



UNIVERSIDAD  
POLITECNICA  
DE VALENCIA

# Estrategias para el desarrollo de variedades tolerantes a estrés de suelo

<b>Apellidos, nombre</b>	Picó Sirvent, María Belén ( <a href="mailto:mpicosi@btc.upv.es">mpicosi@btc.upv.es</a> ) Gisbert Domenech, Carmina ( <a href="mailto:cgisbert@btc.upv.es">cgisbert@btc.upv.es</a> )
<b>Departamento</b>	Departamento de Biotecnología
<b>Centro</b>	Universidad Politécnica de Valencia



## 1. Resumen de las ideas clave

La agricultura de los últimos años se ha caracterizado por el empleo de un elevado aporte de insumos. En este marco, se han elevado las producciones, pero a la vez se han generado nuevos problemas. El estrés biótico y abiótico de suelo es una de los principales factores limitativos del cultivo de plantas y su importancia crecerá en un futuro. Por una parte, el cambio climático que ya estamos experimentando, causará mayores problemas de falta de agua en determinadas zonas y problemas de suelo asociados al empleo de agua de mala calidad. Por otro lado, las nuevas tendencias de sostenibilidad en la agricultura llevan asociado el empleo de menor cantidad de abonos y pesticidas, con la consecuente reducción de la producción y el incremento de las enfermedades. Las medidas culturales adoptadas cada vez son menos eficientes para el control de estos estreses. Por ello, resulta imprescindible el desarrollo de nuevos cultivares que puedan adaptarse a una agricultura con menos insumos y en condiciones más extremas. En este contexto, existen distintas alternativas para la obtención de variedades mejoradas: la selección de cultivares con sistemas radiculares más eficientes, la identificación de genotipos resistentes a estreses concretos y el empleo del injerto como herramienta para superar estreses de suelo. A continuación se describen los fundamentos de cada una de estas estrategias con ejemplos prácticos. La explicación planteada facilitará el aprendizaje de estas metodologías al alumno de Ciencias de la vida (Agronomía, Forestales, Medio ambiente, Biología).

## 2. Objetivos

Una vez que el alumno haya estudiado con detenimiento este documento y los recursos de apoyo asociados, será capaz de:

1. Describir y explicar distintas estrategias para desarrollar cultivares con resistencia a estrés de suelo.
2. Dar ejemplos y aplicaciones de esta técnica en diversos campos.
3. Diseñar y desarrollar-aplicar un experimento de este tipo.
4. Analizar e interpretar los resultados obtenidos.

## 3. Introducción

La agricultura moderna desarrollada durante el siglo XX ha estado orientada fundamentalmente hacia un incremento de la producción de los cultivos, pero ha tenido un impacto ambiental negativo, principalmente en relación con el agotamiento de los suelos y la contaminación del agua de riego. La escasez de agua y la acumulación de sales en el suelo a causa del empleo de agua con una excesiva concentración salina, son problemas que van agravándose con el tiempo. A parte del estrés salino o hídrico, el cambio climático al que ya estamos asistiendo incrementa el estrés térmico, ya que los cambios en los patrones del clima causan pérdidas de cosechas en algunas zonas, reduciendo la seguridad alimentaria.



El desarrollo de una agricultura sostenible, empleando recursos renovables y en equilibrio con el medio ambiente es la tendencia actual. En el marco de esta agricultura se pretende obtener productos de calidad, a la vez que se mantiene la calidad del suelo y de los recursos hídricos, es decir se pretende cubrir las necesidades presentes sin comprometer las necesidades futuras.

Uno de los aspectos claves de una agricultura más sostenible con el medio es reducir la aplicación de pesticidas, sobretodo de aquellos más agresivos y de amplio espectro. Muy conocido es el caso del bromuro de metilo, utilizado como fumigante de suelo para eliminar ácaros, nemátodos, hongos, bacterias, virus y malas hierbas, por su amplio espectro de acción y su elevada eficiencia a bajas concentraciones. La prohibición de su uso en la pasada década, por su impacto sobre la capa de ozono, la salud humana y la diversidad natural, disparó la investigación de productos alternativos, pero hasta la fecha no se han encontrado productos de idéntica eficacia. La prohibición del bromuro ha hecho surgir nuevos problemas bióticos, así algunos patógenos que no suponían un problema lo son ahora en algunos cultivos. También el cultivo de las plantas en condiciones cada vez más estresantes aumenta su sensibilidad a plagas y enfermedades.

Por todo lo comentado anteriormente, las variedades desarrolladas en el marco de la agricultura de elevados insumos en muchas ocasiones no se adaptan a esta nueva agricultura. Tampoco las prácticas culturales utilizadas hasta el momento, como los lavados de suelos, la sustitución de suelos por sustratos alternativos, los trasplantes en vez de siembras directas, el uso adecuado del agua del riego, la lucha integrada contra plagas y enfermedades, etc. han resultado del todo eficientes.

Una solución a medio-largo plazo es la utilización de poblaciones genéticamente variables en especies de interés económico, con el fin de identificar, seleccionar, y propagar aquellos genotipos con mayor grado de adaptación a los nuevos estreses bióticos o abióticos de suelo. Desde el punto de vista de la selección y manejo del material vegetal los mejoradores emplean fundamentalmente 3 estrategias: 1) desarrollo de cultivares con sistemas radiculares mejor adaptados a los nuevos estreses; 2) desarrollo de cultivares resistentes a los nuevos patógenos; 3) empleo del injerto como estrategia para superar estreses de suelo.

## 4. Desarrollo

A continuación describiremos 3 tipos de estrategias empleadas para el desarrollo de cultivares con resistencias a estreses de suelo, explicando algunas de las metodologías más utilizadas para la consecución de los objetivos perseguidos. En cada caso, ilustraremos la explicación con ejemplos, utilizando como modelo la familia Cucurbitaceae, que incluye alguna de las frutas y hortalizas más importantes a nivel mundial.

Se describe con detalle cada estrategia y se plantean una o varias cuestiones relevantes al final de cada explicación para validar lo aprendido. Al final se presenta un esquema resumen que permite confirmar el aprendizaje de la globalidad del proceso.

Recomendamos que tras el estudio de este artículo se visualice la página de la empresa Regent Instruments, donde describe el empleo del software WinRhizo para el análisis de sistemas radiculares ([http://www.regentinstruments.com/assets/winrhizo\\_about.html](http://www.regentinstruments.com/assets/winrhizo_about.html)). Así mismo, para reforzar lo aprendido y lograr una visión más general de las estrategias utilizadas se recomienda leer la revisión de 2007 de Picó et al. (2007). Using genetics to improve stress resistance through altering root architecture (CAB Reviews: Perspectives Agr. Veterinary Sci. Nutr. Natural Resources).

### ESTRATEGIA 1. Análisis de la estructura de raíz y selección de plantas con estructura más eficiente

El sistema radicular juega un papel muy importante en el desarrollo de la planta. Una raíz que se desarrolla con un vigor y estructura adecuados en un determinado ambiente puede proporcionar a la planta una mayor capacidad de absorción de agua y nutrientes, una mayor tolerancia a estreses de suelo y una mejor exposición a los microorganismos beneficiosos del mismo (Lynch 1995; Pico et al., 2007).

El desarrollo de variedades con un mejor sistema radicular puede realizarse aprovechando la variabilidad natural existente. En estos casos, se analizan colecciones de germoplasma tratando de identificar variación en algunos parámetros concretos de raíz (longitud, diámetro y volumen de raíces primarias o secundarias, número de ramificaciones, tipo y distribución de pelos radiculares, capacidad de regeneración y penetración del suelo, etc.). Existen programas informáticos que facilitan el estudio de estos parámetros mediante el análisis de imágenes de raíces escaneadas. Uno de los más empleados es el WinRhizo de Regent Instruments (Arsenault et al., 1995) (Figura 1)



**Figura 1.** Raíz lavada y escaneada. Análisis de la misma con el programa WinRhizo, que facilita la determinación precisa de la estructura de la raíz.

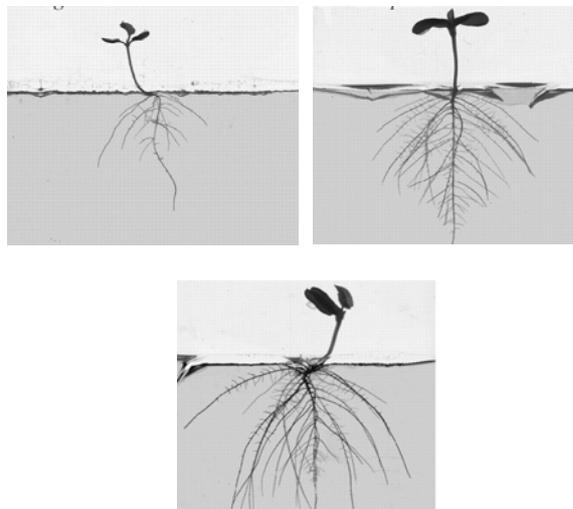
Una vez identificada esta variación se estudia su control genético mediante la construcción de poblaciones adecuadas. Así mismo, se pueden encontrar variantes inducidas para el desarrollo de la raíz en colecciones de mutantes, hoy en día disponibles para muchos cultivos.

El estudio del sistema radicular es algo complejo. Al ser una estructura subterránea es necesario utilizar sistemas específicos de fenotipado, como



Rizotrones u otras estructuras, que permitan el seguimiento del desarrollo de raíz *in vivo*. Su control genético es complejo y el estudio del mismo requiere el desarrollo de poblaciones adecuadas. Las poblaciones constituidas por individuos homocigotos y en las que se eliminan los efectos de las interacciones epistáticas, como las colecciones de líneas de introgresión, facilitan el estudio de estos caracteres de genética compleja. Por último, una vez identificadas las variantes de raíz es necesario comprobar su relación con la mayor tolerancia a determinados estreses, deficiencia en nutrientes, falta de agua, exceso de sal, temperaturas extremas, estructura de suelo, etc.

**Ejemplo:** En la siguiente figura se muestran tres raíces de melón analizadas mediante un sistema que permite la visualización de su crecimiento *in vivo* (Figura 2). Se trata de dos líneas de melón, una exótica (arriba izquierda), perteneciente a la subespecie *agrestis* de *Cucumis melo*, y la otra un melón cultivado de tipo Piel de sapo, perteneciente a la subespecie *melo* (arriba derecha). La imagen de la parte de abajo corresponde a una línea casi isogénica, seleccionada a partir de una colección de líneas de introgresión del genoma del melón exótico en el melón cultivado. Este ensayo forma parte de un ensayo general orientado a determinar la genética del desarrollo del sistema radicular del melón (Fita et al., 2008). En la línea casi isogénica, portadora de un fragmento del grupo de ligamiento VI del melón exótico en el fondo genético de Piel de sapo, se observa un mayor desarrollo de las raíces laterales.



**Figura 2.** Raíces de dos variedades de melón, arriba: izquierda, el tipo exótico *chinensis* y derecha, el tipo cultivado Piel de sapo, abajo: raíz de una línea casi isogénica de Piel de Sapo que lleva introgresado un fragmento cromosómico del grupo de ligamiento VI del melón *chinensis* en el genoma de Piel de sapo.

**A partir de la morfología de raíz observada en las 3 plantas de la figura 2; ¿Qué podrías indicar acerca del control genético de la longitud de las raíces laterales en melón?**



*¿Qué ventajas presenta el empleo de líneas de introgresión para el estudio de la genética de características de raíz? ¿y para el desarrollo de nuevas variedades con distinta morfología del sistema radicular?.*

## E ESTRATEGIA 2. Selección de variedades resistentes a patógenos del suelo

Aunque un sistema radicular vigoroso y con una buena estructura permite a la planta superar algunos tipos de estrés de suelo, no tiene porque ser una solución para otros. En el caso de los estreses bióticos causados, por ejemplo, por patógenos fúngicos o nematodos es más eficiente disponer de variedades con resistencia específica a los mismos. En estos casos, la variación natural está proporcionando fuentes de resistencia a los principales patógenos fúngicos que afectan a la producción y calidad de muchos cultivos. Una de las enfermedades fúngicas más generalizadas es la fusariosis, que ha crecido en importancia tras la prohibición de agentes fumigantes del suelo como el bromuro de metilo. Distintas especies de *Fusarium* causan daños severos en cultivos de mucha importancia, por ejemplo de las familias Solanaceae y Cucurbitaceae, como tomate, pepino, sandía o melón.

La identificación de resistencias pasa por el desarrollo de protocolos de inoculación adecuados, que permitan el cribado de amplias colecciones de germoplasma. El fenotipado para resistencias a patógenos fúngicos transmitidos por el suelo es, en muchos casos, más sencillo que el análisis de la estructura de raíz. Aunque suelen encontrarse resistencias aprovechables, algunas de ellas de control sencillo, la variabilidad de los patógenos suele llevar a roturas de la resistencia y a la necesidad de la búsqueda de nuevos genes y la pirimidización de los mismos para conseguir resistencias más duraderas.

**Ejemplo:** En la siguiente figura (Figura 3) se muestra un ensayo de inoculación desarrollado para la identificación de resistencias a *Fusarium oxysporum* f *melonis* raza 1.2, que afecta a especies del género *Cucumis*. Todas las entradas analizadas de la especie *C. melo* resultaron altamente susceptibles y murieron antes de desarrollar la tercera hoja verdadera, mientras que las entradas probadas de la especie *C. metuliferus* fueron altamente resistentes a la infección.



**Figura 3.** Cribado de germoplasma para la búsqueda de resistencias a patógenos fúngicos del suelo. Izquierda: resultado de la inoculación con un cultivo de *Fusarium oxysporum* f *melonis* raza 1.2. Todas las entradas de *C. melo* fueron susceptibles, mientras



que las de *C. metuliferus* fueron resistentes (fila inferior). Derecha: frutos de *C. metuliferus*, una especie exótica relacionada con el melón.

**Ejemplo:** En la siguiente figura (Figura 4) se muestra un ensayo de inoculación desarrollado para la identificación de resistencias a *Macrophomina phaseolina*, que afecta a distintas especies cucurbitáceas. Este patógeno no resultaba un problema cuando se empleaba bromuro de metilo como fumigante del suelo. Desde la prohibición de este compuesto su importancia está creciendo rápidamente y se ha disparado la búsqueda de resistencias.



**Figura 4.** Cribado de germoplasma para la búsqueda de resistencias a patógenos fúngicos del suelo. Se inocularon con un cultivo de *Macrophomina phaseolina*. Se muestra la respuesta diferencial del germoplasma ensayado, con líneas muy susceptibles, izquierda, y otras parcialmente tolerantes (menos gravedad de las lesiones de cuello), derecha.

*¿Es suficiente una buena estructura de raíz para soportar los estreses de suelo?*

*¿Cómo afecta la práctica de una agricultura más compatible con el medio en la que se reduce el empleo de pesticidas, a la gravedad y diversidad de las infecciones fúngicas? ¿Cómo puede la mejora genética contribuir a minimizar este impacto?*

### ESTRATEGIA 3 . El injerto como herramienta para evitar los estreses de suelo

Disponer de germoplasma con una adecuada estructura de raíz o con resistencia a patógenos del suelo no es siempre la solución para el desarrollo de nuevas variedades. A veces la variación se encuentra en germoplasma que presenta problemas de cruzabilidad con la especie cultivada. A modo de ejemplo, la especie *Cucumis metuliferus* presenta problemas de cruzabilidad con melón (*Cucumis melo*) y pepino (*Cucumis sativus*). Una forma alternativa a los cruzamientos para aprovechar esta variación es utilizar este germoplasma como portainjerto de variedades comerciales con buenas características de producción y calidad.



El injerto es una práctica común que ha venido utilizando para evitar problemas causados por patógenos de suelo, fundamentalmente hongos y nemátodos. Prácticamente toda la producción de sandía (*Citrullus lanatus*) se obtiene a partir de planta injertada con el fin de controlar las fusariosis provocada por el hongo *Fusarium oxysporum f niveum*. Con la prohibición del uso del bromuro de metilo para desinfectar suelos, la técnica del injerto se está extendiendo a otras especies. El injerto también se utiliza para aumentar el vigor, minimizar el efecto de distintos tipos de estrés abiótico o incrementar la absorción de nutrientes (King et al., 2010). Actualmente, se está estudiando la posibilidad de la transmisión de resistencias a virus desde portainjertos resistentes a la variedad injertada. Estos estudios se basan en el movimiento de moléculas que se transmiten entre patrón y copa y entre las que se incluyen algunas implicadas en mecanismos de defensa (Zhang et al. 2009).

Al igual que puede haber transporte de moléculas involucradas en mecanismos de defensa, también puede haber transporte de moléculas involucradas en otros procesos. De hecho, se han descrito alteraciones del proceso de floración (adelanto o retraso del mismo), deformaciones de fruto, alteración del cuajado o pérdidas de calidad en variedades injertadas. Estas alteraciones son más comunes cuando el portainjerto pertenece a una especie o incluso a un género diferente al de la variedad. Por ello, la tendencia actual es a buscar portainjertos que al menos pertenezcan al mismo género, sino, a la misma especie que la variedad injertada.

**Ejemplo:** En la siguiente figura (Figura 5) se muestran dos plantas de un melón de tipo cantalupo; a la izquierda una planta injertada sobre *Cucumis metuliferus* y a la derecha no injertada. Puede verse como el injerto aumenta el vigor y mejora la floración del melón de tipo cantalupo.



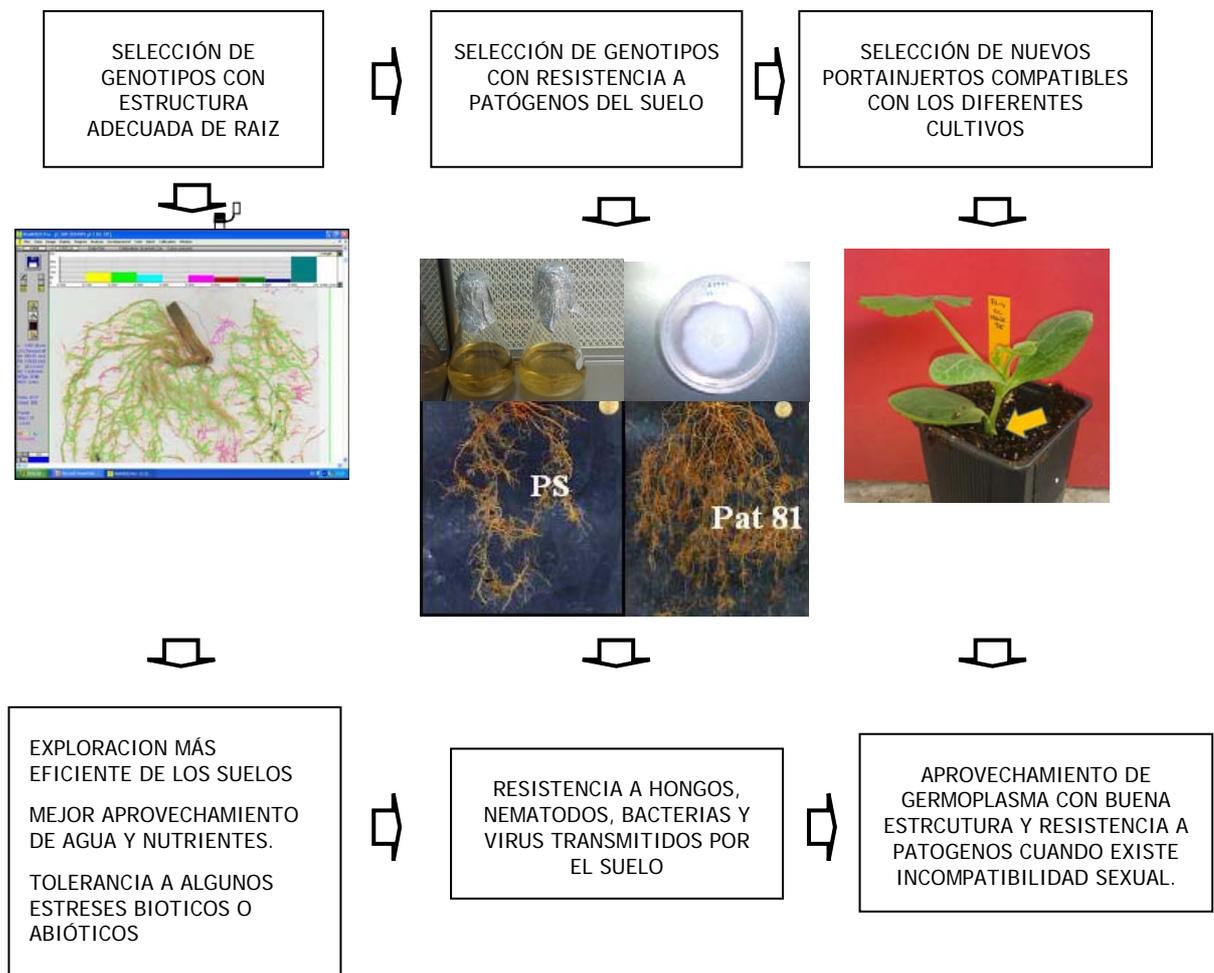
**Figura 5.** Plantas de melón de tipo cantalupo injertada sobre *Cucumis metuliferus* (izquierda) y no injertada (derecha).

*Entre los portainjertos más empleados en cucurbitáceas se encuentran los híbridos de *Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*. La figura 5 muestra una variedad de melón *Cucumis melo* injertada sobre una entrada de la especie *Cucumis metuliferus*.*



*¿En qué combinación injerto-patrón cabría esperar mayores alteraciones del desarrollo de la variedad de melón cantalupo, en el injerto sobre C. metuliferus o en el injerto sobre un patrón híbrido de Cucurbita? ¿Por qué?*

**REPASA LAS ESTRATEGIAS PARA INCREMENTAR LA TOLERANCIA LOS ESTRESSES BIOTICOS Y ABIÓTICOS DE SUELO CON EL ESQUEMA SIGUENTE**





## Bibliografía

Arsenault J.-L., S. Pouleur, C. Messier & R. Guay. 1995. WinRHIZO, a root-measuring system with a unique overlap correction method. HortScience, Vol. 30, pp. 906

Fita, A.; Picó, B.; Monforte, A.; Nuez, F. Genetics of Root System Architecture Using Near-isogenic Lines of Melon and Belén Picó JASHS May 2008 vol. 133no. 3 448-458

King S.R., Davis A.R., Zhang X., Crosby K. 2010. Genetics, breeding and selection of rootstocks for Solanaceae and Cucurbitaceae. Scientia Horticulturae 127:106-111.

Lynch, J. (1995) Root architecture and plant productivity. Plant Physiol. 109:7-13.

Picó, B., Fita, A., Nuez, F. (2007) Using genetics to improve stress resistance through altering root architecture (CAB Reviews: Perspectives Agr. Veterinary Sci. Nutr. Natural Resources  
(<http://www.cababstractsplus.org/CABReviews/Reviews.asp?action=display&openMenu=relatedItems&ReviewID=32700&Year=2007#>).

Zhang, S. Sun L., Kragler F, 2009. The phloem delivered RNA pool contains small non-coding RNAs and interferes with translation. Plant Physiology 150:378-387.