

LA INTROGRESIÓN DE GENES SILVESTRES COMO VÍA DE OBTENCIÓN DE GENOTIPOS SUPERIORES DEL GÉNERO ARACHIS

de Blas, F.¹; Costero, B.²; Bressano, M.²; Pepermans, M.²; Delfino, P.²; Oddino, C.^{3,4}; Soave, S.⁴; Soave, J.⁴; Buteler, M.⁴
1- IMBIV-CONICET-UNC 2-FCA-UNC 3-FAV-UNRC 4-Criadero El Carmen
frandebblas@gmail.com

Introducción

El cultivo de maní (*Arachis hypogaea*) en la provincia de Córdoba, se enfrenta a problemas agronómicos causados por enfermedades fúngicas foliares (*Cercospora arachidicola* y *Cercosporidium personatum*) y de suelo (*Thecaphora frezii*) entre las más importantes registradas para este cultivo. El género *Arachis* posee en su conjunto de especies silvestres una fuente de genes de resistencia a factores bióticos y abióticos (Singh, 1986) siendo éste un recurso genético de especial valor para ser vinculado con los programas de mejoramiento del cultivo. La vía más exitosa probada hasta el momento para esta vinculación es la obtención de anfidiplóides sintéticos a partir de especies silvestres compatibles genómica y cromosómicamente con *A. hypogaea*.

En un esfuerzo conjunto del Criadero El Carmen y el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNC, se obtuvo un híbrido inter-específico producto del cruzamiento entre *A. correntina* (Burkart) Krapov. & W.C. Gregory, (K 11905), genoma A y *A. cardenasii* Krapov. & W.C. Gregory (Manfredi PI 475994), genoma A y *A. batizocoi* Krapov. & W.C. Gregory, genoma B. Posteriormente, mediante técnicas de duplicación de cromosomas con colchicina *in vitro*, se obtuvo un anfidiplóide sintético (Torres et al, 2012). El anfidiplóide sintético —JS1806— fue empleado como progenitor donante de polen en un cruzamiento con una línea Alto Oleico de *A. hypogaea* [17304-7-B (AO)] obteniéndose una población de 93 líneas endocriadas (RILs, por sus siglas en inglés).

Esta población se ha evaluado durante tres años y se ha registrado segregación en el comportamiento frente a las enfermedades anteriormente mencionadas. Desde hace poco más de dos décadas, investigadores de distintos grupos han buscado mediante la introgresión de genes silvestres la obtención de poblaciones con suficiente variabilidad genética; tal es el caso de introgresión del QTL homeólogo para resistencia a nematodos (Burow et al, 2014). Los resultados han sido promisorios, pero parciales, ya que la cantidad de anfidiplóides disponibles para llevar adelante la técnica es escasa y las poblaciones derivadas no han sido evaluadas para las enfermedades que afectan al cultivo en nuestra región.

Por todo lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue la identificación mediante la aplicación de modelos multivariados de bioestadística de los individuos pertenecientes a la población de RILs en estudio que posean un comportamiento superior frente a Viruela y Carbón del maní.

Materiales y Métodos

Material vegetal y diseño experimental

Se evaluaron 93 RILs y sus progenitores, JS.17304-7-B y el anfidiplóide sintético JS 1806. Los ensayos se condujeron durante tres años (2014-2017) en un ambiente gestionado, infectario, en el cual para *Tecaphora frezii* se registró un promedio de 11.800 teliosporas/gr de suelo. No se realizó aplicación de fungicidas para control de viruelas.

El experimento se llevó a cabo con diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones; cada repetición estuvo compuesta por 96 surcos/parcelas de 2m de longitud a 70cm y una distancia entre plantas de 10-12 cm.

Evaluación fenotípica

Para la evaluación de la viruela del maní se extrajo una rama cotiledonar por parcela cada 21 días a partir del 24 de febrero de 2015, sobre la que se cuantificó la incidencia (porcentaje de foliolos enfermos) y la severidad (porcentaje de área foliar perdida) calculada según la fórmula, $ST = ((1 - D) \times Sx) + D$; donde ST: severidad total, Sx: severidad promedio calculada a través de una escala diagramática de severidad (Plaut & Berger, 1980) y D: defoliación. Para la evaluación de carbón del maní, al final del ciclo de cultivo se cosechó la totalidad de las vainas, cuantificándose la epifitias mediante la incidencia (% de vainas enfermas) y severidad (escala de 0 a 4).

Análisis estadístico

Todos los análisis y representaciones gráficas se realizaron con el software InfoStat v.2017 (Di Rienzo et al, 2017)

Para el análisis de carbón del maní se consideró la variable incidencia, se empleó un modelo mixto con los genotipos considerados efectos fijos, ya que se pretende hacer inferencia sobre las medias de esta población en particular, y los bloques y años como efectos aleatorios, considerando la interacción entre ellos: $y = \text{Genotipo} + \text{Año} + \text{Bloque} + \text{Año} * \text{Bloque}$ Los valores de incidencia fueron transformados mediante la

fórmula: $\arcsen\sqrt{\text{valor de incidencia}}$ para ajustar la distribución de los datos a una curva normal (Sokal and Rohlf 1995). En el modelo se empleó la función identidad (varIdent) como función de varianza para modelar la heterocedasticidad entre bloques y años. Para comparar las medias de los porcentajes de incidencia entre genotipos se usó la prueba de formación de grupos excluyentes LSD Fisher con corrección de p-valor = 0.05 de Benjamini & Hochberg.

El análisis estadístico para viruela del maní se realizó de la misma manera usando la variable severidad como indicador del nivel de susceptibilidad de las plantas en presencia del agente causal.

Análisis multivariado

Análisis de componentes principales (ACP) (Wold, S, 1987); la reducción de la dimensionalidad para las variables de cada una de las enfermedades estudiadas, permitió identificar los genotipos menos susceptibles a ambas enfermedades. La representación gráfica de los resultados de ACP es un árbol de recorrido mínimo (ARM) con estandarización de las variables para su correcta comparación e interpretación.

Resultados

Viruelas: todos los genotipos ensayados presentaron síntomas de viruela del maní. La prueba de diferencias entre medias permitió discriminar tres grupos estadísticamente distintos ($p \leq 0,05$): A: susceptibilidad media a alta; B: susceptibilidad media; y C: susceptibilidad media a baja (Gráfico 1). Si bien, el grupo C está representado sólo por el progenitor anfidiplóide (JS 1806) se observa una tendencia de valores de menor susceptibilidad de los genotipos ubicados hacia la derecha.

Carbón: se distinguen tres grupos estadísticamente distintos ($p \leq 0,05$): A: con un nivel de susceptibilidad medio a alto; el B: de nivel medio; y el C: de bajo—menor al 1% de incidencia—, éste último grupo incluye al anfidiplóide sintético JS-10806 (Gráfico 2).

Análisis de Componentes Principales (ACP): El CP1 explica el 58,1% de la variabilidad observada en los datos analizados, el CP2 explica el restante 41,9%. El coeficiente cofenético = 1,0 nos indica que durante el proceso no ha ocurrido una gran perturbación en lo que se refiere a la estructura original de los datos. Así, este análisis permite identificar cuatro genotipos de comportamiento superior para la viruela y carbón del maní: R92, R7, R4, R73. En esta representación gráfica bidimensional se observa la posición opuesta de los mismos respecto a las medias de severidad de viruela e incidencia de carbón indica que son los genotipos con menos susceptibilidad a ambas enfermedades. La proximidad (recorridos mínimos) de los cuatro genotipos y el progenitor JS1806 (Gráfico 3), nos permite hipotetizar que éstos poseen una combinación de genes, heredados desde el anfidiplóide, que les otorgan su comportamiento de menor susceptibilidad.

Éste tipo de análisis también brinda información suficiente como para determinar la correlación entre las enfermedades estudiadas, en esta población, como un dato interesante para entender la manera en que éste grupo de genes se heredan. El coeficiente de correlación de Pearson establece un valor de 0.41; basándonos en este valor de correlación, los genes podrían heredarse “empaquetados” y sería menos probable que éstos estén en desequilibrio de ligamiento.

Estos resultados, permiten inferir que la fuente de resistencia a esta enfermedad tan importante para la producción regional, proviene de las especies silvestres que conforman al anfidiplóide sintético parental de las RILs. Hasta el momento, la resistencia hallada provenía de variedades botánicas cultivadas de la especie *A. hypogaea* diferentes a la variedad *hypogaea* dentro de la que están agrupados los cultivares tipo “runner”. Queda sujeto a verificación si los genes que condicionan la resistencia son los mismos o se está ante otro grupo o tipo.

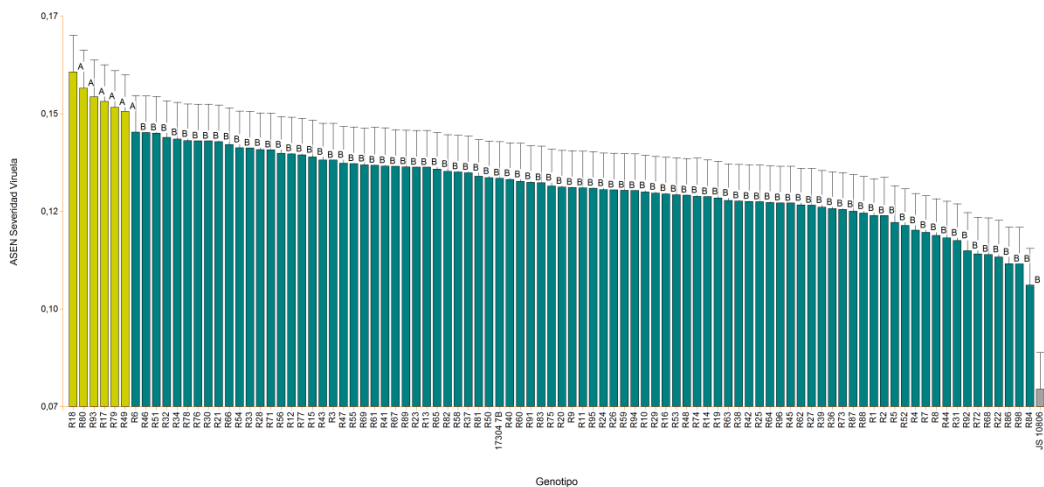


Gráfico 1: Incidencia de viruela (arco seno $\sqrt{\%}$) - Medias ajustadas y errores estándares para genotipos ensayados en durante las campañas 2014/17. LSD Fisher ($\alpha=0.05$). Corrección de p-valores Bejamini & Hochberg.

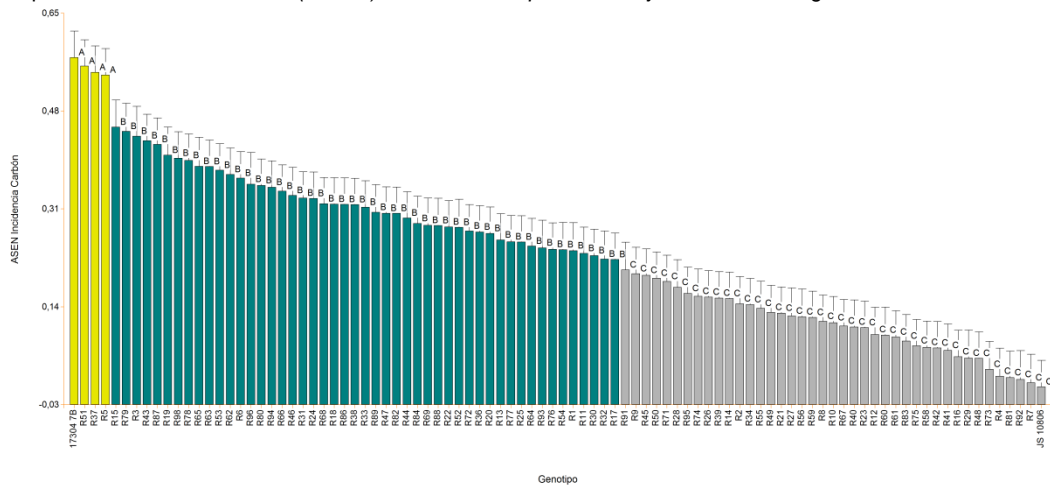


Gráfico 2: Incidencia de carbón (arco seno $\sqrt{\%}$) - Medias ajustadas y errores estándares para genotipos ensayados en durante las campañas 2014/17. LSD Fisher ($\alpha=0.05$). Corrección de p-valores Bejamini & Hochberg.

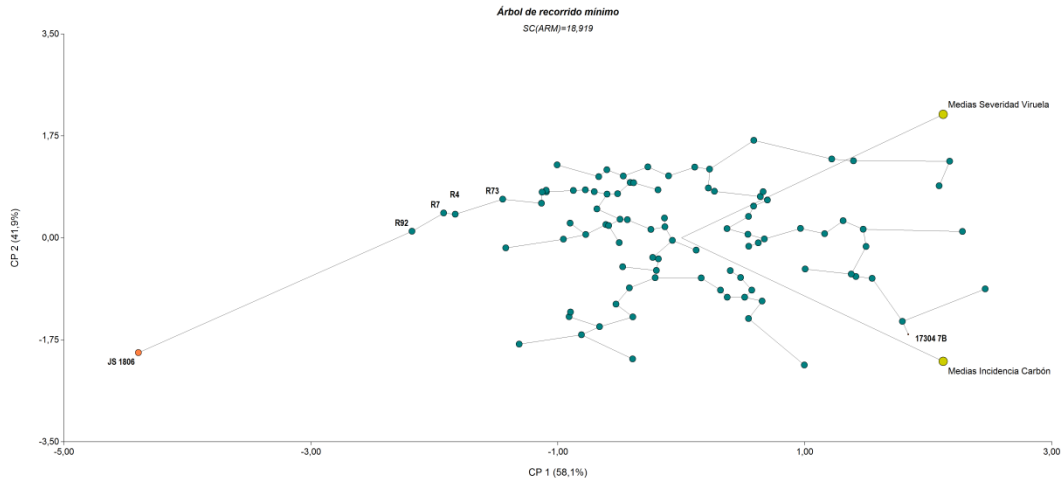


Gráfico 3: Análisis de componentes principales. Árbol de recorrido mínimo, se observa la similitud de los genotipos: R92, R7, R4 y R73 con el progenitor JS 10806. Coeficiente de correlación cofenética = 1,0

Bibliografía consultada

- J. L. Plaut and R. D. Berger (1980) Development of *Cercosporidium personatum* in Three Peanut Canopy Layers. Peanut Science: January 1980, Vol. 7, No. 1, pp. 46-49.
- Rohlf, F. J., & Sokal, R. R. (1995). *Statistical tables*. Macmillan.
- Wold, S., Esbensen, K., & Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 2(1-3), 37-52.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>