

# ESTRATEGIA DE SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES PARA TOLERANCIA AL FRÍO EN FLORACIÓN DEL ARROZ (*Oryza sativa* L.)

Edgar Corredor Solano<sup>1</sup>; Maribel Cruz<sup>2</sup>; Constanza Quintero<sup>3</sup>

Palavras-chave: **marcadores moleculares, calidad del grano, FONTAGRO, FLAR**

## INTRODUÇÃO

La ocurrencia de bajas temperaturas nocturnas durante el desarrollo reproductivo, es uno de los factores más limitantes de los rendimientos del arroz en el sur de Australia. Los investigadores han encontrado que el 75% de los años, los productores de arroz sufren pérdidas entre 0,5 y 2,5 t/ha. El análisis económico revela que la incorporación de selección por tolerancia al frío en el programa de mejoramiento, daría lugar a un aumento significativo de los beneficios económicos, a través de la reducción de las pérdidas debidas al frío y del aumento en el rendimiento por la mejor utilización del nitrógeno en este tipo de variedades (Singh, Rajinder Pal et al, 2005).

El área de influencia del Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego (FLAR), en la zona templada latinoamericana se ubica desde los 30° S – 53° W en Rio Grande do Sul hasta los 37° S – 71° W en Chile y los factores climáticos allí, tienen consecuencias similares a los que se presentan en Australia por razones de latitud.

En el proyecto FONTAGRO, FTG 8009/08, Titulado “Selección asistida por marcadores moleculares para tolerancia al frío del arroz en el cono sur latinoamericano: una estrategia para enfrentar la inestabilidad climática”, el FLAR es el líder y genera el germoplasma base para el desarrollo del proyecto. Participan como miembros del consorcio: el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Argentina, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) de Uruguay y con recursos propios, el Instituto Riograndense do Arroz (IRGA). En la evaluación de germoplasma generado por el proyecto, además de los miembros del consorcio ha participado el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Chile. El proyecto contó con la colaboración del National Agricultural Research Center of Hokkaido (NARO/HARC), a través de un evento de capacitación y actualización durante tres meses, en Japón, sobre selección asistida para tolerancia al frío en floración. Los beneficiarios, un grupo de cinco funcionarios del consorcio, llevó como material de práctica, muestras de ADN de los genitores de interés para el proyecto y su país, Posteriormente un funcionario de NARO/HARC realizó una visita técnica de seguimiento al proyecto en CIAT y en Uruguay.

En este documento se presenta la estrategia de mejoramiento apoyada en la selección asistida por marcadores moleculares y muestra algunos resultados obtenidos hasta el presente por el FLAR para la zona templada latinoamericana, con referencia a: 1. La obtención, asistida por marcadores moleculares, de poblaciones mejoradas por su tolerancia al frío, 2. La evaluación fenotípica y genotípica de retro cruzamientos avanzadas (BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>) y 3. La evaluación de calidad molinera del germoplasma derivado del proceso descrito.

---

<sup>1</sup> M.Sc. Fitomejoramiento. FLAR, Recta Cali-Palmira Km 17, e.corredor@cgiar.org

<sup>2</sup> M.Sc. Candidata a Ph.D. en Fitomejoramiento, FLAR

<sup>3</sup> M.Sc. Recursos Fitogenéticos, CIAT

## MATERIAL E MÉTODOS

El trabajo se desarrolló principalmente en el campus del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) 3°30' N y 76°21' W, en Palmira - Colombia. El CIAT asumió la responsabilidad del genotipado, el FLAR los compromisos de la evaluación fenotípica por tolerancia al frío en floración y la generación de las poblaciones. Los demás miembros del consorcio se encargaron de evaluar tanto fenotípicamente como genotípicamente el germoplasma de cada uno de sus países, de acuerdo con sus prioridades; así el INTA hace énfasis en la tolerancia al frío en etapa vegetativa y el INIA-Uruguay centra su prioridad en la etapa reproductiva.

La estrategia utilizada en el presente trabajo consistió en:

1. La selección de genitores reportados con tolerancia al frío como los cultivares Silewah, Pady Labou Alumbis, M202, Lemont, Quila 66304, Quila 64117 y L 2825CA; a estos genitores se adicionaron las variedades adaptadas en los países miembros del consorcio, a saber: INIA OLIMAR, El Paso L 144, IRGA 423, IRGA 424 y dos líneas FLAR originadas de los cruzamientos: FL05371 y FL07676.
  2. La ejecución de un programa de 40 cruzamientos simples.
  3. Con los resultados genotípicos obtenidos en CIAT y los de la evaluación fenotípica se redujo de 40 a nueve el número de cruzamientos a participar en el proyecto; los demás se guardaron para posteriores trabajos.
  4. Obtención de los retro cruzamientos BC1, BC2 y BC3 a partir de los nueve cruzamientos seleccionados. En cada generación filial se guardó semilla para avanzar por autofecundación y seleccionar por tipo de planta, ciclo de cultivo y para enviar a los países miembros del consorcio. Parte de esta semilla se guardó para futuras evaluaciones relacionadas con estudios de herencia.
- 4.1 Siembra y Evaluación genotípica de la población F1 utilizando marcadores microsatélites asociados con tolerancia al frío en estado reproductivo, siguiendo los procedimientos reportados por Quintero y otros, en el Informe a FONTAGRO 2011. Los microsatélite pertenecen a las regiones qCTB1 (Chr 1), qCTB2 (Chr 2), qCTB3 (Chr 3), Ctb1 y Ctb2 (Chr 4), qCTB5 (Chr 5), CTB9 (Chr 9) y qCTB12 (Chr 12), (FONTAGRO, 2011-2012) y qCtb8 (Chr 8)(K. Saito et al, 2004) y (K. Makoto et al, 2007).
  - 4.2 Selección de plantas con el mayor número de alelos favorables para tolerancia al frío en etapa reproductiva; para utilizarlas como genitores en la obtención del primer retro cruzamiento
    - 4.2.1 Mediante la evaluación genotípica de las poblaciones BC1F1, BC2F1, BC3F1 se seleccionaron las plantas para ejecutar el siguiente retro cruzamiento y para avanzar poblaciones por autofecundación (generar retro cruzamientos avanzadas (BC<sub>i</sub>F<sub>j</sub>)).
    - 4.2.2 Selección de cuatro poblaciones BC2F2 para evaluación en campo. Teniendo en cuenta la expectativa de cada cruzamiento con el que se generaron los retro cruzamientos respecto a la combinación de la tolerancia al frío y la adaptabilidad del padre recurrente; así: para CIAT-FLAR y

Uruguay : la población FL12375 (Silewah (tolerante en reproductivo) x IRGA 424); para Argentina y Uruguay :población FLI12355 (L2825 CA (tolerante en reproductivo) x IRGA 423); para Argentina: población FLI12362 M202 (tolerante vegetativo)x INIA OLIMAR); y para Uruguay : población FLI12381 (Silewah (tolerante en reproductivo) x IRGA 423).

4.2.3 Evaluación fenotípica de la población FL12375: que experimental fue conformada por 227 individuos. Al grupo se sumaron los cultivares testigos para el frío en etapa reproductiva a saber: Oryzica 1 (susceptible), L 2825 CA y L 3616 (Tolerantes). En el análisis de la información generada, se usó el índice de Duque y Cruz (M, Cruz, 2010; FONTAGRO 2011-2012) que combina la tolerancia al frío, con la capacidad productiva de cada genotipo, expresado en forma relativa al promedio de los controles de tolerancia y producción utilizados en el experimento. En este caso se tuvo en cuenta el comportamiento del donante de tolerancia (Silewah) y del genitor recurrente IRGA 424. Para la evaluación genotípica (Quintero et al., FONTAGRO 2011-2012), se procesaron 280 muestras que incluyeron: la población (n=227), los parentales (n=13) y los controles (n=40).

4.3 Teniendo en cuenta el comportamiento durante la evaluación fenotípica por tolerancia al frío en las poblaciones BC2F2, se seleccionaron plantas de las familias: FL12375-18P-3P y FL12375-18P-1P. Ellas fueron cruzadas con las variedades IRGA 426, El Paso L144 y TRANQUILO FL -INTA y así se generaron nuevas poblaciones para dar continuidad y aplicación a los resultados generados en el proyecto.

5 Obtención de la generación BC4, obtenida sin evaluación genotípica de las semillas BC3. En paralelo cada una de las retro cruza que involucran al cultivar Silewah, se avanzaron por descendencia de semilla única modificada hasta BC3F4 y BC4F4 para evaluar calidad molinera y culinaria.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De las poblaciones BC3F1, siete se han evaluado genotípicamente con 21 marcadores micro satélites para tolerancia al frío en etapa reproductiva.

Las poblaciones enviadas al INTA- Argentina se caracterizaron por presentar un ciclo inferior a la variedad Taim.

En la evaluación fenotípica en condiciones controladas, seis de los 227 genotipos evaluados en la población BC2F2 (FL12375) presentaron comportamiento similar al donante Silewah (ITi: 0.72); cultivar tolerante al frío.

Al evaluar la capacidad productiva (peso de los granos, tanto en la panícula tratada como en el control) se encontraron 85 genotipos (39% de la población) que superaron al padre recurrente. Ninguno como Silewah (1.0) y siete con valores entre 0.69 y 0.83 lo que significa que tienen, en promedio, el 76% de la capacidad productiva de Silewah y 27% más que Irga 424

Se generaron nuevas poblaciones F2 a partir de tres cruzamientos simples entre familias BC2F3 con dos recientes variedades de Argentina y Brasil y una importante variedad del Uruguay que permitirán dar seguimiento a los resultados obtenidos en el proyecto y ampliar la incorporación de la tolerancia al frío en el germoplasma de la zona Templada Latinoamericana.

En el grupo de 20 líneas BC3F4 y BC4F3 se destacaron las familias FL13440-3P-MP, FL13459-2P-MP por presentar porcentajes de grano entero mayores al 65%, con contenidos de amilosa superiores al 27%, con respecto a cocción las muestras presentaron buena palatabilidad que correlacionó con arroz consistente al paladar. En la olla se observó expansión y buenas características visuales relacionadas con granos sueltos y secos; este comportamiento es similar al de las variedades de la región como INIA OLIMAR y genera expectativa sobre el potencial del germoplasma generado dentro del proyecto.

## CONCLUSÃO

Se reafirmó la importancia del trabajo colaborativo y el aprovechamiento de oportunidades de financiación para avanzar en la implementación regional de estrategias generales que beneficien a la región en temas como la capacitación, actualización en temas que están en constante desarrollo tecnológico

La estrategia de incorporar la selección asistida por marcadores moleculares en el esquema de mejoramiento por tolerancia al frío en floración del arroz permite: evaluar mayor número de poblaciones, reducir el tiempo e incrementar las posibilidades de incorporar esta tolerancia en germoplasma de interés.

La evaluación fenotípica en BC2F2 del cruzamiento que involucró el donante de la tolerancia al frío en floración permitió identificar individuos con mejor respuesta fenotípica al frío que el donante.

La evaluación genotípica y selección de individuos que acumularon alelos favorables para la tolerancia al frío en floración para usarlos como genitores para el subsiguiente retro cruce permitió avanzar al menos dos poblaciones y explorar el comportamiento relacionado con calidad del grano y contenido de amilosa augurando una adecuada combinación entre estas tres características.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**FONTAGRO, Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria.** Disponible en: [http://www.fontagro.org/sites/default/files/stecnico/2011\\_ISTA\\_08\\_09.pdf](http://www.fontagro.org/sites/default/files/stecnico/2011_ISTA_08_09.pdf)

**K.Saito, Y. Hayano-Saito, W. Maruyama-Funatsuki, Y. sato and A. Kato.** 2004. Physical mapping and putative candidate gene identification of quantitative trait locus Ctb 1 for cold tolerance at the booting stage of rice. *Theoretical and Applied Genetics*. **109**(3), 515-22.

**Makoto Kuroki, Koji Saito, Shuichi Matsuba, Narifumi Yokogami, Hiroyuki Shimizu, Ikuo Ando and Yukata Sato.** 2007. A quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage on rice chromosome 8. *Theoretical and Applied Genetics*. **15** (5), 593-600

**M.Cruz.** 2010. Tolerancia del arroz a la temperatura baja. In: Degiovanni Beltramo, Victor M.; Martínez Raciness, César P.; Motta., Francisco (eds.). Producción eco- eficiente del arroz en América Latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. P.180-190. (publicación CIAT NO.365)

**Rajinder P. Singh, John P. Brennan, Tim Farrel, Robert Williams, Russell Reinke, Laurie Lewin and John Mullen.** 2005. Economic analysis of breeding for improved cold tolerance in rice in Australia. *Australasian Agribusiness Review* **13**.