

## **Tema 10. Obtención de semilla híbrida mediante control genético de la castración**

1. Castración genética por incompatibilidad polen-estilo.
2. Castración genética mediante control del sexo
  - 2.1. Aprovechamiento de la ginoecia en la producción de semilla híbrida
  - 2.2. Determinación genética del sexo en espárrago y espinaca.
  - 2.3. Obtención de semilla híbrida en el espárrago.
  - 2.4. Obtención de semilla híbrida en espinaca.
  - 2.5. Control del sexo en pepino.
  - 2.6. Obtención de variedades híbridas en pepino.
3. Castración genética mediante androesterilidad.
  - 3.1. Determinación genética de la androesterilidad
  - 3.2. Obtención de semilla de un híbrido simple mediante androesterilidad núcleo-citoplasmática.
  - 3.3. Androesterilidad génica
  - 3.4. Androesterilidad citoplasmática
  - 3.5. Formas aloplásmicas

### Bibliografía

#### **INTRODUCCIÓN A LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS**

Cubero, J.I.

Mundi-Prensa. Madrid. 2003.

Capítulo 12

#### **PRINCIPIOS DE LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS.**

Allard, R.W.

Omega. Barcelona. 1967.

Capítulos 20

#### **MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LAS COSECHAS**

Poehlman, J. M., Sleper, D. A.

Editorial Limusa. Mexico. 2003

Capítulo 11

### **1. Castración genética por incompatibilidad polen-estilo.**

Existe incompatibilidad polen-estilo cuando determinados granos de polen, aun siendo perfectamente funcionales, son incapaces de desarrollarse sobre determinados estilos, lo que impide que alcancen el óvulo. Un caso especial de incompatibilidad polén-estilo es la gobernada por series alélicas de incompatibilidad. Este tipo de incompatibilidad impide el desarrollo de un grano de polen sobre los estilos de la misma planta (autocompatibilidad) o de otras distintas pero genéticamente afines.

La incompatibilidad polén-estilo gobernada por series alélicas evita generalmente la autofecundación, lo cual permite utilizarla para obtener semilla híbrida sin necesidad de castrar.

En la llamada incompatibilidad gametofítica la norma de reacción del grano de polen viene determinada por su propio genotipo. El tipo más sencillo y extendido de incompatibilidad gametofítica es aquel gobernado por un solo gen

(S) multialélico ( $S_1, S_2, S_3, \dots$ ). Se produce incompatibilidad si el alelo del grano de polen coincide con uno de los alelos del estilo. Nunca podrán existir plantas homocigotos para el gen S. El número mínimo de alelos de la serie para que el sistema funcione es de tres. Este tipo de incompatibilidad se encuentra en muchas familias botánicas y entre los géneros de importancia agrícola destacan *Prunus*, *Trifolium* y *Nicotiana*. La siguiente tabla muestra las reacciones de incompatibilidad para el caso de tres alelos.

Plantas	Plantas					
	$S_1 S_2$ Polen		$S_1 S_3$ Polen		$S_2 S_3$ Polen	
	$S_1$	$S_2$	$S_1$	$S_3$	$S_2$	$S_3$
Estilo $S_1 S_2$	-	-	-	+	-	+
Estilo $S_1 S_3$	-	+	-	-	+	-
Estilo $S_2 S_3$	+	-	+	-	-	-

- Incompatible  
+ Compatible

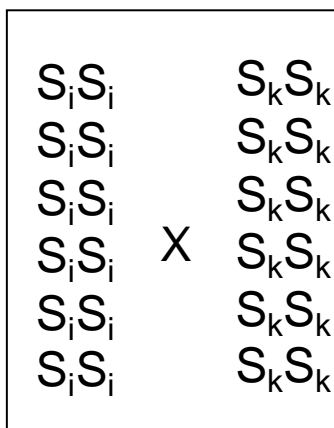
En la llamada incompatibilidad esporofítica la norma de reacción del grano de polen depende del genotipo de la planta de donde procede dicho grano de polen. También este tipo de incompatibilidad está gobernada en muchos casos por un solo gen (S) multialélico ( $S_1, S_2, S_3, \dots$ ). Si una planta es de genotipo  $S_1 S_2$  y  $S_1 > S_2$  en los órganos masculinos, sus granos de polen, ya sean portadores de  $S_1$  o de  $S_2$ , nunca germinarán sobre pistilos portadores de  $S_1$  en los que  $S_1$  sea dominante.

Este tipo de incompatibilidad se da en las crucíferas. En cultivos de la especie *Brassica oleracea* el número de alelos es de unos 30. Los diferentes alelos de incompatibilidad pueden ser codominantes entre sí o dominantes unos sobre otros. Las reacciones de dominancia pueden ser diferentes en el para estambres y pistilos. La siguiente tabla muestra las reacciones de incompatibilidad esporofítica entre tres genotipos, suponiendo siempre que las relaciones de dominancia entre alelos, tanto en los órganos masculinos como en los femeninos, son  $S_1 > S_2 > S_3$ . Si son diferentes se debe examinar caso por caso.

Plantas	Plantas					
	$S_1 S_2$ Polen		$S_1 S_3$ Polen		$S_2 S_3$ Polen	
	$S_1$	$S_2$	$S_1$	$S_3$	$S_2$	$S_3$
Estilo $S_1 S_2$	-	-	-	-	+	+
Estilo $S_1 S_3$	-	-	-	-	+	+
Estilo $S_2 S_3$	+	+	+	+	-	-

- Incompatible  
+ Compatible

La incompatibilidad polen-estilo permite obtener semilla híbrida entre dos parentales sin necesidad de castrar. En efecto, si los dos parentales son autoincompatibles pero intercompatibles (por ejemplo dos líneas, una  $S_iS_i$  y la otra  $S_kS_k$ ) si se siembran en surcos alternos en una parcela aislada, toda la semilla producida de forma espontánea por ambos parentales es la semilla híbrida buscada.



Tales líneas hay que producirlas y mantenerlas o por cultivo de anteras y posterior duplicación cromosómica o inhibiendo (o debilitando al menos) la reacción de incompatibilidad. Esto se consigue de diversos modos, por ejemplo haciendo autopolinizaciones en pre-antesis, o en un ambiente con altas temperaturas en invernadero. De este modo la autofecundación es posible y con ello la obtención de líneas puras.

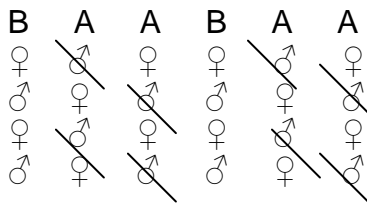
El sistema ha tenido poco desarrollo práctico, pero no obstante se ha utilizado para obtener semilla híbrida en los géneros *Trifolium* (gametofítica), *Brassica* y *Raphanus* (esporofítica).

## 2. Castración genética mediante control del sexo

### 2.1 Aprovechamiento de la ginoecia en la producción de semilla híbrida

En especies donde existen individuos ginoicos, la utilización de éstos como parentales femeninos en la formulación de un híbrido hace innecesaria la emasculación, abaratándose la producción de la semilla híbrida. La existencia de formas ginoicas es propia de las especies dioicas, como es el caso del espárrago, la espinaca, el cáñamo, el lúpulo y la palmera datilera. Pero también en especies normalmente monoicas, como el pepino o el melón, pueden aparecer formas ginoicas.

Si queremos obtener un híbrido en una especie donde aparecen formas ginoicas y A y B son los parentales del mismo, se siembran o plantan alternadamente en filas. Si el parental femenino es A, con la aparición de las primeras flores se eliminan de las filas de la línea A todas aquellas plantas no ginoicas, para evitar que produzcan polen. De este modo, todo el polen producido en la parcela procede de plantas del parental masculino B. En las filas de éste no es necesario eliminar ninguna planta, ya que la semilla se recogerá exclusivamente en las plantas ginoicas de A no eliminadas. La semilla así recogida es semilla híbrida entre los parentales A y B. No ha sido necesario efectuar emasculación alguna.



Es especies dióicas las líneas puras pueden obtenerse mediante cruzamientos *hermana x hermano*, que producen homocigosis más lentamente que la autofecundación, pero que finalmente la producen.

## 2. 2. Determinación genética del sexo en espárrago y espinaca.

En el espárrago el sexo está determinado por un gen con dos alelos denominados X e Y. Las plantas de genotipo XX son hembras (ginoicas) y las plantas de genotipo XY son machos (androicas). Ocasionalmente, algunas plantas machos (XY) producen flores hermafroditas junto a las estaminadas (se expresan en estos casos como andromonoicas). Por tanto si autofecundamos o cruzamos estas plantas entre sí, obtenemos la siguiente descendencia: 1XX : 2XY : 1YY. Las plantas YY son, al igual que ocurre con las XY, androicas, y se denominan supermachos.

En el caso de la espinaca, la determinación del sexo está regida por una serie alélica X, X<sup>m</sup>, Y, de manera que se dan los fenotipos siguientes:

XY y X<sup>m</sup>Y : androico

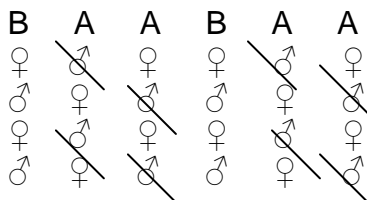
X<sup>m</sup>X<sup>m</sup> y X<sup>m</sup>X : monoico, el primero con tendencia a la masculinidad

XX : ginoico

En estas especies dioicas el control del sexo permite el logro de un doble objetivo: la obtención de cultivares en los que predomine un tipo sexual por ser el de mayor valor agronómico y que por otra parte sean cultivares híbridos que manifiesten heterosis. Por lo tanto lo que le interesa al mejorador es la obtención de semilla híbrida F1 en la que predomine un solo sexo, el de mayor valor.

## 2. 3. Obtención de semilla híbrida en el espárrago.

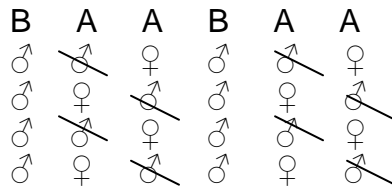
La obtención de semilla híbrida sin necesidad de emasculación puede lograrse, tal y como se ha indicado antes a partir de dos líneas dioicas, eliminando en la floración los individuos machos de la línea o parental femenino antes de que produzcan polen.



Pero en ese caso el híbrido es también dioico. Esto en principio no es un problema, porque tanto machos como hembras producen turiones. Sin embargo, los turiones de las plantas machos (androicos) son más longevos,

entran antes en producción y producen turiones de mayor calidad. Por tanto, interesa que el híbrido esté constituido exclusivamente por machos.

Si se cruza una planta XX con otra YY toda la descendencia es XY, es decir androica, que es lo que se busca. Por lo tanto una forma de obtener el híbrido F1 heterótico, 100% macho y sin necesidad de castrar es utilizar plantas del parental femenino (A) que sean XX y plantas del parental masculino (B) que sean YY. Al campo de obtención de semilla F1 se llevarán las plantas de la línea A (que en la antesis se verá si son machos o hembras y entonces se eliminarán los machos) y plantas de la línea B que sean única y exclusivamente supermachos YY. Toda la semilla recogida en las plantas A no eliminadas será la semilla híbrida F1 buscada, 100% macho.



Los supermachos de la línea B se obtienen mediante el cultivo de anteras. Cogiendo anteras de un macho de B, u por tanto de genotipo XY y cultivándolas *in vitro*, podemos regenerar plantas haploides de genotipo X o de genotipo Y. Posteriormente, utilizando colchicina podemos inducir duplicación cromosómica y obtener los dobles haploides XX e YY, estos últimos supermachos. Una vez identificados en floración los supermachos YY, se multiplican igualmente mediante cultivo de anteras.

#### 2.4. Obtención de semilla híbrida en espinaca.

Igualmente, en espinaca, la semilla híbrida podría obtenerse a partir de dos líneas dioicas, eliminando en la floración los individuos machos de la línea o parental femenino antes de que produjeran polen. Si se hiciera así, el híbrido F<sub>1</sub> sería también dioico, y por lo tanto la semilla comercial contendría un 50% de individuos machos y un 50% de hembras. En principio esto no es un problema ya que la espinaca se aprovecha por sus hojas y es recolectada antes de la subida a flor. Pero generalmente los individuos machos inician la subida a flor antes que las hembras, y de este modo determinan el inicio de la cosecha. Se produce una pérdida en el rendimiento, ya que hasta este momento las hembras no han alcanzado su completo desarrollo de hojas. Tan pronto como la floración comienza el contenido de ácido oxálico en los machos se incrementa, restringiéndose su posterior uso como hortaliza. Por lo tanto interesarían variedades híbridas F<sub>1</sub> donde todas las plantas fueran ginoicas o monoicas, ya que éstas últimas tienen también hábito de crecimiento femenino. Esto puede lograrse utilizando como parental masculino una línea pura monoica X<sup>m</sup>X<sup>m</sup> y como femenino una dioica (XX + XY) y eliminando los individuos XY del parental masculino antes de que florezcan. Toda la semilla recogida en las plantas del parental femenino no eliminadas es híbrida y de genotipo XX<sup>m</sup>, y por tanto monoica, sin individuos machos indeseables.

Línea A (parental ♀)  
XX XY

Línea B (parental ♂)  
 $X^mX^m$

A	B	A	B	A	B
XX	$X^mX^m$	<del>XY</del>	$X^mX^m$	XX	$X^mX^m$
<del>XY</del>	$X^mX^m$	<del>XY</del>	$X^mX^m$	XX	$X^mX^m$
XX	$X^mX^m$	XX	$X^mX^m$	<del>XY</del>	$X^mX^m$
<del>XY</del>	$X^mX^m$	<del>XY</del>	$X^mX^m$	XX	$X^mX^m$

Si utilizamos líneas monoicas como parental femenino no será necesario eliminar machos de las mismas en el campo de producción de la semilla híbrida. Esta estrategia requiere el aprovechamiento de la interacción del ambiente sobre la expresión sexual. En efecto, la combinación de días largos con altas temperaturas promueve la aparición de flores masculinas en espinaca. Se puede entonces utilizar como parental femenino del híbrido una línea seleccionada para baja tendencia de formación de flores masculinas. El campo de obtención de la semilla híbrida se ubicaría en ambientes que no favorezcan la masculinidad y como parental masculino se utilizará otra línea monoica que muestre buena aptitud combinatoria con el parental femenino. Para mantener el parental femenino (monico con baja tendencia a la formación de flores masculinas) se multiplica en ambientes favorables a la masculinidad.

Línea A (parental ♀)  
 $X^mX^m$

Línea B (parental ♂)  
 $X^mX^m$

Multiplicación de línea A

Día largo con altas  $t^a$

A	A	A	A	A	A
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$

Producción del híbrido

Ambientes que no favorecen la masculinidad A

A	B	A	B	A	B
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$
$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$	$X^mX^m$

Al igual que ocurría en el espárrago el control de la reproducción mediante el control del sexo permite en espinaca obtener híbridos F1 que son a la vez heteróticos y cuyos individuos son 100% de la expresión sexual que interesa (en este caso ginoicas o monoicas). El desarrollo de híbridos facilita también el manejo de la resistencia a *Peronospora spinaceae* y al virus CMV.

## 2.5.- Control del sexo en pepino.

Atendiendo a la expresión sexual, las plantas de pepino pueden ser monóicas, andróicas, ginóicas, hermafroditas y andromonóicas. Además de factores ambientales y genes modificadores, tres genes mayores, *Acr/acr*, *M/m* y *A/a*, son los responsables de la herencia del sexo en pepino. La norma general es que la planta de pepino sea monóica de genotipo *acr acr*. Estas plantas producen inicialmente flores masculinas, luego flores masculinas y femeninas y por último flores femeninas únicamente. Pero si la planta es de genotipo *Acr -*, los dos primeros estadios se aceleran mucho y solo aparecen flores femeninas. La penetración de *Acr* no es completa ya que, dependiendo de otros genes o del ambiente, una planta *Acr -* puede producir flores masculinas y hermafroditas también. Pero en general *Acr -* tiene una feminidad superior a *acr acr*. Tampoco la dominancia de *Acr* sobre *acr* es completa, dependiendo del fondo genético y del ambiente.

El gen *m* es responsable del hermafroditismo, ya que actúa a nivel de plantas individual provoca la aparición de órganos masculinos en flores femeninas. Su alternativa alélica *M* es completamente dominante ( $M > m$ ).

El gen recesivo *a* es el responsable de la androecia, pero este gen es hipostático respecto a *Acr*, de manera que solo se expresa si la planta es *acr acr*.

En consecuencia, respecto a éstos tres genes los fenotipos generalmente asociados de expresión sexual son los siguientes:

<i>acr acr</i>	<i>M -</i>	<i>A -</i>	monóica
<i>Acr -</i>	<i>M -</i>	<i>- -</i>	ginóica
<i>Acr -</i>	<i>m m</i>	<i>- -</i>	hermafrodita
<i>acr acr</i>	<i>m m</i>	<i>A -</i>	andromonóica
<i>acr acr</i>	<i>- -</i>	<i>a a</i>	andróica

No obstante, como ya se ha indicado, los factores ambientales, tales como la nutrición, la longitud del día, la intensidad luminosa y los factores de estrés, pueden modificar la expresión del sexo. Los efectos descritos de la temperatura y de las condiciones de luminosidad sobre la expresión del sexo son diferentes. Por un lado se ha descrito que días cortos de menos de 8 horas junto con temperaturas bajas e intensidad de luz baja, promueve la formación de flores masculinas. Por otro lado se ha descrito un incremento de flores masculinas debido a altas temperaturas y a días largos. Bajo ciertas condiciones, especialmente condiciones de estrés, como por ejemplo altas densidades de plantación, parece ser que las líneas ginóicas y hermafroditas desarrollan flores masculinas.

La influencia de ciertos reguladores del crecimiento también es importante sobre la expresión del sexo en pepino. Así la aplicación de ácido  $\alpha$ -naftalenacético y de etefphon promueve la formación de flores femeninas. Las giberelinas y el nitrato de plata promueven la formación de flores masculinas.

La susceptibilidad a estos tratamientos varía según líneas, dependiendo del genotipo. También los factores ambientales como la longitud del día y la temperatura pueden alterar los efectos de los reguladores del crecimiento sobre la expresión del sexo.

## 2.6. Obtención de variedades híbridas en pepino.

Los frutos procedentes de flores hermafroditas son redondeados y tiene una gran cavidad central, por lo que no son aprovechables comercialmente. En consecuencia, los cultivares de pepino no pueden ser ni andromonoicos ni hermafroditas. Obviamente, tampoco pueden ser andróticos. Por lo tanto las poblaciones cultivadas deberán ser o monóicas o ginóicas. Si son ginóicas deberán ser partenocárpicas para producir frutos. Por otra parte, la partenocarpia en pepino es un carácter deseable, ya que induce una producción más regular y precoz de frutos cuajados, al evitar los efectos inhibidores de la formación de semillas sobre el desarrollo del fruto. Ahora bien, la partenocarpia debe ser combinada con ginoecia, debido a que los frutos que se forman por polinización en líneas partenocárpicas son deformes. Por lo tanto, la combinación ginoecia partenocárpica es necesaria y deseable. La obtención de híbridos F1 ginóicos y partenocárpicos, puede realizarse a partir de cualquiera de los siguientes cruzamientos:

Línea ginoica x línea ginoica:

*Acr Acr MM -- x Acr Acr MM --*

Línea ginoica x línea hermafrodita:

*Acr Acr MM -- x Acr Acr mm --*

Línea ginoica x línea monoica:

*Acr Acr MM -- x acr acr MM AA*

Línea ginoica x línea andromonoica:

*Acr Acr MM -- x acr acr mm AA*

Todos estos cruces dan lugar a descendencia 100% ginoicas (*Acr – M – – –*). Por otra parte, en todos estos casos se elimina la necesidad de emasculación, ya que se utiliza como parental femenino la línea ginoica que no produce polen, abaratándose de este modo la producción de semillas híbridas.

El tercer y el cuarto cruce no se realizan en la práctica, ya que la descendencia obtenida es heterocigoto para el gen *Acr* lo cual genera una feminidad del híbrido insuficiente, ya que la dominancia de *Acr* sobre *acr* depende del ambiente. Entre los cruces 1 y 2, parece mejor el segundo, ya que el genotipo *Acr Acr M m* parece tener una feminidad más estable. Cabe hacer dos puntualizaciones. En primer lugar, que se puede inducir la aparición de flores masculinas en plantas ginoicas mediante la aplicación de giberelinas (GA4 y GA7), nitrato de plata ( $\text{NO}_3\text{Ag}$ ) o tiosulfato de plata ( $(\text{S}_2\text{O}_3)_2\text{Ag}$ ). Esto



permite, por un lado autoperpetuar las líneas ginoicas que intervienen como parentales en la formulación del híbrido, y por otro lado la obtención misma del híbrido cuando el parental masculino es también una línea ginoica.

### 3. Castración genética mediante androesterilidad.

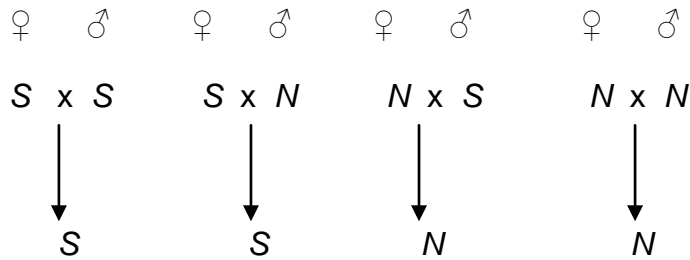
#### 3.1. Determinación genética de la androesterilidad

Una planta es androesteril cuando a pesar de tener órganos masculinos o no produce polen, o si lo produce es estéril. La androesterilidad es un mecanismo que permite explotar la heterosis a bajo costo, abaratando notablemente la producción de semilla híbrida. En efecto, para obtener semilla híbrida a partir de dos parentales, bastará cultivarlos juntos en una misma parcela en la que no se cultiven, ni en ella ni en sus proximidades, otras plantas de la misma especie. Si el parental femenino es androestéril, no será necesario castrarlo, y toda la semilla que se recoja en dicho parental es semilla híbrida, ya que todo el polen fértil producido en la parcela procede del otro parental. Si la especie es alógama y se dan las condiciones naturales necesarias para que la difusión del polen sea buena, la polinización puede tener lugar de forma espontánea. Si la especie es autógama la polinización deberá efectuarse artificialmente, a menos que sea posible provocar algún mecanismo de alogamia funcional.

La androesterilidad que se utiliza en mejora depende de la interacción entre genes nucleares y citoplasmáticos. Por eso se dice que el control de la misma es génico-citoplasmático. Generalmente existen dos clases de citoplasmas: *S* y *N*. *S* produce androesterilidad en presencia de ciertos genes nucleares (se suele emplear para los mismos la nomenclatura *rf* o *ms*) que suelen ser recesivos respecto a sus alternativas alélicas (*Rs* o *Ms*) que se denominan restauradores de la fertilidad. El citoplasma *N*, produce siempre fertilidad del polen. Así pues, en muchos casos, la fertilidad del polen depende de la combinación tipo de citoplasma y genes restauradores tal y como se indica a continuación:

<i>S</i>	<i>rf rf</i>	Androestéril
<i>S</i>	<i>Rf --</i>	Androfértil
<i>N</i>	<i>-- --</i>	Androfértil

El tipo de citoplasma (*S* o *N*) depende de genes citoplasmático. Estos genes, como su nombre indica, no se ubican en el núcleo, sino en los ciertos orgánulos citoplasmáticos (cloroplastos o mitocondrias) y el patrón de su herencia es materno. Esto quiere decir que, un individuo hereda únicamente los genes citoplasmáticos de su parental femenino. Si el parental femenino de un cruzamiento es de citoplasma *S*, todos sus descendientes son de citoplasma *S*, con independencia de cual sea el citoplasma del parental masculino, y si el el parental femenino es de citoplasma *N*, todos sus descendientes son de citoplasma *N*, con independencia de cual sea el citoplasma del parental masculino:



### 3.2 Obtención de semilla de un híbrido simple mediante androsterilidad núcleo-citoplasmática

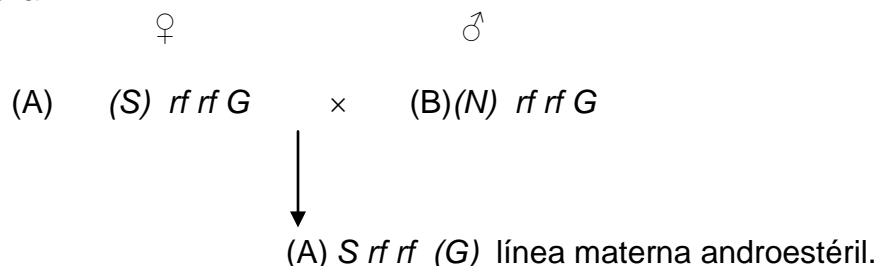
Las combinaciones núcleo.-citoplasmáticas necesarias para producir semilla híbrida son:

Parental femenino (A)	(S) <i>rf rf G</i>
Línea conservadora (B)	(N) <i>rf rf G</i>
Parental masculino (C)	(N o S) <i>Rf Rf G'</i>

*G* y *G'* son los genomas nucleares, que al cruzarse dan lugar a híbrido heterótico. *Rf, rf* es la pareja del locus nuclear restaurador y *S* y *N* son los tipos de citoplasma.

La producción de semilla híbrida se consigue poniendo en un campo aislado surcos con plantas A [(S) *rf rf G*] y surcos con plantas C [(N o S) *Rf Rf G'*]. Toda la semilla que se recoja sobre las plantas A será el híbrido buscado, que además será androfértil [(S) *Rf rf G x G'*]. La androfertilidad del híbrido es indispensable si la cosecha está constituida por frutos o semillas.

La línea conservadora *B* tiene un genoma nuclear idéntico a la línea del parental femenino (*G*), pero citoplasma normal o *N* (determinante de fertilidad masculina). Se utiliza para perpetuar la línea materna androestéril (A), previo cruce con ella:

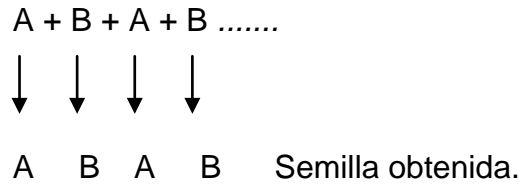


La semilla obtenida es toda ella idéntica, tanto en citoplasma como en genoma nuclear, a su progenitor femenino, que es el parental femenino del híbrido.

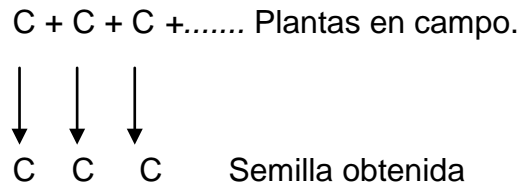
La producción de semilla híbrida y la conservación de sus dos parentales línea m se puede realizar simultáneamente utilizando tres campos debidamente aislados:

- Un campo de conservación para las líneas A y B.

En este campo se colocarán en surcos diferentes las líneas A y B. La semilla recogida en los surcos A será toda de tipo A, y la recogida en los surcos B del tipo B.

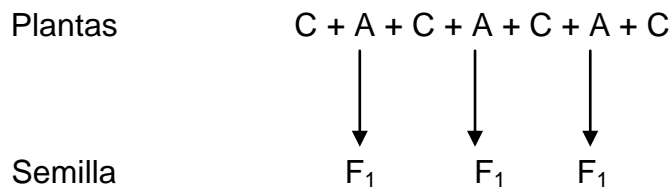


- Un campo para mantener la línea C o parental masculino.



- Un campo para construir el híbrido.

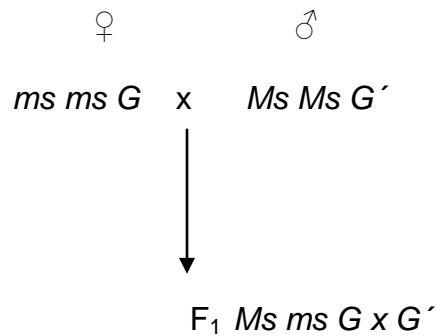
Se colocarán surcos con la línea A y con la línea C. La semilla recogida en los surcos A constituirá la semilla híbrida deseada.



### 3.3 Androesterilidad génica

Cuando la expresión de la androesterilidad está asociada sólo a la variabilidad de genes nucleares se habla de androesterilidad génica. Generalmente es monogénica y recesiva. Los genes de androesterilidad se designan por *ms* (*Ms* sus alternativas alélicas dominantes)

Para obtener la semilla híbrida el parental femenino debe ser *ms ms G* y el masculino *MsMs G'*. *G* y *G'* son los genótipos nucleares que provocan heterosis.



Las líneas materna androestéril pueden ser perpetuada por vía vegetativa o por vía sexual. Por vía sexual se utiliza una mezcla conservadora. La utilización de la mezcla conservadora consiste en cruzar la línea androestéril  $ms\ ms\ G$  a autoperpetuar, con otra idéntica a ella todo su genoma salvo en el *locus* de androesterilidad, que es de genotipo  $Ms\ Ms$ . La descendencia que se obtiene es 100% androfértil por ser heterocigoto el genotipo del *locus* de androesterilidad:  $Ms\ ms\ G$ . Esta descendencia se cruza de nuevo con la línea androestéril  $ms\ ms\ G$ . La progenie obtenida es la mezcla conservadora, la cual está constituida por un 50% de individuos  $Ms\ ms\ G$  (androfértil) y un 50% de androestériles  $ms\ ms\ G$ . Esta mezcla conservadora se autoperpetúa en campos debidamente aislados sin más que recoger semilla de las plantas androestériles. Dicha semilla será un 50%  $ms\ ms\ G$  (androfértil) y un 50 %  $Ms\ ms\ G$  androesteril.

Igualmente, en campos aislados, la mezcla conservadora puede ser utilizada para producir semilla híbrida. En dichos campos se disponen la mezcla conservadora y la línea parental masculina androfértil  $Ms\ Ms\ G'$ . En el momento de la anthesis se arrancan las plantas de la mezcla conservadora (línea materna) que sean androfértil. Toda la semilla que se recoja en las plantas de la mezcla conservadora no arrancadas, y por tanto androestériles, será la semilla híbrida buscada. Conviene recordar que si se está trabajando con una especie autógama la polinización artificial es inevitable. En alógamas es innecesaria si se dan unas buenas condiciones de difusión del polen.

La utilización del método que se acaba de describir tienen dos inconvenientes: El bajo nivel de aprovechamiento de la parcela donde se produce la semilla híbrida, ya que el 50% del espacio ocupado por la línea materna se pierde al arrancar las plantas androfértil de la mezcla, y el posible error que se pueda cometer en esta operación.

Parece ser que la androsterilidad génica es un caso particular de la androesterilidad génico-citoplasmática. Los alelos  $ms$  serían en realidad alelos  $r_f$  no restauradores y sus alternativas  $Ms$  (generalmente dominantes) sería los restauradores  $R_f$ . Se produce androsterilidad génica cuando Los alelos nucleares  $Ms$  y  $ms$  segregan en una población toda ella con plasmatispo S..

### 3.4. Androesterilidad citoplasmática

Se dice que la androesterilidad es citoplasmática cuando su expresión depende sólo de genes citoplasmáticos. Dependiendo de estos el citoplasma puede ser S o N. El plasmatispo S se expresa como androesteril y el N como androfértil.

Para producir semilla híbrida son necesarios los siguientes materiales:

Parental femenino (A)	(S) G
Línea conservadora (B)	(N) G
Parental masculino (C)	(N) G'

G y G' son los genómos que al cruzarse producen heterosis. B es la línea conservadora del parental femenino. Estos tres materiales se utilizan para obtener la semilla híbrida y para perpetuar a los parentales de forma análoga a como se ha descrito para el caso general de androesterilidad núcleo-citoplasmática, pero se debe hacer constar que la semilla híbrida que se obtenga será también androestéril, por lo que solo se puede utilizar la androesterilidad citoplasmática en especies cuya cosecha aprovechable está constituida por partes vegetativas, como por ejemplo la cebolla o la zanahoria.

Al igual que la androesterilidad génica, la citoplasmática parece ser un caso particular de la androesterilidad génico-citoplasmática. Se produce androesterilidad citoplasmática cuando en una población todos los individuos son de gentipo *rf rf*, no restaurador, pero los individuos difieren en citoplasma (N o S).

### 3.5 Formas homoplásmicas y aloplásmicas

Cuando a partir de dos poblaciones distanciadas genéticamente (por ejemplo una forma silvestre y una cultivada) se genera una forma vegetal que es portadora del citoplasma de una y del genoma nuclear de la otra, dicha forma se denomina homoplásmica si ambas poblaciones pertenecen a la misma especie, y aloplásmicas, si ambas poblaciones pertenecen a distinta especie. Pues bien, a veces las formas homoplásmicas y sobre todo las aloplásmicas, son con relativa frecuencia androestériles. Esto ha motivado la búsqueda consciente de androesterilidad por medio de cruzamientos interespecíficos sistemáticos en numerosos géneros vegetales. Generalmente las formas silvestres son las que aportan el citoplasma y las cultivadas el genoma nuclear. El plasmotipo de la forma silvestre, al interactuar con su propio genoma nuclear da lugar a androfertilidad porque su genoma nuclear tiene los correspondientes genes restauradores, pero al interactuar con el genoma nuclear de la forma cultivada es posible que allí no los encuentre, dando lugar a androesterilidad.. La búsqueda de genes restauradores para la forma aloplásmica en la especie cultivada puede ser laboriosa y, a veces se debe recurrir al estudio de amplias colecciones de material vegetal para la localización de los mismos, frecuentemente ubicados en formas primitivas o subespontáneas. Más razonable parece la búsqueda de genes restauradores en la misma especie que ha aportado el citoplasma.

Las formas aloplásmicas pueden obtenerse simplemente a partir del híbrido interespecífico que se retrocruza reiteradamente por el genitor masculino hasta eliminar los cromosomas de la especie que ha actuado como genitor femenino. Si representamos por  $\alpha$  y  $\beta$  los citoplasmas de dos especies y por  $G_A$  y  $G_B$  sus genomas nucleares, el proceso de obtención de la forma aloplásmica es el que se esquematiza a continuación:

$(\alpha) G_A \times (\beta) G_B$



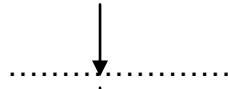
$(\alpha) F1 (50\%G_A 50\% G_B) \times (\beta) G_B$



$(\alpha) BC1 (25\%G_A 75\% G_B) \times (\beta) G_B$



$(\alpha) BC2 (12,5\% G_A 87,5\%G_B) \times (\beta) G_B$



$(\alpha) (\sim 100\% G_B) BCn$