

PEA (*Pisum sativum* L.) BREEDING: ADVANCES OF THE BREEDING PROGRAM AT UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO



MEJORAMIENTO DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.): AVANCES DEL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Gatti I.¹, Cazzola F.², Bermejo C.J.², Guindón M.F.², Espósito M.A.^{2,3}, Cointry E.L.²

ABSTRACT

A pea breeding program to increase production in quantity and quality was started in 2005 in the College of Agrarian Sciences (FCA), National University of Rosario (UNR). The first steps were to gather an active collection of germplasm from around the world and to analyze genetic variability through morpho-agronomic and molecular traits in order to set objectives. In 2014, the National Institute of Agropecuarian Technology (INTA) and the FCA-UNR, joined forces to unite inter-institutional efforts for promoting the local development of pea genotypes adapted to the region. This program, using conventional methodologies, has so far obtained a new commercial line (Primogénita FCA-INTA) of green cotyledons, semi-leafless, with high adaptation to local agro ecological conditions and high yield potential. Breeding, nevertheless, is a slow process. Developing new pea varieties usually takes a decade or more when using traditional methodologies; thus, different alternatives were proposed for the reduction of this period. Doubled haploids and *in vitro* culture have been some of the methodologies developed; in pulses, however, they have not been efficiently implemented in breeding programs. In this context, *Speed Breeding* emerges as a technology that allows increasing the efficiency of the programs, while reducing costs and the required labor.

Key words: peas, conventional methodologies, *Speed Breeding*, doubled haploids.

RESUMEN

En 2005 se inició un programa de mejoramiento de arveja para aumentar la producción en cantidad y calidad en la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Rosario (UNR). Los primeros pasos fueron reunir una colección activa de germoplasma de todo el mundo y analizar la variabilidad genética a través de rasgos morfo-agronómicos y moleculares. En 2014, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y la FCA-UNR unieron esfuerzos para promover el desarrollo local de genotipos de arveja adaptados a la región. Este programa, utilizando metodologías convencionales, ha obtenido hasta el momento una nueva variedad comercial (Primogénita FCA-INTA) de color de cotiledón verde, semi-áfila, con alta adaptación a las condiciones agroecológicas locales y alto potencial de rendimiento. El mejoramiento genético, sin embargo, es un proceso lento. El desarrollo de nuevas variedades requiere una década o más utilizando metodologías tradicionales, por lo que se propusieron diferentes alternativas para la reducción de este período. Los haploides duplicados y el cultivo *in vitro* han sido algunas de las metodologías desarrolladas, sin embargo, en legumbres no se han podido implementar de manera eficiente en los programas de mejoramiento. En este contexto, *Speed Breeding* surge como una tecnología que permite incrementar la eficiencia de los programas, reduciendo los costos y el trabajo requerido.

Palabras clave: arveja, metodologías convencionales, *Speed Breeding*, haploides duplicados.

¹CIUNR, Consejo de Investigadores de la Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina;

²Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IICAR-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR), Zavalla, Argentina;

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Oliveros, Ruta Nacional 11 km 353, Oliveros, Santa Fe.

Corresponding author:
Cointry, E.L.
ecointry@unr.edu.ar

 ORCID 0000-0001-5906-7291

Cite this article as:

Gatti I., Cazzola F., Bermejo C.J., Guindón M.F., Espósito M.A., Cointry E.L. 2021. MEJORAMIENTO DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.): AVANCES DEL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO. BAG. Journal of Basic and Applied Genetics Vol XXXII Issue 2: 15–23.

Received: 10/09/2020

Accepted: 10/24/2020

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2021.32.02.02

ISSN online version: 1852-6322

INTRODUCCIÓN

Sistemática y origen geográfico

La arveja (*Pisum sativum* L.) es una especie diploide $2n=14$, anual y autógama perteneciente a la familia de las leguminosas (subfamilia: *Faboideae*, tribu: *Fabeae*). Presenta una importante ventaja ecológica al contribuir al desarrollo de una agricultura de bajos insumos debido a la fijación de nitrógeno atmosférico, y minimiza la necesidad de insumos externos (Smýkal *et al.*, 2012; Guindon *et al.*, 2018). Esta leguminosa es considerada la fuente más económica de proteínas (23–33%) tanto para la nutrición humana como animal (Cousin *et al.*, 1985; Gupta *et al.*, 2015). A su vez es uno de los cultivos más antiguos domesticados en el mundo (Zohary y Hopf, 2000).

El género *Pisum* incluye especies silvestres como *P. fulvum* originarias del Medio Oriente (Smýkal *et al.*, 2017) y especies cultivadas como *P. abyssinicum* provenientes de Yemen y Etiopía, y que probablemente, fue domesticada independientemente de *P. sativum*, y un conjunto de formas silvestres (*P. sativum* subsp. *elatius*) y formas cultivadas que comprenden la especie *P. sativum* en un sentido amplio (Trněný *et al.*, 2018) que son nativas de la región mediterránea de Europa y del centro y noroeste de Asia (Smýkal *et al.*, 2017). Dos acervos genéticos fueron encontrados en este género. El acervo genético primario incluye *P. sativum* con sus diferentes subespecies, variedades botánicas y comerciales, mientras que el acervo genético secundario está compuesto por *P. fulvum* y *P. abyssinicum* (Coyne *et al.*, 2020). Nuestro equipo de trabajo adoptó el sistema taxonómico de *Pisum* esbozado por Maxted y Ambrose (2001) y Bogdanova *et al.* (2020). Según este sistema generalizado, el género abarca tres especies, a saber, *P. sativum* L., subsp. *sativum* (incluye var. *sativum* y var. *arvense*); subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. & Graebn (incluye var. *elatius*, var. *brevipedunculatum* y var. *pumilio*), *P. fulvum* Sibth. & Sm. y *P. abyssinicum* A. Br.

Importancia económica

Es la segunda leguminosa más cultivada a nivel mundial con una producción de 16.205×10^6 tn en 2017 (FAO, 2019). La demanda de arveja es alta y sostenida dado el alto consumo en países asiáticos como India, China y Bangladesh, que son los principales consumidores del mundo. A nivel mundial, el mayor exportador es Canadá, seguido de Rusia y Estados Unidos y, en menor escala, Francia y Australia. En América del Sur, el principal productor y exportador de arveja es Argentina (Janzen *et al.*, 2014) estando en el noveno puesto entre los exportadores mundiales (Calzada y Treboux, 2019).

Producción en Argentina

En la Argentina el cultivo en secano se realiza en forma

extensiva cuando el objetivo es cosechar grano seco y en forma intensiva para obtener granos o vainas para consumo en fresco. La arveja para grano seco se cultiva tradicionalmente en la zona norte de la provincia de Buenos Aires y sudeste de Santa Fe. Entre ambas provincias suman más del 90% de la superficie sembrada en el país (Prieto y Vita, 2010). En los últimos años se ha extendido la propuesta productiva a la zona oeste y centro de Buenos Aires y Santa Fe, sur de Córdoba y oeste de Entre Ríos (De Bernardi, 2016). Del total de arvejas producidas, el 88–90% se destina a grano seco, el 7–8% a grano verde fresco para enlatado y/o congelado y el resto para chaucha fresca (SAGPyA, 2010). El cultivo en nuestro país está siendo considerado cada vez más como una alternativa viable, tanto por su rentabilidad como por sus beneficios como antecesor de los cultivos de verano. Se han realizado estudios que demuestran que el cultivo de soja rinde un 25% más cuando el cultivo anterior fue la arveja, y en el caso del maíz los rendimientos aumentan entre 2.000 y 2.500 kg/ha (Prieto, 2018). La arveja como antecesora posee dos ventajas importantes: la primera, que consume menos agua que el trigo (el 60% de lo que utiliza el cereal) y deja el segundo metro del perfil de suelo con toda el agua disponible. La otra ventaja es que el balance de nitrógeno que queda luego del cultivo, en comparación con el trigo, es menos negativo (Prieto, 2018).

Calidad de la arveja

Son alimentos concentrados con un alto porcentaje de materia seca y proteína, carbohidratos solubles, bajo contenido en grasas, fibras que varían en torno al 8% y sustancias minerales (Grusak, 2002). El contenido de proteína en las semillas varía del 17% al 40%, en contraste con los cereales (7–13%) e igual al contenido de proteína que se encuentra en la carne (18–25%) (Pandey *et al.*, 2016). En comparación con los cereales, son ricas en lisina y pobres en aminoácidos azufrados como la metionina y la cisteína. También son ricas en vitamina C y hay un aumento en el contenido de riboflavina y niacina después de la germinación (Swaminathan, 1988).

En nutrición humana, son utilizadas en una amplia variedad de platos y se consumen como semillas secas enteras o molidas. Se extraen aislados de almidón y proteínas de alta calidad y se han evaluado las características estructurales y funcionales de las semillas enteras para mejorar la alimentación (Brummer *et al.*, 2015). Debido a que las semillas secas contienen pocos factores antinutricionales, también se utilizan como fuente de proteínas principalmente en dietas monogástricas (Dotas *et al.*, 2014), y trabajos recientes han demostrado el valor de la arveja como reemplazo de la soja en las raciones para cerdos, aves, pescado y rumiantes (Anthony, 2017). Asimismo, el heno de arveja se utiliza como forraje en la dieta de los rumiantes

(Bastida García *et al.*, 2011). Al mismo tiempo, tienen una fuerte presencia en el mercado de alimentos procesados, con una gran diversidad de productos. La arveja enlatada rehidratada es uno de los productos con mayor volumen de exportación del sector de las verduras enlatadas en Argentina (después de las preparaciones de tomate) y tiene una participación de mercado mundial cercana al 1%, abasteciendo principalmente a países vecinos. Además, se utilizan en sopas instantáneas, *snacks*, productos de cereales congelados, hamburguesas y empanadas, barritas energéticas, harinas ricas en proteínas y fibra (20% y 17% respectivamente) y almidones, fibras y aislados o concentrados de proteínas que se utilizan para agregar en productos cárnicos cocidos, frescos y embutidos. La posibilidad de alimentar ganado vacuno, lechero, porcino y aves de corral con granos de arveja permite diversificar la producción e incorporar la ganancia en origen especialmente en las pequeñas explotaciones.

Planes de Mejoramiento

Los esfuerzos de mejoramiento para desarrollar nuevos cultivares han dado lugar en gran medida a la división del germoplasma de arveja en diferentes grupos, diferenciados principalmente por el uso final y el tipo de mercado (Zong *et al.*, 2009; Burstin *et al.*, 2015). En resumen, según la morfología del grano y el momento de su cosecha, las arvejas se pueden clasificar en:

- *Dried peas* (lisas o *field pea*), son las arvejas recolectados en plena madurez, en parte para consumo humano, pero principalmente para alimentación animal.
- *Green peas* (arrugadas o *garden pea*), las vainas se cosechan en la etapa R4 (vaina llena) para consumo humano como hortalizas frescas y los granos inmaduros para consumo directo, enlatado o congelado.

Los objetivos de mejoramiento dependen del tipo de arveja a producir. Nuestro grupo de trabajo se ha enfocado principalmente en el mejoramiento de arvejas secas estando, sin embargo, iniciando un programa para *Green peas*.

Para el caso de las arvejas secas manejamos tanto germoplasma correspondiente a arvejas con color de cotiledón amarillo como verde siendo, este último, el de cultivo más común en nuestro país.

En este tipo de materiales se busca la obtención de variedades semi-áfiliadas, que por tener reemplazado los folíolos por zarcillos, permiten una mayor incidencia de la radiación solar en las plantas permitiendo que maduren correctamente las vainas inferiores. Por otro lado, los zarcillos de las diferentes plantas en el cultivo se unen evitando así el vuelco de las mismas en la madurez que puede ser provocado por el peso de las vainas. Por el contrario, las plantas foliosas tienden a ser más susceptibles a las enfermedades foliares, pero presentan un mayor rendimiento.

En nuestro país, las variedades de mayor difusión son Facón que es de grano verde liso, foliosa, y semi-rastrera y Viper que presenta un grano verde liso, es semi-áfiliada y erecta; pero si se desea afianzar nuestro protagonismo en el mundo será necesario ofrecer otros tipos varietales, tales como arvejas de cotiledones amarillos, variedades con resistencia al blanqueado de la semilla, mejor estructura de planta (semiáfiliadas) y comportamiento sanitario superior, de tal manera de ir satisfaciendo las necesidades de otros mercados no tradicionales.

Se busca, asimismo, reducir los días a floración como la altura de la planta con el fin de obtener materiales precoces (con fechas a floración cercanas a 70 días) que permitan liberar más tempranamente el lote, a fin de poder realizar cultivos de segunda y plantas de 60-65 cm, ya que plantas de mayor altura son más susceptibles al vuelco, mientras que, las de menor altura resultan ser pobres competidoras con las malezas. Por otro lado, también se busca, como en todos los cultivos, un incremento de todas las variables productivas, estabilidad de la producción y la resistencia a factores bióticos y abióticos (Guindon *et al.*, 2018).

Nuestro programa de mejora comenzó con una etapa de *pre-breeding* mediante la construcción de una colección activa de arveja con la importación de materiales de los bancos de germoplasma del USDA (EEUU) y del *John Innes Pisum Collection* (UK) y materiales derivados de nuestro programa de mejora, contando actualmente con más de 300 entradas del género *Pisum* (*ssp. fulvum*, *abyssinicum* y *sativum*) como así también de las subespecies *asiaticum*, *elatius*, *jomardi*, *sativum* y *transcaucasicum* y diferentes cultivares dentro de cada subespecie, con materiales de grano liso (arveja seca) y de tipo rugoso (arveja hortícola para consumo fresco). Dicha colección se multiplica periódicamente y es evaluada a través de diferentes tipos de marcadores: morfológicos, agronómicos, ecogeográficos, moleculares y bioquímicos. Con el objetivo de contribuir a una mejor utilización de las accesiones en los programas de mejoramiento, Espósito *et al.* (2019) construyeron una colección núcleo (*core collection*). Para ello se evaluó la colección de germoplasma mediante rasgos morfológicos, caracterización molecular a través de marcadores SSR y SRAP y validando la misma, demostrando que la estrategia logarítmica con datos sobre valores genotípicos fue la estrategia superior.

Mediante siglos de selección empírica y mejoramiento se han desarrollado miles de variedades que se mantienen en colecciones de germoplasma en todo el mundo (Smýkal *et al.*, 2011). En Argentina, a pesar de haber inscriptas en el Registro Nacional de Cultivares más de 70 variedades correspondientes a diferentes empresas semilleras internacionales, solo se cultivan mayoritariamente, como se dijo con anterioridad, dos variedades. Esta situación hace necesaria la creación de nuevas variedades de origen nacional que se encuentren adaptadas a nuestras condiciones de cultivo.

Métodos de mejoramiento

El sistema más comúnmente utilizado para desarrollar cultivares de línea pura consiste en hibridar artificialmente dos o más líneas parentales seleccionadas, permitiendo que la primera generación filial (F_1) se autofecunde para obtener semilla F_2 y continuar avanzando hacia la homocigosis práctica, aproximadamente en las generaciones F_5 o F_6 , donde se inicia la evaluación de los productos obtenidos para determinar su potencial comercial. Durante el avance generacional se puede aplicar selección para reducir gradualmente la cantidad de productos obtenidos (método Genealógico o *Pedigree*) o llegar al final del proceso conservando la mayor variabilidad genética posible y, luego de la multiplicación de semillas, realizar la selección por el método de descendiente de semilla única o SSD (*Single Seed Descent*). En cualquier caso, los productos finales son líneas puras. Estos son los métodos que se utilizan en la mayor parte del mundo y en nuestro programa de leguminosas de grano.

Nuestro programa convencional de mejora

Se comenzó un trabajo de hibridación entre materiales de diferentes orígenes, pero con características sobresaliente, a fin de lograr la creación de poblaciones F_2 que pudiesen someterse a procesos de selección.

El INTA inició, a través de sus proyectos nacionales INTA PNHFA1123 (2006-09) y PNHFA1231 (2009-12) un programa de mejora de legumbres en general, denominado “Desarrollo de bases tecnológicas para el aumento de la competitividad con sostenibilidad de las Legumbres en Argentina”, estableciéndose un convenio específico entre la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR y la EEA INTA Oliveros con el objeto de obtener nuevas variedades de arveja y lenteja.

Como resultado de este esfuerzo conjunto nos encontramos en las etapas de licenciamiento de la primera variedad nacional y de origen estatal Primogénita FCA-INTA. Esta variedad surge del cruzamiento de la variedad Viper semi-áfila con color de cotiledón verde por la variedad DDR 14 creada por *The Indian Council of Agriculture Research*, foliosa, con color de cotiledón amarillo y vainas y grano grande. La variedad DDR 14 fue utilizada como progenitor masculino debido a los marcadores fenotípico dominantes presentes que facilitaron la seguridad de la obtención de semillas provenientes del cruzamiento.

Este fue una de los cientos de cruzamientos efectuados en el año 2009, en la Sección Horticultura de la Facultad de Ciencias Agrarias, con materiales de la colección activa.

En el año 2010 se sembraron las semillas F_1 y se cosecharon las semillas F_2 . Desde el año 2012 al 2015 se realizó un esquema SSD. Una vez alcanzada la

homocigosis práctica se sembraron todas las semillas de las diferentes líneas obtenidas que fueron multiplicadas y sometidas a ensayos preliminares de rendimiento teniendo en cuenta también el porte de la planta. De esta selección surge la variedad PRIMOGÉNITA FCA INTA (Figura 1). En 2017 se consideró que la variedad estaba estabilizada y a partir de ese año se comenzaron las multiplicaciones en la EEA INTA Oliveros y se realizaron ensayos comparativos de rendimiento en diferentes localidades.

Esta nueva variedad se caracteriza por presentar un rendimiento superior a las variedades de uso corriente, con seis granos en promedio por vaina de un color verde, buen porte a cosecha, y resistencia parcial a oídio.

En ensayos de cuatro años (2016 al 2019) mostró un rendimiento de 2360,58 kg/ha frente a 1874,94 kg/ha de la variedad Viper.

La obtención de esta variedad requirió 10 años de trabajo y la evaluación de cientos de cruza. En general, nos encontramos con dos pasos clave en la mejora de esta especie y de otras leguminosas de grano: (a) la elección de progenitores a ser utilizados en los bloques de cruzamientos para la creación de variabilidad genética y b) la necesidad de incrementar la ganancia genética o eficiencia del proceso.

El desarrollo exitoso de nuevas variedades depende fundamentalmente de la selección de las líneas a hibridar a fin de lograr generaciones segregantes que muestren individuos superiores capaces de convertirse en nuevas variedades de cultivo.

En los programas de mejoramiento genético de cultivos autógamos, se efectúa una gran cantidad de hibridaciones cada año para posteriormente disponer de un gran número de líneas recombinantes en las generaciones posteriores, a fin de poder efectuar el proceso selectivo. No todas ellas podrán convertirse en variedades superiores, sino que sólo un número muy bajo de las mismas podrán cumplir con los requisitos del programa. Sería por lo tanto muy conveniente determinar qué materiales deben ser hibridados a fin de obtener variedades superiores.

Materiales a hibridar

La aparición de variantes transgresivas que puedan ser seleccionadas es sumamente importante ya que está conectada con la posibilidad de obtención de variedades superiores. Si bien los individuos transgresivos observados en la generación F_2 pueden ser altamente heterocigóticos podrá fijarse o mantenerse la heterosis si el vigor resulta de la acumulación de alelos dominantes (Jones, 1957; Sarawat *et al.*, 1994). Guindon *et al.* (2018) hallaron segregantes transgresivos favorables para diferentes caracteres cuantitativos y Cazzola *et al.* (2020) evaluaron la frecuencia de segregantes transgresivos en dos poblaciones F_2 y sus respectivas familias $F_{2,3}$,

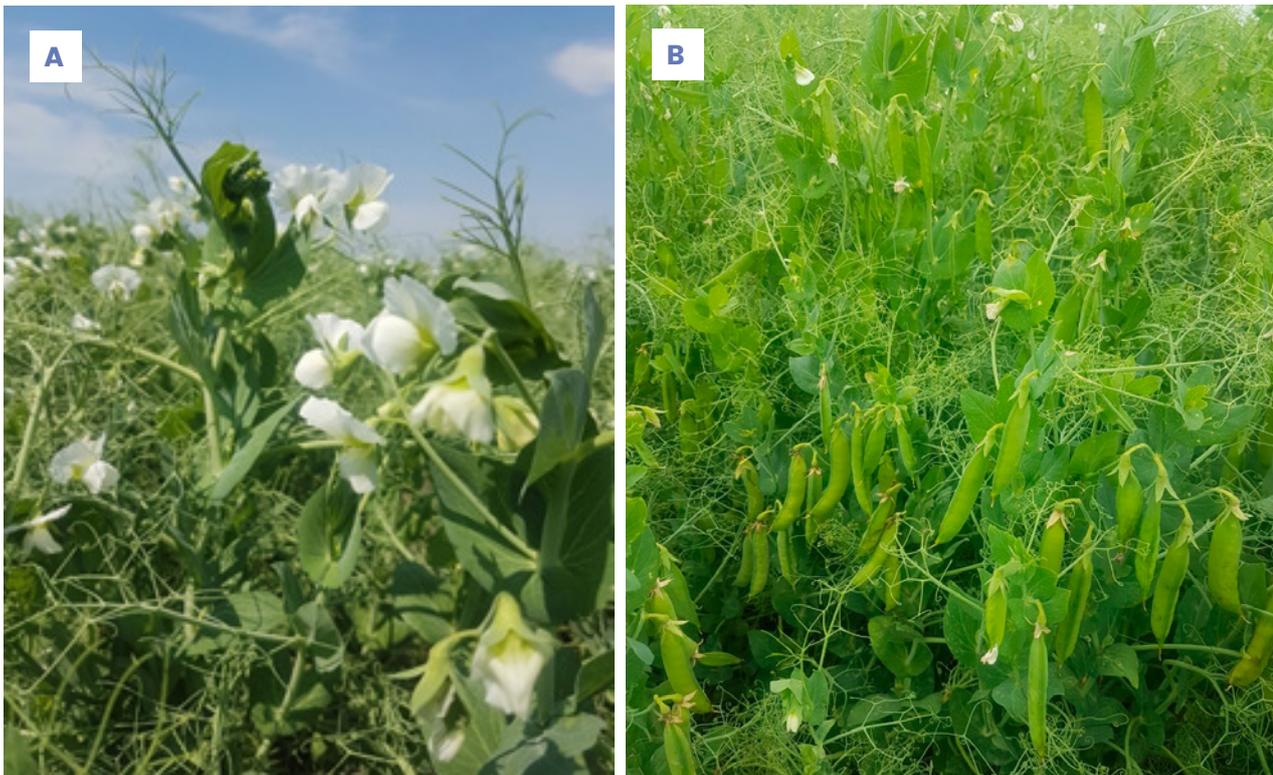


Figura 1. Primogénita FCA-INTA. a: Planta en floración, b: etapa de formación de vainas.

obteniendo un 45% para todas las características estudiadas en las generaciones F_2 y, posteriormente, un 42% de estos segregantes transgresivos se manifestaron en la generación $F_{2,3}$, lo que sugiere que podrían producirse líneas superiores. La predicción de segregantes transgresivos puede realizarse a partir de diferentes metodologías. Sin embargo, Cattáneo *et al.* (2020) demostraron mediante la utilización de cruzamientos dialélicos de media matriz, entre 11 variedades de nuestra colección activa correspondientes a germoplasma de origen diferentes (Europa, Asia, América del Norte y América del Sur), que la evaluación de la aptitud combinatoria general de los parentales resultó ser eficiente como metodología para estimar *a priori* cruces heteróticas y segregantes transgresivos.

Aceleración de generaciones

Con respecto al segundo punto, el fitomejoramiento es un proceso lento. El desarrollo de nuevas variedades requiere una década o más, utilizando metodologías tradicionales. Es una operación logística a gran escala que involucra de miles a cientos de miles de plantas en la etapa inicial de fijación de la línea, pero el número se reduce en gran medida a un pequeño número seleccionado de líneas de mejoramiento avanzadas al final del proceso de mejoramiento (Lenaerts *et al.*, 2019). En la ecuación del mejorador, el tiempo de cada ciclo de cultivo es el más fácil de entender, el más barato de

manipular y el parámetro más poderoso para aumentar la ganancia genética (Cobb *et al.*, 2019).

Dentro de los métodos convencionales de mejoramiento, el método SSD (Goulden, 1941; Saxena *et al.*, 2019) nació de la necesidad de acelerar los programas mediante la endogamia rápida de una población antes de comenzar la selección y evaluación de plantas individuales, mientras se reduce la pérdida de genotipos durante las generaciones segregantes. Este método puede realizarse en contra-estación ya que no se efectúa selección en las primeras etapas. Brummer *et al.* (2011) y Atlin *et al.* (2017) sugirieron la siembra fuera de estación. Sin embargo, en un cultivo como la arveja, Ochatt y Sangwan (2010) determinaron que sólo se podrían obtener dos generaciones por año cambiando el hemisferio o tres con el uso de invernadero. Por otro lado, Sita *et al.* (2017) sugirieron que los viveros fuera de estación (siembra primavera-verano) en el mismo hemisferio no es una alternativa confiable debido a la pérdida significativa de material segregante por efecto de las altas temperaturas. Provoca el aborto de flores, vainas y granos.

Teniendo en cuenta estos inconvenientes nuestro grupo de trabajo comenzó a trabajar, a la par de los métodos estrictamente convencionales, con dos metodologías de aceleración:

- Cultivo de anteras
- *Speed Breeding*.

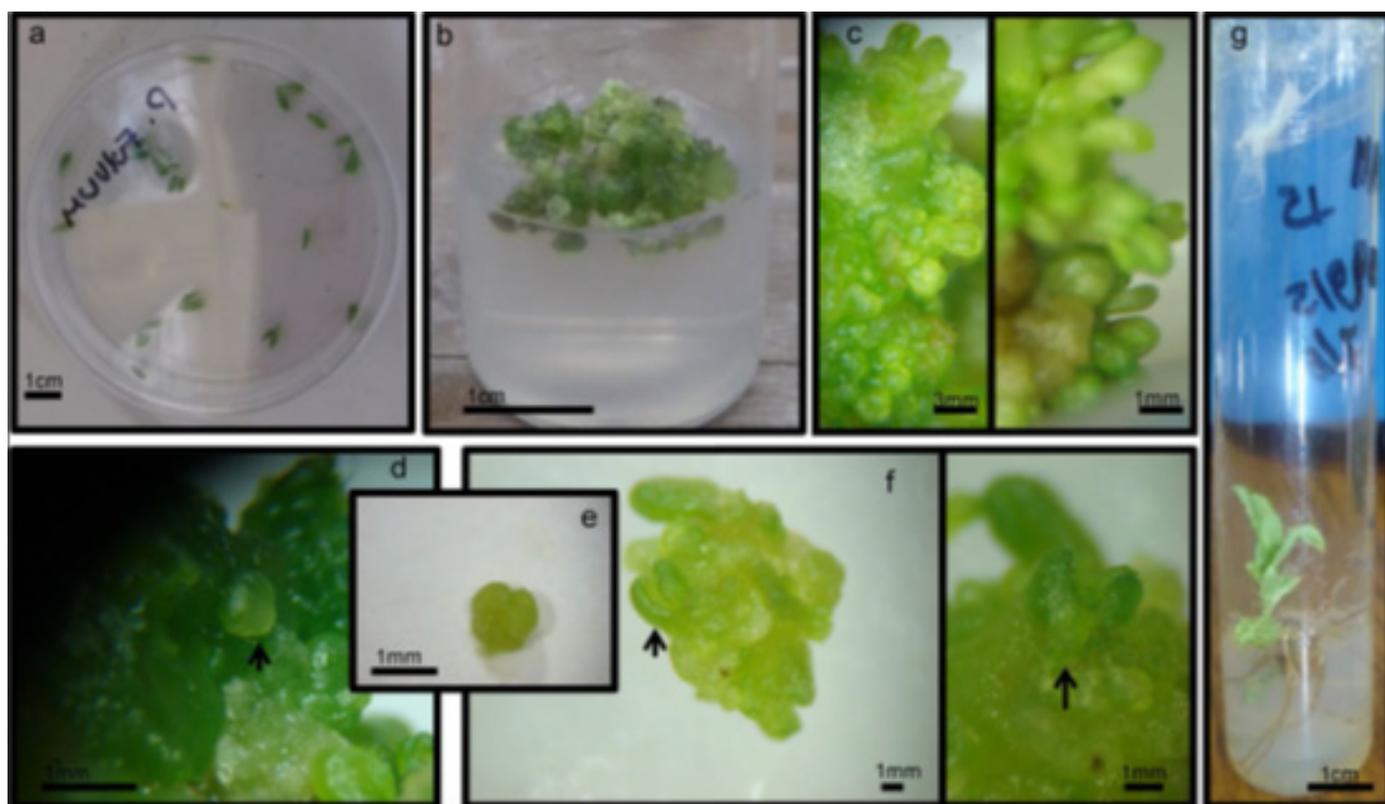


Figura 2. a) Botones florales de *P. fulvum* en el estado uninucleado; b) formación de callo embriogénico verde; c) callo en diferentes etapas de embriogénesis somática en el medio de maduración del embrión; d, e y f) embriones en estado globular (d); corazón (e); cotiledonal (f); g) plántulas desarrollada en medio de regeneración.

Cultivo de anteras

La inducción de haploides por cultivo *in vitro* de células gametofíticas, particularmente gametofitos masculinos, es de enorme importancia en los programas de mejoramiento de cultivos (Pratap *et al.*, 2018). La producción de doble haploides (DH) o haploides duplicados, permite desarrollar genotipos completamente homocigotos a partir de padres heterocigóticos en una sola generación y permite fijar los gametos recombinantes directamente como líneas homocigóticas fértiles (Pratap *et al.*, 2006; Forster *et al.*, 2007). Sin embargo, las leguminosas han sido descritas como recalcitrantes a este enfoque (Germana *et al.*, 2011; Gatti *et al.*, 2016) por lo que su implementación no es factible además de ser costosa por el equipo requerido reduciendo también las posibilidades de recombinación (Liu *et al.*, 2016). Sin embargo, Bermejo *et al.* (2020) estudió la competencia androgénica de diferentes especies de arveja (tanto silvestres como cultivadas). Se realizó un estudio comparativo de la respuesta androgénica entre diferentes taxones del género *Pisum*, tanto del acervo genético primario como secundario. Se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de producción de callos y plantas entre las diferentes especies y subespecies. Las dos formas silvestres, *Pisum*

fulvum Sibth. & Sm. y *Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. & Graebn., regeneraron vástagos a partir del cultivo de anteras con una elevada eficiencia (67% y 38%, respectivamente), convirtiéndose en fuentes potenciales de competencia androgénica (Figura 2). Entre los genotipos cultivados de *P. sativum*, la variedad botánica arvense regeneró vástagos en un porcentaje del 40% siendo también un buen candidato para el estudio de la androgénesis. *P. fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatius* y *P. sativum* ssp. *sativum* var. *arvense* se identificaron como altamente sensibles al cultivo de anteras, útiles para transferir la competencia androgenética a variedades comerciales.

Speed Breeding

El concepto de *Speed Breeding* se inspiró en los esfuerzos de la NASA para cultivar en el espacio, utilizando cámaras cerradas y fotoperíodo extendido. Al observarse la obtención de plantas adultas de trigo y cebada, más rápidamente se convirtió en la norma en las actividades de investigación de cereales en la Universidad de Queensland (UQ), Australia (Hickey *et al.*, 2019). Incluye el crecimiento de plantas en cámaras o invernaderos. Esta aceleración rápida de generaciones fue desarrollada en diferentes cultivos con el fin de acortar el ciclo del



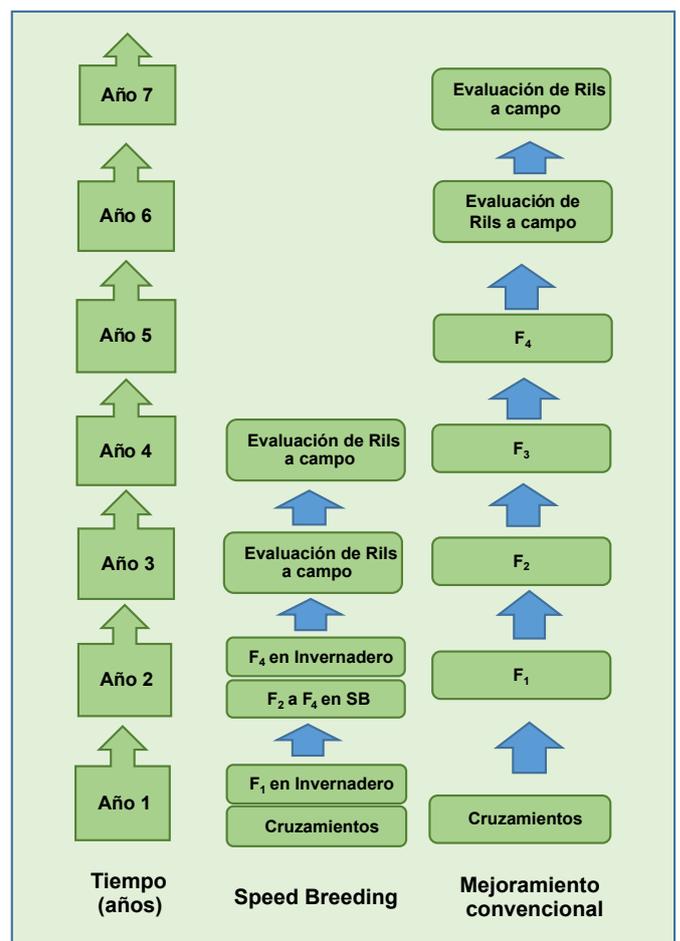
Figura 3. a) Plántulas de arveja en el sistema de *Speed Breeding*; b) plantas con flores y vainas.

mismo y aumentar la eficiencia de los programas de mejora.

Se desarrollaron diferentes protocolos para distintas especies tales como maní (O'Connor *et al.*, 2013), arroz (Collard *et al.*, 2017), cebada y trigo (Watson *et al.*, 2018), soja (Nagatoshi *et al.*, 2018) y garbanzo (Samineni *et al.*, 2019).

Cazzola *et al.* (2020) desarrollaron un protocolo para el cultivo de arveja trabajando en cámaras de cría, utilizando luz artificial con fotoperíodos inductivos (22 hs luz), temperatura y humedad controladas y cosecha anticipada de granos (24 días post-antesis) (Figura 3). Se utilizó un sistema hidropónico con el agregado de la antigiberelina Flurprimidol para reducir el tamaño de las plantas y una metodología SSD que es la más aconsejada ya que sólo requiere una semilla por planta F_2 . La ventaja del sistema radica en el hecho de poderse iniciar en cualquier momento del año e independizarse de las condiciones bióticas y abióticas, aumentar la eficiencia de los programas significativamente ya que se reduce el espacio necesario (266 pl/m²), reduciendo considerablemente los costos y labores necesarias, pero la gran ventaja es que pueden obtenerse cinco generaciones por año. En la actualidad se encuentran en evaluación en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR 150 nuevas Rils provenientes de hibridaciones dirigidas y obtenidas por el sistema de *Speed Breeding*.

Estos últimos avances en los sistemas de cultivos controlados resultan en una gran oportunidad para incorporarlos a los diferentes programas de mejora. Esquemáticamente un programa de mejora con SB y un programa convencional se presentan a continuación:



BIBLIOGRAFÍA

- Anthony J.B. (2017) Peas and beans. In: Atherton J. (Ed.) Crop production science in horticulture (series). CABI, Oxfordshire, pp. 66–93.
- Atlin G.N., Cairns J.E., Das B. (2017) Rapid breeding and varietal replacement are critical to adaptation of cropping systems in the developing world to climate change. *Global Food Secur.* 12: 31–37.
- Bastida García J.L., González Ronquillo M., Domínguez Vara I.A., Romero Bernal J., Castelán Ortega O. (2011) Effect of field pea (*Pisum sativum* L.) level on intake, digestion, ruminal fermentation and *in vitro* gas production in sheep fed maintenance diets. *Anim. Sci. J.* 82: 654–662.
- Bermejo C., Guindón F., Palacios T., Cazzola F., Gatti I., Cointry E.L. (2020) Comparative androgenetic competence of various species and genotypes within the genus *Pisum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* doi.org/10.1007/s11240-020-01934-y.
- Bogdanova V.S., Shatskaya N.V., Mglinets A.V., Kosterin O.E., Vasiliev G.V. (2020) Discordant evolution of organellar genomes in peas (*Pisum* L.) *BioRxiv.* doi.org/10.1101/2020.05.19.104224.
- Brummer F.C., Barber W.T., Collier S.M., Cox T.S., Johnson R., Murray S.C., Olsen R.C. (2011) Plant breeding for harmony between agriculture and the environment. *Front Ecol. Environ.* 375 9: 561–568.
- Brummer Y., Kaviani M., Tosh S.M. (2015) Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Res. Intl* 67: 117–125.
- Burstin J., Salloignon P., Chabert Martinello M., Magnin Robert J.B., Siol M., Jacquin F., Chauveau A., Pont C., Aubert G., Truntzer C., Duc G. (2015) Genetic diversity and trait genomic prediction in a pea diversity panel. *BMC Genomics* 16: 105.
- Calzada J., Treboux J. (2019) Panorama del mercado nacional e internacional de legumbres. AÑO XXXVII – N° Edición 1912, 28 de junio de 2019, Bolsa de Comercio de Rosario, Argentina.
- Cattáneo R.M. (2020) Estimación y predicción de segregantes transgresivos en poblaciones F₂ provenientes de hibridaciones entre líneas de arveja de diferentes orígenes geográficos. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.
- Cazzola F., Bermejo C.J., Cointry E. (2020) Transgressive segregations in two pea F₂ populations and their respective F₂:3 families. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 55. doi: 10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01623.
- Cazzola F., Bermejo C.J., Guindon M.F., Cointry E. (2020) Speed breeding in pea (*Pisum sativum* L.), an efficient and simple system to accelerate breeding programs. *Euphytica* 216, 178. doi.org/10.1007/s10681-020-02715-6.
- Cobb J.N., Juma R.U., Biswas P.S., Arbelaez J.D., Rutkoski J., Atlin G., Hagen T., Quinn M., Ng E.W. (2019) Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: lessons from the breeder's equation. *Theor. Appl. Genet.* 132: 627–645.
- Collard B.C.Y., Beredo J.C., Lenaerts B., Mendoza R., Santelices R., Lopena V., Verdeprado H., Raghavan C., Gregorio G.B., Vial L., Demont M., Biswas P.S., Iftkharuddaula K.F., Rahman K.A., Cobb J.N., Rafiqul Islam M. (2017) Revisiting rice breeding methods—evaluating the use 384 of rapid generation advance (RGA) for routine rice breeding. *Plant Prod. Sci.* 20: 337–352.
- Cousin J.R., Massager A., Vingere A. (1985) Breeding for yield in common peas. The peas Crops. In: Hebblethwaite P.H., Heath M.C., Dawkins T.C.K. (Eds.) Butterworths, pp. 115–129.
- Coyne C., Kumar S., von Wettberg E.J.B., Marques E., Berger J.D., Redden R.J., Ellis T.H.N., Brus J., Zablazská L., Smýka P. (2020) Potential and limits of exploitation of crop wild relatives for pea, lentil, and chickpea improvement. *Legume Sci.* e36. doi.org/10.1002/leg3.36.
- Dahl W.J., Foster L.M., Tyler R.T. (2012) Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British J Nutrition* 108: 3–10.
- De Bernardi L. (2016) Informe de Arvejas (*Pisum sativum*). Subsecretaría de Mercados Agropecuarios. Buenos Aires Argentina, pp 13.
- Dotas V., Bampidis V.A., Sinapis E., Hatzipanagiotou A., Papanikolaou K. (2014) Effect of dietary pea (*Pisum sativum* L.) supplementation on growth performance, and carcass and meat quality of broiler chickens. *Livestock Sci.* 164: 135–143.
- Espósito M.A., Gatti I., Cointry E. (2019) Construction and validation of core collections in *Pisum* sp. using different methodologies. *Legume Res.* 42 (6): 743–749.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019) Faostat. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Accessed on: Aug. 12, 2019).
- Forster B.P., Herberle Bors E., Kasha K.J., Touraev A. (2007) The resurgence of haploids in higher plants. *Trends Plant Sci.* 12 (8): 368–375.
- Gatti I., Guindón F., Bermejo C., Espósito A., Cointry E. (2016) *In vitro* tissue culture in breeding programs of leguminous pulses: use and current status. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 127 (3): 543–559.
- Germáná M.A. (2011) Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 104: 283–300.
- Goulden C.H. (1941) Problems in plant selection. In: Proceedings of the 7th international congress genetics, vol. 1039, pp. 132–133.
- Grusak M.A. (2002) Enhancing mineral content in plant food products. *J. Am. Coll. Nutr.* 21: 178S–183S.
- Guindon M.F., Martin E., Cravero V., Cointry E.L. (2018) Transgressive segregation, heterosis and heritability for yield-related traits in a segregating population of *Pisum sativum* L.

- Experimental Agriculture, Cambridge University Press. pp. 1–11.
- Gupta R.K., Gangoliya S.S., Singh N.K. (2015) Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *J Food Sci and Tech* 52 (2): 676–684.
- Hickey L.T., Hafeez A., Robinson H., Jackson S.A., Leal Bertoli S.C.M., Tester M., Gao C., Godwin I.D., Hayes B.J., Wulff B.B.H. (2019) Breeding crops to feed 10 billion. *Nat. Biotechnol.* 37 (7): 744–754. Doi:10.1038/s41587-019-0152-9.
- Janzen J.P., Brester G.W., Smith V.H. (2014) Dry peas: trends in production, trade, and price. Montana: Agricultural Marketing Policy Center (AMPC. Briefing, 57).
- Jones D.F. (1957) Gene action in heterosis. *Genetics* 42: 93–101.
- Lenaerts B., Collard B.C., Demont M. (2019) Review: Improving global food security through accelerated plant breeding. *Plant Sci.* 287: 110207. Doi: 10.1016/j.plantsci.2019.110207.
- Liu H., Zwer P., Wang H., Liu C., Lu Z., Wang Y., Yan G. (2016) A fast generation cycling system for oat and triticale breeding. *Plant Breeding* 135: 574–579. Doi: 10.1111/pbr.12408.
- Maxted N., Ambrose N. (2000) Peas (*Pisum* L.) Chapter 10. In: Maxted N., Bennett S.J. (Eds.) *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 181–190.
- Nagatoshi Y., Fujita Y. (2018) Accelerating Soybean Breeding in a CO₂-Supplemented Growth Chamber. *Plant Cell Physiol.* 60: 77–84.
- Ochatt S.J., Sangwan R.S. (2010) *In vitro* flowering and seed set: acceleration of generation cycles. In: Davey M.R., Anthony P. (Eds.) *Plant Cell Culture: Essential Methods*. Chichester: John Wiley & Sons, pp. 97–110.
- O'Connor D.J., Wright G.C., Dieters M.J., George D.L., Hunter M.N., Tatnell J.R., Fleischfresser D.B. (2013) Development and application of speed breeding technologies in a commercial peanut breeding program. *Peanut Sci.* 40: 107–11.
- Pandey M.K., Roorkiwal M., Singh V.K., Ramalingam A., Kudapa H., Thudi M., Chitikineni A., Rathore A., Varshney R.K. (2016) Emerging Genomic Tools for Legume Breeding: Current Status and Future Prospects. *Front. Plant Sci.* doi.org/10.3389/fpls.2016.00455.
- Pratap A., Prajapati U., Singh C.M. (2018) Potential, constraints and applications of *in vitro* methods in improving grain legumes. *Plant Breed.* 137: 235–249.
- Pratap A., Sethi G.S., Chaudhary H.K. (2006) Relative efficiency of anther culture and chromosome elimination techniques for haploid induction in triticale × wheat and triticale × triticale hybrids. *Euphytica* 150: 339–345.
- Prieto G.M., Vita E.A. (2010) El cultivo de arveja. Informe técnico AER INTA Arroyo Seco. 5pp.
- Prieto G.M. (2018) Arveja, una alternativa para potenciar la secuencia de cultivos en la zona núcleo. https://www.clarin.com/rural/arveja-alternativa-potenciar-secuencia-cultivos-zona-nucleo_o_HJU8AUbGQ.html (accesado Septiembre 2020).
- SAGPyA (2010) <https://www.argentina.gob.ar/agroindustria/agricultura-ganaderia-y-pesca> (accesado September 2020).
- Samineni S., Sen M., Sajja S.B., Gaur P.M. (2019) Rapid generation advance (RGA) in chickpea to produce up to seven generations per year and enable speed breeding. *The Crop J.* 8: 164–169.
- Sarawat P., Stoddard F.L., Marshall D.R., Ali R. (1994) Heterosis for yield and related characters in pea. *Euphytica* 80: 39–48.
- Saxena K.B., Saxena R.K., Hickey L.T., Varshney R.K. (2019) Can a speed breeding approach accelerate genetic gain in pigeonpea? *Euphytica* 215: 202. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2520-4>.
- Sita K., Sehgal A., Hanumantha Rao B. (2017) Food Legumes and Rising Temperatures: Effects, Adaptive Functional Mechanisms Specific to Reproductive Growth Stage and Strategies to Improve Heat Tolerance. *Front. Plant Sci.* 8: 1658. Doi: 10.3389/fpls.2017.01658.
- Smykal P., Kenicer G., Flavell A.J., Corander J., Kosterin O., Redden R.J., Ford R., Coyne C.J., Maxted N., Ambrose M.J., Ellis T.H.N. (2011) Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Res.* 9: 4–18.
- Smykal P., Aubert G., Burstin J., Coyne C.J., Ellis N.T.H., Flavell A.J., Ford R., Hýbl M., Macas J., Neumann P., McPhee K.E., Redden R.J., Rubiales D., Weller J.L., Warkentin T.D. (2012) Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy* 2: 74–115.
- Smykal P., Hradilová I., Trněný O., Brus J., Rathore A., Bariotakis M., Das R.R., Bhattacharyya D., Richards C., Coyne C.J., Pirintsos S. (2017) Genomic diversity and macroecology of the crop wild relatives of domesticated pea. *Sci. Rep.* 7 (1): 1–10.
- Swaminathan M. (1988) *Handbook of food science and experimental foods*. Bangalore: Bangalore Printing and Publishing Co., Ltd, pp. 125–127.
- Trněný O., Brus J., Hradilová I. (2018) Molecular evidence for two domestication events in the pea crop. *Genes* 9 (11): 535. doi.org/10.3390/genes9110535.
- Watson A., Ghosh S., Williams M. (2018) Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nat. Plants* 4: 23–29.
- Zohary D., Hopf M. (2000) *Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe and the Nile Valley*. Editorial Oxford University Press, UK.
- Zong X., Yang T., Liu R., Zhu Z., Zhang H., Li L., Zhang X., He Y., Sun S., Liu Q., Li G., Guo R., Hu X., Shen B., Ma J., Zhang T. (2019) Chapter 6: Genomic Designing for Climate-Smart Pea. In: *Genomic Designing of Climate-Smart Pulse Crops*. Chittaranjan Kole ed. New Delhi, India. doi.org/10.1007/978-3-319-96932-9.