

IDENTIFICACIÓN DE LAS BASES GENÉTICAS DE LA TOLERANCIA AL ACHAPARRAMIENTO DE MAÍZ CAUSADO POR *Spiroplasma kunkelii*: AVANCES EN LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LÍNEAS ELITE

Loste N.; Mayor P.; Catalano M.I.

Syngenta Agro S.A. / UNNOBA – Instituto de Posgrado. Ruta 8 km 331, Santa Isabel, Santa Fe, Argentina.

nicolas.loste@syngenta.com

IDENTIFICATION OF THE GENETIC BASIS OF TOLERANCE TO CORN STUNT DISEASE
CAUSED BY *Spiroplasma kunkelii*: ADVANCES IN PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF
ELITE INBRED LINES

Corn stunt disease, associated with *Spiroplasma kunkelii* and transmitted by the leafhopper *Dalbulus maidis*, is an increasing constraint to maize production in Argentina. This work reports advances in the phenotypic characterization of 178 elite inbred lines from Syngenta Agro S.A. artificially inoculated with *S. kunkelii* at Santa Isabel, Santa Fe. The experiment included three sowing dates and within-line comparisons between inoculated and non-inoculated plants. Disease severity was assessed on an ordinal scale from 0 to 6 at 20, 45, 60, 75, and 90 days after inoculation. Ratings were used to calculate the area under the disease progress curve (AUDPC) for each plant by trapezoidal integration and were subsequently summarized by line within each sowing date. Broad variation in symptom progression and accumulated severity was observed among lines. However, response magnitude and AUDPC-based grouping differed among sowing dates. Therefore, no definitive global ranking was established. These data will support the assessment of line stability and modelling of genotype $\times$ sowing-date interaction before integrating the phenotype with genomic information for association mapping and genomic prediction.

Palabras Clave: achaparramiento del maíz; *Spiroplasma kunkelii*; AUDPC; interacción genotipo $\times$ ambiente; mejoramiento genético

Keywords: corn stunt disease; *Spiroplasma kunkelii*; AUDPC; genotype $\times$ environment interaction; plant breeding

Introducción

El complejo de achaparramiento del maíz (Corn Stunt disease) comprende enfermedades asociadas a patógenos transmitidos por la chicharrita *Dalbulus maidis* (De Long & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). Este insecto puede transmitir *Spiroplasma kunkelii*, Fitoplasma Maize Bushy Stunt, Virus del Rayado Fino del Maíz y Virus del Mosaico Estriado del Maíz (Oliveira *et al.*, 1998; Giménez Pecci *et al.*, 2002). En Argentina, *S. kunkelii* es uno de los agentes de mayor relevancia dentro del complejo (Oleszczuk *et al.*, 2020). La alteración del floema y de la translocación de fotoasimilados genera síntomas como estrías cloróticas, coloración rojiza de hojas y tallos, proliferación de espigas, reducción de entrenudos y pérdidas de rendimiento que pueden ser muy elevadas en infecciones severas (Oliveira y Frizzas, 2022; Giménez Pecci *et al.*, 2002).

La campaña 2023-2024 evidenció la relevancia productiva del problema en Argentina, con una expansión del vector hacia zonas templadas y una marcada reducción

de la superficie sembrada de maíz en la campaña siguiente (Bolsa de Comercio de Rosario, 2024). La disponibilidad continua de hospedantes y condiciones climáticas favorables contribuyeron a la multiplicación y dispersión de *D. maidis* (Sabato, 2018; Virla, 2024). En este contexto, la incorporación de tolerancia genética constituye una alternativa complementaria al manejo integrado del vector.

Existen antecedentes sobre componentes de resistencia, como antibiosis y antixenosis, en la interacción maíz-*D. maidis*-*S. kunkelii* (Oleszczuk *et al.*, 2020; Carpane y Catalano, 2022). Sin embargo, las bases genéticas de la tolerancia en germoplasma elite de mejoramiento aún requieren mayor estudio. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la respuesta fenotípica de líneas elite ante inoculación artificial con *S. kunkelii* y describir los avances experimentales y analíticos orientados a identificar germoplasma con comportamiento estable.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en el Campo Experimental de Syngenta Agro S.A., Santa Isabel, Santa Fe (33°53'02" S; 61°37'35" O). Se evaluaron 178 líneas elite, seleccionadas desde un panel inicial de aproximadamente 400 líneas mediante información genotípica preexistente, buscando conservar representatividad alélica. El experimento incluyó tres fechas de siembra y, dentro de cada combinación línea × fecha, plantas inoculadas y controles no inoculados. Cada línea se estableció en dos surcos de 2 m, separados 0,52 m, con 0,25 m entre plantas. Se incluyeron genotipos de comportamiento contrastante como controles de referencia.

La cría de *D. maidis* se mantuvo sobre maíz en condiciones controladas (25 ± 2 °C y 70–80 % de humedad relativa). La fuente de inóculo fue verificada mediante detección de *S. kunkelii* en muestras vegetales. El esquema de producción de insectos contempló adquisición del patógeno, período de latencia en el vector y acceso a inoculación, siguiendo antecedentes metodológicos y adaptaciones operativas del bioterio (Nault, 1980; Lopes y De Oliveira, 2004). La inoculación se realizó en plantas jóvenes mediante la colocación individual de cinco insectos infectivos por planta, utilizando jaulas confeccionadas con botellas plásticas provistas de respiradero de voile.

La severidad se registró en las plantas inoculadas a los 20, 45, 60, 75 y 90 días posteriores a la inoculación, usando una escala ordinal de 0 a 6, donde 0 indicó ausencia de síntomas y 6 planta muerta. El registro se organizó a nivel de planta, línea y fecha de siembra. Las plantas identificadas como control se conservaron para la comparación posterior de variables morfológicas, fisiológicas y de componentes de rendimiento. Estas variables se encuentran en proceso de integración y no se incluyen como resultados cuantitativos en este trabajo.

Con la dinámica temporal de la enfermedad se calculó el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (AUDPC) por planta inoculada, mediante integración trapezoidal entre fechas de evaluación. Los intervalos que incluyeron datos faltantes no fueron imputados ni incorporados al cálculo. Luego, el AUDPC se promedió por línea dentro de cada fecha de siembra; además, se calcularon desvíos estándar entre plantas. Como exploración descriptiva, las líneas se agruparon dentro de cada fecha por K-means ($k = 3$), ordenando los grupos desde menor a mayor AUDPC como respuesta relativa tolerante, intermedia y susceptible. La consistencia de la clasificación se examinó comparando la pertenencia de cada línea a los grupos de las tres fechas. Este enfoque



50 AÑOS
PENSANDO
EL FUTURO

XIII
CONGRESO
NACIONAL
DE MAÍZ

se empleó para explorar la estabilidad de respuesta y no para definir categorías definitivas de tolerancia.

Resultados y Discusión

La inoculación artificial permitió registrar una amplitud de respuestas en la escala de severidad, desde plantas sin síntomas visibles hasta plantas severamente afectadas o muertas. La progresión de la severidad se documentó mediante ratings ordinales en cinco momentos posteriores a la inoculación. La distribución de los ratings mostró una mayor proporción de plantas inoculadas en categorías sintomáticas a medida que avanzaron los días posteriores a la inoculación, mientras que las plantas control se mantuvieron predominantemente en rating 0 (Figura 1). A partir de los ratings registrados en cada planta y fecha de evaluación, se calculó el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (AUDPC) mediante integración trapezoidal, como medida sintética de la respuesta acumulada. La disponibilidad de plantas control y de observaciones repetidas aporta una base experimental para analizar, en etapas posteriores, el efecto de la infección sobre caracteres morfológicos y productivos.

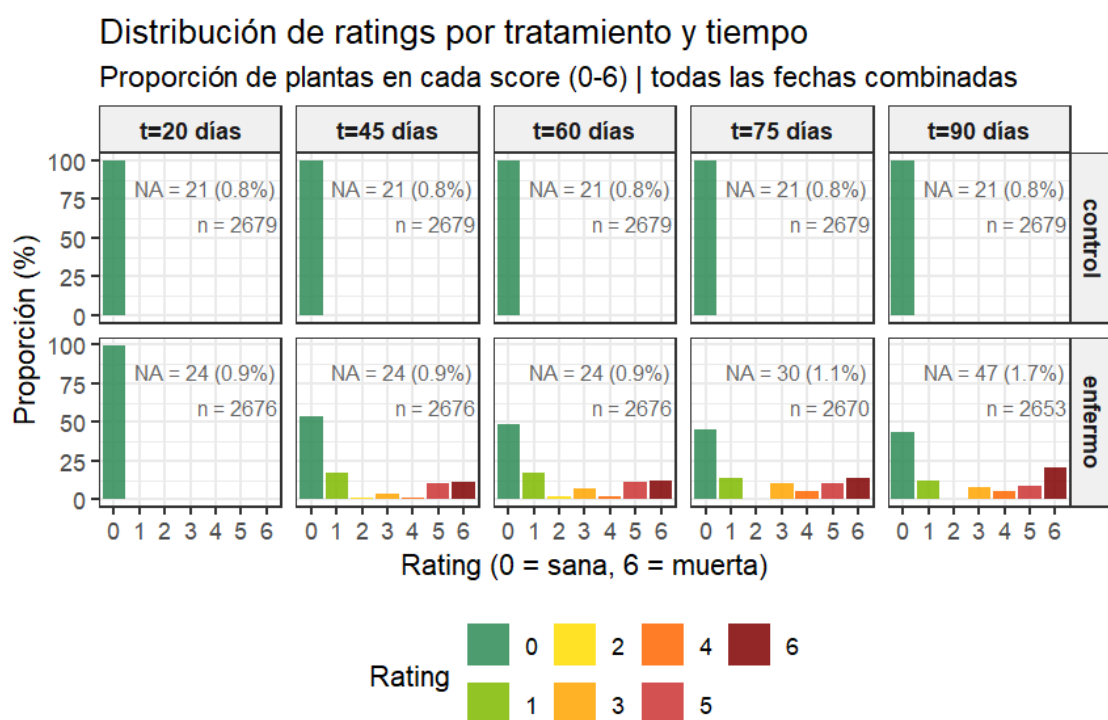


Figura 1. Distribución porcentual de plantas en cada categoría de severidad (rating 0–6) para los tratamientos control e inoculado con *S. kunkelii*, a los 20, 45, 60, 75 y 90 días posteriores a la inoculación. Se integraron las tres fechas de siembra. Rating 0: planta sin síntomas; rating 6: planta muerta.

El análisis exploratorio del AUDPC mostró heterogeneidad entre líneas dentro de cada fecha de siembra. No obstante, la comparación del AUDPC medio y de las clasificaciones K-means entre las tres fechas evidenció variación en la posición relativa de parte de las líneas.

Esta variabilidad entre fechas constituye un resultado relevante del proceso de caracterización. La respuesta al achaparramiento observada en campo no depende

exclusivamente del genotipo, sino también de las condiciones que modulan la interacción entre planta, patógeno y vector. En consecuencia, se descartó por el momento el ajuste de un modelo predictivo único que no contemplara explícitamente la interacción línea $\times$ fecha de siembra. El siguiente paso analítico será evaluar la estabilidad de las líneas y ajustar modelos que permitan separar los efectos de genotipo, fecha e interacción, antes de definir un fenotipo consolidado para mapeo por asociación o predicción genómica.

La confirmación de *S. kunkelii* en la fuente de inóculo, el establecimiento de la cría de *D. maidis* y la organización de la base de datos fenotípica constituyen avances operativos fundamentales. Asimismo, la curación inicial de datos genómicos redujo marcadores de baja calidad, SNPs monomórficos y líneas con elevado porcentaje de datos faltantes. La integración de ambos componentes se beneficiará de una definición fenotípica clara y consistente, lo que contribuirá a mejorar la confiabilidad de los futuros análisis GWAS y gBLUP (Yu y Buckler, 2006; VanRaden, 2008).

Conclusiones

La evaluación de 178 líneas elite inoculadas artificialmente con *S. kunkelii* generó una base fenotípica con registros repetidos de severidad en tres fechas de siembra. El AUDPC permitió resumir la progresión de la enfermedad y evidenció variabilidad entre líneas.

La continuidad del trabajo se orientará a cuantificar la interacción genotipo $\times$ fecha, identificar materiales con respuesta estable e integrar un fenotipo depurado con información de SNPs para los análisis de asociación y predicción genómica.

Apoyo financiero

Este trabajo es financiado por el programa de mejoramiento vegetal de maíz de Syngenta Agro S.A. y se desarrolla en el marco del Doctorado en Mejoramiento Genético del Instituto de Posgrado de la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA).

Referencias bibliográficas

- Bolsa de Comercio de Rosario. (2024). Informes de estimaciones agrícolas: maíz 2023/24. Rosario, Argentina.
- Carpene P.; Catalano M.I. (2022). Probing behavior of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* on susceptible and resistant maize hybrids. PLoS One, 17(5), e0259481.
- Giménez Pecci M.P.; Carpane P.D.; Nome C.F.; Paradel S.L.; Marino de Remes Lenicov A.M.; Virla E.G.; Laguna I.G. (2002). Diffusion of Corn Stunt Spiroplasm (*Spiroplasma kunkelii*) and the vector (*Dalbulus maidis*) in Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía, 105(1), 1–8.
- Lopes J.R.S.; De Oliveira C.M. (2004). Vetores de vírus e mollicutes em milho. Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores, mancha por Phaeosphaeria.
- Nault L.R.; DeLong D.M. (1980). Evidence for co-evolution of leafhoppers in the genus *Dalbulus* (Cicadellidae: Homoptera) with maize and its ancestors. Annals of the Entomological Society of America, 73, 349–353.
- Oleszczuk J.D.; Catalano M.I.; Dalaisón L.; Di Rienzo J.A.; Giménez Pecci M.P.; Carpane P. (2020). Characterization of components of resistance to Corn Stunt disease. PLoS One, 15(10), e0234454.
- Oliveira C.M.D.; Frizzas M.R. (2022). Eight decades of *amidus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera, Cicadellidae) in Brazil: what we know and what we need to know. Neotropical Entomology, 51(1), 1–17.
- Sabato E.O. (2018). Manejo do risco de enfezamentos e da cigarrinha no milho. Embrapa Milho e Sorgo, Comunicado Técnico, 226.



50 AÑOS
PENSANDO
EL FUTURO

XIII
CONGRESO
NACIONAL
DE MAÍZ

- VanRaden P.M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4414–4423.
- Virla E.G. (2024). *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), vector del achaparramiento o raquitismo del maíz: aspectos biológicos más relevantes, con especial referencia a los conocimientos generados en Argentina.
- Yu J.; Buckler E.S. (2006). Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinion in Biotechnology*, 17(2), 155–160.
- Pozebon H.; Stürmer G.R.; Arnemann J.A. (2022). Corn stunt pathosystem and its leafhopper vector in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 115(6), 1817–1833.
- Oliveira R.; Kitajima E.W. (1998). Enfezamento pálido e enfezamento vermelho na cultura do milho no Brasil Central. *Fitopatologia Brasileira*, 23, 1.