



HAL
open science

Inducción de mutaciones en arroz mediante irradiación para la obtención de nuevas variedades

Concha Domingo, Fernando Andrés, Manuel Talon

► **To cite this version:**

Concha Domingo, Fernando Andrés, Manuel Talon. Inducción de mutaciones en arroz mediante irradiación para la obtención de nuevas variedades. *Comunitat Valenciana agraria*, 2006, 2 (9), pp.25-29. hal-01603319

HAL Id: hal-01603319

<https://hal.science/hal-01603319>

Submitted on 30 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

Inducción de mutaciones en arroz mediante irradiación para la obtención de nuevas variedades

Concha Domingo, Fernando Andrés y Manuel Talón
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias

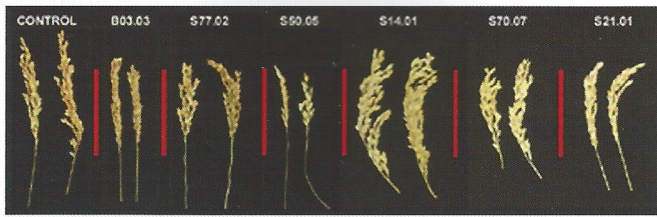
En la cuenca Mediterránea, el alto grado de endogamia entre las variedades de arroz (*Oryza sativa*) cultivadas ha producido un empobrecimiento de la diversidad genética, por lo que la disponibilidad de recursos genéticos es un factor limitante para los programas de mejora. El IVIA está utilizando la inducción de mutaciones para generar variaciones genéticas, esta técnica es una herramienta poderosa que ha sido utilizada durante muchos años a nivel mundial con varias especies vegetales. Mediante irradiación con rayos gamma y neutrones rápidos se están generando mutaciones genómicas al azar partiendo de una variedad japonesa, Bahía, bien adaptada al clima y las prácticas agrícolas del Mediterráneo. El objetivo es crear una amplia colección de mutantes con diferentes fenotipos para facilitar la generación y selección de innovaciones en caracteres de interés agronómico y, al mismo tiempo, poder investigar los genes que responsables de la aparición de estas variaciones. Entre las líneas mutantes se observan cambios morfológicos o fisiológicos de interés agronómico como acortamiento del ciclo vegetativo, reducción de la altura, incremento en producción o aparición espontánea de manchas necróticas en hojas. Los mutantes obtenidos tienen utilidad como material de partida en programas de mejora de variedades en la zona mediterránea así como para el análisis funcional de genes implicados en procesos de interés agronómico.

La inducción de mutaciones en especies vegetales es una técnica útil para generar variabilidad genética y por eso ha sido muy utilizada en los programas de mejora en todo el mundo durante años. Esta técnica ofrece la ventaja de producir modificaciones genéticas mínimas dentro de un fondo genético conocido, que se traducirán en variaciones de mayor o menor alcance en el fenotipo.

Desde los años 60 se han generado numerosas colecciones de plantas mutantes de diferentes especies que han sido utilizadas posteriormente con éxito para desarrollar nuevas variedades tanto de forma directa, tras el tratamiento y selección en las siguientes generaciones, como de forma indirecta, usándose como progenitores y fuente de caracteres deseables en programas de cruzamiento para generar nuevas variedades de cultivos.

En el año 2000, la Base de Datos de Variedades Mutantes (Mutant Varieties Database) de la FAO/IAEA contaba con 2.252 registros de variedades mutantes oficialmente liberadas, de las cuales 1.585 fueron variedades generadas directamente

desde el tratamiento. De entre todas las nuevas variedades generadas por mutagénesis cabe destacar que 434 son de arroz, y se cultivan mayoritariamente en Asia y en Estados Unidos, destacando las variedades semienanas y las que florecen de forma temprana seguidas, en menor número, de mutantes con otros atributos como mayor ahijamiento, mejora de la calidad de grano, resistencia a *Pyricularia*, insensibilidad a fotoperiodo o tolerancia a salinidad. Se pueden citar varios ejemplos sobre la alteración en caracteres agronómicos en arroz debido a mutaciones y su contribución a la mejora de variedades específicas con gran impacto económico. La variedad Zhefu 802, más temprana y productiva que la original, ha sido cultivada extensivamente en China llegándose a cultivar 10,5 millones de hectáreas a principios de los noventa. La revolución verde en Filipinas hace treinta años vino producida por la introducción de una variedad semienana y muy productiva proveniente del IRRI y conocida como IR8. La corta estatura de esta variedad se debe a una mutación en el gen *sd1* que codifica un enzima oxidasa de la ruta de biosíntesis de giberelinas, una hormona



vegetal implicada en la elongación celular, aunque en este caso se trataba de una mutación espontánea.

Existen varias vías de inducir mutaciones en plantas, pero para mejora las más adecuadas son los tratamientos con agentes químicos o físicos, ya que producen mutaciones al azar, son de aplicación sencilla y las dosis son controlables. Los rayos gamma son la fuente de inducción de mutaciones utilizada con mayor frecuencia seguida por los rayos X y los neutrones rápidos, estos últimos de mayor energía. Una gran proporción de los cambios que inducen las radiaciones son alteraciones cromosómicas (deleciones, pérdidas, reajustes de segmentos cromosómicos, etc.) pero también pueden producir mutaciones puntuales o de algunos kilobases. Algunas de estas mutaciones puntuales pueden ser producidas por una acción mecánica directa de la radiación. Otras, sin embargo, pueden ser indirectas debidas a la acción de radicales libres producidos por la acción de la ionización sobre el protoplasma. Los diferentes agentes mutagénicos, no sólo varían en el tipo lesión que producen en el genotipo, sino que también tienen diferente eficiencia. Por ello las dosis deben de ajustarse a cada especie e incluso a cada variedad. En arroz las dosis más comúnmente utilizadas son 150-300 Gy en el caso de los rayos gamma y 18-35 Gy en el de neutrones rápidos.

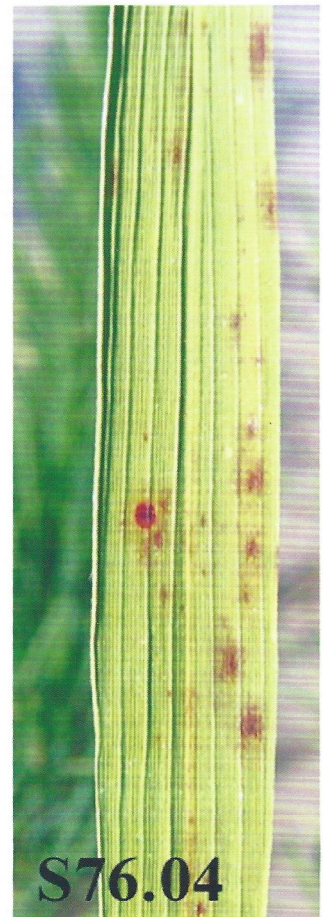
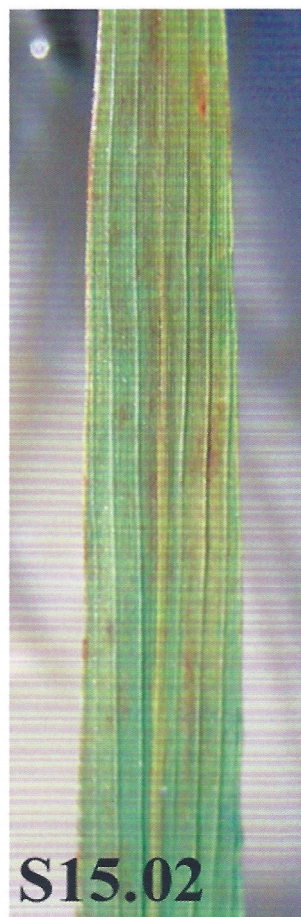
El crecimiento y la producción de las diferentes variedades de arroz depende en gran medida de la climatología y las prácticas de cultivo, lo que justifica el hecho de que los programas de mejora se vayan realizando de manera local con variedades adaptadas a cada región. En España, las condiciones climatológicas y culturales de las zonas de cultivo de arroz son parecidas y, durante décadas se han desarrollado programas de mejora que han producido variedades muy bien adaptadas y con buena producción en todo el territorio. A lo largo de este proceso, los mejoradores han ido eliminando caracteres de las variedades originales e incorporando otros nuevos produciendo variedades cada vez más adecuadas que han ido remplazando a las anteriores. Como consecuencia de este abandono se ha ido disminuyendo la diversidad genética, dificultando la mejora tradicional, ya que esta se apoya en la disponibilidad de recursos genéticos que son normalmente limitantes para la incorporación de nuevos caracteres. Por este motivo, en la búsqueda de nuevos progenitores para los programas de cruzamiento se recurre con mayor frecuencia a variedades lejanas de las locales, con el consiguiente inconveniente de incorporar muchos otros caracteres que disminuyen la calidad de la variedad por poseer cualidades propias de otros mercados (ej. calidad de cocción, duración del ciclo vegetativo, rendimiento en molino, características de grano).

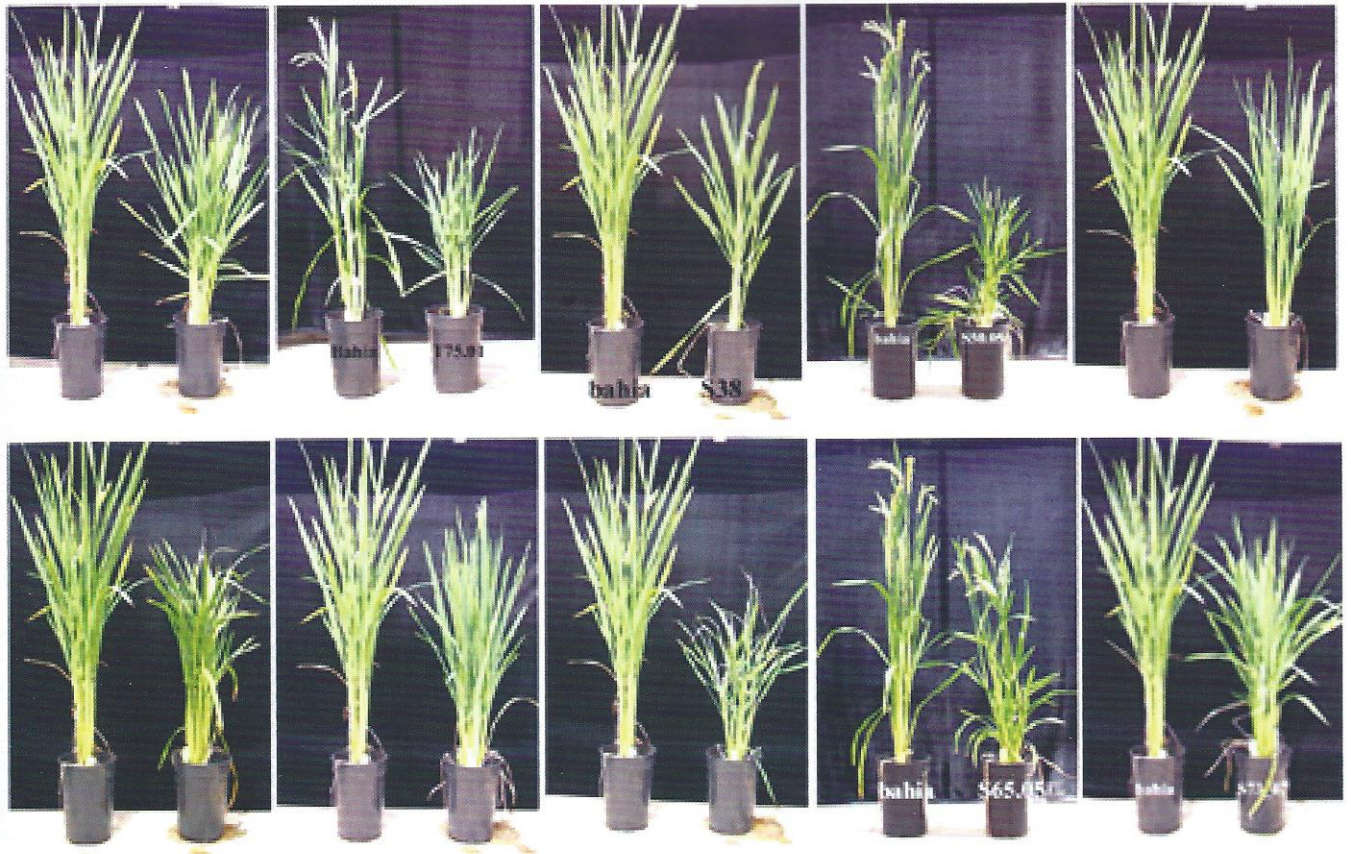
Como venimos comentando, la inducción de mutaciones es una alternativa poderosa para generar nuevas fuentes de variaciones genéticas con las que enriquecer la diversidad en caracteres específicos. Desafortunadamente esta técnica ha sido aplicada mayoritariamente con variedades inadecuadas en el ámbito de la Comunitat Valenciana al enfrentarlas con las variedades locales debido al tipo de grano y a los requerimientos de fotoperiodo y climatológicos tan distintos.

Irradiación y selección

En el IVIA se ha generando una colección de plantas de arroz mutantes por irradiación con rayos gamma y neutrones rápidos utilizando Bahía como variedad de partida ya que posee buenas cualidades agronómicas y está ampliamente difundida en el área Mediterránea. Tras irradiar 2.500 semillas de la variedad Bahía con rayos gamma (250 Gy) y otras tantas con neutrones rápidos (30 Gy), se cultivaron en campo y las plantas M1 resultantes se agruparon en familias recogiendo las semillas de forma conjunta. En dos años consecutivos se evaluaron fenotípicamente un total de 24.000 plantas M2, 18.700 plantas provenientes de la irradiación con rayos gamma y 8.300 con neutrones rápidos.

Mediante un rastreo visual, las familias M2 fueron evaluadas en busca de variaciones en el fenotipo relacionadas con caracteres morfológicos y fisiológicos en los estados tanto vegetativo como reproductivo. Se seleccionaron 285 plantas que presentaron alguna de las siguientes características: disminución de la altura, floración temprana, diferencias en la forma y el color de las hojas; aumento del vigor de la planta, mayor número de espigas, porte erecto, variación en el tamaño y forma del grano. Algunas plantas presentaron variaciones en más de una característica. Dentro





de cada familia se identificaron varias plantas portadores de la misma modificación en el fenotipo, indicando que el cambio se debe a un componente genético. La siguiente generación de las plantas seleccionadas, M3, fue estudiada con más detalle en invernadero y en campo.

Reducción de altura

La disminución de la altura de la planta es un factor fundamental para la resistencia al encamado ya que esta es, generalmente, superior en plantas más bajas y además facilita la eliminación manual del arroz silvestre, también conocido como arroz rojo, al ser más alto que la variedad cultivada. No obstante la reducción en la altura no debe ser drástica ya que una planta demasiado baja tiende a ser menos productiva y puede tener problemas en las primeras fases de cultivo y en la recolección. Además, la reducción en altura no debe conllevar una disminución en el tamaño del grano ya que esto afectaría a la calidad y productividad.

En el rastreo de los mutantes Bahía, la altura destacó como el carácter agronómico que varió con mayor frecuencia. Se seleccionaron plantas M2 que presentaron una altura inferior a 100 cm y un aspecto similar a Bahía, descartándose aquellas con fenotipo arbustivo o que no produjesen semillas. Las plantas seleccionadas M2 correspondieron a 62 familias, representando eventos mutagénicos diferentes. Comparando con la variedad original Bahía, se clasificaron en tres grupos: bajas (86-100 cm), semienanas (70-85 cm) y enanas (<70 cm).

La observación del fenotipo de la generación M3 en invernadero y/o en campo nos permitió evaluar la heredabilidad de los caracteres de las diferentes líneas, seleccionando de nuevo aquellas que mostraron menor altura que Bahía y utilizando la variedad Montsianell en la comparación.

Entre las líneas enanas destaca la S65.01, que mostró una corta estatura tanto en campo como en invernadero y el tamaño de grano permaneció invariado. En la madurez llega a alcanzar 79.1 cm, y ya presentaban una disminución de la altura significativa en estadios tempranos de crecimiento y el tamaño de grano es como el de Bahía. S65.03, proviene de la misma familia M1, es ligeramente más baja pero produce granos de tamaño menor.

Reducción en el ciclo (tempranas)

El acortamiento del ciclo reproductivo de las variedades ofrece algunas ventajas para el agricultor como un menor riesgo a fenómenos atmosféricos o poder ampliar el tiempo de cosecha utilizando variedades con características similares y diferente longitud de ciclo. Aunque no es el caso del clima de España, una reducción considerable del ciclo puede representar la posibilidad de dos cosechas anuales en climas más templados.

Entre los mutantes generados, se encontraron varios con un ciclo vegetativo más corto que fueron seleccionados en el rastreo y posteriormente estudiados. En general la estatura y el número de espigas que ofrecen estos mutantes tempranos suele ser menor y, por lo tanto, son de bajo rendimiento. Algunas de las líneas seleccionadas florecen entre dos o tres semanas antes que Bahía. Este es el caso de la línea S41.01 que florece dos semanas antes. La línea S73.04 destaca no sólo por su corto ciclo sino, también, por su insensibilidad al fotoperiodo. Independientemente de la longitud del periodo de luz, las plantas S73.04 florecen entre las seis y siete semanas tras la siembra, tanto en invernadero como en el campo. La planta adquiere un tono amarillento a las dos semanas de germinación, que persiste en estado adulto. El porte final de la planta es débil, con pocos tallos y el grano, aunque resulta escaso, está bien formado.

línea	Altura (cm)	nº espigas fértiles	peso espiga (g)	Peso 1.000 granos
S71.01	108.1 ± 5.5	22.4 ± 6.6	4.4 ± 0.7	32.9 ± 2.0
S70.03	98.1 ± 3.1	28.5 ± 6.1	3.2 ± 0.5	34.2 ± 1.2
S12.01	119.0 ± 2.1	25.3 ± 6.5	5.0 ± 1.0	34.6 ± 1.2
Bahía	119.5 ± 2.0	17.0 ± 3.2	4.1 ± 0.7	37.0 ± 0.7

Datos de preensayos de producción en campo (2005) de algunas líneas mutantes

Lesiones espontáneas en ausencia de enfermedad

Las plantas responden a los ataques patogénicos mediante la activación de mecanismos de defensa que incluyen la respuesta hipersensible (HR) mediante la cual se induce muerte celular en las zonas infectadas con la finalidad de confinar al patógeno y evitar que se extienda por el resto de la planta. La respuesta HR va acompañada de la síntesis de especies activas de oxígeno, activación de genes específicos de defensa, acumulación de compuestos antimicrobianos y alteraciones en la pared celular. En algunos casos también va acompañada de una resistencia sistémica adquirida (SAR) que confiere resistencia a sucesivos ataques patogénicos.

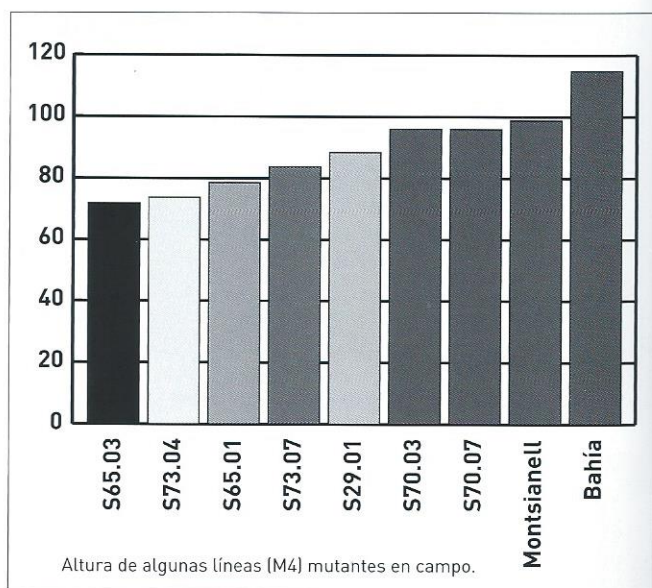
Se han identificado mutantes, tanto naturales como inducidos, en varias especies que desarrollan lesiones necróticas en ausencia de patógenos. Estas lesiones se inducen en respuesta a estímulos de diferente naturaleza relacionados con el estrés abiótico. Los mutantes que simulan manchas necróticas en ausencia de patógeno suelen ser plantas cuyo sistema de defensa está activado de forma constitutiva ya que la aparición de lesiones puede ocurrir de forma simultánea a la activación de genes de defensa y a SAR produciéndose, en consecuencia, una respuesta de defensa que puede ser inespecífica frente a un espectro amplio de patógenos.

En el rastreo de los mutantes inducidos de Bahía hemos identificado varias líneas que desarrollan lesiones espontáneas de las cuales este año ya hemos confirmado diez. En general estas líneas presentan un fenotipo normal exceptuando la aparición de manchas, con las hojas verdes y el grano sano. No todas las líneas desarrollaron manchas en invernadero pero sí en campo abierto. Esta observación no es sorprendente ya que la aparición de manchas necróticas, en ocasiones, es dependiente de factores ambientales como la humedad, la agresión mecánica (ej. viento) y en consecuencia no suelen aparecer cuando la planta es crecida en ambiente controlado. Cabe mencionar que las plantas que no desarrollaron manchas presentaron un aspecto muy saludable permaneciendo verdes más tiempo que las plantas control.

Las manchas necróticas que encontramos variaron según el mutante, la mayoría son manchas alargadas de color marrón de diferentes tamaños según el mutante, pero en ningún caso se produce coloración grisácea en el centro. La aparición de las manchas se produjo a diferentes tiempos según el mutante. Como ejemplo la línea B11.01 mostró manchas a las ocho semanas de la siembra y la T67.03 a las cinco semanas. En todos los casos, los granos tuvieron un aspecto saludable.

Diferencias de grano, porte, hoja producción

Además de los mutantes descritos, hemos identificado un número elevado de mutantes con fenotipos muy variados.



La línea S75.01 destaca por su porte erguido y robusto con hojas verde oscuras y erectas, además la espiga no llega a doblarse en ningún momento. La talla es menor y el grano es redondo y pequeño. La línea B03.03 tienen panículas más compactas que Bahía al igual que S77.02, pero esta además produce granos pequeños sin perlado. B09.03 desarrolla manchas de color púrpura en las hojas, en la zona cercana al cuello. T01.03 sólo desarrolla un tallo y las hojas forman un ángulo casi recto con él, además florece más temprano que Bahía. Algunas otras líneas producen un mayor número de granos debido bien a un mayor número de espigas o bien a un mayor número de granos por espiga. El fenotipo de tres de estas líneas fue confirmado en preensayos de producción con la generación M4 en campo con un marco de plantación 15cm x 40 cm. La línea S71.01 produjo en la temporada 2005, una media de 22.4 espigas por planta con un espigas medio de 4.4 g cada una frente a las 17 espigas de Bahía con un peso medio de 4.1 g. Además, su altura es ligeramente inferior a Bahía.

La línea S70.03 también presentó una buena producción en los preensayos en campo y en invernadero. Otras líneas, como la S12.01, también presentaron mayor número de granos, pero en este caso el encamado fue elevado, debido al aumento del peso de la espiga sin reducir la talla.

En resumen, hemos generado una colección de mutantes Bahía y seleccionado líneas con variaciones interesantes en caracteres agronómicos, que incluyen cambios morfológicos o fisiológicos como acortamiento del ciclo vegetativo, reducción de la altura, incremento en producción o aparición espontánea de manchas necróticas en hojas relacionadas con la resistencia a patógenos. Puesto que la técnica utilizada asemeja un fenómeno natural, provocando variaciones genéticas mínimas con respecto a la planta original, los mutantes obtenidos pueden ser utilizados de manera inmediata como material de partida en programas de mejora de variedades en la zona mediterránea así como para el análisis funcional de genes implicados en procesos de interés agronómico. Además de la colección de mutantes Bahía, en este momento se encuentra en proceso de evaluación fenotípica una colección de mutantes generada a partir de la variedad Bomba y también se están generando otras colecciones a partir de las variedades JSendra y Albufera.