

Atipicidad en la producción de semilla certificada de arroz en Uruguay

Ing. Agr.
Constanza Tarán
(INASE)

Lic. Mag. Dr.
Juan E. Rosas
(Área de
Mejoramiento
Genético
y Biotecnología
Vegetal, INIA)

Ing. Agr. Ph.D. Ana
Laura Pereira
(Unidad de Semillas,
INIA)

EL ÁREA DEL CULTIVO DE ARROZ EN URUGUAY ES SEMBRADA EN UN 94 % CON SEMILLA CERTIFICADA. ESTO GARANTIZA QUE LA SEMILLA UTILIZADA PARA LA SIEMBRA, EN SU PROCESO DE PRODUCCIÓN, HA PASADO POR LOS CONTROLES REQUERIDOS PARA LOGRAR LOS ESTÁNDARES DE CALIDAD GENÉTICA, FÍSICA, FISIOLÓGICA Y SANITARIA NECESARIOS PARA SU COMERCIALIZACIÓN.

En el proceso de producción de semilla es de gran importancia mantener la pureza varietal de los cultivares, conservando a través del tiempo las características descritas en su obtención. Para ello, además de los cuidados para evitar mezclas físicas, se realizan raleos de plantas atípicas en semilleros. A pesar de estos cuidados suelen aparecer todos los años en los semilleros de arroz plantas y panojas atípicas en diferente frecuencia.

Las plantas y panojas atípicas son todas aquellas que difieren del cultivar en al menos una característica observable, por ejemplo, presencia o ausencia de aristas en grano, pubescencia (pelos) en la hoja, altura de la planta, o si el porte de la planta es abierto o cerrado, entre otras.

Las características que se observan para clasificar una planta como atípica son las altamente heredables y estables en las sucesivas generaciones. Por lo tanto, si hay presencia de atípicas en semilleros o en etapas de multiplicación, la semilla también se multiplicará aumentando su frecuencia y contaminando el material producido. Esto afecta la pureza varietal y disminuye el rendimiento, por lo cual es necesario eliminarlas (Ellstrand et al. 1999, Chen et al. 2004). En nuestro país, el Instituto Nacional de Semillas (INASE) fiscaliza los procesos de certificación de semillas en sus diferentes etapas. Los ensayos a campo llamados poscontrol son un punto de chequeo para corroborar la identidad y la pureza varietal de los lotes de semillas certificadas Básica, Certificada 1 y Certificada 2. Es importante destacar que en estos ensayos nunca se han encontrado más plantas atípicas de lo admitido, por lo que no se han

rechazado lotes de semilla certificada por este motivo (Tarán, 2019).

El origen genético de la atipicidad en el arroz no está claro. Según Lee et al (2013) puede ser causada por cruzamientos con arroz maleza o con otros genotipos de la misma o diferentes subespecies, o por mutaciones espontáneas. También puede deberse a la segregación o inestabilidad de algunas características en cultivares nuevos. Por último, las mezclas varietales o físicas (plantas que pertenecen a un cultivar diferente al sembrado) son otra fuente de atipicidad y son consideradas contaminantes.

Los cruzamientos entre distintos genotipos de arroz pueden ocurrir a pesar de ser un cultivo autógamo. La tasa de fecundación cruzada entre el arroz cultivado y el arroz maleza puede variar del 0,05 % al 30 % (Chen et al., 2004; Jia et al., 2007), mientras que para cruzamientos entre diferentes cultivares de arroz es de hasta 4 % (Lentini y Espinosa, 2005).

Las mutaciones son cambios en la información genética y, por lo tanto, se heredan a la descendencia y pueden o no generar un cambio observable en la apariencia de la planta. Las mutaciones ocurren en forma natural y espontánea en cualquier población de seres vivos. En el arroz, este fenómeno ocurre a frecuencias relativamente bajas considerando un punto específico de su secuencia de ADN, sin embargo es muy probable que cualquier par de plantas de un mismo cultivar presenten en algún lugar de su ADN alguna mutación que las diferencie.

En algunas situaciones dentro de un mismo cultivar existen individuos con diferentes variantes en uno o más genes, lo que se conoce como segregación. Esos genes segregantes pueden determinar variaciones en sus caracteres observables, las cuales pueden aparecer en todas las generaciones si el gen es de herencia dominante, o saltarse algunas generaciones si es de herencia recesiva.

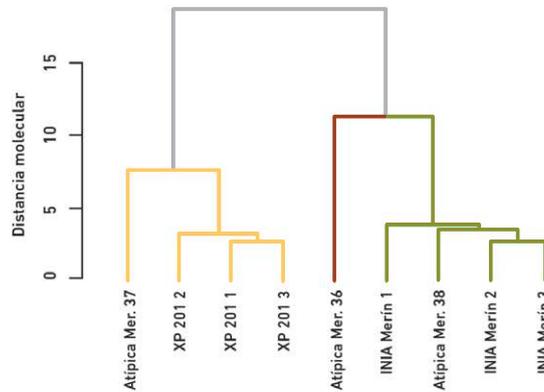
SLI 9197 e INIA Merín, lo que sugiere que su origen podría deberse a una mezcla varietal con dichas variedades. Por otra parte, las Atípicas Tac. 2 y 20 presentaron niveles intermedios de heterocigosis (2,4 y 5,2 %, respectivamente) y una semejanza menor con estas variedades, y agruparon junto con una planta atípica proveniente de una parcela de SLI 9197. La heterocigosis de estas plantas, así como su similitud a otras atípicas y no a las variedades estudiadas, sugieren que una posible causa de su origen podría ser el cruzamiento entre distintos materiales de tipo índica.

INIA MERÍN

En la agrupación basada en los datos moleculares de las plantas atípicas identificadas en parcelas de INIA Merín (Figura 4) se encontraron dos grupos principales: uno con mayor similitud a INIA Merín (en verde), y otro con similitud al híbrido XP 201 (en naranja). En el grupo similar a INIA Merín se ubicó la planta Atípica Mer. 38 la cual fue genéticamente muy similar a los testigos de la variedad y presentó muy baja heterocigosis (0,6 %). Se diferenció de la variedad por presentar un ciclo ocho días menor. Esto sugiere la posibilidad de que fuera una variante de la propia variedad que segregó puntualmente para esta característica.

Con un nivel algo menor de similitud a INIA Merín se ubicó la planta Atípica Mer. 36 (en rojo), que a su vez se diferenció de la variedad a nivel morfológico al presentar aristas largas distribuidas a lo largo de toda la panoja, panoja compacta, cáscara de grano negra, altura de planta mayor a 20 cm, mientras que INIA Merín no presentó coloraciones en la cáscara del grano, la distribución de aristas fue en los dos tercios de la panoja no presentando aristas en la base y su panoja semicompacta. Estas cuatro características son compartidas con el arroz maleza conocido como arroz negro. Además, esta atípica presentó una heterocigosis de 38,9 %. Esos resultados en conjunto sugieren que un posible origen de esta atipicidad sea el cruzamiento con arroz negro. Serán necesarios análisis que incluyan plantas de arroz maleza para arrojar mayores evidencias sobre esta posibilidad.

En el grupo naranja se encuentran las tres plantas testigos del híbrido XP 201 y la planta Atípica Mer. 37. Ellas mostraron mayor diferencia genotípica y morfológica con respecto a INIA Merín. La Atípica Mer. 37 presenta caracteres similares a los de XP 201 como pigmentación púrpura en las vainas del tallo y en el ápice del grano, color verde medio en hoja, porte de planta abierto, mientras que INIA Merín no presentó pigmentación en ninguna estructura de la planta (Figura 5), su color de hoja fue verde claro y presentó



- La variedad y las atípicas que se diferencian por una característica
- Atípica que se diferencia de INIA Merín por cuatro características.
- Atípica que se diferencia de la variedad por presentar coloración púrpura en diferentes estructuras de la planta y cultivar con mayor similitud genética y morfológica a esta atípica.

Figura 4

Dendrograma basado en distancias moleculares para los genotipos obtenidos en parcelas de INIA Merín y su relación con otros cultivares y plantas atípicas presentes en parcelas de otros cultivares. La coloración de las ramas del dendrograma representa la cantidad de características observadas que la distinguen de la variedad.



Figura 5

Izquierda: planta perteneciente a XP 201 con pigmentación en la vaina del tallo.
Derecha: planta perteneciente a INIA Merín, la cual no presenta pigmentación en la vaina del tallo.

porte de planta cerrado. La heterocigosis de esta atípica fue de 16,3 %, un valor similar al encontrado en otros estudios para cultivares híbridos. Estos resultados sugieren que el origen de esta atípica pueda ser debido a mezcla física con el híbrido XP 201.

EEA 404

Los resultados obtenidos de la información molecular identificaron homogeneidad entre las tres plantas testigos de la variedad EEA 404 (Figura 6). En este caso, las distancias genotípicas basadas en información molecular no se correspondieron con la diferenciación basada en descriptores morfológicos. Para las plantas atípicas provenientes de las parcelas de esta variedad se encontró un grupo que presentó alta similitud genotípica con EEA 404 (verde) y dos plantas Atípica 404 32 y 35 que no presentaron similitud genotípica con EEA 404. En el grupo similar a la variedad se ubicaron las plantas Atípicas 404 30, 31, 33, 34 y 42, las cuales presentaron baja heterocigosis (0,4 a 0,6 %). Estas atípicas se diferenciaron morfológicamente de EEA 404 por una o dos características observadas: la Atípica 404 42 se diferenció por presentar mayor altura de planta, mientras que las Atípicas 404 31 y 33 presentaron porte de hoja bandera erecto en lugar de horizontal que presenta la variedad. La Atípica 404 30 presentó mayor altura y aristas distribuidas a lo largo de toda la panoja, mientras que la variedad presenta aristas solo en un tercio de la panoja. Estos resultados sugieren que las plantas atípicas en este grupo se podrían haber originado como variantes de la propia variedad por segregaciones puntuales en los genes que determinan estas características.

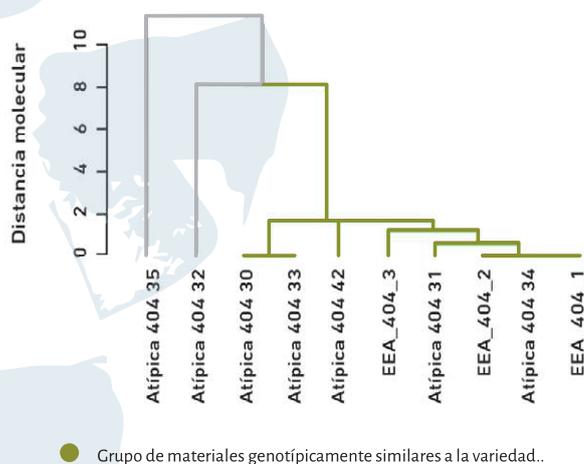


Figura 6

Dendrograma basado en distancias moleculares para los genotipos obtenidos en parcelas de EEA 404.

La planta Atípica 404 32 presentó una similitud genotípica intermedia con EEA 404 y no se asemejó genotípicamente a ninguno de los cultivares incluidos en este estudio ni con las otras plantas atípicas analizadas. Morfológicamente se asemejó a la Atípica 404 35. Presentó una heterocigosis de 22,8 % lo que sugiere como posible origen de la atipicidad el cruzamiento con otros materiales no incluidos en este estudio.

La planta Atípica 404 35 fue la más diferente a la variedad y tampoco presentó similitud genotípica con otros cultivares o atípicas estudiadas. Con una altura mayor a 20 cm mayor que EEA 404 y una heterocigosis de 22,3 %, su posible origen puede también ser atribuible a cruzamientos con otros materiales no incluidos en este estudio.

DISCUSIÓN

Este trabajo aporta las primeras evidencias a nivel nacional para explicar los orígenes de la atipicidad en la producción de semilla certificada de arroz. La información que aporta el panel de SNP es adicional y complementaria a la observación de descriptores morfológicos, dado que muestra las relaciones genéticas entre los cultivares y las plantas atípicas, así como el grado de heterocigosis o fijación de las variantes genéticas heredadas de uno u otro padre. Esta información adicional que brinda el panel resultó muy útil para identificar posibles orígenes de estas plantas.

Entre las plantas atípicas que se diferencian morfológicamente del cultivar en una única característica, encontramos que algunas también son muy similares genotípicamente al cultivar y tienen baja heterocigosis, lo que sugiere su origen por segregación de pocos genes. En estos casos solo mediante descriptores morfológicos fue posible diferenciar la planta atípica del cultivar, por no presentar diferencias significativas a nivel genotípico. Ello es debido a que, para algunas características determinadas por pocos genes, basta con que solo ellos estén segregando para que se observe variabilidad, mientras que los 1.024 SNP del panel únicamente representan una reducida proporción dispersa al azar a lo largo de todo el genoma del arroz que pudo no haber capturado esa variación puntual.

En cambio, otras plantas atípicas fueron morfológicamente similares, pero genotípicamente muy diferentes al cultivar, mostrando que puede existir diversidad genética importante que no es observable fenotípicamente. Estos casos pueden ser interpretados como producto de cruzamientos entre el cultivar y otros cultivares con algunos descriptores morfológicos similares, pero con un trasfondo genético diferente.

Finalmente, todas las plantas atípicas que presentaron grandes diferencias morfológicas con el cultivar, también resultaron ser genotípicamente muy diferentes a él, mostrando concordancia entre ambas fuentes de información. Contar con la información adicional de semejanza genotípica permitió establecer a qué materiales genéticos se parecían más estas plantas atípicas, evidenciando su posible origen, ya sea por cruzamientos con otros cultivares o incluso con arroz maleza (cuando el nivel de heterocigosis era alto) o por mezclas varietales (cuando el nivel de heterocigosis era bajo).

CONCLUSIONES

El uso de una herramienta biotecnológica como el panel de SNP RiCA 1K v.4 permitió incorporar un nuevo nivel de información para la identificación y el estudio de plantas atípicas en los procesos de certificación de semilla de arroz, complementando y enriqueciendo la información que aporta la descripción morfológica.

Si bien el manejo de la atipicidad en la producción de semilla certificada de arroz es un problema que se controla actualmente de forma eficaz, conocer el origen de la atipicidad permitirá diseñar estrategias para mantener y mejorar su control, y aumentar la pureza varietal de los lotes de semillas contribuyendo de esa forma a la eficiencia y productividad del sector arrocero.

BIBLIOGRAFÍA

- Arbelaez J.D., Dwiyantri M.S., Tandayu E.** 1k-RiCA (1K-Rice Custom Amplicon) a novel genotyping amplicon-based SNP assay for genetics and breeding applications in rice. 2019. *Rice* 12, 55.
- Chen L.J., Lee D.S., Song Z.P., Suh H.S., Lu B.R.** 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann Bot.* 93(1):67-73.
- Ellstrand N. C., Prentice H. C., Hancock J. F.** 1999. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30: 539–563.
- Jia S., Wang F., Shi L., Yuan Q., Liu W., Liao Y., Li S., Jin W., Peng H.** 2007. Transgene flow to hybrid rice and its male-sterile lines. *Transgenic Research* 16:491–501.
- Lee J., Park J.H., Koh H.J.** 2013. Morphological and genetic characterization of off-type rice plants collected from farm fields in Korea. *J. Plant Biol.* 56, 160–167.
- Lentini Z. & Espinoza A.** 2005. Coexistence of Weedy Rice and Rice in Tropical America - Gene Flow and Genetic Diversity. In: *Crop Fertility and Volunteerism: A Threat to Food Security in the Transgenic Era.* J. Gressel, ed. CRC Press. 303-319 p.
- Tarán, C.** 2019. Orgullo celeste. La certificación de semilla de arroz. *Arroz (ACA)*, v.19, N° 98 p. 72-73.
- UPOV (Unión para la Protección de Obtenciones Vegetales).** (2020). Arroz: directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. Consultado el 20 de marzo del 2023, de https://www.upov.int/test_guidelines/es/fulltext_tgdocs.jsp?lang_code=ES&q=arroz