

# EVALUACION DE GENES ASOCIADOS AL RENDIMIENTO

Colazo JL<sup>1</sup>, Fernández ML<sup>2</sup>, Bezus R<sup>3</sup>, Livore AB<sup>4</sup>

Palabras claves: rendimiento, marcadores, mejoramiento

## Introducción

El aumento del rendimiento de los cultivos es esencial para garantizar la seguridad alimentaria a nivel mundial. Se estima que para el año 2035 se necesitarán 852 millones de toneladas de grano cascará para suplir la demanda mundial (3K RGP, 2014). Gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación y metodologías de análisis es posible identificar marcadores moleculares asociados a ciertos genes con efectos mayores/menores en caracteres complejos. En mejoramiento genético, el uso de marcadores moleculares complementado con datos fenotípicos podría convertirse en una herramienta efectiva para acelerar la liberación de nuevas variedades (Bertrand & Mackill, 2007). En el presente trabajo se testearán ocho marcadores moleculares asociados a alelos favorables para el rendimiento en los genes *Gn1a*, *OsSPL14*, *SCM2*, *Ghd7*, *DEP1*, *SPIKE*, *GS5* y *TGW6* (Kim *et al.*, 2016).

## Objetivos

- Evaluar la presencia de alelos favorables en materiales del programa de mejoramiento genético del INTA-Concepción del Uruguay
- Explorar la asociación entre los alelos favorables y componentes del rendimiento

## Materiales y Métodos

Se analizaron 24 genotipos de arroz representando líneas avanzadas, variedades del programa de mejoramiento del INTA Concepción del Uruguay como así también variedades comerciales. El ADN se aisló utilizando el protocolo de Dellaporta modificado (Dellaporta *et al.*, 1983). Se analizaron los genes *Gn1a*, *OsSPL14*, *SCM2*, *Ghd7*, *DEP1*, *SPIKE*, *GS5* y *TGW6* según Kim *et al.* (2016) utilizando las siguientes condiciones de amplificación: ADN (10 ng/ul), Buffer 1X (Thermo Scientific), MgCl<sub>2</sub> 2 mM (Thermo Scientific), dNTPs 0.2 mM, iniciadores 0.3 uM (Invitrogen) y Taq. Polimerasa (Thermo Scientific) 1UI. Las condiciones de ciclado fueron: 94 C° 2 min, 30 ciclos de 94C° 45 seg. 55C° 45 segundos, 72C° 1 min. y una extensión final de 72 C° 3 min. Los productos amplificados se analizaron en geles de agarosa al 2% y poliacrilamida al 6%. Los datos se analizaron a través de una matriz binaria (M.B.) dónde se representó la presencia y ausencia de alelos favorables con uno y cero respectivamente. Por medio del programa estadístico InfoStat se obtuvo una matriz de similitud entre los diferentes genotipos utilizándose la M.B. y el coeficiente de similitud (Simple Matching). Los diferentes genotipos se agruparon en un dendograma mediante el algoritmo de Encadenamiento Promedio o UPGMA.

Durante la campaña 16/17 se dispuso en el campo experimental del INTA Concepción del Uruguay (provincia de Entre Ríos, Argentina) un ensayo comparativo de rendimiento (ECR) utilizando 7 de los 24 genotipos analizados. Se utilizó un diseño de bloque al azar (parcelas estándar, seis surcos por cinco metros con tres repeticiones) para determinar cada componente de rendimiento (número de panoja, granos por panoja, peso de mil granos). Se evaluó la normalidad de los datos y se evaluaron diferencias significativas para

1. Lic. en Biotecnología, (M.Sc.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Prov. 39 Km. 143.5. Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Argentina. CP (3260). Email: [colazo.jose@inta.gob.ar](mailto:colazo.jose@inta.gob.ar).
2. Estudiante Lic. en Genética. Universidad Nacional de Misiones
3. Ingeniero Agrónomo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
4. Ingeniero Agrónomo, (Ph.D). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

los caracteres de rendimiento entre los diferentes genotipos utilizándose un análisis de la varianza ANAVA (LSD Fisher,  $p=0.05$ ) mediante el programa estadístico InfoStat.

## Resultados y discusión

El genotipado de los materiales evidencio la presencia de alelos favorables en los genes *Gn1a*, *SCM2*, *Ghd7*, *SPIKE* y *GS5* en los materiales del programa de mejoramiento genético del INTA Concepción del Uruguay (Figura 1). El gen *Gn1a* codifica la citoquina oxidasa/deshidrogenasa 2 (*OsCKX2*) que regulan el número de granos por panoja, el gen *SCM2* codifica proteínas que controlan el número de granos por panoja y aumento del diámetro del macollo, el gen *Ghd7* codifica una proteína que está involucrada en la altura de la planta y el número de granos por panoja y el gen *SPIKE* codifica una proteína con función bioquímica desconocida, que regula el número de granos por panoja (Kim et al. 2016). Los alelos favorables de estos genes potenciarían el carácter número de grano/panoja. El gen *GS5* codifica una serina carboxipeptidasa que regula el ancho y el peso del grano. No se detectaron alelos favorables para los *OsSPL14*, *TGW6*, *DEP1*.

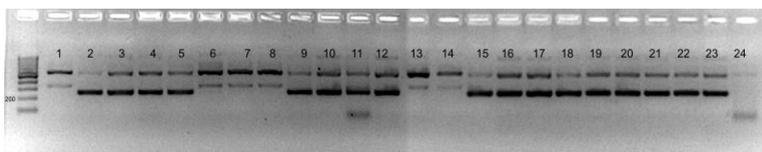


FIGURA 1. Marcador **Gn1a**-17SNP-OPF/OPR/AF/GR. El alelo favorable posee 257 pb (muestra 2)

La clasificación de genotipos por alelos favorables pudo separar a los 24 genotipos en base la subespecie *índica* y *japónica*, corroborándose que la distribución de alelos favorables en el germoplasma está relacionada al origen del mismo (Figura 2).

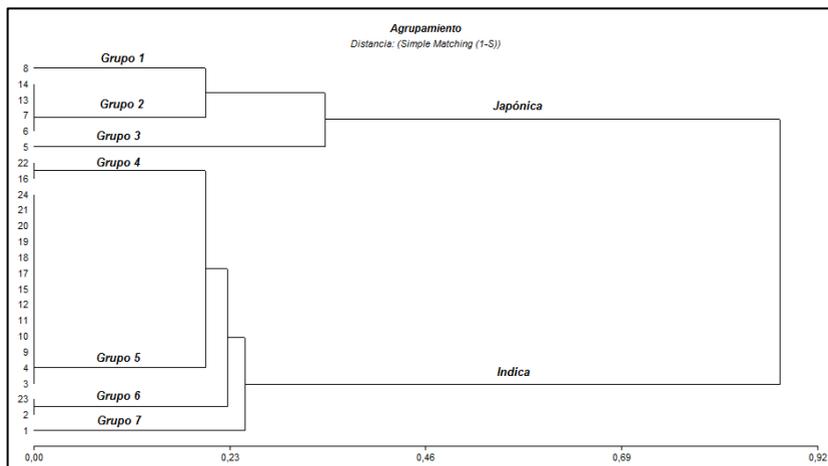


FIGURA 2. Agrupamiento de los genotipos en un dendrograma en base a alelos favorables.

1. Lic. en Biotecnología, (M.Sc.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Prov. 39 Km. 143.5. Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Argentina. CP (3260). Email: [colazo.jose@inta.gob.ar](mailto:colazo.jose@inta.gob.ar).
2. Estudiante Lic. en Genética. Universidad Nacional de Misiones
3. Ingeniero Agrónomo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
4. Ingeniero Agrónomo, (Ph.D). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Se formaron siete grupos en base a la presencia de alelos favorables (Tabla 2). Los grupos 1 ,2 y 3 son de origen japónica mientras que los grupos 4, 5, 6 y 7 de origen índica. El grupo más numeroso fue el cinco con la combinación de 4 alelos favorables.

Grupo	Alelo	Material Vegetal
1	<i>GS5(wide)</i>	ECR 43
2	<i>SPIKE + GS5(wide)</i>	ECR22, Yerua, IMI 15, CR 4016
3	<i>Gn1a, SPIKE + GS5(wide)</i>	CR 660
4	<i>SCM2, Ghd7, Gn1a, SPIKE, GS5 (narrow/medium)</i>	CR 571 15/16, CR 572 15/16
5	<i>SCM2, Ghd7, Gn1a, GS5 (narrow/medium)</i>	Puita, Nu Poti, IRGA 424, EPAGRI 108, TAIM, ITACAABO 110, CR 762 15/16, CR 629 15/16, CR 709 15/16, CR 2212 CHACO, CR 2204 CHACO, CR 761 15/16, CR 1056-1 15/16
6	<i>SCM2, Ghd7, Gn1a, GS5(wide)</i>	Gurí, CR 766 15/16
7	<i>SCM2, Ghd7, GS5 (narrow/medium)</i>	CR 2006

TABLA 2. Grupos, alelos favorables y genotipos.

### Fenotipado

Se evaluaron materiales del Grupo 4, 5 y 6 en los ECR. Los genotipos de dichos grupos comparten la combinación de alelos *SCM2, Ghd7, Gn1a* diferenciándose el grupo 4 por la presencia de un alelo favorable en el gen *SPIKE* y el grupo 6 por tener una variante del alelo *wide* en el gen *GS5*.

Líneas	Rendimiento	Granos por panoja	Nro. grano por m2	Pmg	Nro. espiguillas por m2	de Vanos por m2	Panoja por m2
CR571 15/16	746,2	20636,1 A	18324,2 A	25,52 C-D	20636,1 A	2311,2 A-B	492,1 A
CR629 15/16	771,1	21922,1 A-B	17527,3 A	23,72 B	21922,1 A-B	4394,9 C	550,0 A
CR761 15/16	780,4	23109,8 A-B	18747,8 A	25,89 D-E	23109,8 A-B	4362,1 C	583,3 A
CR572 15/16	801,9	21319,1 A-B	19504,0 A-B	25,43 C	21119,2 A-B	1815,9 A	539,2 A
PUITA	834,9	19728,2 A	17975,1 A	22,37 A	19728,2 A	1753,1 A	550,8 A
CR762 15/16	846,2	23368,4 A-B	19918,1 A-B	25,27 C	23368,4 A-B	3450,3 B-C	553,0 A
CR766 15/16	934,4	25544,8 B	22592,5 B	26,06 E	25544,8 B	2952,3 A-B	584,2 A
CV	8,66	11,71	10,46	1	11,71	23,97	16,6

Tabla 3. ANAVA de componentes de rendimientos

Los materiales portando el alelo favorable para el gen *SPIKE* (CR 571 y CR 572 15/16) no presentaron diferencias significativas con respecto a los materiales del Grupo 5 al

1. Lic. en Biotecnología, (M.Sc.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Prov. 39 Km. 143.5. Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Argentina. CP (3260). Email: [colazo.jose@inta.gob.ar](mailto:colazo.jose@inta.gob.ar).
2. Estudiante Lic. en Genética. Universidad Nacional de Misiones
3. Ingeniero Agrónomo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
4. Ingeniero Agrónomo, (Ph.D). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

carácter de número de granos por panoja. En cambio el material CR 766 15/16 si presentan diferencia significativas en el peso de mil granos en comparación con los otros genotipos. Este material porta el alelo *wide* asociado a un QTL menor para el carácter anchura y peso de grano (Xu *et al.* 2015). Li *et al.* (2011) compararon dos aislóneas con los alelos *wide* y *narrow/médium* obteniendo que la aislónea con el alelo *wide* presentó una ganancia del 7% en el peso de grano. Si bien se trata de un carácter complejo gobernando por muchos genes, Zhang *et al.* (2016) postula que ciertos genes asociados a dicho carácter podrían tener un efecto aditivo sobre el mismo. La selección fenotípica esta correlacionada con alelos fuertes de genes mayores pero su correlación es baja con alelos moderados o genes menores (Lu *et al.*, 2013). Disponer de la selección asistida por marcadores en etapas de tempranas de selección para fijar dicho alelo podría contribuir a sumar efectos aditivos en el carácter peso de grano.

## Conclusión

Se hallaron alelos favorables para los genes *Gn1a*, *SCM2*, *Ghd7*, *SPIKE* y *GS5* en el programa del INTA Concepción del Uruguay. No se encontraron alelos favorables para los genes *OsSPL14*, *TGW6*, *DEP1*

El alelo favorable en el gen *SPIKE* no tuvo un efecto significativo en el carácter número de grano/panoja en el ensayo analizado.

El material que portó el alelo favorable *wide* tuvo un efecto significativo en el carácter peso de mil grano en comparación con *narrow/medium*. Se incorpora dicho marcador para realizar selección temprano de materiales.

## Bibliografía

3K RGP. The 3,000 rice genomes project. Gigascience 3:7. 2014. doi: 10.1186/2047-217X-3-7

Bertrand C. Y. C.; Mackill D. J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Phil. Trans. R. Soc. 363, 557–572. 2007

Dellaporta, S.L. et al. A plant DNA miniprep: version II. Plant Molecular Biology Reporter, v.1, p.19-21, 1983

Kim, S. R. et al. Development and validation of allele-specific SNP/indel markers for eight yield-enhancing genes using whole-genome sequencing strategy to increase yield potential of rice, *Oryza sativa* L. Rice a springer open Journal. 2016. doi 10.1186/s12284-016-0084-7.

Li, Y. et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. Nature genetics. 43 12 1266-1269. 2011

Lu, L. et al. Natural variation and artificial selection in four genes determine grain shape in rice. New. Phytol., 200(4): 1269-1280. 2013

Xu, C. et al. Differential expression of *GS5* regulates grain size in rice. Journal of Experimental Botany, Vol. 66, No. 9 pp. 2611–2623, 2015

Zhang, Y. et al. Distribution of seven grain genes and evaluation of their genetic effects on grain traits. Pak. J. Bot., 48(3): 1073-1079. 2016

1. Lic. en Biotecnología, (M.Sc.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Prov. 39 Km. 143.5. Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Argentina. CP (3260). Email: [colazo.jose@inta.gob.ar](mailto:colazo.jose@inta.gob.ar).
2. Estudiante Lic. en Genética. Universidad Nacional de Misiones
3. Ingeniero Agrónomo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
4. Ingeniero Agrónomo, (Ph.D). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)