinación inicial y su velocidad de cambio o pérdida de la germinación en el punto de inflexión fue la menor de las variedades. En contraste, el resto de las semillas de las variedades mostradas en la Tabla 1, perdieron entre un 50 y un 90 % de su germinación en condiciones de envejecimiento acelerado, lo cual no excedió en ninguno de los casos los 14 días. Por tanto, el empleo combinado de altas temperatura y HR, induce el deterioro de las semillas en un periodo más corto. Es posible que la severidad de las afectaciones que se producen en las semillas dependa de la condición a la que se expongan. También se puede observar que, aunque las variedades sometidas a 120 h de envejecimiento artificial poseen una germinación superior al 85 %, tanto la disminución de la germinabilidad como la velocidad de cambio de la germinación en el punto de inflexión, resultan heterogéneas.

$$DG (\%) = \frac{(\% \text{ de germinación}_{control} - \% \text{ de germinación}_{t=TEE})}{\% \text{ de germinación}_{control}} * 100$$

DG: disminución de la germinabilidad; TEE: tiempo de envejecimiento evaluado

$$VG (\%h^{-1}) = \frac{\% \text{ de germinación}_{pi+1} - \% \text{ de germinación}_{pi}}{Tiempo_{pi+1} - Tiempo_{pi}}$$

VG: velocidad de la germinación; pi: coordenada correspondiente al punto de inflexión

pi + 1: indica la coordenada siguiente a la del punto de inflexión

Cuando la germinación en el punto de inflexión no coincidió con el  $85 \pm 5$  %, se escogieron las dos coordenadas más cercanas y se promediaron para estimar su valor.

**GENERADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LAS SEMILLAS DE VARIEDADES DE ARROZ DURANTE SU ENVEJECIMIENTO ACELERADO**

Aunque las ROS juegan múltiples roles en la semilla (Bailly, 2019), su acumulación es una característica típica del envejecimiento. Durante el deterioro de semillas de arroz, han sido poco monitoreadas; sin

embargo, se ha comprobado que el contenido de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), de radicales superóxido (•O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Yin *et al.*, 2014), así como de radicales hidroxilo (•OH) (Bhattacharjee, 2013; Liu *et al.*, 2019) se asocian a la disminución del porcentaje de germinación. La pérdida de la germinación muestra una relación más fuerte con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aunque en presencia de altas temperaturas tanto los radicales •O<sub>2</sub><sup>-</sup> como los

**Tabla 1.** Características de la germinación de semillas de variedades de arroz durante su envejecimiento acelerado.

**Table 1.** Characteristics of rice seed germination from different varieties during accelerated aging .

Cultivares	G <sub>0</sub> (%)	DG (%)	PI	VG (% h <sup>-1</sup> )	TEE	Condiciones de envejecimiento	Referencia bibliográfica
Fajr	89,6	55,25	0 h-24h	-0,47	120 h	T: 45 °C HR: 100 %	(Bijan-zadeh <i>et al.</i> , 2017)
Tarom	91,2	57,02		-0,65			
Neda	93,3	39,66		-0,35			
Shafagh	90,1	66,26		-0,46			
Khazar	91,3	37,46		-0,29			
Shiroudi	94,1	66,84		-0,55			
Nemat	90,3	67		-0,70			
Lenjan	87,1	75,55		-1,13			
viz. Pusa-1	90	57,78	0 h	Nd	96 h	T: 45 °C HR: 100 %	(Kapoor <i>et al.</i> , 2011)
Sugandha-4	80	50,5					
Sugandha-5	90	50,33					
Saket-4	85	51,52					
Saket-370	80	45,25					
wanhua no.11	99	97,98	1-9 meses	-0,006	17 meses	T: 50 °C	(Yin <i>et al.</i> , 2014)
<i>Oryza sativa</i> L. japonica. Nipponbare	99	19,19	4 días	Nd	4 días	T: 40 °C HR: 75 %	(Chen <i>et al.</i> , 2019)
<i>Oryza sativa</i> L. japonica. Nipponbare	97	91,75	4 días	-0,14	14 días	T: 40 °C HR: 75 %	(Yin <i>et al.</i> , 2016)

**Nota.** G<sub>0</sub>: Germinación de semillas sin envejecer, PI: punto de inflexión, DG: disminución de la germinabilidad, VG: velocidad de la germinación, TEE: tiempo de envejecimiento evaluado, Nd: no existen datos suficientes. Los datos primarios fueron extraídos de los artículos correspondientes.

G<sub>0</sub>: Germination of non-aged seed. PI: critical node, DG: Decrease in germinability, VG: germination rate, TEE: evaluated aging time, Nd: there is not enough data. The primary data were extracted from the corresponding articles.

radicales  $\bullet\text{OH}$ , se generan con rapidez (Liu *et al.*, 2019). El éxito de la germinación de cada variedad depende, entre otros factores, de la adecuada regulación del contenido de estas especies y la capacidad de reparar los daños que ocasionan.

Las ROS pueden ser generadas por vía enzimática y no enzimática. La vía no enzimática comprende una serie de reacciones químicas que tienen como precursor el radical  $\bullet\text{O}_2^-$ . Cuando el radical  $\bullet\text{O}_2^-$  reacciona con el  $\text{H}_2\text{O}_2$  produce  $\bullet\text{OH}$ , en la reacción descrita como reacción de Haber–Weiss (Corrales y Muñoz, 2012). Además, puede reaccionar con el óxido nítrico (NO) y formar peroxinitritos (ONOO<sup>-</sup>), los cuales ocasionan daños irreversibles en las semillas (Jardim-Messeder *et al.*, 2015). Aunque puede esperarse que la oxidación generada por los peroxinitritos sobre las estructuras celulares en semillas de arroz sea similar al resto de las semillas ortodoxas, no se encontraron evidencias de estudios al respecto.

La generación de ROS en semillas de arroz, también puede ocurrir a través de otros tres procesos: la actividad parcial del sistema enzimático antioxidante, en la que la dismutación del radical  $\bullet\text{O}_2^-$  produce  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Yin *et al.*, 2014), la actividad respiratoria de la mitocondria (Yin *et al.*, 2016) y la actividad de algunas isoformas de lipoxigenasas (Xu *et al.*, 2015). Las mitocondrias y las lipoxigenasas son susceptibles a los cambios en el contenido de humedad, el cual tiende a aumentar en condiciones de altas HR y T. El aumento del contenido de humedad probablemente conduce a la maduración temprana de la mitocondria (Yin *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019) y además induce la activación de algunas isoformas de las lipoxigenasas (Xu *et al.*, 2015). Los cambios en el contenido de humedad regulan la difusión y la actividad metabólica. En algunas variedades de arroz, las semillas envejecidas tienden a aumentar su contenido de humedad más de dos veces su valor inicial (Kapoor *et al.*, 2011), debido a lo cual tanto las mitocondrias como las lipoxigenasas son dos generadores de ROS de interés en el estudio del envejecimiento acelerado de las semillas de arroz.

### ACTIVIDAD RESPIRATORIA DE LA MITOCONDRIA Y ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Varios estudios han demostrado que, en etapas tempranas de la germinación, aumenta el consumo de oxígeno (Howell *et al.*, 2006; Han y Yang, 2015).

Teniendo en cuenta este resultado, se puede inferir que la actividad mitocondrial es desencadenada por la imbibición de la semilla, y que la fosforilación oxidativa es el proceso mediante el cual se obtiene energía para la germinación, pues las semillas carecen de cloroplastos funcionales (Han y Yang, 2015). Actualmente se considera a la mitocondria como fuente importante de estrés oxidativo durante el envejecimiento acelerado (Jardim-Messeder *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2019), y a sus componentes estructurales, dianas para la oxidación. Su disfunción ha sido fuertemente asociada al comienzo de la rápida disminución de la germinación durante el envejecimiento acelerado (Yin *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019).

Las mitocondrias en estado deshidratado, no son funcionales o se encuentran inmaduras y se les denomina promitocondrias. La imbibición es un proceso crítico para su maduración, la cual ocurre en una secuencia de eventos ordenados. Dentro de estos eventos, el metabolismo energético es totalmente funcional de forma tardía. Se ha observado que solo pasadas las 48 h de imbibición ocurre un aumento en el contenido de transcriptos de los componentes de la cadena de transporte de electrones (CTE, en inglés *electron transport chain*) y del ciclo de los ácidos tricarbónicos (CAT) (Howell *et al.*, 2006). La CTE de una mitocondria madura en semillas de arroz posee los cinco complejos y, además, otros componentes como las NADH deshidrogenasas alternativas y las proteínas UCP-1 (en inglés, *uncoupling proteins*). Las UCP, son proteínas integrales de membrana que aumentan su permeabilidad en las mitocondrias. Se conoce, además, que la mitocondria cuenta con proteínas transportadoras en sus membranas, externa, como los canales TOM40 e interna, como las proteínas de la familia TIM. Estas proteínas permiten la incorporación de aquellos componentes de la mitocondria que son sintetizados en el citoplasma. Se han encontrado evidencias sobre la movilización de compuestos de la mitocondria bajo condiciones de envejecimiento acelerado, aun cuando las semillas no han germinado (Zhang *et al.*, 2016), de ahí que se sugiera la activación prematura de este organelo en entornos de alta HR (Chen *et al.*, 2019). Otras evidencias muestran que las deshidrogenasas alternativas están activas desde etapas muy tempranas de la imbibición, aproximadamente a las 2

horas (Howell *et al.*, 2006), por tanto, son muy sensibles a los cambios en el contenido de agua de la semilla. Probablemente participen en el flujo de electrones cuando los niveles de NADH son muy bajos, pues poseen un mecanismo de oxidación del NADH más simple que el complejo I.

Durante el envejecimiento, la mitocondria manifiesta diferentes modificaciones hasta perder completamente su integridad estructural (Yin *et al.*, 2016) y funcional (Ebene *et al.*, 2019). La potenciación de la vía fermentativa para la producción de ATP y el aumento de las enzimas glicolíticas, son indicadores de su deterioro (Zhang *et al.*, 2016). A esta evidencia sumamos, la disminución de la capacidad de consumir oxígeno (Yin *et al.*, 2016).

La CTE ha sido, de los componentes de este organelo, uno de los más estudiados en el proceso de envejecimiento y sus modificaciones han resultado semejantes a las que se manifiestan en condiciones de estrés (Sako *et al.*, 2020). Durante el deterioro de las semillas de arroz, en las mitocondrias aumentan los niveles de transcripto de las proteínas de la vía alternativa de la CTE, específicamente de las NADH deshidrogenasas alternativas, las proteínas UCP y la oxidasa alternativa (Yin *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019). El flujo de electrones por las vías alternativas y el aumento de la permeabilidad de la membrana, debido a la acumulación de las proteínas UCP (UCP-1 y UCP-2) (Yin *et al.*, 2016), son modificaciones que disminuyen el gradiente químico de protones que emplea la ATP sintasa y como consecuencia disminuye la síntesis de ATP.

El complejo I NADH deshidrogenasa constituye el inicio de la CTE de las mitocondrias y en arroz, está formado por un conjunto de proteínas que se pueden agrupar funcionalmente en 3 subunidades y 2 dominios (Li *et al.*, 2014; Yin y *ol.*, 2016; Hu *et al.*, 2018; Chen y *col.*, 2019). La subunidad N oxida el NADH y para ello, las proteínas que lo componen poseen elementos metálicos como azufre y hierro, que funcionan como aceptores de electrones (Chen *et al.*, 2019). A su vez, la subunidad Q, puede ser fuente de radicales superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ). Durante el envejecimiento, existe un desbalance entre la oxidación de NADH y de dioxígeno, contribuyendo a la acumulación de ROS. Son variadas las preguntas de investigación que se pueden generar debido a la

ausencia de información sobre la relación entre este complejo y el proceso de envejecimiento en semillas de arroz, por ejemplo: ¿Qué relación existe entre el deterioro del complejo I y el resto de los complejos de la CTE, principalmente la oxidasa alternativa? ¿Es el contenido del radical  $\bullet\text{O}_2^-$ , del NADH, o la proporción entre ellos, la señal que indica al núcleo el deterioro del complejo I e induce la expresión e inserción de las proteínas alternativas de la CTE en la membrana interna de la mitocondria? ¿Qué relación existe entre el contenido de ROS y este complejo? Para estudiar este tipo de relaciones, se podría sugerir la inhibición del complejo I o de algunos de sus componentes, a través del empleo de compuestos como el FSL0260 y otros comúnmente usados como la rotenona, la piericidina A, etc. (Sako *et al.*, 2020), así como la utilización de líneas mutantes (Kühn *et al.*, 2011). Consideramos que el complejo I constituye un objeto de estudio importante en la fisiología del envejecimiento de semillas de arroz, pues la expresión de su dominio GLDH está asociada a la del citocromo c y relaciona el sistema antioxidante no enzimático con la CTE (Chen *et al.*, 2019), además de ser el inicio de la vía por la que fluyen los electrones en la CTE.

Otros componentes de la cadena respiratoria también se modifican durante el envejecimiento. Tiende a disminuir la actividad de la proteína citocromo oxidasa. También disminuye el contenido de transcripto de la subunidad beta de la ATP sintasa (Fo), así como su ensamblaje con la subunidad F<sub>1</sub> y el contenido de citocromo c (Yin *et al.*, 2016). Otros estudios han demostrado que la ausencia de la oxidasa alternativa implica una fase de rápida mortalidad más temprana y severa (Ji *et al.*, 2023). Por tanto, en la medida que aumenta el contenido de ROS, ambas vías por las que fluyen los electrones de la cadena de transporte van perdiendo su funcionalidad. El metabolismo energético, ante estas deficiencias, cambia hacia la obtención de ATP por vía fermentativa. Como consecuencia, la disponibilidad de ATP disminuye en la medida que se acumula etanol (Zhang *et al.*, 2016), el cual, a su vez, puede ser precursor de ROS. Dichos eventos, junto al estrés oxidativo (Yin *et al.*, 2014), disminuyen el éxito de la germinación.

Se conoce que, durante la imbibición de la semilla, la activación del metabolismo energético en la mitocondria también es fuente de ROS. De manera

general, durante el proceso de oxidación-reducción que ocurre en la CTE activa, la ubiquinona transita por un estado parcialmente reducido (ubisemiquinona), que al entrar en contacto con el dioxígeno puede formar radicales  $\bullet\text{O}_2^-$  (Corrales y Nuñez, 2012). La ubiquinona participa en el flujo de electrones que tiene lugar en los complejos I, II y III; por tanto, pueden ser fuente de ROS durante la activación del metabolismo, principalmente, cuando el contenido de ubiquinona (forma reducida) es alto en comparación con el de ubiquinol (forma oxidada). Existen evidencias actuales sobre la generación de radicales  $\bullet\text{O}_2^-$  en la subunidad N del complejo I de las mitocondrias de arroz durante el envejecimiento acelerado (Chen *et al.*, 2019) y se ha demostrado la contribución del complejo II al contenido de esta especie reactiva en las plantas de arroz. Además, la succinato deshidrogenasa tiene la capacidad de oxidar el  $\text{FADH}_2$ , debido a lo cual el electrón que se cede en este proceso puede ser transferido a una molécula de dioxígeno generándose su forma monovalente (Jardim-Messeder *et al.*, 2015).

Otros componentes de la mitocondria pueden ser fuente de ROS durante la activación del metabolismo. En células animales, se han identificado dos enzimas deshidrogenasas cuya actividad rinde  $\text{H}_2\text{O}_2$  cuando el contenido de  $\text{NAD}^+$  es bajo, entre ellas se encuentran el complejo de la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (Tretter y Adam-Vizi, 2004) y la enzima glicerofosfato deshidrogenasa (Jesina *et al.*, 2004). Además, se ha comprobado que la aconitasa puede catalizar, mediante la reacción de Fenton, la generación de radicales hidroxilos ( $\bullet\text{OH}$ ) a partir del  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Vásquez-Vivar, 2000). Todas las enzimas mencionadas forman parte de la base estructural del metabolismo energético de las semillas de arroz y su contribución al contenido ROS durante el envejecimiento ha sido poco explorado.

Existe una amplia gama de eventos no deseados que pueden ocurrir en la mitocondria debido a la presencia de ROS. Por ejemplo, la oxidación de las proteínas conlleva tanto a su carbonilación como a su fragmentación. Existe un grupo de aminoácidos sensibles a los efectos de estas sustancias como: la treonina, la metionina, la serina, la arginina, la prolina, la histidina y la lisina (Ratajczak *et al.*, 2019). La carbonilación de proteínas es una modificación que altera su funcionalidad. Esta característica se manifiesta en la succinato deshidrogenasa de semillas

que han sido artificialmente envejecidas (Yin *et al.*, 2017). Por otra parte, las ROS pueden conducir a la generación de puentes disulfuro propiciando el estado inactivo de la enzima citocromo oxidasa (oxidado), ya que son capaces de oxidar los residuos de cisteína. A su vez, el flujo de electrones a través de la CTE puede disminuir debido al cambio del estado redox de los núcleos hierro-sulfuro de sus componentes.

El genoma también es susceptible a los efectos de las ROS. A diferencia del ADN nuclear, las bases nitrogenadas del ADN mitocondrial quedan más expuestas a los efectos de las ROS en la matriz de la mitocondria (Fu *et al.*, 2015). La guanina hidroxilada (7,8-dihidro-8-oxoguanina) es una de las modificaciones más probables durante el envejecimiento del ADN y tiene efecto mutagénico, ya que es capaz de formar puentes de hidrógeno con la adenina y la citosina durante un ciclo de replicación (Sano *et al.*, 2015). Un efecto muy parecido se observa cuando se oxidan las bases nitrogenadas. Esta modificación conlleva a un error o a impedir la correcta replicación y transcripción del ADN (Waterworth *et al.*, 2015).

## ACTIVIDAD DE LAS LIPOXIGENASAS Y ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Las lipoxigenasas (LOX) son un grupo de dioxigenasas que catalizan la peroxidación lipídica. En semillas de arroz predomina la isoforma LOX 3, la cual se encuentra distribuida por toda la semilla. Durante el envejecimiento, la supresión de la expresión de la isoenzima LOX 3, mejora el porcentaje de germinación (Xu *et al.*, 2015).

La peroxidación lipídica es una de las reacciones más comunes que ocurren durante el envejecimiento en presencia de ROS y que más afectan el tiempo de vida media de la semilla de arroz durante el almacenamiento. Los sustratos más comunes de la peroxidación son el ácido linolénico (LNA) y el ácido linoleico (LA) (Xu *et al.*, 2015). La iniciación de la peroxidación da lugar a una serie de reacciones en cadena que forman compuestos inestables como radicales, hidroperóxidos y aldehídos y aumentan la permeabilidad de las membranas (Agmon *et al.*, 2018). El malondialdehído (MDA) es un ejemplo de estos productos y en semillas de arroz envejecidas aceleradamente muestra una fuerte asociación entre

su contenido y el radical superóxido (Huang *et al.*, 2018). En presencia de altos valores de humedad relativa, las semillas entran en un estado parcialmente hidratado, en el que la actividad de las lipoxigenasas predomina (Zacheo *et al.*, 1998). El MDA se combina fácilmente con algunas bases nitrogenadas como la guanina, limitando la adecuada transcripción de proteínas, entre ellas las del sistema de reparación del ADN (Esterbauer *et al.*, 1991). Por tanto, el MDA es un fuerte agente citotóxico que puede ser considerado marcador de envejecimiento. En esta revisión no se han hallado evidencias sobre la existencia de algún mecanismo natural que degrade el MDA o limite su reactividad en semillas de arroz.

Como consecuencia de la peroxidación, la membrana de las mitocondrias puede perder su integridad estructural permitiendo la liberación de proteínas apoptogénicas hacia el citoplasma. Por ejemplo, este rol se ha asociado al citocromo c, el cual inicia la apoptosis mediante la activación de la cascada de cisteín-proteasas que involucra la vía de las caspasas 9 y 3 (Li *et al.*, 1997). También la subunidad beta del complejo Fo de la ATP sintasa es capaz de iniciar la muerte celular programada (Chivasa *et al.*, 2011).

En nuestra opinión, el progreso y severidad de los daños estructurales y funcionales acumulados en la semilla de arroz, depende de la contribución al contenido ROS de cada generador en condiciones de envejecimiento, lo cual determina la velocidad de la inflexión durante la pérdida de germinación. La resistencia al envejecimiento depende, a su vez, de cuánto ROS se acumule y la tolerancia al daño celular que le confiere a las semillas, sus mecanismos antioxidantes y de reparación.

## RESISTENCIA AL ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Las semillas de arroz de diferentes cultivares manifiestan una resistencia al deterioro heterogénea por lo que constituyen un modelo ventajoso para estudiar el envejecimiento acelerado. Además, son organismos diploides, el genoma es pequeño (Acevedo *et al.*, 2006) y está secuenciado (Khurana y Gaikwad, 2005). Si sumamos que algunos bancos de germoplasma conservan especies silvestres, es posible seleccionar en modelos híbridos características de envejecimiento específicas (Acevedo *et al.*, 2006).

Los cambios de fase en el endospermo del grano de arroz debido a los efectos de la temperatura y las variaciones en el contenido de humedad de las semillas, puede llevar a cambios en la movilidad de sus metabolitos y consecuentemente a la activación temprana del metabolismo (Walters *et al.*, 2010). Si la mitocondria y las lipoxigenasas generan ROS tempranamente, de igual manera, con poco tiempo de imbibición, los niveles de ROS se elevan y crean daños que se acumulan en las semillas. El estrés oxidativo resultante, desvía el metabolismo hacia la generación de aminoácidos, lo cual provee a la semilla de la base estructural para la síntesis de las enzimas antioxidantes y las proteínas de reparación del ADN (Qu *et al.*, 2014). Sin embargo, en la medida que aumenta el tiempo de almacenamiento en condiciones no favorables, las variedades más sensibles al envejecimiento manifiestan menor contenido de proteínas (Zhang *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2018). Esta disminución ha sido asociada a la formación de puentes disulfuro entre proteínas de bajo peso molecular (Azizi *et al.*, 2019) y a la generación espontánea de modificaciones covalentes en los residuos de aspartato (Wei *et al.*, 2015).

Entre las proteínas que tienden a dañarse se encuentran las del sistema enzimático antioxidante. Las semillas de arroz poseen un sistema antioxidante enzimático similar al de otras semillas ortodoxas. Las enzimas catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y superóxido dismutasa (SOD) han sido las más estudiadas, aunque, en las últimas dos décadas algunos estudios han aportado evidencias sobre la actividad de la glutatión reductasa (GR), la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la dehidroascorbato reductasa (DHAR) (Yin *et al.*, 2014). Varias investigaciones coinciden en que la actividad de las enzimas CAT y APX disminuye mientras aumenta el tiempo de exposición de las semillas de arroz a tratamientos de envejecimiento acelerado (Yin *et al.*, 2014; Yin *et al.*, 2017). Ambas enzimas, actúan de forma sinérgica en la regulación del contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el cual tiende a acumularse durante el envejecimiento. En contraste, no existe consenso en cuanto a la actividad de la SOD (Yin *et al.*, 2014; Yin *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Yin *et al.*, 2017). Pocos estudios abordan la asociación entre el contenido de •O<sub>2</sub><sup>-</sup>, así como de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la actividad de esta enzima, lo cual dificulta la comprensión de su rol durante el envejecimiento. Por ejemplo: su deterioro

conduciría a la acumulación del radical libre  $\bullet\text{O}_2^-$ . En cambio, si su actividad no disminuyera, conduciría a la acumulación de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , si las enzimas CAT y APX mostraran afectaciones.

El funcionamiento de las enzimas APX, GR, MDHAR y DHAR está acoplado en un ciclo que reduce el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y emplean como fuente reductora NAD(P)H. A su vez, estas enzimas utilizan el ascorbato y el glutatión como sustrato. Ambos son compuestos antioxidantes no enzimáticos. El ascorbato, en su forma reducida puede reaccionar directamente con el radical  $\bullet\text{O}_2^-$  a través de la reacción de Fenton. Sobre la actividad de la enzima GR durante el envejecimiento no se ha llegado a un consenso (Yin *et al.*, 2014; Yin *et al.*, 2016). A diferencia de la CAT y la APX, la DHAR parece no afectarse; sin embargo, el contenido total de ascorbato disminuye, así como el contenido total de glutatión reducido. La baja disponibilidad de ascorbato, no sólo puede ser explicada teniendo en cuenta la actividad de estas enzimas, ya que durante el envejecimiento disminuye también la cantidad de transcrito del dominio GLDH del complejo I de la CTE (Chen *et al.*, 2019). Este dominio participa en la última etapa del proceso de síntesis del ascorbato. Aunque existe muy poca información sobre la MDHAR, algunos investigadores han observado que su actividad también disminuye (Yin *et al.*, 2014). De manera general, la capacidad de reducir el  $\text{H}_2\text{O}_2$  disminuye a través de esta vía, lo cual conduce a su acumulación en las semillas de arroz durante el envejecimiento acelerado.

La variabilidad de respuestas ante el envejecimiento acelerado que presentan las semillas puede ser explicada en parte debido a la expresión de proteínas “heat shock”, proteínas LEA (en inglés, *late embryogenesis abundant*) o la actividad de la enzima L-isoaspartil metiltransferasa 1. Los tres mecanismos involucran al sistema proteico y forman parte de la defensa innata de las semillas ante condiciones de envejecimiento.

Las proteínas “heat shock” son chaperonas moleculares, pues permiten el plegamiento de las proteínas y evitan la agregación de estas ante condiciones no adecuadas, como lo pueden ser las altas T. Por ejemplo, se ha demostrado en semillas de arroz que, bajo condiciones experimentales, la chaperona OsHSP18.2 fue capaz de devolver el 60 %

de la actividad de la enzima citrato sintasa después de ser expuesta a altas T. Durante el envejecimiento acelerado, la expresión de proteínas “heat shock” aparece en la fase de meseta (Yin *et al.*, 2014). De igual manera, durante esta fase se detectan proteínas LEA, las cuales poseen funciones muy diversas, que aún no se comprenden en su totalidad. Entre las funciones mejor descritas están: protegen las membranas biológicas ante temperaturas muy bajas, evitan la agregación de proteínas durante el estado de desecación y permiten conservar el plegamiento adecuado de las proteínas que intervienen en el metabolismo energético y de reparación (Wise y Tunnacliffe, 2004; Tunnacliffe *et al.*, 2010).

La formación de modificaciones covalentes en las proteínas como lo es la aparición de residuos l-isoaspartil, es un daño muy común durante el envejecimiento. La enzima isoaspartil metiltransferasa (PMIT) convierte los residuos de l-isoaspartil en l-aspartil, lo cual contribuye al adecuado plegamiento de la proteína (Oge *et al.*, 2008). La enzima posee varias isoformas compartimentadas en núcleo, citosol y cloroplasto (Wei *et al.*, 2015); sin embargo, se desconoce si se encuentra también en mitocondria, uno de los generadores de ROS importantes durante el envejecimiento acelerado. En semillas de arroz tanto las isoformas PIMT1 como la PMIT2 están presentes y su sobreexpresión conduce a la disminución de los residuos l-isoaspartil al mismo tiempo que aumenta la longevidad (Wei *et al.*, 2015; Petla *et al.* 2016). Se ha visto que aquellas líneas que sobreexpresan la PMIT mantienen una funcionalidad del sistema antioxidante enzimático más prolongada (Petla *et al.*, 2016), de ahí que ¿será posible que esta enzima esté relacionada con la reparación de residuos de l-isoaspartil de la defensa antioxidante de semillas envejecidas?

La resistencia al deterioro está regulada mediante hormonas. En arroz han sido, el ácido abscísico (ABA), las auxinas y las giberelinas (GA), las hormonas cuyos efectos sobre la longevidad han sido mejor descritos.

El ABA tiene función antagónica al GA; sin embargo, permite la acumulación en el grano de un grupo de proteínas que se sintetizan durante su maduración, las cuales confieren resistencia a la desecación y al envejecimiento. Entre estas proteínas se encuentran las proteínas “heat shock”, las proteínas LEA y otro grupo de compuestos conocidos como azúcares

reductores. En semillas de arroz, por ejemplo, la rafinosa es uno de los azúcares reductores que aporta mayor resistencia al deterioro (Yan *et al.*, 2018). La vía a través de la cual el ABA permite la acumulación de estas proteínas parece conservarse en semillas de diferentes especies vegetales. De manera general, el receptor de ABA es conocido como PYR/PYL/RCAR (en inglés, *pyrabactin resistance/pyrabactin resistance-like/regulatory component of ABA receptor*) y permite la activación de factores de transcripción como ABI3 (en inglés, *abscisic acid insensitive 3*). A su vez, ABI3 puede influir sobre la expresión de proteínas “heat shock” interactuando con otro factor, el HSFA9 o con el ABI5 en la expresión de proteínas LEA (Sano *et al.*, 2015). La construcción de la vía anterior se ha basado en resultados obtenidos con el modelo de *Arabidopsis thaliana*; sin embargo, puede que los mecanismos hormonales asociados a la longevidad involucren vías u hormonas diferentes al ABA como se plantea en estudios de *Brassica oleracea* L. (Schausberger *et al.*, 2019). También en arroz, se han estudiado otros factores de transcripción como el OsMYBAS1, a través del cual se potencia la actividad del sistema antioxidante CAT, SOD y la enzima peroxidasa (POD) (Wu *et al.*, 2022), y no se conoce su relación con el ABA, ni con otras hormonas.

Una de las formas de las auxinas más conocidas en los vegetales es el  $\beta$ - ácido indolacético (IAA). Las auxinas, estimulan la síntesis de proteínas “heat shock” (Carranco *et al.*, 2010). Al igual que el ABA, las auxinas poseen un receptor proteico que se conoce como TIR1/AFB (en inglés, *Transport Inhibitor Response 1/Auxin Signaling F-Box protein*). La interacción entre ambos permite la degradación del represor Auxin/IAA (en inglés, *Auxin/Indole-3-Acetic Acid*) y consecuentemente, la liberación del factor de transcripción ARF (en inglés, *Auxin Response Factor*) (Lavy y Estelle, 2016). Este último estimula la síntesis de proteínas “heat shock” a través de sus efectos positivos sobre ABI3 como se describió anteriormente para el ABA. Por tanto, es posible que ambas hormonas muestren sinergismo en la estimulación de síntesis de proteínas “heat shock” y por tanto en la resistencia al deterioro. En arroz, se ha añadido otro componente a la vía, es la enzima que codifica el gen *OsGRETCHENHAGEN3-2*. Su sobreexpresión tiene efectos negativos sobre la longevidad, pues inhibe la acumulación de IAA. De igual manera en las semillas que sobre expresan este gen también ocurre la

activación de genes del catabolismo de ABA, disminuye el contenido de transcripto de ABI3 y la expresión de proteínas LEA. El gen tiende a expresarse durante la maduración del grano en la etapa en la que ocurre la acumulación de proteínas asociadas a la longevidad de las semillas de arroz (Yuan *et al.*, 2021).

De manera general, las giberelinas poseen un receptor que se conoce como GID1 GA (en inglés, *Gibberellin Insensitive DWARF1*) y reguladores positivos de la señalización como las proteínas SLY1 F-box. En contraste, las proteínas DELLA son represoras de la vía de señalización de las giberelinas. En arroz, la giberelina 3 (GA<sub>3</sub>) se ha asociado positivamente con la resistencia al deterioro de sus semillas ante condiciones de envejecimiento acelerado (Hu *et al.*, 2020) y se ha detectado ARNm del gen *GID1* en semillas de arroz longevas (Wang *et al.*, 2022). Al contrario del ABA, las giberelinas permiten la degradación y movilización del almidón a través de la activación de la alfa amilasa, debido a lo cual se relacionan con la germinación. En mutantes de *A. thaliana* el aumento en el contenido de giberelinas ha estado asociado al aumento de la impermeabilidad de la cáscara y su contenido de suberina (Bueso *et al.*, 2016).

Las semillas de arroz presentan diferentes fenotipos, en los cuales varían tanto la proporción de hormonas como la resistencia al envejecimiento acelerado. Por ejemplo, las variedades con mayor proporción de ABA/ ácido giberélico (GA), por lo general muestran mayor dormancia y susceptibilidad del sistema enzimático antioxidante (Cao *et al.*, 2019). Aunque algunos resultados han demostrado los efectos contrarios (Siddique *et al.*, 1988). A pesar de este resultado, no podemos concluir que el ABA regula únicamente de forma negativa el proceso de envejecimiento, pues las vías de síntesis del ABA no son independientes de la de las auxinas e intervienen en una fase del desarrollo diferente a la que lo hacen las giberelinas.

## CONSIDERACIONES FINALES

El envejecimiento de las semillas de arroz en condiciones de altas temperatura y humedad relativa depende de la variedad y no puede ser predicho teniendo en cuenta el porcentaje inicial de germinación. Las mitocondrias, así como el

metabolismo energético y la peroxidación lipídica son generadores tempranos de ROS, estrechamente asociados a la pérdida de la germinación y vigor. El desacople temporal entre los mecanismos antioxidantes y de reparación y la generación de ROS conduce al estrés oxidativo en el medio interno de la semilla. Sugerimos en los estudios de envejecimiento acelerado, el empleo de especies que contrasten sus características fisiológicas, entre ellas, el contenido de almidón y de azúcares no reductores, la dormancia, la resistencia al almacenamiento, el vigor y la proporción entre hormonas. Consideramos que el estudio comparativo del envejecimiento entre diferentes variedades de semillas de arroz puede ayudar a dilucidar las interacciones entre los mecanismos de generación de ROS, la defensa antioxidante y la reparación de daños funcionales.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al productor de arroz Frank Becerra de la Finca La Perseverante (Aguada de Pasajeros, Cienfuegos) por brindar a nuestro laboratorio el material biológico que da curso a sus investigaciones. Los resultados de la presente investigación forman parte del proyecto PN223LH010-059 "Fundamentos fisiológicos de la productividad de cultivares cubanos de arroz" el cual recibió fondos de la OFGPI.

## LITERATURA CITADA

- Acevedo, M. A.; W. A. Castrillo y U. C. Belmonte (2006): Origen, evolución y diversidad del arroz. *Agronomía Tropical*, Venezuela Vol. 56 No. 2: 151-170. [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2006000200001](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2006000200001).
- Adesanya, F. O.; M. A. B. Fakorede; S. A. Ajayi; A. T. Maji *et al.* (2018): Assessment of germination parameters, accelerated ageing and conductivity tests on seeds of upland rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, India Vol. 6 No. 5: 8-13. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.6832>.
- Agmon, E.; J. Solon; P. Bassereau y B. R. Stockwell (2018): Modeling the effects of lipid peroxidation during ferroptosis on membrane properties. *Scientific reports*, Reino Unido Vol. 8 No. 1: 5155. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23408-0>.
- Arc, E.; L. Ogé; P. Grappin y L. Rajjou (2011): Plant seed: a relevant model to study aging processes. En: Abdullah Olgun (Ed.), *The field of biological aging: past, present and future*, Kerala: Transworld Research Network. pp. 87-102.
- Ayala, A.; M. F. Muñoz y S. Argüelles (2014): Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, Estados Unidos Vol. 2014 No. 1: 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.
- Azizi, R.; E. Capuano; A. Nasirpour; N. Pellegrini *et al.* (2019): Varietal differences in the effect of rice ageing on starch digestion. *Food Hydrocolloids*, Holanda Vol. 95: 358-366. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.057>.
- Bailly, C. (2019): The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. *Biochemical Journal*, Reino Unido Vol. 476 No. 20: 3019-3032. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190159>.
- Bhattacharjee, S. (2013): Heat and chilling induced disruption of redox homeostasis and its regulation by hydrogen peroxide in germinating rice seeds (*Oryza sativa* L., Cultivar Ratna). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, India Vol. 19: 199-207. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0159-x>.
- Bijanazadeh, E.; R. Naderi; K. Nosrati y T. P. Egan (2017): Effects of accelerated ageing on germination and biochemistry of eight rice cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, Alemania Vol. 40 No. 2: 156-164. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1201502>.
- Bueso, E.; J. Muñoz-Bertomeu; F. Campos; C. Martínez *et al.* (2016): Arabidopsis COGWHEEL 1 links light perception and gibberellins with seed tolerance to deterioration. *The plant journal*, Reino Unido Vol. 87 No. 6: 583-596. <https://doi.org/10.1111/tbj.13220>.
- Cao, D.; S. Chen; Y. Huang; Y. Qin *et al.* (2019). Effects of artificial aging on physiological characteristics of rice seeds with different dormancy characteristics. *Agricultural Biotechnology*, Holanda Vol. 8 No. 1: 52-56. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1201502>.
- Carranco, R.; J. M. Espinosa; P. Prieto-Dapena; C. Almoguera *et al.* (2010): Repression by an auxin/indole acetic acid protein connects auxin signaling with heat shock factor-mediated seed longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Estados Unidos Vol. 107 No. 50: 21908-21913. <https://doi.org/10.1073/pnas.1014856107>.
- Chen, B.; G. Yin; J. Whelan; Z. Zhang *et al.* (2019): Composition of mitochondrial complex I during the critical node of seed aging in *Oryza sativa*. *Journal of plant physiology*, Alemania Vol. 236: 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.02.008>.
- Chhabra, R. y T. Singh (2019): Seed aging, storage and deterioration: An irresistible physiological phenomenon. *Agricultural Reviews*, India Vol. 40 No. 3: 234-238. <http://dx.doi.org/10.18805/ag.R-1914>.
- Chivasa, S.; D. F. Tome; J. M. Hamilton y A. R. Slabas (2011): Proteomic analysis of extracellular ATP-regulated proteins identifies ATP synthase  $\beta$ -subunit as a novel plant cell death regulator. *Molecular & Cellular Proteomics*, Estados Unidos Vol. 10 No. 3: 20113109172. <https://doi.org/10.1074/mcp.m110.003905>.
- Corrales, L. C. y M. M. Muñoz (2012): Oxidative Stress: origin, evolution and consequences of oxygen toxicity. *Nova*, Colombia Vol. 10 No. 18: 213-225. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>.
- Dominguez, F. y F. J. Cejudo (2014): Programmed cell death (PCD): an essential process of cereal seed development and germination. *Frontiers in plant science*, Suiza Vol. 5: 366. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00366>.
- Ebone, L. A.; A. Caverzan y G. Chavarria (2019): Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. *Plant Physiology and Biochemistry*, Francia Vol. 145: 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.028>.
- Ellis, R. H.; T. D. Hong y E. H. Roberts (1992): The low-moisture-content limit to the negative logarithmic relation between seed longevity and moisture content in three subspecies of rice.

- Annals of Botany*, Reino Unido Vol. 69 No. 1: 53-58. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088306>.
- El-Maarouf-Bouteau, H.; C. Mazuy; F. Corbineau y C. Bailly (2011): DNA alteration and programmed cell death during ageing of sunflower seed. *Journal of Experimental Botany*, Reino Unido Vol. 62 No. 14: 5003-5011. <https://doi.org/10.1093/jxb/err198>.
- Esterbauer, H.; R. J. Schaur y H. Zollner (1991): Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical Biology and medicine*, Estados Unidos Vol. 11 No. 1: 81-128. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90192-6).
- FAO. (2008). Food and agriculture Statistics Global Outlook. *Food and Agricultural Organization of the United Nations*. <http://faostat.fao.org/Portals/Faostat/documents/pdf/world.pdf>.
- Fu, Y.-B.; Z. Ahmed y A. Diederichsen (2015): Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. *Conservation Physiology*, Estados Unidos Vol. 3 No. 1: cov026. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov026>.
- Han, C. y P. Yang (2015): Studies on the molecular mechanisms of seed germination. *Proteomics*, Alemania Vol. 15 No. 10: 1671-1679. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400375>.
- Howell, K. A.; A. H. Millar y J. Whelan (2006): Ordered assembly of mitochondria during rice germination begins with promitochondrial structures rich in components of the protein import apparatus. *Plant Molecular Biology*, Vol. 60: 201-223. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-3688-7>.
- Hu, Q.-J.; M.-X. Chen; T. Song; C.-L. Cheng *et al.* (2020): Spermidine enhanced the antioxidant capacity of rice seeds during seed aging. *Plant Growth Regulation*, Vol. 91: 397-406. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00613-4>.
- Hu, Q.; X. Lu; P. Xin; X. Chen (2009): The optimal moisture content and survival characteristics of rice seeds stored at six climatic zones under room temperature. *Chinese Journal OF Rice Science*, Vol. 23 No. 6: 621-627. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-7216.2009.06.10>.
- Hu, T.; Y. Tian; J. Zhu; Y. Wang (2018): OsNDUFA9 encoding a mitochondrial complex I subunit is essential for embryo development and starch synthesis in rice. *Plant cell reports*, Alemania Vol. 37: 1667-1679. <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2338-x>.
- Huang, B.; J. M. Zhang; X. L. Chen; X. Xin *et al.* (2018): Oxidative damage and antioxidative indicators in 48 h germinated rice embryos during the vitrification-cryopreservation procedure. *Plant cell reports*, Alemania Vol. 37:1325-1342. <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2315-4>.
- Jardim-Messeder, D.; A. Caverzan; R. Rauber; E. de Souza Ferreira (2015): Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive oxygen species in plants and regulates development and stress responses. *New Phytologist*, Reino Unido Vol. 208 No. 3: 776-789. <https://doi.org/10.1111/nph.13515>.
- Jesina, P.; D. Kholova; R. Bolehovska; Z. Cervinkova (2004): Glycerophosphate-dependent hydrogen peroxide production by rat liver mitochondria. *Physiological Research*, República Checa Vol. 53: 305-310. <http://www.biomed.cas.cz/physiolres>.
- Ji, J.; S. Lin; X. Xin; Y. Li *et al.* (2023): Effects of OsAOX1a Deficiency on Mitochondrial Metabolism at Critical Node of Seed Viability in Rice. *Plants*, Suiza Vol. 12 No. 12: 2284. <https://doi.org/10.3390/plants12122284>.
- Kapoor, N., A. Arya; M. A. Siddiqui; H. Kumar *et al.* (2011): Physiological and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *American Journal of Plant Physiology*, Estados Unidos Vol. 6 No. 1: 28-35. <https://doi.org/10.3923/ajpp.2011.28.35>.
- Khurana, P. y K. Gaikwad (2005): The map-based sequence of the rice genome. *Nature*, Reino Unido Vol. 436: 793-800. <http://doi.org/10.1038/nature03895>.
- Kong, Q.; P. S. Mao; X. D. Yu y F. S. Xia (2014): Physiological changes in oat seeds aged at different moisture contents. *Seed Science and Technology*, Suiza Vol. 42 No. 2: 190-201. <https://doi.org/10.15258/sst.2014.42.2.08>.
- Kühn, K.; C. Carrie; E. Giraud; Y. Wang *et al.* (2011): The RCC1 family protein RUG3 is required for splicing of nad2 and complex I biogenesis in mitochondria of Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*, Reino Unido Vol. 67 No. 6: 1067-1080. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04658.x>.
- Lavy, M. y M. Estelle (2016): Mechanisms of auxin signaling. *Development*, Reino Unido Vol. 143 No. 18: 3226-3229. <https://doi.org/10.1242/dev.131870>.
- Li, P.; D. Nijhawan; I. Budihardjo; S. M. Srinivasula *et al.* (1997): Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase -9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*, Estados Unidos Vol. 91 No. 4: 479-489. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80434-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80434-1).
- Li, X.-J.; Y.-F. Zhang; M. Hou; F. Sun *et al.* (2014): Small kernel 1 encodes a pentatricopeptide repeat protein required for mitochondrial nad7 transcript editing and seed development in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*). *The Plant Journal*, Reino Unido Vol. 79 No. 5: 797-809. <https://doi.org/10.1111/tpj.12584>.
- Liu, J.; M. Hasanuzzaman; H. Wen; J. Zhang *et al.* (2019): High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice. *Protoplasma*, Austria Vol. 256: 1217-1227. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01354-6>.
- Liu, X.; H. Zhang; Y. Zhao; Z. Feng *et al.* (2013): Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Estados Unidos Vol. 110 No. 38: 15485-15490. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304651110>.
- Liu, Y.; J. Fang; F. Xu; J. Chu *et al.* (2014): Expression patterns of ABA and GA metabolism genes and hormone levels during rice seed development and imbibition: a comparison of dormant and non-dormant rice cultivars. *Journal of Genetics and Genomics*, China Vol. 41 No. 6: 327-338. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2014.04.004>.
- Oge, L.; G. Bourdais; J. Bove; B. Collet *et al.* (2008): Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase1 is involved in both seed longevity and germination vigor in Arabidopsis. *The Plant Cell*, Estados Unidos Vol. 20 No. 11: 3022-3037. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058479>.
- Peng, B.; L. L. He; J. Tan; L. T. Zheng *et al.* (2019): Effects of rice aging on its main nutrients and quality characters. *Journal of Agricultural Science*, Reino Unido Vol. 11 No. 17: 44. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n17p44>.
- Pérez-Bernal, M.; D. Lorenzo Salinas y M. Delgado Rigo (2013): Viabilidad de semillas de arroz provenientes de plantas obtenidas in vitro. *Acta Agronómica*, Colombia Vol. 62 No. 2: 114-119.
- Petla, B. P.; N. U. Kamble; M. Kumar; P. Verma *et al.* (2016): Rice PROTEIN I-ISOASPARTYL METHYLTRANSFERASE isoforms

- differentially accumulate during seed maturation to restrict deleterious isoAsp and reactive oxygen species accumulation and are implicated in seed vigor and longevity. *New Phytologist*, Reino Unido Vol. 211 No. 2: 627-645. <https://doi.org/10.1111/nph.13923>.
- Qu, G.; S. Quan; P. Mondol; J. Xu *et al.* (2014): Comparative metabolomic analysis of wild type and mads3 mutant rice anthers. *Journal of integrative plant biology*, Reino Unido Vol. 56 No. 9: 849-863. <https://doi.org/10.1111/jipb.12245>.
- Rajjou, L.; Y. Lovigny; S. P. Groot; M. Belghazi *et al.* (2008): Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols. *Plant physiology*, Estados Unidos Vol.148 No. 1: 620-641. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123141>.
- Ratajczak, E.; A. Malecka; I. Ciereszko y A. M. Staszak (2019): Mitochondria are important determinants of the aging of seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, Suiza Vol. 20 No. 7: 1568. <https://doi.org/10.3390/ijms20071568>.
- Sako, K.; Y. Futamura; T. Shimizu; A. Matsui *et al.* (2020): Inhibition of mitochondrial complex I by the novel compound FSL0260 enhances high salinity-stress tolerance in Arabidopsis thaliana. *Scientific reports*, Reino Unido Vol. 10 No. 1: 8691. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65614-9>.
- Sano, N.; L. Rajjou; H. M. North; I. Debeaujon *et al.* (2015): Staying Alive: Molecular Aspects of Seed Longevity. *Plant and Cell Physiology*, Reino Unido Vol. 57: 660-674. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv186>.
- Schausberger, C.; T. Roach; W. Stöggli; E. Arc *et al.* (2019): Abscisic acid-determined seed vigour differences do not influence redox regulation during ageing. *Biochemical Journal*, Reino Unido Vol. 476 No. 6: 965-974. <https://doi.org/10.1042/BCJ20180903>.
- Siddique, S. B.; D. V. Seshu y W. D. Pardee (1997): Rice cultivar variability in tolerance for accelerated aging of seed. *Revista japonesa de fertilizantes para suelos*, Japón Vol. 68 No. 4:467-476 <https://doi.org/10.20710/dojo.68.4.467>.
- Tretter, L. y V. Adam-Vizi (2004): Generation of reactive oxygen species in the reaction catalyzed by  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase. *Journal of Neuroscience*, Estados Unidos Vol. 24 No. 36: 7771-7778. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1842-04.2004>.
- Tunnacliffe, A.; D. K. Hincha; O. Leprince y D. Macherel (2010): LEA proteins: versatility of form and function. En Lubzens E., J. Cerdá y M. S. Clark (Eds.), *Dormancy and resistance in harsh environments*. Berlín, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. pp. 91-108.
- Vásquez-Vivar, J.; B. Kalyanaraman y M. C. Kennedy (2000): Mitochondrial aconitase is a source of hydroxyl radical: an electron spin resonance investigation. *Journal of Biological Chemistry*, Estados Unidos Vol. 275 No. 19: 14064-14069. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.19.14064>.
- Walters, C.; D. Ballesteros y V. A. Vertucci (2010): Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. *Plant Science*, Irlanda Vol. 179 No. 6: 565-573. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.06.016>.
- Wang, B.; S. Wang; Y. Tang; L. Jiang *et al.* (2022): Transcriptome-Wide Characterization of Seed Aging in Rice: Identification of Specific Long-Lived MRNAs for Seed Longevity. *Frontiers in Plant Science*, Suiza Vol. 13: 857390. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.857390>.
- Waterworth, W. M.; C. M. Bray y C. E. West (2015): The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity. *Journal of Experimental Botany*, Reino Unido Vol. 66 No. 12: 3549-3558. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv080>.
- Wei, Y.; H. Xu; L. Diao; Y. Zhu *et al.* (2015): Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase 1 (PIMT1) in rice improves seed longevity by preserving embryo vigor and viability. *Plant molecular biology*, Holanda Vol. 89: 475-492. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0383-1>.
- Wise, M. J. y A. Tunnacliffe (2004): POPP the question: what do LEA proteins do?. *Trends in plant science*, Reino Unido Vol. 9 No. 1: 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.10.012>.
- Xu, H.; Y. Wei; Y. Zhu; L. Lian *et al.* (2015): Antisense suppression of LOX3 gene expression in rice endosperm enhances seed longevity. *Plant Biotechnology Journal*, Reino Unido Vol.13 No. 4: 526-539. <https://doi.org/10.1111/pbi.12277>.
- Xu, L. X.; X. Xin; G. K. Yin; J. Zhou *et al.* (2020): Timing for antioxidant-priming against rice seed ageing: optimal only in non-resistant stage. *Scientific Reports*, Reino Unido Vol. 10 No. 1: 13294. <https://doi.org/10.1111/pbi.12277>.
- Yan, S.; W. Huang; J. Gao; H. Fu *et al.* (2018): Comparative metabolomic analysis of seed metabolites associated with seed storability in rice (*Oryza sativa* L.) during natural aging. *Plant Physiology and Biochemistry*, Francia Vol. 127: 590-598. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.020>.
- Yang, Y.; M. Qi y C. Mei (2004): Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. *The Plant Journal*, Reino Unido Vol. 40 No. 6: 909-919. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2004.02267.x>.
- Yin, G.; J. Whelan; S. Wu; J. Zhou *et al.* (2016): Comprehensive mitochondrial metabolic shift during the critical node of seed ageing in rice. *PLoS One*, Estados Unidos Vol. 11 No. 4: e0148013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148013>.
- Yin, G.; X. Xin; S. Fu; M. An *et al.* (2017): Proteomic and carbonylation profile analysis at the critical node of seed ageing in *Oryza sativa*. *Scientific reports*, Reino Unido Vol. 7 No. 1: 40611. <https://doi.org/10.1038/srep40611>.
- Yin, G.; X. Xin; C. Song; X. Chen *et al.* (2014): Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate-glutathione cycle in artificially aged rice seed. *Plant Physiology and Biochemistry*, Francia Vol. 80: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.006>.
- Yuan, Z.; K. Fan; Y. Wang; L. Tian *et al.* (2021): OsGRETCHENHAGEN3-2 modulates rice seed storability via accumulation of abscisic acid and protective substances. *Plant Physiology*, Estados Unidos Vol. 186 No. 1: 469-482. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab059>.
- Zacheo, G.; A. R. Cappello; L. M. Perrone y G. V. Gnoni (1998): Analysis of factors influencing lipid oxidation of almond seeds during accelerated ageing. *LWT-Food Science and Technology*, Estados Unidos Vol. 31 No. 1: 6-9. <https://doi.org/10.1006/food.1997.0289>.
- Zhang, Y. X.; H. H. Xu; S. J. Liu; N. Li *et al.* (2016): Proteomic analysis reveals different involvement of embryo and endosperm proteins during aging of Yliangyou 2 hybrid rice seeds. *Frontiers in Plant Science*, Suiza Vol. 7: 1394. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01394>.