



Foto: Juan Pablo Gallino

AVANCE GENERACIONAL RÁPIDO EN SOJA: un procedimiento sencillo para acelerar la obtención de nuevas variedades en INIA

Dr. Juan Pablo Gallino¹, Dra. Alicia Castillo¹,
Dra. Victoria Bonnacarrere¹, MSc. Sergio Ceretta²

¹Unidad de Biotecnología

²Programa de Investigación en Cultivos de Secano

El Avance Generacional Rápido es una herramienta de gran interés para potenciar el desarrollo de nuevas variedades. Con foco en soja, el presente artículo describe el funcionamiento de esta técnica que permite aumentar la ganancia genética acortando el ciclo del cultivo y genera por consiguiente nuevas perspectivas para los programas de mejoramiento genético de INIA.

La soja (*Glycine max* L.) es uno de los cuatro cultivos de mayor importancia a nivel mundial y, junto con el maíz, el arroz y el trigo, aporta aproximadamente las dos terceras partes de las calorías en la dieta humana (Ray *et al.*, 2013). En Uruguay, el área del cultivo de soja creció ininterrumpidamente desde 2002 ocupando actualmente un millón de hectáreas y representando el segundo

rubro de exportación agropecuaria (fuente DIEA, 2019). La creación de nuevas variedades comerciales es una actividad a largo plazo que requiere entre siete y ocho años desde que se empieza el plan de cruzamientos, hasta que la variedad está en condiciones de ser inscrita en el Registro de Cultivares del Instituto Nacional de Semillas para su comercialización.

La creación de nuevas variedades comerciales de soja es una actividad que requiere entre siete y ocho años para alcanzar su registro.

En forma resumida, un programa de mejoramiento de soja como el de INIA (PMGS) consta de tres etapas básicas: 1) realización de cruzamientos iniciales entre genotipos elegidos para complementar sus características, 2) desarrollo de cuatro ciclos de autofecundación sucesivas de las plantas generadas en el cruzamiento para que los descendientes recombinen la información genética heredada de sus padres y que homogenicen y establezcan sus genotipos y 3) evaluación y selección de las líneas de soja estabilizadas que presentan valor agronómico superior en ensayos comparativos de rendimiento con variedades testigo.

Para obtener una estimación robusta del comportamiento de nuevas variedades, es necesario realizar ensayos de campo en un rango de variabilidad ambiental que sea representativo de la población de ambientes de crecimiento esperables en el área de siembra. Esto se logra estableciendo ensayos en diferentes años, localidades y épocas de siembra.

Este procedimiento podría acelerarse mediante búsqueda de alternativas como cruzamientos o crecimiento en invernáculos, lo cual tiene complejidades inherentes al cultivo de soja. Por un lado, la soja necesita condiciones de crecimiento lumínicas superiores a las plantas modelo tradicionales y por otro, el cruzamiento es laborioso por la estructura y pequeño tamaño de su flor. En condiciones de invernáculo, el desarrollo de la flor no es igual al proceso de maduración que se da en el campo. En las condiciones de Uruguay, el ciclo de la soja en promedio dura 140 días; por lo tanto, se pueden realizar como máximo dos generaciones por año, uno de ellos en invernáculo. De acuerdo con el esquema del mejoramiento planteado, la etapa 2 (autofecundaciones sucesivas) consume hasta dos años.

El Avance Generacional Rápido (AGR) es una técnica que consiste en controlar los factores externos que influyen en el crecimiento de las plantas, como la temperatura, la calidad e intensidad de la luz, el fotoperiodo, la nutrición y otros, con el objetivo de acortar el ciclo desde siembra a la cosecha. El AGR acelera las fases vegetativa y reproductiva del cultivo, logrando un rápido crecimiento y la inducción temprana de la floración.

La soja es un cultivo de día corto, lo que significa que necesita largos e ininterrumpidos periodos de oscuridad para que se produzca la inducción de la floración; en contraposición a lo que ocurre en las plantas de “día

largo” (como el trigo), que florecen cuando el día se alarga por encima de un determinado umbral.

En este contexto existen dos aproximaciones para acortar el ciclo de la soja. La primera es utilizar condiciones de crecimiento de “día corto” para inducir la floración, lo que presenta dos desventajas: 1) es necesario utilizar instalaciones que permitan regular estrictamente la cantidad de luz que recibe el cultivo (deben utilizarse cámaras de cría o invernáculos costosos), y 2) las plantas crecidas en estas condiciones reciben menos luz, por lo tanto, crecen menos en una determinada cantidad de tiempo. La segunda opción es la utilización de compuestos que induzcan la floración sin importar la duración del día. De esta manera se podrían utilizar condiciones de crecimiento de día largo y obtener mayor crecimiento en un tiempo de terminado, así como prescindir de instalaciones costosas.

Para soja se han reportado métodos que permiten la reducción del tiempo generacional, pero mediante la utilización de equipos e instalaciones costosas de poca capacidad para albergar plantas.

En el presente trabajo se describe un método optimizado para acelerar el mejoramiento de soja mediante AGR en instalaciones poco costosas y de fácil aplicación para los mejoradores.



Figura 1 - Evaluación Preliminar de Comportamiento de líneas avanzadas del Programa de Mejoramiento Genético de Soja, Campo Experimental INIA La Estanzuela.



Figura 2 - Cámara de cría utilizada para el AGR. A) La capacidad actual es de 100 plantas. El uso de plafones montados en poleas permite una fácil adecuación de la cantidad de luz suministrada durante el ciclo de crecimiento. B) Plantas de soja de los genotipos estudiados creciendo en las condiciones detalladas.

Con el objetivo de acortar el ciclo en soja, se evaluaron: 1) diferentes condiciones de crecimiento en cámara (“día corto”: 12 horas de luz o menos), 2) el efecto de distintos compuestos químicos con el objetivo de realizar AGR en condiciones de invernáculo (“día largo”), 3) la deshidratación controlada de semillas en estadios previos a la cosecha (R5) como alternativa para la reducción del ciclo, ya que la fase reproductiva en la soja puede representar más del 50 % de la longitud total del ciclo de cultivo, 4) la germinación de semillas cosechadas en R5 (deshidratadas o no deshidratadas) en germinadores o mediante rescate de embriones y 5) el efecto de la aplicación de AGR en generaciones sucesivas (cinco generaciones) para investigar si se produce alguna reducción en el vigor de las plantas obtenidas en la generación siguiente.

ENSAYOS PARA AGR EN CÁMARA DE CRÍA, DESHIDRATACIÓN DE LAS SEMILLAS Y GERMINACIÓN

Se evaluaron siete genotipos de soja pertenecientes al PMGS INIA La Estanzuela, de grupos de madurez comprendidos entre 4,8 y 6,8. Las plantas fueron cultivadas en cámara de cría con las siguientes condiciones de luz: $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a nivel de la canopia (tubos fluorescentes sylvania cool white f72t12/cw/ho 160W) en un régimen lumínico de 12 horas de luz, a una temperatura de 24°C .

Se utilizaron macetas de 600 ml conteniendo una mezcla de turba/perlita 3:1 (Figura 2).

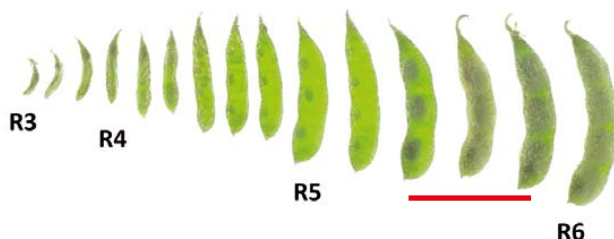


Figura 3 - Guía visual de los estadios de crecimiento de la soja. En rojo se marca el estadio en cual fueron cosechadas las semillas en este estudio.

Ingrese a la guía original completa en el siguiente enlace:

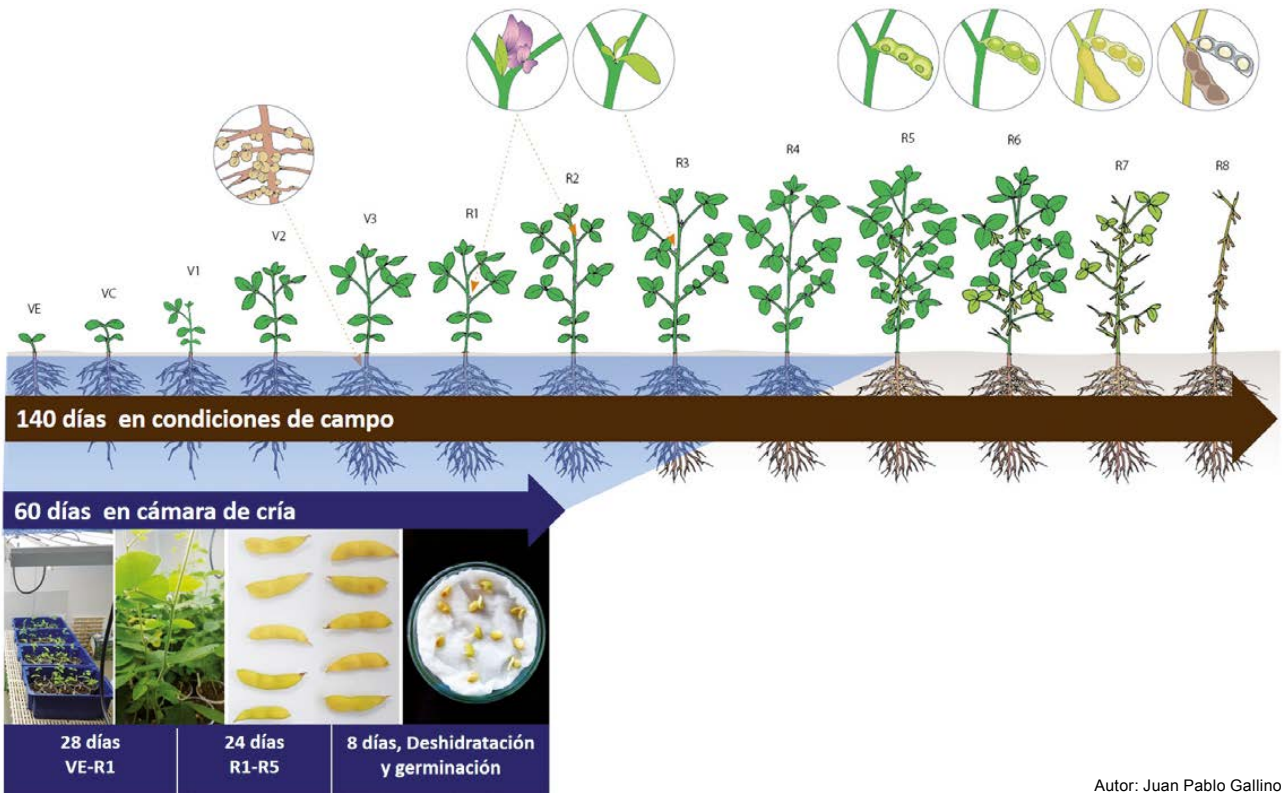
Acceda **AQUÍ**

Las plantas se desarrollaron hasta un estadio R5 tardío (Figura 3) cuando se cosecharon las vainas.

Para evaluar la capacidad de germinación de semillas cosechadas en R5 se deshidrataron mediante secado durante 5-8 días a 28°C (HR ~70%).

Esta deshidratación se basó en los estudios realizados por Rosemberg y Rinne (1988) quienes determinaron que la deshidratación controlada de los embriones dentro de las vainas intactas, una vez extraídas estas de la planta, inducía la germinación de los embriones inmaduros al promover algunos eventos fisiológicos indispensables para que esta se produzca.

El Avance Generacional Rápido es una técnica capaz de acortar el ciclo desde la siembra a la cosecha, a partir del control de los factores externos que influyen en el crecimiento de las plantas.



Autor: Juan Pablo Gallino

Figura 4 - Representación esquemática, donde se compara la duración del ciclo de vida de soja en condiciones de crecimiento en cámara utilizando “día corto”, en comparación a la duración del ciclo de plantas creciendo en condiciones de campo en “día largo”.

Las semillas obtenidas se germinaron en diferentes medios para el rescate de embriones inmaduros (cultivo *in vitro*). Por otra parte, se confeccionaron germinadores en placas de Petri utilizando papel y solución que impide el desarrollo de microorganismos, conocida como PPM al 1% (Plant Preservative Mixture, 1823 Jefferson PI NW). A los 3 días se sembraron las semillas germinadas (*ex vitro*, sin necesidad del uso de cámaras de flujo laminar ni material estéril).

Este protocolo se repitió durante cinco generaciones para evaluar el efecto del AGR.

SE ESTABLECIÓ UNA METODOLOGÍA DE AGR EN CONDICIONES CONTROLADAS QUE ACORTA EL CICLO DE LA SOJA

En las condiciones de cámara de cría (“día corto”) el ciclo de la soja se redujo significativamente con respecto a la duración del mismo en condiciones de campo.

Por un lado, se llegó a R1 en 28 días (Figura 4), etapa que insuere entre 55 y 65 días en condiciones de campo dependiendo del genotipo. Las vainas demoraron en llegar al estadio R5 tardío 24 días adicionales, 26 días menos que en el campo.

Una vez alcanzado el estadio R5 las semillas fueron cosechadas y evaluadas respecto a su capacidad de germinación, luego de haber sido sujetas a deshidratación o mediante el rescate de embriones inmaduros.

El porcentaje de germinación de las semillas deshidratadas fue de 50%, mientras que las semillas sin deshidratar no germinaron. La germinación de semillas cosechadas en R5, permitió reducir aún más el ciclo de la soja, no teniendo que esperar el período necesario para alcanzar la madurez en R8 como sucede en condiciones de cultivo a campo.

Como alternativa a la deshidratación, se evaluó el rescate de embriones inmaduros *in vitro*. Esta metodología no mostró una ventaja en acelerar el ciclo, comparado con el uso de germinadores en papel, incluso se aumentó el riesgo de pérdida de embriones por presencia de contaminación, debido a que el rescate de embriones requiere de condiciones de esterilidad para su cultivo.

Por esta razón, el uso de los germinadores convencionales junto con la inclusión en el germinador de la solución PPM permitió obtener buenos porcentajes de germinación sin necesidad de utilizar material estéril ni cámaras de flujo laminar.

En las condiciones de cámara de cría (“día corto”) el ciclo de la soja se redujo significativamente con respecto a la duración del mismo en condiciones de campo.

El crecimiento en cámara junto con el uso de la deshidratación controlada dentro de la vaina, permitió reducir la duración total del ciclo a 60 días, respecto a los aproximadamente 140 días que demora un ciclo en campo o invernáculo. Considerando esta reducción y la independización de condiciones atmosféricas, la utilización de AGR posibilita la realización de cinco ciclos o generaciones anuales (Figura 5). Además, no disminuyó la capacidad de germinación de las semillas inmaduras a lo largo de cinco generaciones

EVALUACIÓN DE AGENTES QUÍMICOS PARA LA INDUCCIÓN TEMPRANA DE LA FLORACIÓN EN CONDICIONES DE INVERNÁCULO (“DÍA LARGO”)

Los genotipos estudiados fueron los mismos que se detallaron para los ensayos en cámara de cría. Se realizaron aplicaciones foliares de Cultar (2250 mg/L, 225 mg/L y 22,5 mg/L), GA3 (20 mg/L y 100 mg/L), ácido salicílico (50 mg/L) y BAP (1 mM) a los 7 y 14 días de sem-

bradas las semillas. El uso de diferentes tratamientos con hormonas no indujo una floración precoz a niveles comparables a los obtenidos por el uso de cámara de cría con condiciones de “día corto”. Si bien se observaron diferentes efectos en el desarrollo de las plantas, en ninguno de los casos hubo diferencias significativas en los días necesarios para llegar al estadio R1, entre las plantas tratadas y las plantas control.

La aplicación de AGR en los programas de mejoramiento ha sido visualizado como una de las herramientas más eficientes en cuanto a relación costo/beneficio para aumentar la ganancia genética (Bonnett *et al.*, 2019) y acelerar el proceso de obtención de variedades. Mediante la tecnología ajustada y descrita en este artículo, una vez que se cuente con la infraestructura adecuada, se podrá aplicar en el PMGS para contribuir significativamente al desarrollo de variedades INIA.

REFERENCIAS

Bonnett, V, Rosas, J y Ferraro, B (2019). Economic impact of marker-assisted selection and rapid generation advance on breeding programs. *Euphytica* 215, 197.

DIEA, Anuario estadístico agropecuario 2019. <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>

Ray, DK, Mueller, ND, West, PC y Foley, JA (2013). Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. *Plos One*. 8,66428.

Roseberg, L y Rinne, R (1988). Protein synthesis during natural and precocious soybean seed (Glycine max (L.) Merrill) maturation. *Plant Physiol.* 87: 474-478.

Avance Generacional Rápido en Soja (AGR)

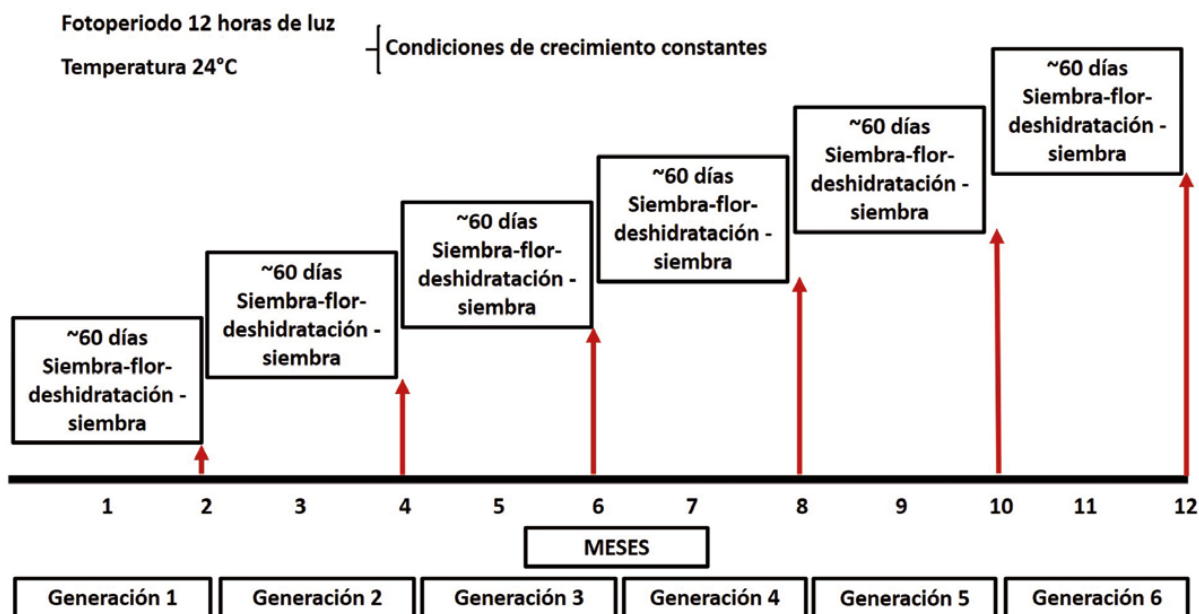


Figura 5 - Esquema de la sucesión de los ciclos acelerados de cultivo de soja en cámara de cría en condiciones controladas durante un año. La combinación adecuada de un fotoperiodo de 10-12h de luz (24°C), junto con el uso de semillas inmaduras reduce el tiempo de generación a 60 días, logrando así hasta cinco generaciones por año en soja.