

Jessica Basualdo
Marina Díaz
Viviana Echenique
Alicia Carrera

Jessica Basualdo es licenciada en Ciencias Biológicas y becaria de CERZOS-UNS; Marina Díaz y Alicia Carrera son doctoras en Biología y se desempeñan en la UNS, y Viviana Echenique es doctora en Biología de la UNS e Investigadora Principal del CERZOS-CONICET.
Contacto: jbasualdo@criba.edu.ar

Control de la floración y tolerancia al frío

Vernalización en cereales

La disminución de la tolerancia al frío en etapa reproductiva está relacionada con la expresión del gen de vernalización *VRN-1*, indicando una conexión entre los procesos de aclimatación al frío y floración.

Varias especies vegetales tienen la habilidad de incrementar su grado de tolerancia a heladas cuando son expuestas previamente a bajas temperaturas (superiores a 0° C), fenómeno conocido como aclimatación al frío. La habilidad para aclimatarse al frío es un rasgo poligénico cuya expresión está inducida principalmente por bajas temperaturas.

La expresión de estos genes conduce a varios cambios fisiológicos y moleculares característicos del proceso de aclimatación (Figura 1), y el efecto combinado de los genes se manifiesta en el nivel de tolerancia adquirido.

La tolerancia se encuentra asociada a dos rasgos adaptativos: requerimiento de vernalización y respuesta a fotoperíodo. El fotoperíodo corto y las bajas temperaturas evitan el progreso de la fase reproductiva, y mantiene en niveles altos la expresión de los genes de respuesta al frío (Fowler *et al.*, 2001).

A medida que los días se alargan y la planta acumula suficientes horas de frío (vernaliza), se induce la floración. La expresión de genes relacionados con la aclimatación al frío sólo ocurre en estado vegetativo; en fase reproductiva las plantas tienen sólo una limitada habilidad para aclimatarse. Esto indica que los componentes re-

gulatorios de la tolerancia al frío están ligados a un cambio en el desarrollo entre los estados vegetativo y reproductivo (Dhillon *et al.*, 2010).

Los meristemas reproductivos son más sensibles al daño por helada en comparación con los vegetativos; por lo tanto, pequeñas diferencias en los estados de desarrollo pueden afectar a la sobrevivencia de la planta expuesta a temperaturas de congelamiento. Como consecuencia de esta relación, las diferencias alélicas en los genes que regulan la iniciación de la fase reproductiva por fotoperíodo (genes *PDD*) o vernalización (genes *VRN*) tienen un gran efecto en el grado de tolerancia.



Figura 1. Cambios inducidos por la aclimatación al frío (adaptado de Xin y Browse, 2000)

El papel del locus FR (Frost Resistente)

La fuente principal de diferencias en el requerimiento de vernalización tanto en trigos diploides como poliploides son las diferencias alélicas encontradas en el locus *VRN-1*, mapeado sobre el grupo 5 de cromosomas homólogos. En esta misma región fue identificado un QTL (loci para rasgo cuantitativo) para tolerancia a heladas en cebada y trigo llamado *FR-2*.

El locus *FR-2* se encuentra próximo a *VRN-1* (30 centimorgans) e incluye un grupo de 11 (o más) genes *CBF* (Figura 2). Los genes *CBF* (*C-repeat binding factor*) codifican para factores de transcripción que se unen a una secuencia conservada en los promotores de muchos genes que responden a la deshidratación, incluyendo a aquéllos que intervienen en la respuesta temprana al frío.

El grupo de *CBF FR-2* ha sido detectado en varias poblaciones de mapeo de trigo y cebada y representa un QTL mayor, que explica

gran parte de la variación en la tolerancia al frío.

Los genes regulados por frío *COR/LEA* (*Cold regulated/Late Embryogenesis Abundant*) se acumulan durante la aclimatación y se encuentran regulados por los factores de transcripción *CBF*. Los genes *COR14b* y *WCS120* se han caracterizado en trigo y cebada y presentan expresión diferencial en plantas sensibles y tolerantes a heladas tanto en condiciones de laboratorio como a campo. El gen *COR14b* codifica una proteína que se acumula en el estroma de los cloroplastos en presencia de luz. Su transcripción es inducida por bajas temperaturas y ayuda a proteger el aparato fotosintético del fotodaño durante la exposición a la luz luego de la helada. *WCS120* (=DHN5) pertenece al grupo de proteínas dehidrinas, que intervienen en la tolerancia a bajas temperaturas uniéndose a las membranas celulares y atenuando así los daños estructurales. Se ha demostrado que durante la aclimatación al frío, la acumulación de la proteína *WCS120* muestra una

correlación positiva con la tolerancia a heladas.

Mediante técnicas de mapeo de QTL se observó que existen dos loci principales que afectan la expresión de *COR*, los que son coincidentes con *VRN-1* y *FR-2* (Dhillon *et al.*, 2010).

Interacción entre la tolerancia al frío y la vernalización

Limin y Fowler (2006) sugirieron que el principal gen de vernalización, *VRN-1*, juega un importante papel en la disminución de la aclimatación al frío durante el desarrollo. Variabilidad en los requerimientos de vernalización es suficiente para determinar diferencias significativas en la tolerancia al congelamiento (Figura 3) y se ha visto que la acumulación de proteínas *COR* en respuesta al frío tiene correlación negativa con la abundancia de transcritos *VRN-1*.

Los cereales han desarrollado la capacidad de utilizar la expresión de *VRN-1* en las hojas como se-

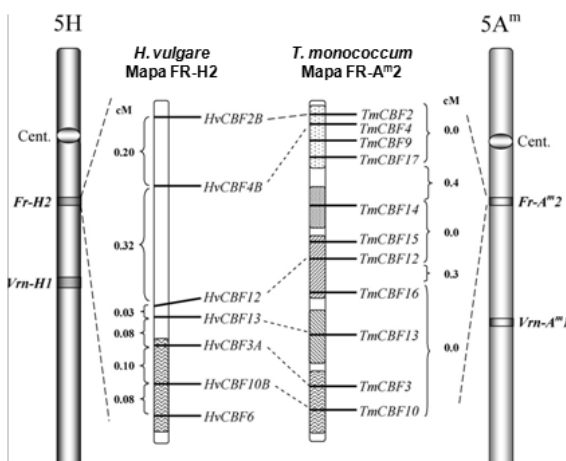


Figura 2. Comparación del mapa físico y genético del locus FR2 en cebada y en trigo diploide. Se muestran las posiciones relativas de los genes FR-2 y VRN-1 sobre el cromosoma 5H de cebada y 5A de trigo. La región FR-2 está magnificada indicando los genes CBF detectados. La distancia genética está en centimorgan. (adaptado de Gabila *et al.*, 2009).

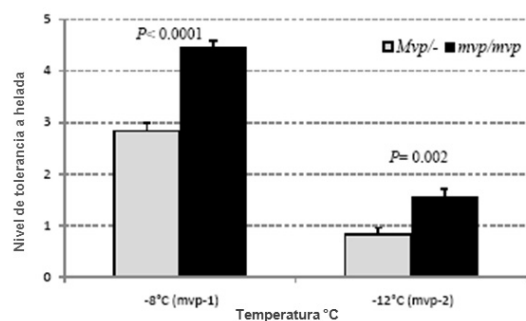


Figura 3. Comparación de tolerancia a heladas entre genotipos con el gen *VRN-1* y sin él. Se observa el nivel de tolerancia a heladas promedio usando una escala de 0= plantas muertas a 5= plantas sin daño. *mvp-1/mvp-1* mutantes homocigotos sin el gen *VRN-1* (barras negras) y *Mvp-1/-* genotipos llevando al menos una copia del alelo funcional *VRN-1* (barra gris). Los valores de *p* corresponden a comparación de ANOVA (Dhillon *et al.*, 2010).

ñal para regular negativamente los genes de tolerancia al frío. Esto no necesariamente implica una interacción directa entre genes *VRN-1* y los genes *CBF* o *COR*. Varios genes son regulados positiva o negativamente después de la expresión de *VRN-1* y éstos podrían actuar como intermediarios (Galiba *et al.*, 2009).

De esta manera, los cereales templados tendrían la capacidad de diferenciar las temperaturas frescas en otoño y en primavera. Las temperaturas frescas de otoño, cuando las plantas poseen bajos niveles de transcritos *VRN-1*, provocan la inducción de genes *CBF* y *COR* iniciando la aclimatación de las plantas a bajas temperaturas. Esto es esencial porque en esta estación el frío es un indicador de que se aproximan temperaturas más bajas en invierno. Las mismas temperaturas en primavera, cuando los niveles de *VRN-1* en las hojas se incrementan, provocarían la disminución de la expresión de varios genes *CBF* y *COR* (Figura 4). Dado que las temperaturas frescas de primavera no son generalmente seguidas de bajas temperaturas de congelamiento, una fuerte inducción de las vías de respuesta de *CBF* en primavera no sería ventajosa para la sobrevivencia de la planta. La activación de los *CBF* tiene un costo energético alto, ya que numerosos genes *COR* son inducidos por estos factores de transcripción en las hojas. Además, se ha demostrado que

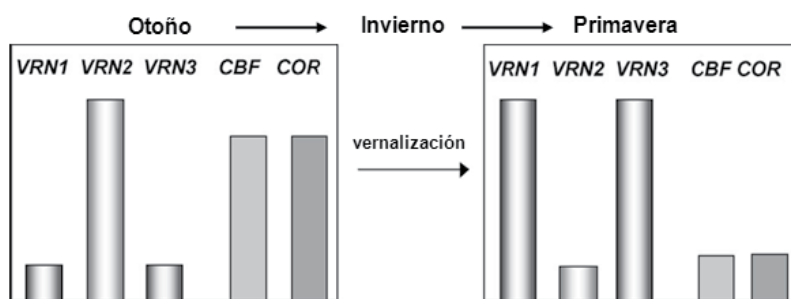


Figura 4. Cambios en los niveles de transcripción de genes de vernalización, *CBF* y *COR* durante otoño y primavera en trigo (adaptado de Galiba *et al.*, 2009)

los genes *CBF* reprimen el crecimiento de la planta. Por lo tanto, la baja expresión de genes *CBF* durante la primavera tiene un significado adaptativo, asegurando un rápido desarrollo de la planta bajo condiciones óptimas.

Por otro lado, se han identificado genes de los complejos *CBF* y *COR* que no son modificados por cambios en los niveles de transcritos de *VRN-1*. Esto sugiere la existencia de genes de respuesta a frío no relacionados con la respuesta a vernalización.

Caracterización de trigos tetraploides zonales en relación a su tolerancia al frío

En aquellas zonas de producción de trigo en las cuales se registran heladas tardías que afectan el rendimiento, resulta de suma importancia la identificación y caracterización de materiales más tolerantes a bajas temperaturas y que presenten diferencias en la

longitud del ciclo. Con este objetivo, se han evaluado genotipos de trigo candeal de los programas de mejoramiento de ACA Cabildo y Estación Experimental Barrow en ensayos de campo y en condiciones controladas, determinándose el daño provocado por heladas en estado vegetativo y reproductivo. Algunos genotipos resultan promisorios, ya que mostraron bajo daño en etapa reproductiva y un ciclo adecuado al sistema de producción en nuestra zona (Basualdo *et al.*, 2010).

Perspectivas

Si bien la caracterización molecular realizada hasta el momento muestra alta uniformidad entre los materiales considerados, en relación con el gen *VRN-1*, la variabilidad observada en la tolerancia a frío plantea la necesidad de ampliar el estudio a otros genes que podrían estar o no relacionados con la respuesta a vernalización.

Referencias

Basualdo J., M. Díaz, L. Appendino, S. Cardone, G. Pérez Camargo, R. Miranda, V. Echenique y A. Carreira. 2010. Characterization of durum wheat genotypes for vernalization requirement and cold tolerance. ALAG 2010. Viña del Mar, Chile.

Dhillon T., S. P. Pearce, E. J. Stockinger, A. Distelfeld, Ch. Li, A. K. Knox, I. Vashegyi, A. Vágújfalvi, G. Galiba y J. Dubcovsky. 2010. Regulation of freezing tolerance and flowering in

temperate cereals: the *VRN-1* connection. *Plant Physiol.* 153: 1846-1858.

Galiba G., A. Vágújfalvi, Ch. Li, A. Soltész y J. Dubcovsky. 2009. Regulatory genes involved in the determination of frost tolerance in temperate cereals. *Plant Science* 176: 12-19.

Levitt J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses: chilling, freezing and high temperate stresses*. 2nd ed. Academic Press, New York.

Limin A.E. y D. B. Fowler. 2006. Low-temperature tolerance and genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): response to photoperiod, vernalization, and plant development. *Planta* 224: 360-366.

Xin Z. y J. Browse. 2000. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant Cell Environ.* 23: 893-902.