

PRESENTE Y FUTURO EN MEJORAMIENTO DE ALFALFA
Ing. Agr. (PhD) Daniel H. Basigalup – EEA Manfredi

En los últimos dos años, el avance de agricultura ha ido desplazando a la ganadería hacia zonas cada vez más marginales y ha obligado a hacer más intensiva y eficiente la producción de carne y leche. En ese contexto, la disponibilidad de nuevas y mejores variedades de alfalfa adquiere una importancia trascendental, en particular las desarrolladas para las condiciones locales de suelo, clima, manejo, plagas y enfermedades.

Presente y futuro inmediato en el desarrollo de variedades de alfalfa

El programa de mejoramiento genético de alfalfa del INTA tiene su sede en la EEA Manfredi y se lleva a cabo con la financiación parcial de la empresa Producers S.A., a través de un Convenio de Vinculación Tecnológica (CVT). La responsabilidad del INTA es el desarrollo y la inscripción de nuevas variedades, siendo la responsabilidad de Producers S.A. la multiplicación y la comercialización de esas variedades. En ese marco, el **CVT Alfalfa** tiene dos grandes líneas de trabajo, cuyos objetivos y logros se resumen a continuación:

a) **Línea TRADICIONAL** – Mediante el uso de métodos de mejoramiento como la selección fenotípica recurrente y el cruzamiento complementario de cultivares, se busca desarrollar variedades de diversos grados de reposo invernal (GRI 5-9) que posean excelentes niveles de producción de forraje y persistencia, y una muy buena combinación de resistencia a las principales plagas (pulgon azul, verde y moteado) y enfermedades (corchosis, complejo de podredumbre de corona y raíz, fitóftora, antracnosis, fusariosis y enfermedades de hoja). En 1999/2000 se lanzó al mercado la variedad **Bárbara SP INTA** (GRI 8), y más recientemente (2002/03) se han lanzado las variedades **ProINTA Luján** (GRI 6) y **ProINTA Patricia** (GRI 7). Todos estos cultivares han demostrado un excelente comportamiento en los ensayos de la Red de Evaluación de Cultivares de Alfalfa del INTA, que incluye 12 localidades en todo el país (ver “Avances en Alfalfa” N° 13 y anteriores, revista editada por la Ing. Agr. M^a del C. Spada-EEA Manfredi). A efectos de asegurar la provisión continua de variedades, el CVT Alfalfa crea cada año aproximadamente 100 poblaciones experimentales con las características mencionadas. En la actualidad se conducen 4 ensayos de evaluación de poblaciones experimentales (INPROs 4, 4 bis, 5 y 6) que permitirán la inscripción de nuevas variedades en un futuro cercano.

b) **Línea BAJO RIESGO DE EMPASTE** - Desde 1991/92, el CVT Alfalfa viene desarrollando una población experimental de alfalfa sin reposo invernal (GRI 8) con menor propensión a causar empaste o meteorismo espumoso. Las plantas se seleccionaron en base a su menor velocidad inicial de desaparición ruminal, medida a las 4 h de permanencia en el rumen de novillos fistulados (técnica *in situ*). Después de tres ciclos de selección fenotípica y genotípica recurrente, se logró una población

¹ Trabajo publicado en: Jornada Técnica “Todo alfalfa”. INTA - EEA Manfredi, 6/11/2003

experimental con 20% menos de velocidad inicial de desaparición ruminal, mayor contenido de fibra (FDA y FDN), y similares contenidos proteicos (PB) y relación hoja/tallo respecto de una alfalfa común (sin seleccionar). Ese material fue inscripto en 2002 en el Registro Nacional de Propiedad de Cultivares con el nombre de **ProINTA Carmina**. En el otoño de 2003 se implantaron ensayos de pastoreo de al menos 2 ha cada uno en las unidades del INTA en Marcos Juárez, Manfredi, General Villegas, Pergamino y Rafaela, para evaluar el verdadero potencial de disminución del empaste de ProINTA Carmina. Paralelamente se llevarán a cabo otros dos ensayos de corte, en Pergamino y Manfredi, para caracterizar exhaustivamente su calidad forrajera en comparación con una variedad testigo. Si todos estos ensayos arrojan resultados positivos, ProINTA Carmina podría comenzar a comercializarse en 2004/05.

Futuro en el mediano y largo plazo

Todo lo presentado en el punto anterior se basa en el denominado mejoramiento “convencional”, donde los fitomejoradores utilizan la variabilidad genética natural de la alfalfa para el desarrollo de nuevas variedades. Este enfoque, si bien muy exitoso a largo de las últimas décadas, se limita a trabajar con sólo aquellos genes que están naturalmente presentes en la alfalfa o en especies relacionadas. Sin embargo, para mejorar muchos caracteres de importancia, la variabilidad genética de la alfalfa puede resultar insuficiente o directamente inexistente. En esos casos, la **Ingeniería Genética** resulta una herramienta extremadamente útil, dado que posibilita la incorporación de genes foráneos que crean caracteres novedosos (ej.: resistencia a glifosato; vacunas animales; etc.), o la modulación de la expresión de genes ya presentes (ej.: síntesis de taninos condensados; disminución de lignina; etc.).

La ingeniería genética, que se incluye dentro de lo que globalmente se denomina Biotecnología, requiere de mucha inversión y personal capacitado, del desarrollo de una serie de estudios básicos preliminares, y de una infraestructura adecuada. Hasta el momento, la mayoría de sus logros se ubican en el plano de lo potencial. Pero, como resultado de los muchos trabajos que se están llevando a cabo tanto en el mundo como en la Argentina, es muy probable que un futuro cercano ya puedan estar disponibles algunas variedades comerciales obtenidas por estos medios. Es importante resaltar que la biotecnología no reemplaza al mejoramiento tradicional, sino que lo enriquece enormemente y lo complementa.

A continuación se resumirán algunos trabajos del INTA, de empresas privadas, y de organismos extranjeros orientados básicamente al desarrollo de variedades de alfalfa:

1- Trabajos desarrollados por el Inst. de Genética (IGEAF)-INTA Castelar

- *Alfalfa transgénica con resistencia a isocas* – Se cuenta con plantas de alfalfa que expresan el gen **Bt** (derivado de *Bacillus thuringiensis*), cuyas hojas manifestaron un alto poder insecticida contra la isoca de la alfalfa. Una parte de estos materiales se desarrollaron a través de un convenio con la empresa Dekalb Genetics Co. Estas plantas podrán ser utilizadas en un programa de cruzamientos y selección convencional, para incorporar ese carácter a alfalfas de alto valor agronómico.
- *Alfalfa transgénica con resistencia generalizada a enfermedades fúngicas* – En colaboración de la Univ. Nac. de Luján, se están desarrollando plantas de alfalfa con sobreexpresión de genes antifúngicos, que confieren protección generalizada contra

hongos patógenos. Por el momento, se está trabajando con genes que codifican proteínas del tipo **glucanasas** y **quitinasas**, que limitan el crecimiento de los patógenos y el desarrollo de la infección. Mediante este proyecto se espera sentar las bases para poder desarrollar cultivares de alfalfa con resistencia a enfermedades como la corchosis y el complejo de podredumbres (para las que por el momento no hay fuentes de resistencia genética ni protocolos de selección), o como las enfermedades de hoja (para las que los protocolos de selección actualmente disponibles no son totalmente efectivos).

- *Alfalfa transgénica antiempaste* – Los taninos condensados, al formar complejos con la proteína soluble de la alfalfa, impiden la formación de espuma estable en el rumen, evitando el empaste y mejorando la proporción de proteína vegetal que es utilizada directamente por el animal (“proteína pasante”). La alfalfa tiene presencia de taninos condensados en la cubierta de sus semillas, lo que indica que posee toda la secuencia génica (enzimas) para la síntesis de estos compuestos. Sin embargo, por factores regulatorios, no todos estos genes se expresan en la parte aérea de la planta, haciendo que no haya taninos en hojas y tallos. El proyecto que se está llevando a cabo se orienta a la obtención de plantas que tengan una moderada expresión en hojas de la enzima **chalcona sintetasa** (de *Petunia hybrida*), que regula un paso fundamental en la síntesis de taninos condensados. Ya se cuenta con 150 plantas transgénicas que están siendo evaluadas por su expresión de taninos condensados en el follaje.
- *Alfalfas transgénicas como vacunas contra virus bovinos* – En colaboración con el Inst. de Virología-CICVyA-INTA Castelar, se han desarrollado plantas transgénicas de alfalfa que contienen secuencias parciales (expresión de antígenos) de distintos virus, con la finalidad de desarrollar vacunas de uso veterinario que buscan generar en los animales la producción de anticuerpos. Ya se cuenta con 16 plantas de alfalfa que expresan la glicoproteína E-2 del virus de la **diarrea viral bovina** (VDVB). También se cuenta con plantas transgénicas para expresión de antígenos para el virus de la **aftosa**. Todos estos materiales están bajo evaluación.

2- Trabajos desarrollados por empresas privadas y/u organismos extranjeros

* *Alfalfa transgénica resistente a glifosato (RR)* – Las empresas Forage Genetics International y Monsanto, de EE. UU., están desarrollando conjuntamente alfalfas transgénicas resistentes al herbicida **glifosato** (Roundup Ready®). Ya se cuenta con materiales experimentales muy avanzados, que poseen distinto grado de reposo invernal de buen comportamiento agronómico y muy alta resistencia al herbicida. El lanzamiento comercial de estas variedades estaba previsto en EE.UU. para 2004 y en Argentina originariamente para 2005. Sin embargo, en nuestro país, la ausencia de un marco legal adecuado ha pospuesto el lanzamiento comercial, al menos hasta que no se cuente con un apropiado control del comercio ilegal de semillas que preserve los derechos de propiedad.

* *Alfalfa transgénica con mayor digestibilidad de la pared celular* - A través de un emprendimiento conjunto con la Noble Foundation (EE.UU-), la empresa Forage Genetics International está desarrollando poblaciones experimentales de alfalfa transgénica con menor contenido de **lignina** en sus paredes celulares. Mediante la manipulación de dos enzimas involucradas en la síntesis de lignina (COMT y CCOMT),

se han obtenido plantas que no sólo tienen menor contenido sino también diferente composición de lignina, lo que confiere a esas plantas un aumento de 10% en la digestibilidad de la materia seca. El desarrollo de estos materiales se encuentra todavía en una fase experimental, incluyendo ensayos de evaluación de distintas poblaciones derivadas de esas plantas transgénicas.

* *Otros proyectos de ingeniería genética en alfalfa* – La Univ. de Minnesota (EE.UU) ha desarrollado plantas de alfalfa transgénicas que sobreexpresan algunas enzimas involucradas en la síntesis de ácidos orgánicos que, al ser exudados por las raíces, secuestran el exceso de **aluminio** del suelo y disminuyen su efecto tóxico para el cultivo en suelos ácidos. También la Univ. de Minnesota ha producido plantas transgénicas capaces de sintetizar **polihidroxibutirato** (un polímero biodegradable), mediante la incorporación al genoma de alfalfa de tres genes de *Ralstonia eutropha*. La Univ. de Wisconsin (EE.UU.) desarrolló plantas de alfalfa transgénicas que producen diversas **enzimas microbianas** (alfa-amilasas, fitasas, celulasas, etc.) para diversos usos. Por ejemplo, el jugo crudo de hojas o la harina de alfalfa proveniente de plantas capaces de sintetizar fitasa, puede ser suministrado directamente en la alimentación de animales a fin de reemplazar la fitasa de origen microbiano.

Es oportuno remarcar que la enumeración anterior de proyectos de aplicación de la ingeniería genética al mejoramiento de alfalfa, no agota en modo alguno el tema. Simplemente se ha querido dar una panorámica muy general de algunos trabajos en marcha, a efectos de esbozar las posibilidades prácticamente ilimitadas que esta herramienta ofrece y el futuro muy promisorio que se vislumbra para los próximos años.

Referencias

- 1- Ríos, R.; Gómez, C.; Ferri, A.; Ciancio, J.; Ardila, F.; y Franzone, P.. 2001. Transformación genética de alfalfa. *In*: REDBIO 2001. Taller de Biotecnología de Forrajeras, Brasil.-
- 2- Mc Caslin, M. y Knipe. B. 2001. La ingeniería genética como herramienta en el mejoramiento de la alfalfa. *In*: 24º Congreso Argentino de Producción Animal - Resúmenes de Conferencia y Mesas Redondas. Rafaela, Sta. Fe., 19-21 de Septiembre, pp. 93-94.
- 3- Proceedings of the Second International Symposium of Molecular Breeding of Forage Crops. 2000. Lorne & Hamilton, Victoria, Australia. November 19-24.
- 4- Comunicaciones personales de R. Ríos (IGEAF, CICA-INTA Castelar), S. Chiavenna (Instituto de Virología, CICVyA-INTA Castelar) y R. Rossanigo (Forage Genetics Argentina, S.R.L.).

Información:

Ing. Agr. (PhD) Daniel Basigalup

E mail: dbasigalup@correo.inta.gov.ar