

ENCUENTRO DE CENTROS CIC 2020

Generación de una nueva fuente de tolerancia a herbicidas IMI mediante radiación *gamma* en trigo pan (*T. aestivum* L.).

Expositor/a: Francisco Di Pane
Autores: Di Pane F.J; M.E. Yanniccari

Chacra Experimental Integrada Barrow
(INTA-MDA)



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



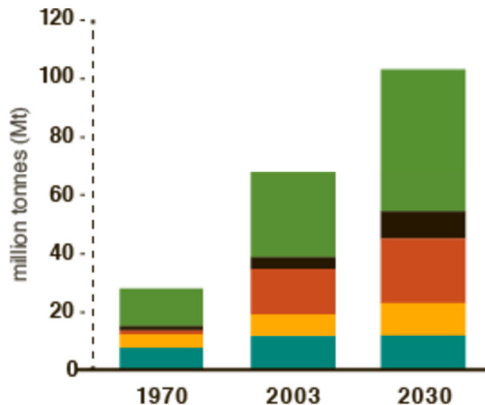
GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

El trigo y la alimentación mundial

El trigo es un cultivo trascendental para la humanidad (Briggle & Curtis, 1987).

El aumento del rendimiento potencial es < al 1 % anual, insuficiente para satisfacer el incremento de la demanda alimentaria (Tilman et al. 2011).

Demand for animal protein is increasing.



Source: PBL, 2009

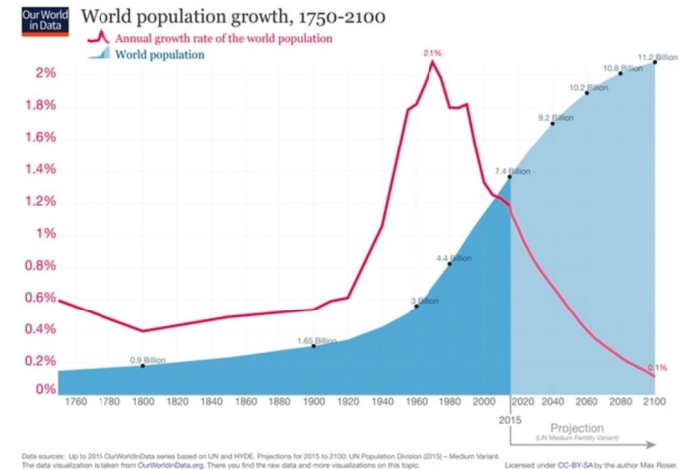
Big Facts
ccafs.cgiar.org/bigfacts



RESEARCH PROGRAM ON
Climate Change,
Agriculture and
Food Security



Se deben encontrar estrategias para aumentar los rendimientos y además que los trigos expresen su máximo potencial.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

2013

La pregunta fue ¿Cómo hago para obtener algo distinto?

Rta: Debo seguir un camino distinto



Generar nueva variabilidad **de novo** para obtener “**Alelos**” que no están en el genoma.

Generación de variabilidad



Clásica: hibridación seguida de selección

Alternativa: Técnicas de mutaciones Químicas

Técnicas de mutaciones nucleares



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

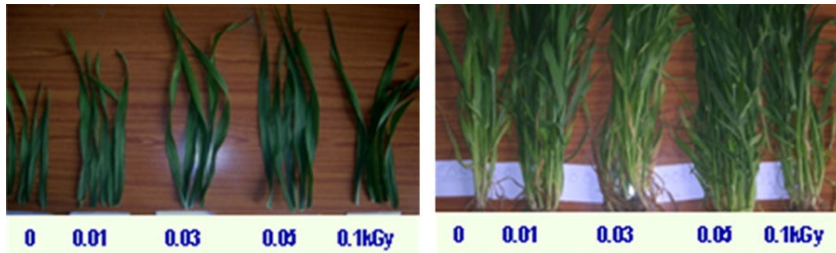
Mutaciones inducidas

Las mutaciones han sido empleadas para el mejoramiento de cultivos de importancia (Ahloowalia et al., 2004). Los rayos gamma han producido 1023 mutantes de cultivo (Hamideldin & Hussin 2014).



Control 139 504

A nivel mundial, la radiación se ha empleado para generar unas 2570 nuevas líneas de trigo. En Argentina su empleo ha sido escaso.



0 0.01 0.03 0.05 0.1kGy

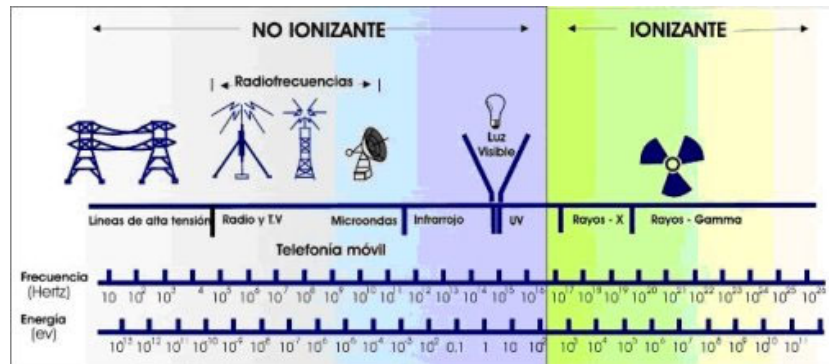
0 0.01 0.03 0.05 0.1kGy



Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3





Objetivos Generales

Generar, identificar, seleccionar y caracterizar caracteres/atributos novedosos de interés agronómico en individuos de trigo pan (*T. aestivum* L.), derivados de un proceso de mutagénesis física con rayos gamma.

Aportar información sobre la influencia de los métodos de mutación físicas como metodología para lograr nuevos caracteres en trigo pan.

Generar una nueva fuente de resistencia genética a herbicidas IMI, y nuevos rasgos que puedan ser usados en programas de mejoramiento para obtener nuevas variedades acordes a la creciente demanda mundial.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



DETERMINAR ALTERACIONES EN EL PODER GERMINATIVO, CRECIMIENTO INICIAL Y CALCULAR LA DL50 EN SEMILLAS EXPUESTAS A DISTINTAS DOSIS DE RADIACIÓN IONIZANTE GAMMA PARA TRIGO PAN (TRITICUM AESTIVUM L.).

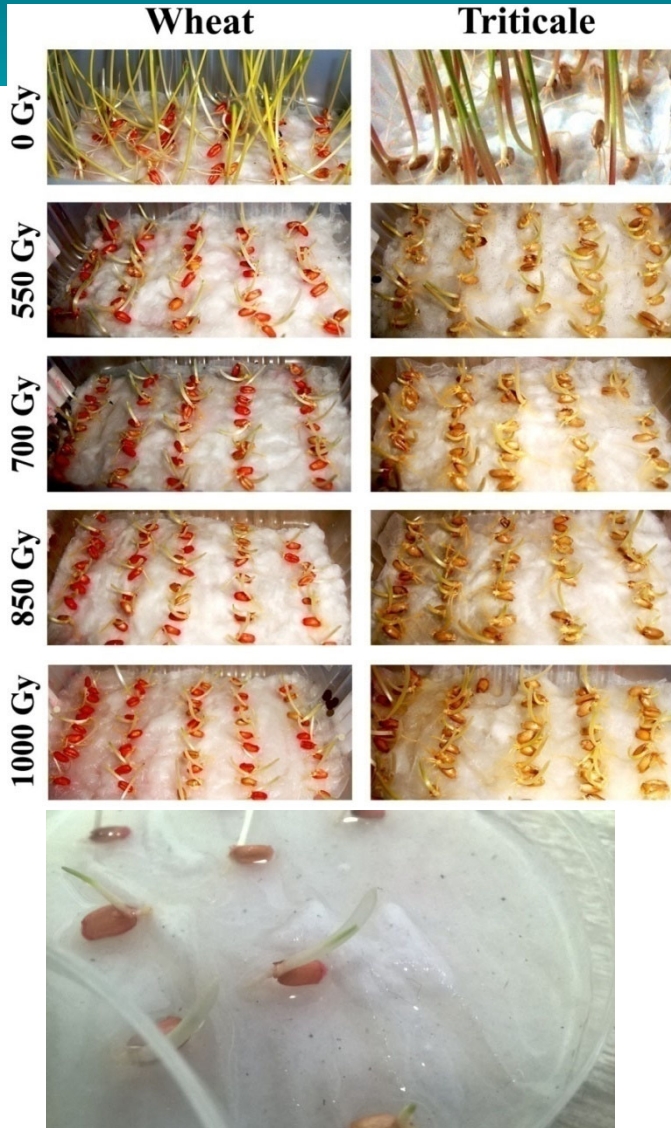
El uso de diferentes dosis de radiación ionizante gamma promueve mediante mutaciones puntuales cambios que favorecerían la generación de variabilidad genética para enriquecer un programa de mejora y además determinar la dosis máxima recomendada que no genere daños que impide la supervivencia de la planta.

Experimentación:

Aplicación de una amplia banda de dosis de rayos gamma (0 a 1000Gy) a semilla de Baguette 10.

- Germinación y crecimiento Inicial en tres períodos (6, 12 y 18 días).
- Determinación DL50.





DETERMINAR

Se determinó el DL50 para la semillas de trigo Bag 10 y Triticale en 450Gy.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



IDENTIFICAR Y CUANTIFICAR CARACTERES FENOTÍPICOS DIFERENCIALES DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA CON RESPECTO AL PARENTAL.

La aplicación de radiación gamma provoca variabilidad genética cuantificable a través de caracteres fenotípicos.

Experimentación:

Las poblaciones con comportamiento diferencial serán evaluadas por diez caracteres fenotípicos de importancia agronómica, en tres ambientes.

El parental y sus poblaciones derivadas se contrastarán mediante los caracteres fenotípicos.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



3- IDENTIFICAR INDIVIDUOS RESISTENTES A HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA AHAS.

Hipótesis 3

La radiación gamma producirá mutaciones en sitios blancos que confieren resistencia a herbicidas inhibidores de AHAS que son diferentes a las fuentes comerciales.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



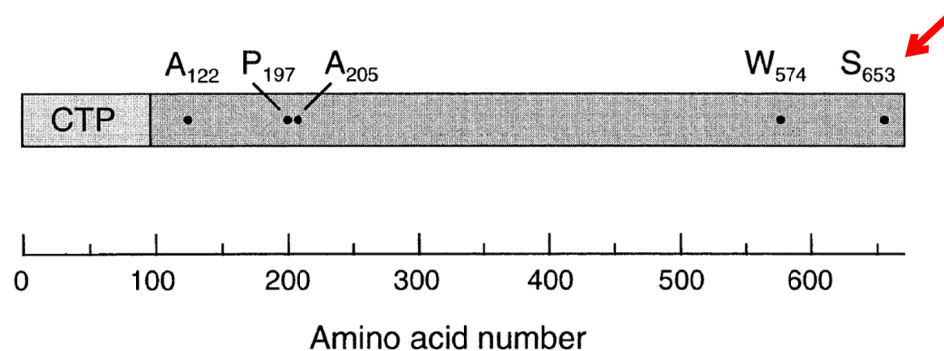
GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

Resistencia a herbicidas AHAS

La acetohydroxyacido sintetasa (AHAS) es el sitio de acción de las sulfonilureas e imidazolinonas (Duggleby & Pang, 2000), herbicidas que controlan malezas en un amplio rango de cultivos. Se emplean a bajas concentraciones, con escasa toxicidad para mamíferos (Saari et al, 1994; Tan et al, 2005).

Existen algunos casos de trigos con mutantes resistentes a herbicidas inhibidores de AHAS.

Los trigos mutantes con resistencia a herbicidas imidazolinonas cuentan con dos genes (imi1 e imi2), patentados y comercializados a nivel mundial por BASF (Pozniak & Hucl, 2004). Se encuentran ubicados en los cromosomas 6B y 6D.



Existen más de 18 aminoácidos de la AHAS involucrados en el acople de la AHAS con las imidazolinonas y/o sulfonilureas (Yu & Powles, 2014a).



Experimentación:

Sobre 250.000 plantas se seleccionarán individuos con resistencia a una dosis comercial de imazamox+imazapyr.

Sobrevivieron 4 plantas!!!!!!



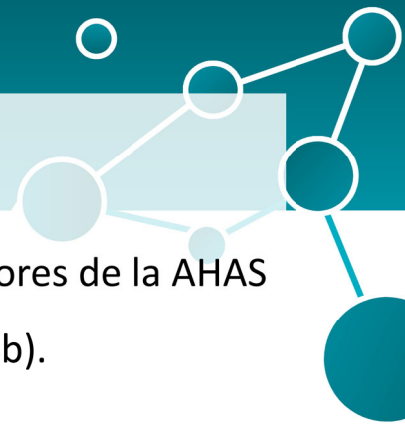
Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



Resistencia metabólica

La otra frecuente vía por la cual las plantas pueden sobrevivir a los efectos de inhibidores de la AHAS es la metabolización mediada por citocromo P450 monooxigenasa (Yu & Powles, 2014b).

Se usaron 3 inhibidores (Butóxido de piperonilo, malatión y aminobenzotriazol) de la enzima AHAS en el testigo, un cultivar resistente y la progenie de 3 plantas seleccionadas por resistencia.



BAGUETTE 10
(Testigo Susceptible)
Con butóxido de piperonilo



Klein Titanio CL
(Testigo Resistente)
Con butóxido de piperonilo



PI 60
Con butóxido de piperonilo



PI 100
Con butóxido de piperonilo



PI 106
Con butóxido de piperonilo

Resultado: no existe respuesta a posibles detoxificación por el citocromo P450, a excepción de un caso (Raíz en PI100)



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



PL106

PL104

PL100

PL60

TITANIO CL

BAGUETTE 10



EVALUAR LAS PENALIDADES BIOLÓGICAS DE LAS MUTACIONES QUE CONFERIRÍAN RESISTENCIA A INHIBIDORES DE LA AHAS.

Hipótesis

Las mutaciones que otorgan resistencia a herbicidas inhibidores de la AHAS conllevan, en la mayoría de los casos, costos biológicos variables reflejados en reducciones de algún parámetro de crecimiento.

Experimentación:

Se evaluará la acumulación de biomasa aérea seca en cinco estados fenológicos y la producción de semilla de las poblaciones selectas y del testigo no tratado.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

Costos biológicos y penalidades

Existen efectos pleiotrópicos, como la disminución de los parámetros de crecimiento y/o reproductivos asociados a una mutación activa. En algunas mutaciones en malezas, alcanza hasta un 84% de inhibición en la producción de biomasa.

New
Phytologist

Tansley review

Review 757

Table 1 (a) Acetohydroxyacid synthase (AHAS) mutations in evolved field-selected weed species in which fitness studies have been conducted. (b) Known AHAS mutations in evolved field-selected weed species remaining to be investigated for fitness costs

| Amino acid residue | | Cross-resistance to AHAS-inhibiting herbicide families | Weed species | Fitness cost | Reference |
|--------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------|------------------------------------------|
| Wild-type | Resistant | | | | |
| (a) | | | | | |
| Pro-197 | His | Sulfonylurea | <i>Lactuca serriola</i> | Yes | Alcocer-Ruthling <i>et al.</i> (1992a,b) |
| Trp-574 | Leu | Imidazolinone Sulfonylurea Pyrimidinylthiobenzoates Triazolopyrimidines Sulfonylaminocarbonyl-triazolinone | <i>Amaranthus powellii</i> | Yes | Tardif <i>et al.</i> (2006) |

El ensayo para evaluar dicho costo biológico recién se ha cosechado y está en proceso de análisis pero se estima que existiría algún efecto en la mutación evaluada.



Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES



Qué hicimos

- Descartar influencia de factores detoxificación, resistencia metabólica (citocromo P450).
- Estimar Costo biológico y penalidades por la presencia de la mutación/es.
- Respuesta a distintas dosis de herbicidas en post emergencia.
- Estimar el mecanismo hereditario vinculado a la resistencia a herbicidas generada por mutación inducida ¿Mendeliana?

¿Qué nos falta?

- Determinar la/s mutaciones responsables de la resistencia encontrada (en proceso).
- Determinar en cual/es de los genómas del trigo están dicha/s mutación (en ciclo 2020).
- Evaluar éstos trigos a distintos manejos de IMI y otros herbicidas de la flia de inhibidores de AHAS (sulfometurón metil-clorimurón etil) y a otras flias (Acetoclor). También ciclo 2020.





Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

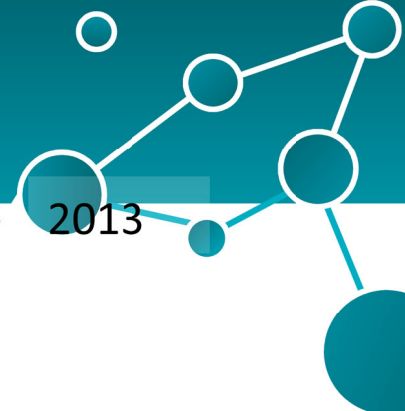
MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



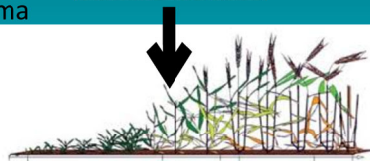
GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES

Generación de variabilidad

Rayos Gamma



M1: PG, Viabilidad e *Incremento*



M2: *Selección de 300 espigas*



M3: *Incremento y inicio de fenotipado*

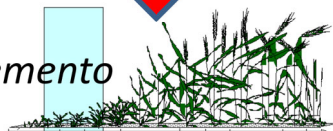


M4: *Selección con herbicida
IMI (250.000pls)
4 plantas candidatas*



M4 Incremento s/sel.

M5: *Comprobación e Incremento*



**M5 Fenotipado de 33
pobl en 1 ambientes**

M6/7: *Ensayo Dosis/respuesta,
Costo Biológico, Citocromo,
Identificación de mutaciones
manejo de cultivo, etc.*



**M6 Fenotipado de 33 pobl en 2
ambientes**

2013

2014

2015

2016

2017

2018

2019

2020



Muchas gracias



**Centro de Estudios
en Nutrición
y Desarrollo Infantil**

CIC COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN,
CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
BUENOS AIRES