

PROYECTO LOTASSA: RECURSOS GENÉTICOS DE PRADERAS ADAPTADAS A AMBIENTES MARGINALES



Foto 1. Caracterización agronómica de poblaciones de alfalfa chilota recolectadas en la zona sur del país.

En Chile y en los demás países del Cono Sur de América, existe una demanda creciente por suelos de buena calidad para la expansión de los cultivos o establecimiento de sistemas productivos más rentables. Ello está desplazando las superficies destinadas a la producción de forraje hacia ambientes marginales, los que frecuentemente presentan suelos de baja fertilidad, mal drenados y con problemas de acidez, períodos de sequía y desequilibrios térmicos. Como consecuencia las praderas se cultivan cada vez más al límite de su adaptación, en áreas donde la habilidad para sobrevivir a estrés ambientales se ha tornado una característica esencial del éxito.

Hernán Acuña P.
hacuna@inia.cl

Luis Inostroza F.
Gerardo Tapia S.
M. Paulina Sánchez S.
INIA Quilamapu

En este escenario se ha propuesto algunas especies del género *Lotus* como un recurso genético promisorio, debido a su alto potencial forrajero y buena capacidad de adaptación a ambientes como los descritos.

Hasta ahora, tres especies de *Lotus* han sido domesticadas y mejoradas genéticamente: lotera de hoja ancha (*L. corniculatus*), alfalfa chilota (*L. uliginosus*) y lotera de hoja angosta (*L. te-*

nuis). Producen forraje de buena calidad y alto valor nutritivo, no provocan meteorismo en rumiantes—pues contienen taninos condensados, los que además mejoran la utilización de las proteínas en el rumen—, y, como leguminosas, poseen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico.

Antecedentes del proyecto LOTASSA

El proyecto LOTASSA recibe su nombre del inglés "Lotus adaptation and sustainability in South America" (adaptación y sostenibilidad de Lotus en Sudamérica). Es una iniciativa de cooperación científico-tecnológica entre instituciones de Europa y Latinoamérica, que auspicia el

VI Programa Marco de la Unión Europea. Éste ofrece una plataforma que permite transferir la información genómica, bioquímica y fisiológica existente en la leguminosa modelo *L. japonicus* a las especies de *Lotus* de importancia agrícola, con el fin de desarrollar recursos biológicos y genéticos de avanzada, para:

- Asistir y acelerar la selección de genotipos de *Lotus* de mayor capacidad de adaptación a ambientes con estrés abióticos como sequía, salinidad y pH/toxicidad de aluminio.
- Mejorar la productividad, sustentabilidad y calidad de las praderas de *Lotus* en suelos con limitaciones.

El proyecto es abordado por un equipo integral, que incluye fitomejoradores, genetistas, biólogos moleculares, microbiólogos de suelo, agrónomos y bioquímicos pertenecientes a 15 instituciones de investigación de 8 países, 4 del Cono Sur de América y 4 de Europa. Su actividad conjunta permitirá generar el material genético básico para los programas de mejoramiento en los países del Cono Sur.

Recursos genéticos presentes en Chile

Las más de 150 especies del género *Lotus* están distribuidas en todo el mundo. Las hay anuales y perennes. Un probable centro de origen es la cuenca del Mediterráneo, por la gran diversidad de especies que allí se presenta. También hay especies endémicas de América del Norte. Este género pertenece a la fami-

lia de las leguminosas, por lo que las especies de uso forrajero presentan características tanto o más deseables que las de los conocidos géneros *Trifolium* (tréboles) y *Medicago* (alfalfa). Su valor fue reconocido en Europa hace más de 200 años, pero su cultivo sólo se extendió a fines del siglo XIX debido a la dificultad de cosechar abundante cantidad de semillas. Luego su uso se extendió a la India, Australia, Nueva Zelanda y Norteamérica. A Sudamérica llegó desde Europa y se adaptó bien en Brasil, Uruguay, Argentina y Chile.

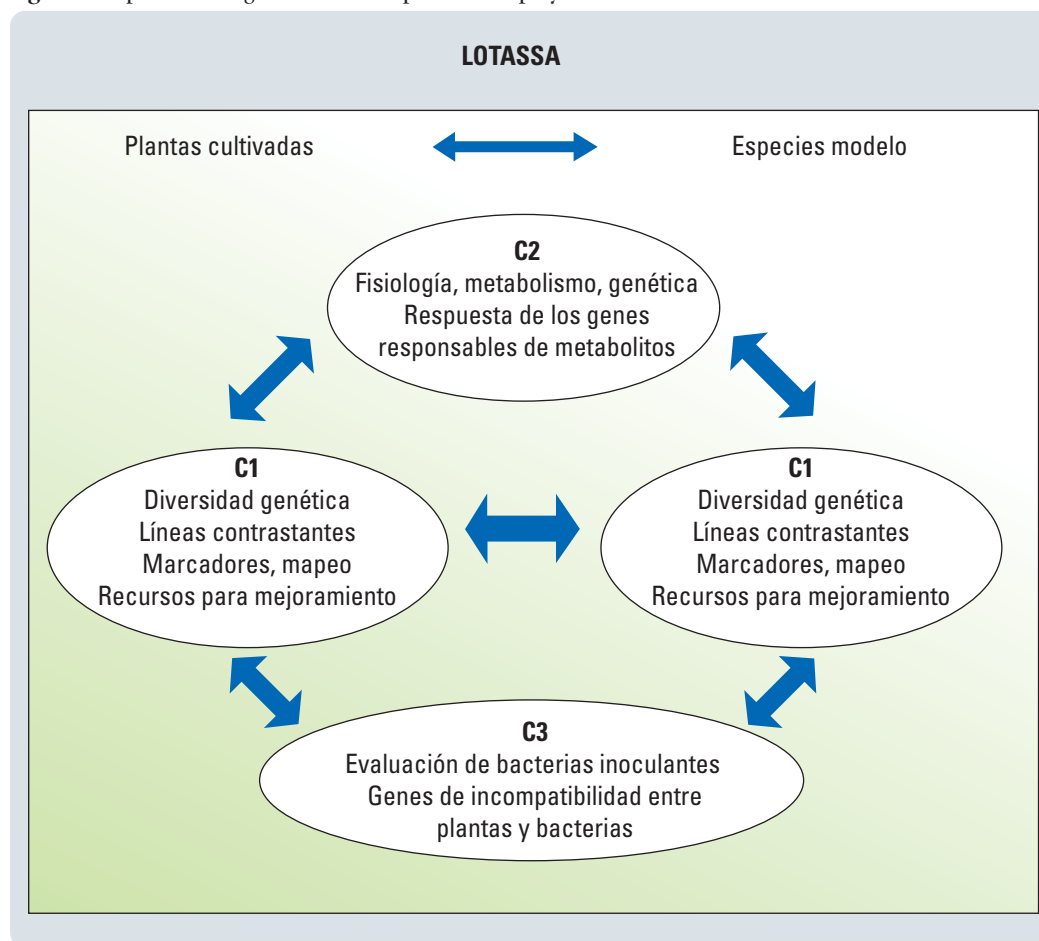
En el país, la lotera de hoja ancha se ha utilizado desde la década de los 60, época en la cual INIA desarrolló el cultivar Quimey para suelos regados de la zona central y centro-sur, con algunas limitaciones que no permitían el uso de alfalfa. La lotera de hoja angosta se encuentra naturalizada en la zona de los suelos arcillosos de aptitud arrocerá y otras áreas del centro-sur. La alfalfa chilota está naturalizada en los suelos ácidos del sur. De las dos últimas especies no hay cultivares chilenos y éstos son escasos a nivel mundial, especialmente en el caso de lotera de hoja angosta.

El programa de praderas de INIA Quilamapu entre 1998 y 2000 colectó germoplasma de las dos especies naturalizadas en Chile. Así se obtuvo una colección de 11 poblaciones de *L. tenuis* y 21 de *L. uliginosus* (foto 1).

Proyecto LOTASSA en Chile

Las actividades del proyecto LOTASSA se agrupan en cuatro componentes (figura 1). A la contraparte chilena, integrada por el INIA y la Universidad Austral de Chile (UACH) le ha correspondido abordar los componentes relacionados con la identificación de genotipos contrastantes en su tolerancia a estreses abióticos para el desarrollo de poblaciones de mapeo genético (C1),

Figura 1. Representación gráfica de los componentes del proyecto.



la caracterización fisiológica, metabólica y genética de las especies de *Lotus* cultivadas (C2), y la colección y caracterización molecular de bacterias simbiotes –que establecen simbiosis con las plantas– fijadoras de nitrógeno (C3).

Los trabajos en los componentes C1 y C2 se limitan a identificar el germoplasma tolerante a sequía en *L. tenuis* y el germoplasma tolerante a acidez de suelo en *L. uliginosus*. Las actividades del componente C3 se relacionan con la colecta, documentación y caracterización molecular de la diversidad genética de cepas nativas de bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas a *Lotus* spp. Las actividades en *L. tenuis* son abordadas en INIA Quilamapu, y en *L. uliginosus* en la UACH. Las relaciones con las bacterias simbiotes son desarrolladas en INIA Carillanca.



Foto 2. Experimentos de selección de poblaciones de lotera de hoja angosta tolerantes a la sequía.

Selección de genotipos tolerantes a sequía

Utilizando el germoplasma de *L. tenuis* colectado, la Unidad de Fisiología de Plantas Forrajeras de INIA Quilamapu inició la selección de poblaciones tolerantes a la sequía. Las plantas

se sometieron a cuatro regímenes de humedad en el suelo (100; 70; 40 y 10% de humedad aprovechable), en condiciones de invernadero (foto 2). Durante el período de aplicación de los tratamientos, en las plantas se evaluaron caracteres morfológicos y fisiológicos, relacionados con

el crecimiento bajo estrés, como los siguientes: tasa de aparición de hojas, tasa de elongación de tallos, conductancia estomática, potencial hídrico xilemático, contenido de clorofila, contenido relativo de agua, temperatura de la hoja, producción de biomasa aérea y radical. Los resultados mostraron una amplia variabilidad entre las poblaciones de *L. tenuis* en cada carácter evaluado, lo que permitió seleccionar dos poblaciones contrastantes, una tolerante y otra sensible a la sequía. La tolerante crecería bien y tendría una producción razonable, muy superior a la sensible en condiciones de sequía, aunque en condiciones favorables tiene un potencial inferior a la sensible (figura 2).

Selección de genotipos tolerantes a acidez de suelo

Se evaluó la tolerancia a la toxicidad por aluminio (Al) en 26 poblaciones naturalizadas de *L. uliginosus*, sembradas a inicios de primavera en bandejas de madera de 20 cm de profundidad con tres niveles de aluminio: 0,0; 0,5 y 1,0 cmol+ por kg, suministrado como sulfato de Al (foto 3). A inicios de floración se evaluó la longitud del tallo más desarrollado de la planta y la longitud del sistema radical. Luego se determinó la producción de materia seca (ms) aérea y radical. Las poblaciones de *L. uliginosus* presentaron una amplia variabilidad en todos los parámetros medidos. Con estos datos se seleccionó un grupo de plantas sensibles y otro tolerante al exceso de Al. El grupo de las tolerantes logra una altura media y producción de ms de hojas y tallos casi un 50% superior a las alcanzadas por las sensibles.

Diversidad genética de bacterias simbiotas

Cuando se desea introducir y establecer leguminosas en

nuevos ambientes, es necesario contar con cepas de rizobios efectivas, de modo que al inocular las semillas se asegure el establecimiento de un proceso eficiente de fijación de nitrógeno. Dentro del grupo de bacterias capaces de nodular, las especies de *Lotus* incluyen tanto cepas de crecimiento intermedio, *Mesorhizobium loti*, como de crecimiento lento, *Bradyrhizobium* sp.

El proyecto LOTASSA ha creado en Chile una colección de 158 cepas de rizobios que nodulan especies del género *Lotus*. Se ha hecho una caracterización molecular de cada cepa usando un protocolo estándar de rep-PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Mediante un análisis de diversidad genética se seleccionaron 70 cepas, de las cuales 41 eran haplotipos (genéticamente únicas, es decir, distintas). Actualmente se trabaja en la identificación de las especies bacterianas mediante metodologías moleculares: la amplificación de la subunidad 16S del ADN ribosomal. También se está caracterizando la capacidad de infección y eficacia en la fijación de nitrógeno de dichas cepas.

Estrés hídrico en el sistema simbiótico

Los nódulos, estructuras simbióticas donde se realiza la fijación de nitrógeno en las raíces de las leguminosas, requieren de ciertas condiciones para funcionar de forma eficiente. Presentan sensibilidad variable ante cambios medioambientales, como salinidad y sequía, los que les provocan senescencia acelerada. En consecuencia se reduce la fijación biológica de nitrógeno y disminuye su potencial de crecimiento. Muy pocos estudios describen los mecanismos genéticos y fisiológicos que expresan los nódulos frente a condiciones de estrés abiótico. Como parte del proyecto LOTASSA,

Figura 2. Respuesta a tratamientos hídricos de dos poblaciones contrastantes de lotera de hoja angosta, una sensible y la otra tolerante a la sequía, evaluadas con la metodología de Finlay y Wilkinson (1963).

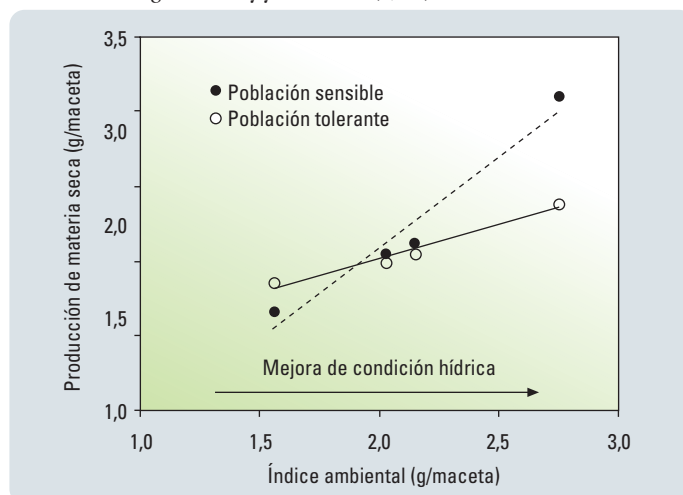


Foto 3. Poblaciones de alfalfa chilota tolerantes y sensibles a elevados niveles de aluminio en el suelo.

el grupo de trabajo de praderas de INIA Quilamapu lleva a cabo estudios para identificar genes implicados en la tolerancia a sequía en ciertos genotipos de *Lotus tenuis* y específicamente en nódulos. Los resultados serán importantes para dilucidar tanto el efecto del estrés abiótico sobre las leguminosas como sobre el sistema de fijación simbiótico de nitrógeno.

Impacto esperado

Las poblaciones de *L. tenuis* y de *L. uliginosus*, tolerantes a sequía y toxicidad de Al, respectivamente, serán probadas a nivel de campo para evaluar su productividad y calidad forrajera,

con miras a su incorporación en programas de mejoramiento genético. Al mismo tiempo, en estos genotipos se identificarán los genes que confieren la tolerancia a los estreses y se desarrollarán las herramientas moleculares que permitan asistir su herencia y selección. Ello permitirá acelerar el proceso, disminuyendo de aproximadamente diez a cinco años el tiempo de obtención de variedades aptas para suelos con limitaciones. Las nuevas variedades incidirán en los sistemas de producción animal en dichas áreas, haciéndolos más eficientes desde los puntos de vista biológico y económico, más sustentables y ambientalmente amigables.