

Aportes de la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR a la problemática del mejoramiento ovino, la calidad del fruto en el tomate y la resistencia a herbicidas en el girasol.

Dra. Liliana Amelia Picardi ^{1 2 3}, Dra Roxana Zorzoli ^{2 3}, Dr Guillermo R. Pratta ², Dr Gustavo R. Rodríguez ², Ing Agr (MSc) Graciela M. Nestares ³

¹ Autor de la Sección I / ² Autor de la Sección II / ³ Autor de la Sección III

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, CIUNR – CONICET
Campo Villarino, CC14 S2125ZAA, Santa Fe, Argentina

ABSTRACT

Several research projects are developed in animal genetics and plant breeding at Facultad Ciencias Agrarias UNR. A new ovine genotype has been obtained by crossing Ideal breed to Texel breed following by a breeding plan where the objectives were to improve female fertility and lamb growth rate. This new ovine genotype has the trade mark of Magrario and now this ovine new genotype is well known to produce lean meat and precocious lambs. Regarding *Solanum lycopersicum* species, 18 lines have been obtained introducing genes from a wild relative *S. pimpinellifolium*. This program included an agonistic-divergent selection to fruit weight and fruit shelf life. Molecular markers like as AFLP and SRAP to characterize these new tomato genotypes have been developed. Appropriate QTLs associated to fruit quality traits were found. Moreover, fruit protein profiles – associated to several fruit traits – were also detected. In sunflower the effort is focused on determining resistance to herbicides belonging to the family of imidazolinones (IMI) in early stages of the plants. A lot of experience was made through the development of several protocols *in vivo* and *in vitro* to detect the resistant, intermediate and susceptible genotypes. Root growth variables were useful parameters for the selection of sunflower genotypes differing in IMI resistance. This bioassay allowed the implementation of fast, reliable and low cost effective diagnosis method to assist breeding programs. Biochemical characterization of resistant process of the genotypes was also made through the quantification of ALS enzymatic activity.

Key words: Magrario, lean meat, *Solanum lycopersicum*, postharvest life, sunflower, imidazolinones

RESUMEN

En el ámbito de la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR se desarrollan proyectos de genética y mejoramiento en ovinos, tomate y girasol. En ovinos se ha logrado un nuevo genotipo por retrocruzamiento de la raza Ideal hacia la Texel, seguido por un programa de mejora para la fertilidad femenina y la tasa de crecimiento en corderos. Este genotipo está registrado como Magrario y se lo reconoce como productor de carne magra. Con respecto al tomate (*Solanum lycopersicum*) se han obtenido 18 nuevos genotipos con la incorporación de genes de la especie silvestre *S. pimpinellifolium* en un cultivar a través de la selección antagonista-divergente para el peso y la vida poscosecha de los frutos. Se han identificado marcadores de AFLP, SRAP, SSR y proteicos que permiten discriminar entre el genotipo cultivado y el silvestre para distintos atributos de calidad del fruto. En girasol se cuenta con una línea de investigación para la detección de genotipos resistentes a herbicidas de la familia de las imidazolinonas. Está basada en el desarrollo de protocolos *in vivo* e *in vitro* para detectar genotipos resistentes, medianamente resistentes y susceptibles, inspeccionando el desarrollo radicular de la planta. También se completó la caracterización bioquímica de la resistencia a través de la cuantificación de la actividad enzimática de ALS.

Palabras clave: Magrario, carne magra, *Solanum lycopersicum*, vida poscosecha, girasol, imidazolinonas

SECCION I:**La obtención de un nuevo genotipo ovino**

Los ovinos en la provincia de Santa Fe presentan un mosaico racial y en la mayoría de estas poblaciones se producen corderos con excesivos depósitos grasos en las reses. Con el fin de aportar genotipos con otro perfil genético para la producción de carne ovina de calidad la Cátedra de Genética ha desarrollado desde 1986 un nuevo genotipo a través de un programa de mejora de la raza Ideal (Polwarth, descendiente de la raza Merino) utilizando retrocruzas hacia la raza Texel, genéticamente distante, ya que descende del grupo de ovejas de cola corta del norte de Europa y es reconocida como raza terminal en la UE por reducir la proporción de grasa en la res. Después de tres retrocruzas se inició un programa de mejora basado en la selección por la fertilidad de las madres y la eficiencia de conversión de alimento en los corderos durante la lactancia. Para seleccionar por fertilidad se utilizó un coeficiente que toma en cuenta una ponderación por el período, temprano o tardío, en el cual se produce la parición, también considera el número de corderos producidos durante la vida fértil y la edad de la madre. De esta forma, la fertilidad femenina se convierte en una variable cuantitativa pudiendo también así evaluarse la longitud de vida fértil de las hembras, carácter heredable asociado al primer celo fértil. La aplicación de este índice logró la adaptabilidad de este nuevo genotipo a las condiciones de la Pampa Húmeda ya que un incremento en cualquiera de los componentes que lo integran implica una mejora en la fertilidad, componente asociado a la adaptación al ambiente. El otro carácter seleccionado, la eficiencia predestete de los corderos, se evaluó a través del Aumento Medio Diario relativo que considera la tasa de crecimiento en relación a la biomasa alcanzada por el animal en el período. Este nuevo genotipo fue registrado como *Magrario: el cordero Magro de Agrarias*® (Picardi, L. A., 1999). También se demostró que aún en condiciones de suplementación posdestete los corderos *Magrario*, cuando son comparados con los corderos de la raza fundadora Ideal, son más eficientes y tienen menores depósitos grasos aplicando un protocolo sobre la res de la *European Association of Animal Production* (Acebal *et al.*, 2000; Picardi *et al.*, 2010). Por otro lado, también se ha demostrado, utilizando las técnicas de ultrasonido sobre el *Lon-*

gissimus dorsi, que bajo estas mismas condiciones las reses del nuevo genotipo depositan menos grasa que razas carniceras de la zona tal como la raza Hampshire Down. Este carácter, convertir alimento en proteína y no en grasa, es de herencia dominante ya que se expresa en los híbridos con ésta y otras razas productoras de lana con las cuales se han obtenido cruzamientos (Picardi *et al.*, 2006). Esto implica que productores con majadas sin o aún con escasa definición racial pueden, en una sola generación, obtener un cordero con características similares a la línea progenitora masculina utilizando machos *Magrario*. Este programa de mejora para producir carne de calidad ha permitido a la Universidad tomar un papel activo para el desarrollo de paquetes tecnológicos en la provincia según los estándares de calidad que se imponen actualmente en las producciones de carne ovina.

SECCION II:**La incorporación de genes silvestres para mejorar atributos que hacen a la calidad del fruto del tomate**

Los cambios evolutivos en la domesticación de tomate, así como la presión de selección ejercida, han reducido la base genética, modificado el sistema reproductivo e incrementado significativamente el tamaño del fruto. En las últimas décadas se han producido variedades de gran productividad pero con frutos que, al demorar su madurez, afectaron el sabor, el color y la textura. Las especies emparentadas con el tomate cultivado (*Solanum lycopersicum*) aportan resistencia a insectos, enfermedades y a condiciones ambientales adversas. Estas especies también suelen presentar variabilidad para las características que dan calidad a los frutos. Entre las especies silvestres del género, *S. pimpinellifolium* se caracteriza por presentar frutos de menor tamaño que los cultivares comerciales pero de alta calidad nutritiva. En condiciones naturales, esta especie mantiene las propiedades organolépticas del fruto durante un mayor lapso pudiendo tener esta propiedad un apreciado valor en programas de mejora para la vida poscosecha de los frutos. La Cátedra de Genética trabaja desde hace 20 años en la incorporación de genotipos silvestres y mutantes de tomate analizando su efecto sobre caracteres que

confieren calidad al fruto. Se ha demostrado que frutos de las formas silvestres *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* y *S. pimpinellifolium* tienen mayor vida poscosecha que los cultivares comerciales y menor que los genotipos homocigotas para los mutantes de madurez del fruto *nor* (*non ripening*) y *rin* (*ripening inhibitor*) de *S. lycopersicum* (Zorzoli *et al.*, 1998). Estos primeros resultados determinaron que se iniciara a mediados de la década del '90 un programa de selección divergente - antagónica para el peso y la vida poscosecha de los frutos a partir de la generación F2 del cruzamiento entre el cultivar Caimanta (*S. lycopersicum*) y una entrada de la especie silvestre *S. pimpinellifolium*, LA722 (TGRC - Davis, California). Este proceso permitió obtener 18 *RILs* (*Recombinant inbred lines*) con diferencias significativas para diversos caracteres que hacen a la calidad de los frutos, obteniéndose genotipos aún superiores al progenitor silvestre para la vida poscosecha (Rodríguez *et al.*, 2006). Actualmente nuestro Laboratorio trabaja en la aplicación de marcadores moleculares tales como perfiles proteicos en distintos estados de madurez del fruto y en marcadores de ADN (*AFLP*, *SRAP* y *SSR*) para la detección de QTLs (Quantitative Traits Loci) involucrados en caracteres de calidad de frutos como ayuda al programa de mejora de la calidad de los frutos. Respecto a los marcadores moleculares proteicos, se detectaron variaciones en las proteínas totales del fruto en los estados verde y rojo maduro, que permitieron caracterizar y agrupar diferentes recursos genéticos de tomate (Pereira da Costa *et al.*, 2009). También se caracterizó la generación F2 obtenida a partir del cruzamiento entre un cultivar homocigota para el mutante *nor* (*non ripening*) y una entrada *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* por perfiles proteicos, concluyendo que es posible diferenciar genotipos por estos marcadores a la vez que se detectaron asociaciones entre diferentes proteínas y caracteres de calidad de fruto tal como peso, pH, vida poscosecha, entre otros (Rodríguez *et al.*, 2008). A su vez, se encontraron diferencias genotípicas para la expresión de las enzimas glutamina sintetasa (GS) y glutamato deshidrogenasa (GDH) en el pericarpio en dos estados de madurez de tomates cultivados y silvestres que discrepaban para la vida poscosecha de sus frutos y en sus híbridos (Pratta *et al.*, 2004). También se han utilizado los marcadores de ADN para caracterizar las 18 *RILs* de nuestro programa

de mejoramiento e híbridos entre ellas, logrando la identificación de marcadores asociados al peso, la forma, el contenido en sólidos solubles, la dureza y la vida poscosecha. Se han identificado hasta ahora 549 marcadores de *AFLP*, 19 marcadores de *SRAP*, 18 marcadores de *SSR* y 20 marcadores proteicos polimórficos que permiten discriminar el genotipo cultivado Caimanta del genotipo silvestre LA722. Estas líneas de trabajo pretenden mejorar la calidad del fruto de esta especie que ha sido deteriorado por actuales enfoques del mejoramiento para incrementar su producción. Como desarrollo tecnológico de este proyecto dos *RILs* están ya en proceso de inscripción ante el Registro Nacional de Cultivares.

SECCION III:

La regeneración *in vitro* y selección temprana para la resistencia a imidazolinonas en girasol

Desde 1992 se han desarrollado sistemas de cultivo *in vitro* de tejidos en esta especie logrando protocolos para acelerar generaciones con el fin de obtener líneas endocriadas y para micropropagación (Mayor *et al.*, 2010). Se estudiaron los factores que provocan hiperhidratación en vástagos regenerados estableciendo estrategias para reducirlo (Mayor *et al.*, 2003) así como los aspectos genéticos de la capacidad de regeneración *in vitro* y la influencia del citoplasma (Nestares *et al.*, 1998), parámetros genéticos para caracteres *in vitro* (Nestares *et al.*, 2002) y los efectos de aptitud combinatoria de líneas (Mayor *et al.*, 2006). Estas experiencias de manipulación *in vitro* permitieron iniciar una línea de investigación de apoyo a los planes de mejora para incorporar genotipos resistentes a herbicidas. La resistencia a imidazolinonas representa el mayor avance para el control de malezas por lo que el conocimiento de la herencia de esta resistencia permite establecer estrategias de mejoramiento convencional para su transferencia a germoplasma *elite*. Los esquemas utilizados son convertir líneas *elite* en resistentes a partir de retrocruzas o bien seleccionar líneas a partir de poblaciones segregantes. Ambos implican gran cantidad de tiempo y recursos para identificar y seleccionar a los genotipos resistentes por lo que caracterizar la expresión de esta resistencia *in vitro* posibilita la identificación y selección

in vitro de genotipos resistentes. En este contexto se ha desarrollado un protocolo de cultivo *in vitro* para acortar el intervalo generacional y seleccionar por resistencia a imidazolinonas. También se obtuvieron exitosos resultados cultivando embriones maduros para la selección por resistencia en etapas tempranas del desarrollo (Vega *et al.*, 2009; Breccia *et al.*, 2010). Este es un sistema que permite discriminar en forma rápida y sencilla los tres grados de resistencia a herbicidas del grupo de las imidazolinonas. A través de la germinación de semillas maduras en medio de cultivo con el agregado del agente selectivo (herbicida) se pueden diferenciar, por inspección visual de las raíces, los individuos resistentes, intermedios y susceptibles. Estos protocolos de germinación constituyen una alternativa a la selección que se efectúa a campo presentando la ventaja de ahorrar tiempo y espacio. También se ha podido obtener un sistema eficiente de rescate de embriones inmaduros con el doble propósito de acortar el intervalo generacional y seleccionar por resistencia. Con estas experiencias la resistencia a imidazolinonas ha podido verificarse a nivel de planta completa en etapas tempranas del desarrollo. También se completó la caracterización bioquímica de la resistencia a través de la cuantificación de actividad enzimática ALS que permite cuantificar en forma objetiva el grado de resistencia de las plantas (versión *in vivo*), requiere poca cantidad de material vegetal, es menos trabajoso y no es destructivo como la versión "*in vitro*". También se ha evaluado la resistencia a nivel de células meristemáticas indiferenciadas (callogénesis *in vitro*) para estudios básicos sobre la resistencia a herbicidas. Estos enfoques desde distintos niveles, planta entera, celular y bioquímico, han brindado una mejor comprensión de la resistencia a imidazolinonas en esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

- Acebal, M.A.; Maiztegui, L.B.; Amelong, J. y Picardi, L.A. (2000) Evaluación de características de la res en corderos con $\frac{3}{4}$ de genes Texel. *Archivos Latinoamericanos Producción Animal* 20 (2): 55-58.
- Breccia, G.; Vega, T.; Nestares, G.; Mayor, M.L.; Zorzoli, R. and Picardi, L. A. (2010) Rapid test for detection of imidazolinone resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Plant Breeding* (en prensa).
- G. Rodríguez, R.Zorzoli, G. Pratta, L.A.Picardi (2006) Recombinant Lines Obtained from an Interspecific Cross between Lycopersicon Species Selected by Fruit Weight and Fruit Shelf Life *Journal of American Horticulture Science* 131(5):561-656
- Mayor M.L., Nestares G., Vega T., Zorzoli R. and Picardi, L. A. (2010). Sunflower Propagation In: "Protocols for in vitro propagation of ornamental plants". SM Jain & SJ Ochatt (Eds.) Humana Press and Springer. Pp 271-280.
- Mayor, M. L.; G. Nestares, R. Zorzoli and L. Picardi (2003) Reduction of the frequency of hyperhydrated shoots in sunflower tissue culture- *Plant Cell Tissue & Organ Culture* . Vol 72(1):96-99
- Mayor, M.L.; Nestares, G.; Zorzoli, R. and Picardi, L.A (2006) Analysis for combining ability in sunflower organogenesis related traits. *Australian Journal of Agricultural Research* 57,1123-1129
- Nestares, G.; R. Zorzoli, L. Mroginski and L. Picardi. (2002) Genetic parameters for in vitro traits in sunflower under two culture media. *Plant Breeding* . 121 (4): 366-368
- Nestares, G.; Zorzoli, R.; Mroginski, L. y Picardi, L.A. (1998) Cytoplasm effects on the regeneration ability of sunflower. *Plant Breeding* 117(2):188-190,
- Pereira da Costa, J.H.; Rodríguez, G.R.; Pratta, G.R.; Zorzoli, R. and Picardi, L.A. (2009) Characterization of tomato germplasm by pericarp protein profiles and morphologic and biochemical fruit traits. *Fruits, Vegetables and Cereals Science and Biotechnology* 3(1): 48-53
- Picardi, L.A., Acebal, M.A. and Maiztegui, L. (2006) A new ovine genotype to improve lamb meat quality. *Proceedings 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Brasil.
- Picardi, L.A.,(1999) - Marca registrada: MAGRARIO: EL cordero magro de agrarias -Acta N° 2.222.703 (51) Clase 29- Registro de Propiedad - SAGyP
- Picardi, L.A; Acebal, M. and Maiztegui, L. (2010) Verifying carcass traits changes in a Backcross Programme with Texel Breed. *Livestock Science* 127: 267-271.
- Pratta, G., Zorzoli, R.; Boggio, S.B.; Picardi, L.A. and Valle, E. (2004). Glutamine and glutamine levels and

related metabolizing enzymes in tomato fruits with different fruit shelf-life- *Scientia Horticulturae* .- 100:341-347

Rodriguez, G.R.; Sequin, L.; Pratta, G.R.; Zorzoli, R. and Picardi, L.A. (2008) Protein profiling in F1 and F2 generations of two tomato genotypes differing in ripening time. *Biologia Plantarum* 52(3): 548-552.

Vega T., Breccia G., Nestares G., Mayor ML, Zorzoli R. and Picardi, L.A. (2009) Soil-less bioassays for early screening resistance to imazapyr in sunflower (*Helianthus annuus L.*) *Pest Management Science* 65:991-995..

Vega, T., Nestares, G. Zorzoli, R. and Picardi, L. A. (2006) Responsive regions for direct organogenesis in sunflower cotyledons. *Acta Physiologiae Plantarum* 28(5): 427-431,

Vega, T.A.; Nestares, G.M; Pratta, G.; Zorzoli, R.; Gattuso, S. y Picardi, L. (2007) Biochemical and histological changes associated with in vitro responses in sunflower cotyledonary explants. *In Vitro Cellular and Development Biology. Plant.* 43(5): 415-422..

Zorzoli, R.; Pratta, G. y Picardi, L.A. (1998) Efecto de los mutantes rin y nor y de genes silvestres sobre características del fruto en *Lycopersicon*. *Mendeliana* Vol XIII (1): 12-19

- Received **21/07/2010**

- Accepted **29/08/2011**