

EL MEJORAMIENTO GENETICO Y LA RESISTENCIA A LAS CONDICIONES DE STRESS

E. A. Favret (1).

INTRODUCCION

El mejoramiento genético de una especie es sólo posible si existe la variación genética deseable. El interés del hombre en procura de hacer sus plantas domésticas más productivas, lo ha conducido a mejorar el manejo de los cultivos y a seleccionar las formas genéticas más eficientes. Y así ha llegado a lograr rendimientos de granos que sobrepasan con holgura las 10 toneladas/ha en condiciones óptimas, y los valores potenciales se orientan hacia el logro de la duplicación de esos rendimientos.

Sin embargo, los fitotecnistas son concientes de que esa producción debe ser constante a través de los años, dentro de los riesgos esperables en toda aventura biológica. Dentro de esa seguridad de cosecha que se busca, fenómenos que producen stress constituyen uno de los factores a los cuales se les da mayor atención cada día.

Es mi propósito, por consiguiente, tratar este último problema desde el punto de vista de las perspectivas futuras en

el mejoramiento. El interés reside en definir fisiogenéticamente el problema, dejando para los demás participantes expandir el problema y describir otros ejemplos.

CLASIFICACION GENETICA DE LA RESPUESTA AL "STRESS"

Siguiendo la definición y los modelos presentados por el disertante anterior (A. Soriano, este Simposio) y sin entrar a discutir lo general y lo particular de la validez de las distintas acepciones para las plantas del término stress o tensión, un término originado para ser utilizado en otras condiciones y organismos, trataremos de catalogar los efectos de las variaciones ambientales desencadenantes de stress.

Lewin y Sparrow (1975) dicen que muchos factores del medio, tanto físicos, químicos como biológicos son capaces de dañar las plantas, mencionando sequía, exceso de agua, heladas, calor, sales, defi-

(1) Dpto. de Genética, INTA, Castelar.

ciencia o exceso de nutrientes, niveles tóxicos de sustancias químicas empleadas en agricultura, efectos bióticos: sobre todo competición entre plantas o el efecto de agentes patógenos, etc. En breve, todo factor capaz de inducir daño, siguiendo la definición de Levitt (1972). Nos parece demasiada amplia esta gama de factores de stress.

Las variaciones ambientales, según Mather (1973), que pueden tener algún efecto genético pueden ser clasificadas en rítmicas, repetibles a través de las generaciones, y puede ser cíclica, tendencial y abrupta, como puede verse en la figura 1, donde la línea punteada representa el ambiente promedio. Se deja para las variaciones arítmicas, no persistentes, los cambios inesperados, accidentales, aleatorios, para los cuales se podría suponer que la población no está ajustada o seleccionada.

Es en esta última categoría, para casos de variaciones ocurridas dentro de la generación misma del individuo analizado, que consideramos procesos que conducen al stress. Aunque Mather ha considerado estos cambios como de poco valor selectivo, el hallazgo de diferencias en la reacción al stress permiten concluir que bien pueden tenerlo, sobretodo en condiciones naturales donde el ambiente no está sujeto a control alguno, como podría ocurrir bajo condiciones de cultivo.

Si el stress produce, de alguna manera, un efecto sobre la aptitud darwiniana en poblaciones naturales o reduce la productividad en cultivo, puede ofrecer el marco ambiental que le permita la selección natural. Todo dependerá de la heterogeneidad genética de la población sujeta al efecto del stress. Desde este punto de vista Harrison (1979) ha tratado recientemente los distintos aspectos involucrados.

Pero el efecto del stress se reconoce por la respuesta de la planta frente al estímulo exógeno. Existe una aproximación en la valoración del stress que se basa en

modelos estadísticos, relacionados con la producción final de la planta o cultivo y que mide las desviaciones de la variable dependiente frente a los cambios del ambiente, expresados en términos generales. Aunque estos métodos permiten expresar la magnitud del efecto no nos dicen nada respecto a la causa de los mismos y por ende, son difíciles de interpretar genéticamente. A lo sumo nos permiten sospechar de la existencia de componentes genéticos. Me refiero a medidas de estabilidad como las sugeridas por Finlay y Wilkinson (1963).

Tampoco, hasta ahora, han progresado lo suficiente como para identificar los casos de stress *sensu stricto*. Tienen una intención utilitaria y en ese aspecto cubren su objetivo.

Un número de distintas definiciones, sin embargo, han sido creadas por el interés de explicar las variaciones ambientales expresadas por las desviaciones en el producto final. Así, se entiende por **plasticidad** la magnitud en que la expresión del genotipo de un individuo es modificado por factores ambientales, independientes del valor adaptativo de los cambios que pueda producir. Ello puede referirse al carácter medido o a la influencia de un ambiente particular.

Flexibilidad, en cambio, se emplea para indicar la capacidad de un genotipo para variar y adaptarse a las condiciones cambiables del ambiente y por consiguiente sobrevivir. Esta definición, como se aprecia, posee un importante integrante para la evolución biológica.

Estabilidad, finalmente, indica la ausencia de variaciones en la respuesta cuando se sujeta a presumibles distintos estímulos. Este término es el más empleado en la literatura agronómica del momento actual, aunque su significado fisiogenético no aparece claro aún.

Todas estas definiciones están adap-

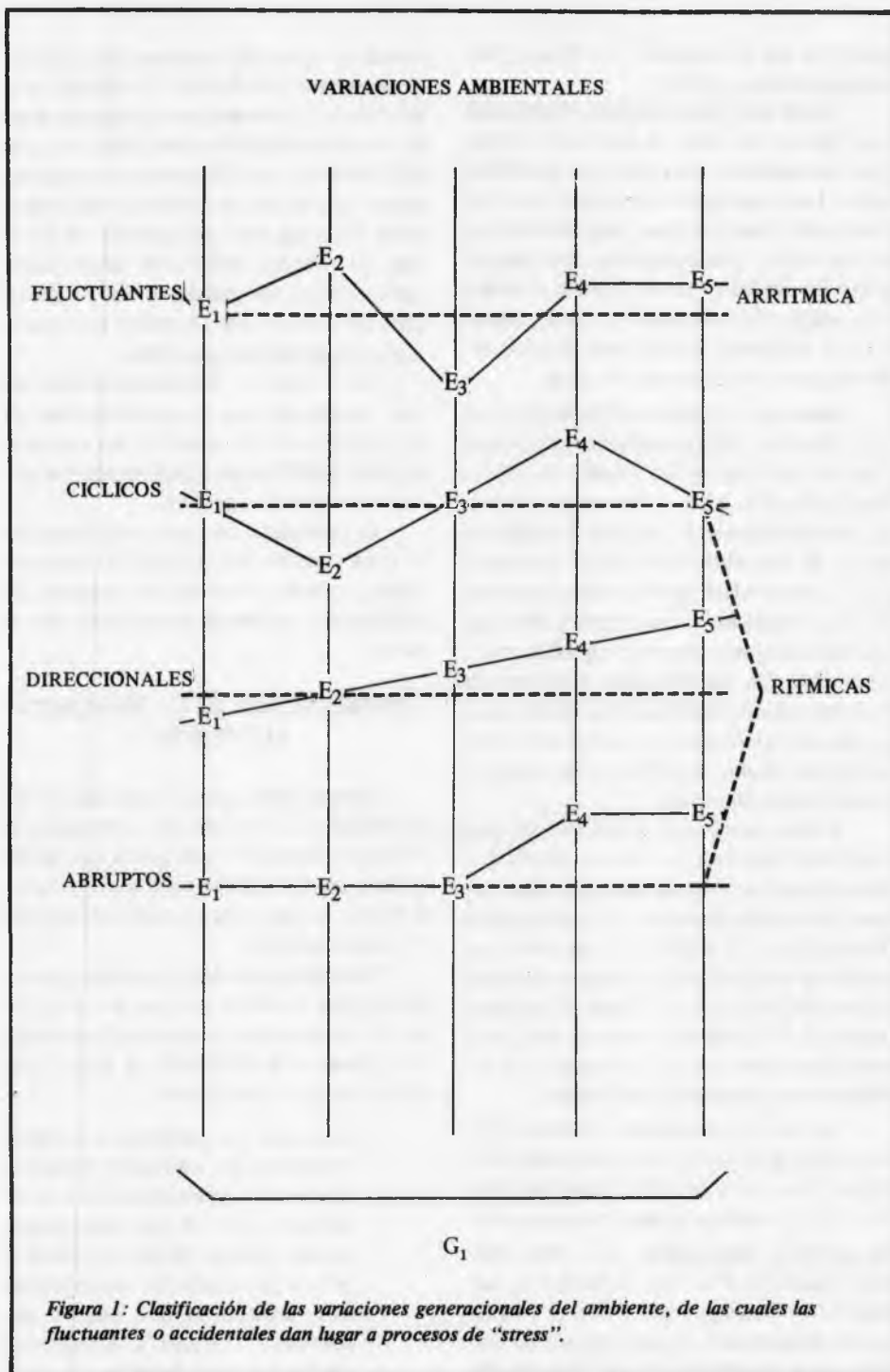


Figura 1: Clasificación de las variaciones generacionales del ambiente, de las cuales las fluctuantes o accidentales dan lugar a procesos de "stress".

tadas de las presentadas por Rieger, Michaelis y Grenn (1968).

Desde que creo necesario discriminar los efectos de stress es necesario utilizar por consiguiente, otra clase de aproximación. Los organismos superiores han evolucionado hacia sistemas organizados que se han hecho más complejos. Esa complejidad ha tendido a crear sistemas cerrados con respecto al ambiente exterior, creando un ambiente interior que es poco influido por las variaciones de aquel.

Hace casi un siglo que Claude Bernard (cf. Haldane 1932) establecía que todos los mecanismos vitales tienen un sólo y único objetivo, cual es preservar constante las condiciones de vida en el medio interno. El descubrimiento de la autoregulación y su control genético nos permiten definir, entonces, la homeostasis fisiológica para cualquier especie y bajo diferentes circunstancias. En animales, el estudio de la homeostasis fisiológica ha tenido progresos extraordinarios, no así al referirnos a plantas, donde es difícil medir respuestas al comportamiento.

Existe, asimismo, la así llamada homeostasis genética (o inercia genética u homeostasis ecológica) idea que fuera expandida principalmente por Lerner y por Waddington. Se refiere a la reacción que presenta una población frente a las variaciones del ambiente a lo largo de las generaciones. El ambiente tiene en este caso, una dimensión mayor que cuando nos referimos a la homeostasis individual.

Aunque la homeostasis genética tiene un origen genético y la homeostasis fisiológica tiene un origen fisiológico, no existe duda que ambos tienen una componente genética importante, por otro lado muy asociada. Por ello, llamaré a la homeostasis fisiológica **individual** y a la segunda **poblacional**. El stress puede ser medido para la primera y más difícilmente para la segunda, así que es nuestro deber

ubicar ejemplos de la misma como primera aproximación. Llamo la atención que es en las poblaciones que estudiamos donde se caracterizan los dos casos: así que una población genéticamente homogénea, como puede ser un conjunto de individuos homocigotas (autógamas), de híbridos de primera generación entre líneas homocigotas (alógamos) o de progenies clonales son, ni más ni menos que repeticiones de un mismo genotipo.

En la figura 2, con las salvedades del caso motivadas por la incertidumbre de las definiciones, se presenta un esquema general clasificatorio, incluyendo las poblaciones sujetas a análisis.

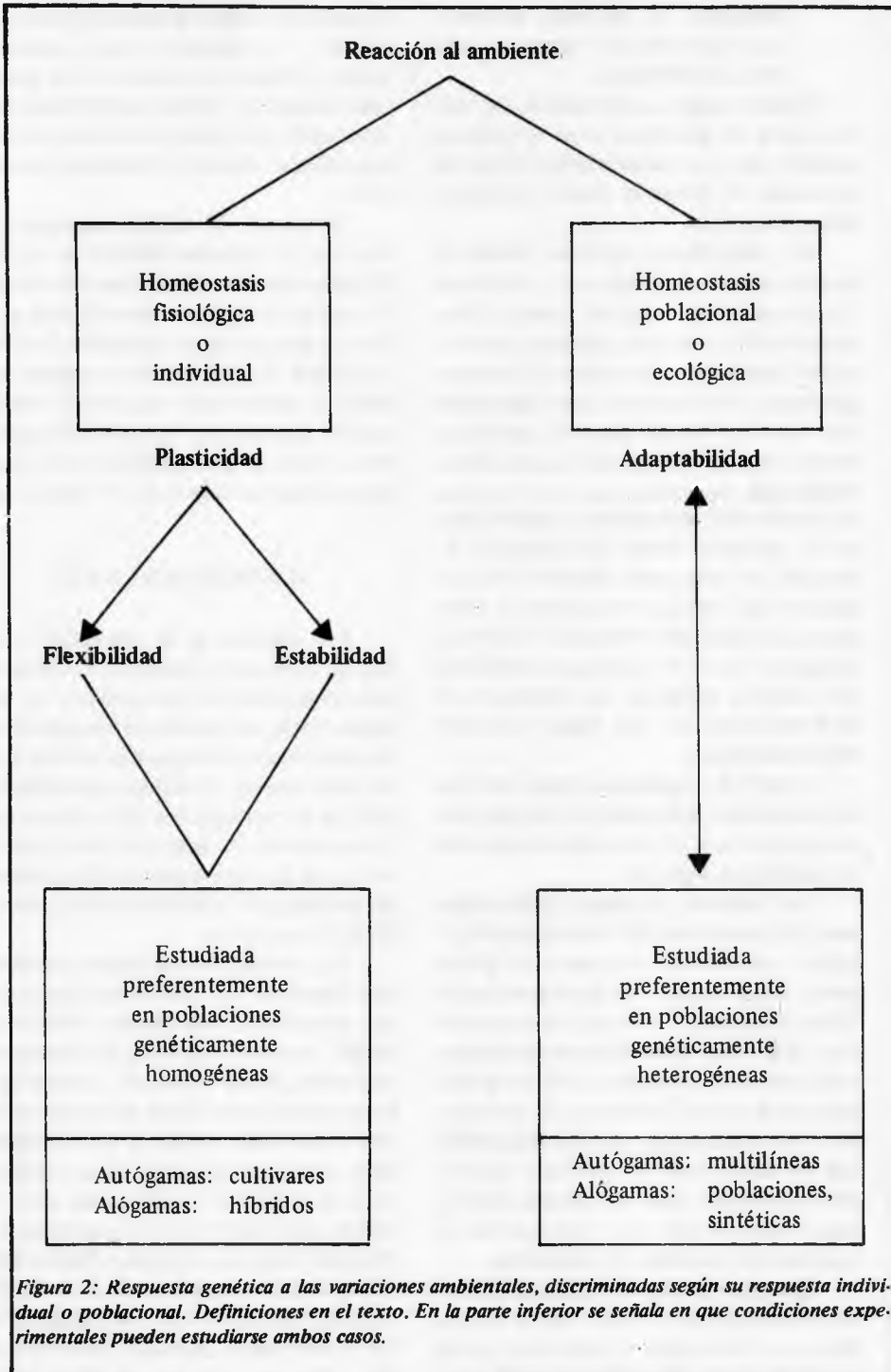
Los procesos de stress se incluyen en la rama derecha del esquema, en otras palabras, debemos estudiar los aspectos fisiológicos y genéticos provocados por el stress.

FISIOGENETICA DE LA RESPUESTA AL "STRESS"

Hemos dicho que el stress sólo puede ser medido en función de la respuesta o reacción al mismo. Va de por sí que la falta de respuesta indica resistencia al mismo, si es que la respuesta se mide sobre el daño final producido.

Sin embargo, es lógico suponer que el mecanismo no tiene porque ser singular, aunque provoque el mismo resultado final. Los sistemas de resistencia al stress pueden y son, por consiguiente:

- 1) Aquellos que permiten una rápida respuesta al estímulo exógeno, tanto en su presencia como en su ausencia, sea por sistemas bioquímicos de muy rápida expresión o por la presencia de dos mecanismos alternantes que pueden suplantarse ("bypass"). Correspondería a los casos flexibles.
- 2) Aquellos que hacen al organismo



insensible al estímulo exógeno. Corresponderían a los casos estables o indiferentes.

Queda margen, entre ambos, de toda una gama de genotipos cuya reacción es sensible pero de reacción nula o lenta, sin capacidad de evitar el efecto perjudicial del stress sufrido.

En organismos inferiores, donde el medio externo e interno se confunden, los sistemas de reacción parecen estar comprendidos entre los primeros mencionados, basado en la presencia de genes reguladores y de operones, como demostraron Jacob y Monod para el aprovechamiento de la lactosa por el bacterio *Escherichia coli*, mecanismo que con variantes, es general en el anabolismo y catabolismo de los procesos vitales. La velocidad de reacción, en estos casos depende de la naturaleza del mensaje transcripto a nivel génico, es decir, del "turnover" del RNA-mensajero frente a la presencia o ausencia del inductor exógeno. La existencia de RNA-mensajero de vida larga provocará respuestas lentas.

A nivel de organismos superiores, los mecanismos de regulación no son tan bien conocidos, fuera de los consecuentemente razonados por analogía.

Los mayores progresos deben esperarse de la comparación de materiales biológicos que difieren en uno o en pocos genes, como ocurre con las denominadas "líneas isogénicas". De esta manera, cualquier diferencia heredable puede referirse a la acción del par génico o de los pocos pares génicos involucrados en la reacción. Con esta orientación, la inducción artificial de mutaciones ha provisto material muy interesante para los análisis, identificando ejemplos que caen dentro de las categorías mencionadas anteriormente.

Ejemplos de rápida respuesta han sido determinados en cebada por la vía sintética de formación de clorofila por el grupo de D.V. Wettstein (Copenhague,

Dinamarca), quien determinó genes reguladores y productores, cuya alteración puede provocar un síndrome de plantas con muerte de tejidos transversales en el momento de la conversión a nivel de protoporfirinas cuando la respuesta se atempera.

Otro caso de rápida respuesta es la reacción de **hipersensibilidad** de sectores de hojas cuando están sujetas a la invasión de agentes patógenos, especialmente aquellos hongos parásitos obligados de acción localizada. Su empleo como manera indirecta de evitar daños en casos de epifitias pueden considerarse ejemplos de respuestas a stress, de gran utilidad en el campo del mejoramiento genético de las plantas.

EL EFECTO DE LA LUZ

Los cambios de la intensidad y calidad de la luz que se generan en forma rítmica o arítmica son conocidos y de gran importancia para la vida de los seres vivos, sea ligados al aprovechamiento de la energía lumínica en la síntesis clorofiliana o bien en la morfogénesis de la planta o en la reacción de los animales. Participan entonces en la diferenciación celular además del crecimiento (división celular y elongación) de los tejidos.

En cereales, los sistemas de cultivo que llamamos de agricultura moderna y que dieran lugar a la llamada "revolución verde", tienden a acentuar los fenómenos originados por la cantidad y calidad de la luz recibida por la planta, en combinación con la variación resultante en la temperatura, como consecuencia de un aumento en la densidad de la plantación por unidad de superficie (diferente canopeo). Las diversas partes de la planta o bien la planta en sucesivos momentos de su desarrollo presenta alteraciones en los regímenes de luz y ello puede provocar problemas de stress. En ciertos lugares, donde las varia-

ciones de incidencia solar son muy variables, como ocurre en las regiones donde se cultivan los cereales, las tensiones son mayores y van acompañadas por un exceso de provisión de agua en ambientes de alta fertilidad nutricia.

El estudio fisiogenético de estos aspectos ha progresado lo suficiente en estos últimos años, con referencia al trigo y a la cebada. Presenta además, la particularidad de que es posible distinguir los dos mecanismos mencionados anteriormente, ofreciendo un ejemplo que, en la brevedad del tiempo, puede ser aleccionador para este tipo de estudios.

La elongación tisular es un proceso influido por la luz pero mediado a través de la formación y acción de las giberelinas.

Los meristemas ya diferenciados en la semilla madura de las hojas de los cereales mencionados, responden rápidamente al agregado exógeno de la hormona, lo que facilita el estudio experimental. Se sabe así que si consideramos el meristema de la primera hoja, ya se ha diferenciado la parte correspondiente a la lígula y separado el meristema en dos partes, una apical que formará la lámina y una basal, que dará lugar a la vaina.

Si en ese momento, se crean las condiciones para que la semilla empiece a germinar, ocurre la explosión mitótica del meristema, durante la cual comienza también la elongación de la lámina. Cuando este alargamiento llega a su fin y, sólo en ese momento, comienza la secuencial elongación de las células de la vaina que ha permanecido en estado quiescente o presumiblemente quiescente. En consecuencia, el estudio del crecimiento progresivo de la plántula nos permite estudiar efectos de variación provocados por el ambiente.

Por ejemplo, se conoce que la luz incide en la elongación longitudinal de las células solamente en los períodos anteriores de que la elongación se inicie, luego de

la cual no admite variaciones mediadas por vía de las giberelinas.

La influencia de la hormona no es similar según se trate de meristemas distintos, porque si la reacción es de elongación acelerada durante la ausencia de la oscuridad para la lámina, es todo lo contrario para el caso de la vaina, así que los resultados tienden a indicar diferenciación anticipada debida a causas de organización celular.

En cuanto se refiere a la velocidad de respuesta, ello ha sido posible utilizando el modelo descrito que se realiza bajo condiciones controladas de ambiente. El estímulo del agregado exógeno de la hormona se hace por vía radicular, con lo cual los datos son válidos "in vivo" pero además sobre plantas intactas, semejándose a las condiciones prevalentes en la naturaleza.

Algunos de estos procesos morfogénicos están, asimismo, ligados a la actividad del fotoreceptor del fitocromo, pero su detalle no es de interés, salvo en proveer un nuevo mecanismo de rápida respuesta. La respuesta mediada a través del fitocromo parece hacerse más importante a medida que desarrolla la planta y sobre todo en la elongación del meristema ya diferenciado de la espiga, que está íntimamente ligado a la precocidad de la floración de la planta.

Esto se refiere, entonces, a los conocimientos a nivel de los aspectos fisiológicos del proceso. En cuanto a la parte de control genético, estudiado sobre la base de mutaciones inducidas, como ya se expresara anteriormente (Favret, Favret y Malvarez, 1975), la situación es la siguiente.

El efecto biológico provocado por la luz se realiza a través de las giberelinas, posiblemente de su síntesis por una batería de genes productores, algunos de los cuales están identificados. Esta batería de genes es de rápida respuesta por la acción

de un gene regulador, posiblemente único en el genomio en cebada.

La mutación de un gene productor da lugar a un genotipo que no produce giberelina endógena, y que por consiguiente es altamente sensible a su agregado externo. Esa mutante es denominada GA-less y como es obvio es inviable en condiciones "standard" de desarrollo. Queda al estado de roseta. Se trata de una mutación de expresión recesiva.

Una mutación, en cambio, del gene regulador trae como consecuencia una mutante constitutiva, con síntesis continuada de giberelinas, independiente de las condiciones del ambiente. Por supuesto, esta mutante es también letal en condiciones normales, todos sus tejidos se alargan sensiblemente en sentido longitudinal, apareciendo exageradamente los efectos propios del agregado de las giberelinas en plantas normales como son la inducción pleiotrópica de raíces en los nudos, abundante producción de antocianinas, esterilidad masculina y reducción del macollaje.

Los mismos efectos se consiguen si se tratan mutantes GA-less con giberelinas en concentraciones apropiadas.

Con esta breve exposición del mecanismo de rápida respuesta hemos querido señalar un sistema de regulación que es, en términos generales, análogo al de Jacob y Monod, con la diferencia esperable de que los genes productores no son operones en los términos estrictos del modelo.

Un segundo mecanismo genético fué hallado al inducir una mutante en cebada cuyo crecimiento demostró ser insensible al agregado de la hormona y por ende a la luz (Favret, Ryan y Malvarez, 1969). Dicha mutante en cebada demostró ser homóloga a la determinada en el trigo de pan de origen japonés Norin 10, carácter que ha sido transferido a la mayor parte de las variedades descendientes, cuyo cultivo cubre áreas muy importantes hoy en día y se considera uno de los factores res-

ponsables del éxito de la revolución verde.

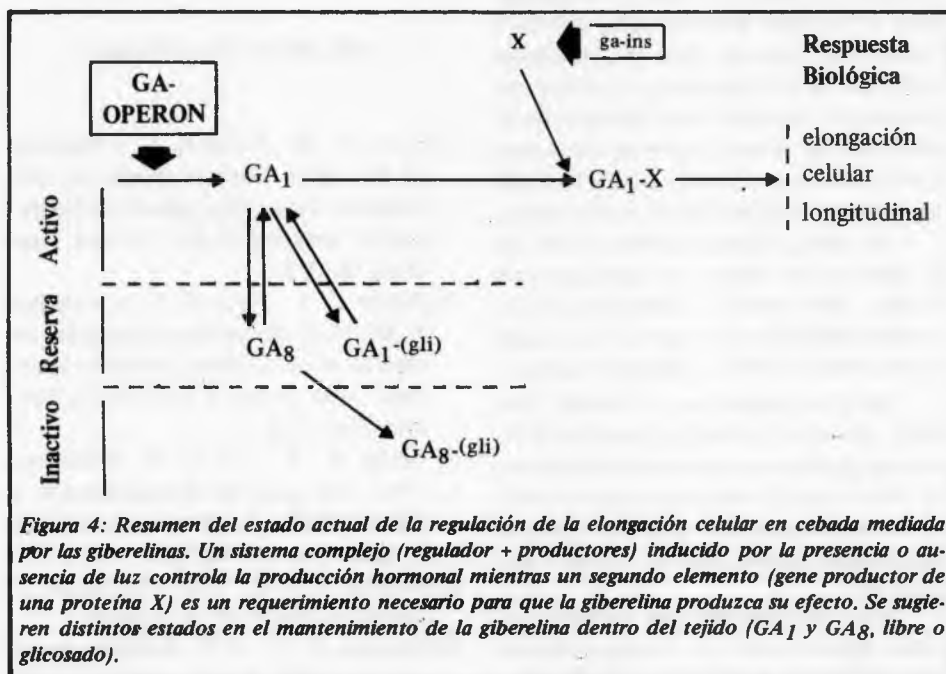
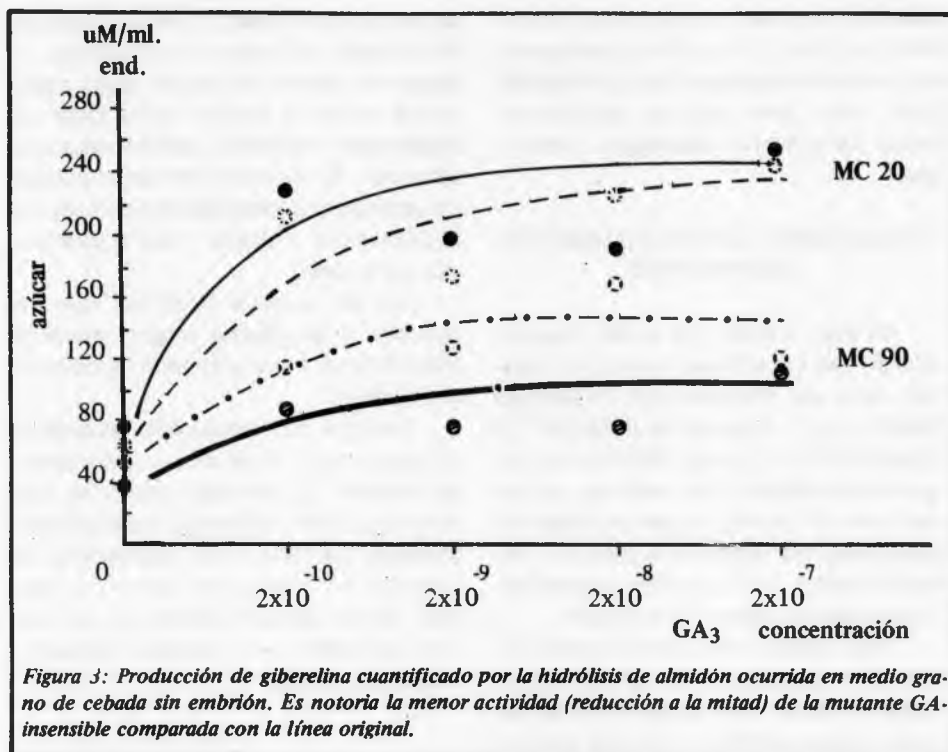
Esta mutante GA-insensible (MC 90) se caracteriza por tener un crecimiento menor que la normal con una alometría foliar distinta, que favorece índices transversales más provechosos que la estructura normal, con mayor concentración de clorofila por unidad de hoja expuesta a la luz. Es insensible, como se ha dicho, a la luz y no sufre los perjuicios de stress que debido a esas causas, presentan las formas consideradas normales.

Es asimismo su crecimiento más estable a cambios de temperatura o al agregado de inhibidores del crecimiento como el CCC. Todo ello es importante cuando hay condiciones de alta fertilidad en el suelo (sobre todo N), con agua suficiente y en densidades de plantas muy altas. En esas condiciones la planta no sufre el vuelco y el rendimiento final se optimiza.

Parece ser un gene único en el genomio de cebada y es único en cada genomio del trigo hexaploide, donde se determinaron dos, uno localizado en el cromosoma 4A y otro en el cromosoma 4D.

Poseen estas formas, además, la propiedad de producir alfa-amilasa durante la germinación en forma más lenta que en genotipo normal, fenómeno que también se conoce es mediado por la giberelina (Favret G.C., no publicado). Este atributo le confiere resistencia a la brotación anticipada de la semilla, problema agronómico de importancia económica en algunas regiones cerealeras, como el Norte de Europa, sujeta a lluvias copiosas e intempestivas durante la maduración final del grano. Indica ello que la resistencia al stress en este caso particular es eficiente a distintas fuentes de cambio ambiental.

Recientes estudios realizados en Castelar por el Dr. Hopp, indicarían que la actividad de los dos sistemas genéticos se realiza en los puntos observados en la figura (4); requiriendo la producción de una



proteína receptora necesaria para la actividad de la GA_1 . El modelo es tentativo y no todos los elementos han sido identificados aún, pero explican satisfactoriamente los procesos fisiológicos observados.

EVOLUCION Y APROVECHAMIENTO AGRONOMICO

Es muy posible que quede la impresión de que los sistemas insensibles (estables) sean más eficientes que los sistemas flexibles en la homeostasis individual. El ejemplo sobre la insensibilidad luz podría querer así indicarlo. Sin embargo, aún en este caso el hecho de que la capacidad amilolítica esté disminuída puede ser un inconveniente para procesos industriales fermentativos, como es el malteado.

Hay ejemplos análogos de insensibilidad al fotoperíodo, cuyos resultados preliminares señalan desventajas notorias para las formas estables y ventajas para las flexibles. El resultado final de la producción de semillas presenta fases sujetas a variaciones rítmicas (por ej., paulatina elevación de la temperatura a medida que prospera el crecimiento en los cereales de invierno) que pueden provocar otros efectos de stress por ejemplo el frío en cultivos precoces insensibles al fotoperíodo.

La rápida respuesta puede ser útil para plantas que deben ser agresoras para ocupar otras áreas, o defenderse de la competición de otras especies (malezas), como puede ocurrir en plantas forrajeras.

Estudios realizados en Castelar (Goddeck, datos no publicados) muestran diferencias genéticas consistentes entre clones de alfalfa sujeta a stress por agotamiento, como puede ocurrir en praderas sujetas a explotación intensa, sea por corte o por pastoreo.

Desde el punto de vista operativo, el mejor sistema, como lo es para cualquier otro carácter es aquel que se puede selec-

cionar más fácilmente, o, como se dice habitualmente, de mayor heredabilidad, y desde este punto de vista la magra experiencia vuelve a sindicar a los casos de homeostasis individual estable como más adecuado. El mismo hecho ocurre porque los genes para insensibilidad presentan determinaciones múltiples por la pleiotropía que poseen.

Tal vez se pueda conjeturar que los animales y las plantas tengan respuesta más eficiente según presenten flexibilidad o estabilidad.

Creemos muy anticipado generalizar al respecto a la altura de los conocimientos actuales. El fitomejorador debe, por principio, seguir utilizando todas las posibilidades que tiene a su disposición. Al contrario del investigador que es un analista, el que aplica la teoría a la práctica debe proceder en el sentido contrario, realizar la síntesis.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1) Favret E. A., Favret G. C. y Malvarez E. M. 1975. Genetic regulatory mechanisms for seedling growth in barley. *Barley Genetics III* Ed. H. Gaul, Garching. B. D. R.
- 2) Favret E. A., Ryan G. S. y Malvarez E. M. 1969. Mutaciones inducidas que afectan el crecimiento inicial de la cebada. *Proc. Symp. F.A.O./IAEA, Pullman Wash. U.S.A.*
- 3) Finlay K. W. and G. N. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Australian J. Agric. Res.* 14:742-754.
- 4) Haldane J. B. S. 1932. The causes of evolution. Harper N. Y. London.
- 5) Harrison G. W. 1979. Stability under environmental stress: resistance, resi-

- lience, persistence and variability. *The Amer. Nat.* 113:659-669.
- 6) Mather K. 1973. *Genetical structure of population*. Chapman & Hall, Londres.
 - 7) Levitt J. 1972. *Response of plants to environmental stresses*. Academic Press, N. Y.
 - 8) Lewin L. G. and Sparrow D. H. 1975. *The genetics and physiology of resistance to stress*. *Barley Genetics III* Ed. H. Gaul, Garching B. D. R.
 - 9) Rieger R., Michaelis A. and Green M.M. 1968. *A glossary of genetics and cytogenetics*. Springer-Verlag Berlin B.D.R.
-

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This is essential for ensuring the integrity of the financial statements and for providing a clear audit trail. The second part of the document outlines the various methods used to collect and analyze data, including interviews, focus groups, and surveys. The third part of the document describes the results of the study, which show that there is a significant correlation between the use of accurate records and the reliability of the financial statements. The fourth part of the document discusses the implications of these findings for practice and for future research.

2. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This is essential for ensuring the integrity of the financial statements and for providing a clear audit trail. The second part of the document outlines the various methods used to collect and analyze data, including interviews, focus groups, and surveys. The third part of the document describes the results of the study, which show that there is a significant correlation between the use of accurate records and the reliability of the financial statements. The fourth part of the document discusses the implications of these findings for practice and for future research.