

**TRANSFERENCIA DE GENE(S) DE ANDROESTERILIDAD A UNA LINEA AVANZADA DE ARROZ DE RIEGO**

Juan J. Mora\*

Edgar I. Estrada\*\*

Surapong Sarkarung\*\*\*

**COMPENDIO**

La investigación tuvo como objetivo incorporar un gen mutante de androesterilidad en un material de arroz de riego con el fin de obtener aislíneas para un proyecto de selección recurrente y mejoramiento poblacional. Se dispuso de tres recursos genéticos: TOX 1011-4-1 (Mutante fuente de androesterilidad), COL 1/M312A (polinizador ocasional) y CT6047-13-5-3-4-M (padre recurrente). Se evaluaron dos ciclos de retrocruzamiento con sus generaciones F<sub>1</sub> y F<sub>2</sub> respectivamente. La selección de plantas y familias se fundamentó en la integración de criterios asociados con la expresión fenotípica de la androesterilidad en las panículas, espiguillas y granos de polen teñidos con IKI (Yodo Yoduro de Potasio), Acetocarmin y Fluorceina. También se evaluaron la altura de la planta, días a floración, longitud de panículas, porcentaje de grano lleno y porcentaje de espiguillas vanas. Se obtuvieron cinco familias y 16 líneas seleccionadas en la F<sub>2</sub> del BC<sub>2</sub> que exhibieron estabilidad fenotípica para el gene mutante. Hubo ganancia genética para caracteres del parental recurrente en los ciclos de retrocruzamiento. Se presentaron diferencias significativas entre líneas androestériles y el parental recurrente para las seis características evaluadas.

**ABSTRACT****A MALE STERILITY GENE TRANSFERED TO AN ADVANCED RICE LINE**

A male sterile mutant gene was transferred to a rice line in order to get male sterile isolines usable in population improvement recurrent selection programs. Three germplasms were used: TOX 1011-4-1 (m.s.) Col 1/M312A (occasional pollinator) and CT 6047-13-5-34M (recurrent parent). Two backcrosses F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> generations were evaluated. Individual and family selection were based on phenotypic expression of m.s. on panicles, spikelets and pollen grains after tinctions iodine, acetocarmin and fluorocin. Plant height days to flowering, panicle length, % filled seeds and empty florets were evaluated. Five families and 16 lines were selected exhibiting m.s. stability positive genetic gain was for characters for the recurrent parent. There were significant differences between the m.s. lines and the recurrent parent for the 6 characters evaluated the uniform expression of the m.s. trait plus good agronomic characteristics show great potentiality to use these materials in recurrent selection breeding programs.

**1. INTRODUCCION**

El arroz es una de las fuentes de alimento de origen vegetal más importante del mundo (Dávalos, 1988; Posada, 1985). En América Latina se incrementa cada día el área sembrada y se vislumbra un sustancial aumento en los rendimientos como consecuencia de la adopción de nuevas tecnologías, entre las que se destaca la incorporación de nuevas variedades con alto potencial genético y resistencia o tolerancia genética a los principales factores de estrés ambiental.

En los programas nacionales e internacionales de fitomejoramiento se hace la búsqueda de mejores genotipos a través de incorporación de germoplasma y recombinación de parentales seleccionados. El éxito de estos programas de recombinación genética está estrechamente ligado a la riqueza y/o diversidad genética que se dispone en el banco de germoplasma. Cada día hay más conciencia de la importancia de contar con una amplia base genética que permita el flujo de genes agrónomicamente favorables. El arroz por ser una especie autógama presenta

---

\* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. A.A. 237 Palmira

\*\* Profesor Universidad Nacional de Colombia. A.A. 237 Palmira

\*\*\* Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT A.A. 6713, Cali.

último.

Previamente se efectuó un cruzamiento del androestéril con un polinizador ocasional (Col 1/M312A) y se obtuvo la  $F_1$  y  $F_2$  donde se seleccionaron líneas androestériles que se llevaron al plan de retrocruzamiento (Figura 1).

La identificación de plantas androestériles se hizo a partir de la evaluación visual durante la floración y en estado de apertura floral (antesis). Se observó la presencia de polen; además se revisaron las anteras en cada espiguilla para determinar anomalías indicadoras de androesterilidad. Se utilizó el tñido de polen con yodo yoduro de potasio (IKI), acetocarmin y fluorceina para verificar la viabilidad del polen. Dentro del grupo de plantas androestériles se efectuó además una reelección con base en caracteres típicos o cercanos al parental androfétil CT6047-13-5-4-M.

La evaluación de la  $F_2$  del  $BC_2$  (obtención de isolfneas) se hizo en campo a partir de una población conformada por 450 plantas, comparadas con 300 plantas de progenitor recurrente. Se utilizó el sistema de transplante en surcos a 30 cm, dos surcos por cada isolfnea y 30 cm entre plantas. La separación de cada isolfnea fue de 60 cm.

Se obtuvo información de las siguientes variables de respuesta: altura de planta (cm); número de panículas por planta, longitud de panículas, porcentaje de granos llenos y espiguillas vanas por panícula y días a floración.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1. Cruzamientos y obtención de generaciones $F_1$ y $F_2$ (donante/recurrente) en $BC_1$ , $BC_2$ .

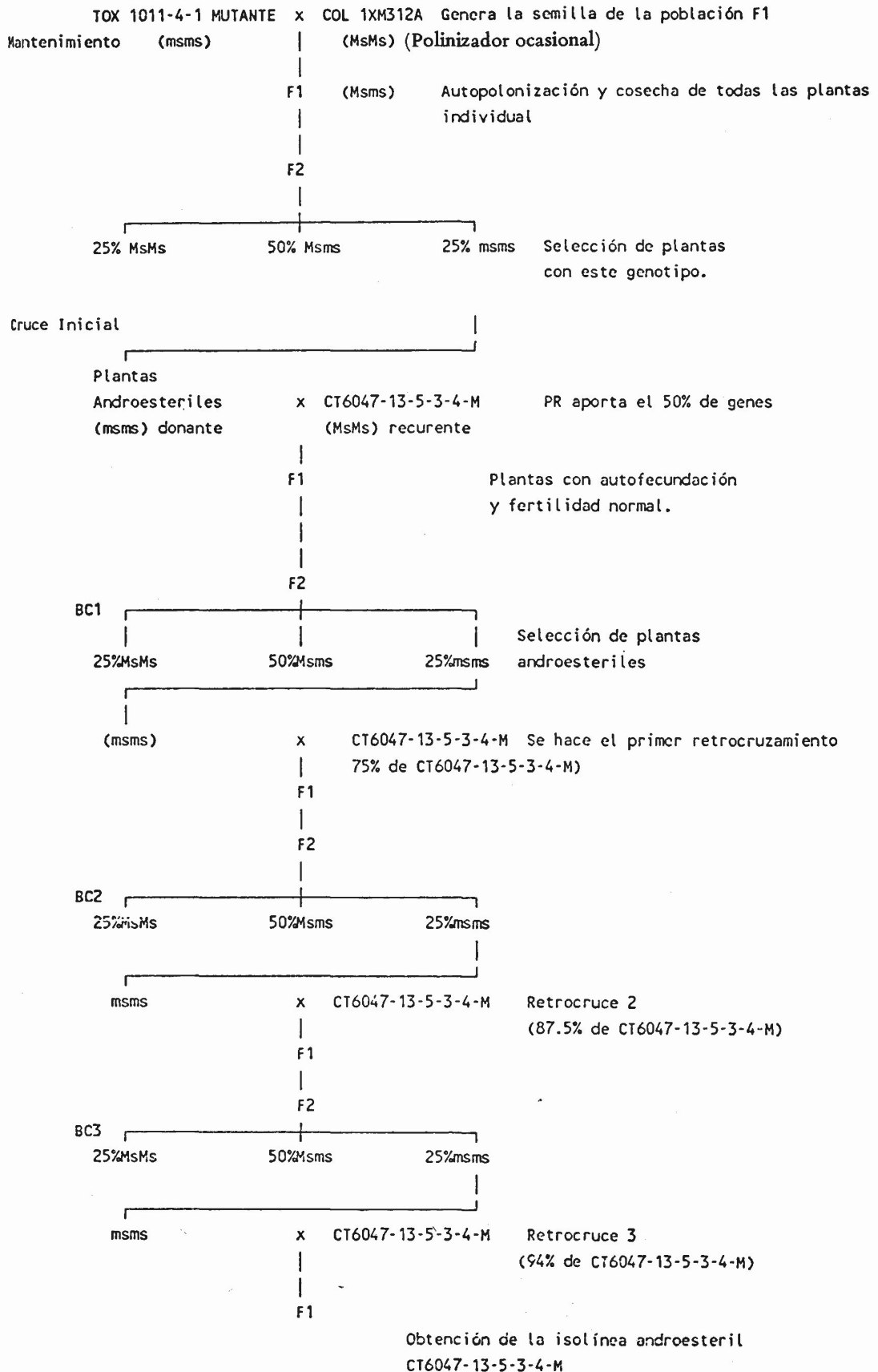
La evaluación de plantas individuales en la población  $F_2$  del  $BC_1$  permitió establecer las diferencias entre plantas androfétiles y androestériles por los caracteres morfológicos asociados a la floración. Las plantas androestériles presentaron deformidades en las anteras, colores

blancos o amarillo pálido, filamentos cortos, indehiscencia de anteras. Al observar al microscopio los contenidos de las anteras se puede apreciar la ausencia total o parcial de polen. Se observó en plantas androestériles poca o ninguna tñición con IKI llegando en casos aislados solo a un 20% en contraste con las plantas androfétiles que sobrepasan el 95% de tñido. La prueba con acetocarmin confirmó que más del 90% de los granos de polen eran inviables o estaban muertos. La fluorceina permitió establecer que las plantas androestériles solo fluorescen en un 1% como valor máximo. Estos pequeños porcentajes de granos de polen tñido indican la presencia de granos funcionales que aún pueden aparecer en dichas plantas y corresponden a diversas manifestaciones fenotípicas del gene según que su acción se exprese en estados premeióticos, meióticos, posmeióticos de la gameto-génesis o en la funcionalidad del polen durante los procesos de fecundación. La anterior observación también fue reportada por Li y Yuan (1985), Lu y Rutger (1984).

Al observar los granos de polen al microscopio electrónico de barrido (SEM) presentaron formas bizarras, deformidades externas y fueron de tamaño mucho más pequeño comparado con un grano de polen procedente de una planta androfétil (Figura 2).

Al glacinar las panículas, en la mayoría de casos no se produjo semilla o el porcentaje de grano lleno no superó el 10% en contraste con las plantas androfétiles que alcanzaron valores por encima del 80%. La selección de plantas y progenies se complementó con caracteres fenotípicos asociados con el parental recurrente.

Durante los dos ciclos de retrocruzamiento se obtuvieron cinco familias en el  $BC_1$  y 16 líneas en la  $F_2$  del  $BC_2$ . Estas familias o líneas se seleccionaron tanto en la expresión de la androesterilidad como por los caracteres del padre recurrente (Figura 3). En el proceso de conversión de estas líneas se destaca el aumento de la frecuencia de plantas androestériles con los rasgos del progenitor recurrente.



**Fig. 1. Esquema del proceso de retrocruzamiento**

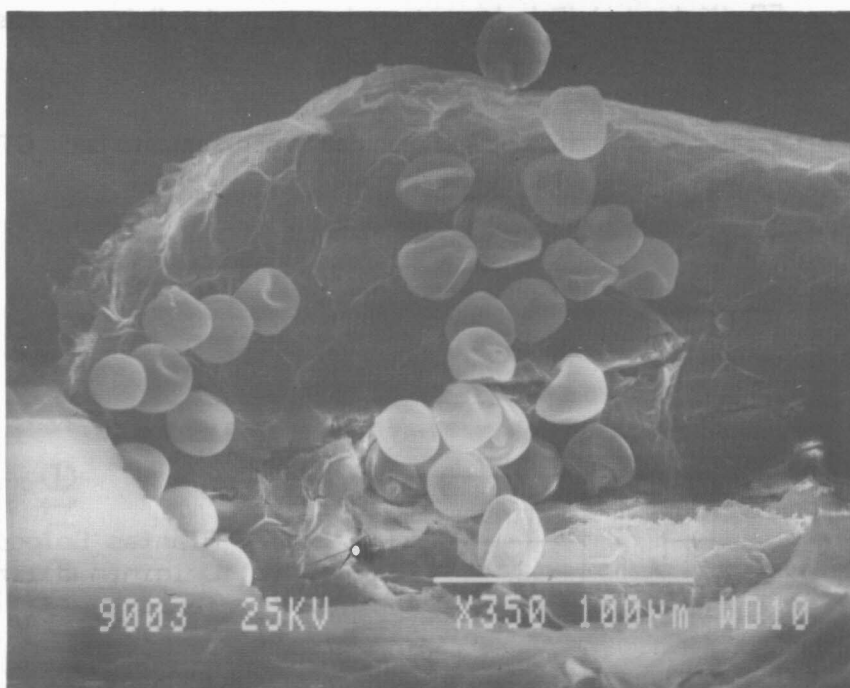


Fig. 2A. Deformidades de los granos de polen dentro de la antera de una planta androestéril.

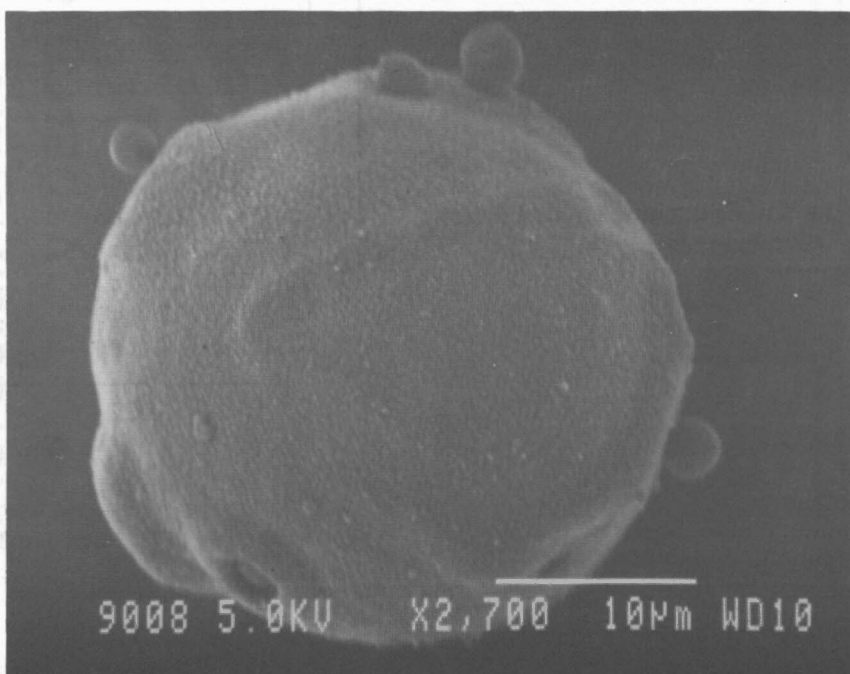
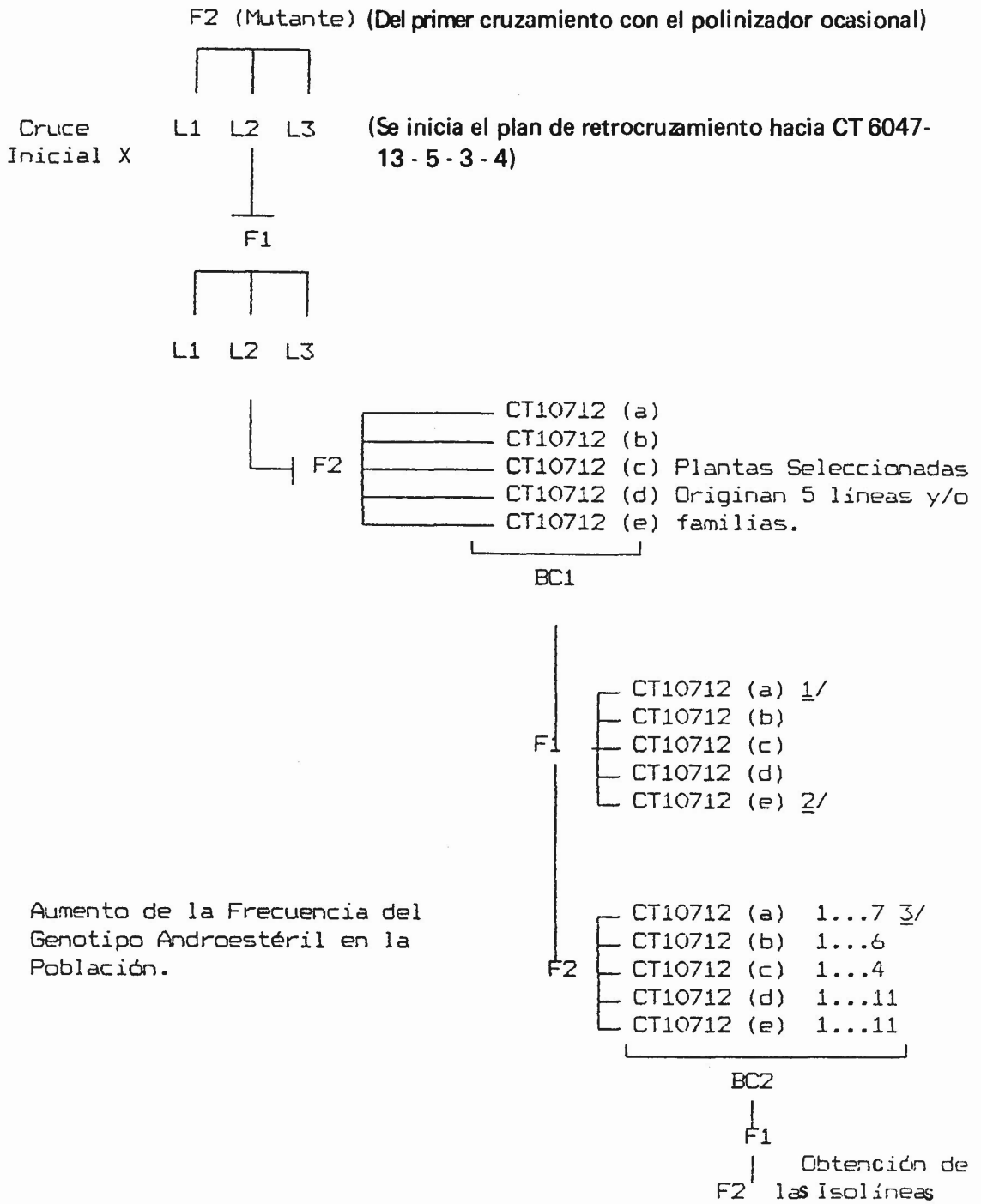


Fig. 2B. Granos de polen con simetría alterada



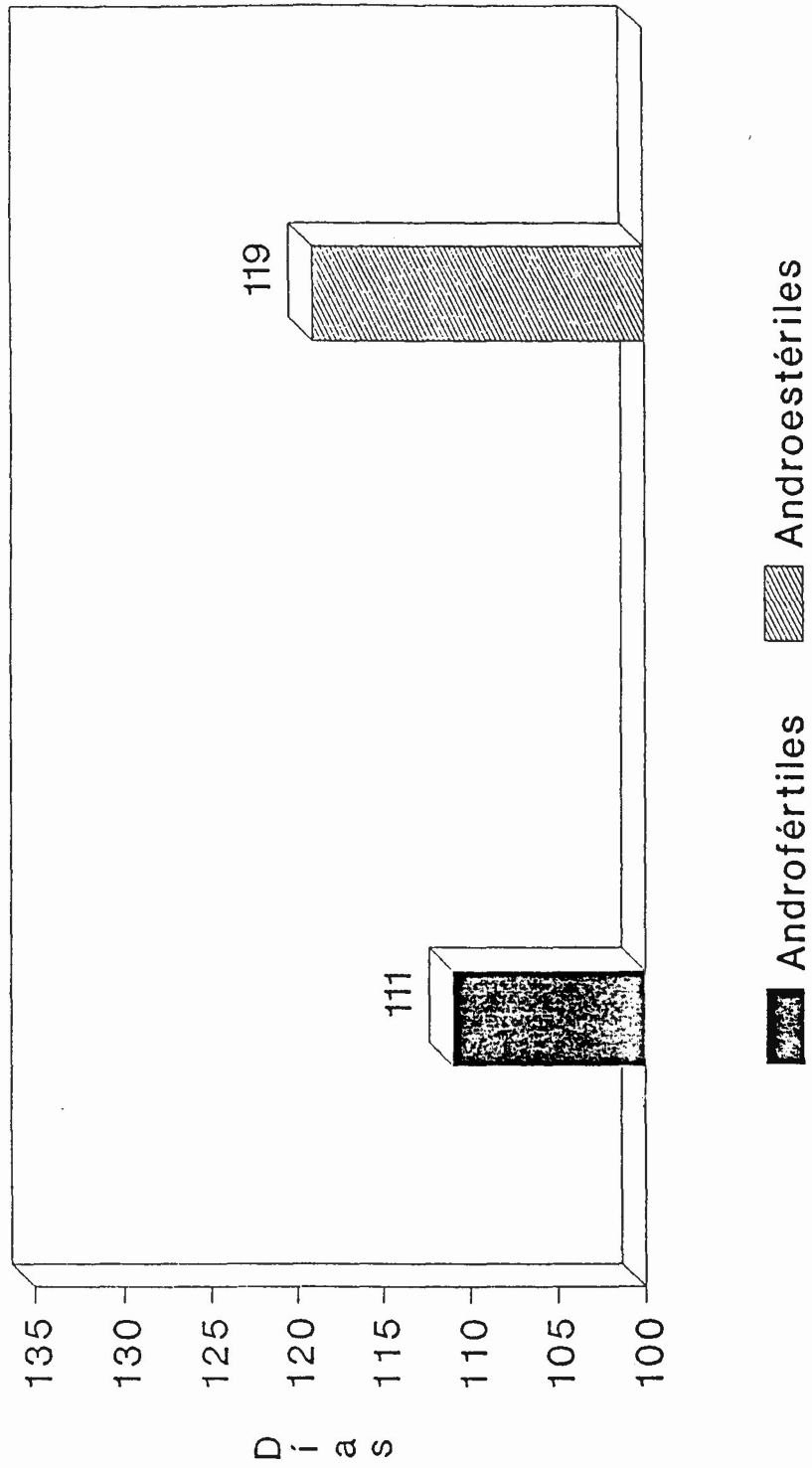
1/ Línea eliminada por ser atípica.

2/ Línea que se incorporó con el fin de aumentar la posibilidad segregación.

3/ Líneas derivadas.

Fig. 3. Esquema de poblaciones obtenidas en el proceso de transferencia y conversión

Figura 4. Comparación de Días a Floración entre Líneas Androestériles y parental recurrente



Cuadro 1

Valores Promedios entre familias para los caracteres evaluados

Familia	Días a floración	Alt. de planta (cm)	Número de panículas	Long. de panícula (cm)	Granos llenos (%)	No. Espiguillas vanas Promedio/planta
Fértiles	112.2 (b)	60.1 (a)	27.8 (b)	18.4 (b)	81.0 (a)	19.0 (b)
Estériles	118.7 (a)	52.0 (b)	31.1 (a)	18.9 (a)	21.9 (b)	97.0 (a)
Familia 1		59.50 (a) <sup>1/</sup>	29.50 (bc)	19.03 (ab)	2.40 (a)	96.20 (c)
Familia 2		53.33 (b)	35.22 (ab)	18.40 (b)	2.22 (ab)	124.80 (a)
Familia 3		60.33 (a)	36.33 (ab)	19.15 (ab)	1.00 (c)	106.80 (bc)
Familia 4		49.00 (b)	22.00 (c)	18.89 (ab)	1.72 (b)	96.66 (c)
Familia 5		47.00 (c)	39.85 (a)	19.60 (a)	1.89 (ab)	112.48 (ab)

1/ Promedios con diferente letra son estadísticamente diferentes según Duncan (5 %)

Cuadro 2

Valores promedios entre líneas para las diferentes características evaluadas en un lote experimental del CIAT/91

Genotipos	Altura planta (cm)	Long. de panícula (cm)	No. espiguillas vanas (Promedio)
Familia 1 Linea 6	60.00 (abc) <sup>1/</sup>	19.00 (bcde)	106.20 (bcd)
Linea 3	59.00 (abc)	19.06 (bcde)	86.20 (de)
Familia 2 Linea 4	66.50 (a)	19.42 (bcd)	121.40 (a)
Linea 5	59.00 (abc)	18.80 (bcde)	110.80 (abc)
Linea 2	50.00 (cdefg)	16.44 (g)	112.60 (abc)
Linea 6	47.00 (defg)	18.30 (def)	131.40 (a)
Familia 3 Linea 3	63.00 (a)	19.49 (bcd)	106.60 (ecd)
Linea 2	55.00 (bcde)	18.48 (cdef)	106.20 (bcd)
Familia 4 Linea 5	55.66 (bcd)	19.98 (ab)	106.13 (bcd)
Linea 1	45.00 (efg)	17.80 (cfg)	67.20 (e)
Linea 7	42.00 (fg)	48.40 (cdef)	96.20 (cd)
Linea 2	40.00 (g)	17.20 (fg)	98.20 (cd)
Familia 5 Linea 8	51.50 (cdef)	19.80 (abc)	112.70 (abc)
Linea 11	50.00 (cdefg)	21.00 (a)	95.20 (cd)
Linea 1	47.50 (defg)	18.40 (cdef)	112.70 (abc)
Linea 9	40.50 (g)	19.90 (ab)	120.40 (ab)

Figura 6 Porcentaje de Grano Lleno del Progenitor Recurrente y Líneas Androestériles

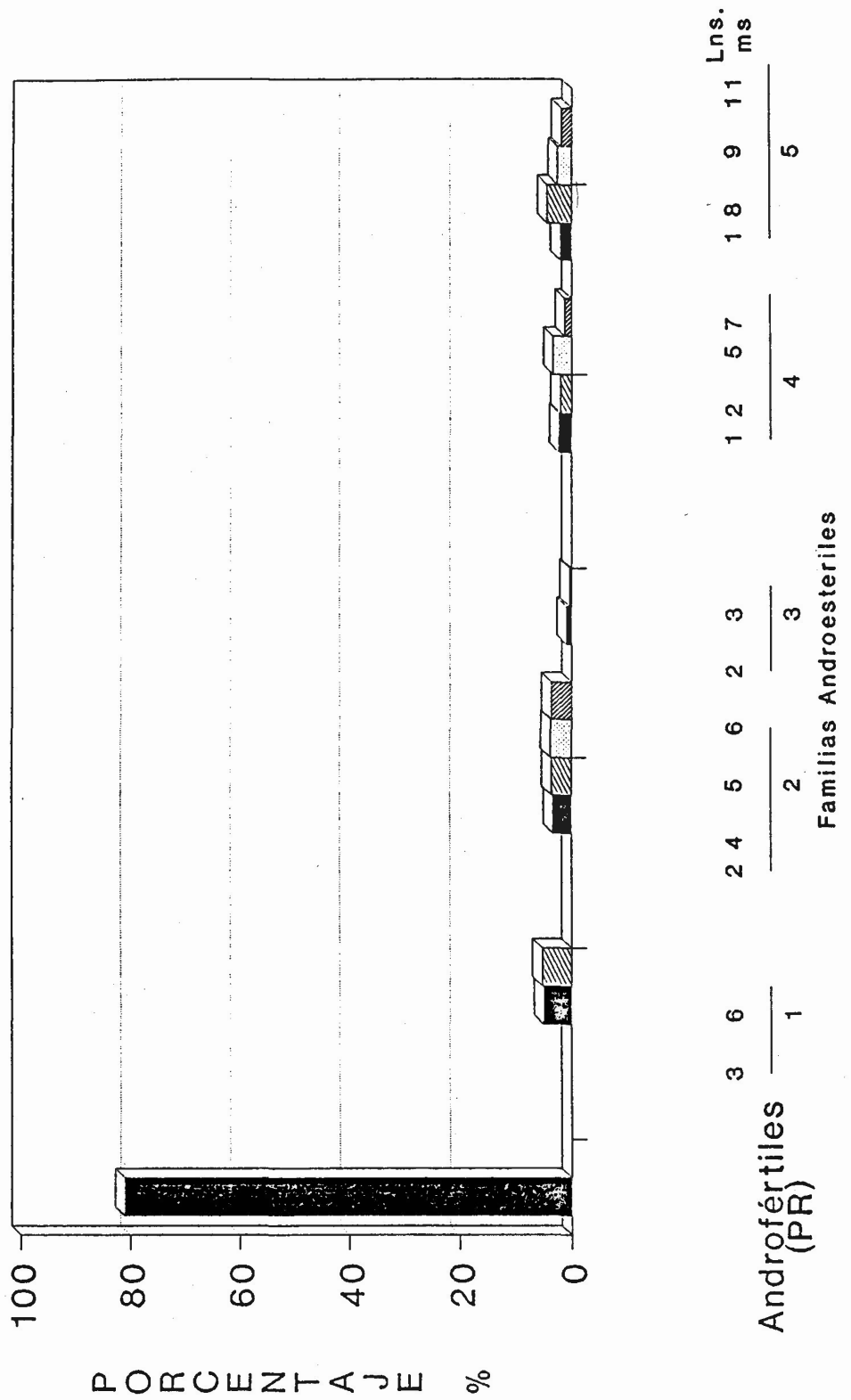
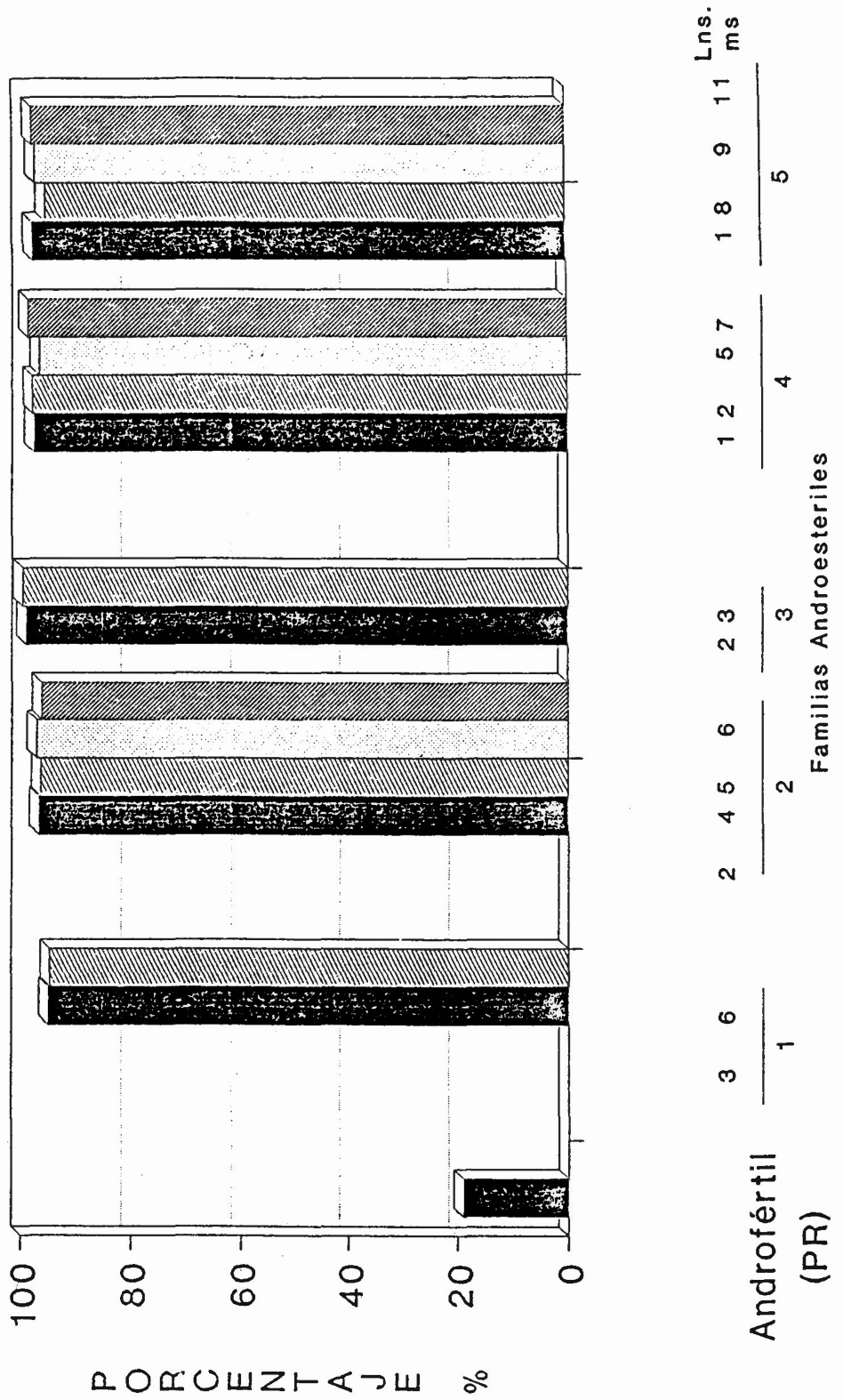




Figura 7 . Porcentaje de Grano Vano  
La Línea Recurrente y Líneas  
androesteriles



### 3.2. Evaluación de las líneas seleccionadas en F<sub>2</sub> del BC<sub>2</sub>

Los Cuadros 1, 2 resumen los valores promedios obtenidos en la evaluación de las líneas. Sobresalen las diferencias entre parentales y las líneas androestériles en los caracteres días a floración, altura de planta, número de granos llenos y vanos.

En lo que respecta a días a floración se puede precisar que las líneas androestériles fueron más tardías (8 días en promedio) que las androfértiles (Figura 4). Este comportamiento está asociado con mayor prolongación del período vegetativo previo a la floración y se espera que tenga influencia en los planos de cruzamiento con estos recursos germoplásmicos androestériles los cuales exige un cuidadoso plan de siembra para lograr altas tasas de cruzamiento y recombinación.

Respecto a la altura de planta se pudo establecer que las líneas androestériles son en promedio de porte más bajo que las fértiles. Para número de panículas/planta se presentó amplia variación de expresiones fenotípicas tanto entre parentales y líneas androestériles así como entre y dentro de familias, siendo mayor el número de panículas en las líneas androestériles (Figura 5). Una posible explicación a este hecho es que al no haber formación de semilla en dichas plantas, se estimula el desarrollo de macollas e inflorescencias. Similar comportamiento fue encontrado por Virmani *et al* (1982), y Lasso (1986).

Las comparaciones para porcentaje de granos llenos y vanos indican que hay excelente expresión de la androesterilidad en las líneas seleccionadas donde se alcanzan valores promedios del 97% de granos vanos (Figuras 6 y 7). A manera de comprobación y evaluación de la expresión de la androesterilidad se glaciaron panículas en plantas identificadas fenotípicamente como androestériles, observando de nuevo bajos porcentajes de formación de semilla o sea de autofecundaciones.

Las anteriores observaciones permiten corro-

borar que existe excelente nivel de expresión de la androesterilidad incorporada a las líneas seleccionadas que además junto con la recuperación de los caracteres morfo-agronómicos del parental recurrente indican un acierto en el plan de conversión genética y obtención de isofleas androestériles de proyección para futuros planes de recombinación mediante selección recurrente.

## 4. CONCLUSIONES

- 4.1. En el proceso de transferencia del gen mutante de androesterilidad se lograron seleccionar cinco familias y 16 líneas en la F<sub>2</sub> del BC<sub>2</sub> que exhibieron estabilidad fenotípica para el gene(s) de androesterilidad.
- 4.2. A medida que se avanza en los ciclos de retrocruzamiento se pudieron apreciar los cambios fenotípicos en la poblaciones androestériles resultantes, como consecuencia de la ganancia del acervo genético del parental recurrente.
- 4.3. Se presentaron diferencias entre líneas androestériles seleccionadas y el padre recurrente para características como altura de planta, número de macollas, días a floración, porcentaje de grano lleno, porcentaje de espiguillas vanas y longitud de panícula.
- 4.4. Debido a la uniformidad en la androesterilidad y al comportamiento agronómico de las líneas seleccionadas se estableció el valor potencial para su uso en proyectos de recombinación dentro de los programas de selección recurrente.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. AZZINI, L. E. and RUTGER, J. N. Amount of out crossing on different male - steriles of rice. *En: Crop Science*. Vol. 22, No. 5 (1982); p. 905-907.
2. CANO, C. G. Integración ICA-CIAT y FEDE-ARROZ. p. 21-24. *En: El arroz colombiano*. Palmira: ASIAVA, 1988. 160 p.

3. DAVALOS, R. A. Antecedentes y proyecciones de la producción de arroz en Colombia. p. 11-14. En: El arroz colombiano. Palmira: ASIAVA, 1988. 160 p.
4. FUJIMAKI, H. Recurrent population improvement: Rice breeding facilitated with male sterility. p. 91-100. En: Reprint from Gamma Field Symposia. No. 19. 1980.
5. \_\_\_\_\_; HIRAWA, S.; KISHIBUCHI, J. and TANAK, S. Artificially induced male sterile mutants and their usage in rice breeding. En: Japanese Journal of Breeding. vol. 27, No. 3 (1977); p. 70-77.
6. HOFF, B. J. and CHANDRAPANYA, F. Inheritance of two male sterile characters in rice. En: Agronomy abstracts. Vol.5 , No.1 (1973); p. 7.
7. LASSO, B. L. Evaluación de materiales de arroz como mantenedores de la androesterilidad. Palmira, 1986. 85 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
8. LI, Y. C. and YUAN, L. P. Genetic analysis of fertility restoration in male sterile lines of rice. p. 617-632. En: RICE GENETICS (1985 : s.l.). Proceedings of the International Rice Genetics Symposium. Manila: IRRI, 1986. 932 P.
9. LU, Y. G. and RUTGER, J. N. Anther and pollen characteristics of induced genetic male sterile mutants in rice, *Oryza sativa* L. En: Environmental and Experimental Botany. Vol. 24, No. 3 (1984); p. 209-218.
10. LU, Y. G. and ZHANG, G. Histological observations on induced genetic male sterile mutants in rice. p. 661-671. En: RICE GENETICS (1985: s.l.). Proceedings of the International Rice Genetics Symposium. Manila: IRRI, 1986. 932 p.
11. POSADA, R. El arroz en el mundo y América Latina. p. 1-16. En: Arroz, investigación. Cali: CIAT, 1985.
12. RAMANUJAM, S. and PATHA SARATHY, N. An asynaptic mutant in rice (*Oryza sativa* L.). En: Proceedings Indian Academy of Science. Vol 2 (1985); p. 80-87.
13. RAZZAQUE, C. A. Genetics of male sterility in rice. En: Indian Journal of Genetics Plants Breeding. Vol. 34, No. 3 (1974); p. 303-308.
14. RUTGER, J. N. and SHINJYO, C. Male sterility in rice and its potential use in breeding. p. 53-66. En: Innovative approaches to rice breeding. Manila: IRRI, 1980.
15. SHING, R. J. and IKEASHI, H. Monogenic male sterility in rice: Introduction, identification and inheritance. En: Crop Science. Vol 21, No. 2 (1981); p. 286-288.
16. TRESS, S. C. and RUTGER, J. N. Inheritance of four genetic males steriles. En: Journal of Heredity. Vol. 69, No. 4 (1978); p. 270-272.
17. VIRMANI, S. A.; AQUINO, R. C. and KHUSH, G. S. Heterosis breeding in rice, *Oryza sativa*. En: Theoretical and Applied Genetics. Vol. 63, No. 3 (1982); p. 373-380.