

Foto: Andrés Berger

PLATAFORMA DE FENOTIPADO A CAMPO DE INIA: una herramienta para el mejoramiento genético y para el manejo de cultivos

Ing. Agr. PhD Andrés Berger,
Aux. Inv. Damian Janavel,
Ing. Agr. MSc Alvaro Otero

Programa de Investigación en Cultivos de Secano

Dentro del Programa de Investigación en Cultivos de Secano de INIA, a través de un proyecto financiado por ANII, INIA y un consorcio de empresas privadas del sector semillerista, se ha decidido construir una plataforma para medir parámetros fenotípicos del cultivo. El presente artículo describe esta herramienta, sus capacidades y utilidad a través de ejemplos concretos a nivel experimental.

¿QUÉ ES EL FENOTIPADO?

El fenotipado consiste en, de manera ordenada, documentada y sistemática, caracterizar el fenotipo del cultivo a nivel experimental, siendo el fenotipo el conjunto de características (generalmente) visibles del cultivo que resultan de la interacción entre el genotipo y el ambiente. El objetivo es, entonces, no solo identificar las características a cuantificar sino además encontrar los parámetros biofísicos del cultivo (ej. área foliar,

temperatura de la canopia, contenido de clorofila, etc.) que puedan ser determinados cuantitativamente de forma rápida y repetible (Rebetzke, 2019). A nivel de mejoramiento genético existe un marcado interés por realizar el fenotipado de grandes números de parcelas, algo que se ha dado a llamar fenotipado a gran escala o *High throughput phenotyping*. Esto está alineado con las nuevas técnicas de mejoramiento basadas en la ingeniería genética y el genotipado realizado a gran escala.

Uno de los desafíos más grandes de estos últimos tiempos es acompañar el análisis conjunto del alto número de individuos procesados, a través de nuevas técnicas de secuenciación y de ingeniería genética, con el relativo menor número de individuos procesados en su caracterización fenotípica. Es sabido además, que el fenotipo de las plantas es muy dependiente de su entorno, del nivel de competencia por recursos con otras plantas y de la interacción con el ambiente, por lo cual, el fenotipo puede cambiar al trasladar las observaciones realizadas a nivel de plantas individuales (en macetas por ejemplo) a lo observado a nivel de parcelas (Pasioura, 2020). Más aún si se trata de características complejas que interactúan fuertemente con el ambiente como es el caso de los estreses abióticos (sequía y estrés térmico).

Es por este último motivo que el fenotipado a campo es esencial para lograr una caracterización correcta, realista, de las posibles diferencias entre cultivares. En el pasado reciente se han reportado múltiples casos de características complejas (como la tolerancia a sequía) que a nivel de experimentos de laboratorio parecían ser muy prometedoras y luego, al trasladarse a campo, no tuvieron efecto o mostraron un efecto muy menor (Pasioura, 2020). El fenotipado también puede convertirse en una herramienta fundamental a la hora de cuantificar los efectos de diferentes tratamientos de manejo sobre el desarrollo y crecimiento del cultivo y su rendimiento final, logrando de esta forma mejorar y agilizar los procesos de experimentación a campo.

¿QUÉ PODEMOS CUANTIFICAR Y QUÉ UTILIDAD TIENE?

Cuando nos referimos al fenotipado a campo, podríamos decir que hay tres grandes grupos de propiedades del cultivo: 1) las que están vinculadas a la estructura de la vegetación, que son por ejemplo el área foliar, la altura del cultivo y el ángulo de las hojas; 2) las que están asociadas al funcionamiento del cultivo,

fundamentalmente a la capacidad fotosintética o a la tasa de crecimiento y que, en general, están asociadas al contenido de pigmentos por unidad de superficie de suelo, a la concentración de pigmentos en hoja, como respuesta a los diferentes estreses y asociadas a la reflectancia y fluorescencia; y 3) por último, las que están asociadas al funcionamiento del cultivo desde el punto de vista de las relaciones hídricas, como la conductividad estomática y la tasa de transpiración, que en general utilizan la temperatura de la canopia en relación a la temperatura del aire como indicador.

Utilizando diferentes sensores (externos al cultivo) se pueden medir estas propiedades de a una, o todas al mismo tiempo. Realizar estas determinaciones en conjunto, es decir todas al mismo tiempo, tiene la ventaja de que luego se puede vincular directamente un parámetro del cultivo con el otro. Es por esto que, en general, es más fácil lograr un conjunto de datos completo, consistente y repetible desde plataformas terrestres.

Dentro del Programa de Investigación en Cultivos de Secano de INIA, a través de un proyecto financiado por ANII, INIA y un consorcio de empresas privadas del sector semillero, decidimos construir una plataforma con una serie de instrumentos que nos permita medir estos parámetros fenotípicos del cultivo.

PLATAFORMA MÓVIL DE FENOTIPADO

Se ensambló una plataforma móvil que utiliza un tractor como estructura básica. Sobre este tractor se instalaron las fuentes de energía, computadoras, equipamientos e instrumentos necesarios para tomar las mediciones en el campo y registrarlas en conjunto, en simultáneo, con su ubicación geográfica exacta.

En la Figura 1 se muestra el tractor y parte de la cabina con la pantalla donde se observan los datos a medida que se van colectando en el campo.

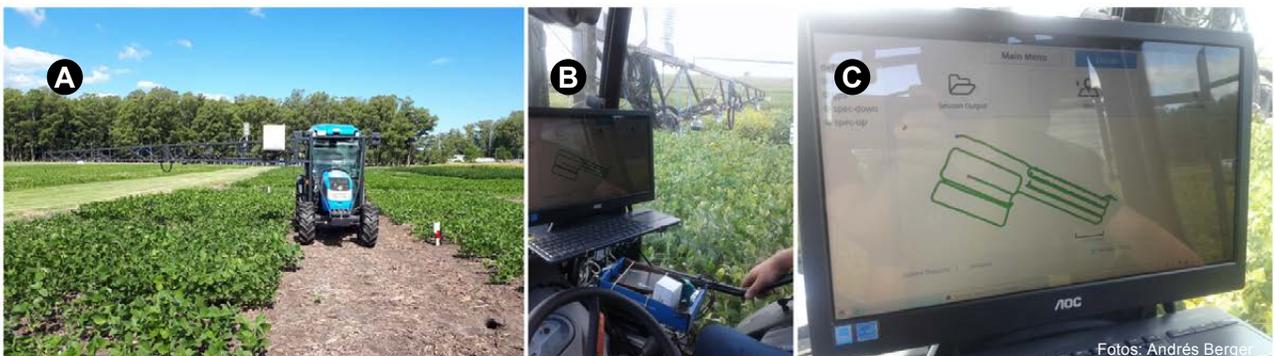


Figura 1 - Tractor colectando medidas en un experimento de soja (A). Vista interior desde la cabina hacia la derecha (B) donde se observa la computadora mostrando los puntos de muestreo en un mapa (C), además de todos los indicadores de estado del sistema y previsualización de los datos colectados.

El sistema fue diseñado para que el tractor transite por los caminos de las parcelas experimentales y la barra que soporta los sensores pase por encima de cada parcela permitiendo así tomar determinaciones repetidas a medida que se transita en cada una de ellas. En una etapa de post procesamiento de los datos se identifica cada punto de medida con la parcela correspondiente (Figura 2).

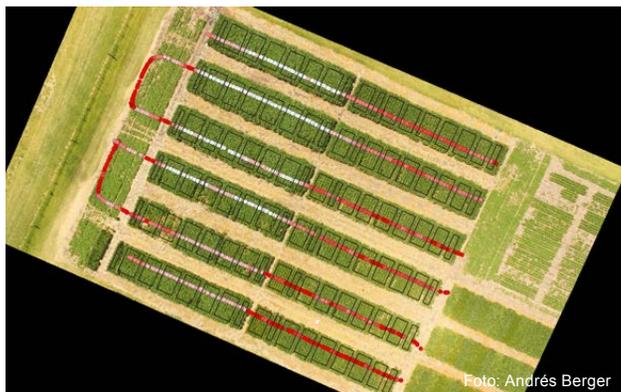


Figura 2 - Vista aérea del experimento de soja 2020, sobre la que se dibujaron los polígonos de cada parcela (polígonos negros), y se observan los puntos de medición colectados por el tractor al transitar coloreados según el valor de NDVI (valores altos para blanco y bajos para rojo).

A través de los siguientes tres ejemplos queremos presentar algunos resultados representativos que permiten apreciar las capacidades del sistema y su utilidad para observar diferencias a nivel experimental.

Ejemplo 1. Temperatura de la canopia en soja

Una de las variables que normalmente se utiliza para detectar el nivel de estrés hídrico del cultivo es la temperatura de la canopia. En este experimento se realizaron mediciones por la mañana y por la tarde a través de todas las parcelas. En la Figura 3 se observan las diferencias en temperatura de la canopia entre las parcelas de riego y secano que indican claramente un mayor nivel de estrés hídrico en las parcelas de secano (mayor temperatura), siendo las diferencias entre cultivares no significativas en este caso.

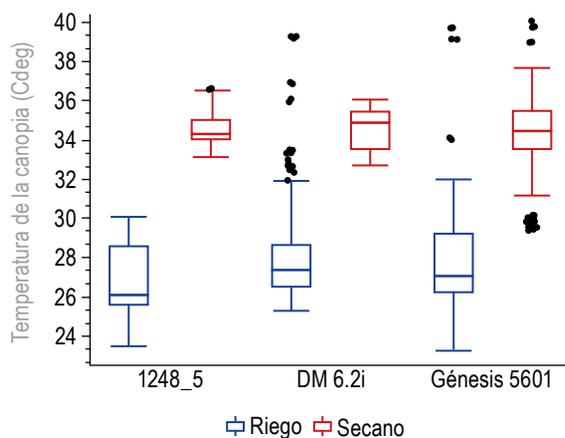


Figura 3 - Temperatura de la canopia medida el 28-02-2020 15:01:32 en estadio R4 durante un día caluroso, en condiciones de sequía en las parcelas de secano y de suficiencia hídrica en las de riego.

Ejemplo 2. Reflectancia de la canopia

En la plataforma contamos con dos tipos de espectrómetros: VIS-NIR (visible-infrarrojo cercano) y NIR (infrarrojo cercano). Estos permiten evaluar la reflectancia de la luz solar incidente (es decir la proporción de la luz incidente que es reflejada o emitida desde el cultivo). En base a los espectros de reflectancia colectados seleccionando distintas secciones se pueden generar índices de reflectancia que resultan útiles para resumir la firma espectral de cada parcela. Entre los índices que decidimos calcular se encuentran el NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) y el NDRE (Normalized Difference Red Edge Index), que son buenos indicadores de la cobertura del suelo, en el primer caso, y de la productividad primaria neta, en el segundo caso. En la Figura 4 se presentan los valores de NDRE para el experimento de soja 2020 para el cual existieron diferencias significativas entre cultivares y riego, tanto para las mediciones realizadas en la mañana como en la tarde.

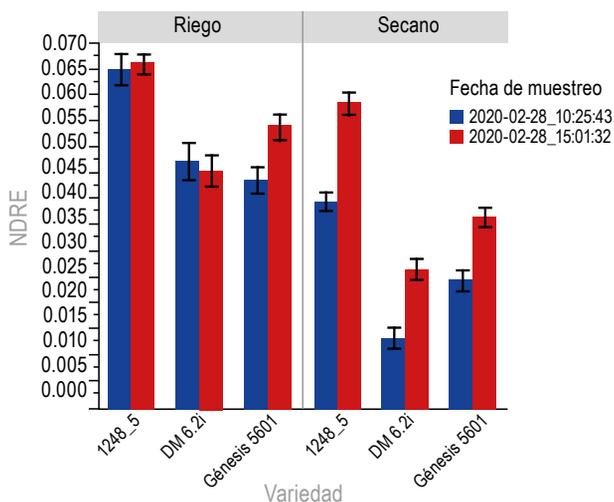


Figura 4 - Valores de NDRE para los cultivares evaluados en condiciones de riego y secano.

El fenotipado a campo es esencial para lograr una caracterización correcta, realista, de las posibles diferencias entre cultivares.



Figura 5 - Tractor con luces monocromáticas azul, para la inducción de fluorescencia previo a la toma de mediciones (A). Luces y sensores durante la toma de mediciones (B). Señal de fluorescencia detectada luego de procesada la señal del sensor (C).

Ejemplo 3. Fluorescencia activa en soja

Durante el verano 2020 realizamos un estudio sobre parcelas de soja evaluando la fluorescencia de la clorofila en forma activa. Con ese fin se instaló, además, un conjunto de reflectores monocromáticos de luz azul de alta intensidad y se realizaron mediciones de la fluorescencia inducida por esta luz azul en horas de la noche (Figura 5).

Es posible cuantificar propiedades del cultivo asociadas al fenotipado de campo: las vinculadas a la estructura de la vegetación, las vinculadas al funcionamiento del cultivo y las que se asocian específicamente a las relaciones hídricas.

Este tipo de mediciones normalmente se realizan a nivel de hoja, sin embargo en este caso las realizamos a nivel de la canopia lo que, hasta donde conocemos, es de las primeras mediciones que se realizan de este tipo para cultivos extensivos. Hicimos un análisis bastante extenso sobre la fluorescencia, la reabsorción de esta fluorescencia y los cambios en el ratio (F685/F740) (altura relativa de los dos picos, Figura 5 C) según los tratamientos de riego y cultivares (Romero et al., 2020).

REFERENCIAS

- Passioura, J. B. (2020). Translational research in agriculture. Can we do it better? *Crop and Pasture Science*, 71(6), 517–528. <https://doi.org/10.1071/CP20066>
- Rebetzke, G. J., Jimenez-Berni, J., Fischer, R. A., Deery, D. M., & Smith, D. J. (2019). Review: High-throughput phenotyping to enhance the use of crop genetic resources. *Plant Science*, 282(April 2018), 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.06.017>
- Romero, J. M., Otero, A., Lagorio, M. G., Berger, A. G., & Cordon, G. B. (2021). Canopy active fluorescence spectrum tracks ANPP changes upon irrigation treatments in soybean crop. *Remote Sensing of Environment*, 263(June). <https://doi.org/10.1016/j.rse.2021.112525>



Figura 6 - Tractor recolectando medidas en parcelas de soja. Las parcelas (en este caso de 8 surcos x 5 m) se ubican en forma perpendicular al camino.