

MODERADOR Dr. Luis Hernandez, UNS

Conclusiones  
Segundo Taller ASAGIR  
sobre **Fisiología  
Vegetal**

DISERTANTE Dr. Luis Aguirrezábal\*

Este Taller fue realizado en el mes de julio de 2003, en la ciudad de Mar del Plata; allí se presentaron en conjunto, todas las líneas de investigación de la Fisiología Vegetal asociadas al cultivo de girasol en nuestro país.

Voy a comentarles algunos aspectos sobre la fisiología del girasol en el mundo, sobre las líneas de investigación actual en la Argentina, e intentaré demostrar, mediante algunos ejemplos, si hemos o no avanzado desde el taller anterior (2002) hasta el presente y luego haremos algunas consideraciones finales.

Si vemos los trabajos de la sesión de ecofisiología en el último Congreso Internacional de Girasol, la participación Argentina fue francamente mayoritaria. Gran parte de los trabajos se realizan en tres centros públicos de Argentina: la Universidad Nacional del Sur, la Universidad de Bs. As. y la Unidad Integrada Balcarce (INTA-Universidad de Mar del Plata); la investigación privada en general es escasa y la mayor parte en colaboración con nuestros centros.

El taller 2002 se realizó en la Unidad Integrada Balcarce, por Bahía Blanca y Buenos Aires participaron sólo los coordinadores de grupo y las conclusiones fueron comentadas por el Dr. Antonio Hall en Carlos Casares. En el 2003, realizamos el taller en Mar del

*\*Ingeniero Agrónomo (UNMdP) Diploma de grado en Producción Vegetal obtenido en el INAPG de la Universidad de París Once. Doctorado obtenido en la Universidad Paskal de Clermont, Francia. Ha realizado trabajos post doctorales en Francia.*

*Profesor del Curso de Fisiología Vegetal y Profesor de Cursos de la carrera de postgrado de la UNMdP. Investigador del CONICET, sus trabajos se basan en Efectos de Factores Ambientales sobre el Crecimiento, Rendimiento y Calidad de plantas de cultivo, la mayoría de estos trabajos han sido enfocados en el cultivo de girasol.*

*Contacto: laquirre@mdp.edu.ar*

Plata, con la participación tanto de los coordinadores de grupo, como becarios y jóvenes investigadores; se expusieron las distintas líneas y se discutió en profundidad. El encuentro y sobre todo la discusión, centralizaron las bases de intercambio, que puntualmente son: transferencia de metodologías de genotipos interesantes y el desarrollo de actividades conjuntas entre laboratorios.

Existen diferentes temas de investigación en Argentina y a su vez en cada tema, hay numerosas líneas, el 47% de éstas son financiadas por ASAGIR.

Hay líneas sobre:

- 3 **Control de desarrollo,**
- 3 **Respuesta a fotoperíodo,** esto es importante para la producción de híbridos, donde hay que hacer coincidir en un mismo momento y en diferentes zonas del país la floración de dos líneas.
- 3 **Estrés,** por ejemplo, sobre **estrés térmico,** lo que es importante en el contexto de cambio global y de un corrimiento del cultivo hacia el noreste.
- 3 Líneas que intentan **transferir información** desde una especie modelo *Arabidopsis thaliana*.
- 3 **Arquitectura de planta** y de **canopeo,** posibilidad de cultivar a una mayor densidad, si hay híbridos tolerantes o más tolerantes que otros a esa forma de cultivo, es decir, conocer el límite fisiológico de rendimiento del cultivo.
- 3 **Desarrollo del área foliar en relación a la senescencia,** lo cual es clave para el manejo.
- 3 Dentro del componente **rendimiento,** hay una línea sobre **frutos vanos** y la **distribución espacial en el capítulo,** lo cual entre otras cosas es importante para la producción de semilla híbrida.
- 3 **Calidad,** por ejemplo concentración de **tocoferoles en el aceite**
- 3 **¿Cómo se forman las ceras en el pericarpio?**
- 3 **Modelado.**

Por ejemplo **el estrés hídrico,** ustedes saben que es una de las limitantes más importantes para el rendimiento.

Trabajos anteriores de este grupo, mostraron que existe variabilidad dentro de la especie para **ajuste osmótico** (es la capacidad de un genotipo de poder concentrar su jugo celular y seguir absorbiendo y reteniendo agua bajo sequía) y que el carácter es heredable.

En el taller 2002, probaron que materiales de similar constitución genética, pero que tenían alto o bajo ajuste osmótico, podían tolerar una sequía expuesta antes de la floración.

En el taller 2003 (**Cuadro 1**), probaron que los materiales frente a una sequía, después de floración, no presentaban diferencias en rendimiento, entre alto y bajo ajuste osmótico, al igual que cuando no había sequía.

La disminución del rendimiento ante una sequía fue menor para las líneas de alto ajuste osmótico, esto fue debido a que siguieron consumiendo agua durante la sequía, por lo que disminuyó menos la duración del área foliar, porque siguieron extrayendo agua de

estratos profundos del suelo. Esto disminuye menos fundamentalmente el rendimiento, porque disminuyó menos el peso de granos; **la capacidad de ajuste osmótica** por lo tanto, tendrá un impacto importante en el mantenimiento del rendimiento bajo sequía. Es interesante porque no lo deprime cuando no hay sequía y este es un carácter que sería importante incorporarlo en programas de mejoramiento genético.

CUADRO 1

**Ajuste osmótico y mantenimiento del rendimiento bajo sequía**  
(J. Giuliano, C. Chimenti y A.J.Hall, Buenos Aires)

- Cuatro familias F5, con un mismo origen, pero distintos niveles de AO
- A partir de inicio de antesis se aplicó un déficit hídrico de 36 días de duración.
- No hubo diferencias en rendimiento cuando la disponibilidad hídrica fue buena

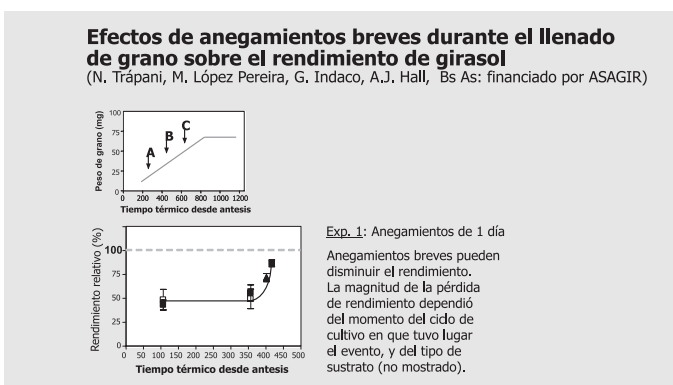
Disminución ante sequía en postantesis		
rendimiento	Alto AO	Bajo AO
	-19%	-45%
consumo agua	-40%	-57%
durac. área fol.	-13%	-78%
Nº de granos	-2%	-18%
peso de 1 grano	-16%	-33%

El mejor mantenimiento del rendimiento en materiales de alto AO asociado a mayor **extracción de agua** desde estratos profundos del suelo y una menor pérdida de **área foliar** durante la sequía.

El agua no sólo es importante por defecto sino por exceso (**Gráfico 1**) y hay evidencias de menor rendimiento en los años más lluviosos que en los menos lluviosos, las posibles causas podrían ser: una menor radiación, enfermedades, pero hay casos en que no es ninguna de las dos. Se podría pensar en efectos retardados, ocasionados por un anegamiento, pero no se había puesto en evidencia anteriormente.

Los investigadores, lo que hicieron fue, en tres momentos diferentes del llenado, aplicar anegamientos muy cortos (de uno o dos días) y acá se ven los resultados: esto es lo que rindieron los testigos, fíjense los anegamientos tempranos durante gran parte del llenado, disminuyeron casi el 50%, por lo tanto anegamientos breves podrían disminuir el rendimiento y la magnitud o la pérdida dependería del momento del ciclo del cultivo.

GRAFICO 1

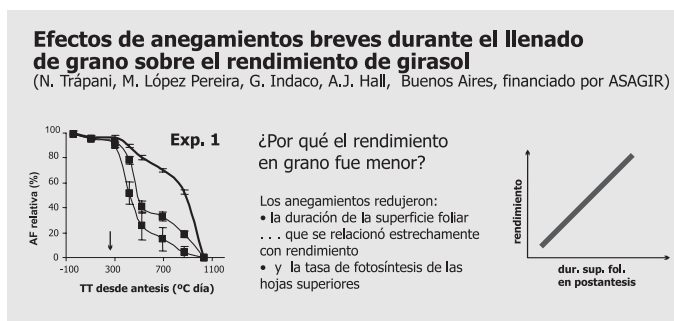


¿Por qué el rendimiento en grano fue menor? Porque con anegamientos tempranos se redujo el **número de frutos** y con anegamientos más tardíos el **peso**, porque disminuyó la tasa o la duración del llenado y ¿por qué ocurrió eso?

Esto estuvo asociado con que los anegamientos, redujeron la duración de la superficie foliar (**Gráfico 2**), acá se ve la evolución de la superficie foliar a floración para el testigo, para los anegamientos de uno y dos días, esto se relacionó estrechamente con el rendimiento y además disminuyó la tasa de fotosíntesis de las hojas superiores. Por lo tanto un anegamiento de corta duración podría afectar el rendimiento, esto está ligado con un componente fisiológico.

Esta es la primer puesta en evidencia a partir de la cual se puede empezar a trabajar, viendo si hay variabilidad genética, si se puede solucionar por manejo, etc.

GRAFICO 2



Pero también hay otras líneas, son trabajos más básicos, por ejemplo, sabemos mucho más sobre llenado desde hace algunos años, pero los modelos de desarrollo actual se basan sólo en datos de **Peso seco** y para poder entender lo que ocurre por efecto de un estrés ambiental, sería importante reconocer cuándo termina la división celular, cuándo la expansión celular, etc.

En este trabajo (**Gráfico 3**), se siguió el aumento de **Peso seco** y el **número de células** y se ve que a los 15 días más o menos, el número de células queda fijado; pero también siguieron el número de células por unidad de peso, se ve que este cae rápidamente, lo cual indicaría que hubo expansión de las células en el fruto (esto también se vió cuando los investigadores lo observaron directamente).

Gracias a eso establecieron el primer modelo de este tipo (**Gráfico 4**), en el cual durante esta primera etapa hasta los 15 días, habría división celular y esta sería muy importante hasta aproximadamente los 7 días, luego coexistirían división y expansión celular, a partir de lo cual, habría sobre todo expansión de células. Además en este proyecto se investiga la **ontogenia**, la diferenciación de otros tejidos como la cáscara, esta información básica permite avanzar en un modelo de desarrollo que va a ser muy útil para que poda-

mos entender incluso, resultados obtenidos anteriormente.

GRAFICO 3

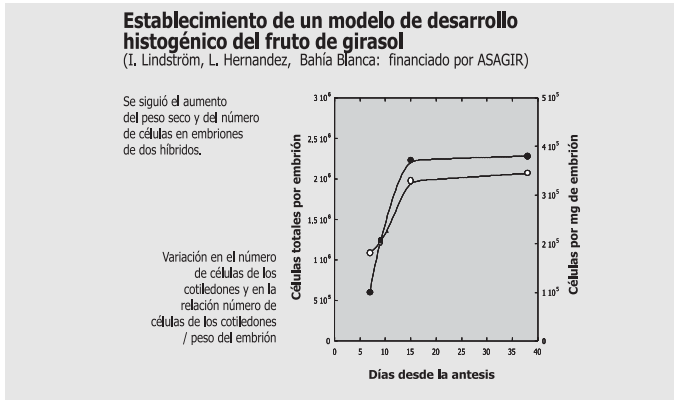
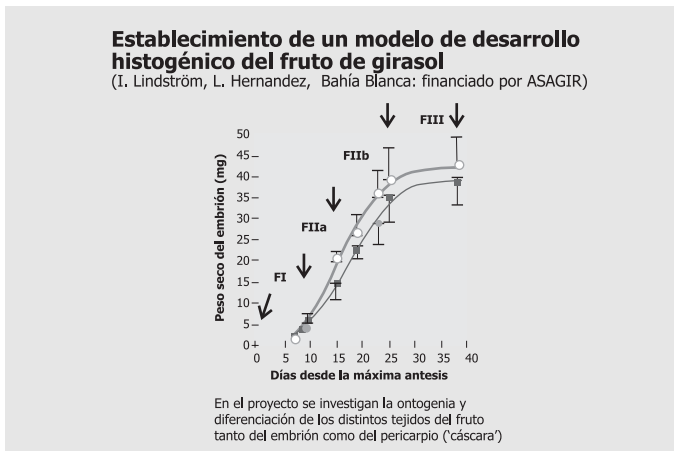


GRAFICO 4



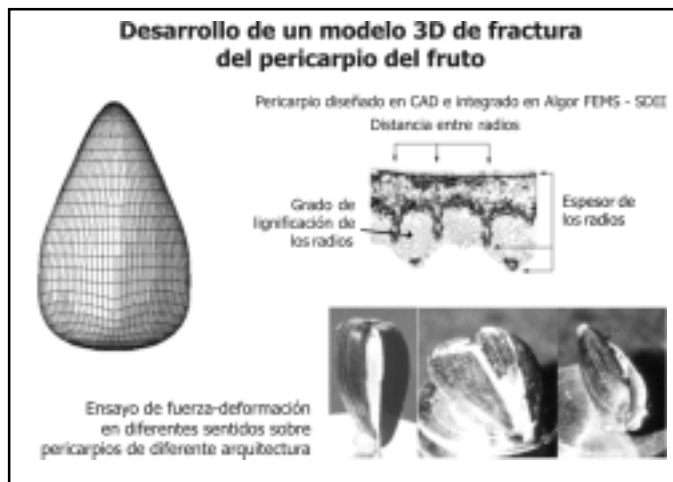
Otra línea trata sobre la **calidad de los frutos** y específicamente sobre el descascarado, en el taller 2002 se planteó un primer modelo y la aptitud del descascarado es una variable muy importante en la calidad de granos y puede hacer cambiar la calidad de la torta (es un problema que aumentó en los últimos años). Lo que se desarrolló por lo tanto, es un modelo 3D del pericarpio (**Figura 1**) y se trata de cuantificar las tensiones críticas longitudinales y transversales utilizando un método que se llama de elemento finitos. Con respecto al modelo del pericarpio, modelado en 3D, este año lo que se hizo fue definir los principales parámetros y cuantificarlos. Entonces hubo parámetros morfológicos (el es-

pesor de los radios, la distancia entre radios y grado de lignificación de los radios) y parámetros mecánicos (densidad y módulo de elasticidad).

Se efectuó un ensayo de fuerza de deformación para pericarpios, con diferente arquitectura y en diferentes sentidos.

El modelo lo pusieron a punto y estudiaron por simulación cuáles serían los factores más importantes para que se rompa (si ustedes desean o no la cáscara) y las simulaciones demostraron que las tensiones máximas dependen del espesor de los radios del parénquima y luego del módulo de la elasticidad de los radios esclerenquimáticos, que está correlacionado con el nivel de lignificación del esclerénquima. Estos resultados permitirán desarrollar modelos racionales de fractura de la cáscara y en el futuro, lo que se va hacer en la Universidad Nacional del Sur es acotar las variables de ensayo y aplicarlo a materiales compuestos.

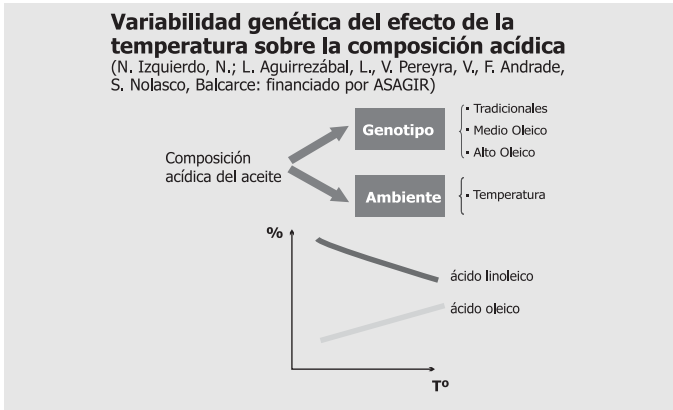
FIGURA 1



Hablábamos entonces de calidad del fruto, pero también es importante hablar de la **calidad de los aceites (Cuadro 2)** y en este trabajo se investigó la variabilidad genética del efecto de la temperatura, ustedes saben que la composición acídica del aceite puede cambiar con el cultivar (hay tradicionales, alto oleico y medio oleico) y con el ambiente, fundamentalmente por la temperatura.

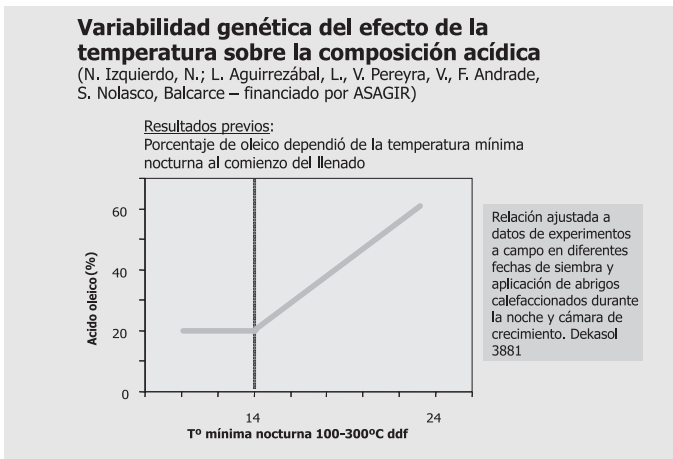
En la medida que hay mayor temperatura, hay mayor porcentaje de ácido oleico y menor porcentaje de ácido linoleico en el aceite.

CUADRO 2



En resultados previos de ese grupo, se vio que el porcentaje de oleico dependió de la temperatura mínima durante la noche (**Gráfico 5**), en una etapa temprana del llenado. A partir de ensayos aplicando abrigos calefaccionados durante la noche y en cámara de crecimiento, se estableció este primer modelo, en el cual habría una zona de baja respuesta a la temperatura y otra zona donde la respuesta es mucho menor, esta relación se corrió con los datos climáticos reales de diferentes zonas y diferentes fechas de siembra para híbridos tradicionales.

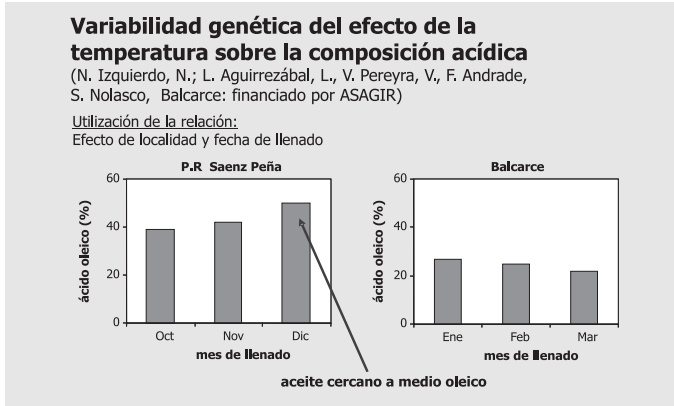
GRAFICO 5



Entonces se veía para Balcarce (**Gráfico 6**) que con la fecha de siembra cambiaba la cantidad de ácido oleico, disminuía cuando era más frío; cuando lo corrimos con datos

del Chaco, se veía que un llenado en diciembre produciría un aceite con una cantidad de ácido oleico con características muy similares a la de un medio oleico, porque ésta es una zona cálida.

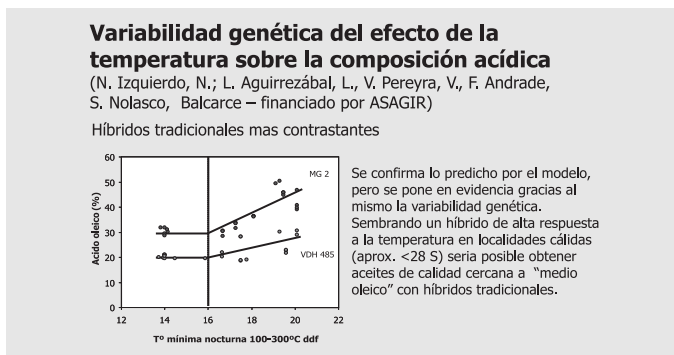
GRAFICO 6



Queríamos entonces saber si lo predicho por el modelo, se confirmaba en la realidad y entonces gracias a una colaboración con ASAGIR, se probaron 8 híbridos tradicionales y un híbrido alto oleico, en diferentes zonas del país (**Gráfico 7**), estos son los resultados para los dos híbridos más contrastantes.

Se confirma lo predicho por el modelo, es decir, vemos que hay híbridos de alta respuesta y por el otro lado habría híbridos de baja respuesta; además gracias al mismo, se pone en evidencia la variabilidad genética (esta diferencia de respuesta). Y además un resultado, si ustedes quieren tecnológico, que sembrando un híbrido de alta respuesta en localidades cálidas, sería posible obtener aceites de calidad cercana a medio oleico con híbridos tradicionales.

FIGURA 5





Conocer y moderar el efecto de la temperatura sobre la composición acídica permitiría adecuar las prácticas de manejo (fíjense que no sólo es un efecto de **localidad**, es también de **fecha de siembra**) para obtener **aceites de diferentes calidades** y predecir la calidad de los aceites en los granos, antes de la comercialización.

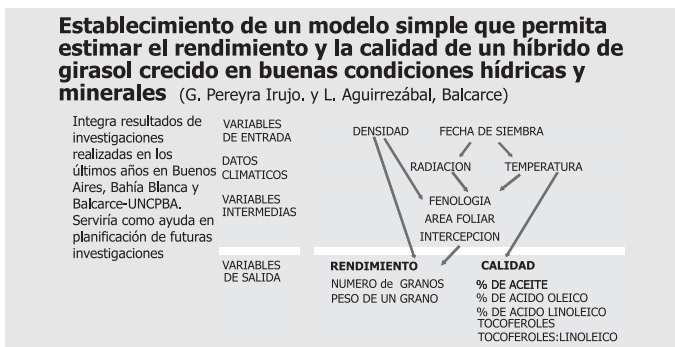
Hay también una línea sobre modelado y en el taller 2002 el Dr. Antonio Hall expuso algunas relaciones útiles para predecir **Peso de Grano** y **Porcentaje de Aceite**, esas relaciones junto con otras, por ejemplo la composición acídica, se incorporaron a un modelo simple, que simula el rendimiento y la calidad, rendimiento potencial.

El modelo se validó ampliamente para diferentes **fechas de siembra, densidades**, hay una validación para diferentes variables; en el modelo perfecto todos los puntos se colocan sobre una línea que es, uno a uno, la primer bisectriz.

Esta sería una herramienta útil para poner en evidencia interacciones entre resistencia y calidad, frente a diferentes **fechas de siembra, densidades de planta, temperatura o radiación incidente**. Por ejemplo, para Balcarce, Paraná o Pilar (Córdoba), en una simulación de cómo varía el rendimiento para diferentes fechas de siembra, se ve una caída que en general es clásica. Pero también se puede simular la evolución del porcentaje de aceite para diferentes fechas de siembra, concentración de tocoferoles, porcentaje de ácido oleico, porcentaje de ácido linoleico, relación tocoferoles-linoleico, etc. Fíjense que la fecha óptima de siembra, no necesariamente sería igual y si uno tuviera en cuenta además de rendimiento la calidad, podría cambiarse.

¿Cómo funciona el modelo? (**Cuadro 3**) Se ingresa la **densidad** y la **fecha de siembra** y a partir de los datos de **radiación y temperatura** se calculan diferentes variables intermedias, como área foliar, intersección de luz y los distintos estadios de desarrollo y a partir de eso se calculan los componentes de rendimiento y distintas variables de calidad. Este modelo, integra resultados de investigaciones realizadas en los últimos años, en los centros de Bs.As., Bahía Blanca y Balcarce, en muchos casos con la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Bs.As., en el caso de este último centro serviría de ayuda como planificación de futuras investigaciones, es notorio que todas las relaciones que se utilizan en este modelo fueron establecidas en **Argentina**.

CUADRO 3



En conclusión, esperaríamos haberlos convencido que, la mayor parte de la Fisiología y Ecofisiología de Girasol se concentra en Argentina, principalmente en tres centros donde se investigan temas que apuntan a solucionar limitantes de diferentes eslabones de la cadena de girasol o a mejorar la eficiencia de diferentes actores de la cadena.

Fíjense que en algunos casos, los estrés afectan a toda la cadena, pero fundamentalmente al productor, en otros casos, son temas que interesan más a la industria aceitera o a los semilleros.

Con respecto a los talleres 2002 - 2003 creemos que en el corto intervalo de un año entre ambos encuentros, la investigación nacional en esta disciplina fue productiva; es decir, hubo un avance y esto es el resultado en gran parte del conocimiento y experiencia obtenidos por los grupos que trabajan en este tema, en algunos casos desde hace casi 30 años. Pero además, creemos que debe destacarse una influencia benéfica de ASAGIR porque permitió financiar varias de estas investigaciones, de manera total o parcial y sobre todo porque posibilitó por segunda vez, un fructífero intercambio entre fisiólogos y ecofisiólogos que trabajan sobre el cultivo de girasol en la Argentina. Este tipo de intercambios en nuestro país, son raros, casi inexistentes y pensamos que en el mantenimiento en el tiempo de estas actividades, puede dinamizar las investigaciones en esta disciplina, con beneficios para todos los demás actores de la cadena.

**Participantes del Taller:** A. Hall, R. MacDonough, M. López Pereira, N. Trápani, C. Chimenti y D. Rondanini (FAUBA); L. Hernández e I. Lindström (Dpto. Agron. UNS); F. Andrade, C. Fonts Vallejo, N. Izquierdo, G. Dosio, G. Pereyra Irujo, J. Tognetti, F. Quirós y L. Aguirrezábal (UI Balcarce); S. Nolasco (F. Ing. UNCPBA); V. Pereyra (ASAGIR), A. León y A. de la Vega (Avanta) y Pablo Calviño (asesor privado).

## Conclusiones

### Taller ASAGIR sobre Biotecnología

DISERTANTE

Dr. Esteban Hopp\*

Voy a hablar de otro taller, que en este caso se hizo por primera vez, es el Taller ASAGIR de Biotecnología de Girasol que se realizó en el INTA de Castelar.

A diferencia de lo que se comentó en el Taller de Fisiología, los laboratorios de biotecnología están más distribuidos y también la biotecnología es más interdisciplinaria que la fisiología, de hecho hubo algunos fisiólogos en nuestro taller.

Los objetivos de este taller fueron analizar la Biotecnología Aplicada al Girasol en la Argentina, cuáles son los grupos que están trabajando y luego identificar áreas de colaboración en proyectos comunes y necesidades de investigación.

Intervinieron más de 40 especialistas, hay al menos 15 grupos de investigación que están trabajando en alguna de las disciplinas relacionadas con la biotecnología, desde unidades académicas, laboratorios, hasta empresas con su programa de mejoramiento o laboratorios de marcadores moleculares.

Teníamos distintos tipos de disciplinas: biología molecular, genética, cultivo de tejidos; fisiología, fitopatología, etc.

Las aplicaciones son muchas, Biotecnología no es solamente “plantas transgénicas”, sino que también tiene aplicaciones en el mejoramiento tradicional, a través de los marcadores moleculares y otras implicancias futuras, como son las **transgénicas de segunda generación** que pueden implicar interacciones de la cadena de girasol, eventualmente con la industria farmacéutica.

Otro tema de mucho interés en el taller, además de los temas de investigación en sí

\* *Licenciado y Doctor en Ciencias Biológicas de la UBA.*

*Coordinador del Área de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biotecnología, CICVyA - INTA Castelar.*

*Profesor Titular, Fac. de C. Exactas y Naturales, UBA. Representante del INTA ante la CONABIA, SAGPyA.*

*Miembro del Comité Coordinador de UI de Inv. y Doc. FCEN - UBA y CNIA - INTA.*

*Autor de 103 publicaciones y una patente biotecnológica. Premios Leloir, Producción Científica (UBA),*

*INTA y Kónex. Dirección de 17 tesis doctorales, 3 tesis MSc y 10 de Licenciatura.*

*Contacto: ehopp@cicv.inta.gov.ar*

mismos, tuvo que ver con lo que es el “**marco regulatorio de la biotecnología**”, tanto en lo que es **bioseguridad**, como en el sistema legal del **registro de cultivares** y también participaron y dieron su opinión los representantes de la parte productiva del girasol; hubo muchas entidades representadas: el INTA de Castelar y de Balcarce, varias Universidades (Buenos Aires, Mar Del Plata, Bahía Blanca, Rosario, Santa Fe), Institutos del CONICET y distintas dependencias de la Secretaria de Agricultura, también participaron empresas privadas, es decir fue un taller importante en cuanto a los concurrentes.

Vamos a hablar primero de los temas más tangibles, que podrían tener un impacto económico importante.

A partir de técnicas de ingeniería genética, específicamente lo que tiene que ver con **plantas transgénicas**, sabemos que hay empresas (las cuales estuvieron presentes desde el taller) que tienen distintos eventos ya muy avanzados, entre ellos los más destacados son los girasoles con **resistencia a Lepidópteros**, **resistencia a Glifosato**, y con **resistencia a Sclerotinia**, los cuales están en etapas precomerciales y se consideró el importantísimo impacto económico que tendría la comercialización de cualquiera de estos tres eventos en la producción de girasol nacional.

Además, a esto se suman otras posibilidades de impacto más a mediano y largo plazo, que tienen que ver con los proyectos de investigación referidos a **resistencia a enfermedades fúngicas**, por ejemplo *Verticillium*.

También el desarrollo de **productos de segunda generación**, como comenté antes **nutraséuticos**, específicamente se presentó un proyecto sobre **ácidos linoleicos conjugados**, vimos la importante composición de ácido linoleico que tiene el girasol, lo cual podría producir un producto de bastante importancia parecido a lo que hoy conocemos como omega 3, que tiene implicancia desde el punto de vista nutricional.

Además se demostró que utilizando plantas transgénicas de especies modelo (como *Arabidopsis*) es posible la utilización de determinados genes, que se estudian en laboratorios de investigación básica, de **resistencia al estrés hídrico**.

En el caso de papa, existen genes antifúngicos, en uno de esos proyectos que están en desarrollo, los genes podrían trasladarse al girasol, por ejemplo, para obtener **resistencia a enfermedades fúngicas**, tecnología de transformación de girasol que se desarrolla en el INTA Castelar.

En los trabajos que se están haciendo en la Universidad del Litoral, en la ciudad de Santa Fe, se muestra que un gen regulatorio que codifica lo que se llama un factor de transcripción del girasol, expresado en *Arabidopsis thaliana*, produce un efecto muy notable en la resistencia al **estrés hídrico** en esta planta modelo.

Sería muy interesante que los fisiólogos que participaron del taller anterior, investigaran qué está pasando con este gen del girasol, cuando están estudiando los distintos efectos

de estrés hídrico, si hay variantes alélicas, cuál es el nivel de expresión; qué es lo que pasa en las distintas conexiones de estrés con este gen en particular, que tiene un efecto tan notable.

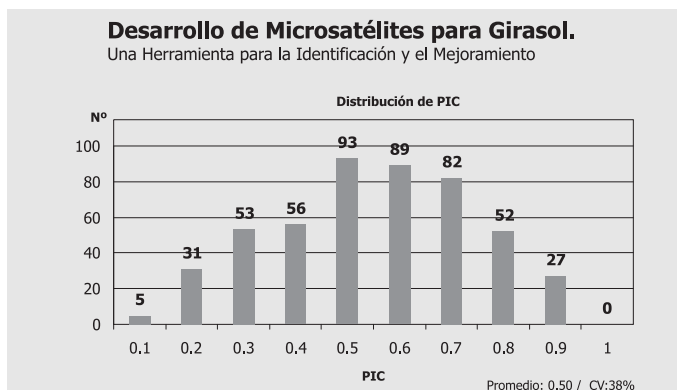
Como comenté recién, la biotecnología no se reduce únicamente a lo que son plantas transgénicas, sino que tienen un impacto más notable en lo que es **marcadores moleculares**, e impactos futuros en todo lo que son las nuevas técnicas derivadas del **análisis genómico**. Entonces, una de las cosas interesantes para destacar, que se vió en el taller, es que los principales mejoradores del girasol, del sector privado y público, han incorporado el uso de marcadores moleculares en sus programas de selección asistida, es decir, se están utilizando marcadores moleculares en el mejoramiento.

Otra cosa importante, es que están interactuando con distintas unidades académicas para mapear nuevos marcadores y aplicar estas nuevas herramientas genómicas a medida que se hacen progresos significativos en esta disciplina científica. En este contexto resultó de interés una charla que se dio: un convenio de vinculación tecnológica del INTA Castelar con empresas semilleras, permitió desarrollar **microsatélites**, que son marcadores moleculares que se emplean justamente en **programas de selección asistida**.

También los nuevos desarrollos que implican la utilización de marcadores que tienen que ver con la expresión genotípica de algunos caracteres y que se denominan **EST** (Secuencias moleculares que se expresan fenotípicamente). En este contexto, le propuse a ASA-GIR y al taller que, la Argentina podría ser pionera en este campo, mediante la fabricación del primer **chip de ADN del girasol**, que es un micro arreglo de ADN que podría de alguna manera orientar algunos de todos estos trabajos.

En el **Gráfico 1** se muestra la distribución de la variabilidad genética que revelan los distintos marcadores moleculares que se desarrollaron en esta colaboración, entre el sector público y las empresas privadas, mostrando la bondad que tenían este tipo de marcadores genéticos.

GRAFICO 1



En un chip de ADN, lo que se ve son las letras con las cuales está constituido el ADN y en determinadas moléculas que se llaman oligonucleótidos, uno podría tener representado los genes más importantes del girasol en una superficie muy pequeña y de alguna manera poder chequear los experimentos que hacen los fisiólogos, qué genes se prenden y se apagan en distintas circunstancias.

Por ejemplo, estrés hídrico y de esa manera mejorar por un lado los estudios y por otro lado, tal vez la eficiencia de programas de mejoramiento. Este tipo de herramientas genómicas sirven para estudiar alelos de resistencia a enfermedades, otros alelos útiles en el mejoramiento de la calidad nutricional, estudiar la genómica nutricional y también futuramente en lo que es propiedad intelectual para el registro de variedades.

Otra área de la biotecnología de gran importancia, es el **cultivo de tejidos perce**, por un lado para poder permitir la obtención de plantas transgénicas, pero también para producir determinados productos de interés, en forma propia, sin necesidad de hacer plantas transgénicas. En ese sentido se presentaron varios trabajos, uno de ellos es de la Universidad de Rosario, donde entre otras cosas que pueden tener un interés práctico a más corto plazo, tiene que ver con la selección de germoplasma elite con **“resistencia a Imidazolinonas”**, que podría ayudar a los programas de mejoramiento.

Además el grupo de Rosario, mostró que hay variabilidad genética en la capacidad de regeneración in vitro, la **órganogénesis** es una característica de tipo poligénico y otros temas que tienen que ver con el **cultivo de tejidos**, relacionados con la posible transformación genética.

La Dra. López Bilbao, también mostró otros parámetros importantes, que mejoran la tecnología de obtención de girasoles transgénicos.

En Placas de Petri, por ejemplo se regeneran plantas en presencia de distintos antibióticos, o distintos tipos de vástagos que se regeneran por **órganogénesis**, en los dos grupos que se presentaron en la parte de cultivo de tejidos.

Otro tema que se tomó como parte central en la reunión, tuvo que ver con el **marco regulatorio de seguridad de propiedad intelectual**. Como ustedes saben, si bien muchos de estos eventos transgénicos están prácticamente listos para la comercialización, hay temas de **bioseguridad y reglamentación** que tienen que ser respetados para poder comercializarlos; entonces, parte de la atención del taller tuvo que ver con este marco regulatorio.

La ingeniera Perla Godoy, que es la secretaria de la CONABIA, comentó los puntos de mayor importancia que se consideran para la evaluación de riesgo de los girasoles transgénicos, desde el punto de vista ambiental.

Uno de ellos es, el **comportamiento de los transgénicos en los agroecosistemas**, incluyendo la posibilidad que eventualmente ese girasol se convierta en una maleza y su estabilidad genotípica y genética. Pero más importante, es el estudio de las especies relacionadas con el cultivo y con las cuales pueden producirse cruzamientos, pensando en la

posible transferencia vía polen y el impacto que puede tener la transferencia de esos transgenes en estos parientes silvestres, potenciales malezas o especies sexualmente compatibles en la Argentina.

En este punto, fue importante el tema de la investigación de la gente de la Universidad del Sur, que mostraron con experimentos muy logrados, la existencia clara del flujo genético, por ejemplo de **híbridos interespecíficos** entre el girasol y la especie *Helianthus petiolaris* y la subespecie *Helianthus annuus* que están presentes como subespecies silvestres en la Argentina; es decir el cruzamiento se da sin ningún lugar a dudas.

También resultaron de interés, la posibilidad de que se llegara a una conclusión dentro de la tecnología para seguir este tipo de cruzamientos de interés específico; dado que está asumido que existen esos cruzamientos, es importante evaluar el impacto que puedan tener. Resulta de interés la disponibilidad de técnicas moleculares, por ejemplo de “hibridación in situ”, presentada por la gente de la Universidad de Buenos Aires, para monitorear la integración del traspaso de genomas de girasol a las especies silvestres y viceversa.

En este sentido, se llegó a una conclusión (dentro del taller) que despejaba esta cuestión, en el **cruzamiento interespecífico**, el tema de **bioseguridad** debería centrarse en analizar la posibilidad que estos cruzamientos imprimieran ventajas adaptativas a las otras especies o subespecies que afecten eventualmente el equilibrio de los agroecosistemas.

Por ello fue muy interesante una de las observaciones que se hizo pública: la reciente liberación de girasol convencional con resistencia a determinados herbicidas, podría servir como modelo para estudiar, por ejemplo, el impacto de la liberación de girasol con resistencia al Glifosato (de hecho, se trata de características muy comparables entre sí). Los cromosomas de girasol han sido hibridados in vitro. Mariana Roco, aportó algunos preparados, donde se puede ver cómo utilizando el ADN total de una especie, en este caso de *Helianthus petiolaris*, se puede estudiar cuál es la composición de *Helianthus petiolaris* dentro del girasol cultivado; es decir, cómo se podría seguir la introducción de un genoma en el otro. Esas son las herramientas que disponen los investigadores argentinos para estudiar este tema.

Otro tema que tiene que ver con el marco regulatorio y que resulta de bastante interés, es el tema de **propiedad intelectual**, en ese sentido tuvimos la exposición de Ana Vicario, que pertenece al ex INASE. Brindó un panorama de cómo es el actual Sistema de Registro de Variedades en Argentina (**Figura 1**) y cuáles son las reglas que hay que cumplir. Lo interesante tiene que ver nuevamente con el tema de **marcadores moleculares**, en este momento a nivel internacional, UPOV está decidiendo entre dos sistemas posibles de utilización de marcadores moleculares:

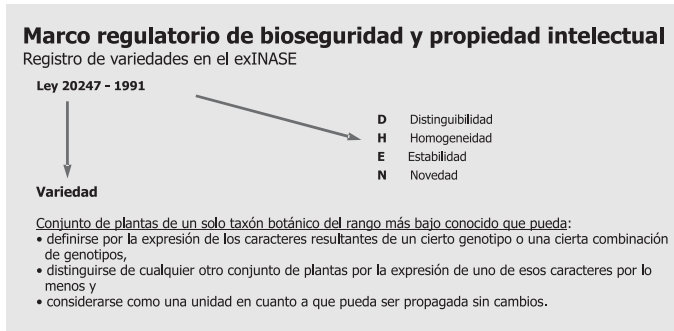
Uno referido a la marcación de marcadores moleculares para que reflejen lo que separan los marcadores tradicionales y así establecer un umbral, a través del cual se podría separar variedades utilizando marcadores moleculares. El segundo, es la utilización de se-

cuencias que tienen que ver con estos caracteres expresados, genes eventualmente importantes desde el punto de vista genotípico, que podrían ser utilizados alternativa-mente o complementando al sistema tradicional.

Resulta de interés que el ex INASE, no sólo cuenta con la tecnología para poder hacer esto, sino que cumple un importante rol en la discusión internacional.

En el caso del girasol, ¿cómo se va a aplicar a nivel internacional este tipo de tecnologías en el tema de propiedad intelectual? es decir, desde la Argentina podemos influir en las decisiones que se toman a nivel mundial en este tipo de temática.

FIGURA 1



Con respecto a los proyectos de investigación en sí mismos, algunos de ellos tienen que ver con la caracterización bioquímica y molecular de la **defensa contra enfermedades fúngicas**, en este sentido se presentó un trabajo muy interesante por parte de la Universidad Nacional de Mar del Plata, donde estudian distintos genes que se conocen y que codifican para lo que se llama **defensinas** y otras proteínas, específicamente en relación a enfermedades de tipo fúngico.

También se presentaron otros proyectos de investigación, como ya mencioné, la gente de la Universidad comentó el estudio de los genes osmióticos, u otros genes que codifican para factores de transcripción que contienen lo que se llama **omidominios**.

Ellos estudian especialmente lo que es el desarrollo del **capítulo del girasol**, donde entre otras cosas, se encontró un gen que tiene que ver con un transgen que modifica para una enzima, que produce en presencia de un sustrato, una coloración azul y que nos muestra a partir del promotor correspondiente (es decir la secuencia que regula la expresión de ese gen), en qué tejido se está expresando y esto tiene que ver con algunos de estos genes de factores de transcripción. Uno de ellos es el que les comenté que estaba relacionada con la resistencia de estrés hídrico cuando se le introduce *Arabidopsis*.

Otros proyecto de investigación, tiene que ver con el **clonado molecular** y la caracteri-



zación funcional de los genes que se expresan de distintos tejidos; es decir, un proyecto **genómico de secuenciación** de todos los genes importantes del girasol, para su aplicación específica a algo que se comentaba en el taller previo. Es decir, buscar marcadores que estén ligados o que de alguna manera sirvan para estudiar características importantes, como la **resistencia a estrés abiótico y biótico**. Específicamente se presentaron algunos de los trabajos que tienen que ver con transcritos que se inducen en respuesta al ataque de patógenos fúngicos en girasol y que se hacen en colaboración entre Balcarce y Castelar.

Este es un panorama aproximado de todos los genes que se han secuenciado en la Argentina en el girasol y de alguna manera, la división por función de todos estos genes.

Es interesante mostrar que, a pesar que existen iniciativas parecidas en otras partes del mundo, en nuestro país hemos encontrado numerosos genes que son únicos y que no se han encontrado en otros lugares del mundo, que pueden aportar al mayor conocimiento del girasol.

Dentro de todos esos genes que se encontraron y que se secuenciaron, hay varios que resultan de interés desde el punto de vista agronómico, algunos que tienen que ver con la **respuesta al estrés biótico y abiótico** y que van a ser utilizados en algunos de estos programas, en conjunto con los fisiólogos que tienen una enorme capacidad y nos podrían ayudar para ver si alguno de esos fenómenos fisiológicos, están relacionados con la expresión de variantes alélicas de todos estos genes.

Otros proyectos de investigación tienen que ver con la **identificación y mapeos** de nuevas fuentes de resistencia a “Podredumbre Húmeda del Capítulo” por *Sclerotinia*.

Otros proyectos están relacionados con lo que se comentó en el taller anterior (muchos de los participantes de estos proyectos son justamente fisiólogos) que tiene que ver con la base fisiológica de expansión foliar en estrés hídrico, senescencia anticipada y varias de estas características, en las cuales resultó particularmente interesante la exposición del que me antecedió en los talleres respecto a estudios genómicos para utilizar especies modelo, como *Arabidopsis thaliana*; para estudiar cosas que después eventualmente se pueden aplicar al girasol, aprovechando lo que se llama **“sintenia o ocumología”**, entre los genomas de las dos especies.

Saltar del girasol a una especie modelo, para después volver y estudiar en el girasol determinadas cosas que han sido justamente estudiadas en esas especies modelo.

Ellos estandarizaron las técnicas para la medición del estrés hídrico, para *Arabidopsis*, midiendo distintos parámetros, como los que se comentaron en el caso anterior y lo que se presentó en este proyecto, que trata de asociarse a lo que se llama QTL, determinados genes que se mapean a partir de poblaciones segregantes genéticamente, para poder estudiar una asociación entre estas características y algún gen en particular que pueda servir para el mejoramiento asistido del girasol.

El ingeniero Aguirrezábal en el sistema modelo que ellos desarrollaron en forma propia, en Balcarce, para estudiar el tema **estrés hídrico** en girasol, justamente muestra la ubicación de marcadores moleculares dentro del mapa genético del girasol; en este caso está siendo utilizado por otro grupo que está en la Universidad Nacional de Mar del Plata, para tratar de encontrar marcadores moleculares que se asocien a la resistencia a otro enfermedad fúngica que es el **Downy Mildew**, donde se puede ver la aplicación de los marcadores moleculares al posible mejoramiento del girasol.

Otro proyecto de investigación tiene que ver con la **determinación de marcadores** para caracteres de tipo cuantitativo, **relacionados con la floración** en el cultivo de girasol, que fue presentada por el Ingeniero León, investigador de una empresa privada.

Otro proyecto que hace a la construcción de un **mapa de referencia** para los marcadores, se ha desarrollado en el contexto de los tres grandes proyectos internacionales de genómica y de utilización de marcadores, con la idea de tener un mapa que pueda ser útil para los mejoradores y para todos estos proyectos que mencionamos, desde el punto de vista de la investigación básica.

Finalmente se realizó una aproximación a lo que es el **mapeo físico**, utilizando la “hibridación in situ”, presentado por la Dra. Lidia Poggio, lo cual puede servir justamente para estudiar la **afinidad del girasol con las especies silvestres** y localizar determinados genes de importancia (incluyendo transgenes), cómo un determinado gen, en el caso de la familia de genes ribosomales del girasol, puede ser perfectamente localizado dentro de los cromosomas de girasol, utilizando lo que se llama “hibridación in situ”.

Otro capítulo importante de este taller, tuvo que ver con la utilización de la **informática** en todo lo que comentamos antes, específicamente en los proyectos genómicos y cómo la **bioinformática** va a influir notablemente en el progreso de todo esto a pesar que no es estrictamente biotecnología.

La biotecnología no sería nada, si no es con herramientas informáticas.

La bioinformática (como es la **agricultura de alta precisión**), va a interactuar muy íntimamente con lo que es genómica y específicamente mediante técnicas para poder modelar lo que es la agricultura de precisión, es decir hasta ahí llega la biotecnología.

Como conclusiones del taller, existen en Argentina muchas capacidades de investigación que no están suficientemente coordinadas. Este taller ayudó mucho a que nos conozcamos y que puedan empezar líneas de coordinación más estrechas entre todas estas unidades, que están trabajando en temas relacionados con la **biotecnología del girasol**.

El progreso de estas investigaciones y sus aplicaciones, muestran que la biotecnología no es una isla y que se requiere una enorme colaboración interdisciplinaria entre biólogos moleculares, genetistas, bioquímicos, fisiólogos, informáticos, mejoradores, fitopatólogos, autoridades regulatorias y empresas de innovación; para tener un progreso que

tenga un impacto importante. Este taller sirvió para que muchas de estas partes se conozcan mejor, y constituir a ASAGIR como un punto focal o como marco de referencia, que de alguna manera, ayude a establecer colaboraciones que favorezcan el desarrollo del cultivo de girasol en nuestro país.

**Participantes del Taller:** P. Franzone, P. Godoy, O. Rossetti, L. Delacanal, L. Poggio, E. Greizerstein, A. Vicario, R. Chan, V. Pereyra C. Feoli (ASAGIR / INTA); A. Leon (Advanta); C. Sala (Nidera); G. Grobocopatel (ASAGIR); J. M. Bruniard (ASAGIR / ACA); J. Re (Monsanto); M. Lopez Bilbao, M. Poverene (UBA); G. Pozzi (Dow AgroSciences); N. Paniego, E. Hopp, S. Lew, R. Heinz, (Instituto de Biotecnología, CICV - INTA Castelar); O. Marcellán, G. Nestares, G. Dosio, G. Pereyra Irujo, J. Raimondi, E. Suarez (UI Balcarce)