

Departamento de Química Vegetal. Patronato «Juan de la Cierva»
Facultad de Ciencias, Valencia
Estación Arroceras de Sueca (Valencia)

Influencia de las mutaciones genéticas producidas por irradiación con rayos γ sobre la composición del almidón en variedades de arroz (*)

por

E. Primo, J. de Oyanguren, B. Lafuente, A. Casas y F. Cánovas

Introducción

Las características de hidratación y gelatinización del almidón, en el arroz, definen la calidad de las variedades y su comportamiento en los procesos industriales de preparación de arroz precocido, arroz congelado, arroz enlatado, etc. Por esto, es interesante, tanto para los usos industriales como para el consumo directo, la determinación de aquellos factores íntimamente relacionados con dichas características.

Los trabajos de RAO (1), WILLIAMS (2), HALICK y KENEAS-TER (3) y PRIMO, BARBER y CASAS (4), relacionan algunas medidas físico-químicas con las cualidades de cocción. Actualmente se sabe que el contenido en amilosa es una característica varietal estrechamente relacionada con la capacidad de hidratación del arroz en la cocción.

En la obtención de nuevas variedades por hibridación se vienen considerando como criterios de selección el rendimien-

(*) Comunicación 10-1 a las V Jornadas Bioquímicas Latinas. Barcelona, mayo 1959.

to, la resistencia a enfermedades, el período de vegetación, etc. Sin embargo, los factores de calidad a que nos venimos refiriendo, no se han tenido en cuenta, sobre todo por carecer de métodos de evaluación y de procedimientos de medida aplicables a las pequeñas cantidades de semillas disponibles en las primeras generaciones de los híbridos. Por esta causa, se han dado casos de que estirpes, seleccionadas por los organismos competentes de algunos países para su cultivo en gran escala, han fracasado al cabo de los años, por su escasa aceptación entre los consumidores.

Por irradiación de semillas con rayos γ hemos obtenido un número de mutaciones, las cuales pueden ser utilizadas para obtener nuevas variedades por hibridación. Siendo el contenido en amilosa una característica varietal, es interesante su determinación en las generaciones procedentes de semillas irradiadas, ya que siendo un índice de las cualidades de cocción es también un factor útil para la selección.

Además, PRIMO, BARBER y CASAS (4) han encontrado que, en diez variedades de arroces españolas estudiadas por ellos, las de grano corto tienen un contenido en amilosa superior a las de grano medio y largo. Cabe pensar que ambos caracteres hereditarios están en estrecha relación. Sometiendo semillas de arroz de las variedades Benlloch y Americano 1600, de grano corto, hemos conseguido, en la primera generación, un determinado número de plantas mutantes con granos alargados. En ellas se ha modificado paralelamente la proporción de amilosa, volviéndose a presentar la misma relación entre ambos caracteres.

Parte experimental

Se sometieron semillas de arroz de las variedades Benlloch y Americano 1600 a 3.000, 5.000, 7.000, 15.000 y 50.000 reps de radiación gamma, procedente de una fuente de cobalto-60 de un kilocurie. Las dosis fueron comprobadas mediante dosimetría con azul de metileno (5).

Durante la primavera de 1958 se plantaron en doce parcelas, cinco niveles de irradiación y un testigo, con un total de 1.500 plantas para cada variedad, en terrenos de la Estación Arrocera de Sueca del I.N.I.A. Las semillas irradiadas con 50.000 reps resultaron estériles. En cada parcela se eligieron las mutaciones aparentes y 100 plantas al azar para el estudio de sus características morfológicas y bioquímicas. En todos los niveles de irradiación se observan plantas que presentan panículas con granos estériles, incrementándose, en

general, el grado de esterilidad con la intensidad del tratamiento. Han aparecido 10 y 6 mutaciones visibles de las variedades Benloch y Americano 1600 respectivamente. Para realizar el plantel en la primavera de 1959, de cada una de las 100 plantas anteriores, se han elegido, siempre al azar, 20 plantas y todas las que presentan mutaciones morfológicas. De estas 20 plantas de cada parcela se toman 5 muestras para su estudio químico y se incluyen también todas aquellas mutantes aparentes cuya producción de arroz cáscara supera los 20 gramos. De cada una de dichas plantas, se reservan 100 semillas para realizar el plantel y se pesan 20 gramos de arroz cáscara con el fin de preparar las muestras a analizar. Se descascaran y muelen en molino experimental «Universale» de la Officina Meccanica A. Guidetti, Vercelli, procurando que todas las muestras tengan el mismo grado de elaboración, obteniéndose unos 14-15 gramos de arroz elaborado.

Para el estudio de las variaciones del contenido en amilosa, se utiliza la reacción coloreada con el yodo de la amilosa extraída en condiciones bien determinadas que, según WILLIAMS y col. (2) da un valor relativo del contenido total de la misma y que permite operar con muestras muy pequeñas.

El método utilizado ha sido el siguiente: Una muestra de 1 g. de arroz, triturada hasta 35-45 mallas, se extrae con agua destilada a 77°C durante 45 minutos, filtrando el extracto a través de papel Whatman número 12. Los primeros 50 c.c. de filtrado se desprecian. Se toman 10 c.c. del filtrado en matraz aforado de 100 c.c., añadiendo un cc. de solución de yodo (2 g de yodo y 20 g de yoduro potásico en un litro de solución), un c.c. de HCl al 30 % y agua destilada hasta completar el volumen de 100 c.c. Se deja en reposo durante 30 minutos y se mide la intensidad del color azul con un espectrofotómetro Beckman DU, a 600 m μ . Los resultados se expresan en % de transmisión, que varía inversamente al contenido en amilosa.

Resultados

En la tabla I se dan los valores de las transmisiones del complejo yodo-almidón en las distintas plantas estudiadas que no presentan mutaciones aparentes.

De los valores medios expuestos en la tabla I se deduce que, en los niveles altos de irradiación, se produce una apreciable disminución del contenido en amilosa.

Esporádicamente aparecen plantas con contenidos de amilosa claramente diferenciados con respecto a la variedad original y a la media del nivel de irradiación correspondiente.

TABLA I

Variedad Benlloch				Variedad Americano 1600			
Nivel irrad.	Planta	Transmisión	Valores medios	Nivel irrad.	Planta	Transmisión	Valores medios
Testigo	1	43,4	43,8	Testigo	1	41,6	43,2
"	2	43,2		"	2	42,7	
"	3	43,0		"	3	45,0	
"	4	47,0		"	4	42,8	
"	5	42,2		"	5	44,0	
3.000 r.	14-2	45,5	42,8	3.000 r.	6-1	52,0	50,4
"	16-3	42,4		"	11-3	49,9	
"	4-2	43,4		"	11-2	51,6	
"	2-4	43,9		"	3-2	49,5	
"	11-3	38,9		"	16-3	48,7	
5.000 r.	10-1	50,1	48,1	5.000 r.	12-1	44,9	47,4
"	9-4	46,3		"	25-2	49,4	
"	2-3	46,0		"	11-1	46,5	
"	6-2	50,2		"	5-1	47,1	
"	6-3	47,9		"	8-2	48,9	
7.000 r.	17-3	46,9	48,7	7.000 r.	15-2	49,9	15,6
"	28-2	53,1		"	7-1	52,0	
"	6-2	46,3		"	7-3	48,9	
"	1-1	48,5		"	4-2	51,1	
"	16-2	48,9		"	5-1	56,4	
15.000 r.	24-1	45,6	45,6	15.000 r.	2-3	50,6	51,8
"	3-4	45,3		"	11-2	54,8	
"	6-4	43,8		"	5-1	51,9	
"	13-2	49,2		"	6-3	51,3	
"	20-3	44,5		"	14-4	50,7	

TABLA II

Nivel Irrad.	Planta	I	a	1/a (1)	Mutación aparente	Transmisión (2)	Transmisión media en el nivel (3)
					Variedad Benloch		
Testigo	—	7,1	3,6	1,9		43,8	
3.000 I	102	8,6	3,0	2,8	Alargamiento. Arista larga.	59,6 } 45,7 }	42,8
3.000 I	103	8,5	4,0	2,1	Aumento de tamaño del grano. Perlado.		
5.000 I	101	7,1	3,7	1,9	Paniculas apanojadas.	49,6	48,1
7.000 I	6-3	7,3	3,7	1,9	Aumento tamaño grano.	44,8	48,7
					Variedad Americano 1600		
Testigo		7,2	3,7	2,0		43,2	
5.000 I	15-2	8,1	3,0	2,7	Alargamiento. Vitreo.	57,2 } 57,4 }	47,4
5.000 I	23-3	8,9	3,9	2,3	Alargamiento. Glumilla pilosa.		
7.000 I	104	8,0	3,6	2,2	Alargamiento. Arista larga.	53,0 } 62,5 }	50,5
7.000 I	16-4	8,0	3,7	2,2	Alargamiento. Aristado.		

(1) Media de 20 repeticiones.

(2) Media de 8 repeticiones.

(3) Media de las transmisiones en las muestras de la generación X₁ de cada nivel de irradiación que no presentan mutaciones aparentes.

Estas mutaciones pueden ser interesantes para la introducción de ciertas características de cocción en la obtención de nuevas variedades por hibridación.

Los valores de la transmisión en las mutantes aparentes se dan en la tabla II.

En la tabla II se compara la relación de diámetros ($1/a$), con la transmisión que es un índice inverso del contenido en amilosa.

Las mutantes cuya relación $1/a$ ha alcanzado un valor superior a 2,2 se han subrayado para su mejor identificación. En todos ellos se observa que la transmisión ha experimentado un aumento bien definido, con lo cual aparece de nuevo el hecho encontrado en las variedades actualmente cultivadas en España (4), de que las variedades largas contienen menor proporción de amilosa, sugiriéndonos la idea de una relación entre ambos caracteres hereditarios.

La aplicación del método del yodo a 50 repeticiones de una misma variedad, ha dado una desviación standard en la medida de la transmisión de 1,25.

La generación X_2 , actualmente en período de desarrollo, nos permitirá disponer de cantidades mayores para las muestras. Con ello trataremos de confirmar estos resultados contrastando los índices de amilosa con ensayos de cocción y pruebas organolépticas estadísticas. Asimismo trataremos de estudiar la aplicación a este mismo problema de otros factores que puedan ser índices de calidad como el contenido en amilopectina, esteres fosfóricos, susceptibilidad al ataque enzimático por amilasas o fosfatasas, viscosidad, etc.

Resumen

En la obtención de nuevas variedades de arroz por hibridación, se vienen tomando en cuenta como caracteres de interés el rendimiento, resistencia a enfermedades, precocidad, etc. La característica de gelatinización del grano no es considerada, siendo factor primordial la calidad.

En un trabajo anterior, hemos relacionado las propiedades organolépticas de algunas variedades con medidas físico-químicas, en estrecha dependencia con el contenido en amilopectina y amilosa.

La posibilidad de obtener gran número de mutaciones por irradiación de diferentes variedades nos ha permitido estudiar las modificaciones que aparecen en la composición del almidón, en las generaciones mutantes. Ello constituye un ejemplo interesante de influencia genética en la biosíntesis y permite a los genetistas seleccionarlas según un criterio nuevo para utilizarlas en hibridaciones interesantes.

Se han sometido cinco variedades a 3.000, 5.000, 7.000, 15.000 y 50.000

reps de radiación γ . En la generación X_1 de cada muestra se han estudiado las modificaciones aparecidas en amilosa-amilopectina, respecto a la estirpe original, utilizando medidas espectrofotométricas y de absorción adecuadas al pequeño tamaño de las muestras obtenidas.

Las semillas irradiadas a 50.000 reps han resultado estériles.

En los otros niveles, tanto las mutaciones morfológicas (visibles) como las bioquímicas, aparecen al azar en todas las variaciones.

Summary

Influence of genetic mutations produced by γ rays irradiation on the starch composition in rice varieties

As interesting characters of yield in the obtainance of new varieties of rice by hybridation, are usually considered the disease resistance, the precocity, etc. The character of gelification of the starch grain is not considered, in spite of its importance as a primordial factor of quality.

In a previous paper, we have related the organoleptic proprieties of some rice varieties to physico-chemical mesures in close dependence to the amylopectin and amylose contents.

The possibility to obtain a great number of mutations by irradiation of different varieties, allowed us to study in the mutant generations the induced changes in the starch composition. This is an interesting example of the genetic influence on the biosynthesis and provides to the genetists a new critery of selection to employ it in the research of convenient hybridations.

Five varieties have been submitted to 3000, 5000, 7000, 15000 and 50000 reps of irradiation. In the generation X_1 of each sample have been studied the induced variations in amylose-amylopectine, in respect to the original strain, by means of spectrophotometric and absorption methods, according to the small size of the obtained samples

The irradiation with 50000 reps produced the sterility of the seeds. With the other intensities, the morphological mutations as well as the biochemical ones, in all the variations, showed be by chance.

Bibliografía

- (1) B. S. RAO, A. R. VASUDEVA and R. S. SUBRAHMAYA : *Proc. of the Indian Acad. Sci.*, **36**, 70, 1952.
- (2) V. R. WILLIAMS, WEI-TING WU, H. Y. TSAI and H. G. BATES : *J. of Agric. Food Chem.*, **6**, 47, 1958.

- (3) J. V. HALICK and K. K. KENEASTER : *Cereal Chem.*, **33**, 315, 1956.
- (4) E. PRIMO, A. CASAS y S. BARBER : Presentado a la IX Reunión Bienal de la Real Soc. Esp. de Física y Química. Granada 1959.
- (5) B. LAFUENTE, S. A. GOLDBLITH and B. E. PROCTOR : *Intern. J. Appl. Rad. Inst.*, **3**, 119, 1958.