

Selección recurrente en arroz, proyecto CIRAD/CIAT

Cécile Grenier; Yolima Ospina y Mare Châtel

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia

RESUMEN

Este artículo ofrece una retrospectiva como también nuevas direcciones del proyecto de arroz bajo el convenio de colaboración CIRAD/CIAT. Desde el año 1992 el grupo ha manejado un programa de mejoramiento del cultivo de arroz basado en pre-mejoramiento por selección recurrente. Esta etapa de mejoramiento poblacional ha sido fundamental para la constitución de un grupo de materiales de alta diversidad genética, con características de interés, del cual se extrajeron líneas para desarrollo de variedades y selección de nuevos parentales para el programa de mejoramiento. El proyecto ha enfocado sus actividades en el mejoramiento del arroz de secano para las condiciones de sabana. Mas recientemente, motivado por los eventos recurrentes de sequía que ocurren durante el ciclo del cultivo, y por la necesidad de disminuir la dependencia de la agricultura en el consumo de agua, se incorporó un nuevo enfoque para mejorar las poblaciones sintéticas por tolerancia al estrés hídrico en arroz de secano. Ahora el grupo está investigando metodologías para integrar herramientas moleculares en el mejoramiento poblacional para el manejo de las poblaciones sintéticas sometidas a la selección recurrente, como también para proceder a una selección mas eficiente de futuras líneas parentales y/o de líneas para el desarrollo de variedades. En este artículo señalamos datos que sustentan el concepto de selección recurrente como base esencial en un programa de mejoramiento, y como método para generar material para estudios genéticos.

Palabras clave: Selección recurrente, mejoramiento poblacional, arroz de secano, sequía, selección genómica

*Autor de correspondencia: Yolima Ospina

E-mail: y.ospina@cgiar.org

Mejoramiento poblacional

El mejoramiento poblacional a través de la selección recurrente es una metodología elegida para permitir un progreso genético continuo de características cuantitativas. La premisa de la selección recurrente se basa, en el incremento de las frecuencias de alelos favorables dentro de una población, a través de ciclos de selección y recombinación. El proceso se establece, con el mejoramiento gradual del germoplasma a través de selección y recombinación de las unidades con mejor desempeño. Inicialmente el método fue desarrollado para cultivos alógamos como el maíz (Hallauer, 1992) y luego fue aplicado al arroz con cruzamientos controlados (castración manual de flores) o a través del uso del gen de nuclear recesivo de esterilidad (*ms*) (Châtel y Guimarães, 1997). Una de las principales ventajas de la selección recurrente, es que constituye un marco eficiente para combinar el mejoramiento centralizado hacia un número limitado de características complejas con un mejoramiento descentralizado para características específicas de sitios.

Las poblaciones de selección recurrente no solamente constituyen un material valioso para el mejoramiento, sino para conectar mejoramiento y genética. Capitalizando sobre los numerosos ciclos de recombinación dentro de un grupo de germoplasma altamente diverso, las poblaciones de selección recurrente presentan un germoplasma apropiado para el mapeo de asociaciones y el descubrimiento de genes (Breseghello *et al.*, 2006).

Mejoramiento poblacional del arroz en América Latina y el Caribe

Desde los años noventa mejoradores de arroz en América Latina y el Caribe (ALC) han usado la selección recurrente para explotar la riqueza de los recursos genéticos con la creación de varias poblaciones y la capacitación de números científicos (Guimarães, 2005). El mejoramiento poblacional del arroz bajo este esquema comenzó en 1992, con el proyecto colaborativo entre el Centro de Cooperación en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD, acrónimo en francés para Centre de Coopération en Recherche Agronomique pour le Développement) en Francia y el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Colombia a partir de poblaciones básicas previamente desarrolladas por el proyecto de cooperación entre el CIRAD y el Centro de Arroz e Feijão de la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria Arroz e Feijão (EMBRAPA) e introducidas en CIAT.

El enfoque del mejoramiento poblacional de germoplasma de arroz ha sido incrementar su rendimiento de grano bajo riego, secano favorecido y secano estricto (Guimarães 2005) y en algunos casos, conferir tolerancia a estreses bióticos (Guimarães, 1995; Vales, 2009) y/o abióticos (Chatel *et al.*, 2008). Un componente significativo del mejoramiento poblacional del arroz en ALC ha sido una red eficiente de colaboradores de instituciones de Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Colombia, Cuba, Nicaragua, Venezuela y Francia. Esta red informal que funcionó desde 1995 hasta 2008 fue formalizada en 1999 como el grupo de mejoramiento genético avanzado (Grumega) coordinado por CIRAD/CIAT y

EMBRAPA con el apoyo de la FAO. Hasta ahora, ninguna otra red ha reemplazado a Grumega en su principio fundamental.

Entre 1995 y 2006 más de 40 poblaciones de arroz fueron desarrolladas, con más de 25 de ellas generadas bajo la coordinación del programa arroz de CIAT para adaptación a varios ecosistemas como tierras bajas tropicales y tierras altas; ambientes favorables y no-favorables; zonas templadas de tierra bajas; condición de secano y riego; sistemas mecanizados y manuales; y las zonas altas y áreas costeras. Los objetivos principales del desarrollo de esas poblaciones fueron incrementar el potencial de rendimiento, tolerancia a suelos ácidos, tolerancia a frío, resistencia a enfermedades, calidad de grano y precocidad.

El pre-mejoramiento con selección recurrente permite un progreso significativo de las características en mejoramiento en una población sintética, así como extraer líneas de interés para seleccionar y desarrollar materiales para su uso en un programa de selección convencional. El pre-mejoramiento de arroz a través de la selección recurrente condujo al lanzamiento de numerosas líneas en ALC (Nagel *et al.*, 2007). A partir de las actividades de mejoramiento poblacional del proyecto de arroz CIRAD/CIAT varias líneas fueron desarrolladas y lanzadas en la región (Cuadro 1). El impacto en términos de rendimiento y área sembrada con este material derivados de la selección recurrente está bajo estudio.

Cuadro 1. Líneas desarrolladas y lanzadas a partir del pre-mejoramiento del arroz por selección recurrente.

Variedad	Ecosistema	País/Región	Colaboración
Año			
TioTaka 2002	Riego subtropical	B r a z i l , S ^{ta} Catarina	EMBRAPA/EPAGRI/CI- RAD
A C D 2 5 - 28 2005	Riego tropical	Colombia, Tolima	El Aceituno/DANAC/CIAT/ CIRAD
Esperanza 2006	Secano manual & mecanizado	Bolivia, S ^{ta} - Cruz	CIAT-Sc/CIAT/CIRAD
Yara, Paya 2010	Secano/ laderas(pequeña escala)	Bolivia, Ca- ranavi	MAN-B/CIAT-Sc/CIAT/CI- RAD
SD20A 2010	Riego tropical	Venezuela	DANAC/CIAT/CIRAD
Zafiro 2010	Riego templado	Chile	INIA/CIAT/CIRAD

La selección recurrente en el proyecto CIRAD/CIAT

El proyecto CIRAD/CIAT ha sido parte del grupo pionero de la selección recurrente en arroz en ALC y del mejoramiento poblacional del arroz de manera global. El proyecto tiene sus actividades en pre-mejoramiento y mejoramiento de arroz, y recientemente el grupo ha incorporado la investigación sobre la integración de herramientas moleculares para mejorar la eficiencia de la selección y realizar estudios de genética del cultivo.

Criterio de selección

El proyecto de arroz del CIRAD/CIAT enfoca su investigación en el mejoramiento genético del arroz de secano, particularmente para las condiciones de sabanas. Desde 1995 el proyecto de mejoramiento poblacional de arroz de secano se ha concentrado en mejorar los materiales genéticos y las poblaciones para características como tolerancia a suelos ácidos, resistencia a pyricularia (*Pyricularia oryzae*), precocidad, rendimiento y calidad de grano. Líneas avanzadas derivadas de una población mejorada para condiciones de suelos ácidos con un ciclo de selección recurrente, fueron evaluadas en suelos ácidos en los Llanos Orientales de Colombia. Los resultados mostraron una ganancia en rendimiento entre 132% y 150% en comparación con la variedad local (Cirad 409) adaptada a la región donde se evaluaron los materiales (Châtel *et al.*, 2008). Los autores identificaron también líneas con calidad de granos superior a la de los testigos locales. Este estudio demuestra claramente que a partir del pre-mejoramiento para tolerancia a condiciones de sabanas se puede desarrollar variedades de gran interés para la región de los Llanos, y probablemente otras regiones con suelos ácidos.

Con la limitante de disponibilidad en agua y para enfrentar episodios recurrentes de sequía, el proyecto ha ido implementando actividades de evaluación y selección para tolerancia a sequía y el mejor uso del agua. Desde 2008, se ha trabajado en conjunto con fisiólogos del CIRAD para adaptar una metodología que permitiría hacer evaluaciones de tolerancia a sequía con un grupo amplio de genotipos (Audebert *et al.*, 2009). En la estación experimental del CIAT en Santa Rosa (Villavicencio), se aprovecha la época de sequía para evaluar la tolerancia al déficit hídrico. Usando termografía infrarroja, se ha logrado discriminar genotipos que aún expuestos a estrés hídrico mantienen sus actividades de transpiración, y tienen una temperatura foliar bajo estrés (T_s) comparable o relativamente más alta bajo condiciones hídricas normales (T_n). Para cada línea se pueden expresar los valores promedios, mínimos y máximos de la temperatura foliar. La evaluación con la termografía infrarroja ha permitido seleccionar dentro de 400 familias $S_{0,1}$, líneas con una diferencia de temperatura T_d ($T_d = T_s - T_n$) mínima. Para optimizar el proceso de selección, se ha desarrollado una metodología que permite una evaluación directa sobre plantas individuales S_0 (población de 1000 plantas). Con esta metodología de evaluación se seleccionaron ocho plantas S_0 fértiles, de las cuales se recombino semilla S_1 para conformar una nueva población con tolerancia a sequía. Las familias S_1 derivadas del primer ciclo de recombinación están a punto de entrar a evaluación.

Cuadro 2. Líneas seleccionados de ensayos de rendimiento conducidas bajo condiciones de suelos ácidos (Estación Experimental de La Libertad, Villavicencio, Colombia) en 2000, 2001 y 2002.

Líneas	Rendimiento de grano (kg/ha)									
	Año						Incremento sobre testigos (%)			
	2000	2001	2002	Pro	O. Sabana 6	CIRAD 409	O. Sabana 6	CIRAD 409	O. Sabana 10	O. Sabana 10
PCT-4\SA\1\1*	3644	3333	2924	3300	1.35	1.5	1.35	1.5	2.13	2.13
975-M-2-M-3	3275	3480	2669	3141	1.28	1.42	1.28	1.42	2.03	2.03
975-M-2-M-2	3215	3439	2580	3078	1.26	1.4	1.26	1.4	1.98	1.98
975-M-3-M-2	3367	3081	2529	2992	1.22	1.36	1.22	1.36	1.93	1.93
975-M-3-M-3	3277	3240	2388	2968	1.21	1.35	1.21	1.35	1.91	1.91
975-M-3-M-5	3321	3179	2375	2958	1.21	1.34	1.21	1.34	1.91	1.91
1479-M-1-M-4	3028	3477	2271	2925	1.19	1.33	1.19	1.33	1.89	1.89
1479-M-1-M-3	3016	3444	2306	2922	1.19	1.32	1.19	1.32	1.88	1.88
1479-M-1-M-5	2868	3647	2206	2907	1.19	1.32	1.19	1.32	1.87	1.87
1036-M-6-M-2	3265	3300	2142	2902	1.18	1.32	1.18	1.32	1.87	1.87
1479-M-1-M-6										
Testigo										
O. Sabana 6	2139	3226	1978	2448	-	0.9	-	0.9	0.63	0.63
CIRAD 409	2332	3531	749	2204	1.11	-	1.11	-	0.7	0.7
O. Sabana 10	1240	2770	641	1550	1.58	1.42	1.58	1.42	-	-

*PCT-4\SA\1\1: Nomenclatura para población PCT-4, un ciclo de selección recurrente para suelos ácidos

Fuente: Châtel *et al.*, 2008.

Cuadro 3. Calidad de grano de las mejores líneas y testigos evaluadas en la Estación Experimental de La Libertad, Villavicencio, Colombia en 2000, 2001 y 2002.

Línea	Centro Blanco			Amilosa (%)
	2000	2001	2002	
PCT-4\SA\1\1>975-M- 2-M-3	0,6	0,3	0,7	25,4
PCT-4\SA\1\1>975-M- 3-M-3	0,5	0,3	0,6	26,4
PCT-4\SA\1\1>975-M- 2-M-1	0,9	0,4	0,7	25
Testigos				
CIRAD 409	0,4	1	0,8	25,5
Oryzica Sabana 6	0,6	0,7	0,4	25,2
Oryzica Sabana 10	0,8	0,5	0,8	24

Fuente: Chatel *et al.*, 2008

Uso de las herramientas moleculares en el mejoramiento poblacional

Las herramientas de biotecnología son frecuentemente usadas en fitomejoramiento para mejorar la eficiencia de selección y reducir el costo de las evaluaciones. En un programa de selección recurrente los marcadores moleculares pueden ser utilizados para dos fines: 1) valorar la diversidad genética de las poblaciones, y 2) apoyar a la selección de genotipos de interés.

Evaluación de la diversidad genética

La premisa de la selección recurrente se basa en explotar la diversidad genética de un germoplasma para desarrollar, mejorar y utilizar poblaciones segregantes como fuente importante de diversidad alélica para los programas de selección convencional. Para responder a las necesidades de programas de mejoramiento a largo plazo, es fundamental mantener suficiente variabilidad genética dentro de una población de selección recurrente. Una vez la población está constituida, es esencial mantener un tamaño eficiente de población para los ciclos de recombinaciones con el fin de evitar el fenómeno de deriva genética.

Se hizo un muestreo de 100 líneas $S_{0,1}$ dentro de 4 poblaciones y se estudió el nivel de polimorfismo en 16 loci de micro-satélites para cuantificar la diversidad genética representativa de las poblaciones. Los marcadores fueron seleccionados para representar los 12 cromosomas de arroz. Un estudio estadístico

básico permitió realizar un conteo de los alelos encontrados, y calcular el índice de Shannon para obtener el valor a la diversidad alélica $I = -\sum p_i \ln p_i$. Los resultados mostraron un alto nivel de polimorfismo, con hasta nueve alelos por locus, con un promedio sobre los 16 loci por encima de los 3.1 alelos por locus.

Cuadro 4. Estimación de diversidad genética (número, promedio y error estándar, EE), de alelos observados (Na) sobre los 16 loci, e índice de diversidad de Shannon (I).

Población	Na			I
PCT-4\0\0\3	2-6	promedio	3.188	0.717
		EE	0.379	0.107
PCT-4\SA\8\1	2-8	promedio	3.250	0.719
		EE	0.496	0.101
PCT-4\SA\2\1-Bo\4\1	2-9	promedio	3.688	0.804
		EE	0.568	0.115
PCT-11\0\0\2-Bo\4\1	2-9	promedio	3.500	0.706
		EE	0.532	0.111

La estimación de las distancias genéticas (distancia euclidiana) entre las líneas permitió representar de forma gráfica las relaciones entre los materiales estudiados (Figura 1). Un análisis de componentes principales sobre las distancias fue realizado usando el programa GenAlEx (Peakall y Mouse, 2006) que genera una representación de los genotipos en un espacio bidimensional. En la figura se observa que los parentales de las poblaciones, aunque todos los padres no fueron incluidos en el estudio, tienen una diversidad genética alta entre ellos, y que las líneas extraídas de las poblaciones muestran una dispersión aun más grande. El espacio determinado por las distancias estimadas a partir de los genotipos de las líneas es más amplio que el definido por los parentales que sirvieron para constituir las poblaciones. Eso describe el efecto de las recombinaciones mezclando alelos de los genotipos parentales.

Con el programa Structure (Pritchard *et al.*, 2000) se hizo un estudio para inferir la estructura del grupo conformado por las 400 líneas (Figura 2). La partición de las cuatro poblaciones según un K (numero de grupos) predefinido de 4 mostró que no hay una diferenciación obvia de las poblaciones.

Selección asistida por marcadores

El proyecto CIRAD/CIAT esta ahora probando el concepto de la selección genómica sobre poblaciones de selección recurrente. La selección genómica se basa en una selección asistida por marcadores sobre la totalidad del genoma (Meuwissen *et al.*, 2001). Esta selección se establece con una estimación de valores genómicos a partir de modelos que permiten asociar los valores fenotípicos

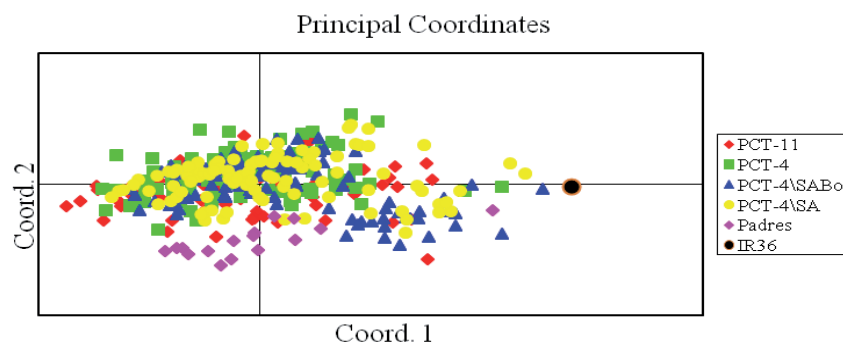


Figura 1. Representación en un espacio bidimensional de las distancias genéticas entre genotipos de cuatro poblaciones y los parentales que contribuyeron a su desarrollo.

con los genotipos de individuos de una población de calibración. Luego una población candidata a selección se estudia por su perfil molecular, a partir del cual se definen los valores esperados en mejoramiento (GEVB, acrónimo en inglés para Genomic Estimated Breeding Values) con los que se hacen las selecciones.

El propósito de las actividades detalladas en la propuesta de aplicar la selección genómica en poblaciones de selección recurrentes, es comparar la eficiencia de la selección basada en los GEVB con la selección basada en los valores reales en mejoramiento (TBV, acrónimo en inglés para True Breeding Values).

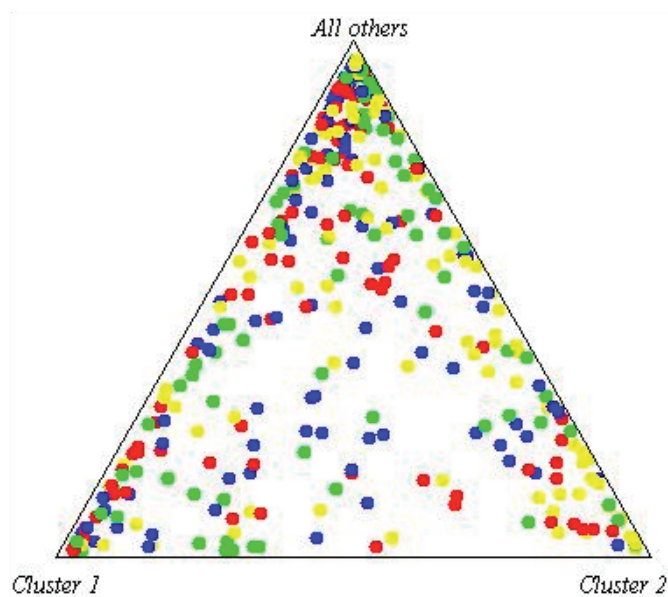


Figura 2. Analisis de inferencia de estrucutra dentro de un grupo de 400 líneas.

Por esta actividad se tiene dos tipos de poblaciones de calibración, una distante de la población candidata a selección y otra estrechamente relacionada. En el primer caso, la población de calibración es un panel de asociación constituido por 180 líneas de arroz tipo japónica. En el segundo caso, la población de calibración es un set de 300 líneas S_4 extraídas del grupo de 400 líneas provenientes de cuatro poblaciones de selección recurrente. La población candidata a selección fue constituida de la recombinación de 35 líneas seleccionadas entre las 300 líneas de la población de calibración. Ahora se están realizando actividades de caracterización fenotípica y molecular de las poblaciones de calibración, para luego desarrollar los modelos permitiendo estimar los GEBV de los individuales de la población candidata a selección genotificada. La población candidata a la selección está ahora completando su primer ciclo de recombinación y será evaluada para estimar los valores de TBV que permitirán conocer la eficiencia de la selección genómica.

CONCLUSIONES

El proyecto CIRAD/CIAT ha trabajado durante más de 20 años en el mejoramiento de arroz mediante el uso de selección recurrente. Logros alcanzados con estos trabajos incluyen la capacitación de numerosos investigadores, mejoradores y estudiantes; el intercambio de germoplasma en toda la región y aún fuera de la región (Camargues, Francia); y el lanzamiento de variedades provenientes de programas de pre-mejoramiento. Aunque el proyecto CIRAD/CIAT ha concentrado sus esfuerzos en arroz de secano con adaptación particular a condiciones de sabanas, la tecnología ha tenido un impacto importante en los programas nacionales de mejoramiento de arroz en la región y para cualquier ecosistema. En conclusión, la selección recurrente asociada a un programa de selección convencional resulta en una diversificación de las fuentes de germoplasma para el mejoramiento genético del cultivo, y ofrece una base importante para combinar el mejoramiento con la genómica.

REFERENCIAS

- Audebert, A.; M. Chatel; C. Grenier; Y. Ospina and R. Rodriguez. 2009. Breeding for water use efficient rice: toward large scale phenotyping under field conditions for Marker Assisted Recurrent Selection (MARS). Poster presented during the InterDrought III Meeting: Shanghai-China 11 – 16 October 2009.
- Breseghello, F. and M.E. Sorrells. 2006. Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Sciences* 46:1323-1330.
- Châtel, M. and E. P. Guimarães. 1997. Recurrent selection in Rice, using a male-sterile gene. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical; Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. 70p.

- Châtel, M.; Y. Ospina; F. Rodriguez and V.H. Lozano. 2005. CIRAD/CIAT Rice Project: Population improvement and obtaining rice lines for the Savannah ecosystem. *In* Guimarães, E.P. (ed.) Population improvement: A way of exploiting the genetic resources of Latin America. FAO, Rome, Italy. pp. 237-254.
- Châtel, M.; Y. Ospina; F. Rodriguez; V.H. Lozano and H. Delgado. 2008. Upland rice composite population breeding and selection of promising lines for Colombian savannah ecosystem. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 38: 1-5.
- Guimarães, E.P. 2005. Population improvement: A way of exploiting the genetic resources of Latin America. FAO, Rome, Italy.
- Guimarães, E.P.; F. Correa-Victoria and E. Tulandé. 1995. GC-91, a broad-based rice synthetic population for blast (*Pyricularia grisea* Sacc.) resistance. *Rev. Bras. Genet.* 18: 553-561.
- Hallauer, A.R. 1992. Recurrent selection in maize. *Plant Breeding Review* 9: 115-179.
- Meuwissen, T.H.E.; B.J. Hayes and M.E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819-1829.
- Peakall, R.; P. Smouse. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Pritchard, J.K.; M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rangel, P.H.N.; O.P. Morais and F.J. Zimmermann. P. 2002. Grain yield gains in three recurrent selection cycles in the CNA- IRAT 4 irrigated rice population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 2: 369-374
- Vales, M.; L. Ségué; S. Bouzinac and J. Taillebois, J. 2009. Improvement of cropping systems by integration of rice breeding: a novel genetic improvement strategy. *Euphytica* 167: 161-164