

ANÁLISIS DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS AL CONTENIDO DE ARSÉNICO EN ARROZ URUGUAYO

Ale L.¹, Rosas J.², Verger M.³, Pérez De Vida

F.²Facultad de Ciencias, Udelar, Maestría en Biotecnología.

²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa Nacional de Arroz.

³Laboratorio Tecnológico del Uruguay, Departamento Espectrometría Atómica de Alimentos y Medio Ambiente.

Contacto: lucasale.fc@gmail.com ; jrosas@inia.org.uy

INTRODUCCIÓN:

Producir arroz con bajo contenido de arsénico inorgánico (iAs) en grano es fundamental para la inocuidad alimentaria y el acceso a los mercados. El Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de INIA (PMGA) busca obtener nuevos cultivares con menor contenido de iAs. El primer paso es conocer la variabilidad genética en el germoplasma local para este rasgo y evaluar la asociación con la segregación de genes previamente reportados. La absorción de arsénico (As) por la planta es inespecífica, mediada entre otros, por transportadores de sílice, fósforo y acuaporinas. Se han reportado más de 15 genes asociados a As en arroz. Conocer su segregación en el germoplasma del PMGA, y determinar si aquellos que segregan tienen algún efecto en el contenido de iAs en grano, permitiría una primera aproximación al estudio de la genética del contenido de iAs en grano en materiales locales.

OBJETIVOS:

- I. Evaluar la variabilidad genética del contenido de iAs en grano de arroz en germoplasma avanzado del PMGA.
- II. Identificar genes candidatos reportados para este rasgo que segreguen en el germoplasma avanzado del PMGA.
- III. Estimar los efectos principales de estos genes y de sus interacciones dobles en el contenido de iAs en grano, en un ensayo de campo utilizando un set reducido de líneas avanzadas.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se analizó la presencia de marcadores *SNP* intragénicos en 15 genes candidatos reportados para contenido de As en grano, en 311 líneas avanzadas tipo indica y 310 tipo japónica tropical del PMGA genotipadas por *GBS* (Tabla 1).

Se seleccionaron 32 líneas (17 indica y 15 japónica tropical) para lograr todas las combinaciones haplotípicas determinadas por los 2 alelos de 3 genes candidatos segregantes (Tabla 2). Se realizó un ensayo de campo en la Unidad Experimental de Paso de la Laguna (Treinta y Tres) en la zafra 2018/19 con dos repeticiones, en un diseño de bloques completos aleatorizados. Se midió por HPLC-ICP-MS el contenido de iAs en grano pulido (Figura 1). Se estudió el efecto en el contenido de iAs de los genes candidatos segregantes y de sus interacciones mediante análisis de varianza (ANOVA) (Figura 2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Se identificaron genes que segregan en el germoplasma del PMGA de INIA, y el análisis de sus efectos sugiere que algunos de estos genes podrían estar involucrados en el contenido de iAs. Estos resultados deberán ser confirmados en poblaciones más grandes que permitan controlar por estructura de la población en forma independiente de la segregación de los genes estudiados.

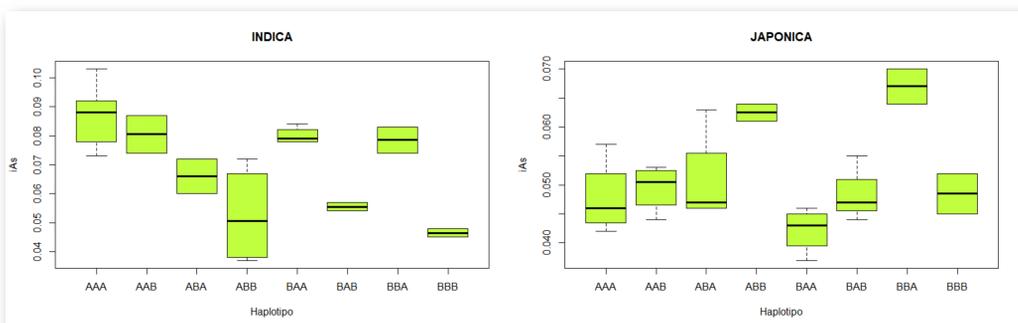


Figura 1. Gráfico de cajas de la variación del contenido iAs en función de los haplotipos seleccionados.

CONCLUSIONES:

El PMGA cuenta con adecuada variabilidad genética y líneas experimentales avanzadas que presentan bajos niveles de iAs en grano, lo que permite plantear avance genético para este rasgo. Es preciso avanzar en métodos de selección (por ejemplo asistida por marcadores moleculares) para la obtención de nuevas líneas con mayor inocuidad alimentaria.

Tabla 1. Genes candidatos reportados en la bibliografía por su asociación al contenido de arsénico en la planta de arroz. Los genes con *SNPs* en su secuencia codificante que permitieron las combinaciones para evaluación en campo en el germoplasma del PMGA de INIA se muestran con asterisco

Genes candidatos	Cromosoma
OsGrx_C7	CH 01
OsCLT1	CH 01
P450	CH 01
OsHAC1;1	CH 02
OsGrx_C2.1*	CH 02
OsHAC4*	CH 02
LSI1	CH 02
LSI2*	CH 03
OsABCC1*	CH 04
OsHAC1;2*	CH 04
OsPT4	CH 04
OsPCS1	CH 05
OsPHR2	CH 07
OsNRAMP1	CH 07
OsPT8*	CH 10

Tabla 2. Haplotipos formados por las combinaciones de *SNPs* en los genes candidatos segregantes seleccionados para japónica tropical e indica. Las letras A o B corresponden a los dos alelos mayoritarios de cada gen (A el primero y B el segundo) en las poblaciones analizadas.

JAPONICA	OsHAC1;2		OsGrx_C2.1		OsHAC4	INDICA	OsABCC1		LSI2		OsPT8	
	SNP 1	SNP 1	SNP 2	SNP 2	SNP 1		SNP 1	SNP 1	SNP 1	SNP 1	SNP 2	
	S4_9673709	S2_24566341	S2_24567131	S2_3142214	S2_3142214		S4_31505231	S4_31506890	S3_431326	S10_16037647	S10_16038003	
AAA	C	G	C	A	A	AAA	G	T	C	C	C	
AAB	C	G	C	G	A	AAB	G	T	C	T	T	
ABA	C	G	T	A	A	ABA	G	T	G	C	C	
BAA	T	G	C	A	A	ABB	T	C	C	C	C	
ABB	C	G	T	G	A	BAA	G	T	G	T	T	
BAB	T	G	C	G	A	BAB	T	C	C	T	T	
BBA	T	G	T	A	A	BBA	T	C	G	C	C	
BBB	T	G	T	G	A	BBB	T	C	G	T	T	

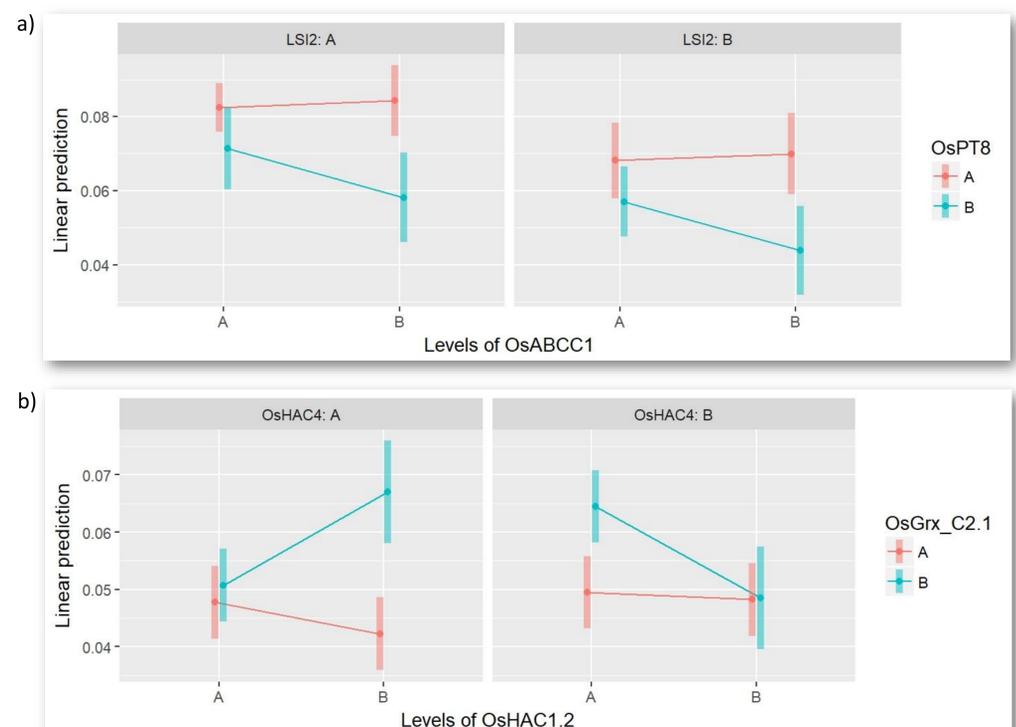


Figura 2. Gráfico del contenido de iAs en función de los genes candidatos segregantes con efecto principal o interacción significativos. Para la población indica (a) los efectos principales de los genes LSI2 y OsPT8, así como la interacción OsABCC1:OsPT8 fueron significativos ($p < 0.01$). En la población japónica (b) fueron significativos los efectos del gen OsGrx_C2.1 y la interacción OsHAC1.2/OsHAC4 ($p < 0.01$). La varianza fenotípica explicada por la combinación de haplotipos fue de $R^2 = 0,73$ para indica y $R^2 = 0,70$ para japónica tropical.