

DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA PARA FENOTIPADO POR ESTRÉS HÍDRICO

M. Murgio*, V. Davidenco, F. Salvagiotti, C.R.C. Vega
INTA Manfredi - Ruta N°9, km 636 –Manfredi (5988) – Pcia. de Córdoba Argentina - T.E.
(3572) 493 061– Email: murgio.marcos@inta.gov.ar

Palabras clave: escenarios hídricos, fenomica, dinámica de consumo hídrico

INTRODUCCION

La deficiencia de agua es el principal factor que limita el rendimiento de los cultivos (Steduto et al., 2012). En Argentina, por ejemplo, durante la campaña 2017-18 se registraron pérdidas extremas de rendimiento por sequía, que alcanzaron los 18 millones de tn en el cultivo de soja (B.C.B.A., 2018). Se espera además que la frecuencia de estreses asociados con limitantes hídricas incrementen debido al fenómeno del cambio climático (Vadez et al., 2011), lo cual exige esfuerzos en el desarrollo de estrategias de adaptación de los cultivos.

Los estudios de estrés hídrico orientados a identificar genotipos sobresalientes presentan un alto grado de complejidad, en particular por el número de materiales que es necesario evaluar. En el caso de experimentos en condiciones de campo, las dificultades están asociadas con el control y el manejo del agua en el suelo (Manavalan et al., 2009). Mientras que estudios en condiciones controladas (por ej. en macetas e invernáculo) limitan el escalado de las respuestas a nivel de cultivo (Sinclair et al., 2017). Aproximaciones y dispositivos intermedios entre las dos escalas (planta vs. cultivo) son escasos o inexistentes.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y evaluar un prototipo de plataforma de fenotipado para estudios de respuesta a estrés hídrico que permita no solo el control preciso de la duración e intensidad del estrés hídrico en suelo sino evaluar plantas bajo competencia intraespecífica y la dinámica del consumo del agua en suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrolló un novel prototipo de plataforma para estudios de fenotipado consistente en 62 lisímetros de gran capacidad (180 l.) cuya forma simuló un prisma triangular (150 cm de altura, 50 cm de largo, 12 cm de ancho en la parte superior y 30 cm en la base). Los mismos fueron dispuestos espacialmente de a pares, alineados por el eje horizontal mayor. La distancia entre dos hileras de lisímetros fue de 60 cm que tuvo como objetivo imitar el marco de plantación de cultivos a campo (Figura 1a y b). Para limitar las ramificaciones de plantas por fuera de la plataforma, que puedan generar variaciones en el área ocupada por cada unidad experimental, se extendió la pared lateral de cada lisímetro (Figura 1b).

El sustrato en los lisímetros fue una mezcla de suelo de horizonte A de la serie Marcos Juárez y arena Paraná (2:1v/v). Las constantes hídricas del sustrato se determinaron siguiendo protocolos de referencia (ISO/FDIS 11274 1998); Prieto 2011). Para evaluar la evolución del agua útil en el suelo (AU%), se utilizó el método gravimétrico basado en pesadas continuas de los lisímetros cada cinco días. Las pesadas se realizaron mediante una balanza del tipo pilón adosada a un aparejo montando sobre un puente grúa que se desplaza a lo largo de la plataforma (Figura 1c,d,e). La demanda hídrica (D) del cultivo se cubrió mediante riego cada dos días y el consumo del cultivo (C) se estimó como:

$$C \text{ (mm día}^{-1}\text{)} = [(R_x + P_x - P_{x-1})/S] / T,$$

donde R: Cantidad de agua aportada mediante riego entre mediciones; P_x: peso de lisímetro actual; P_{x-1}: peso de lisímetro medición anterior; S superficie ocupada por cada lisímetro (0.36m²); T: días entre mediciones.

El consumo acumulado (CA) se calculó como

$$CA = \sum_{x=1}^n (R_x + P_x - P_{x-1}) / S.$$

Para estimar el porcentaje de humedad del sustrato (HS) en cada lisímetro, se estimó el peso húmedo (PH) y peso seco (PS) del sustrato por gravimetría, y se empleó la siguiente fórmula:

$$HS \text{ (\%)} = ((PH-PS) / PS) \times 100;$$

siendo el PS = (PH-Tara lisímetro) x (% PS) / 100

Para evaluar la capacidad de evaluación de la plataforma, se realizó un experimento utilizando a la soja (*Glycine max* (L.) Merrill) como cultivo modelo. Dos genotipos de soja (G), TJ2049 y NA5009, fueron sembrados el 5 de enero de 2015 en la EEA Marcos Juárez a una densidad de 28 pl.m⁻² (10 pl.lisímetro⁻¹). Los tratamientos consistieron en tres escenarios hídricos (EH) durante la etapa crítica de fijación de vainas (entre R3 y R5+15d, Fehr y Caviness 1971): i) Control (EH₀) sin limitante hídrica (AU% > 70% constante durante todo el período); ii) AU% al inicio del período \cong 80%, con reposición hídrica parcial (EH₁), y iii) AU% al inicio del período \cong 50%, con reposición hídrica parcial (EH₂). En los tratamientos EH₁ y EH₂, la reposición hídrica parcial consistió en la aplicación de riego cada dos días equivalente al 30% del agua consumida en EH₀. A partir del estadio R5+10d, la humedad del sustrato en EH₁ y EH₂ se llevó y mantuvo en 80% de AU hasta la madurez fisiológica. Para evitar posibles restricciones de consumo en el control (EH₀), el contenido de humedad se mantuvo entre 70-85% del AU% y la cantidad necesaria se calculó a partir de la estimación previa de consumo.

La unidad experimental fue el lisímetro; y el diseño de parcela dividida (nivel hídrico fue la parcela principal; genotipo la sub-parcela) con cuatro repeticiones. Durante R3-R5+15días, se determinaron la evolución del HS, CA, C y el número de vainas. Los datos se analizaron mediante medidas repetidas en el tiempo empleando modelos lineales generales y mixtos utilizando el programa INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2018).



Figura 1. Prototipo de plataforma de fenotipado para estudios de estrés hídrico (a); Canopeo generado por las plantas en la plataforma (b); Estructura para el pesado de macetas (c); Puente grúa con aparejo levantando (d); Lisímetro levantado (e).

RESULTADOS

Desde el comienzo de la restricción hídrica los cultivares desecaron el suelo a tasas similares (interacción EH x G no significativa), sin embargo la desecación inicial del sustrato varió entre escenarios hídricos (Figura 2a). Asimismo, el CA total fue diferente entre EH (Figura 2b), pero no entre G (Tabla 1). A medida que el sustrato se fue desecando, la C disminuyó (pendiente de los tratamientos EH₁ y EH₂ de la Figura 2b), y la HS de los tratamientos bajo restricción hídrica alcanzó el límite inferior de agua útil hacia el final del período estrés (11.5% de HS).

En la primera semana de la restricción hídrica, CA fue similar entre tratamientos (Figura 2b). A partir de la segunda semana se diferenciaron los niveles hídricos entre sí, (EH₀ 7.8 mm día⁻¹; EH₁, 4.9 mm día⁻¹; y EH₂, 3.9mm día⁻¹). A partir de los 14 días después de R3, la C de los tratamientos bajo restricción hídrica fue similar, siendo el mismo limitado casi exclusivamente al aporte de agua por riego (30% de EH₀)(Figura 2b). A pesar de no haberse detectado efecto

significativo del genotipo, cambios en tasa o consumo acumulado generaron diferencias en la producción acumulada de vainas al final del periodo de estrés (Tabla 1).

Tabla 1- Niveles de significancia (p-valor) para el consumo hídrico acumulado y diario durante el periodo de estrés (panel izquierdo), y número de vainas fijadas finales (NV) en dos genotipos de soja sometidos a distintos escenarios hídricos ($\alpha=0.05$) (panel derecho).

Factores	Consumo acumulado	Tasa de consumo	Escenario hídrico	Genotipo	°N de Vainas . Cont ¹
Nivel hídrico	<0,0001	<0,0001	EH ₀	NA5009	320.7 a
Genotipo	NS	NS	EH ₀	TJ2049	311.0 a
Días a R3	<0,0001	<0,0001	EH ₁	TJ2049	194.2 b
Nivel hídrico x Genotipo	NS	NS	EH ₁	NA5009	194.2 b
Nivel hídrico x días a R3	<0,0001	<0,0001	EH ₂	NA5009	185.1 b
Genotipo x días a R3	NS	NS	EH ₂	TJ2049	153.9 c
Nivel hídrico x Genotipo x días a R3	NS	NS	Escenario hídrico x Genotipo		0.043

Estudios de estrés hídrico en soja han utilizado aproximaciones a campo (uso de rain-outshelters para impedir el ingreso de agua; Andriani et al., 1991), mediciones en condiciones controladas (lisímetros en fenotipado de alto caudal; Prieto, 2011) o una combinación de ambas metodologías (Sinclair, 2000). En ensayos a campo es difícil controlar el nivel e intensidad del estrés, especialmente en ambientes con alta frecuencia de precipitaciones durante el ciclo del cultivo. Asimismo, la variabilidad natural de los suelos hace dificultoso el estudio de muchos materiales y compromete la potencia para detectar genotipos diferentes (Manavalan et al., 2009). En otro extremo, el uso de macetas permite controlar bien el contenido hídrico posibilitando el manejo del momento, duración e intensidad del estrés, particularmente en estadios de desarrollo temprano (Aguirrezábal et al., 2011; Pereyra Irujo et al., 2012). Sin embargo, dicho sistema no permite el escalado a nivel de cultivo, donde tanto la competencia intraespecífica como la habilidad genotípica de la exploración radical modulan el volumen de suelo explorado y el consumo hídrico total (Ray and Sinclair, 1998; Sinclair et al., 2017). En el prototipo propuesto, se pudo regular la tasa de desecamiento del sustrato a distintas profundidades y además se realizaron evaluaciones durante todo el periodo de crecimiento del mismo. Este factor es importante dado el efecto que tiene la humedad en el perfil de suelo sobre las raíces, la cual influye sobre la generación de mensajeros (ABA y Citoquininas) que controlan el crecimiento de la planta (Davies and Zhang, 1991). Aunque en la primera etapa de evaluación del prototipo, no se encontraron diferencias significativas del CA total entre genotipos en respuesta a escenarios de déficit hídrico, es esperable que un mayor número de materiales permita discriminar distintas estrategias de consumo, como fuera reportado por otros autores (Prieto, 2011).

La geometría de cada lisímetro, con su menor volumen orientado hacia arriba, tuvo como objetivos i) reducir su peso y bajar el centro de gravedad disminuyendo el riesgo de vuelco, ii) minimizar la entrada de agua de lluvia a un 20% del total (y poder estimar su aporte mediante pesadas), y iii) simular reservas de agua en profundidad. Además, dada su distribución espacial, se logró generar un canopeo similar al cultivo de campo, afectándose mínimamente la plasticidad fenotípica de la soja. Por otra parte, que las variaciones en la biomasa de los cultivos sean poco significativas en relación al tamaño y peso de los lisímetros, aspecto que simplifica potenciales correcciones de ajuste de los pesos límites de cada lisímetro.

A diferencia de estudios en lisímetros pequeños o macetas, la plataforma permite que los tratamientos bajo restricción hídrica desequen el sustrato de manera progresiva. Esta característica permite generar diferentes escenarios hídricos, simular el gradual consumo de los cultivos y evaluar potenciales diferencias de reserva hídricas al inicio del periodo de restricción hídrica, especialmente en profundidad. La evaluación de escenarios tuvo la potencia suficiente para detectar diferencias de consumo y productividad. Entre los aspectos aún necesarios de ajustar se encuentran los relacionados con el diseño de la plataforma que impactaron sobre la evapotranspiración total, que fue aproximadamente 40% superior a la evapotranspiración de referencia en el tratamiento control. Aunque no demostrado, dicho

mayor consumo podría estar asociado con la superficie verde lateral de los cultivos y/o a la libre circulación de aire debajo de los canopeos que pudo impactar sobre la demanda ambiental.

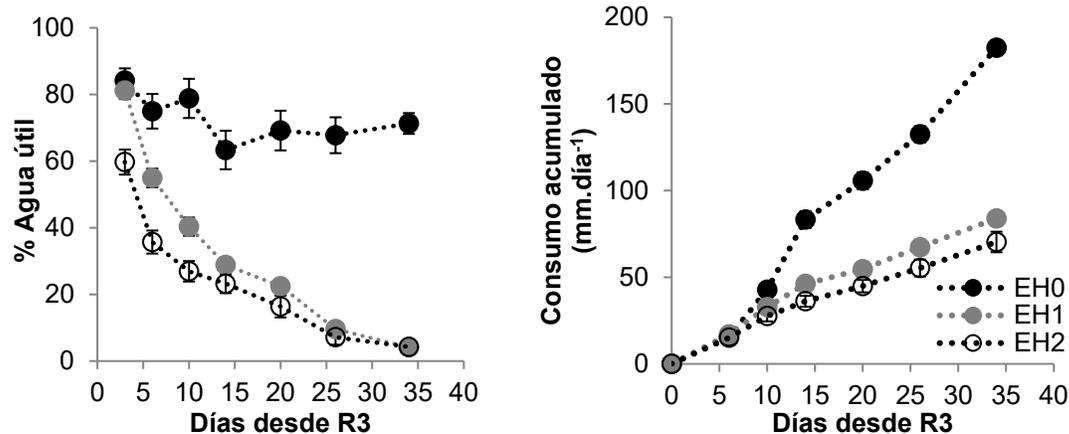


Figura 2. Proporción de agua útil disponible (A) y consumo acumulado (B) durante el periodo de restricción hídrica. EH₀: Control sin limitante hídrica (AU% > 70%); EH₁: AU% al inicio del período \cong 80% con reposición hídrica parcial, y EH₂: AU% al inicio del período \cong 50%, con reposición hídrica parcial. En EH₁ y EH₂, la reposición hídrica parcial consistió en la aplicación de riego (\cong 30% de EH₀). Las barras verticales indican Error Estándar.

CONCLUSIÓN

Las primeras pruebas con soja demostraron el potencial del dispositivo para evaluar la respuesta de cultivos a distintos escenarios de estrés hídrico. Son particularmente valorables los aspectos relacionados con: i) la posibilidad de exponer a los cultivos a condiciones de radiación solar, temperatura y demanda ambiental natural; y ii) la practicidad del sistema (medición de peso rápida; menos de un minuto por lisímetro) con menor frecuencia de pesado respecto a lisímetros de planta individual (cada 3-4 días vs 1 día).

BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRREZÁBAL, L., BORSANI, O., WESTERGAARD, G., 2011. Búsqueda de genes de tolerancia a sequía en soja a través del uso de un robot y de marcadores moleculares. MERCOSOJA 2011.
- ANDRIANI, J., ANDRADE, F., SUERO, E., DARDANELLI, J., 1991. Water deficits during reproductive growth of soybeans, I. Their effects on dry matter accumulation, seed yield and its components. *Agronomie* 11, 737-746.
- BERGER, J., PALTA, J., VADEZ, V., 2016. Review: an integrated framework for crop adaptation to dry environments: responses to transient and terminal drought. *Plant Sci.* 253, 58–67
- Bolsa de Cereales. 2018. Informe Cierre de Campaña N° 1 - Soja 2017/18. <http://www.bolsadecereales.com/download-documento1-53/informes-descargar> (Verificado noviembre de 2018).
- DAVIES, W.J, ZHANG, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual review of plant biology* 42 (1):55-76
- DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- EGLI, D.B., BRUENING, W.P., 2006. Fruit development and reproductive survival in soybean: Position and age effects. *Field Crops Research* 98, 195-202.
- MANAVALAN, L.P., GUTTIKONDA, S.K., PHAN TRAN, L.S., NGUYEN, H.T., 2009. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant and Cell Physiology* 50, 1260-1276.
- PEREYRA IRUJO, G., GASCO, E.D., PEIRONE, L., AGUIRREZÁBAL, L. 2012. Glyph: A low-cost platform for phenotyping plant growth and water use. *Functional Plant Biology*. 39. 905.
- PRIETO, S.A., 2011. Eficiencia transpiratoria como atributo de tolerancia al déficit hídrico en soja (*Glycine max* (L.) Merril): variabilidad intraespecífica y su asociación con la estabilidad del rendimiento. EPG-FAUBA.
- RAY, J.D., SINCLAIR, T.R., 1998. The effect of pot size on growth and transpiration of maize and soybean during water deficit stress. *Journal of Experimental Botany* 49, 1381-1386.
- SINCLAIR, T.R., MANANDHAR, A., SHEKOOFA, A., ROSAS-ANDERSON, P., BAGHERZADI, L., SCHOPPACH, R., SADOK, W., RUFFY, T.W. 2017. Pot binding as a variable confounding plant phenotype: theoretical derivation and experimental observations. *Planta*. 245:729-735.