

UTILIZACION DE LA ENERGIA NUCLEAR PARA EL MEJORAMIENTO GENETICO DE PLANTAS

Willy Navarro Alvarez*

INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento de la energía nuclear y sus posibilidades de utilización, la vida en nuestro planeta ha cambiado. La realidad es que el desarrollo del uso de esta energía ha tomado un tiempo relativamente corto, si se considera que lo más significativo se ha realizado en los últimos cincuenta años. Después de las explosiones nucleares durante la Segunda Guerra Mundial, una de las mayores preocupaciones de la humanidad era si la utilización de la energía nuclear conduciría necesariamente hacia catástrofes como las que se produjeron en Hiroshima y Nagasaki.

Con el nacimiento de la Organización de las Naciones Unidas, esa inquietud fue encauzada con la creación del Organismo Internacional de Energía Atómica, órgano responsable de velar por el buen uso de la energía nuclear. Uno de los principales objetivos de ese organismo fue impulsar un Programa de Usos Pacíficos de la Energía Atómica. Dentro de ese programa, se estableció un subprograma de Uso de la energía Nuclear en la Agricultura. Así, se impulsó el uso de isótopos radiactivos para el estudio de la fisiología de plantas y animales, el uso de radioisótopos en el estudio de suelos y contaminación de aguas en ríos y aguas subterráneas, el uso de irradiaciones ionizantes para la esterilización de insectos, y el uso de irradiaciones ionizantes para la inducción de mutaciones.

A partir de 1985, el Programa de Genética Vegetal de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional inició proyectos de investigación en mejoramiento genético de cultivos, utilizando técnicas nucleares.

Inducción de mutaciones en plantas

Con el esclarecimiento de las bases moleculares de la herencia, a partir de los estudios realizados por James Watson y Francis Crick en la década de los años cincuenta, se estable-

* Programa Genética Vegetal. Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional. Costa Rica

ció el conocimiento de la estructura molecular del ácido desoxirribonucleico (ADN). Esta sustancia, contenida en los cromosomas y responsable del mensaje genético por el cual los padres heredan sus características a los hijos, mantiene una composición específica que confiere la identidad a los individuos.

El código genético depende de la manera en que cuatro compuestos constituyentes del ADN, las bases nitrogenadas, se entrelazan para formar la molécula. La manera como se reproduce esta molécula garantiza que el mensaje genético se mantenga inalterable en condiciones normales, generación tras generación. Eso se debe a que existen pares de bases nitrogenadas que se unen de una manera complementaria y específica. Así, una Adenina siempre estará unida a una Timina, y una Guanina siempre a una Citosina.

Además, el código genético está establecido por tripletas de estas bases nitrogenadas, de manera secuencial. Cada una de las tripletas, o codones, funciona como código para establecer los diferentes caracteres.

Del conocimiento de la estructura y del sistema de duplicación de la información genética se estableció la oportunidad de inducir cambios en el mensaje genético, es decir la posibilidad de construir genes diferentes a los ya presentes en las plantas. Este cambio se conoce como una mutación. Las mutaciones se producen por variaciones en la secuencia de las bases nitrogenadas en el ADN.

Existen sustancias químicas y físicas que son capaces de inducir cambios en la secuencia de las bases nitrogenadas; son los llamados agentes mutagénicos. Dentro de los agentes mutagénicos físicos las irradiaciones emanadas por elementos químicos radiactivos como el Uranio, el Cesio o el Cobalto, tienen un efecto ionizante sobre las bases nitrogenadas que los hace capaces de inducir mutaciones. Este efecto ha sido utilizado por mejoradores de plantas para producir cambios que sean útiles en el manejo agronómico de los cultivos.

Los cambios producidos en los genes tienen la misma capacidad de ser heredados que los genes ya existentes en un organismo. Estos cambios inducidos por los agentes mutagénicos como las irradiaciones gamma, producen tanto efectos benéficos o positivos como negativos. Obviamente un mejorador de plantas tendrá que establecer mecanismos de selección para identificar los efectos positivos que se produzcan después de la irradiación. Con ello, los caracteres mutantes producidos podrán ser utilizados directamente o en programas de cruzamiento, mediante hibridaciones, para ser incorporados en variedades ya establecidas de importancia.

El Programa de Genética Vegetal de la Escuela de Ciencias ha venido utilizando las irradiaciones ionizantes a partir de una fuente de Cobalto 60 para inducir mutaciones en diferentes cultivos. A continuación se presentan dos ejemplos de los resultados obtenidos por nuestro programa, tanto en plantas de reproducción asexual como en cultivos de reproducción por semillas.

Inducción de mutaciones en plantas de reproducción vegetativa. Proyecto de Mejoramiento Genético del Banano

Uno de los mayores problemas para la producción de bananos en Costa Rica lo constituye la enfermedad conocida como sigatoka negra. Esta enfermedad es causada por un hongo que ha resultado extremadamente virulento y destructivo. El control actual de la

enfermedad requiere hasta 40 aplicaciones de fungicidas por año, a un costo económico de cerca de US\$ 2 000 por hectárea. Además, constituye un problema de salud ocupacional de grandes dimensiones y un problema de deterioro del ambiente de una gran magnitud, ya que los fungicidas son aplicados con aviones. La aspersión alcanza a todos los organismos que se encuentren dentro del área de aplicación o sean afectados por la deriva llevada por los vientos. Todavía no existe una evaluación total de los daños producidos por esta práctica de control de la sigatoka negra.

Debido a los problemas ocasionados por el hongo y a lo violento de su ataque, los químicos deben ser cambiados, después de varias aplicaciones, debido a la resistencia adquirida por el hongo. Se considera que la solución más deseable es la obtención de un genotipo similar a los clones comerciales, pero con resistencia o al menos tolerancia a la enfermedad.

En Costa Rica el clon comercial más utilizado es el gran enano (Grand Nain). Este clon es susceptible a la sigatoka negra y es cultivado en unas 40 000 ha.

Debido a que el banano es una planta de reproducción vegetativa, no es posible aumentar su variabilidad genética mediante cruzamiento. Esta limitante no permite utilizar fuentes naturales de resistencia a la sigatoka negra. Por ello, la mutagénesis inducida resulta una herramienta muy útil en la solución de este problema.

La combinación de la propagación *in vitro* de plantas de banano y la mutagénesis *in vitro* nos permitió establecer la posibilidad de generar suficiente variabilidad genética en el clon de banano gran enano. Para ello, se tomaron cormos de plantas seleccionadas por su condición de buena producción y se llevaron al laboratorio de cultivo de tejidos. Se obtuvieron los minicormos y se cultivaron *in vitro*. Posteriormente, cuando se tuvieron suficientes explantes, esto es, brotes o yemas crecidas a unos 4 cm, se cortaron hasta formar una estructura de aproximadamente un centímetro, portadora de un meristemo. Estos meristemas fueron sometidos a irradiación con rayos gamma cobalto 60 a una dosis de 1000 a 1400 rads. Los explantes irradiados fueron nuevamente cultivados y propagados *in vitro* por cuatro generaciones para establecer una segregación celular y poder separar las células mutantes de las células no mutantes. Finalmente, los explantes fueron puestos en un medio de crecimiento para formar plantas y éstas fueron enraizadas. Las plantas fueron aclimatadas y llevadas a invernadero. Una vez que las plantas alcanzaron unos 15 cm de altura, fueron inoculadas con la toxina cruda, extraída de hojas enfermas de sigatoka negra, obtenida de plantas de banano.

Una vez que la enfermedad se desarrolló, se seleccionaron aquellas plantas que mostraron un comportamiento positivo y de ventaja en comparación con los controles y diferenciales utilizados. Un total de siete plantas fueron seleccionadas como tolerantes al efecto de la toxina de la sigatoka negra. Posteriormente estas plantas fueron crecidas en campo para observar su comportamiento e introducidas nuevamente al laboratorio para su micropropagación. Actualmente se desarrolla la segunda fase del proyecto que consiste en la evaluación de los clones obtenidos, en un ensayo de campo. Con ello pretendíamos obtener la información necesaria para conocer si esos materiales tienen potencial como clones para la producción comercial de bananos, y a la vez, encontrar cuáles serían las condiciones agronómicas de su manejo.

Como resultados importantes del Proyecto, además de los clones seleccionados como tolerantes, están la técnica de inducción de mutaciones *in vitro* para musáceas y la

metodología de selección utilizando la toxina cruda de la sigatoka negra (Navarro y Pino 1994), con el fin de identificar plantas mutantes con tolerancia a esa enfermedad. Esta técnica permite seleccionar plantas en forma temprana, es decir, en las primeras etapas de crecimiento.

La utilización de plantas con tolerancia a sigatoka negra permitirá reducir los costos de producción en forma importante y el deterioro del ambiente. Además, permitirá reducir el riesgo de intoxicación de los trabajadores y sus familias que actualmente estén en contacto permanente con los agroquímicos utilizados para el control de la enfermedad.

Inducción de mutaciones en plantas de reproducción sexual. Proyecto de Mejoramiento Genético del Arroz

El arroz es el principal cereal que se siembra en Costa Rica. Constituye un alimento básico para la mayoría de los costarricenses. En los últimos años, su consumo ha venido aumentando en forma importante. En 1994 se consumieron unos 45 kilos de arroz por persona, mientras que durante 1997 el consumo aumentó a 52,5 kilos por persona. Para ser satisfecho este aumento se han venido incrementando las importaciones, ya que debido a la falta de materiales genéticos apropiados, la producción ha sido deficitaria e ineficiente.

Nuestro Programa inició en 1993 investigaciones para aplicar técnicas nucleares al arroz con el objetivo de mejorar el cultivo. El principal problema enfrentado por los agricultores era la susceptibilidad a las enfermedades, factor limitante para una buena producción y que aumenta los costos de producción por la dependencia del uso de agroquímicos. Nuevamente encontramos en las técnicas del control de enfermedades, especialmente de *Pyricularia*, que es la enfermedad más importante, un problema ecológico y de salud, de dimensiones aun no estudiadas. También en el arroz se utiliza la fumigación aérea para el control de enfermedades.

Inducción de mutaciones en arroz para producir resistencia a *Pyricularia*

Semillas de la variedad comercial CR 1821 fueron irradiadas con rayos gamma Cobalto 60. Estas semillas fueron sembradas en un lote masal para la producción de plantas M-1. Una vez obtenida esa generación, las semillas cosechadas fueron sembradas en bandejas para producir las plantas M-2. Después de 22 días de crecimiento, las plantas fueron transplantadas en el campo bajo condiciones de inoculación natural y utilizando controles para observar la presencia de las enfermedades. Las plantas fueron estudiadas de manera individual para observar todas las características agronómicas y biológicas de importancia, durante todo el período de crecimiento y maduración. Durante este período, unas 100 plantas fueron seleccionadas por su comportamiento a las enfermedades y su potencial de producción. En el siguiente ciclo agrícola, las progenies de las plantas seleccionadas fueron sembradas en el campo utilizando un diseño de un surco de 4 metros por cada progenie de plantas seleccionadas, con el propósito de realizar una segunda evaluación tanto del comportamiento frente a enfermedades como de otras características importantes para la producción. En este ciclo fueron evaluadas características como altura de planta, número de hijos

por planta, comportamiento a enfermedades, desarrollo, resistencia al volcamiento, utilización del nitrógeno, etc. Del total de progenies, siete líneas fueron seleccionadas como promisorias para continuar su evaluación en parcelas semi-comerciales.

En el siguiente ciclo agrícola, se realizó una nueva evaluación de todas las características importantes para la producción, incluyendo rendimiento. De las líneas evaluadas se seleccionó una, por su buen comportamiento a enfermedades, buena respuesta a la fertilización y buen rendimiento. Este genotipo requirió un 20% menos de nitrógeno y tuvo un rendimiento de más de 2 toneladas por hectáreas sobre el rendimiento de la variedad progenitora.

El material fue denominado CAMAGO 8, en reconocimiento a don Carlos Manuel González, pionero en la producción de arroz en Costa Rica y propietario de la Hacienda El Pelón de la Bajura, compañía que financió la investigación realizada. La variedad CAMAGO 8 fue oficialmente liberada por el Comité Varietal de Arroz de Costa Rica en marzo de 1996. El proceso de mejoramiento genético para la producción de esta variedad significó un récord por el tiempo requerido para su realización. En un período de tres años y medio, se realizaron todas las etapas para la producción de una nueva variedad. Normalmente se requiere un mínimo de 7,5 años para producir una variedad por hibridización.

La publicación del método utilizado se realizó en el Congreso Internacional de Arroz, celebrado en agosto de 1998 en Arkansas, EE.UU., bajo el título *A Fast Method for Rice Breeding Through Induced Mutations*.

Se realizó un nuevo proyecto para producir otra variedad de arroz. Esta vez el financiamiento fue otorgado por la Cámara de Productores de Semilla de Arroz de Costa Rica. En esta ocasión, fueron irradiadas semillas de la variedad CR 201 con rayos gamma Cobalto 60. Se utilizó la misma metodología establecida para el caso anterior, excepto que su evaluación se realizó en todas las zonas productoras de arroz del país. En solamente tres años ha sido obtenido un nuevo material denominado 1 CA-94. Este material ha sido propuesto para su liberación durante el año 1999, por el Comité Técnico del Programa Nacional de Arroz. El genotipo obtenido ha demostrado ser resistente a las principales enfermedades del arroz en Costa Rica y tiene una producción de un 25% superior a la variedad que lo originó.

Referencias

- Navarro A., W. y Pino A., J. 1994. Selección temprana de plantas de banano con tolerancia a la toxina de Sigatoka negra. Congreso de manejo Integrado de Plagas. San José, Costa Rica, marzo de 1995
- Navarro A., W., Valerín, A., A.T., y Salazar A., R. 1994. Genetic Improvement of Banana through In Vitro Mutation Breeding in Costa Rica. ACORBAT. San José, Costa Rica.
- Navarro A., W. 1998. A Fast Method for Rice Breeding using Induced Mutations. International Symposium on Rice Germplasm Evaluation and Enhancement. Stuttgart, Arkansas, EE.UU.