REDBIO Argentina

Jornada
"Soja en el Siglo XXI: a 15 años de la aprobación
del primer evento transgénico en Argentina"

10 de mayo 2011

Lic. Javier GILLI
EEA INTA Marcos Juárez

Salones de la Fundación Cassará, Av. de Mayo 1190, C.A.B.A.

REDBIO ARGENTINA

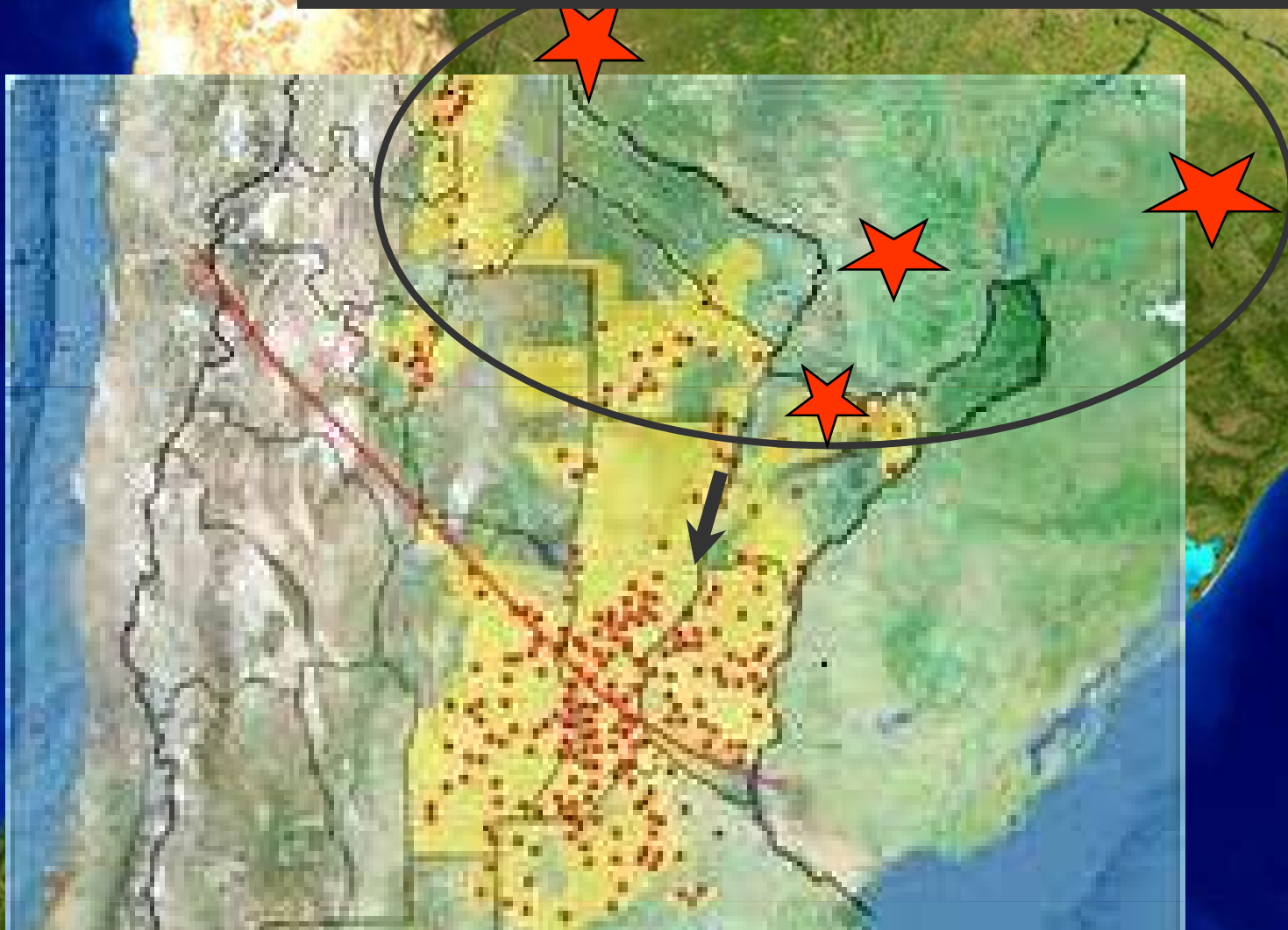# Avances en mapeo genético y genómica de la resistencia a roya

Licenciado en Genética Javier GILLI
EEA INTA Marcos Juárez, Argentina. e-mail:
jgilli@mjuarez.inta.gov.ar

Salones de la Fundación Cassará, Av. de Mayo 1190, C.A.B.A.

INTA

Roya de la soja en Sudamérica

El primer reporte en Sudamérica fue en Paraguay durante la campaña 2000-2001(Yorinori et. al, 2003), luego en Brasil (Yorinori et. al, 2003) y Argentina (Rossi, 2003) y en el 2003 en Bolivia (Yorinori et. al, 2003).

Entre Ríos campaña 2004/05.

con fungicida

sin fungicida

Disminución del área foliar y senescencia prematura (Afecta el número de vainas, granos y peso de los mismos)

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

Aportar al control integrado de la enfermedad, a través del **mejoramiento genético del cultivo**

PROYECTOS

1.**PNCER1337.** "MEJORAMIENTO MOLECULAR DE CEREALES Y OLEAGINOSAS"

2.**PNCER1338.** "DESARROLLO DE GENOTIPOS DE SOJA"

3.**PNOLE31041.** "MEJORAMIENTO GENETICO DE LA SANIDAD Y CALIDAD EN SOJA"

4.**AEBIO241362.** "PLATAFORMA MERCOSUR PARA EL DESARROLLO DE HERRAMIENTAS GENÓMICAS Y POSTGENÓMICAS PARA EL CONTROL DE LA ROYA ASIÁTICA DE LA SOJA"

5.**SOUTHNOMICS** - PROCISUR

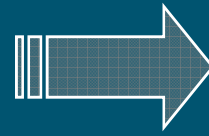6.**BIOTECSOJASUR** "APOYO AL DESARROLLO DE LAS BIOTECNOLOGÍAS EN EL MERCOSUR- BIOTECH"

PROCISUR · MERCOSUR

Argentina, Bolivia
Brasil, Chile
Paraguay, Uruguay

IICA
Instituto Interamericano
de Cooperación para
la Agricultura

BIOTECSUR

INTA

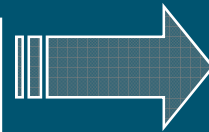# Estrategia

Caracterización de germoplasma →
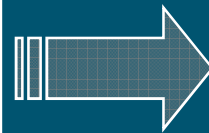- FENOTIPO
- GENOTIPO

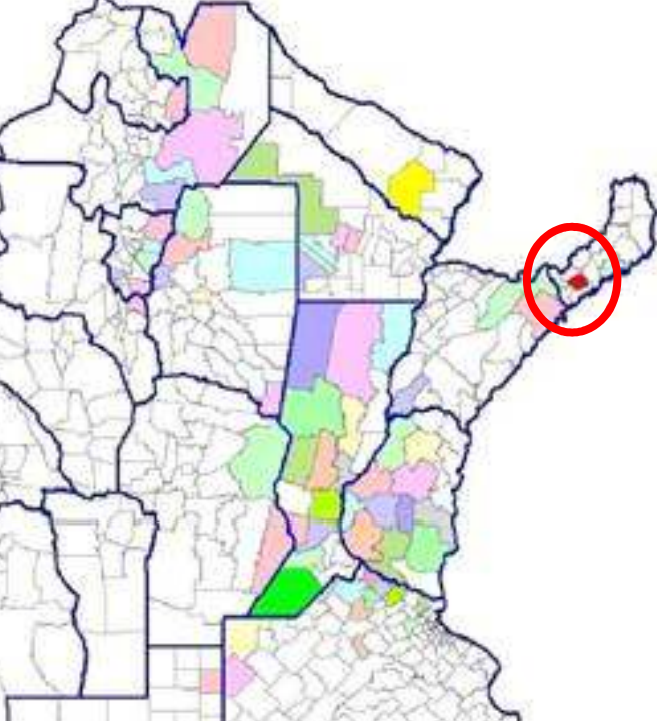**Mapeo de genes mayores** →
- BIPARENTAL
- POR ASOCIACIÓN

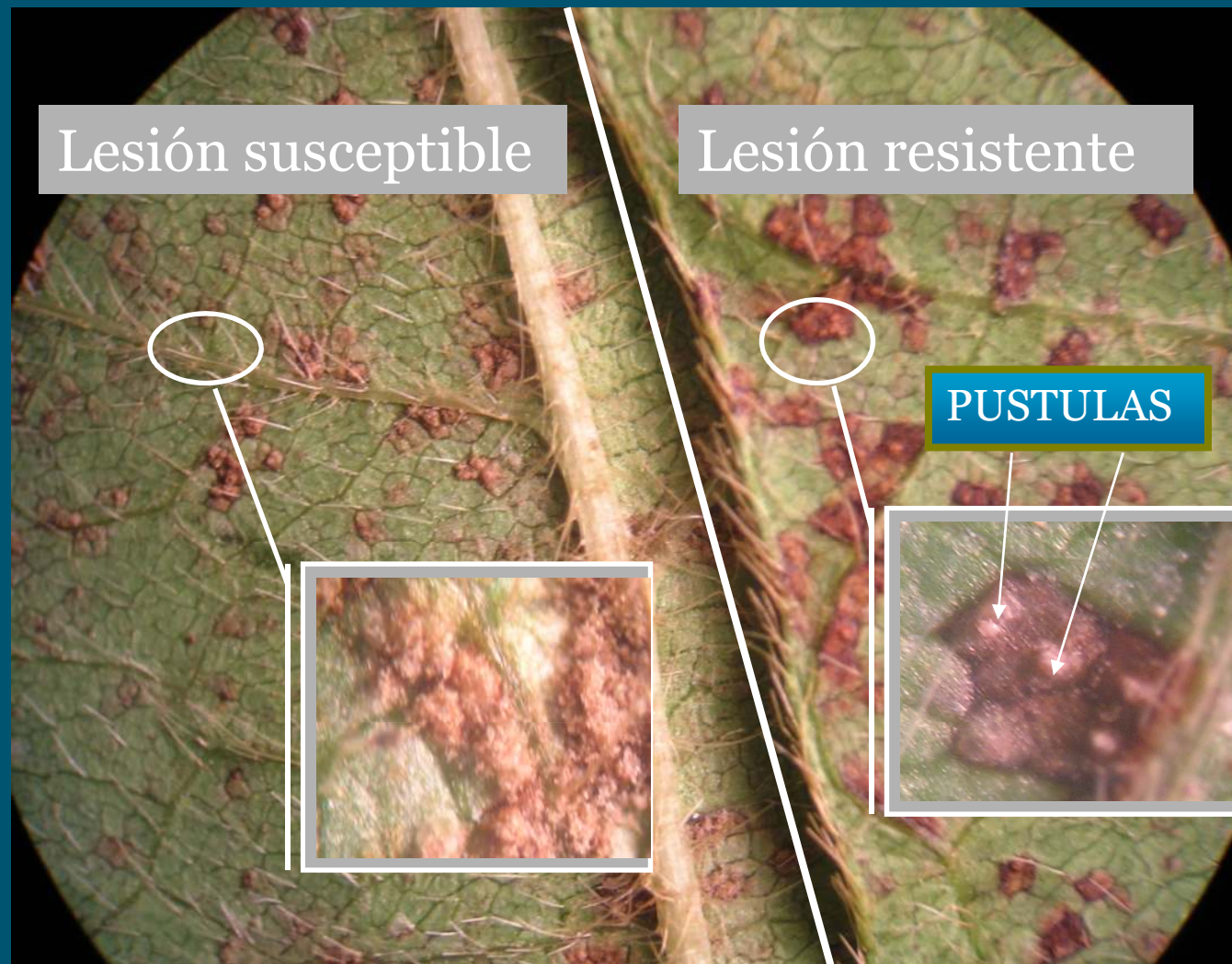**Selección asistida por marcadores moleculares** →
- EN RETROCRUZAS
- EN POBLACIONES DE CRIA

Lesión susceptible

Lesión resistente

PUSTULAS

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

900 Genotipos Exóticos y Cultivares

Genotipos Destacados	Gen	Reacción
PI 547875 isolinea williams 82	*Rpp1*	S
PI 547878 isolinea williams 82	*Rpp2*	S
PI 547879 isolinea williams 82	*Rpp4*	R
PI200492	*Rpp1*	S
PI230970	*Rpp2*	S
PI461312	*Rpp3*	S
PI459025	*Rpp4*	R

Hatwing and Bromfield, (1983); McLean and Byth, (1980); Hartwig, (1986).

50 Genotipos con antecedentes

Genotipos Destacados	Reacción
1 PI 594756	R
2 PI 587880A	R
3 PI 200455	R
4 PI416819	R
5 PI417115	R
6 PI594723	R
7 PI594754	R
8 PI594760B	R
9 PI594766	R
10 PI594767	R
11 PI200526	R
12 YORI 1	R
13 BACURI	R
14 HYUNGA	R
15 PI423956	R
16 PI471904	R
17 PI203398	R
18 PI416764	R
19 SHIRANUI	R
20 PI423966	R

ISOLÍNEAS

Genotipo Recurrente	Genotipo Donador	Isolínea	Gen
Williams82	PI200492	PI547875	Rpp1
Williams82	PI230970	PI547878	Rpp2
Williams82	PI459025	PI547879	Rpp4

Conversión del genotipo Williams 82 a través de 5 Retro-cruzas (Bernard et al., 1989)

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

MICROSATELITES

21 - INFORMATIVOS

39 - NO INFORMATIVOS

POLIMORFICOS

Satt472 (GL G) ⟶ PI 547879 (Rpp4)

Satt244 (GL J) ⟶ PI 547878 (Rpp2)

Grupo de Ligamiento G

Satt472

1 W 2 4

3 1

4

Isolineas

Grupo de Ligamiento J

Satt244

1 1 W 2 4 4

Isolineas

Gen *Rpp4*

Región Polimórfica

24 cM

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA
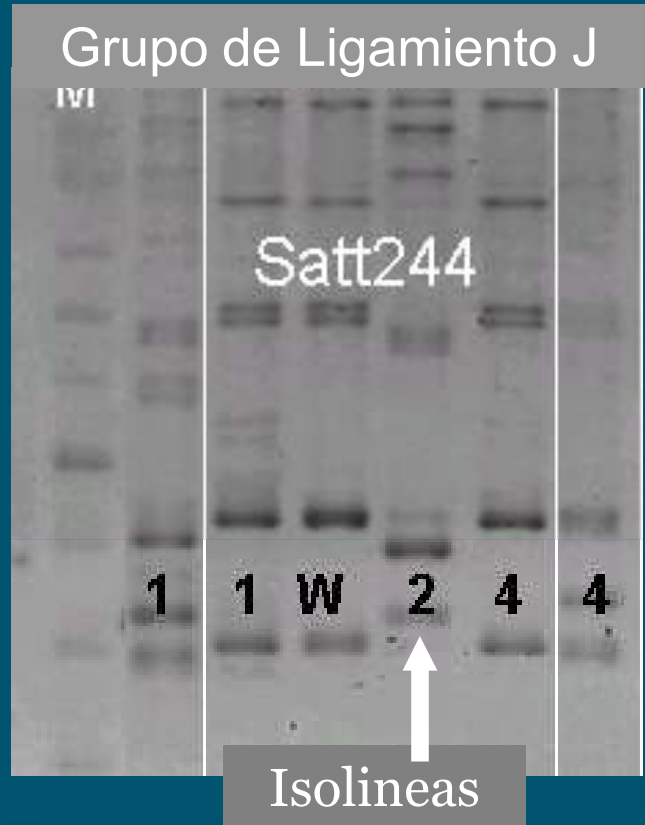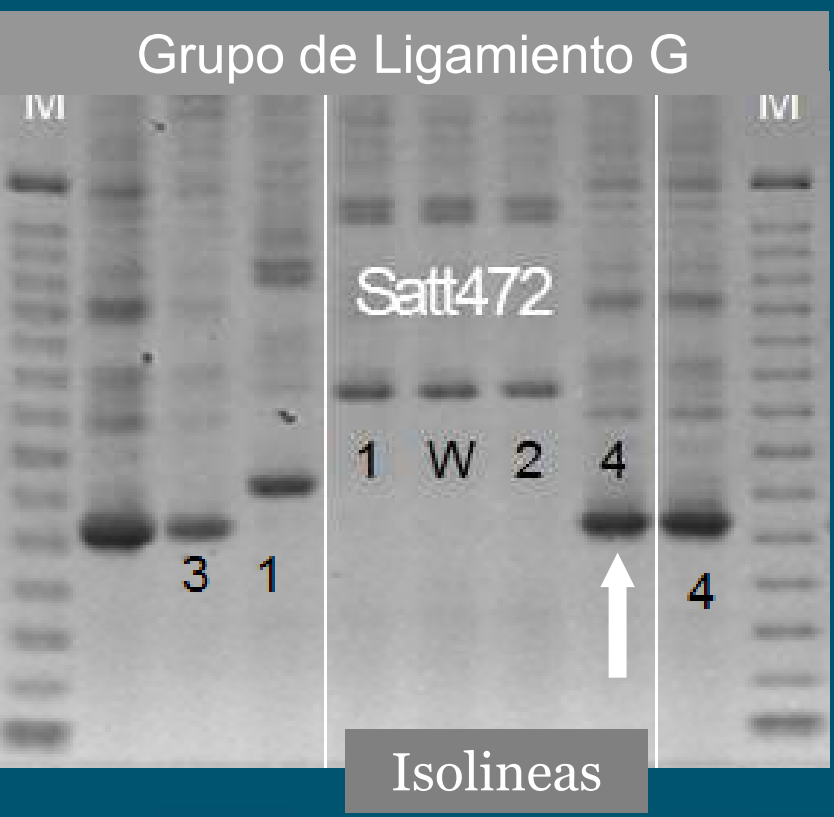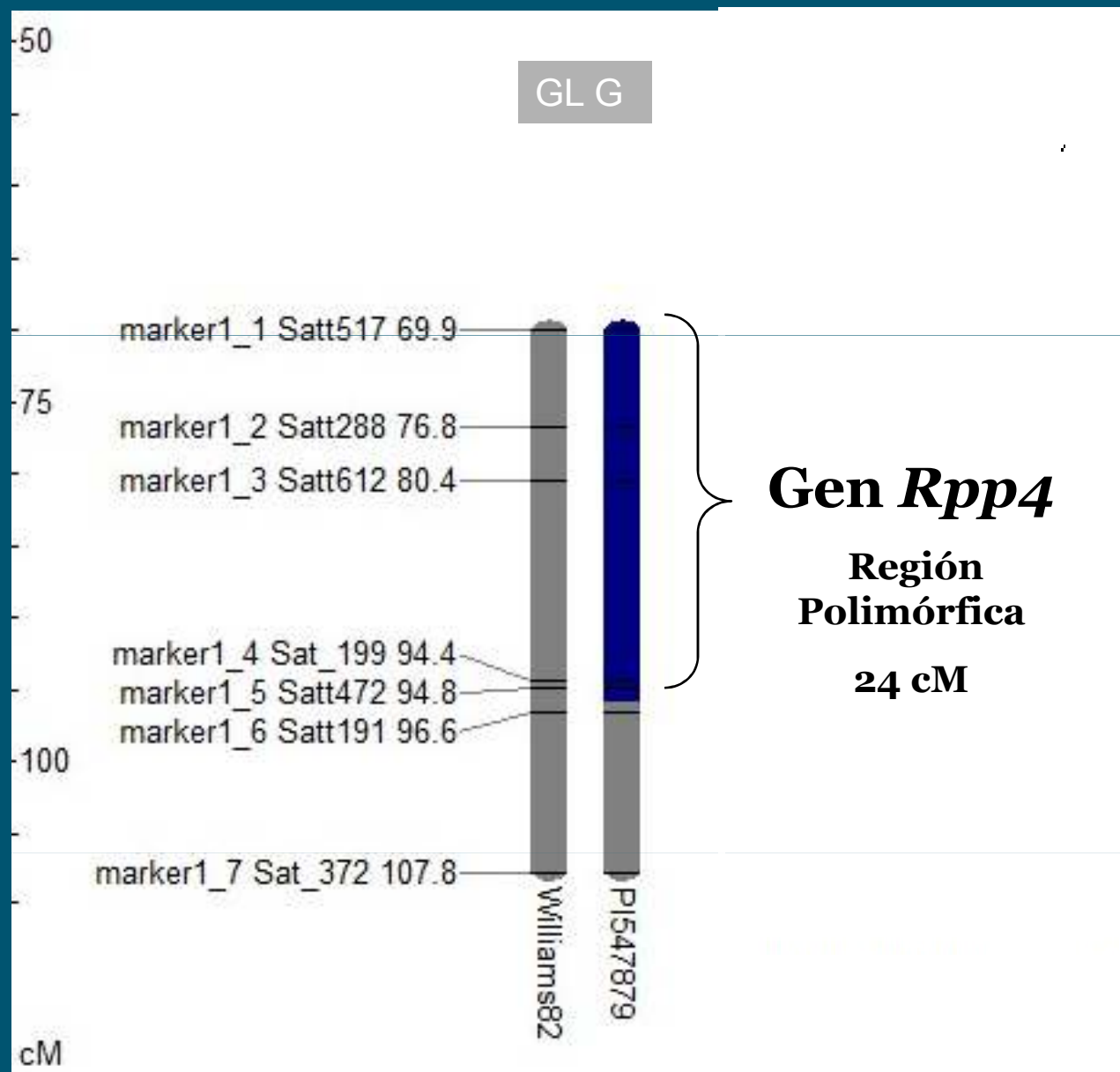
Promedio (Average linkage)

Distancia: (Jaccard (sqrt(1-S)))
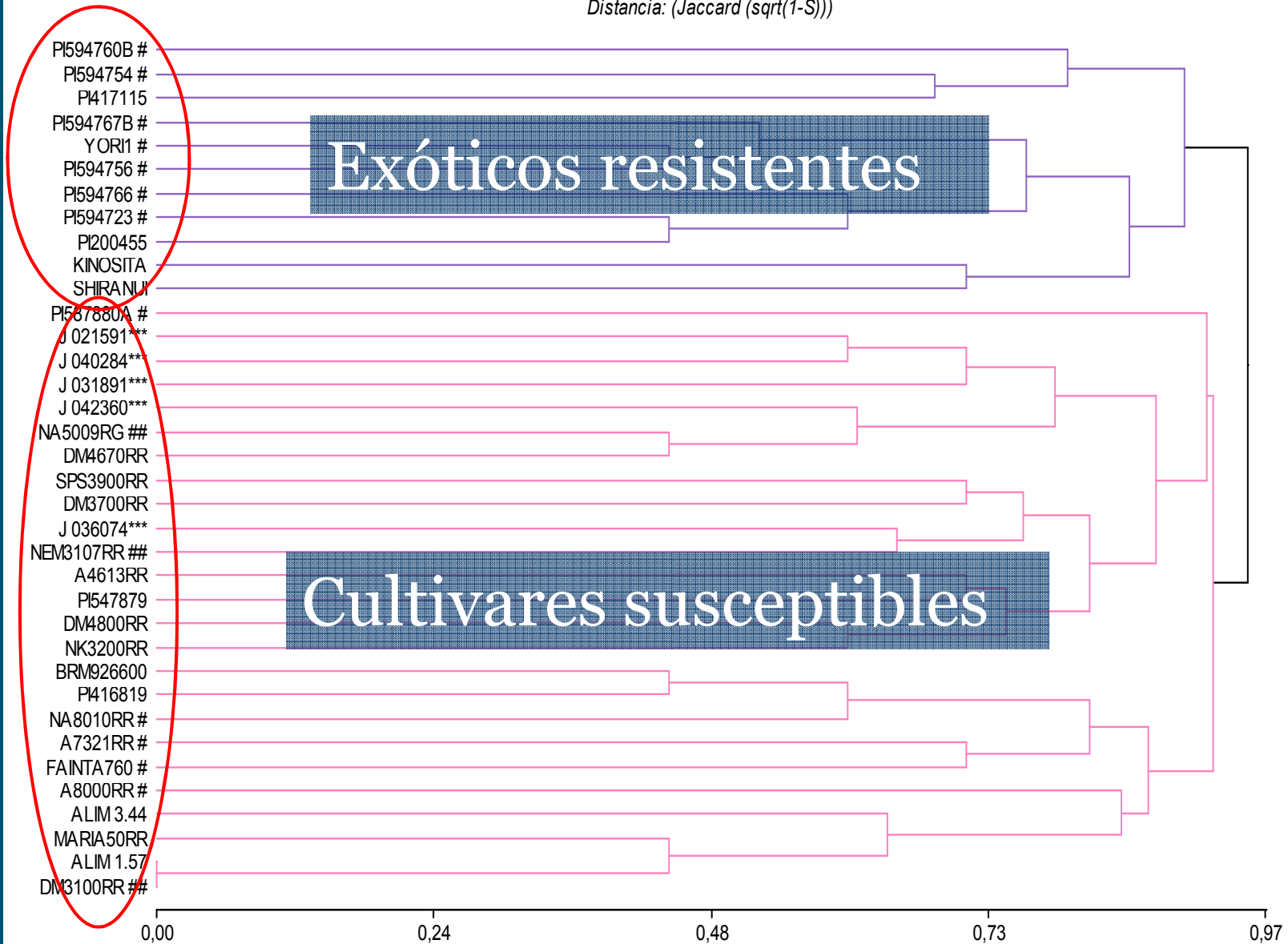
Exóticos resistentes

Cultivares susceptibles

PI594760B #
PI594754 #
PI417115
PI594767B #
YORI1 #
PI594756 #
PI594766 #
PI594723 #
PI200455
KINOSITA
SHIRANUI
PI587880A #
J 021591**
J 040284***
J 031891***
J 042360***
NA5009RG ##
DM4670RR
SPS3900RR
DM3700RR
J 036074***
NEM3107RR ##
A4613RR
PI547879
DM4800RR
NK3200RR
BRM926600
PI416819
NA8010RR #
A7321RR #
FAINTA760 #
A8000RR #
ALIM 3.44
MARIA50RR
ALIM 1.57
DM3100RR ##

0,00   0,24   0,48   0,73   0,97

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

Mapa de Ligamiento
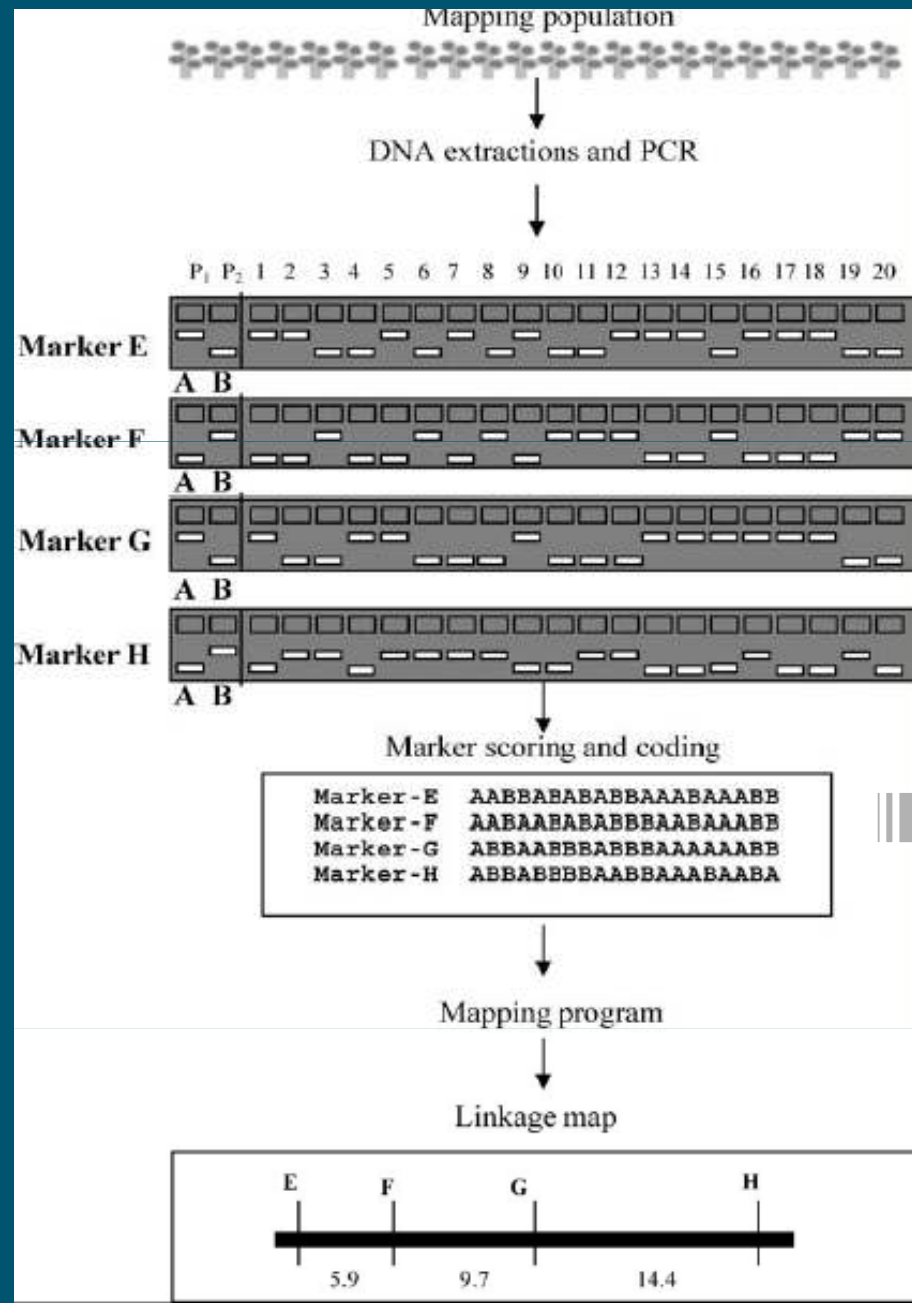
Agregar a la matriz de datos el carácter Resistencia a Roya

POBLACIÓN BIPARENTAL Y PROGENIES F$_{2:3}$

Susceptible   **X**   **Resistente**

P →

F1 →

F2 →

F2 3:1 (W_/ww)			
Color Hipocotilo	Observados	Esperados	Chi-Cuadrado
Púrpura	120	123,75	0,113
Verde	45	41,25	0,34
Total	165	165	0,453 $p > 0,05$

2:3 →

Planta F2
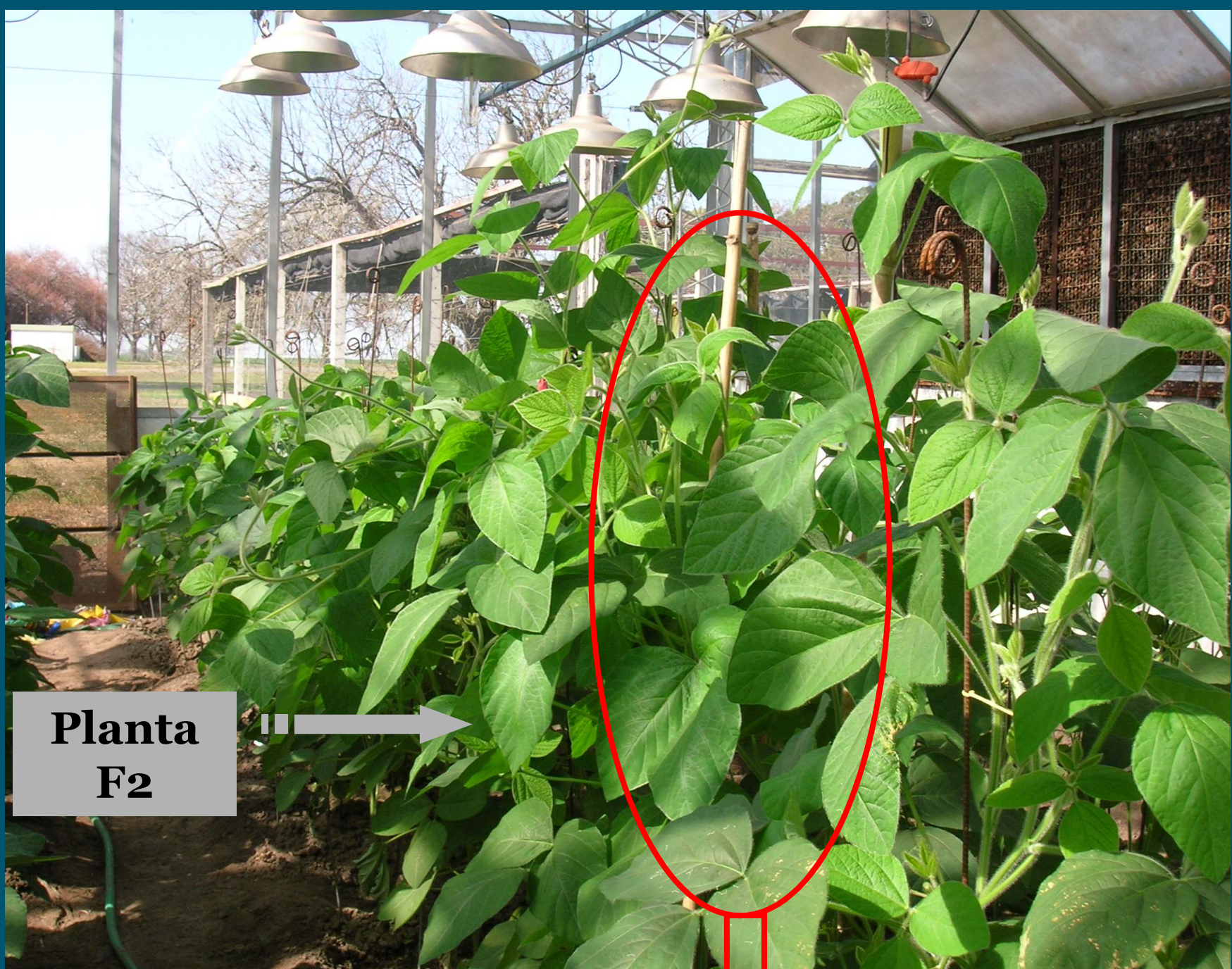
Progenies F$_{2:3}$ - Test de progenies
Análisis Fenotípico

Extracción de ADN
Análisis molecular

"Hill plot" Resistentes (RB)

"Hill plot" Susceptibles TAN

"Hill plot" Segregantes RB/TAN

Genotipo	Tipo de Lesión	Rango de Severidad	Rango de Esporulación
Susceptible	S	10 ~ 70	1 ~ 3
Resistente	R	1 ~ 30	0

Susceptible
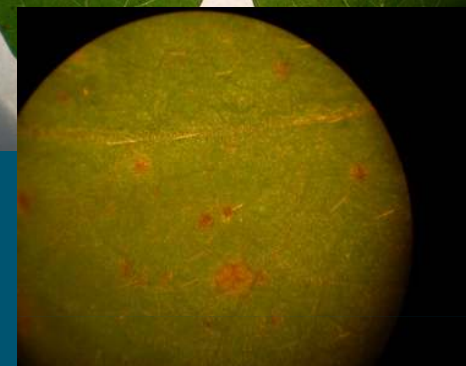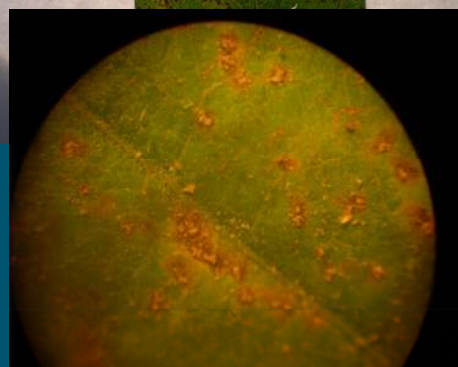
Resistente

CRITERIO DE SELECCIÓN:

Las plantas con esporulación 0 y menos del 30% de la sup. foliar afectada se consideraron resistentes, el resto se consideró susceptible

Fueron evaluadas 1000 plantas de 120 familias

Tipo de Reacción	Observadas	Esperadas	Chi-Cuadrado
R	25	30	0,83
H	57	60	0,15
S	38	30	2,13
Total	120	120	**3,11**

Esperamos que se cumpla la 1ª Ley de Mendel 1:2:1

X^2: 3,11 - *p 0,05*

UN GEN expresa la resistencia

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

Marcadores Moleculares

Satt191 (GL G)

50bp

Resistente

Susceptible

250

200

23 Plantas F2

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

T-PCR

SNP 18441 (GL G)

High Resolution Melting

78,17 °C

78,52 °C

Archer | Minsoy | Peking | PI209332 | PI594766 | Maria 50
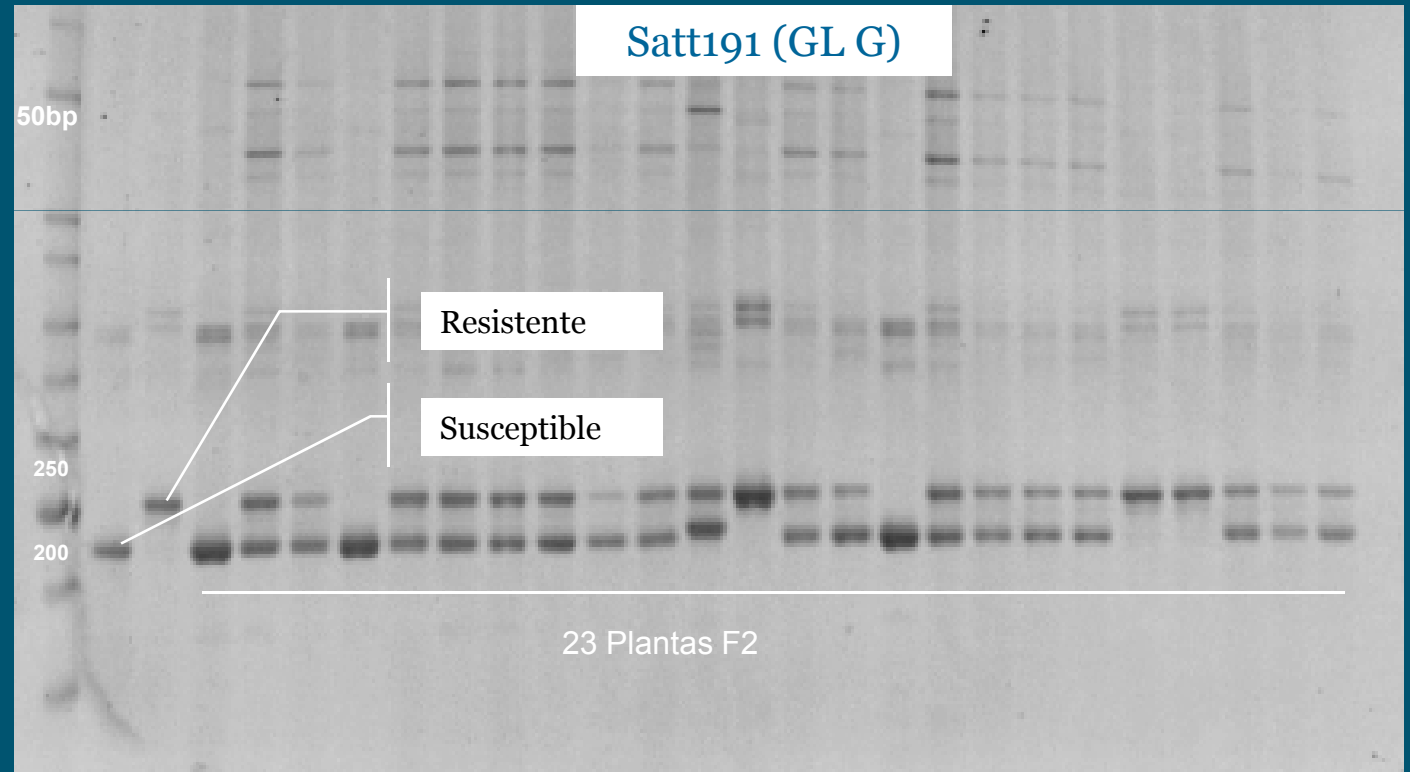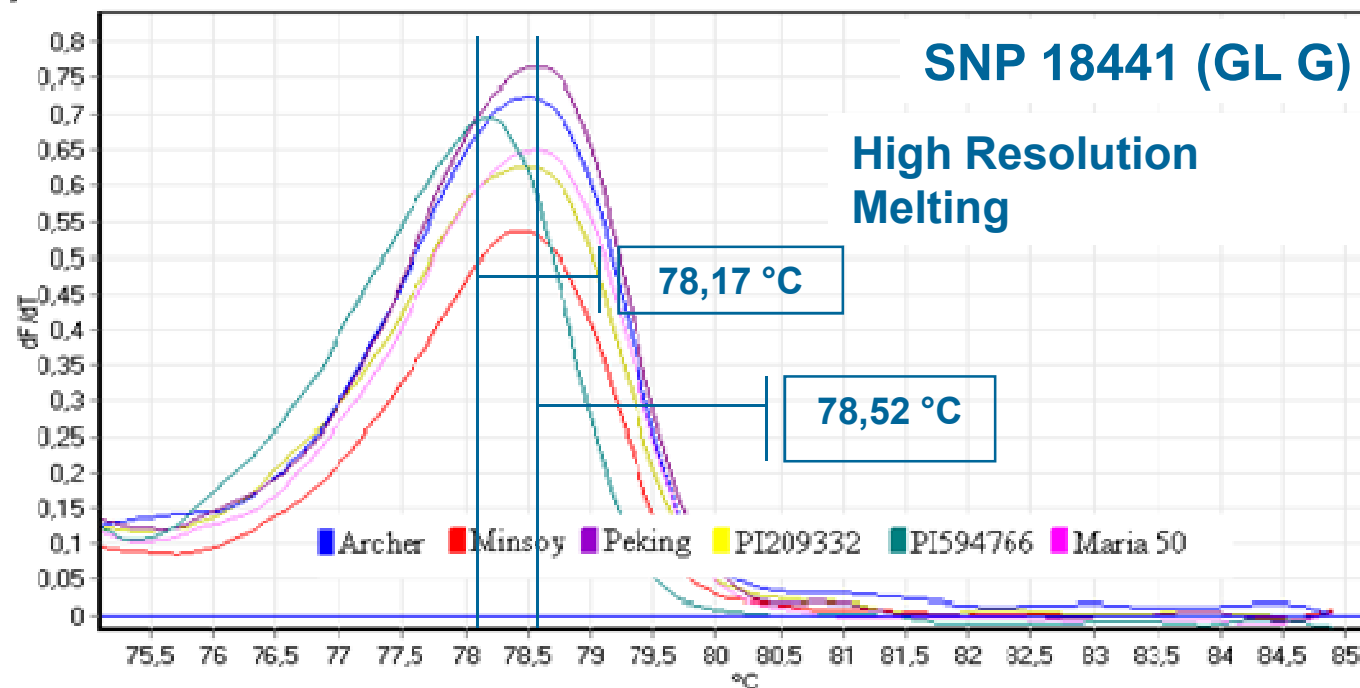
High Resolution Melt (HRM) → técnica innovadora que se basa en el melting (fusión) del ADN

Analiza la transcisión de ADN doble hebra (dsDNA) a ADN simple hebra (ssADN)

PCR en presencia de un **colorante intercalante** → Emite fluorescencia cuando el ADN se encuentra doble hebra

Durante el HRM, la fluorescencia es inicialmente alta (dsDNA). Cuando la temperatura comienza a elevarse para realizar el melt, el ADN se disocia (ssDNA) y la fluorescencia comienza a disminuir.

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

F23 - Bloc de notas

Archivo   Edición   Formato   Ver   Ayuda

```
data type f2 intercross
158 32 0
*Satt191      H     H     B     B     A     H     A     H     A     H     B
*Satt012      H     A     A     H     H     B     B     H     H     H     A
*Satt503      H     B     B     H     H     B     B     H     B     H     B
*Satt517      H     B     B     H     H     A     A     H     A     H     B
*Satt288      H     B     B     H     A     H     A     H     A     -     B
*Sct_199      H     B     B     H     A     H     A     H     A     H     B
*Satt631      A     B     B     A     A     B     H     B     H     B     H
*Satt641      A     B     B     A     A     H     H     H     A     B     H
*Rpp-CA(veg)  H     -     B     -     H     H     H     A     B     RB    -
*Satt152      A     B     B     A     A     B     H     B     H     B     H
*Satt530      A     B     B     A     A     B     H     H     A     B     A
*Satt584      A     B     B     H     H     B     H     H     A     B     H
*Satt660      H     H     H     A     B     A     B     B     A     H     A
*Sat_165      H     B     B     B     A     B     B     H     -     A     A
```

JoinMap 3.0 - GDEHRHRH

File   Join   Population   Grouping   Group   Map   Calculate   Options   Help

P F23

Info   Data   Loci   Individuals   Locus genot.freq.   Individual genot.freq.   Similarity of loci   Similarity of individuals   LOD groupings (text)   LOD groupings (tree)

```
JoinMap 3.0        Fri, 6 May 2011, 14:58

JoinMap is using an evaluation license

locus genotype file:          C:\Users\jgilli.MJUAREZ\Documents\Javier\BIOTECH\Biotec1\Datos\Página\JoinMap\CerroAzul\F23.ra
  population name:             F23
  population type:             F2
  nr. of loci:                 32
  nr. of individuals:          158
final number of individuals:   158
```

Localización del gen *Rpp?*

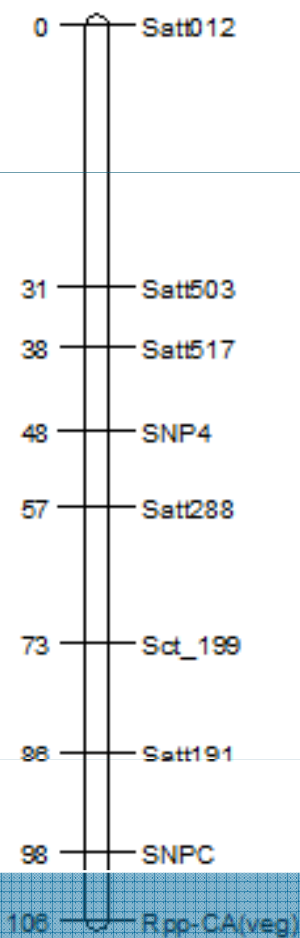| Nr	Locus	a	h	b	c	d	-	X2	Df	Signif.	Classes
1	Satt191	26	83	36	0	0	13	4.4	2	-	[a:h:b]
2	Satt012	38	70	40	0	0	10	0.5	2	-	[a:h:b]
3	Satt503	35	62	48	0	0	13	5.4	2	*	[a:h:b]
4	Satt517	35	58	37	0	0	28	1.6	2	-	[a:h:b]
5	Satt288	46	62	38	0	0	12	4.2	2	-	[a:h:b]
6	Sct_199	32	76	37	0	0	13	0.7	2	-	[a:h:b]
7	Satt631	41	80	35	0	0	2	0.6	2	-	[a:h:b]
8	Satt641	41	80	34	0	0	3	0.8	2	-	[a:h:b]
9	Rpp-CA(veg)	25	57	38	0	0	38	3.1	2	-	[a:h:b]
10	Satt152	45	74	37	0	0	2	1.2	2	-	[a:h:b]
12	Satt584	37	79	40	0	0	2	0.1	2	-	[a:h:b]
13	Satt660	42	78	36	0	0	2	0.5	2	-	[a:h:b]
14	Sat_165	49	69	37	0	0	3	3.7	2	-	[a:h:b]
15	Satt622	43	73	35	0	0	7	1.0	2	-	[a:h:b]
16	Satt183	44	72	40	0	0	2	1.1	2	-	[a:h:b]
18	Satt215	36	88	32	0	0	2	2.8	2	-	[a:h:b]
19	Sct_001	38	67	37	0	0	16	0.5	2	-	[a:h:b]
21	Sctt011	32	86	35	0	0	5	2.5	2	-	[a:h:b]
23	Satt134	34	72	41	0	0	11	0.7	2	-	[a:h:b]
24	Satt319	38	79	40	0	0	1	0.1	2	-	[a:h:b]
25	Satt100	42	74	40	0	0	2	0.5	2	-	[a:h:b]
26	Satt460	43	76	38	0	0	1	0.5	2	-	[a:h:b]
27	Satt079	35	78	39	0	0	6	0.3	2	-	[a:h:b]
28	Satt307	41	83	34	0	0	0	1.0	2	-	[a:h:b]
29	Satt202	32	91	32	0	0	3	4.7	2	*	[a:h:b]
30	SNP4	36	66	43	0	0	13	1.8	2	-	[a:h:b]
32	SNPC	29	85	39	0	0	5	3.2	2	-	[a:h:b]

0	Satt012
31	Satt503
38	Satt517
48	SNP4
57	Satt288
73	Sct_199
98	Satt191
98	SNPC
106	Rpp-CA(veg)

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

INTA

Localización del gen *Rpp4*

Nr	Locus	a	h	b	c	d	-	X2	Df	Signif.	Classes
1	Satt191	18	66	30	0	0	0	5.4	2	*	[a:h:b]
2	Satt612	31	50	33	0	0	0	1.8	2	-	[a:h:b]
3	Satt288	26	50	38	0	0	0	4.3	2	-	[a:h:b]
5	Sct199	15	66	32	0	0	1	8.3	2	**	[a:h:b]
6	Rpp4	26	39	34	0	0	15	5.8	2	*	[a:h:b]
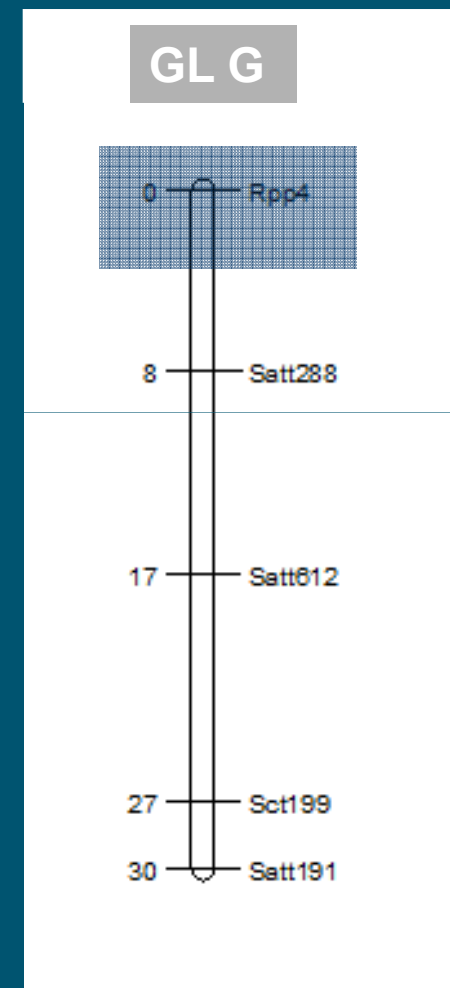
GL G

0 — Rpp4
8 — Satt288
17 — Satt612
27 — Sct199
30 — Satt191

Mozilla Firefox

Edit View History Bookmarks Tools Help

http://biotecsojasur.org/

TraduceGratis Customized Web !

http://biotecsojasur.org/

BIOTECSOJASUR

BIOTECSUR UNIÓN EUROPEA MERCOSUR

Inicio | Biotecsojasur | Actividades principales | Novedades | Contacto | Webmail | English | Portugues
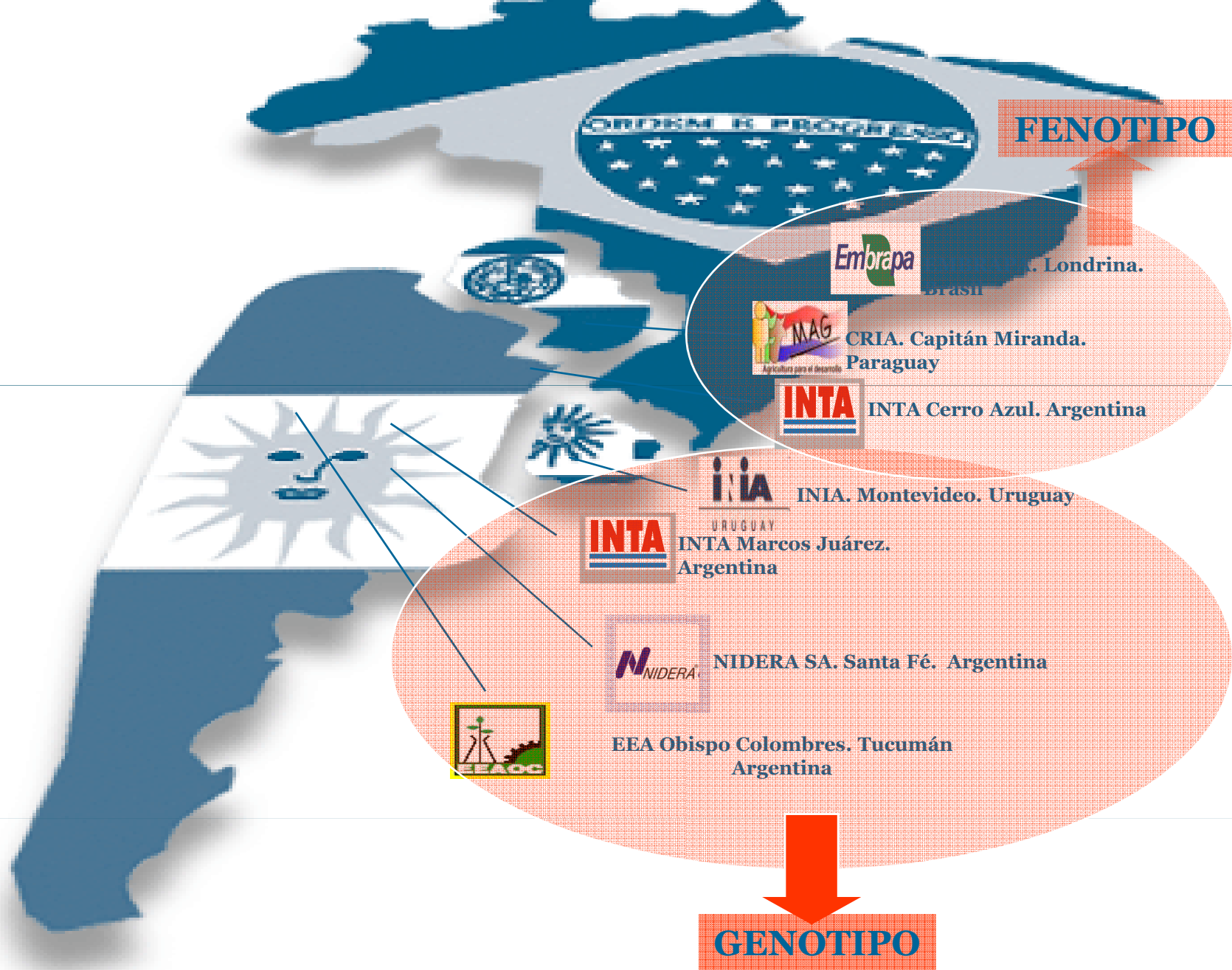
Biotecsojasur es uno de los consorcios regionales promovidos por la plataforma Biotecsur. Estos consorcios están integrados por el sector académico y el sector privado para trabajar sobre temas de interés común.

El objetivo general de este proyecto es caracterizar genes y/ o tecnologías derivadas del análisis funcional de los mismos, que puedan otorgar valor agregado al cultivo de la soja bajo estrés hídrico y sanitario, a través de la consolidación de un espacio reticular de trabajo público y privado en el MERCOSUR y en un marco de sustentabilidad ambiental, económica y social. La consolidación de esta red de trabajo contempla, además, la formación de recursos humanos en áreas de vacancia en los cuatro países, principalmente en Paraguay. La conformación de este "instituto virtual" conducirá a brindar acceso a sus miembros a biotecnología avanzada de última generación aplicable a otras cadenas productivas.

Este proyecto contempla el desarrollo de herramientas de biotecnología de avanzada para contribuir a la generación de conocimiento sobre mecanismos de tolerancia a estrés hídrico y resistencia a patógenos fúngicos de importancia creciente, a la identificación y caracterización funcional de genes candidatos involucrados en estos procesos, y de marcadores moleculares asociados a los caracteres de interés para asistir y hacer más eficiente el mejoramiento genético del cultivo de la soja.

Para más información visite **www.biotecsur.org**

FENOTIPO

Embrapa ... Londrina. Brasil

CRIA. Capitán Miranda. Paraguay

INTA Cerro Azul. Argentina

INIA. Montevideo. Uruguay

INTA Marcos Juárez. Argentina

NIDERA SA. Santa Fé. Argentina

EEA Obispo Colombres. Tucumán Argentina

GENOTIPO

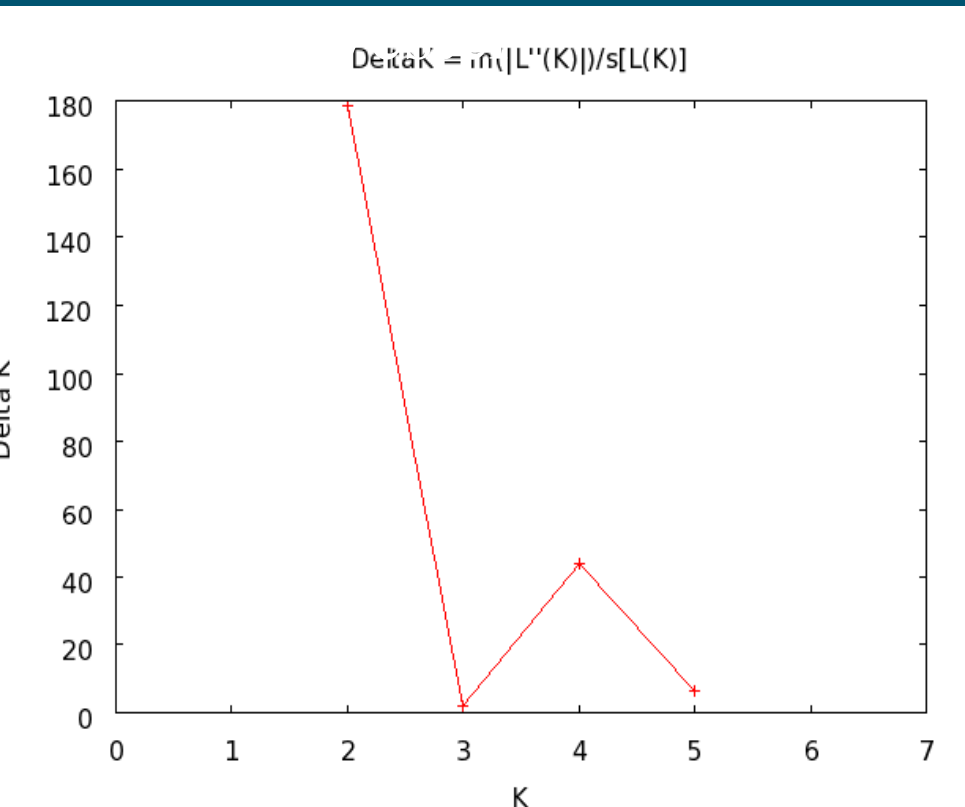Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

INTA

Estructura de la población para Mapeo por Asociación

Material vegetal: 88 genotipos (cultivares Argentinos y materiales exóticos)

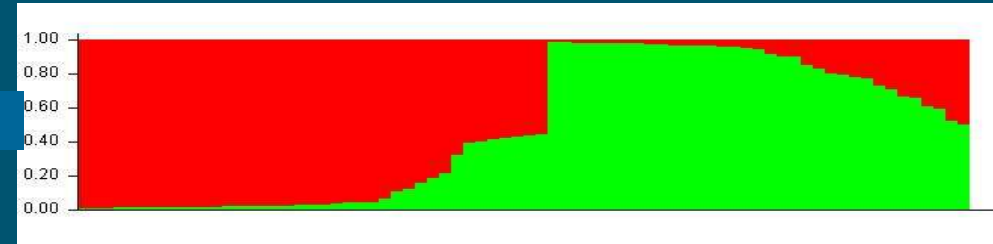Marcadores: 16 SSR no ligados (11 GL)

Structure

$$\text{DeltaK} = m(|L''(K)|)/s[L(K)]$$

La estructura mayor se encuentra en **K=2** y una subestructuración en **K=4**
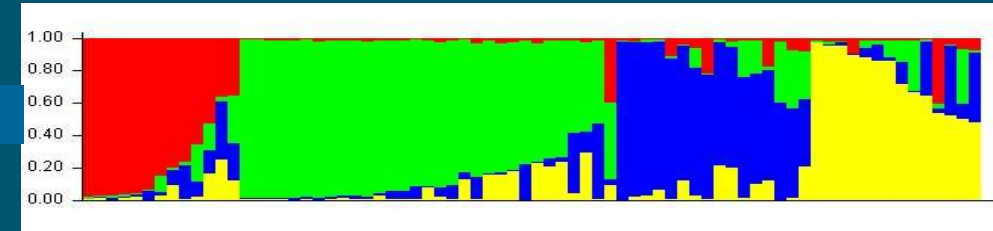
Structure

K = 2

Rojo: la mayoría son cultivares de GM cortos.

Verde: la mayoría son cultivares de GM largos y la mayoría de los exótic

K = 4

Rojo: la mayoría son cultivares de GM largos.

Azul: la mayoría son cultivares de GM cortos.

Verde: cantidades similares de cultivares de GM largos y exóticos.

Amarillo: cantidades similares de cultivares de GM largos y exóticos.

RC3F₂ *Rpp4*
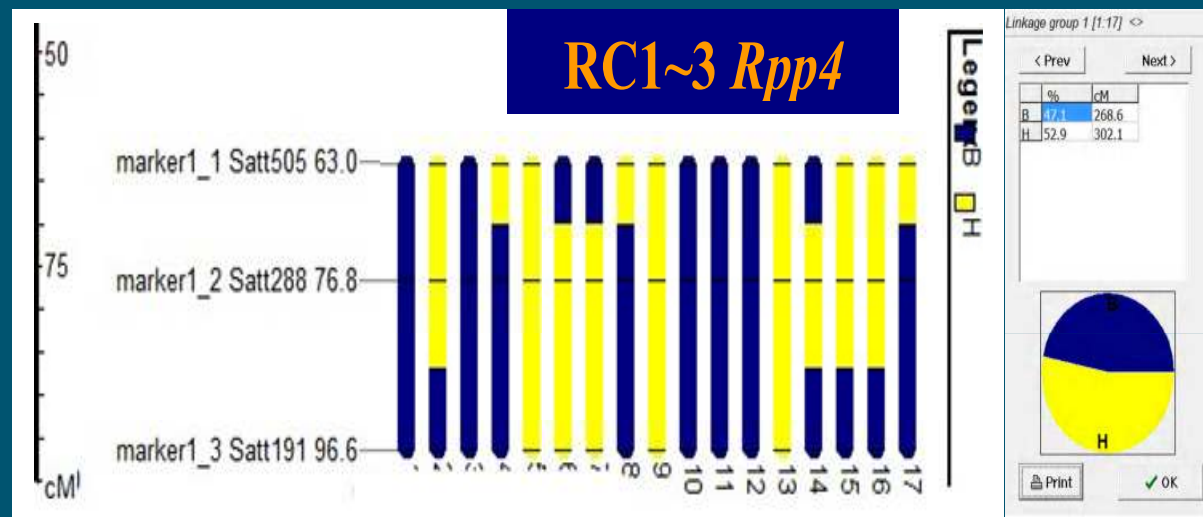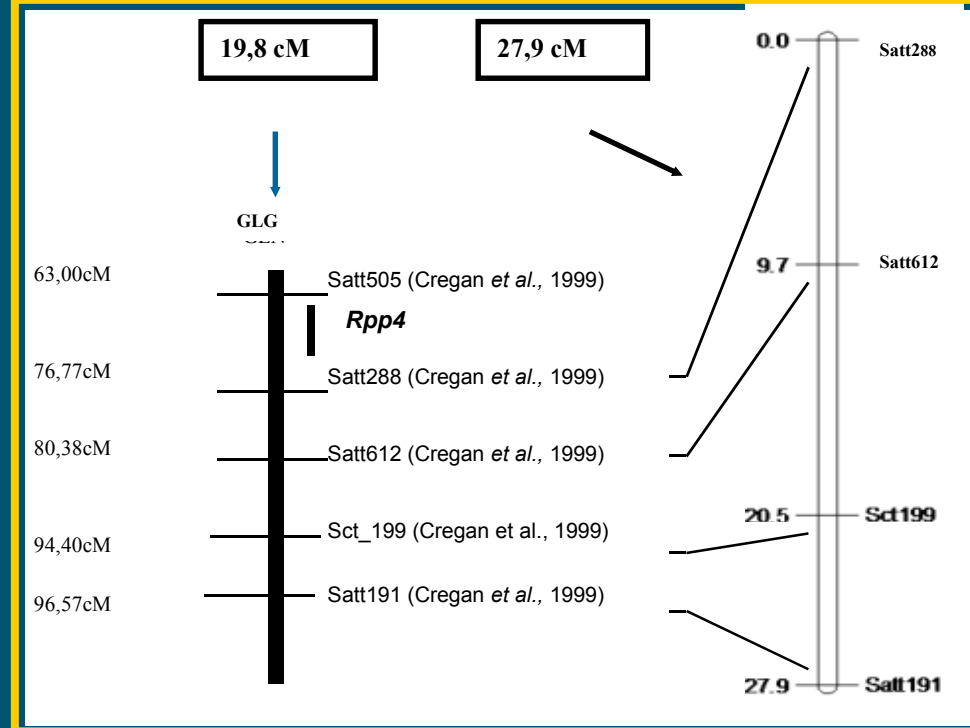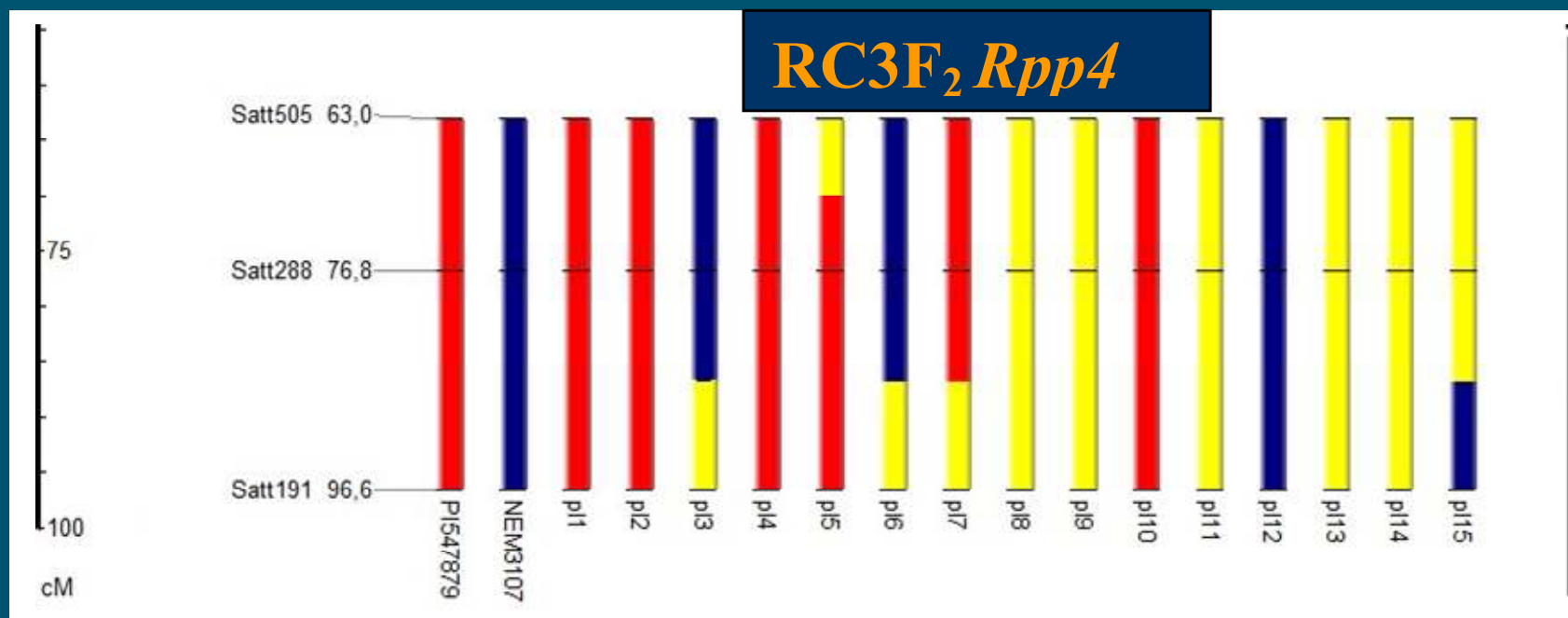
6 Plantas seleccionadas

L(**pl1**) - L(**pl2**) - L(**pl4**) - L(**pl5**) L(**pl7**) - L(**pl10**)

RC3F$_2$F$_1$

Código	Combinación ♀ (RC2F$_2$)	♂ (RC2F$_2$)	Plantas RC3F$_2$F$_1$
1	W(pl10)	L(pl1)	2
2	W(pl1)	L(pl1)	5
3	H(pl2)	L(pl11)	3
4	W(pl9)	L(pl1)	2
5	H(pl15)	L(pl5)	1
6	H(pl15)	L(pl1)	3
7	H(pl15)	L(pl5)	4
8	H(pl11)	L(pl7)	1
9	H(pl8)	L(pl8)	1
10	W(pl7)	H(pl6)	1
11	W(pl8)	L(pl8)	2
12	L(pl1)	W(pl1)	2
13	L(pl5)	H(pl11)	1
14	L(pl5)	W(pl4)	3
15	L(pl8)	W(pl14)	2
16	L(pl0)	W(pl8)	2
17	L(pl10)	H(pl11)	2
18	H(pl6)	W(pl10)	3
19	H(pl6)	W(pl3)	2
20	H(pl6)	W(pl1)	1
21	H(pl6)	L(pl2)	1
22	L(pl14)	W(pl2)	4
23	L(pl14)	W(pl9)	3

51 plantas RC3F$_2$F$_1$

Gen	Marcadores			
Rps1-k	Satt159	Satt009	Tgmr	Satt641
Rpp4	Satt505	Satt288	Satt191	
Rhg4	Satt424	AK-HSDS	A2D8	Satt632

digo	Combinación		Planta RC3F$_2$F$_1$	Nematodos - Rgh4 GL A2				Roya - Rpp4 GL G			Phytophtora - Rps1-k GL N			
	♀ (RC2F$_2$)	♂ (RC2F$_2$)		Satt424	AK-HSDS	A2D8	Satt632	Satt505	Satt288	Satt191	Satt159	Satt009	Tgmr	Satt
8	H(pl11)	L(pl7)	1	Het	Het	Het		Het	Het	Het				
9	H(pl8)	L(pl8)	1	Het	Het	Het		N	Het	Het				
5	L(pl8)	W(pl14)	2					Het	Het	Het	Het	Het	Het	N
9	H(pl6)	W(pl3)	2	N	Het	Het					Het	Het	Het	H
20	H(pl6)	W(pl1)	1	N	Het	Het					N	Het	Het	H

AUTOFECUNDACIÓN
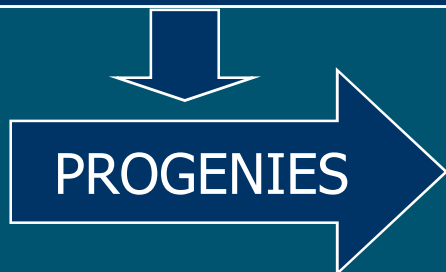
PROGENIES → Evaluadas a campo

Satt288 95% de eficacia para seleccionar resistencia a roya

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

INTA

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA

Construido con recursos aportados
por la Asociación Cooperadora de la
E.E.R.A. Marcos Juárez

6 de Mayo de 2005

Integrantes...

Clarisa BERNARDI *Lic. en Genética*
Luciana SEQUIN *Lic. en Biotecnología*
Celina GHIONE *Lic. en Bioquímica*
Javier GILLI *Lic. en Genética*

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria