

HERRAMIENTAS BIOESTADÍSTICAS PARA MEJORAMIENTO DE LA RESISTENCIA GENÉTICA A ENFERMEDADES DEL TALLO EN ARROZ

J. E. Rosas¹, S. Martínez², Victoria Bonnacarrère³, P. Blanco⁴, F. Pérez de Vida⁵, S. Germán⁶, J.-L. Jannink⁷, L. Gutiérrez⁸.

Palabras clave: Podredumbre del tallo, mancha agregada de las vainas, GWAS, covariables, modelos mixtos.

Introducción

La resistencia a enfermedades es uno de los principales objetivos de todo programa de mejoramiento de cultivos. Como para cualquier otra característica, para maximizar la ganancia genética en menos ciclos de mejoramiento, es necesario seleccionar las líneas resistentes con la mayor precisión posible. En arroz, la selección por resistencia a enfermedades del tallo y la vaina por medio de evaluaciones en ensayos de parcelas en campo experimental presenta algunos desafíos. La cantidad de inóculo del hongo puede ser muy heterogénea en condiciones de infección natural, generando variabilidad y disminuyendo la precisión de la estimación fenotípica de la resistencia (Rosas et al. 2016). Además, las condiciones ambientales que favorecen la expresión de estas enfermedades pueden variar anualmente, generando fuerte interacción genotipo por ambiente. Por último, algunos factores morfológicos y fenológicos como la altura de planta (PH) y tiempo de floración (FT) explican parte de la varianza genética de la resistencia a las enfermedades, haciendo difícil mejorar la resistencia en forma independiente de estos rasgos. El objetivo de mejoramiento es incrementar la resistencia sin afectar el ciclo ni la altura de la planta, ya que esto podría traer desventajas agronómicas (Rosas et al. 2017). Una de las estrategias para hacer frente a estos desafíos es complementar la selección fenotípica con selección asistida por marcadores moleculares o *marker assisted selection* (MAS). Para evaluar la conveniencia de la selección asistida para una determinada característica, es necesario conocer su arquitectura genética determinando los loci asociados a rasgos cuantitativos o *quantitative trait loci* (QTL), y la proporción de la varianza fenotípica explicada (PVE) por estos QTL (Massman et al. 2012). Las principales enfermedades que afectan el tallo y la vaina del arroz en Uruguay son la podredumbre del tallo, causada por el hongo *Nakataea oryzae* (NO), y la mancha agregada de las vainas, causada por el hongo *Rhizoctonia oryzae-sativae* (ROS). No existen reportes previos a este estudio sobre la arquitectura genética de la resistencia a estas enfermedades en el arroz cultivado (*Oryza sativa* L.). El mapeo asociativo o *genome-wide association study* (GWAS) permite estudiar la arquitectura genética en una población en la que las frecuencias alélicas

¹ Lic., Mag., Dr., Investigador Asistente, Programa Nacional de Arroz. jrosas@tyt.inia.org.uy

² Ing. Agr., Dr., Investigador Principal, Programa Nacional de Arroz. smartinez@tyt.inia.org.uy

³ Ing. Agr., Dr., Investigador Principal, Unidad de Biotecnología. vbonne@lb.inia.org.uy

⁴ Ing. Agr., M. Sc., Investigador Principal Referente, Programa Nacional de Arroz. pblanco@tyt.inia.org.uy

⁵ Ing. Agr., Ph. D., Investigador Principal Referente, Programa Nacional de Arroz. fperez@tyt.inia.org.uy

⁶ Ing. Agr., Ph. D. Investigador Principal Referente, Programa Nacional de Cultivos de Secano. sgerman@le.inia.org.uy

⁷ Ph. D., Profesor Adjunto, College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University. jj332@cornell.edu

⁸ Ing. Agr., Ph.D., Profesor Asistente, Department of Agronomy, University of Wisconsin-Madison. gutierrezcha@wisc.edu

están desbalanceadas por los diversos niveles de parentesco entre los individuos, como es el caso del germoplasma de un programa de mejoramiento genético (Jannink et al., 2001). Asimismo, el uso de cofactores en el análisis de GWAS permite identificar QTL que sean independientes de la variable usada como cofactor (von Zitzewitz et al., 2011). El objetivo de este trabajo es identificar QTL para resistencia a NO y ROS en el germoplasma del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA, que sean independientes del ciclo y la altura de la planta, y cuantificar la PVE de estos QTL en dicha población.

Materiales y métodos

Material vegetal: Se usaron dos poblaciones para mapeo asociativo, constituidas por líneas representativas de la variabilidad presente en etapas avanzadas de evaluación del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA. La población de líneas de tipo indica fue de 316 genotipos, y la de japónica tropical de 325 genotipos. *Fenotipado:* Se evaluó la resistencia a las enfermedades del tallo y la vaina en ensayos de invernáculo y de campo. En invernáculo, se realizaron dos ensayos para resistencia a NO, y tres para resistencia a ROS. En campo, se utilizaron datos de cuatro años de ensayos con infección natural para japónica tropical, y de dos años para indica, más un año con inoculación artificial para ambas poblaciones. Se registraron las covariables estado fenológico y ancho del tallo en los ensayos de invernáculo, y FT y PH en los de campo. Para cada enfermedad, las medias fenotípicas de la resistencia se estimaron ajustando un modelo sin covariables, y otro utilizando las covariables FT y PH. *Genotipado:* Se obtuvieron matrices de 50K y 29K SNP para las poblaciones indica y japónica tropical, respectivamente. *GWAS:* Se realizaron dos tipos de escaneos de GWAS para resistencia a NO y ROS: 1) usando las medias fenotípicas estimadas sin usar covariables, y el análisis de GWAS sin cofactores; 2) usando las medias fenotípicas estimadas corregidas por las covariables FT y PH, y análisis de GWAS con SNPs seleccionados como cofactores. También se realizó un escaneo de GWAS para FT y otro para PH. El PVE se estimó con un modelo multi-locus conjunto para todos los QTL, incluyendo un SNP por cada QTL significativo. Se estimó el efecto en FT y PH de combinar los alelos de resistencia de todos los QTL identificados en el modelo multi-locus. Se realizó una búsqueda bibliográfica y en bases de datos genómicas anotadas de QTL y genes para FT y PH. Los materiales y análisis de este trabajo se describen en mayor detalle en Rosas et al. (2017).

Resultados de la investigación

Los QTL encontrados en los escaneos de GWAS 1 (medias fenotípicas sin corrección por covariables) coincidieron con los QTL encontrados para FT y PH. Los QTL encontrados con el escaneo de GWAS 2 mostraron diferentes arquitecturas de la resistencia a NO y a ROS en las poblaciones indica y japónica tropical, con PVE intermedias y bajas para ambas enfermedades en ensayos de campo y para NO en invernáculo, y muy bajas para ROS en invernáculo (Figura 1). El efecto de sustitución alélica de los QTL independientes de FT y PH identificados con el escaneo de GWAS 2 en FT y PH fue nulo o muy bajo. Además, ninguno de estos QTL colocalizó con genes o QTL reportados para FT o PH.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo demuestran la utilidad de incluir covariables en el análisis bioestadístico para la obtención de las medias fenotípicas ajustadas, así como el uso de SNPs como cofactores en el análisis de GWAS. De esta forma, se logra remover eficientemente el efecto de factores de confusión no deseados. Los QTL identificados en este trabajo para resistencia a NO y ROS no tienen efecto en FT o PH, por lo que pueden ser de utilidad para mejorar la resistencia por MAS sin alterar las características agronómicas. Los PVE de los QTL identificados para ensayos de campo sugieren la potencialidad de los SNP asociados para MAS de resistencia a NO y ROS. Análisis comparativos de precisión de la selección fenotípica y la asistida, considerando además factores logísticos y económicos, son necesarios para determinar el método de selección más conveniente en cada caso.

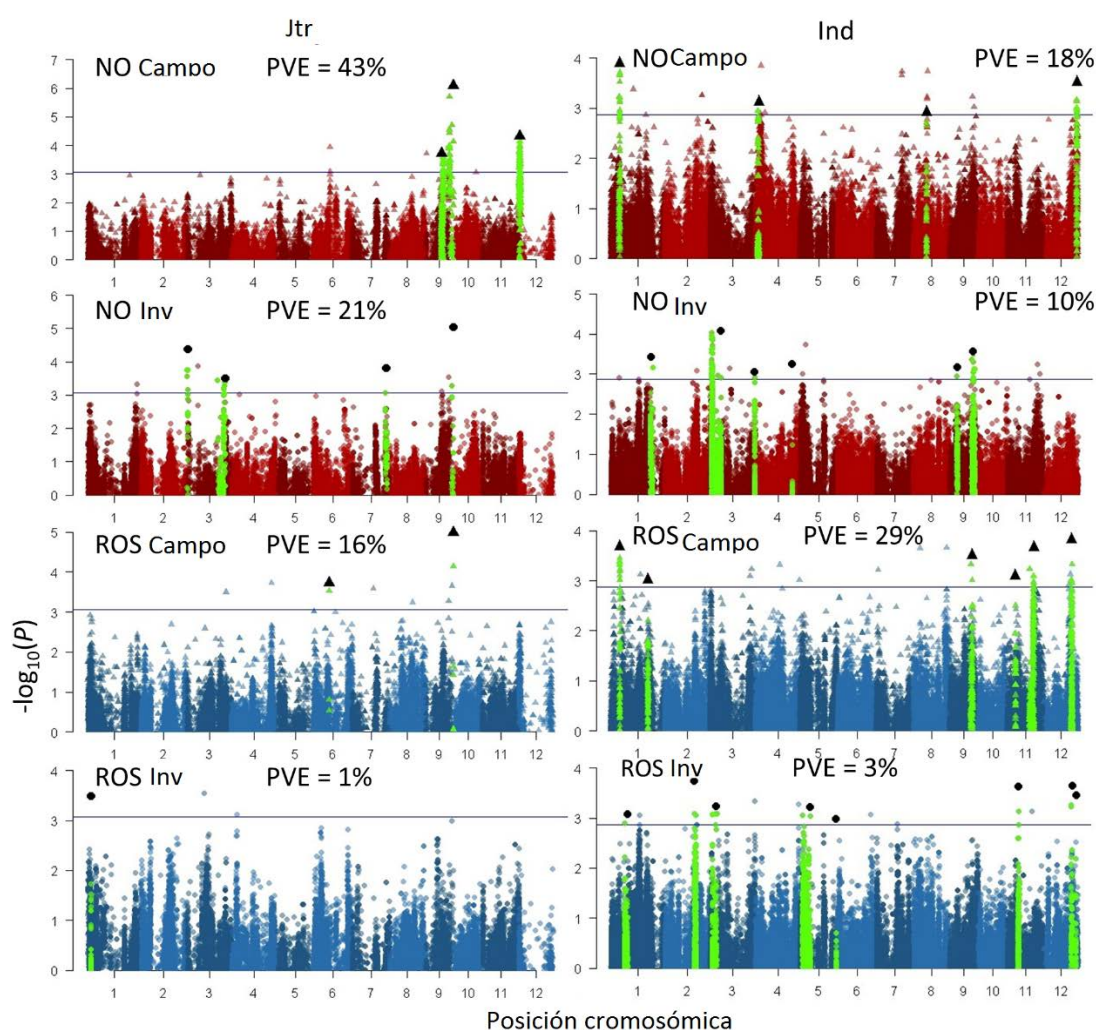


Figura 1. Escaneos de GWAS para resistencia a *Nakataea oryzae* (NO, rojo), y resistencia a *Rhizoctonia oryzae-sativae* (ROS, azul), en ensayos de campo (triángulos) e invernáculo (círculos) para las poblaciones japónica tropical (Jtr, izquierda) e índica (Ind, derecha). Todos los SNPs en las regiones definidas como QTL se marcan en verde, y el SNP con el mayor $-\log_{10}(P)$ de cada QTL se marca en negro. Se reportan las proporciones de la varianza fenotípica explicada (PVE) por todos los QTL de cada escaneo que resultaron significativos en el modelo multi-locus.

Referencias bibliográficas

JANNINK, J. 2001. Using complex plant pedigrees to map valuable genes. *Trends in Plant Science*, v. 6, p. 337-342.

MASSMAN, J.M.; JUNG, H.J.G.; BERNARDO, R. 2008. Genomewide selection versus marker-assisted recurrent selection to improve grain yield and stover-quality traits for cellulosic ethanol in maize. *Crop Science*, v. 53, p. 58-66.

ROSAS, J.E.; MARTÍNEZ, S.; BLANCO, P.; PÉREZ DE VIDA, F.; BONNECARRÈRE, V.; MOSQUERA, G.; CRUZ, M.; GARAYCOCHEA, S.; MONTEVERDE, E.; MCCOUHC, S.; GERMÁN, S.; JANNINK, J.-L.; GUTIÉRREZ, L. 2017. Resistance to multiple temperate and tropical stem and sheath diseases of rice. *The Plant Genome*, doi: 10.3835/plantgenome2017.03.0029.

ROSAS, J.E.; MARTÍNEZ, S.; BONNECARRÈRE, V.; BLANCO, P.; PÉREZ DE VIDA, F.; MALOSETTI, M.; JANNINK, J.-L.; GUTIÉRREZ, L. 2016. Comparison of phenotyping methods for resistance to stem rot and aggregated sheath spot in rice. *Crop Science*, v. 56, p. 1619–1627.

VON ZITZEWITZ, J.; CUESTA-MARCOS, A.; CONDON F.; CASTRO A.J.; CHAO, S.; COREY, A.; FILICHKIN, T.; FISK, S.P.; GUTIÉRREZ, L.; HAGGARD, K.; KARSAI, I.; MUEHLBAUER, G.J.; SMITH, K.P.; VEISZ, O.; HAYES, P.M. 2011. The genetics of winterhardiness in barley: perspectives from genome-wide association mapping. *The Plant Genome*, v. 4, p. 76-91.