



Tesis:

Mapeo asociativo de la Fijación Biológica de Nitrógeno en germoplasma avanzado del programa de mejoramiento genético de soja de INIA.

Tutores:

Elena Beyhaut Gutiérrez (PhD)

Juan Rosas Caissols (PhD)

Tesista: Salvador Ruiz González (Ing. Agroambiental)



AÑO INTERNACIONAL DE LA
SANIDAD VEGETAL

2020



Contenido

1. Importancia de la fijación biológica de Nitrógeno en el cultivo de soja y su impacto en el medio ambiente

Soja, contexto productivo
FBN y soja, impacto ambiental

2. Caracterizando la FBN

3. Mapeo asociativo

4. Pregunta de investigación

5. Metodología, generación de información fenotípica

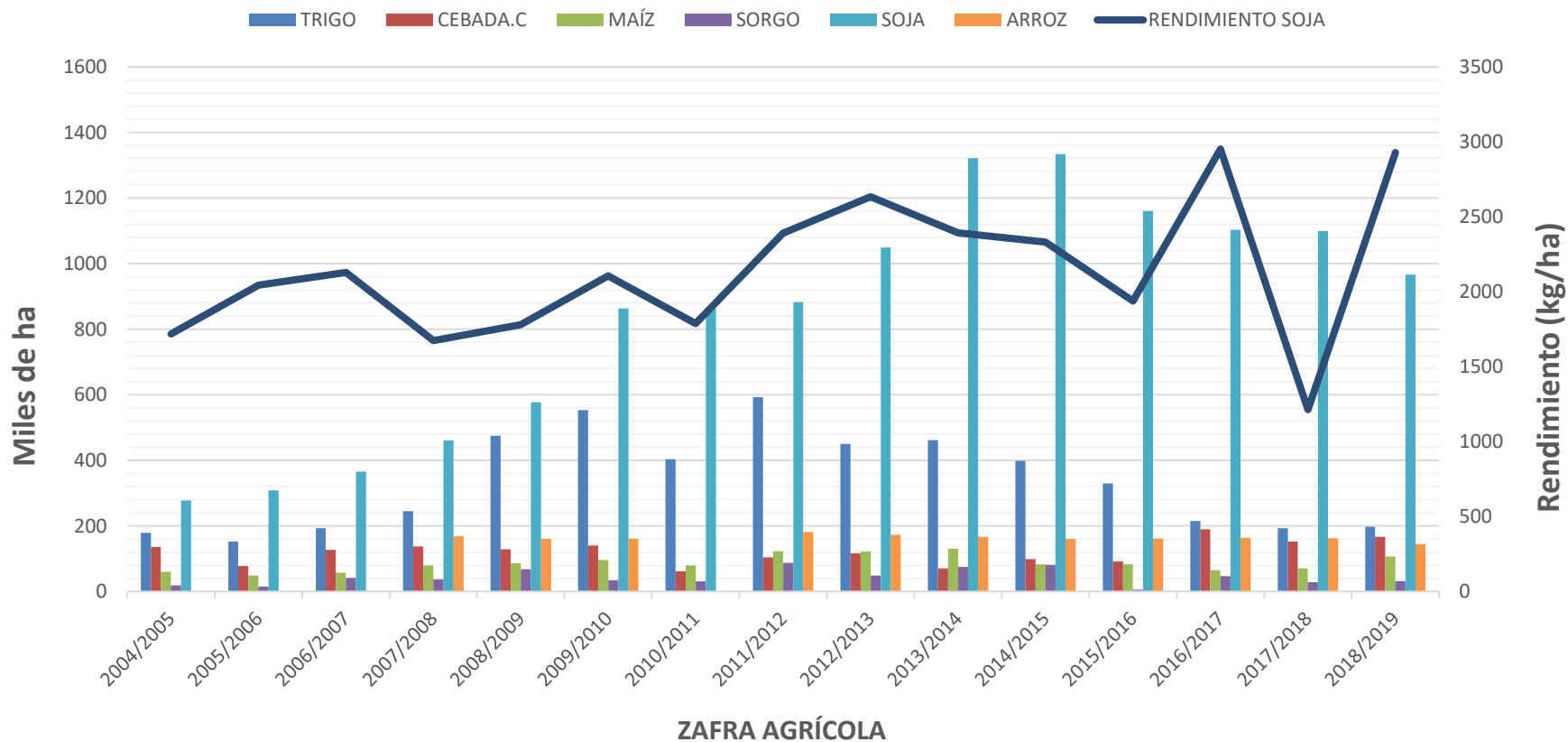
6. Actividades realizadas hasta el momento

Ensayo preliminar
Análisis de la variabilidad ambiental

7. Conclusiones

Soja, Contexto productivo

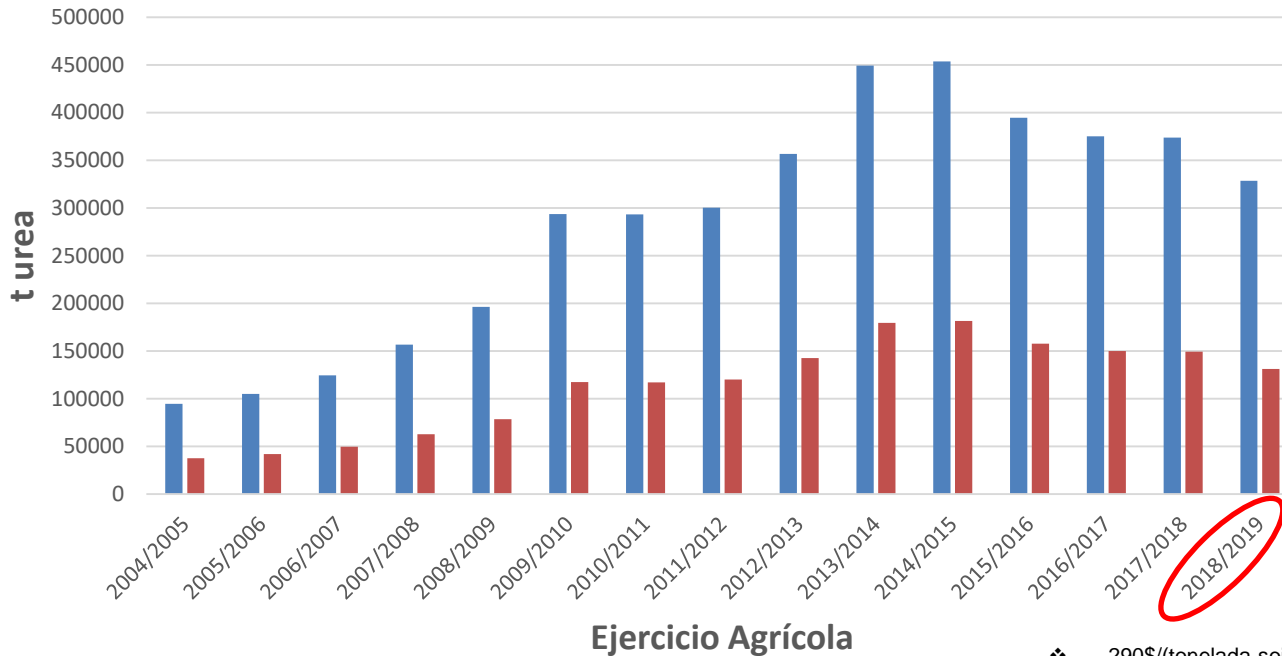
ÁREA SEMBRADA POR CULTIVO, (2004-2019)



Fuente: MGAP-DIEA "Encuesta Agrícola Primavera 2019 y Encuesta de zafra de arroz 2019"

Soja, impacto ambiental

Aplicaciones potenciales de urea en el cultivo de soja (zafras 2004-2019)

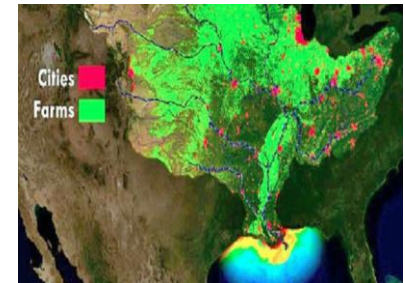


■ Aplicación potencial de urea ■ Pérdidas de Nitrógeno potenciales

❖ 290\$/ (tonelada soja)
❖ 410\$/ (tonelada urea)

☐ 80 kg de N por tonelada de soja producida

☐ Eficiencia del 60%



REF: <https://www.sierraclub.org/>

☐ Energía de síntesis, huella de carbono elevada

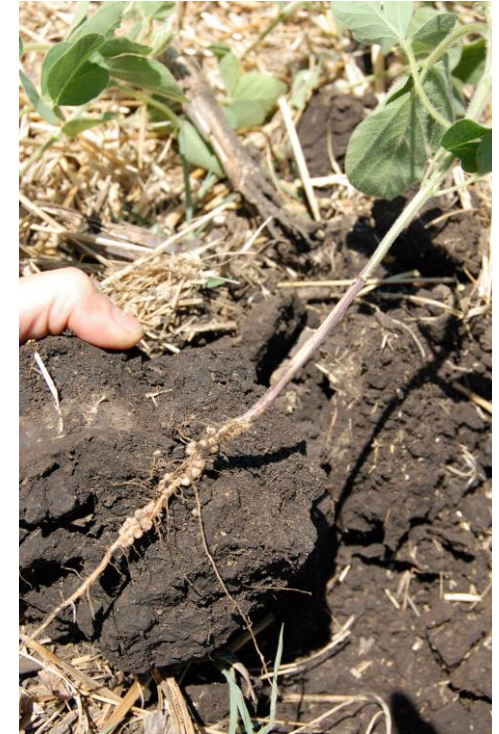


50%

Fuente: MGAP-DIEA Encuesta Agrícola "Primavera 2019", E.Beyhaut 2004, Hungría et al. 2006

Caracterización de la FBN

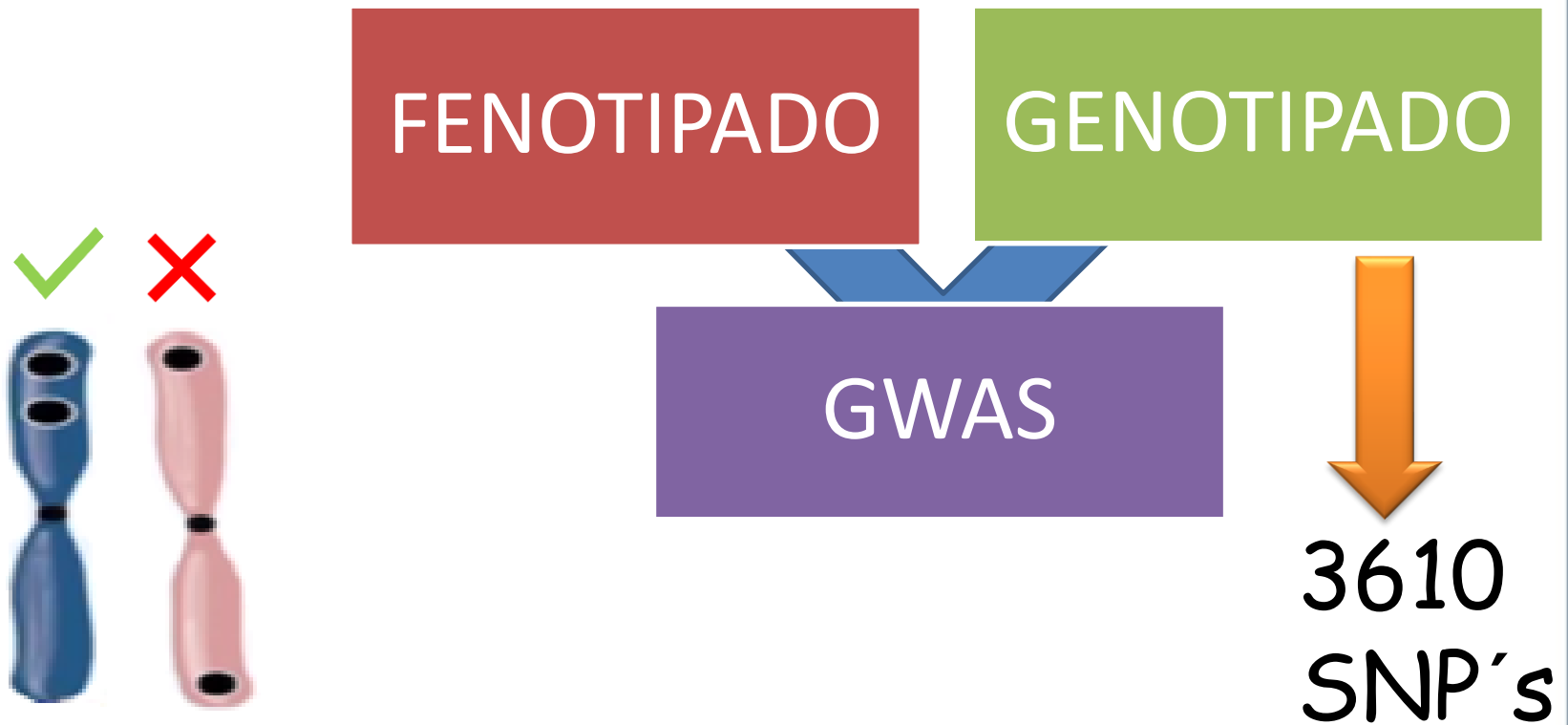
- ❑ El nitrógeno derivado de la atmósfera (%N_{da}) se asocia, entre otros, con **el peso de nódulos y número de nódulos (NN) y peso fresco y seco de la planta**, todos ellos rasgos cuantitativos.
- ❑ Históricamente, la investigación tendiente a incrementar la FBN se centró en la selección de cepas de rizobios, dedicando poca atención a la genética de la planta huésped.
- ❑ Rasgo complejo, coordinado por un amplio número de genes.
- ❑ El mecanismo genético involucrado en la FBN de la soja es ampliamente desconocido.



Fuente: Cortesía de E.Beyhaut

¿Qué es el Mapeado asociativo o GWAS?

GWAS técnica que consiste en identificar loci (QTL) que codifican caracteres de interés mediante **asociaciones** entre marcadores y dichos caracteres basados en desequilibrio de ligamiento.



Pregunta de Investigación

1. ¿Existen QTL asociados a alta eficiencia de fijación biológica de nitrógeno en la población del programa de mejoramiento genético de soja?
2. ¿Qué porcentaje de la varianza fenotípica es explicada a través de estos QTL?

Metodología

Características evaluadas:

- Número de nódulos** (nn)
- Peso de Nódulos** (g)
- %N en planta** (g N/g planta)
- %Ndda** (relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)
- Nitrógeno acumulado** (g N/ planta)
- MS parte aérea** (g)
- MS raíces** (g)

Población & Diseño experimental.

- 190 líneas provenientes del PGMS de INIA.
- Unidad experimental: macetas de 1 litros, 1 PI/mac.
- Diseño experimental en bloques.



Fuente: Elaboración propia

Inoculación de las semillas y fertilización de plantas

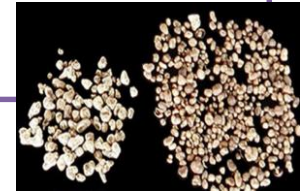
- Inóculo comercial *B. elkanii* U1301 y U1302
- Sustrato con baja concentración de N.
- Fertilización a base de solución nutritiva SIN N.



Fuente: Cortesía de E.Beyhaut

Cosecha y evaluación de FBN.

- Cosecha: fin del ciclo vegetativo y principios de floración (Estado fenológico V5 según escala Fehr)
- Evaluación de las variables que definen la FBN



Fuente: Yang Q. et al., 2019

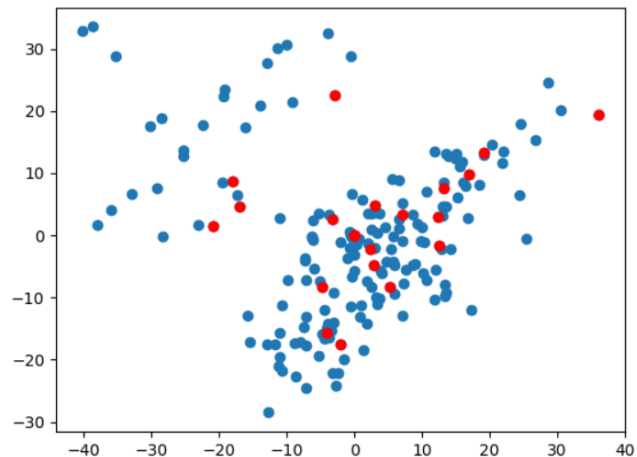
GWAS

- Asociación entre marcador y carácter mediante regresión lineal (modelo mixto corrigiendo por estructura de población):

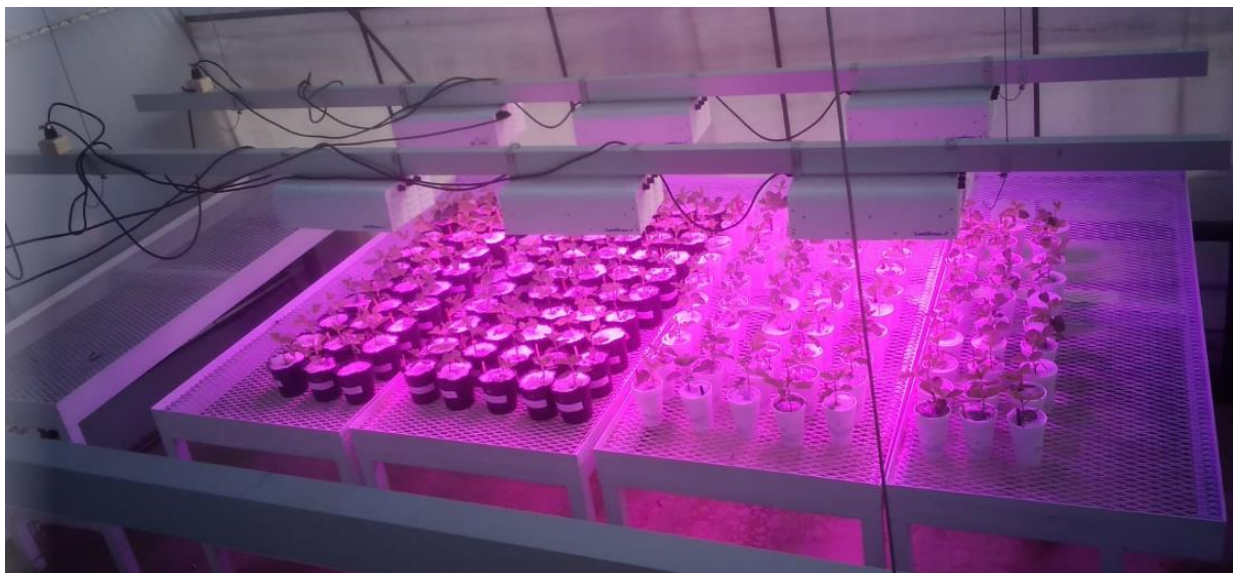
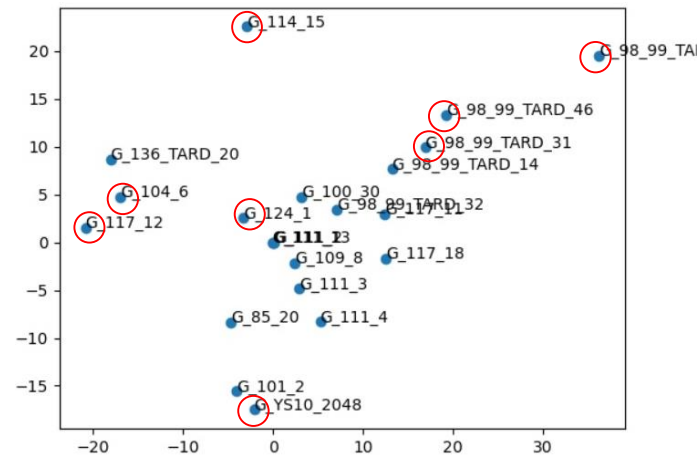
$$y = X\beta + Zu + \varepsilon$$

Actividades realizadas hasta el momento, ensayo preliminar

PCA sobre matriz genotípica:



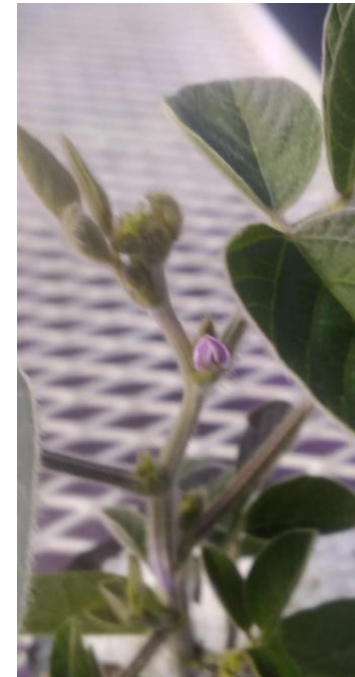
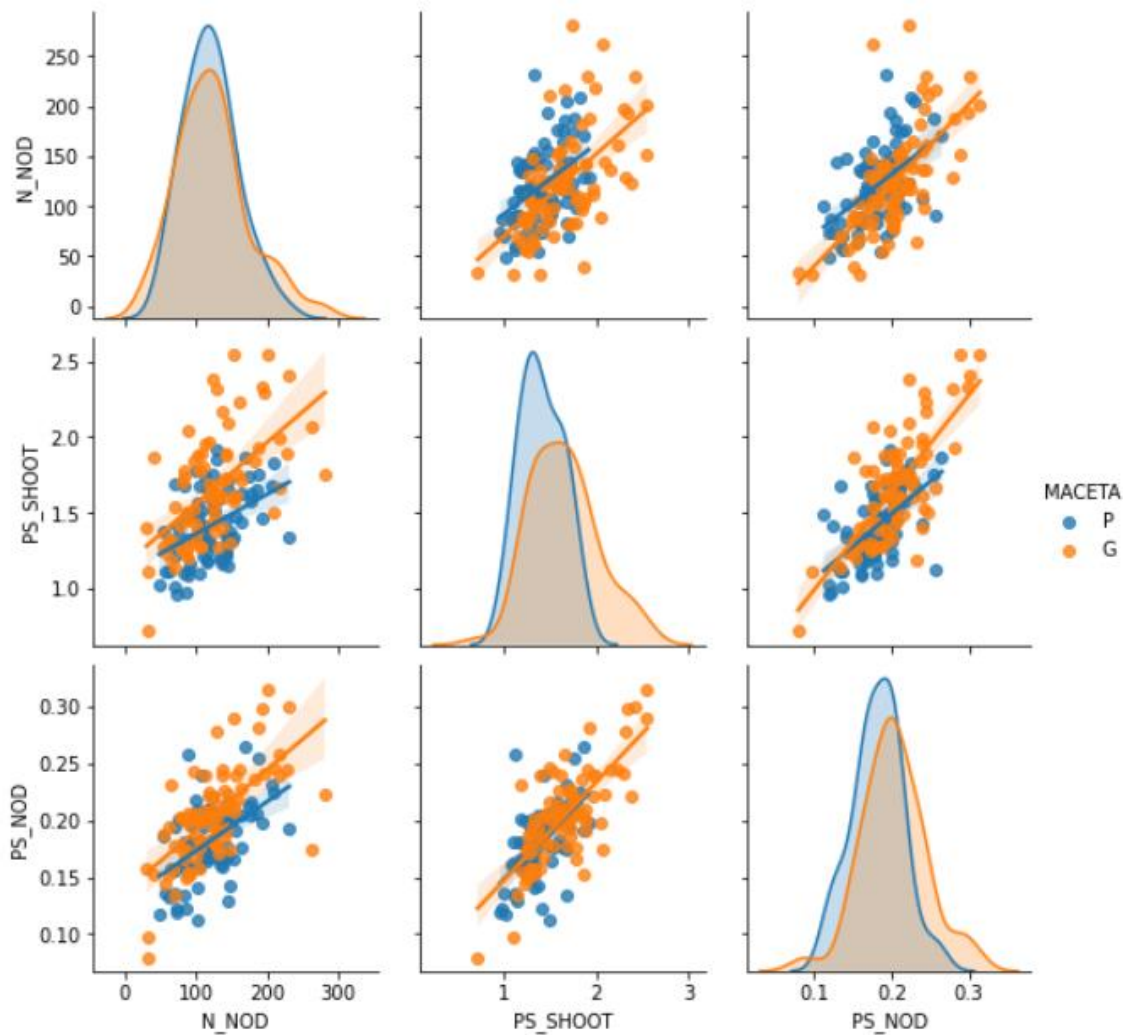
Selección de material disponible:



Fuente: elaboración propia,
Macetas grandes Vs
Macetas pequeñas

Fuente: elaboración propia, experimento pre eliminar

Actividades realizadas hasta el momento, ensayo preliminar

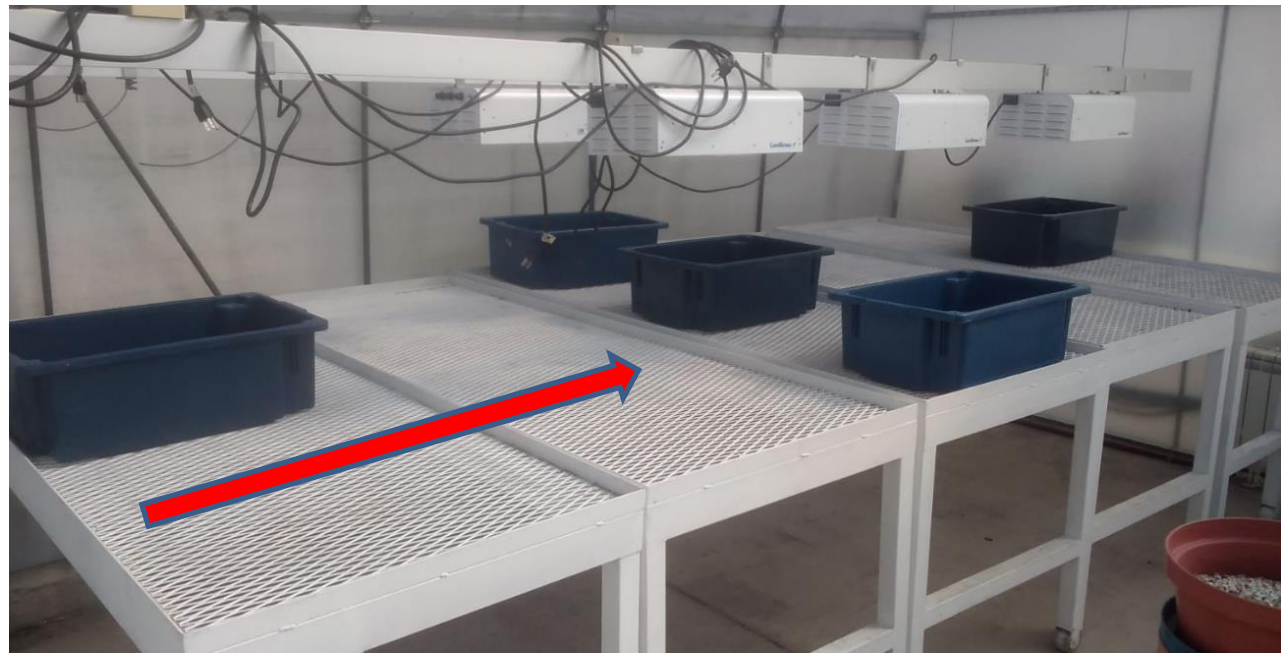


Análisis de la variabilidad ambiental

- Condiciones no homogéneas, amplia dispersión encontrada para cada variable analizada.
- Realización de ANCOVA para evaluar la variabilidad ambiental en función de la posición de las macetas, efecto de las filas y las columnas



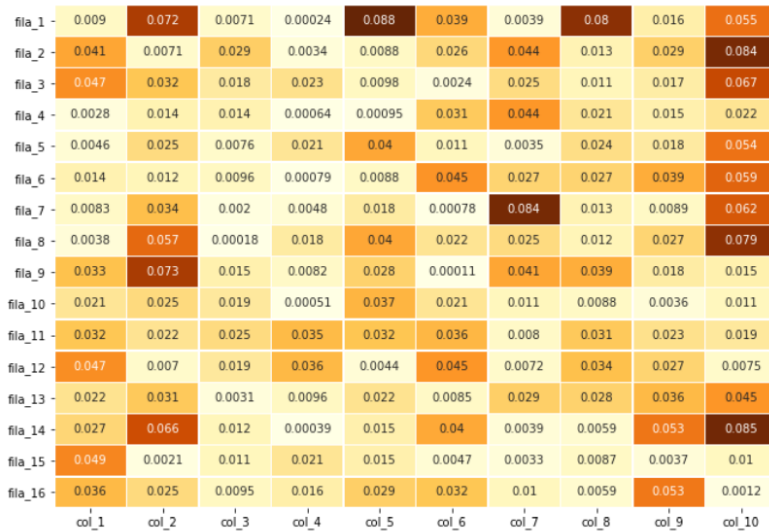
Fuente: elaboración propia, posición del aire acondicionado con respecto a la distribución del experimento:



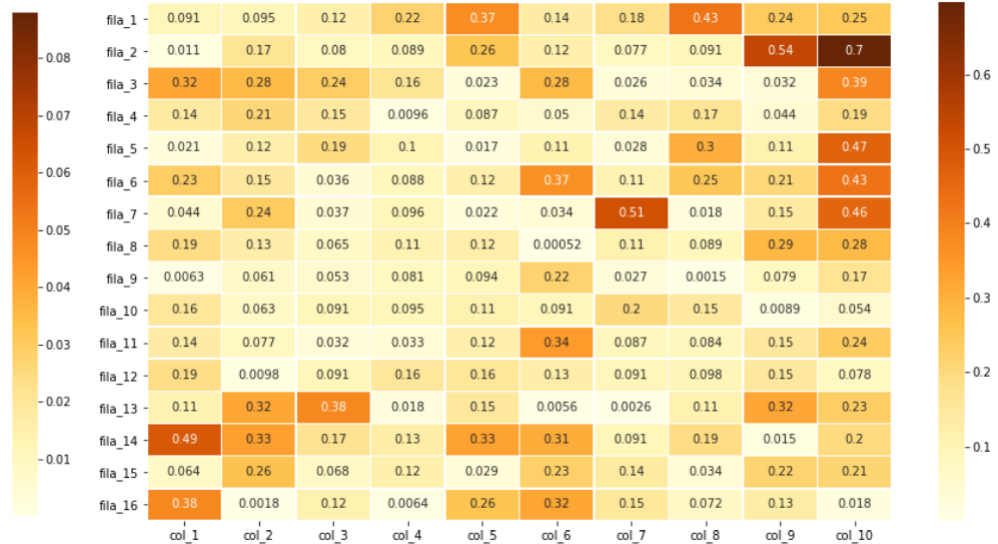
Fuente: elaboración propia, dirección del flujo de aire en el invernáculo

Análisis de la variabilidad ambiental

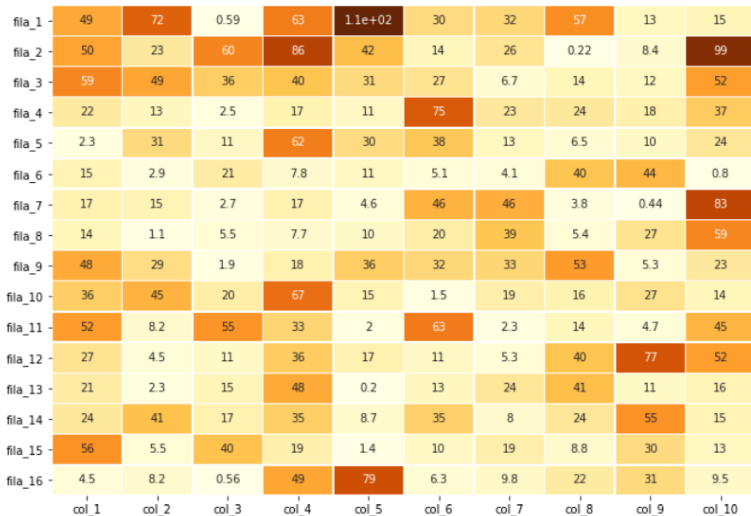
Peso seco nódulos totales



Peso seco parte aérea



Número de nódulos totales



iPatrón espacial consistente!

Conclusiones

Se establecieron los criterios que guiarán los parámetros de diseño del experimento con las líneas de soja pertenecientes al PMGS de INIA en el invernáculo de Las Brujas:

- Diseño en bloques considerando la variabilidad espacial registrada en el invernáculo (190 genotipos x n repeticiones).
- Incorporación al análisis de la fenología para aumentar la precisión del modelo.

Agradecimientos

inia

U R U G U A Y



FACULTAD DE
AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA



Elena Beyhaut



Juan Rosas



Valeria López



Mariana Mortalena

inia

Referencias bibliográficas

- Anna Karolina Grunvald, Adalgisa Ribeiro Torres, André Luiz de Lima Passianotto, Maria Aparecida Santos, Martine Jean, François Belzile, and Mariangela Hungría (2018). Identification of QTLs Associated with Biological Nitrogen Fixation Traits in Soybean Using a Genotyping-by-Sequencing Approach, DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.01.0031>
- Beyhaut, E. Inoculación exitosa: una calve para la rentabilidad y la sostenibilidad de la soja. País Agropecuario, 2014, v. 19, no 236, p. 18. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/11159/1/236.pdf>
- Gastón Quero, Lucía Gutiérrez, Eliana Monteverde, Pedro Blanco, Fernando Pérez deVida, Juan Rosas, Schubert Fernández, Silvia Garaycochea, Susan McCouch, Natalia Berberian, Sebastián Simondi, and Victoria Bonnacarrère, 2018. Genome-Wide Association Study Using Historical Breeding Populations Discovers Genomic Regions Involved in High-Quality Rice. The plant genome vol. 11, nº 3. Disponible en: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3835/plantgenome2017.08.0076>
- Greder, R.R., J.H. Orf, and J.W. Lambert. 1986. Heritabilities and associations of nodule mass and recovery of *Bradyrhizobium japonicum* serogroup USDA 110 in soybean. Crop Sci. 26:33–37. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1986.0011183X002600010007x>
- Hungria, M., Franchini, J. C., Campo, R. J., Crispino, C. C., Moraes, J. Z., Sibaldelli, R. N. R., Mendes, I. C. et Arihara, J. 2006. Nutrition azotée du soya au Brésil: contributions de la fixation biologique de l'azote et des fertilisants azotés au rendement en grains. Can. J. Plant Sci. 86: 927–939. DOI: <https://doi.org/10.4141/P05-098>

Referencias bibliográficas

- Juan E. Rosas, Sebastián Martínez, Pedro Blanco, Fernando Pérez de Vida, Victoria Bonnacarrère, Gloria Mosquera, Maribel Cruz, Silvia Garaycochea, Eliana Monteverde, Susan McCouch, Silvia Germán, Jean-Luc Jannink, and Lucía Gutiérrez, 2018 Resistance to Multiple Temperate and Tropical Stem and Sheath Diseases of Rice. *The plant genome* vol. 11, nº 3. Disponible en: [10.3835/plantgenome2017.03.0029](https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.03.0029)
- Nicolás, M.F., M. Hungria, and C.A.A. Arias. 2006. Identification of quantitative trait loci controlling nodulation and shoot mass in progenies from two Brazilian soybean cultivars. *Field Crops Res.* 95:355–366. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.04.012>
- Pazdernik, D.L., P.H. Graham, C.P. Vance, and J.H. Orf. 1996. Host genetic variation in the early nodulation and dinitrogen fixation of soybean. *Crop Sci.* 36:1102–1107. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600050005x>
- Peter H.Graham, Carroll P.Vnce, 2003. Legumes: importance and constrains to greater use. *Plant Physiology* Vol 131. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.017004>
- Santos, M.A., M.F. Nicolás, and M. Hungria. 2006. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. *Pesqi. Agropecu. Bras.* 41:67–75. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000100010>
- Yang Q, Yang Y, Xu R, Lv H and Liao H (2019) Genetic Analysis and Mapping of QTLs for Soybean Biological Nitrogen Fixation Traits Under Varied Field Conditions. *Front. Plant Sci.* 10:75. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00075>



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
U R U G U A Y