

ANÁLISIS MEDIANTE GWAS DE LA FUNCIONALIDAD DEL FOTOSISTEMA II EN ARROZ

Juan Manuel Vilas¹; Estanislao Burgos²; María Lucrecia Puig¹; Jose L Colazo³; Alberto Livore³; Oscar Ruiz¹; Fernando Carrari²; Andrés A Rodríguez¹; Santiago Javier Maiale¹

LA INVESTIGACIÓN

El aumento en la población mundial hace que sea necesaria una mayor disponibilidad de alimentos. Por eso, es imprescindible para los programas de mejora vegetal, incluir nuevas tecnologías que asistan a obtener variedades con mayores potenciales de rendimiento. En este sentido, la asociación entre genotipo y fenotipo ha presentado significativos avances gracias al desarrollo de la biología molecular y las nuevas técnicas de fenotipado de alta resolución. En el caso del arroz, se han desarrollado paneles de diversidad genotipados con cientos de accesiones, cuya finalidad es ser utilizados en estudios de mapeos por asociación que vinculan caracteres cuantitativos del fenotipo de las plantas, con distancias genéticas relativas a lo largo del genoma.

El cloroplasto, la organela responsable de la captación de la luz solar para la fijación de dióxido de carbono en azúcares, tiene un rol preponderante en el censado y respuesta a cambios medioambientales. El desarrollo de nuevas variedades con una mayor eficiencia fotosintética de captura de la luz, se podría traducir en un mayor rendimiento de grano en estadios reproductivos, destinando mayores recursos fotosintéticos para la generación de foto-asimilados, que podrían ser re-movilizados hacia el grano, lo que se traduciría en un mayor rendimiento final de grano. Es por ello que, con solo aumentar el potencial de la fotosíntesis de la planta de arroz, es posible que se produzca un punto de ruptura del rendimiento.

Con el objetivo de vincular la eficiencia fotosintética con regiones del genoma de arroz, una colección de 424 plantas de arroz (RDP-1), que representa las cinco sub poblaciones principales de *Oryza sativa* L., fue fenotipada usando fluorescencia transitoria de la clorofila a. Las medidas fueron realizadas en dos ambientes; INTECH, Chascomús, Pcia. Bs. As. y estación experimental del INTA en Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Posteriormente, con los datos de los diferentes fenotipos se realizó un análisis de GWAS.

RESULTADOS DE DESTAQUE

Se demostró la relevancia de los procesos fotosintéticos en la regulación del funcionamiento celular en arroz, mediante la vinculación de genes específicos y procesos asociados al funcionamiento del cloroplasto, como la disipación energética y el transporte de electrones durante los procesos de captación lumínica. A su vez, otros fenotipos relacionados con la funcionalidad y la eficiencia del fotosistema, correlacionan positivamente con componentes de rendimientos de cosecha. De esta manera, se obtuvo una triple relación entre capacidad fotosintética, procesos moleculares y rendimiento de grano.

En su conjunto, los resultados obtenidos proveen marcadores moleculares asociados a dichos caracteres fotosintéticos, para asistir a programas de mejoras en pos de obtener cultivos más eficientes y con mayores potenciales de rendimiento agrícolas

¹ Laboratorio de estrés biótico y abiótico en plantas, INTECH-CONICET, Av Intendente Marino Km 8,5, Chascomus-PBA-AR. juanmvilas@gmail.com

² Molecula Physiology of Plant Metabolism. IFIBYNE-UBA-CONICET. Ciudad de Buenos Aires - Argentina

³ Grupo de Trabajo Mejoramiento Genético de Arroz (GTMGA). INTA. Ruta Prov. 39 km 143.5 Concepción del Uruguay, Entre Ríos.

AVALIAÇÃO DA REAÇÃO À BRUSONE EM FOLHAS E PANÍCULAS DE GERAÇÕES SEGREGANTES DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DO IRGA

Gabriela de Magalhães da Fonseca¹; Débora Favero²; Danielle Almeida³; Roberson Diego Souza Almeida⁴; Solismar Rodrigues Luz⁵; Antonio Folgiarini de Rosso⁶; Oneides Antonio Avozani⁷; Daniel Arthur Gaklik Waldow⁷; Flávia Miyuki Tomita⁸; Camila Scalco⁹

Palavras-chave: *Pyricularia oryzae*, resistência, variabilidade

INTRODUÇÃO

As perdas mundiais nas safras agrícolas custam US\$550 bilhões por ano, sendo aproximadamente 40% dessas perdas causadas por doenças (BODDY, 2016). Um hectare de arroz alimenta cerca de 25 pessoas e espera-se, em 2050, que cada hectare alimente 45 pessoas, suprimindo a demanda da população crescente (BODDY, 2016). No início do Século XXI as perdas na produção de arroz chegaram a 37,4%, sendo a brusone responsável pela redução de mais de 50 milhões de toneladas do grão por ano, arroz suficiente para alimentar quase 60 milhões de pessoas (BODDY, 2016; RIJAL *et al.*, 2017).

A busca pela resistência à brusone, doença causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Sacc. (forma imperfeita) - *Magnaporthe oryzae* (Herbert) Barr. (forma perfeita), é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento de arroz nacionais e internacionais. Isso se justifica pela brusone ser considerada a doença que mais limita a produção de arroz no mundo (RIJAL *et al.*, 2017). Entre as estratégias de controle de doenças, a resistência genética é considerada a principal e mais econômica para brusone. Mais de 70 genes de resistência à brusone já foram identificados, porém, a resistência das cultivares geralmente tem curta duração, devido à variabilidade genética do patógeno (BODDY, 2016). O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência de materiais resistentes nas diferentes gerações segregantes do programa de melhoramento genético do IRGA, além de mensurar a eficiência do processo de seleção em três safras agrícolas, visando a manutenção de fontes de resistência à brusone no programa.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi instalado e conduzido em uma área na localidade de Morrinhos do Sul, em Torres/RS. A metodologia de avaliação utilizada foi a de *hot spot* (CORREA-VICTORIA & ZEIGLER, 1993; OGOSHI, 2015), na qual a principal característica é a alta pressão de inóculo do fungo, permitindo avaliar a resistência das plantas de forma completa, visto que as raças fisiológicas do patógeno presentes no local atuam em todas as fases de desenvolvimento dos genótipos do

¹ Eng^o. Agr^o. Dra. Seção de Melhoramento Genético/IRGA. Av. Bonifácio Carvalho Bernardes, 1494. Bairro João Carlos Wilkens, Cachoeirinha/RS. 94930-030. gabriela-fonseca@irga.rs.gov.br;

² Eng^o. Agr^o. Me. Seção de Melhoramento Genético/IRGA;

³ Eng^o. Agr^o. Dra. Seção de Melhoramento Genético/IRGA;

⁴ Acadêmico de Agronomia /Universidade Luterana Do Brasil (ULBRA);

⁵ Téc. Agr., Seção de Melhoramento Genético/IRGA;

⁶ Eng^o. Agr^o. Dr. Seção de Melhoramento Genético/IRGA;

⁷ Eng^o. Agr^o. Me. Seção de Melhoramento Genético/IRGA;

⁸ Eng^o. Agr^o. Seção de Sementes/Gerente da Estação Experimental do Arroz/IRGA;

⁹ Eng^o. Agr^o. Me. Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo.

programa, sendo realizadas três avaliações durante o ciclo da cultura. Além da escolha do local, com condições naturalmente favoráveis para a expressão da suscetibilidade/resistência das plantas, aplicou-se um conjunto de técnicas para favorecer a alta pressão e variabilidade de *P. oryzae*, sendo elas: semeadura tardia, manutenção do viveiro em condições de sequeiro, implantação de faixas compostas por plantas suscetíveis (bordaduras infestantes) inoculadas artificialmente e elevadas doses de nitrogênio.

As bordaduras foram semeadas manualmente no início da segunda quinzena de novembro (cerca de 20 dias antes da semeadura dos genótipos avaliados), sendo formadas por uma mistura de cultivares suscetíveis em faixas transversais às linhas dos materiais genéticos testados. As cultivares suscetíveis utilizadas para a mistura, conforme disponibilidade na safra, foram: PUITÁ INTA CL, Bluebelle, BR-IRGA 409, BR-IRGA 410, EEA 406, El Paso L 144, Epagri 109, Fanny, GURI INTA CL, INIA Olimar, IRGA 416, IRGA 417, IRGA 420, IRGA 421, IRGA 422 CL, SCS 112, SCS 116 SATORU, SCSBRS Tio Taka e IRGA 429. As sementes foram misturadas homogeneamente utilizando-se densidade média de 550 kg.ha⁻¹.

A semeadura dos genótipos em geração F3, F5 (F4 foi avançado *off-season* em Penedo/AL, por isso não foi avaliado) e Parcelas de Observação (correspondente à F6) ocorreu entre os dias 12 e 13 de dezembro, empregando-se semeadora mecânica nos três anos agrícolas analisados. Para cada genótipo semeou-se uma linha de 3 m de comprimento, distanciadas de 0,3 m e na densidade de 1 g.m⁻¹. Na safra 2016/17 foram avaliados, em folhas e panículas, 2471 e 754 genótipos, respectivamente. Na safra 2017/18 foram 1471 genótipos em folha e 535 em panícula. A safra 2018/19 totalizou em 1178 genótipos avaliados em folha e 860 em panícula. Para adubação de base utilizou-se 500 kg.ha⁻¹ de fertilizante NPK (fórmula 04-17-27), incorporado com grade de discos em toda a área, por ocasião da semeadura das bordaduras. A adubação de cobertura foi de 250 kg.ha⁻¹ de ureia, escalonada em três aplicações: 100 kg.ha⁻¹ aos 30 dias após a semeadura (DAS), 100 kg.ha⁻¹ aos 50 DAS e 50 kg.ha⁻¹ aos 70 DAS. A inoculação da suspensão de esporos de *P. oryzae* nas bordaduras ocorreu aproximadamente um mês após sua semeadura (segunda quinzena de dezembro), com uma mistura de 51, 63 e 114 isolados nas safras 2016/17, 2017/18 e 2018/19, respectivamente. As duas avaliações/safra da reação à brusone nas folhas foram realizadas durante os meses de fevereiro e março, com intervalo de cerca de 20 dias entre avaliações. A avaliação/safra das panículas foi realizada entre março e maio, conforme o ciclo dos materiais, sendo avaliados somente os materiais previamente selecionados, por características fenotípicas. As notas foram estabelecidas conforme a escala preconizada pelo IIRRI (1996), sendo para as folhas 0, 1, 2 e 3 = Resistente; 4 e 5 = Moderadamente Resistente; 6 e 7 = Moderadamente Suscetível; 8 e 9 = Suscetível. Para as panículas 0 e 1 = Resistente; 3 = Moderadamente Resistente; 5 e 7 = Moderadamente Suscetível e 9 = Suscetível.

Conforme ocorre o avanço de gerações dentro do Programa de Melhoramento do IRGA procura-se, dentre outras características, manter apenas os genótipos classificados como resistentes e moderadamente resistentes à brusone. Por isso, esses grupos serão aqui tratados como um único, denominado resistentes. Para um programa de melhoramento genético de plantas que visa à obtenção de materiais resistentes a doenças os genótipos classificados como moderadamente resistentes também são importantes e podem ser incluídos no manejo integrado de doenças, colaborando com a redução da taxa de progresso da doença, quando apresentarem as características morfofisiológicas exigidas pelo mercado consumidor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse experimento para as folhas e para as panículas estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. Dentre os genótipos segregantes das gerações F3 e F5, a maioria apresentou resposta de resistência (resistentes e moderadamente resistentes) nas folhas e nas panículas. Na geração F3, 96,7% dos genótipos foram resistentes nas folhas e 89,5% nas panículas na safra 2016/17, 96,3% nas folhas e 95,8% nas panículas na safra 2017/18 e 99,6% nas folhas e 87,9% nas panículas na safra 2018/19 (Tabela 1). Como a F3 é a primeira geração avaliada para resistência à brusone, de acordo com os dados obtidos pode-se concluir que a escolha dos genitores para os cruzamentos foi satisfatória para essa característica.

Tabela 1. Reação à brusone nas folhas e nas panículas dos genótipos da geração F3, avaliados pelo Programa de Melhoramento do IRGA, nas safras 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019 em Torres-RS.

F3						
Reação	Safr 2016/17		Safr 2017/18		Safr 2018/19	
	Folha (%)	Panícula (%)	Folha (%)	Panícula (%)	Folha (%)	Panícula (%)
Resistente	83,66	71,90	33,37	91,16	96,44	71,89
Moder. Resistente	13,04	17,65	62,95	4,65	3,14	16,01
Moder. Suscetível	2,70	10,46	2,63	0,93	0,42	10,68
Suscetível	0,60	0,00	1,05	3,26	0,00	1,42
População avaliada	669	320	950	215	477	281

Na geração F5, 98,4% dos genótipos testados foram resistentes (somatório de resistentes e moderadamente resistentes) nas folhas e 93,5% nas panículas, na safra 2016/17. Na safra 2017/18 a resistência obtida foi de 88,8% nas folhas e 90,1% nas panículas e, na safra 2018/19 99,6% em folhas e 89,6% em panículas (Tabela 2). Esses resultados demonstram a eficiência e importância desta metodologia quanto à manutenção da resistência à brusone de acordo com o avanço das gerações segregantes do programa de melhoramento genético do IRGA.

Tabela 2. Reação à brusone nas folhas e nas panículas dos genótipos da geração F5, avaliados pelo Programa de Melhoramento do IRGA, nas safras 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019 em Torres-RS.

F5						
Reação	Safr 2016/17		Safr 2017/18		Safr 2018/19	
	Folha (%)	Panícula (%)	Folha (%)	Panícula (%)	Folha (%)	Panícula (%)
Resistente	93,90	76,87	40,52	82,64	95,57	83,02
Moder. Resistente	4,49	16,67	48,28	7,44	4,02	6,60
Moder. Suscetível	1,34	6,12	10,78	8,26	0,20	8,02
Suscetível	0,27	0,34	0,43	1,65	0,20	2,36
População avaliada	1493	294	232	121	497	424

Nos genótipos avaliados em Parcela de Observação (geração F6), a reação de resistência foi apresentada por 90,1% em folhas e 92,9% em panículas na safra 2016/17. Na safra 2017/18 o percentual de resistência dos genótipos avaliados foi de 89,3% e 78,4% em folhas e panículas, respectivamente. E, na safra 2018/19, a resistência foi de 99% em folhas e 98,7% em panículas (Tabela 3). De acordo com esses resultados, os materiais que serão avaliados em ensaio de rendimento possivelmente apresentarão reação satisfatória de resistência à

brusone.

Tabela 3. Reação à brusone nas folhas e nas panículas dos genótipos em parcela de observação, avaliados pelo Programa de Melhoramento do IRGA, nas safras 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019 em Torres-RS.

PARCELA DE OBSERVAÇÃO (F6)						
Reação	Safr 2016/17		Safr 2017/18		Safr 2018/19	
	Folha (%)	Panicula (%)	Folha (%)	Panicula (%)	Folha (%)	Panicula (%)
Resistente	82,85	81,43	30,10	66,83	98,04	95,48
Moder. Resistente	8,09	11,43	59,17	11,56	0,98	3,23
Moder. Suscetível	4,85	6,43	10,73	15,58	0,98	1,29
Suscetível	4,21	0,71	0,00	6,03	0,00	0,00
População avaliada	309	140	289	199	204	155

Para mensurar o efeito da seleção, deve-se considerar a evolução dos mesmos materiais segregantes, o que é possível com a análise da evolução da geração F3 na safra 2016/17, F5 na safra 2017/18 (F4 apenas avanço de geração *off-season* na safra 2016/17) e F6 na safra 2018/19. Houve um incremento de resistência na panícula de 89,6% na geração F3 e 90,1% na geração F5 para 98,7% em F6. Já para folhas, a resistência se manteve acima de 88% nos três anos agrícolas analisados. Este comportamento mostra a eficiência da seleção de genótipos segregantes através dessa metodologia.

CONCLUSÃO

Os dados analisados demonstram um incremento da resistência nos materiais segregantes do programa de melhoramento genético do IRGA, comprovando a eficiência e a importância do processo de seleção na manutenção da resistência à brusone, de acordo com o avanço das gerações segregantes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela concessão de bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BODDY, L. Pathogens of Autotrophs. In: WATKINSON, S.C.; BODDY, L.; MONEY, N.P. The Fungi. Academic Press, 3ed., p. 245-292. 2016.
- CORREA-VICTORIA, F.J.; ZEIGLER, R.S. Pathogenic variability in *Pyricularia oryzae* at a rice blast “hot spot” breeding site in eastern Colombia. *Plant Disease*, 77: 1029-1035. 1993.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (IRRI). Standard evaluation system for rice. Manila, Filipinas. 4 ed., 52 p. 1996.
- OGOSHI, C. Epidemia de Brusone do Arroz no Estado do Rio Grande do Sul. *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, n. 465, p.13-15. 2015.
- RIJAL, T.R. et al. Identification of Resistant Genotypes on Rice against Blast Disease under Field Condition at Rampur, Chitwan. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, v. 5(4), p.505-510. 2017.