

MEJORAMIENTO DEL LUPINO AMARILLO PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL:

AVANCES GENÉTICOS REDUCIRÁN EL ANTINUTRICIONAL ÁCIDO FÍTICO

Gabriela Aravena A.

Véronique Amiard

Lorena Parra G.

Paula Mora O.

Haroldo Salvo G.

Iván Maureira B.

ivan.maureira.butler@cgna.cl

CGNA e INIA Carillanca

La generación continua de nuevas variedades ha posibilitado satisfacer las necesidades alimenticias de la humanidad, además de proveer materias primas para un sinnúmero de productos industriales, químicos y de alimentación animal. A través del mejoramiento convencional y la ayuda de herramientas biométricas, los mejoradores han logrado manipular gran parte de los genomas de las especies cultivadas, posibilitando la entrega de cultivares con altos rendimientos y adaptadas a diversas localidades. A pesar de que este esquema ha sido exitoso, los nuevos desafíos impuestos por la industria alimentaria han agregado una arista extra a la creación de variedades. Ya no sólo es necesario asegurar rendimientos y estabilidad productiva para los diversos rubros de la cadena alimentaria, sino también calidad nutricional y generación de compuestos nutricionales específicos.

En el contexto descrito, el Centro de Genómica Nutricional Agroacuícola (CGNA) en conjunto con INIA Carillanca investigan la factibilidad de desarrollar ma-



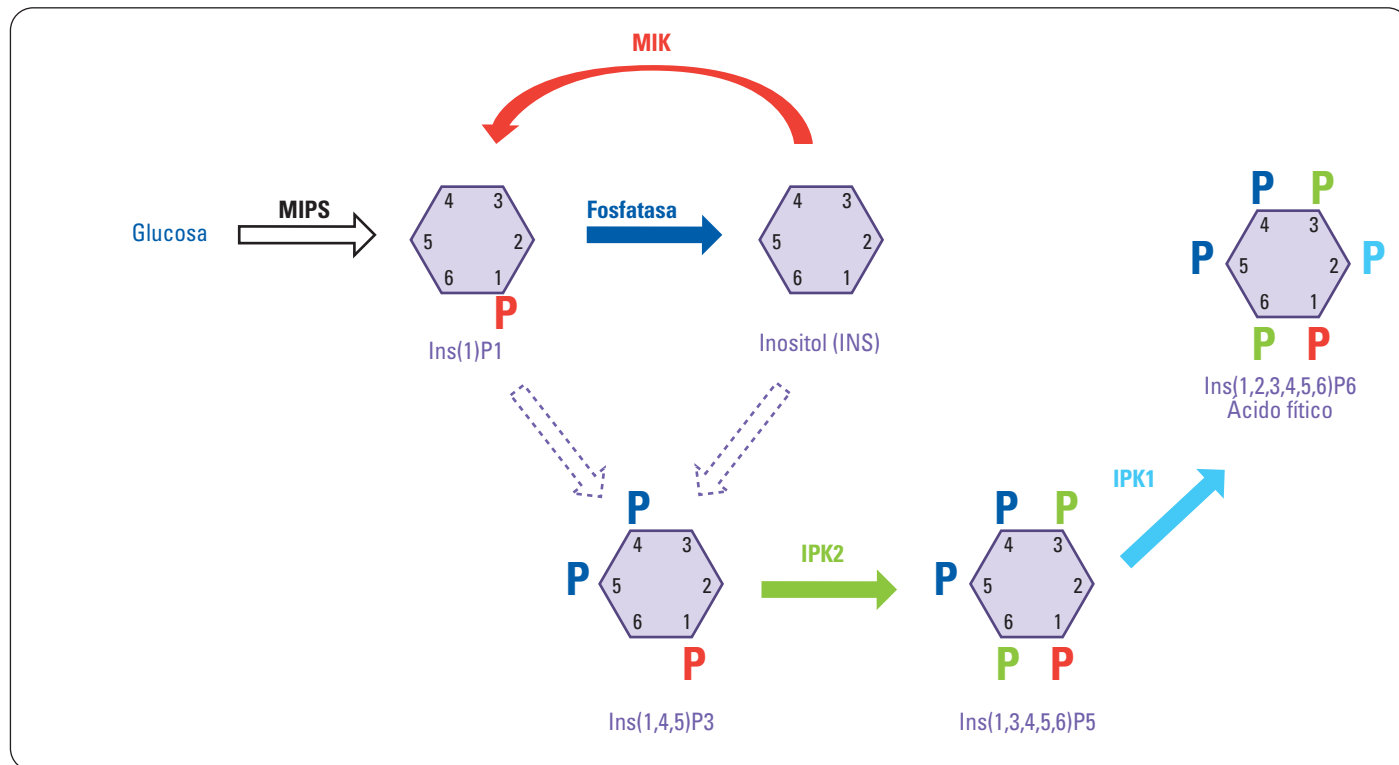
Lupino amarillo, L. luteus.

terias primas vegetales de alta calidad. Parte importante del esfuerzo se dedica al mejoramiento y disminución del contenido de compuestos antinutricionales de las semillas de cultivos de grano anuales, ya que ellos impiden una óptima nutrición del animal.

Dentro de las leguminosas de grano, el lupino es el cultivo con mayor potencial para la producción de proteínas vegetales en el sur de Chile. Perteneció al género *Lupinus*, el cual abarca más de 200 especies que se caracterizan por crecer en un

amplio rango de condiciones climáticas y de suelo. Las más destacadas, debido a que poseen variedades cultivables, son el lupino blanco (*L. albus*), el lupino australiano (*L. angustifolius*) y el lupino amarillo (*L. luteus*). Todas ellas muestran características

Figura 1. Esquema de la vía de síntesis del ácido fítico. La glucosa es transformada en un anillo inositol con un grupo fosfato [Ins(1)P1] mediante la enzima MIPS, o bien, el anillo inositol es fosforilado por la enzima MIK. El producto (anillo con un grupo fosfato) es fosforilado posteriormente (pasos no conocidos en su totalidad) hasta obtener Ins(1,4,5)P3 (anillo inositol con tres grupos fosfato). Este compuesto es sustrato de la enzima IPK2 que agrega dos grupos fosfatos más, y finalmente la enzima IPK1 agrega el último grupo fosfato que origina el ácido fítico.



nutricionales comparables a las de la soya, que es la principal leguminosa disponible en el mundo, utilizada actualmente como fuente de proteína. El CGNA ha focalizado sus investigaciones en lupino amarillo, principalmente por su alto potencial de producción de proteína. Sin embargo, también estudia otras especies: a los ya mencionados lupino blanco y australiano se suman *L. mutabilis* (chocho o tarwi) y *L. hispanicus*, como posibles fuentes de genes o futuras opciones productivas.

En lupino amarillo el objetivo es aumentar la cantidad de proteína producida por hectárea, mejorar la calidad de la proteína, incrementar la productividad de la especie y bajar los contenidos de antinutricionales. Con ello se pretende desarrollar cultivares de mayor competitividad que permitan complementar la rotación de cultivos y así mejorar la sustentabilidad de la agricultura de cultivos anuales.

Por qué estudiar el ácido fítico

Entre los antinutricionales, el ácido fítico es uno de los principales factores asociados con problemas de digestibilidad y contaminación. Corresponde a un carbohidrato que, gracias a su estructura química, constituye la principal forma de almacenamiento de fósforo en células vegetales y animales. Debido a esto es un poderoso agente quelante de cationes minerales como potasio, magnesio, hierro y zinc, con los cuales forma las llamadas sales de fitina o fitato. Éste es el aspecto negativo del ácido fítico, ya que secuestra nutrientes necesarios para la dieta. Aunque en plantas está ampliamente distribuido entre los tejidos, se acumula principalmente en las semillas. Las sales de fitina son indigestibles por humanos y animales no rumiantes, lo que puede impactar negativamente la salud de

las personas y la nutrición animal. Además, el exceso de fósforo presente en las heces (por no absorberse durante la digestión) contribuye directamente a la contaminación de las aguas, siendo una de las causas probables de los problemas de eutrofización.

Control genético sobre el ácido fítico

En términos técnicos, la vía de síntesis del ácido fítico consiste básicamente en la fosforilación secuencial de un anillo inositol por una serie de enzimas que agregan seis grupos fosfato sucesivamente. La figura 1 muestra un esquema simplificado de los pasos conocidos de la vía de síntesis, con las enzimas más importantes que participan y el sustrato que procesan. Estas enzimas son codificadas por genes relativamente conservados entre distintas especies vegetales.

En un número importante de especies cultivadas se ha encontrado mutaciones denominadas "lpa" (del inglés "low phytic acid", o bajo ácido fítico) que afectan a los genes mencionados, originando organismos con un menor contenido de ácido fítico en las semillas, sin afectar cualidades agronómicas o funciones básicas para el desarrollo de la planta. Este conocimiento asegura que dicho carácter puede ser mejorado genéticamente, posibilitando la generación de genotipos con menores proporciones de ácido fítico en la semilla, ya sea por estudios de variación natural, o bien induciendo variabilidad a través de técnicas de mutagénesis.

El aporte del CGNA

Los estudios en el CGNA involucran identificar los genes que participan en la síntesis del ácido fítico, con el fin de encontrar variabilidad genética asocia-

Figura 2. Relación filogenética (máxima parsimonia) de las especies consideradas en el árbol, sobre la base del análisis del gen que codifica la enzima IPK2. Las líneas horizontales, o "ramas", representan la cantidad de evolución sucedida en cada linaje, en tanto que los números sobre las líneas horizontales representan el soporte (0-100) de cada rama.

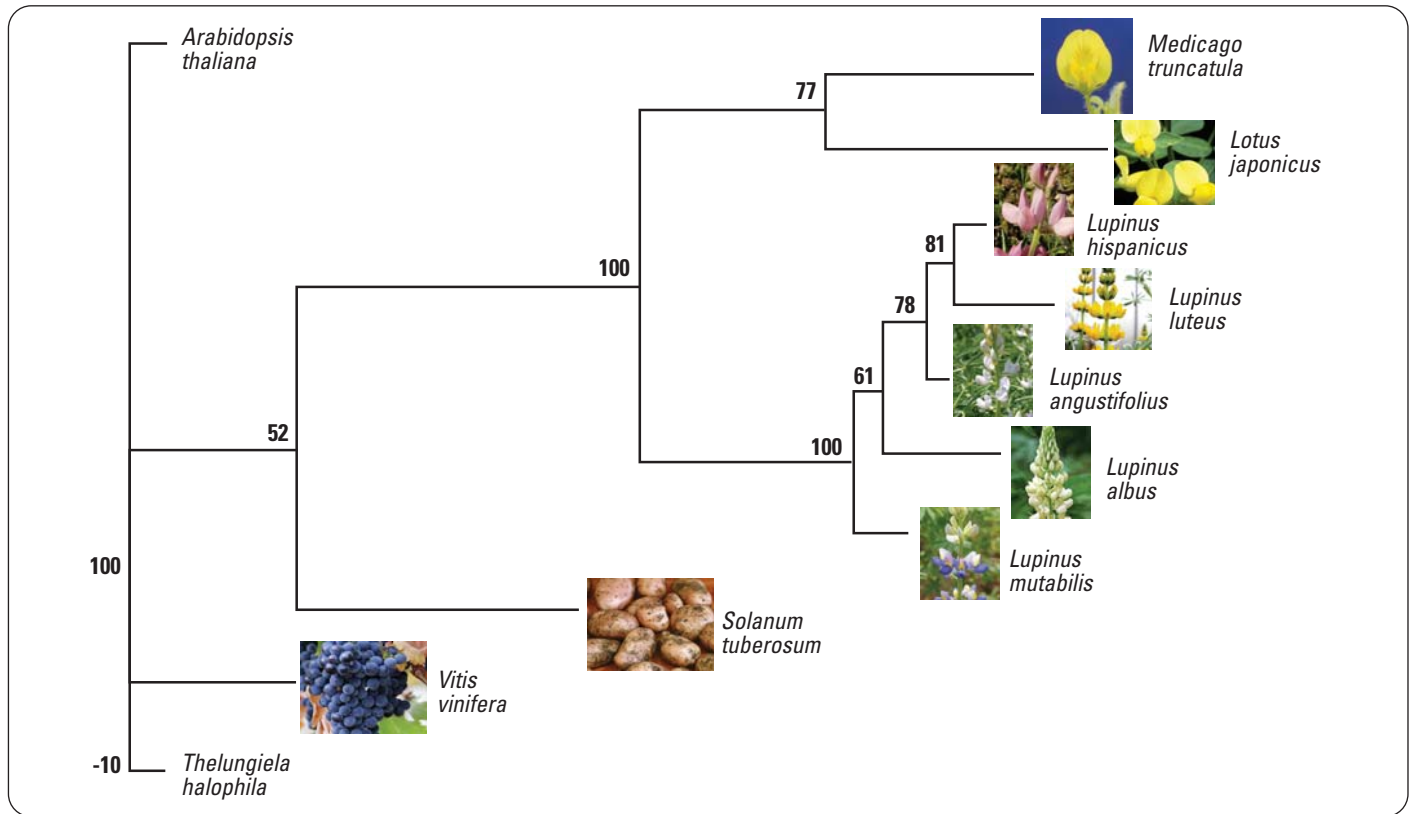
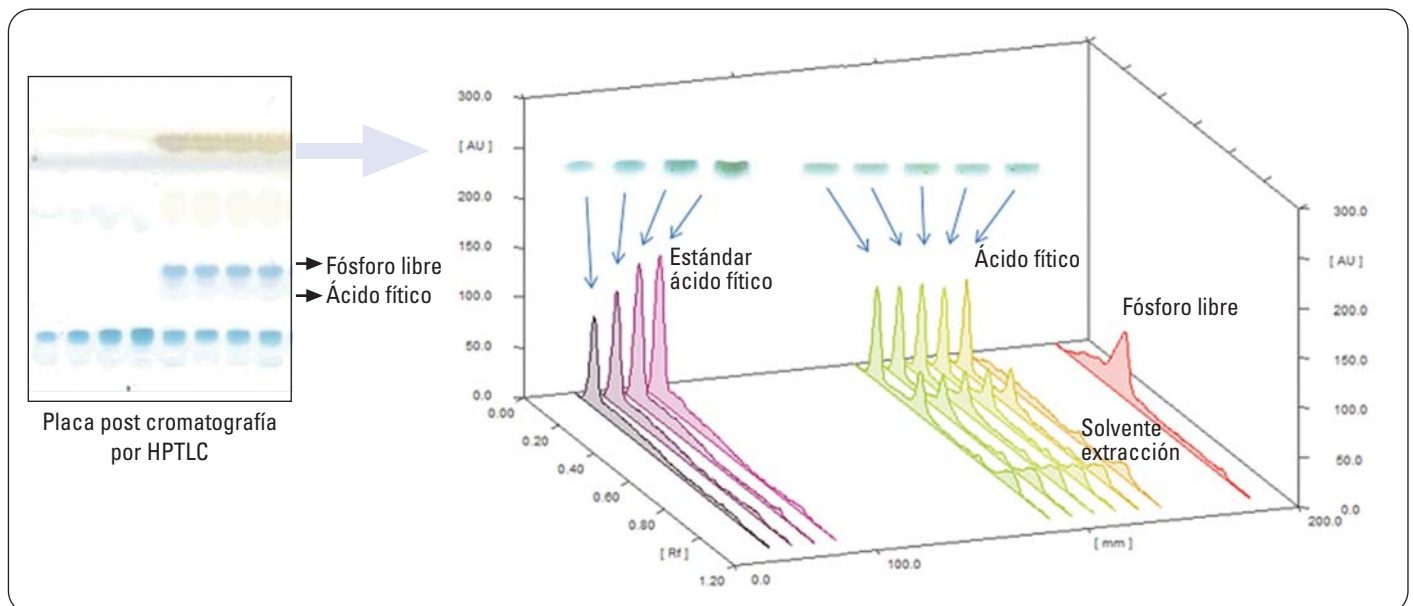


Figura 3. Cantidad y composición de ácido fítico en semillas de líneas de lupino amarillo (*L. luteus*), medidas por HPTLC.



da al contenido de este antinutricional. Al existir variabilidad, y que además sea heredable, puede utilizarse para generar plantas con menor contenido de ácido fítico, transfiriéndola desde el organismo que la posea hacia un organismo elite (con

una serie de otras características deseadas), en el cual se fija hasta conseguir una nueva variedad vegetal con competitividad mejorada.

Una tesis de pregrado abordó la obtención de la secuencia codificante de la enzima IPK2 en

lupino amarillo. Mediante herramientas bioinformáticas, se pudo estudiar este gen en un contexto evolutivo, comparando la secuencia de lupino con la de otras especies. Los resultados se muestran en la figura 2. El análisis confirmó las relaciones filo-

genéticas esperadas para las diversas especies vegetales incluidas en el estudio. Por ejemplo, todas las especies leguminosas fueron agrupadas en un cluster único (*Medicago*, *Lotus*, *Lupinus*), y las especies más cercanas al *L. luteus* fueron *L. his-*



Esta investigación es complementaria con otras en desarrollo, las cuales en su conjunto apuntan a la generación de materias primas vegetales de alta calidad nutricional en el corto plazo.

panicus y *L. angustifolius*.

Paralelamente al estudio de la base genética del contenido de ácido fítico, es crítico contar con un método de medición de su contenido en las semillas de las plantas en estudio. Para ello, se ha desarrollado un método específico de cuantificación, basado en un sistema de cromatografía en capa fina de alta resolución, HPTLC (sigla en inglés), que permite detectar cantidades muy pequeñas de ácido fítico en la semilla. A su vez, el método se creó teniendo como meta poder estudiar una gran cantidad de muestras por unidad de tiempo. Esto es crucial, dado que se requiere asistir la selección de líneas recombinantes con bajo contenido de fitato, lo cual implica el análisis de muchas muestras. La técnica implementada presenta la ventaja frente a otros métodos de poder medir por separado el fósforo libre y el ácido fítico,

ya que cuando se logra disminuir el contenido del ácido fítico en la semilla de una planta, aumenta proporcionalmente el contenido de fósforo biodisponible para el animal alimentado con dicha semilla.

La figura 3 muestra la metodología utilizada para la cuantificación de ácido fítico en semillas.


En la figura, cada pick del cromatograma corresponde a un compuesto específico presente en una determinada muestra. Se observa claramente el ácido fítico y el fósforo libre.

Proyecciones

Gracias a la metodología descrita se han identificado accesiones de lupino amarillo con contenidos de ácido fítico contrastante (plantas con alto y bajo contenido de ácido fítico en la semilla). Ya conocido el gen de la secuencia codificante de la enzima IPK2, se continúa traba-

jando en la identificación de los demás genes de la vía de síntesis del ácido fítico en *L. luteus*, además de nuevos fenotipos en lo que respecta a los perfiles y contenidos de ácido fítico y compuestos relacionados.

Con la metodología generada se trabaja aceleradamente, por una parte en la caracterización de la variabilidad sobre la base al contenido del ácido fítico, y por otra en la selección asistida de líneas recombinantes para generar cultivares de lupino amarillo de bajo contenido de ácido fítico. Para ello, se ejecuta paralelamente un proyecto FONDECYT (N° 1090759) y un proyecto INNOVA-CORFO (N° 07CT9 PZT-83).

Esta investigación es complementaria con otras en desarrollo, las cuales en su conjunto apuntan a la generación de materias primas vegetales de alta calidad nutricional en el corto plazo. 

GLOSARIO

Antinutricionales. Compuestos naturales no fibrosos generados por el metabolismo secundario de las plantas, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación de animales ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal.

Catión. Átomo o agrupación de átomos que por pérdida o ganancia de uno o más electrones adquiere una carga positiva.

Genoma. Conjunto de genes y de sus interacciones en un ser vivo o una especie.

Genotipo. Conjunto de los genes de un individuo.

Enzimas: proteínas que inducen, favorecen o aceleran procesos de transformación bioquímicos al interior de los organismos vivos.

Eutrofización. Aceleración del proceso natural de transformación de cuerpos de agua en pantanos hasta secarse (eutrofización), como resultado de la aplicación de fertilizantes y de otros procesos de contaminación difusa.

Fenotipo. Cualquier característica detectable de un organismo (por ejemplo, cantidad de ácido fítico en la semilla), determinada por una interacción entre su genotipo y su medio.

Mutagénesis. Producción de mutaciones.

Quelante. Cualquier sustancia capaz de fijar iones metálicos.