

VISUALIZING UNIVARIATE AND MULTIVARIATE IMPACTS OF TuMV INFECTION ON HOST PHYSIOLOGY AND MORPHOLOGY IN ARABIDOPSIS

Carlos Manacorda, Pablo Cáceres, Moira Sutka, Irene Baroli, Gabriela Amodeo and Sebastián Asurmendi

Palabras clave: Arabidopsis, Turnip mosaic virus (TuMV), Water management, Hydraulic conductance, Visualization, Multivariate analysis, PCA, Multiple Factor Analysis

Abstract : El virus del mosaico del nabo (*Turnip Mosaic Virus*, TuMV), infecta muchas plantas de interés comercial, particularmente de la familia Brassicaceae, produciendo pérdidas la productividad, al causar detención del desarrollo y enanismo, y drástica reducción y esterilidad en las semillas. La planta modelo *Arabidopsis thaliana* pertenece a la familia Brassicaceae, y es comúnmente utilizada para estudiar en el laboratorio los efectos que producen los virus de plantas, incluyendo el TuMV, en variables de interés moleculares, fisiológicas, morfológicas, en la planta huésped. Comúnmente, la evaluación del impacto sobre la forma es cualitativa, y la mayoría de los estudios sobre el impacto de infecciones virales sobre plantas se centran en un solo aspecto (molecular, o fisiológico, o morfológico), y dentro de cada uno de estos aspectos, a veces en tan sólo una o unas pocas variables. En nuestro estudio, adoptamos el enfoque multivariado, para analizar de manera más completa el impacto multi-dimensional que la infección con TuMV tiene sobre Arabidopsis. Se realizaron mediciones morfométricas y fisiológicas de manera simultánea sobre las plantas, a 12-13 días post-infección viral (DPI), comparándolas con las plantas controles, sin infectar (mock-inoculadas). Las variables cuantificadas fueron:

a) Fisiológicas: Consumo relativo de agua (Rel.Water.Cons), Partición de masa seca roseta/raíz (DWsr), Contenido Relativo de agua (RWC), Velocidad de deshidratación instantánea (Dehyd.vel), Conductancia hidráulica de raíz (Lo), Conductividad hidráulica de raíz (Lp), Potencial Osmótico de raíz (OPRprox), Potencial Osmótico de hoja (OPleaf).

b) Morfológicas: Crecimiento de raíz (RootGrowth), Mínimo Calibre de roseta (MinFerret), Razón de aspecto (AR), Circularidad (Circ) y Solidez (Solidity).

Cada planta recibió una identificación única (ID), y las variables explicativas tenidas en cuenta para los análisis fueron tratamiento (efecto fijo), DPI y Bandeja (Tray) (efectos aleatorios).

Los análisis de datos y las visualizaciones se ejecutaron en R utilizando diversos paquetes. Primero, se encontraron y removieron outliers univariados de forma visual (ggplot2, ggstatsplot, lattice) y analítica (comando “Mad” del paquete Stats). Luego se usaron los paquetes lme, nlme (para tener en cuenta efectos aleatorios y fijos) para seleccionar los modelos lineales mixtos de mejor ajuste para cada variable, y se graficó cada variable usando ggplot2, junto con su nivel de significancia estadística para evaluar la posible diferencia entre tratamientos (**Figs. 1-4**). Estos análisis univariados permitieron concluir que tanto las Var fisiológicas como morfológicas analizadas fueron severamente modificadas ante la infección, resaltando el carácter multidimensional del impacto de TuMV en la planta huésped.

Luego se procedió al análisis multivariado. Se analizó la presencia de outliers bivariados, de manera visual, usando la función pairs.panels del paquete psych. Para detectar outliers multidimensionales, fue necesario imputar datos faltantes en la planilla multivariada, lo cual se realizó mediante la función MIPCA del paquete missMDA. Se confirmó la calidad de las imputaciones y se procedió en lo subsiguiente con los datos multivariados de esta planilla completa. La búsqueda de outliers multivariados se efectuó usando métodos basados en la distancia de Mahalanobis, la función cov.mcd del paquete MASS, la función outlier del paquete psych, para comparar entre ellas y descartar solamente los outliers severos, consistentemente detectados. El análisis multivariado propiamente dicho se realizó mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) (paquetes factoextra, FactoMineR y Factoshiny ([Factoshiny](#))). El análisis automático no detectó más outliers y generó los reportes automáticos junto con el código de R, confirmando la ausencia de efectos aleatorios importantes (DPI, Tray) y mostró una excelente separación de individuos en base a su tratamiento cuando todas las Var se consideran en su conjunto. Los gráficos generados automáticamente se personalizaron (**Fig. 5**). Por último, se realizó un Análisis Multi Factorial (MFA) utilizando los mismos paquetes, para diferenciar de forma analítica y visual el efecto relativo de los dos grandes grupos de variables en juego: morfométricas y fisiológicas. El MFA mostró que las Var fisiológicas son las más fuertemente vinculadas con el tratamiento, pero

las Var morfológicas son las que poseen mayor complejidad informativa, estando bien representadas en ambos ejes principales en la separación por grupos (Fig. 6).

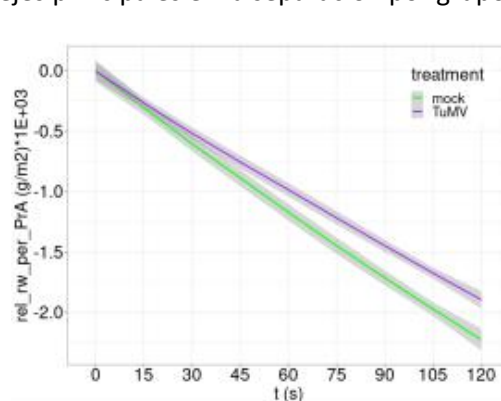


Figura 1. Velocidad de deshidratación instantánea.

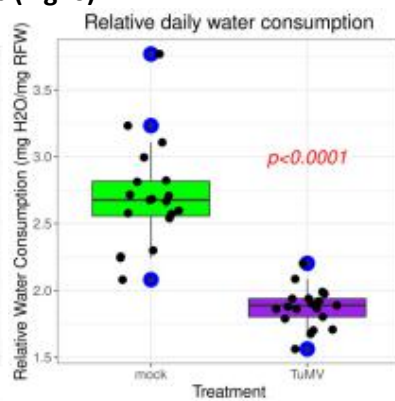


Figura 2. Consumo relativo de agua por día.

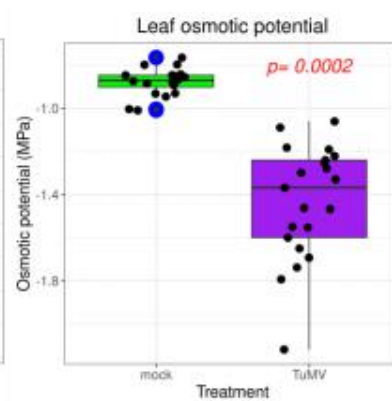


Figura 3. Potencial osmótico foliar

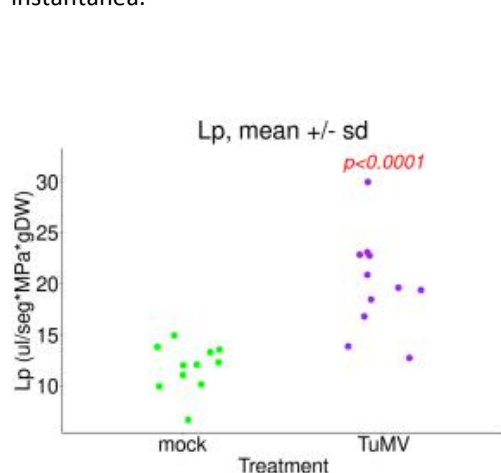


Figura 4. Conductividad hidráulica.

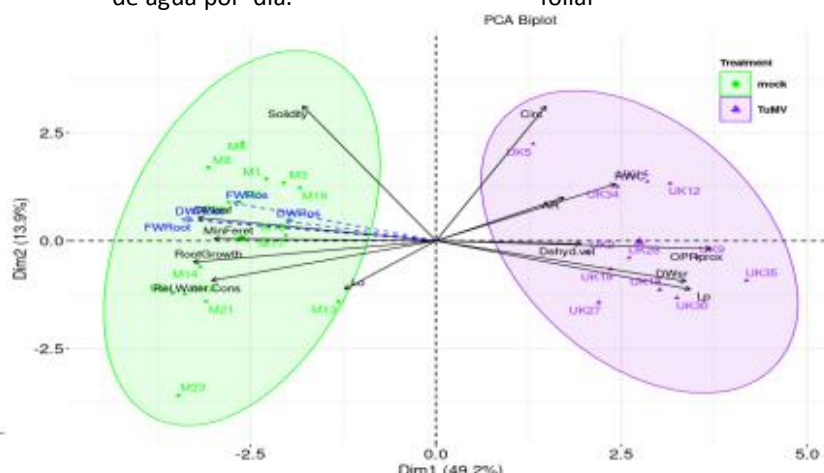


Figura 5. PCA Biplot con Variables e Individuos más influyentes

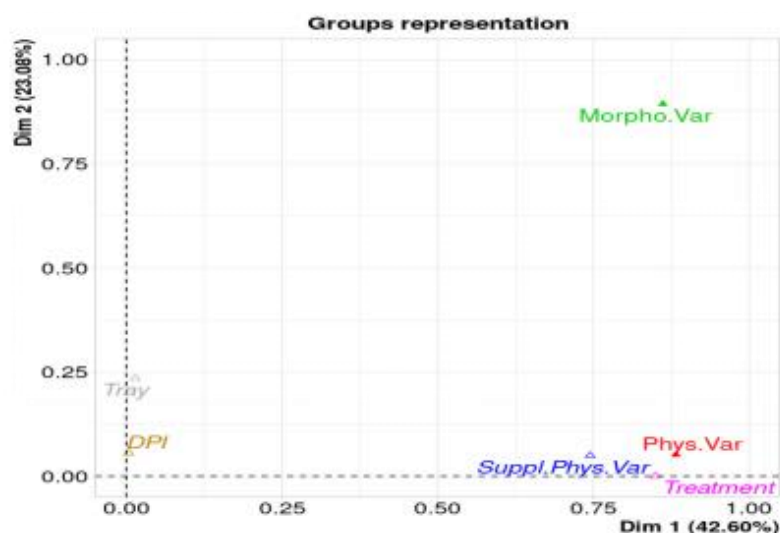


Figura 6. Análisis Multi Factorial (MFA).

Nombre autor/a de contacto: Carlos A. Manacorda

Instituciones del autor/a de contacto: Instituto de Biotecnología, INTA Castelar.

manacorda.carlos@inta.gob.ar