



Desarrollo de una población GWAS de alfalfa para comprender la complejidad genética de la tolerancia a la sequía en ambientes Mediterráneos

XVII Congreso Latinoamericano de Genética

Mendoza, Argentina.
6 al 9 de octubre de 2019.



CHILE LO
HACEMOS
TODOS

Alfalfa Crop Wild Relatives climate change adaptation

Humphries, A.^{*,1,9}, Ovalle, C.², del Pozo, A.³, Inostroza, L.², Barahona, V.², Ivelic-Saez, J.², Yu, L.⁴, Yerzhanova, S.⁵, Meirman, G.⁵ Abayev, S.⁵, Brummer, E.⁶, Hughes, S.^{1,9}, Bingham, E.⁷, Kilian, B.⁸



5



4



3



2



7



6



1

Problemas a enfrentar en el secano Mediterráneo

1. Sequía estival



2. Suelos pobres y erosionados

MO: < 2%

P: < 2 ppm

Erosión: >50%



Agricultura de subsistencia



Antecedentes

La alfalfa ha sido tradicionalmente en Chile una alternativa para sistemas ganaderos intensivos principalmente en zonas de riego, para lo cual se han utilizado materiales de alto rendimiento, pero quizás no bien adaptadas al pastoreo y a ambientes con fuertes limitantes de clima, suelo y de manejo más extensivo.

¿Podemos expandir el cultivo a zonas marginales, en particular con limitantes de sequía estival, frío invernal, acidez edáfica y para uso en pastoreo??.

¿Se necesitaría disponer de germoplasma diferente capaz de producir y persistir adecuadamente en esos ambientes ??

Hipótesis

Especies perennes de raíces profundizadoras, con alta capacidad de Fijación de Nitrógeno, podrían :

- Persistir en este ambiente
- > productividad de MS y proteína
- Prolongar la curva de producción: 1 mes en otoño y 1,5 a 2 meses en primavera
- Contribuir a mejorar la calidad (física y química de los suelos)

Alfalfa para zonas marginales y pastoreo





Resumen del proyecto

- **Adquisición de germoplasma.**
 - Búsqueda de literatura, recolección y utilización de centros de recursos genéticos.
- **Multiplicación de semillas y desarrollo de híbridos.**
 - M.arborea y M.strasseri
 - M.sativa subsp. Caerulea
 - M.ruthenica y M.arabica
- **Rendimiento y comportamiento en múltiples ambientes.**
 - Australia
 - Kazajstán
 - Chile
 - Mongolia interior
- **Caracterización fisiológica de la tolerancia a la sequía.**
 - Uso cámaras hiperespectrales para fenotipar y valor nutritivo Conductancia estomatal
- **Educación y colaboración de agricultores, extensión a mejoradores (próximos usuarios)**

Pasos claves del proyecto

- Colecta de ejemplos extremos de tolerancia a la sequía en Medicago perenne.
- Hacer híbridos entre estos parientes lejanos.
- Desarrollar capacidades con grupos en Kazajstán, Mongolia Interior y Chile.
- Hacer que el germoplasma esté disponible gratuitamente para los mejoradores de todo el mundo.



'Stay green' alfalfa





Adquisicion de germoplasma

- USDA and Australian Pastures Genebank – accessions linked to drought
- Plant collections in Azerbaijan, Kazakhstan and China focussing on the driest regions (SARDI, KSRIAPG, CAAS)
- Crop Trust KEW collection in Italy and Georgia (~2015)
- Russian Vavilov Institute Research (VIR) – 21 ecotypes targeted Sinkskaya
- Chile, Atacama desert and Patagonia





Alta Sierra, North Chile

- Andean Mountains, 3500m elevation



Alfalfa Alta Sierra Valle Illapata Desierto de Atacama



Magallanes alfalfa, Patagonia Chile

Jorge Ivelic-Saez and Luis Inostroza - INIA



60 cm, 70 years old



Ejemplos de especies

Los CWR de alfalfa que tienen niveles extremos de tolerancia a la sequía se están utilizando para desarrollar híbridos que los fitomejoradores pueden integrar más fácilmente en sus programas.



Medicago sativa subsp. *falcata*
($2n = 16, 32$)



Medicago truncatula
(doubled $2n = 32$), annual



Medicago arborea ($2n = 32$)
Medicago strasseri ($2n = 32$)

Seed multiplication and development of hybrids



Establishment of new tents for controlled pollination of lucerne in Chile



Cruzamientos de *Medicago sativa* (alfalfa) con *M. arborea* (arbusto) para desarrollar híbridos con un rendimiento de forraje mejorado y sistemas de raíces potencialmente más grandes para mejorar la tolerancia a la sequía

Sitios de Evaluación





Enfoque metodológico del proyecto en Chile

- La Selección Asistida por Marcadores (MAS) es una herramienta poderosa para la disección genética de rasgos complejos, como la tolerancia a la sequía.
- Los estudios de asociación amplia del genoma (GWAS) intentan comprender la relación genética / fenotípica.
- En la alfalfa, las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) han permitido la caracterización de alto rendimiento y bajo costo del genoma.
- El proyecto tiene como objetivo identificar regiones genómicas (QTL) que controlan la tolerancia a la sequía en la alfalfa.

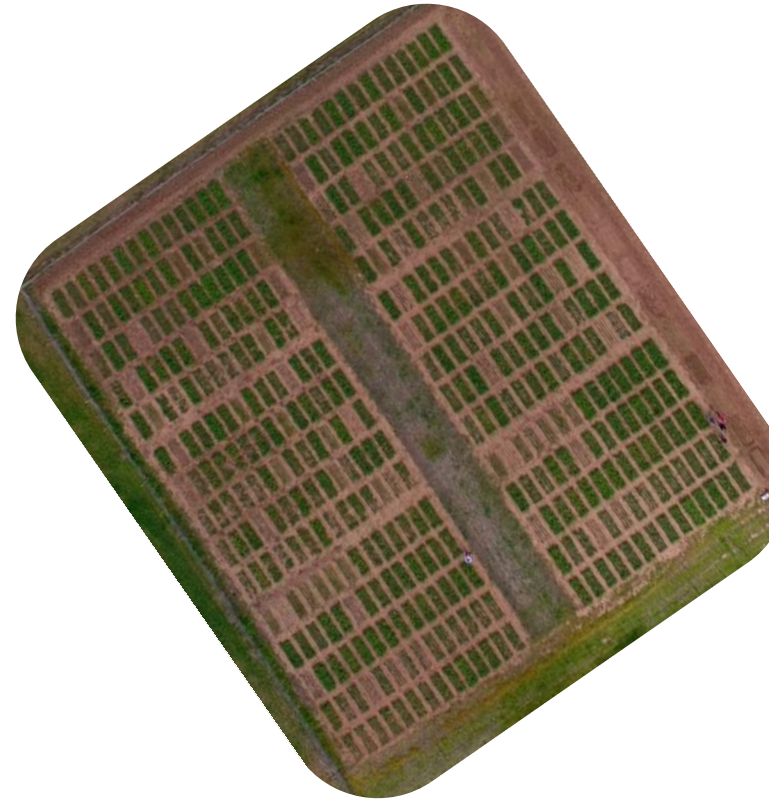


Fenotipado: Evaluación de la tolerancia a la sequía.

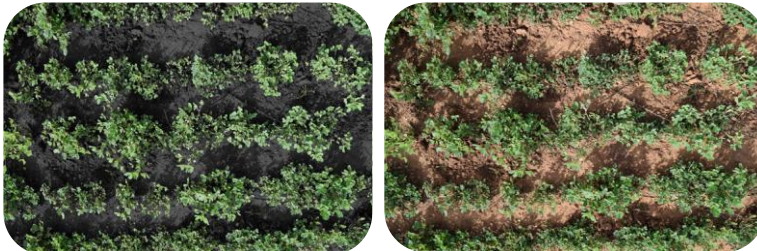
- Evaluación de tolerancia al frío (resistencia al invierno) en Kazajstán Mongolia Interior y Patagonia de Chile (los suelos congelados no tienen agua disponible)
- Ensayos de rendimiento relativo en cada país: supervivencia y rendimiento en ambientes de baja y alta sequía
- Rasgo verde: capacidad de retener las hojas durante el estrés por sequía en ambientes mediterráneos
- Tolerancia a la sequía (fisiología del estrés hídrico)

Metodología

- Desarrollo de la población de alfalfa GWAS
- 70 poblaciones de alfalfa proporcionadas por el Programa Global Crop Diversity Trust.
- Las poblaciones de alfalfa son originarias de 16 países de todo el mundo y pertenecen al complejo sativa (62%), varia (35%) y coerulea (3%).
- Se establecieron dos experimentos en la Estación Experimental de INIA Cauquenes -Chile ($S35^{\circ} 57'$, $W72^{\circ} 19'$).
- Los experimentos se manejan en condiciones de riego y de secano.

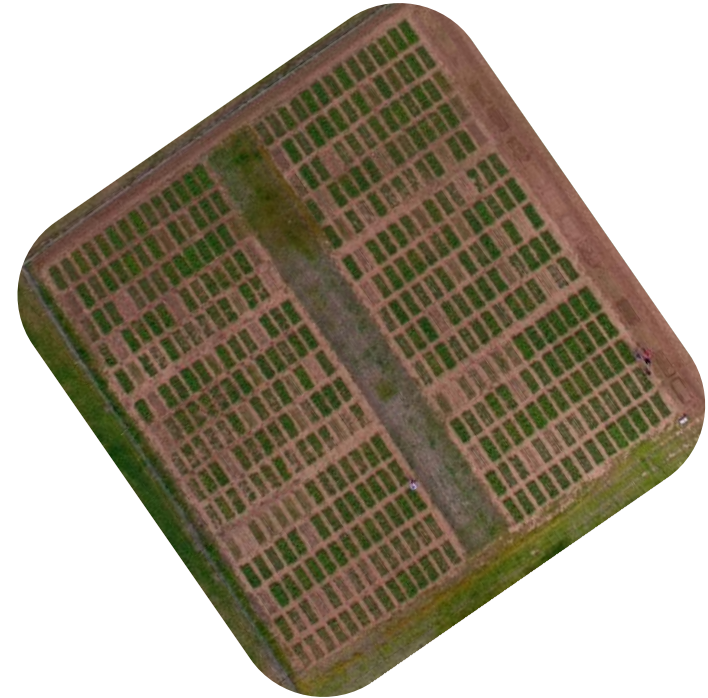


BreedPix image analysis



Metodología 2

- Producción de biomasa, las imágenes digitales se tomaron con una cámara digital RGB convencional (Canon EOS Rebel t5i).
- Los análisis de imagen se realizaron con el software BreedPix y se calcularon los índices de vegetación (VI).
- El dosel NDVI se grabó periódicamente con el dispositivo Green Seeker.
- Análisis estadísticos: se implementó un modelo mixto lineal fenotípico para estimar la mejor predicción imparcial lineal (BLUP) utilizando el método restringido de máxima verosimilitud dentro del paquete ASReml-R en el software R.



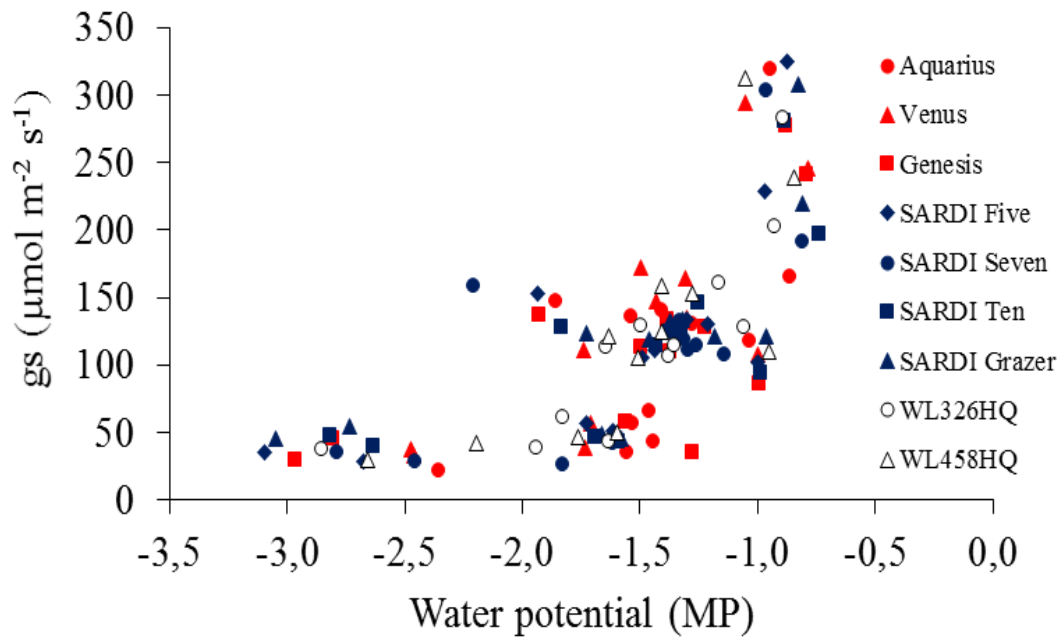
BreedPix image analysis







Relationships between shoot water potential and leaf stomatal conductance (gs) in nine cultivars of alfalfa evaluated in four Mediterranean environments of central-south of Chile.



Curves fitting ($gs = a * \exp(b * \psi)$) indicate that there were differences among cultivars in the response of gs to water potential. The slope of the relationships indicate that cv. Aquarius ($b = 1.32$; $r^2 = 0.48$) and cv. SARDI Grazer ($b = 0.68$; $r^2 = 0.58$) are the most sensitive and tolerant to water deficit, respectively.

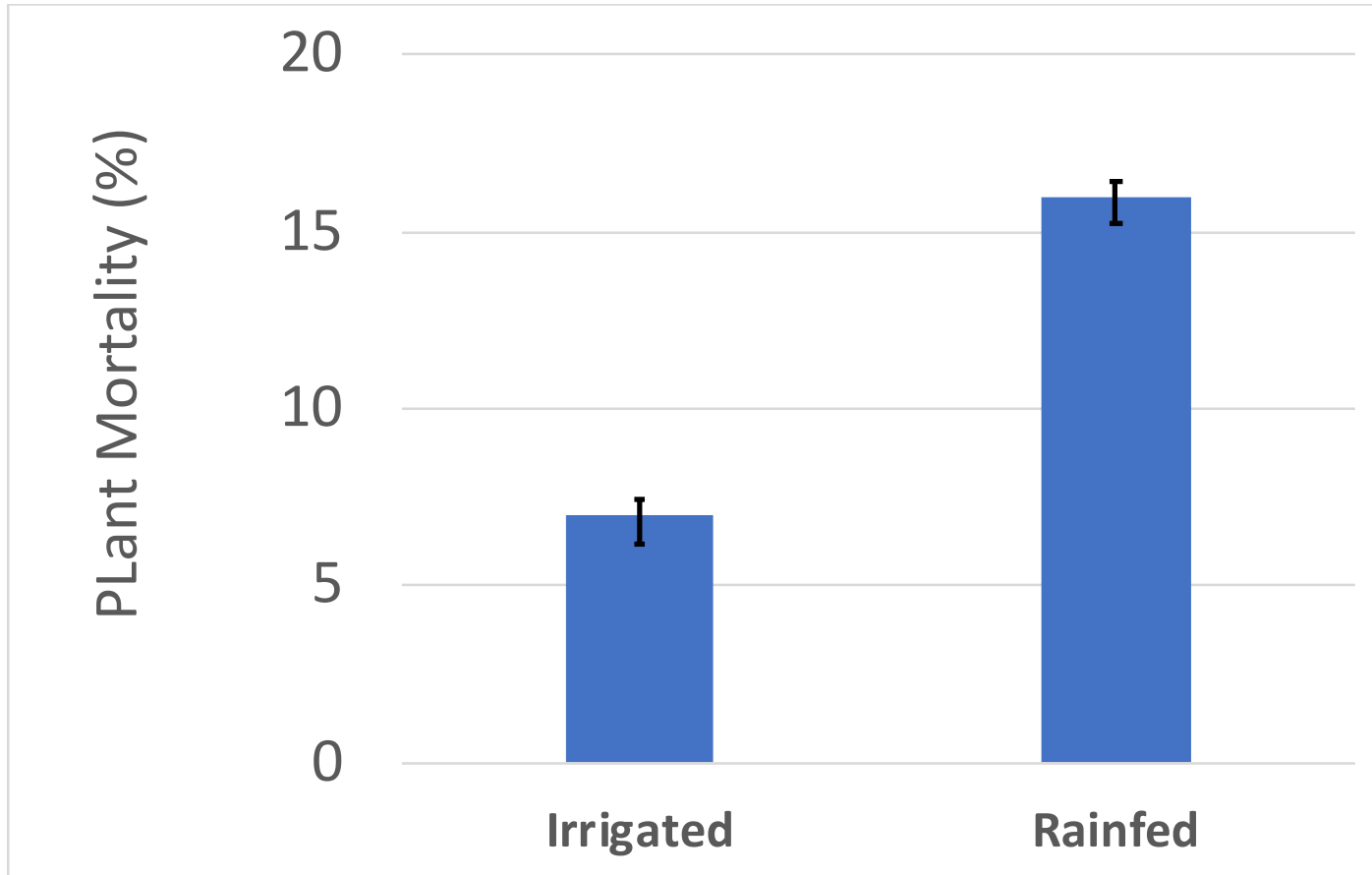




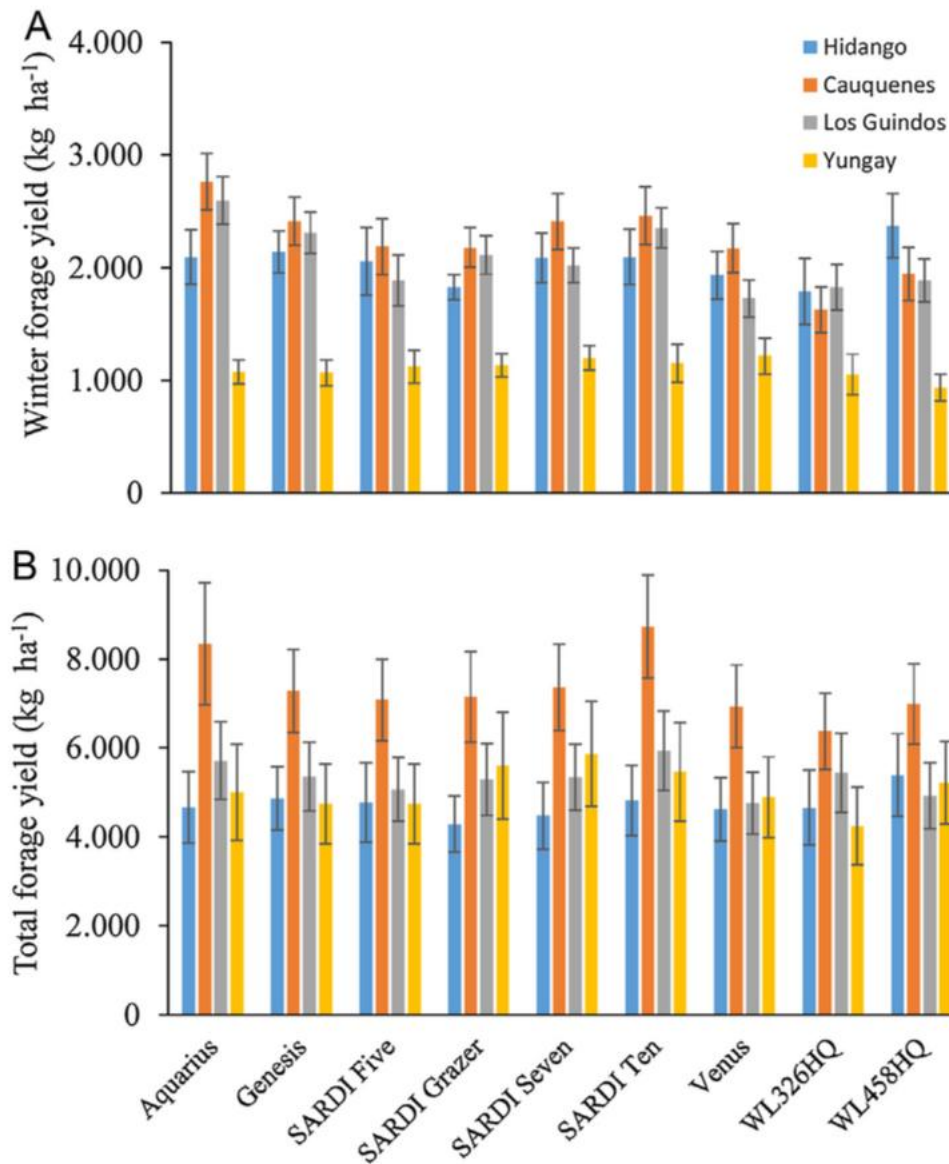
Tabla 1. Supervivencia de plantas (%) de 9 cultivares de alfalfa en cuatro ambientes de la zona Mediterránea a fin del período estival .N = 60. LSD = 10,8

Especie	Variedad	Hidango	Cauquenes	Los Guindos	Yungay
<i>Medicago sativa</i>	Aquarius	87	84	95	90
	WL 458 HQ	89	83	93	93
	WL 326 HQ	80	80	92	88
	Venus	82	90	85	92
	Genesis	90	81	97	93
	Sardi Five	86	83	94	91
	Sardi Seven	77	85	94	92
	Sardi Ten	94	90	94	92
	Sardi Graze	91	88	97	90
LSD		15	11	11	13

Mortalidad de plantas



Winter and total Dry Matter Biomass production

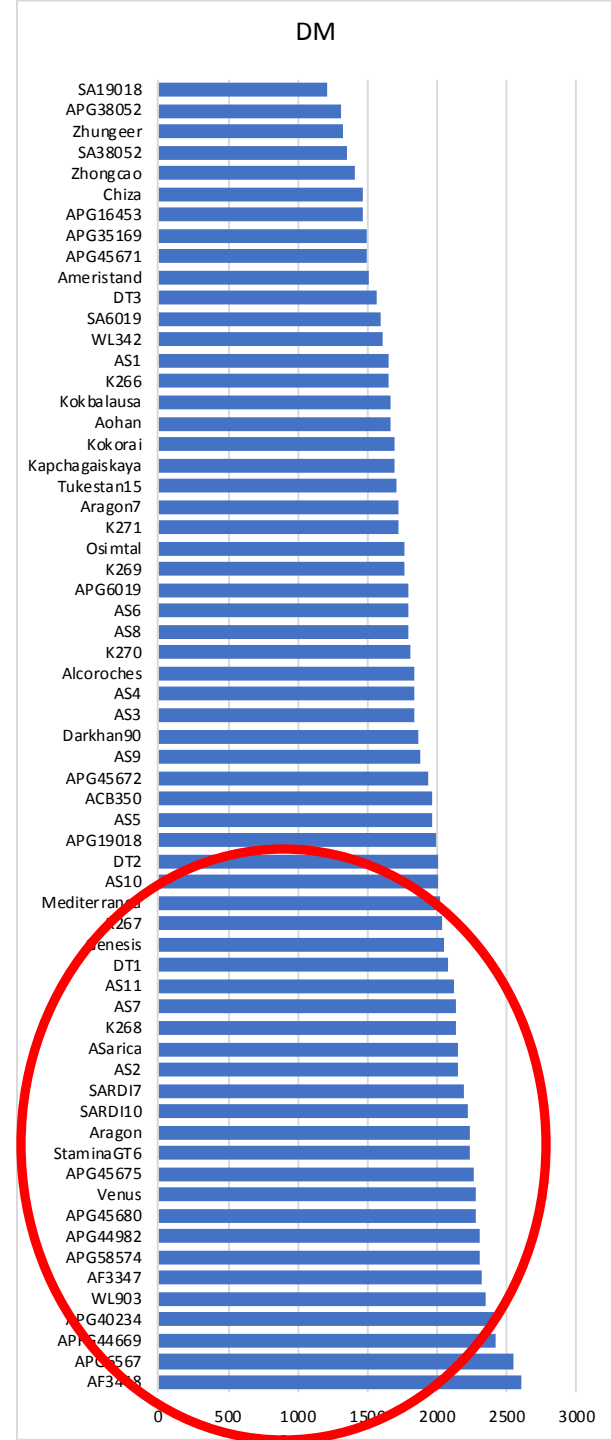




Ranking de la producción de Biomasa

Selection criteria

- M. sativa
- Top 25 pop
- 10 genotypes/pop
- Población GWAS/GS => 250 genotypes



Trabajo en proceso

- Genotipado utilizando GBS (grupo Rob Elshire) (<https://www.elshiregroup.co.nz>)
- Propagación de la población de GWAS





Extensión a pequeños agricultores y agricultores de subsistencia.

- Siembra demostrativa de alfalfa de secano en INIA Cauquenes
- Capacitación y entrega de 500 paquetes de semillas de alfalfa a pequeños agricultores



Siembras Demostrativas con los agricultores del Secano Mediterráneo del centro sur de Chile



Producción de biomasa aérea
(Mg MS ha⁻¹) promedio de 2 años

Región	Localidad	Rendimiento promedio (Mg MS ha ⁻¹)
Valparaíso	Santa María de Los Molles	4,36
Valparaíso	Chincolco	5,68
Maule	Pelluhue	7,2
Maule	Cauquenes	6,3
Maule	Chanco	8,5
Bio Bio	Los Guindos	7,3
Bio Bio	Huépil	8,6
Bio Bio	Tucapel	9



FICHA TÉCNICA
03
2017

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS INIA RAIHUÉN

Nueva alternativa para producción de forraje en períodos de escasez Alfalfa en condiciones de secano mediterráneo

Salvador Espinosa T., Verónica Rambrona L. / INIA Raihuén
salvador.espinosa@inia.cl

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es una leguminosa perenne de raíces pivotantes y profundas lo que le confiere la capacidad de extraer agua de las horribles subterráneas del suelo. Por ello puede ser una fuente de forraje alternativa para la producción animal en secano, capaz de desarrollarse fuera de la temporada de crecimiento de las praderas y cultivos forrajeros convencionales.

Desde 2012 se realizaron ensayos en diversos sitios en condiciones de secano (Cuadro 1) que presentaron alta sobrevivencia de las plantas (85%) y altas niveles de producción de materia seca (MS) como forraje, con promedio de 9.011 kg MS/ha superior a lo que es posible lograr con leguminosas anuales como tréboles subterráneos y huajiputa que alcanzan un promedio de 4.200 kg MS/ha en la misma condición.

Cuadro 1. Producción de biomasa aérea (kg MS/ha) y sobrevivencia (%) en cuatro sitios entre los años de crecimiento 2012/13.

Variedad	Producción (kg MS/ha)	Sobvivencia (%)
Anasac	9.011	85
W. 903	8.500	80
Baldrich 350	7.500	75
W. 903	6.500	70



Foto 1. Alfalfa en condiciones de secano (Cauquenes) pastoreadas por ovinos.

Condiciones climáticas

En cuanto a precipitaciones, zonas con lluvias inferiores a 500 mm anuales no son aptas para siembras de alfalfa en secano.

Respecto a temperaturas, los ensayos realizados en los secanos interior y costero de las regiones de O'Higgins y Biobío no mostraron limitantes climáticas para establecimientos de otoño. La semilla germina a 2 a 3 °C. Sin embargo, a medida que la temperatura aumenta, la germinación es más rápida hasta alcanzar el óptimo que oscila entre los 28 y 30 °C.

Lo importante es sembrar temprano en otoño para lograr una rápida germinación de las semillas, de manera que las plantas alcancen un adecuado grado de enraizamiento antes del período de heladas.

En precordillera la situación es diferente, pues las siembras tardías de otoño provocan el descalce de las plantas y la pérdida de las siembras.

Condiciones de suelo

La alfalfa puede cultivarse en todos los tipos de suelos existentes en el secano (graníticos, metamórficos, lavas marinas y truenas). Siempre se debe realizar un Análisis de Suelos antes de la siembra.

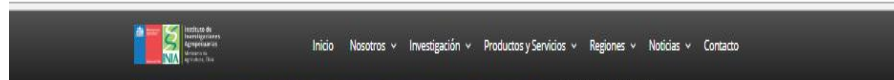
INIA más de 50 años
aportando al sector agroalimentario nacional

Información:
INIA Instituto Costero Experimental Cauquenes / Km 4 camino Cauquenes - Peralí, Región del Biobío, Chile.
Fono: 506 43.230-67 43
www.inia.cl



DIFUSIÓN ALFALFAS DE SECANO

/2018/03/19/alfalfa-la-reina-de-las-forrajeras-en-la-provincia-de-petorca/



Inicio Nosotros Investigación Productos y Servicios Regiones Noticias Contacto



19 Mar 2018 INIA La Cruz, La Cruz, Noticias

Alfalfa: la reina de las forrajeras en la Provincia de Petorca

Día de campo presentó dos variedades de alfalfa en la unidad de validación de Chincalco en Petorca con información acerca de su comportamiento en una zona agroclimática particular como es el valle de Petorca.



En la unidad de validación ubicada en Chincalco el área de transferencia del INIA La Cruz estableció dos variedades de alfalfa: una sin dormancia, W. 903 de Anasac y una Baldrich 350, con dormancia invernal.

Esta unidad es una de las actividades que ejecuta el INIA La Cruz a través del proyecto Transferencia Tecnológica bajo esquema de trabajo territorial que se lleva a cabo en la Provincia de Petorca, Región de Valparaíso.

Los objetivos de esta unidad de validación es observar cómo se comportan estas variedades bajo las condiciones de frío invernal en el ambiente de Chincalco.



Se dispuso de un potrero de 2.000 m2 (1000 m2 de cada variedad), sembrado el 31 agosto de 2017 y con riego por riego.

El ingeniero agrónomo Dr. en Ecología, Carlos Ovalle estima que

en Chile existen 60.000 ha de alfalfa, concentrándose el 70% de la

NOTICIAS RECIENTES

-  Día de campo día a conocer estrategias para disminuir el consumo de agua en patio
13 Abr 2018
-  En INIA Cautín analizan resultados última temporada de arándanos
13 Abr 2018
-  Productores ovinos de Los Ríos mejoran productividad con apoyo de INIA Remehue
12 Abr 2018

COMENTARIOS RECIENTES

-  INIA entrega alternativas forrajeras para escenarios de cambio climático en INIA entrega alternativas forrajeras para escenarios de cambio climático
-  CAPACITAN A PRODUCTORES EN UTILIZACIÓN DE PLATAFORMA DE ALERTA DE PRESENCIA DE LOBESIA BOTRANA en Capacitan a productores en utilización de plataforma de alerta de presencia de Lobesia botrana
-  INIA Butalcura introducirá cultivo de baby hortícolas y mini papas nativas en Chile en INIA Butalcura introducirá cultivo de baby hortícolas y mini papas nativas en Chile

estrategias-para-disminuir-el-consumo-de...



Equipo de trabajo

- INIA
 - Carlos Ovalle
 - Soledad Espinoza
 - Luis Inostroza
 - Teresita Arvena
- Universidad de Talca
 - Alejandro del Pozo
- Universidad de Concepción
 - Macarena Gerding
- SARDI Australia
 - Alan Humphries

Gracias por su atención