

MAPEO ASOCIATIVO DE ARSÉNICO EN GRANO DE ARROZ EN GERMOPLASMA AVANZADO DE INIA

L. Ale¹, M. Verger², A. Raab³, J. Feldmann³, F. Pérez de Vida⁴, J. E. Rosas⁵

PALABRAS CLAVE: GWAS, inocuidad alimentaria, QTL

INTRODUCCIÓN

El arroz irrigado es uno de los cultivos más afectados por la eventual contaminación con arsénico (As) debido a las condiciones reductoras generadas por la lámina de agua que favorecen su captación inespecífica. Producir arroz que cumpla los estándares más estrictos de inocuidad en el mercado internacional es una prioridad para nuestro país, siendo también uno de los objetivos del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA (PMGA). La variación de As en el grano de arroz tiene un fuerte componente ambiental, seguido por el genotipo y la interacción genotipo-ambiente (Norton *et al.*, 2009). Además, la determinación de As por métodos químicos no es adecuada para el volumen de muestras que requieren los programas de mejoramiento genético, lo que hace que el mejoramiento para bajo contenido de As sea un objetivo desafiante. Las herramientas moleculares como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y su uso en selección asistida, permitirían la selección a bajo costo en el marco del programa. Para evaluar la aplicabilidad de selección asistida para contenido de As en el grano es necesario identificar regiones o loci asociados a este rasgo (QTL) en el germoplasma del PMGA y evaluar su interacción con los ambientes locales. Los estudios de mapeo asociativo genómico (GWAS) son una estrategia adecuada para ello. Los objetivos de este trabajo fueron identificar SNP asociados al contenido de As en grano en líneas avanzadas

representativas del germoplasma del PMGA, evaluar la interacción de estas asociaciones con el ambiente, y la utilidad de estos SNP para selección asistida en el programa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos poblaciones compuestas por 160 líneas avanzadas de tipo *índica* y 207 de tipo *japónica* tropical, representativas del germoplasma del PMGA. Las poblaciones fueron evaluadas en dos ensayos de campo en las zafras 2017-2018 y 2018-2019, en la Unidad Experimental Paso de la Laguna (Treinta y Tres) de INIA, con un diseño experimental de bloques completos aumentados. El grano cosechado se analizó para determinar su contenido de As total. Para el ensayo de 2017-2018 se analizaron todas las líneas, mientras que para el de 2018-2019 fueron 122 de tipo *índica* y 122 de tipo *japónica* tropical. Se determinó el contenido de As total en grano pulido mediante GF-AAS e ICP-MS en el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) y en el *Trace Element Speciation Laboratory* (TESLA) de la Universidad de Aberdeen (Reino Unido), respectivamente. Las líneas estudiadas contaban con datos de SNP obtenidos por genotipado por secuenciación en estudios previos (Rosas *et al.*, 2017). Se realizó un GWAS para cada año y población, estudiando la asociación entre las medias ajustadas para el contenido de As total en los ensayos de 2017-2018 y 2018-2019, y 50K SNP para la población de tipo *índica* y 20K SNP para la *japónica* tropical. Se utilizaron modelos mixtos con el genotipo modelado como aleatorio para corrección por estructura de la población. Se definieron como QTL

¹ Lic. Cs. Biol. Facultad de Ciencias UdelaR

² Quím. Farm. M.Sc. LATU

³ Dipl. Chem. Ph.D. TESLA – Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, University of Graz (Austria)

⁴ Ing. Agr. M.Sc. Ph.D. INIA Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz

⁵ Lic. M.Sc. Dr. INIA Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz jrosas@inia.org.uy

para As total las regiones con al menos 3 SNP significativos a no más de un millón de pares de bases (Mpb), con $R^2 \geq 0,3$. Por cada QTL se ajustó una primera serie de modelos multilocus, descartando los SNP no significativos. Los QTL con más de un SNP significativo fueron representados por haplotipos. Luego se ajustó un modelo multilocus con todos los SNP y haplotipos seleccionados, y mediante un procedimiento *backwards* se eliminaron los no significativos. Con el modelo multilocus final se estimó la proporción de la varianza fenotípica explicada (PVE) para cada año y población. Para evaluar la interacción QTL por ambiente, se estimó la PVE por los QTL identificados en un año, en las medias fenotípicas del otro año.

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Las heredabilidades fueron de 0,64 y 0,34 en el ensayo de 2017-2018, y de 0,05 y 0,02 en el ensayo de 2018-2019, para *índica* y *japónica* tropical, respectivamente. Las correlaciones entre los valores de As total ajustados

para los años 2017-2018 y 2018-2019 no fueron significativas en ninguna de las dos poblaciones ($P > 0,1$, Figura 1). En la figura 2 se muestran los QTL encontrados en este estudio. Se identificaron 34 QTL asociados al contenido de As, 27 en la población *índica* y 7 en *japónica* tropical. Se encontraron cuatro QTL consistentes: en 1,2-1,6 Mpb del cromosoma 1 fue consistente entre ambas poblaciones y ambientes; en 13,3-14,9 Mpb del cromosoma 1 fue consistente entre ambos ensayos en *índica*; en 17,2-19,9 Mpb del cromosoma 10 fue consistente entre ambos ensayos en *japónica* tropical y en 22,0-22,4 Mpb del cromosoma 11 fue consistente entre ambas poblaciones en el ensayo 2017-2018. Cinco QTL coinciden en su localización con QTL previamente reportados (Murugaiyan *et al.* 2019; Liu *et al.* 2019). En el cuadro 1 se muestran los SNP y haplotipos seleccionados en cada modelo multilocus. La PVE por los QTL para los valores fenotípicos de un mismo año fueron altos, sin embargo, las PVE cruzadas estimadas con los QTL de un año y los valores fenotípicos del otro no superaron en ningún caso 0,1, indicando una fuerte interacción QTL por ambiente.

2

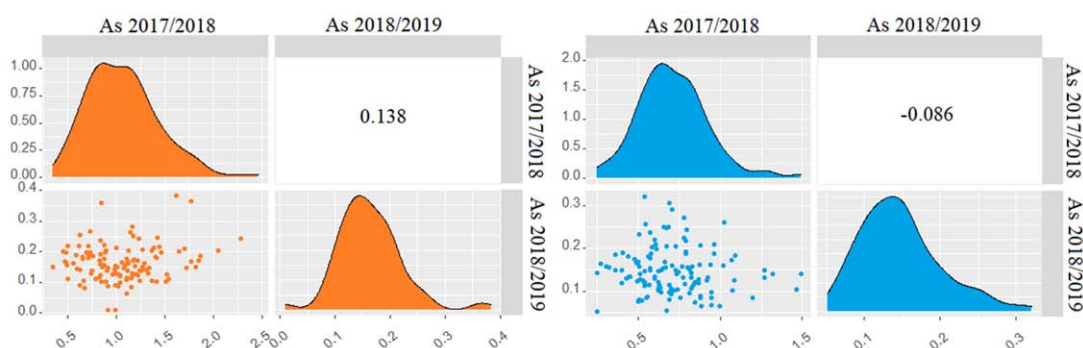


Figura 1. Correlación y distribución del contenido de arsénico total en grano para las poblaciones *índica* (izquierda) y *japónica* tropical (derecha), correspondientes a los ensayos 2017-2018 y 2018-2019.

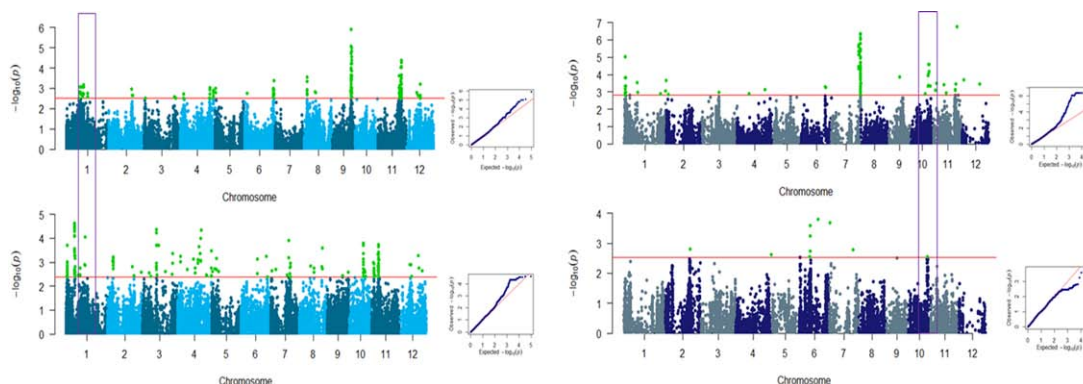


Figura 2. Resultados del GWAS para contenido de arsénico total en grano en las poblaciones *indica* (izquierda) y *japónica tropical* (derecha). Los gráficos de Manhattan y cuantil-cuantil correspondientes a los ensayos 2017-2018 y 2018-2019 se muestran en los paneles superior e inferior, respectivamente. Los QTL detectados en ambos años se representan con los recuadros violeta.

Cuadro 1. SNP seleccionados en el modelo conjunto multilocus para la determinación de la proporción de la varianza fenotípica explicada (PVE) por los QTL. Los SNPs de un mismo QTL formando haplotipos se muestran separados por dos barras. La PVE cruzada es la proporción de varianza en el experimento de un año que es explicada por los QTL identificados en el otro año.

Año	Tipo	Cromosoma	SNP	PVE	PVE cruzada
2018	<i>indica</i>	4	S4_3577731	0,31	(2019) 0,03
		4	S4_27426190//S4_30182896		
		8	S8_12067738		
	<i>japónica tropical</i>	9	S9_18977380//S9_19403255	0,34	(2019) 0,05
		7	S7_29092572//S7_29467615		
		10	S10_18360613		
2019	<i>indica</i>	11	S11_22444519//S11_23728357	0,55	(2018) 0,03
		1	S1_14814675		
		1	S1_1345895		
		3	S3_31218200		
	<i>japónica tropical</i>	7	S7_18504277	0,16	(2018) 0,01
		10	S10_14683637//S10_14501488		
		11	S11_7001370//S11_7444009		

CONCLUSIONES

Las heredabilidades intermedias y bajas, particularmente para el ensayo 2018-2019 donde los valores de As total fueron muy bajos, confirman la importancia del efecto ambiental, mientras que la baja correlación de los valores de As total entre los ensayos de diferentes años muestra la relevancia de la interacción genotipo por ambiente. Aun así, de los 34 QTL reportados en este trabajo, 2 de ellos se detectaron en ambos años y 3 pares de QTL se ubicaron en regiones muy próximas entre las dos zafas. Esta variación de las regiones genéticas involucradas en la acumulación de As total en el grano en función de las condiciones ambientales hace necesario caracterizar los ambientes objetivo a los que enfocar los esfuerzos de mejoramiento. Nuestros resultados sugieren que los marcadores identificados en el ensayo 2017-2018 podrían ser de utilidad para ambientes que favorecen una mayor acumulación de As total, mientras que los identificados en 2018-2019 podrían asociarse a ambientes con acumulación media de este elemento. Se requiere estudiar un mayor rango de ambientes para confirmar estos resultados y determinar con mayor confianza la utilidad de los marcadores identificados para selección asistida.

BIBLIOGRAFÍA

- Liu X.; Chen S.; Chen M.; et al.** 2019. Association study reveals genetic loci responsible for arsenic, cadmium and lead accumulation in rice grain in contaminated farmlands. *Front. Plant Sci.* 10:61. doi: 10.3389/fpls.2019.00061
- Murugaiyan, V.; Ali, J.; Mahender, A.; Aslam, U.M.; Ahmed Jewel, Z.; Pang, Y. Marfori-Nazarea, C.M.; Wu, L.B.; Frei, M.; Li, Z.** 2019. Mapping of genomic regions associated with arsenic toxicity stress in a backcross breeding population of rice (*Oryza sativa* L.). *Rice*, 12, 61. doi: <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0321-y>
- Norton, G. J.; Deacon, C. M.; Xiong, L. Huang, S.; Meharg, A. A.; Price, A.H.** 2010. Genetic mapping of the rice ionome in leaves and grain: identification of QTLs for 17 elements including arsenic, cadmium, iron and selenium. *Plant and Soil*, 329(1-2), 139-153. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0141-8>
- Rosas, J.E.; Martínez, S.; Blanco, P., Pérez de Vida, F.B.; Bonnacarrère, V.; Mosquera, G.; Cruz, M.; Garaycochea, S.; Monteverde, E.; McCouch, S.; Germán, S.; Jannink, J.L.; Gutiérrez, L.** 2017. Resistance to multiple temperate and tropical stem and sheath diseases of rice. *Plant Genome*, 11:1–13. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.03.0029>