

7. GENÉTICA DEL CONTENIDO DE ARSÉNICO EN GRANO DE ARROZ II: MATERIALES PROMISORIOS Y GENES CANDIDATOS

L. Ale¹, M. Verger², F. Pérez de Vida³, J. E. Rosas⁴

PALABRAS CLAVE: inocuidad alimentaria, mejoramiento genético, SNP

INTRODUCCIÓN

Las condiciones de cultivo de arroz irrigado favorecen la disponibilidad y captación de arsénico (As) proveniente naturalmente del suelo y de fuentes antropogénicas y su acumulación en el grano de la planta (Rahman *et al.*, 2007). El As en su forma inorgánica (iAs) es carcinógeno por lo que su contenido y el del As total (tAs) con el cual está correlacionado, han sido regulados para la comercialización del grano. Producir arroz con bajos niveles de iAs y tAs es por lo tanto crucial para la inocuidad del consumo y para el acceso a mercados. El contenido de As en el grano de arroz es determinado por factores ambientales y genéticos, por lo que el uso de cultivares con una genética favorable es clave para la inocuidad en la producción. Asimismo, se han reportado algunos genes que participan en la captación, transporte y acumulación de As en el grano. Por lo tanto, para el mejoramiento genético de esta característica es necesario conocer su variabilidad genética en nuestro germoplasma, identificar líneas con comportamiento superior que puedan ser utilizadas como parentales y evaluar el efecto de genes candidatos y su utilidad para selección asistida. Este trabajo reporta la primera evaluación del efecto genotípico en 32

líneas avanzadas y variedades del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA (PMGA), de genes candidatos segregando en estas líneas, el efecto del ambiente y de la interacción entre estos factores en los contenidos de iAs y tAs en grano. Los resultados obtenidos sientan las bases para el mejoramiento de la inocuidad del grano en el germoplasma de arroz de INIA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión sobre genes reportados en la bibliografía relacionados con el contenido de As en la planta de arroz y se obtuvo una lista de 15 genes candidatos. En una población genotipada de 621 líneas avanzadas del PMGA (Rosas *et al.*, 2018) se identificaron marcadores moleculares de tipo polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) intragénicos y segregando en los siguientes genes candidatos: LSI2, OsABCC1, OsPT8, OsGrx_C2.1, OsHAC4 y OsHAC1:2. Se seleccionó un grupo de 17 líneas y variedades *índica* (ind) y 15 líneas y variedades *japónica* tropical (jap) que permitieran evaluar el mayor número de combinaciones alélicas posible de dichos genes. Los 32 genotipos seleccionados (Figura 2) fueron evaluados en dos ensayos de

¹ Lucas Ale, Lic. Cs. Biol. estudiante de maestría Biotecnología, Facultad de Ciencias, UDELAR.

² Melissa Verger, Quím. Farm. M.Sc. LATU.

³ Fernando Pérez de Vida, Ph.D. INIA Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz

⁴ Juan E. Rosas, Dr. INIA Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz.

jrosas@inia.org.uy

campo en las zafras 2018-2019 (ensayo z1) y 2019-2020 (ensayo z2), en la Unidad Experimental Paso de la Laguna (Treinta y Tres) de INIA. Se aplicó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental fue una parcela de cuatro hileras de 0,8 x 2,4 m² sembradas por siembra directa, de la que se cosecharon las dos hileras centrales. Después de su cosecha, los granos de arroz fueron enviados al departamento de Cereales, Oleaginosos y Productos derivados del LATU para su procesamiento molinero y luego al departamento de Espectrometría Atómica de Alimentos y Medio Ambiente del LATU, donde se realizó la determinación de especies de As en grano pulido mediante la técnica de HPLC-ICP-MS. Para cada observación de iAs y tAs se calculó el porcentaje del total de arsénico correspondiente a iAs (% iAs). Se ajustaron sendos modelos de efectos fijos para estimar los efectos principales de genotipo, tiempo de pulido, grado de molienda, días a 50 % de floración, año de ensayo y la interacción genotipo por año en el contenido de iAs y de tAs. Con las medias genotípicas obtenidas de estos modelos se calcularon las correlaciones de Pearson entre contenido de iAs y de tAs y las correlaciones genéticas entre ambos ensayos, se compararon con un análisis de Tukey y se generó un ranking

de líneas promisorias para bajo contenido de As. Estos mismos modelos, pero con el genotipo modelado como efecto aleatorio se utilizaron para estimar la heredabilidad en los ensayos. En un segundo modelo de efectos fijos se incluyeron los mismos efectos pero sustituyendo al genotipo por los efectos de SNP segregando en los seis genes candidatos en estudio y se estimaron los efectos de sustitución alélica en los haplotipos conformados por dichos SNP. Para todas las pruebas de significancia se consideró un $\alpha = 0,01$. Los análisis estadísticos se realizaron en R base y con los paquetes *lme4* y *ggplot2*.

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Para el contenido de iAs fueron significativos los efectos de genotipo, año, tiempo de pulido y de interacción genotipo por año. Las heredabilidades en el ensayo z1 fueron 0,92 (ind) y 0,71 (jap) y en z2 0,89 (ind) y 0,90 (jap). Para tAs sólo el efecto año fue significativo y las heredabilidades en z1 fueron 0,34 (ind) y 0,21 (jap) y en z2 0,00 (ind) y 0,12 (jap). En ambos ensayos los valores genéticos para contenido de iAs fueron significativamente mayores en *índica* (media 0,071 mg/kg) que en *japónica* (media 0,054 mg/kg), mientras

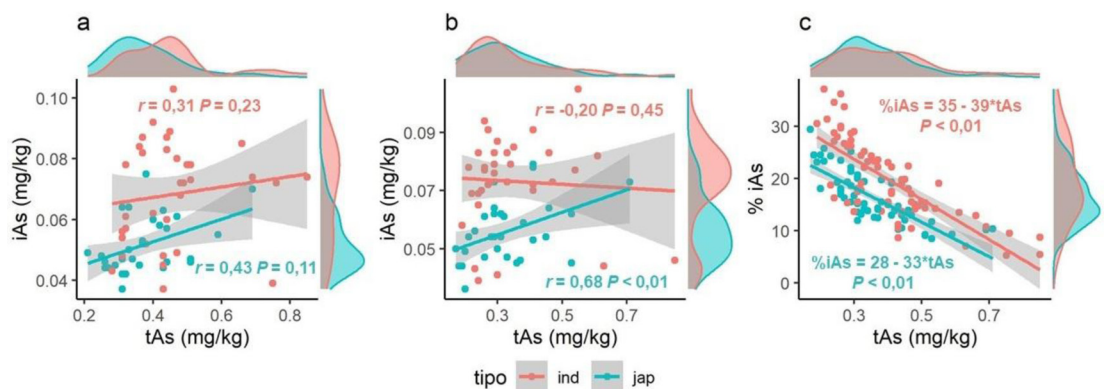


Figura 1. Distribuciones y relaciones entre el contenido de arsénico inorgánico (iAs) y de arsénico total (tAs) en grano con los valores de correlación de Pearson entre valores genéticos (r) y su P-valor asociado (P) en ensayo z1 en 2018-2019 (a) y ensayo z2 en 2019-2020 (b) y porcentaje del arsénico total correspondiente a arsénico inorgánico (% iAs) en función del arsénico total, para genotipos *índica* (ind) y *japónica* (jap).

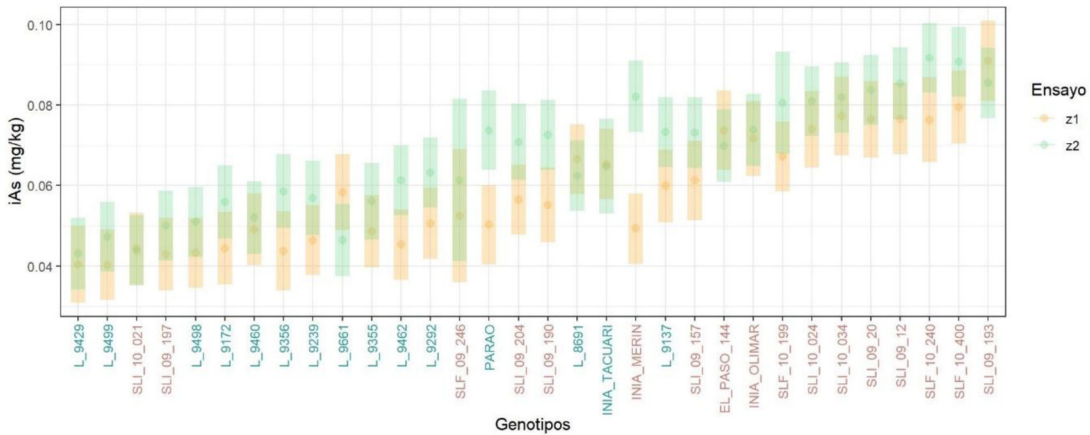


Figura 2. Valores genéticos para contenido de arsénico inorgánico (iAs) de las líneas y variedades evaluadas en los ensayos 2018-2019 (z1) y 2019-2020 (z2).

que la diferencia entre subespecies no fue significativa para contenido de tAs. Sólo se encontró una correlación genética significativa entre el contenido de iAs y de tAs en z2 en materiales *japónica* (Figura 1 b). La relación entre el porcentaje de iAs en el total de especies de As, y el contenido de tAs fue significativa, reduciéndose

en 1% por cada 39 mg/kg de tAs en *índica* y por cada 33 mg/kg de tAs en *japónica* (Figura 1 c).

De las 13 líneas con menor contenido de iAs según la prueba de Tukey, tres fueron *índica* y el resto *japónica* tropical (Figura 2). Las líneas con mejor comportamiento para contenido de iAs mantuvieron bajos niveles

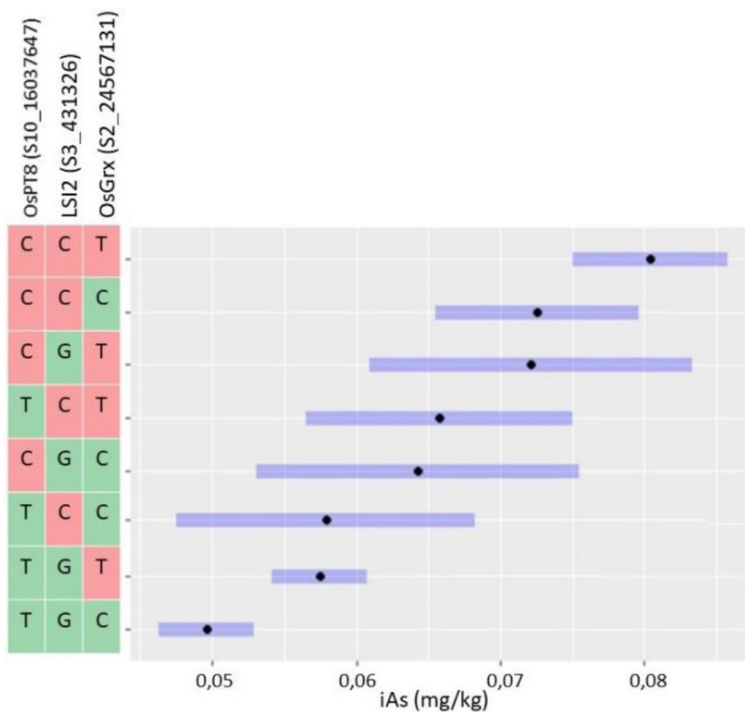


Figura 3. Contenido de arsénico inorgánico (iAs) estimado para las combinaciones alélicas de los tres SNP ubicados en genes candidatos con efectos significativos. El alelo favorable de cada SNP se muestra en verde y en rojo el desfavorable. Los intervalos de confianza para los valores estimados están sombreados en azul.

en ambos ensayos. La interacción genotipo por año encontrada se debió principalmente al comportamiento de las variedades INIA Merín y Parao, que tuvieron valores bajos de iAs en z1 y altos en z2.

El análisis de genes candidatos mostró un efecto significativo de los SNP intragénicos en los genes candidatos OsPT8, LSI2 y OsGrx, cuyos alelos favorables combinados correspondieron a un contenido de iAs promedio de 0,05 mg/kg, mientras que la combinación de los alelos desfavorables de los tres genes tuvo un un contenido de iAs de 0,08 mg/kg (Figura 3).

CONCLUSIONES

El contenido de tAs estuvo fuertemente influenciado por el ambiente, por lo que para la selección fenotípica para bajo contenido de tAs deberían plantearse ensayos en ambientes controlados. Para el contenido de iAs, se

encontró una variabilidad genética adecuada en las líneas avanzadas y variedades evaluadas, identificándose genotipos con buen comportamiento que podrán ser utilizados en futuros cruzamientos. Los resultados del análisis de genes candidatos sugieren que los genes OsPT8, LSI2 y OsGrx podrían jugar un rol importante en la acumulación de iAs en el grano en el germoplasma de INIA.

BIBLIOGRAFÍA

- Rahman, M. A.; Hasegawa, H.; Rahman, M. M.; Rahman, M. A.; Miah, M. A. M.** 2007. Accumulation of arsenic in tissues of rice plant (*Oryza sativa* L.) and its distribution in fractions of rice grain. *Chemosphere*, 69(6), 942–948. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.044>
- Rosas, J. E.; Martínez, S.; Blanco, P; Pérez, F.; Mosquera, G.; Cruz, M.; Garaycochea, S.; Mccouch, S.; Germán, S.; Jannink, J. L.; Gutiérrez, L.** 2018. *Plant Genome*, 11(1): art. 170029, p.1–13. Doi: <https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.03.0029>