

Avances en el mapeo genético de resistencia a Ralstonia solanacearum en una población biparental de Solanum commersonii





Denis N.²; Ferreira V.²; Sandro P.^{1, 3}; Moreira L.¹; Gutiérrez L.^{3, 4}; Vilaró F.^{1, 5}; Speranza P.¹; Siri M.I.²; Gaiero P.¹

Laboratorio de Evolución y Domesticación de las Plantas. Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, UdelaR. 2,Laboratorio de Microbiología Molecular. DepBio, Facultad de Química, UdelaR. 3,Department of Agronomy, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA. 4,Genética Estadística. Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Facultad de Agronomía, UdelaR. 5,Unidad de Horticultura, Estación Experimental Las Brujas, INIA. nicoldenis9@gmail.com



Introducción

Solanum commersonii es una especie nativa emparentada con la papa cultivada, S. tuberosum. Constituye una fuente de variabilidad genética importante, con resistencia a factores bióticos adversos como la marchitez bacteriana causada por Ralstonia solanacearum. Para saber si los rasgos deseables de S. commersonii realmente pueden ser introgresados en la papa, es necesario identificar su ubicación en un mapa genético. También es útil para identificar marcadores que están vinculados a los rasgos deseables y que permitirán la selección asistida por marcadores. Se ha desarrollado una población de mapeo biparental cruzando dos genotipos diploides colectados en poblaciones silvestres y contrastantes en nivel de resistencia. Se cuenta con un mapa genético a partir de SNPs generados mediante Genotyping by sequencing con 12 grupos de ligamiento. El objetivo de este trabajo fue anclar marcadores de tipo microsatélites en este mapa para luego buscar asociaciones entre regiones del genoma y la resistencia a R. solanacearum.

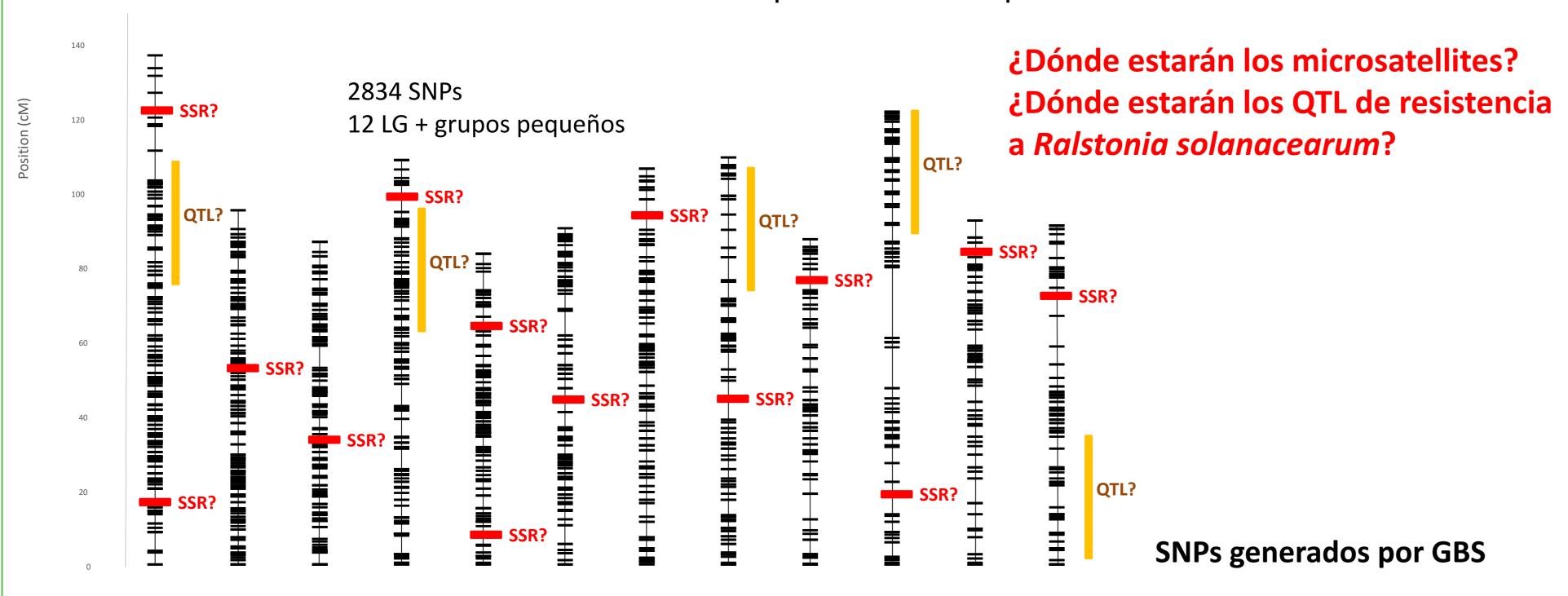
Metodología Experimental

POBLACIÓN DE MAPEO

Contamos con una población segregante biparental generada a partir de dos genotipos diploides de Solanum commersonii colectados en poblaciones naturales y constrastantes para su nivel de resistencia a *Ralstonia solanacearum* 05.05.2.4 (susceptible) x 02.04.1 (medianamente Resistente). La población contó con 200 individuos, de los cuales 181 fueron genotipados y fenotipados

MAPA GENÉTICO

Se contaba con un mapa genético de SNPs generados por GBS sobre el que se busca mapear los microsatélites.



- Se utilizó un conjunto de cebadores de microsatélites específicos previamente desarrollados a partir de la secuencia del genoma de *S. commersonii*.
- Aquellos que fueron seleccionados anteriormente por presentar segregación mendeliana y contar con 3 o 4 alelos diferentes entre los padres, se pudieron amplificar exitosamente en la población biparental.
- Los fragmentos se analizaron en DNA Facilities de Yale University y los cromatogramas se analizaron usando Geneious y Peak Scanner para asignar alelos provenientes de los padres.

EVALUACIÓN DE RESISTENCIA

Material vegetal a cevaluar

Cepa Contoles

Chieftain

181 genotipos de población biparental

UY031

Chieftain

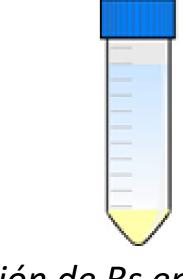
(suceptible)

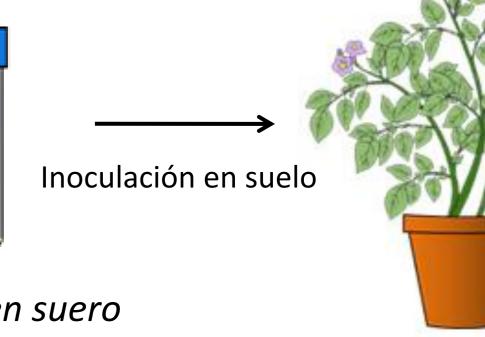
05.05.2.4

02.04.1

Control negativo
Inoculación con
suero fisiológico
3 ensayos en
distintas fechas







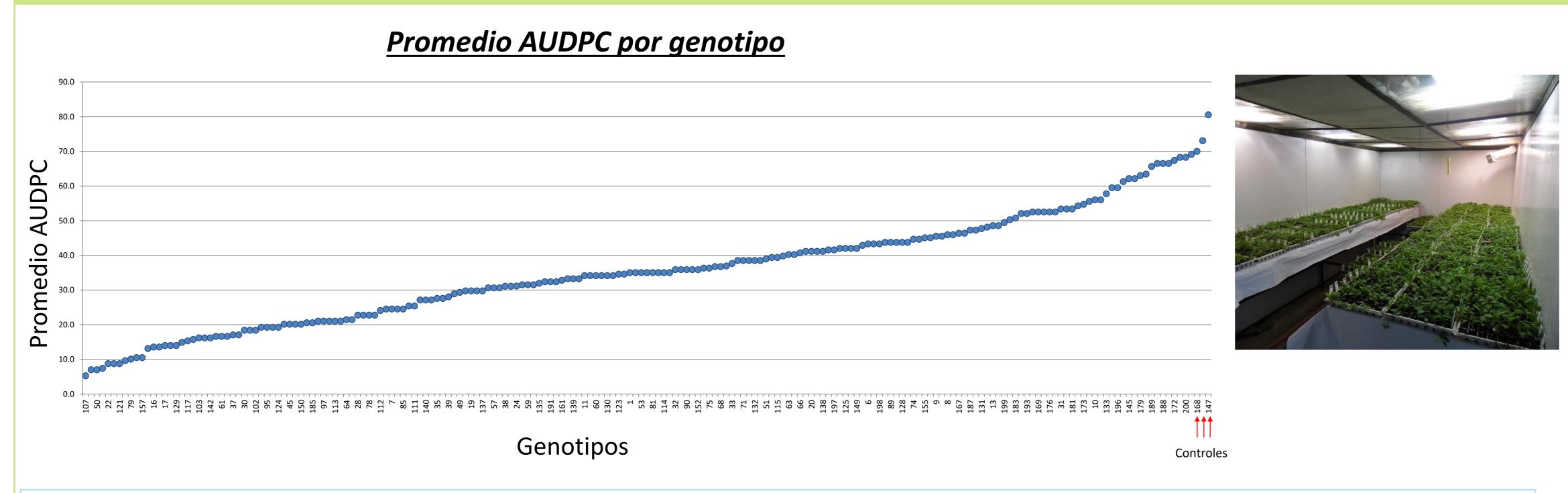
Inóculo: Suspensión de Rs en suero fisiológico (10⁸ UFC/mL)
Control negativo: Suero fisiológico

Se utilizaron plántulas con 5-8 hojas expandidas

Evaluación de síntomas: inspección visual a los 14 y 28 días posteriores a la inoculación

Se asignó un valor de "0" a las plantas sin síntomas, o "1" a las plantas con síntomas

Resultados



- Curva con el promedio de AUDPC todos los genotipos de la progenie, los dos parentales y el control susceptible Chieftain
- El promedio fue calculado entre los dos bloques experimentales y las dos determinaciones de marchitez (14 dpi y 28 dpi)

Hasta el momento hay 31 individuos genotipados para cada marcador

Conclusiones y Perspectivas

- Se cuenta con una población de mapeo muy valiosa que estuvo disponible para este y futuros estudios.
- Se observó variabilidad entre los genotipos de la población de mapeo según sus distintos niveles de resistencia y se sigue observando un patrón de segregación transgresiva lo que refuerza el carácter multifactorial de esta resistencia.
- Resta anclar los microsatélites en el mapa genético e identificar QTL relacionados con la resistencia a la marchitez bacteriana,
- Este trabajo muestra la fortaleza de la colaboración entre distintos grupos de investigación con diferentes abordajes para contestar preguntas en común que son muy relevantes para el mejoramiento.
- Conocer la arquitectura genética de esta resistencia permitirá la selección de marcadores moleculares asociados y la búsqueda de genes candidatos, lo que aumentará la eficiencia de la selección de genotipos promisorios para el mejoramiento por hibridación introgresiva y la valorización de las colecciones de parientes silvestres de la papa.

Referencias

[1] Sandro, P.A., M.I. Rebollo, P. Gaiero, M. Vaio, and P. Speranza. 2016. Diseño de microsatélites para Solanum commersonii a partir de información genómica. In Journal of basic and applied genetics Suppl vol XXVII (1), 276. Buenos Aires: Argentine Society of Genetics.

Agradecimientos

• Alicia Castillo y personal técnico de INIA por multiplicación y mantenimiento de los

genotipos
 Guillermo Galván y CRS por la utilización de las cámaras



Línea 4 INIA



CSIC I+D 2016 250

