

Caracterización fenotípica de alta precisión en trigo: Mejoramiento genético para lograr especies cultivadas tolerantes a la sequía

▶ **Luis Inostroza F.**

Ingeniero Agrónomo, Dr.
INIA Quilamapu (Chile)
linostroza@inia.cl

▶ **Marina Castro**

Ingeniero Agrónomo, Ph.D
INIA Uruguay
mcastro@inia.org.uy

▶ **María Teresa Pino Q.**

Ingeniero Agrónomo, Ph.D
INIA La Platina (Chile)
mtpino@inia.cl

▶ **Iván Matus T.**

Subdirector Nacional de I+D
INIA (Chile)
imatus@inia.cl

▶ **Raymundo Gutiérrez.**

Ingeniero Agrícola, M.Sc
Centro Internacional de la Papa (CIP)
r.o.gutierrez@cgiar.org

▶ **Julio Kalazich B.**

Director Nacional de INIA Chile
Ingeniero Agrónomo Ph.D
jkalazich@inia.cl

▶ **Patricio Sandaña G.**

Ingeniero Agrónomo Dr.
INIA Remehue (Chile)
patricio.sandana@inia.cl

▶ **Alejandra Rodríguez**

Ingeniero Agrónomo
INIA Quilamapu (Chile)

Bettina Lado

▶ Bioquímica M.Sc.
INIA Uruguay



Mejoramiento genético y alimentación humana ◀

Incrementar la tolerancia a sequía y/o eficiencia en el uso del agua de las especies vegetales cultivadas es un desafío para muchos programas de mejoramiento genético, tanto públicos como privados. El problema radica en el aumento en la demanda de alimentos ocasionado por el crecimiento sostenido de la población mundial y la competencia por el recurso hídrico entre los distintos agentes de la sociedad (agricultura, urbanismo e industria).

En el año 1804 la población humana alcanzó el primer billón de habitantes; necesitando sólo 118 años más para duplicarse. Posteriormente, la Segunda Guerra Mundial gatilló un incremento similar en apenas 37 años. Las generaciones nacidas durante este período (1945-1955) fueron testigos de un nuevo aumento, pasando de 3 a 6 billones de habitantes en la actualidad; estimándose que para los próximos 20 años, la población crecerá cerca de 2 billones más.

Por otro lado, el consumo anual de agua dulce de los humanos ronda los 4 mil 500 km³, de los cuales el sector agrícola ocupa cerca del 70% en sus procesos productivos.

La fuerte competencia por el recurso hídrico entre los mencionados sectores de la sociedad -agricultura, urbanismo e industria- obliga a aumentar la producción de alimentos con menores volúmenes de agua.

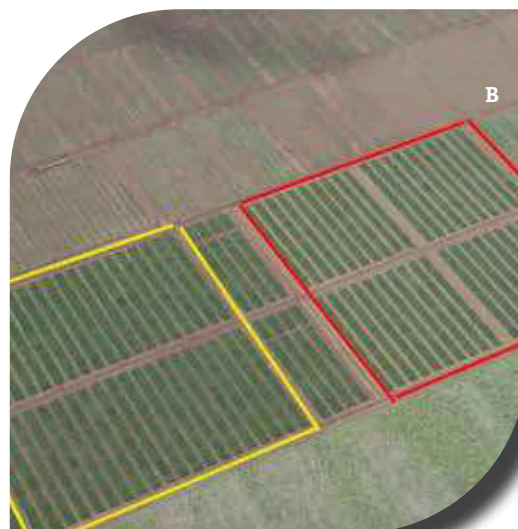
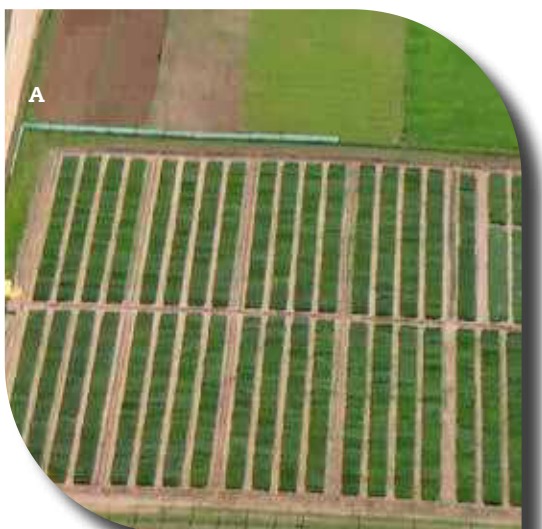
El problema se acentúa al considerar los efectos del cambio climático en los ambientes agrícolas de Chile Continental, donde se estima que para finales del siglo XXI las precipitaciones se reducirán en torno al 25% en primavera y 40% en verano.

Hasta ahora, la demanda de alimentos ha sido satisfecha por el sector agrícola. Desde el año 1800 hasta la primera mitad del siglo XIX, el incremento en la producción de alimentos se asoció estrechamente con la incorporación de nueva superficie arable para la agricultura. Hoy, dicha estrategia no es posible, ya que existe fuerte restricción al aumento de la superficie agrícola por efecto del crecimiento demográfico.

La “Revolución Verde” fue un hito histórico que impactó significativamente la producción de alimentos. En la década del '60, la incorporación de fertilizantes sintéticos y la implementación de técnicas de riego en los sistemas productivos, iniciaron un gran cambio en las ciencias agronómicas. Por otro lado, los avances en el mejoramiento genético asociado al descubrimiento de los genes de enanismos en cereales, permitieron cambiar la partición de la biomasa desde los tallos al grano. A partir de esta revolución, la productividad de los cultivos se incrementó de manera paralela con la demanda de alimentos de la población mundial, sin crecer en superficie cultivable.

En este sentido, existe un claro consenso entre mejoradores y agrónomos para atribuir el aumento en la producción de alimentos tanto a los avances en la agronomía (50%) como al mejoramiento genético de los cultivos (50%).

- **Foto 1.** Panorámica de los experimentos de caracterización fenotípica de 384 genotipos de trigo en Cauquenes (A) y Chillán (B). Cuadrado rojo y amarillo señalan experimentos manejados bajo condiciones de riego y secano, respectivamente.





A



B



C



D



E



F

Caracterización genética vs caracterización fenotípica ◀

Históricamente, el mejoramiento genético se ha definido como una mezcla entre ciencia y arte. Hoy los desafíos son complejos y los avances en el conocimiento de la genética a nivel molecular, asombrosos. Desde la secuenciación completa del genoma humano en el año 2003, ya han sido secuenciados completamente siete genomas de especies vegetales. De éstos, seis corresponden a especies cultivadas (arroz, maíz, sorgo, vid, álamo y papaya) y uno a la especie modelo *Arabidopsis*.

Uno de los avances más impactantes en el campo de la genética molecular ha sido la disminución en los costos de secuenciación, relativo al monto por secuenciar un genoma humano que en el año 2001, por ejemplo, alcanzaba los 90 millones de dólares. Hoy, con las nuevas técnicas de secuenciación-masiva (NGC, nextgenerationsequencing) este coste ha bajado a los 8 mil dólares/genoma, y se trabaja para lograr secuenciar un genoma en menos de 24 horas a un costo de mil dólares (<http://www.genome.gov/sequencingcosts/>).

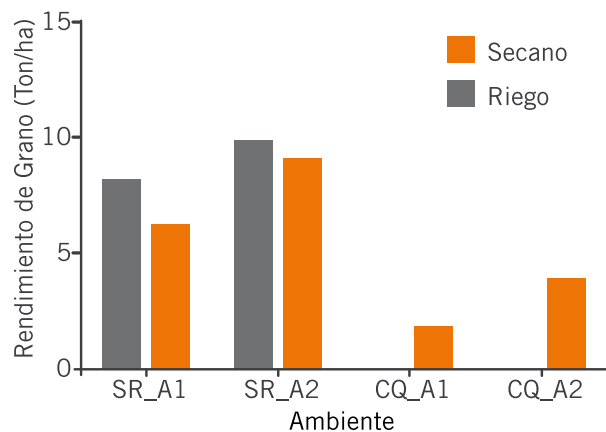
Lo anterior ha permitido contar con mapas genéticos organizados por marcadores moleculares de distintos tipos (SSR y SNP); y se conocen secuencias de genes de importancia agronómica (resistencia a enfermedades y calidad de grano, entre otros) y su ubicación en el genoma. Con esta información se puede seguir la herencia de caracteres fenotípicos de interés y facilitar su introgresión dentro del material élite. De esta manera se disminuyen significativamente los costos, en términos de tiempo y dinero, para el desarrollo de nuevos cultivares comerciales.

De acuerdo a lo anterior, queda de manifiesto la relevancia de la información molecular en el mejoramiento genético de especies vegetales. Sin embargo, su uso potencial depende de la capacidad para asociarla a la expresión de caracteres fenotípicos de importancia agronómica, como es la tolerancia a sequía. La secuencia de un gen 'x' no sirve de nada si se desconoce su función en la planta y su efecto sobre el fenotipo.

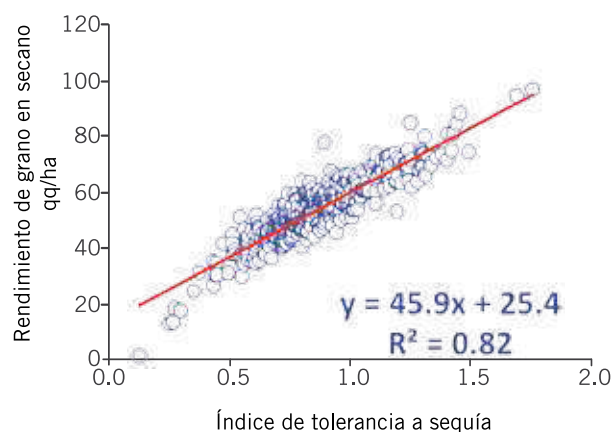
Los análisis genéticos que permiten estudiar la asociación genotipo/fenotipo también han evolucionado en el

- ◀ **Foto 2.** Instalación de sensores de capacitancias para monitoreo de la humedad del suelo (A), registro y descarga de registro temporal del contenido de humedad de suelo (B), medición de la fracción de radiación fotosintéticamente activa interceptada con un ceptómetro (C), medición del contenido de clorofilas en hoja bandera (D), colecta de hoja bandera para la determinación de contenido relativo de agua y área foliar específica (E) y medición de la temperatura de la planta mediante termometría infrarroja (F).





► **Figura 1.** Rendimiento de grano de 384 genotipos de trigo evaluado durante dos temporadas de crecimiento (A1= 2011/12 y A2=2012/13), en dos localidades (Cauquenes (CQ) y Chillán (SR)) y dos ambientes hídricos (riego y seco).



► **Figura 2.** Relación entre el índice de tolerancia a sequía y el rendimiento de grano evaluado bajo condiciones de sequía.

tiempo desde los análisis clásicos de QTL (loci de caracteres cuantitativo), hasta los análisis de selección genómica. Los últimos no sólo buscan encontrar la asociación genotipo/fenotipo, sino también predecir el fenotipo en función de la información genética. En este sentido, los avances en el mejoramiento genético de la tolerancia a sequía de especies vegetales cultivadas se ve limitado por la escasez de metodologías de caracterización fenotípica bajo condiciones de campo, estandarizadas y de alta precisión, que sean un complemento a la información genética.

Desarrollo de herramientas fisiológicas para la selección de plantas tolerantes a sequía ◀

En términos genéticos, la tolerancia a sequía es un carácter fenotípico complejo. Esto significa que es un carácter controlado por muchos genes altamente influenciados por el ambiente donde crecen las plantas. Por esta razón, la tolerancia a sequía es un carácter difícil de mejorar.

En este contexto, uno de los objetivos del proyecto FONTAGRO ATN/OC-11943 fue “identificar y estandarizar métodos eficientes de selección de genotipos tolerantes a sequía y altas temperaturas”, para lo cual se trabajó con los Programas Nacionales de Mejoramiento Genético de Trigo y Papa de tres países del Cono Sur de América. En efecto, un grupo multidisciplinario de investigadores provenientes de INIA Chile, INIA Uruguay y del Centro Internacional de la Papa (Perú), unieron esfuerzos para caracterizar fenotípicamente 384 genotipos de trigo y 200 genotipos de papa en diversos ambientes, donde la sequía y las altas temperaturas son los estreses ambientales que más limitan la productividad de los cultivos.

A continuación, presentamos los principales resultados de esta selección.

Estrategias para evaluar tolerancia a sequía en trigo ◀

Durante dos temporadas de crecimiento (2011-2012 y 2012-2013) se establecieron 384 accesiones de trigo

Carácter Fenotípico	Sensibles	Tolerantes
Rendimiento grano (ton/ha)	5.20	7.30
Staygreen (SPAD/día)	-0.42	-0.53
$\Delta 13C$ (o/oo)	16.4	17.3
FIPAR (%)	82.2	89.4

► **Tabla 1.** Media grupal para caracteres agronómicos y fisiológicos evaluados en genotipos de trigo con tolerancia divergente a sequía (tolerantes y sensibles), bajo condiciones de secano en Chillán.

en dos ambientes representativos de la zona cerealera de Chile.

En Cauquenes (35° 58'S; 72° 17'O; Foto 1A) el suelo es de origen granítico y presenta baja fertilidad; las precipitaciones no superan los 500 mm/año. En tanto, en Chillán (36°31' S; 71°54' O; Foto 1B) el suelo es de origen volcánico con una adecuada fertilidad para el cultivo del trigo; las precipitaciones pueden superar los 1.000 mm/año.

Ambos ambientes tienen clima mediterráneo, donde el cultivo del trigo sufre una sequía de tipo terminal durante el período de llenado de grano. En Chillán se establecieron dos experimentos, uno manejado bajo condiciones de riego y otro bajo secano. En Cauquenes sólo se cultivó bajo condiciones de secano. En todos los ensayos, se instalaron sensores de capacitancia para monitorear la humedad del suelo (Foto 2A), que registraron el contenido de humedad volumétrico en intervalo horario (Foto 2B).

Durante el período de crecimiento vegetativo se midió la fracción de radiación fotosintéticamente activa interceptada (FIPAR) con un ceptómetro (Foto2C).

Durante el período de llenado de grano se midió en la hoja bandera el contenido de clorofilas con un medidor SPAD-502 (Minolta, Foto 2D); el contenido relativo de agua mediante registro del peso fresco, túrgido y seco de la hoja (CRA, Foto 2E); y área foliar específica mediante el registro del peso seco y área de las hojas. También se determinó la temperatura de la planta mediante termometría infrarroja (Foto 2F), la discriminación isotópica del ^{13}C ($\Delta 13C$) mediante espectrometría de masa, y el contenido de carbohidratos no estructurales presente en los tallos al inicio y al final del período de llenado de grano. Por otro lado, la caracterización agronómica consideró el registro de la fecha de espigadura, número de tallos por metro cuadrado, altura de planta, y rendimiento de grano y sus componentes (peso mil granos y número de granos por espigas, entre otros).

Los resultados mostraron una amplia variabilidad genética en todos los caracteres fenotípicos evaluados. El rendimiento de grano varió entre localidades, temporadas de crecimiento y ambientes hídricos (riego vs secano).

En Chillán, durante la primera y segunda temporada de crecimiento, la sequía redujo el rendimiento de grano en un 25% y 10% respectivamente (Figura 1), reflejando la mayor severidad de la sequía durante la primera temporada. Algunos caracteres mostraron un alto grado de asociación con el rendimiento de grano evaluado bajo condiciones de sequía (Figura 2). Por ejemplo, el índice de tolerancia a sequía (IST) calculado a partir de los datos de rendimiento de grano -evaluado bajo condiciones de riego y secano- permitió seleccionar accesiones con tolerancia a sequía divergente (tolerantes vs sensibles). Éstas se diferenciaron en su comportamiento agronómico y fisiológico bajo condiciones de sequía (Tabla 1).

Consideraciones finales ◀

El proyecto FONTAGRO ATN/OC-11943 permitió validar e implementar una plataforma de caracterización fenotípica bajo condiciones de campo, que actualmente se encuentra disponible en los Programas de Mejoramiento Genético de Trigo de los países del Cono Sur de América.

La plataforma considera protocolos para la evaluación de caracteres fisiológicos de forma rápida y económica; e integra elementos computacionales que facilitan la digitalización instantánea de la información colectada. Además, permite identificar variabilidad genética en caracteres agronómicos y fisiológicos relacionados con la tolerancia a sequía del cultivo de trigo, lo que facilita la selección y mejora genética del carácter. En este estudio se identificaron 8 genotipos tolerantes a sequía, que se están caracterizando genéticamente para entender los mecanismos moleculares que le confieren el atributo señalado.

En términos de control sobre el comportamiento agronómico del cultivo de trigo bajo condiciones de sequía, se avanzará con la información fisiológica obtenida en la automatización de los procesos de fenotipo mediante la integración de imágenes aéreas multiespectrales. Éstas permitirán evaluar caracteres fisiológicos de forma rápida y económica.

Por otro lado, hoy se avanza para integrar a la plataforma una técnica de caracterización fenotípica de raíces, las que cumplen un rol fundamental en los mecanismos de tolerancia a sequía de todas las especies cultivadas.

