



Seamaíz

XI Congreso Nacional de Maíz

GENÉTICA Y MEJORAMIENTO
GENÉTICO VEGETAL

COMPORTAMIENTO DE LÍNEAS ENDOCRIADAS DE MAÍZ FRENTE A ROYA COMÚN Y SU RELACIÓN CON LA REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD

Kistner, M. B.¹; Buzzetti, G.^{2*}; Montenegro, L.^{2*}; Tesei, I.^{2*}; Zelada, V.^{2*} y Iglesias, J.¹

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – EEA Pergamino.

² UNNOBA – Pergamino, Buenos Aires.

* Todos contribuyeron igualmente a la realización del trabajo.

E-mail: iglesias.juliana@inta.gob.ar

BEHAVIOR OF MAIZE INBRED LINES AGAINST COMMON RUST AND THEIR RELATIONSHIP WITH HR

ABSTRACT

Common rust is an endemic disease in Argentina caused by the biotrophic fungi *P. sorghi* with a high variability in this country. HR is a defense response mediated by R genes and effective against biotrophic pathogens. In this study, we evaluated 80 maize inbred lines against common rust and the HR severity. Experiments were performed under natural infestation in Pergamino and results were analyzed using multivariate analyses and mixed generalized linear models. Genotypes were clustered in two main groups called: "resistant" and "moderate to susceptible". In both groups, we found genotypes clustered in distinctive subgroups with variable levels of HR and resistance to rust. We concluded that while HR is still functioning in subgroup 1, quantitative resistance is prevalent in both subgroup 1 and 2. Currently GWAS are being carried out by using SNP and phenotypic information on rust and some other corn diseases. We also seek to advance in the study of HR at the cellular and molecular level. A better understanding on the available resistance will positively contribute to the decision-making process in breeding for disease resistance of maize.

Palabras Clave

ETI, *Puccinia sorghi*, Resistencia.

Key Words

ETI, *Puccinia sorghi*, Resistance.

INTRODUCCIÓN

La roya común del maíz causada por el patógeno *Puccinia sorghi* Schwein es una enfermedad endémica en el norte de la provincia de Buenos Aires que se presenta todos los años con distinto nivel de severidad, según la población del patógeno presente, el genotipo y el ambiente, afectando el área foliar y produciendo una disminución del rendimiento (Darino *et al.*, 2016; González, 2007).

P. sorghi es un hongo biótrofo (se nutre de células vivas del hospedante) y heterótrico, que en Argentina completa su ciclo sobre plantas del género *Oxalis spp.*, generando una alta variabilidad del patógeno (González, 2007).

La utilización de resistencia genética es una alternativa efectiva y sustentable para el manejo de la enfermedad. La resistencia puede ser cualitativa (completa, raza específica y controlada por uno o pocos genes de efecto mayor) o cuantitativa (fenotípicamente incompleta, controlada por muchos genes de efecto parcial y no específica por lo tanto más durable en el tiempo). En maíz se han identificado más

de 20 genes mayores que otorgan resistencia a razas específicas de *P. sorghi*, denominados *Rp* y que han sido localizados en complejos de loci en los cromosomas 3, 4, 6 y 10 (Darino *et al.*, 2016; González, 2007). En este sentido, la reacción de hipersensibilidad (HR; del inglés Hypersensitive Reaction), marca distintiva de la resistencia cualitativa, es una muerte celular rápida y localizada alrededor del punto de penetración del patógeno que limita su dispersión dentro del hospedante (Olukolu *et al.*, 2016) y que se encuentra descripta como un importante mecanismo de defensa contra patógenos biótrofos. Sin embargo, la creciente variabilidad que presenta *P. sorghi* en Argentina hace que la resistencia cualitativa sea poco efectiva y resulte necesario utilizar resistencia cuantitativa disminuyendo la severidad, tamaño y número de pústulas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento frente a roya común de un grupo de líneas endocriadas de maíz en función de la severidad y el tipo de infección y su relación con la intensidad de HR observada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 80 líneas endocriadas que conforman una muestra representativa de los materiales del programa nacional de mejoramiento de maíz de INTA Pergamino. El grupo de líneas evaluado está compuesto por genotipos flint (origen local) y dentados (origen local y/o introducidos). Se realizaron 3 ensayos en la localidad de Pergamino durante las campañas 2016/17 (fecha de siembra intermedia) y 2017/18 (fecha de siembra intermedia y tardía). Los ensayos se sembraron en bloques completamente aleatorizados con 2 repeticiones. Las evaluaciones se realizaron bajo infección natural en el estadio fenológico R4, evaluando el porcentaje del área foliar afectado (severidad) y tipo y tamaño de pústula (tipo de infección). Para evaluar la severidad se utilizó una escala diagramática dividida en 5 categorías que se corresponden con determinados porcentajes de severidad, donde

1 corresponde al 1%, 2 al 5%, 3 al 10%, 4 al 20% y 5 al 50% de severidad. Para evaluar el tipo de infección se utilizó una escala de 4 puntos donde 1 corresponde a ausencia de síntomas y/o ausencia HR, 2: Pústulas errumpentes con o sin puntos necróticos, 3: Pústulas grandes errumpentes con tendencia a alinearse formando "listas"; 4: Pústulas grandes con áreas necróticas que se unen, produciendo rotura y quiebre de la hoja (Carmona, 2008). Además se estimó la severidad de la HR adaptando una escala diagramática elaborada por Esker (2008) compuesta por 4 categorías, donde 1 corresponde al 1%, 2 al 5%, 3 al 25% y 4 al 50% de severidad de HR. Los resultados se analizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017) a través de un análisis de componentes principales (ACP) estandarizando los valores promedio de severidad, el tipo de infección y la reacción de

hipersensibilidad. Para analizar las medias de los grupos, se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (MLGM) con variable res-

puesta gamma, función de enlace logaritmo, utilizando grupo como efecto fijo y ambiente y repetición como efectos aleatorios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Gráfico 1 se presenta un biplot que permite visualizar la distribución de las observaciones en relación a las variables evaluadas. Las dos primeras componentes del ACP explicaron un 69,2% de la variabilidad total observada. La Componente 1 (54,0%) se relaciona con las variables severidad y tipo de infección de roya para los ambientes considerados. Se observa que en los tres ambientes severidad y tipo de infección están asociados positivamente, por lo que ambas variables indistintamente son buenos descriptores del comportamiento de los genotipos frente a roya. Según la CP1 los genotipos se ordenan de izquierda a derecha siguiendo un gradiente creciente de severidad y tipo de infección. La Componente 2 (15,2%) se relaciona con la variable HR ordenando a los materiales de abajo hacia arriba siguiendo un gradiente que va desde ausencia de HR a mayor severidad de HR.

3 y 4) con severidad promedio de 5% y tipo de infección 3 y 4 (Tabla 1). La severidad de roya promedio en los tres ambientes fue de 2 a 3%, sin embargo se alcanzaron valores máximos de 15 a 20%, lo que estaría indicando que la presión de la enfermedad fue moderada. El valor promedio es bajo probablemente porque durante el mejoramiento de los genotipos se seleccionaron aquellos con mejor comportamiento a roya común. La incorporación de la variable HR en el análisis permitió visualizar dos subgrupos de genotipos y caracterizarlos según el tipo de resistencia operante, uno dentro del gran grupo de resistentes (subgrupo 1) y otro dentro de los moderadamente susceptibles (subgrupo 3) (Gráfico 1). El subgrupo 1 se ubica dentro del grupo de genotipos resistentes y está conformado por seis líneas que presentan abundante HR, por lo que podemos inferir que en estas líneas, la resistencia de tipo cualitativa es altamente funcional aunque no totalmente efectiva.

El análisis nos permitió separar a las líneas evaluadas en dos grandes grupos. A la izquierda del gráfico se ubican líneas que se comportan como resistentes (subgrupo 1 y 2) y que presentan severidades que no superan el 1% y tipo de infección 1–2. A la derecha se ubican líneas que presentan un comportamiento de moderado a susceptible (subgrupo

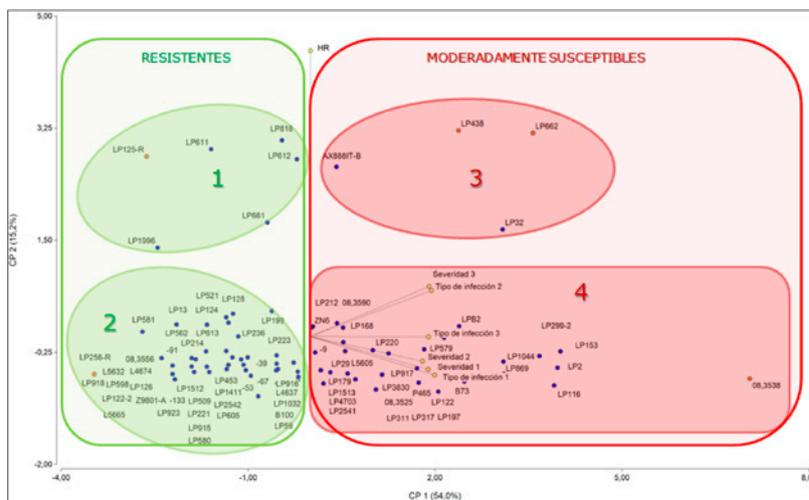


Gráfico 1. Biplot de las dos primeras componentes principales de los genotipos (puntos) y las variables severidad, tipo de infección y HR (vectores). Resultados de tres ensayos realizados en Pergamino en las campañas 2016/17 (3) y 2016/17 (1y2).

Grupo	Media	E.E.		Infección	HR
3	0,05	0,01	A	3-4	SI
4	0,05	0,01	A	3-4	NO
2	0,01	1,5E-03		B	1-2
1	0,01	1,8E-03		B	1-2

Tabla 1. Comparación de medias de la severidad de los 4 agrupamientos para tres ensayos realizados en Pergamino. Letras diferentes indican diferencias significativas. A la derecha de la tabla se incluye información descriptiva del tipo de infección y presencia de HR para cada uno de los agrupamientos.

La línea **LP125-R** es representante de este subgrupo. Es una línea flint de ciclo intermedio, de muy buen comportamiento a la enfermedad y con notables niveles de HR. El subgrupo 2, que también pertenece a los materiales resistentes, está conformado por 44 líneas con muy buen comportamiento frente a roya pero sin HR visible, lo que indicaría que en estas líneas está operando una resistencia de tipo cuantitativa. Las líneas **LP256-R** y **LP918** integran el subgrupo 2, una es una línea flint de ciclo intermedio y la otra una línea semidentada de ciclo completo con muy buenos niveles sanitarios. En el subgrupo 2 también se observan genotipos (**LP562, LP509, LP581, LP1032**) que en otros ensayos mostraron alta susceptibilidad al rayado bacteriano causado por *Xanthomonas* spp, un hemibiótrofo, lo que podría sugerir que los mecanismos que otorgan resistencia para roya no estarían siendo efectivos para esta bacteriosis a pesar de contar con una marcada fase biotrófica inicial. Cabe destacar que entre ambos subgrupos no se observaron diferencias significativas entre las medias de severidad (Tabla 1).

Dentro del grupo de líneas de comportamiento moderado a susceptible se pudo constatar la presencia de dos subgrupos, uno

constituido por genotipos con HR (subgrupo 3), y otro constituido por genotipos sin HR visible (subgrupo 4). Dentro del subgrupo 3 se encuentran la línea **LP438** que es una línea semiflint de ciclo intermedio y la línea **LP662** que es una línea flint de ciclo completo. En este subgrupo la HR no fue suficiente como respuesta inmune para detener el avance de este biótrofo, y contrariamente a lo que se hubiera esperado, tampoco permitió el avance de necrótrofos. En general este grupo de líneas mostró muy buen comportamiento a necrótrofos (ver en este congreso Kistner *et al.*, 2018).

Finalmente, en el subgrupo 4 se ubicaron genotipos con diversos grados de susceptibilidad. Desde moderadamente susceptibles (**LP29, 4703, LP212**, entre otras) hasta marcadamente susceptibles. En este sentido destaca por su mayor susceptibilidad la línea **08.3538**, derivada de una población con alto contenido de ácido oleico (Eyheràbide com. pers.). La línea americana **B73** también se ubica en este grupo.

CONCLUSIÓN

El presente análisis nos permitió separar a los genotipos en dos grupos: resistentes y moderadamente susceptibles a roya común del maíz. Las variables severidad y tipo de infección se asociaron positivamente en todos los ambientes y por lo tanto ambos son buenos descriptores del comportamiento a roya. Sin embargo la incorporación de la variable HR permitió visualizar dos subgrupos de genotipos dentro de cada grupo principal, y caracterizarlos por el tipo de resistencia operante, cualitativa vs cuantitativa. Los agrupamientos obtenidos permitieron constatar la existencia de dos subgrupos con resistencia

a roya, por un lado el subgrupo 1 donde si bien no es completa, la resistencia cualitativa aún está operativa y es importante, y el subgrupo 2 con resistencia cuantitativa. Los subgrupos 3 y 4, con y sin presencia de HR visible respectivamente, mostraron diversos gradientes de susceptibilidad con algunos resultados notables. Actualmente se están llevando a cabo estudios de asociación fenotipo-genotipo (GWAS; del inglés *Genome-Wide Association Study*) a partir de un chip de SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) considerando la información fenotípica de roya y otras enfermedades foliares y de grano. También se busca progresar en el estudio de la HR a nivel celular y molecular.

Nuestro objetivo es lograr una mejor comprensión de los mecanismos subyacentes implicados en la resistencia disponible a los fines de contribuir positivamente en la toma de decisiones de los programas de mejoramiento.

Apoyo Financiero: PNCYO 1127043-INTA. MBK es becaria INTA-CONICET.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los técnicos auxiliares del grupo de Mejoramiento de Maíz y del Laboratorio Regional de Biotecnología de la EEA INTA Pergamino por su participación en actividades de campo y laboratorio, y a la cátedra de Estadística y Biometría de la FCA, Universidad Nacional de Córdoba.

Referencias

- Carmona M. 2008. <http://studylib.es/doc/285025/%C2%BFc%C3%B3mo-medir-la-roya-com%C3%BA-del-ma%C3%ADz>
- Darino, M. A., Rochi, L., Lia, V. V., Kreff, E. D., Pergolesi, M. F., Ingala, L. R., Dieguez, M. J., Sacco, F. (2016). *Plant Dis.* 100:770-776.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. (2017). *InfoStat*. Grupo InfoStat, FCA, UNC, Argentina.
- González, M.P. (2007). *Tesis de Doctorado*. FCA, UNC, Argentina.
- Olukolu, B. A., Tracy, W. F., Wisser, R., De Vries, B., Balint-Kurti, P.J. (2016). *Phytopathology* 106:745-751.