



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Agronomía - Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas

**IDENTIFICACIÓN DE REGIONES CROMOSÓMICAS
ASOCIADAS A LA EXPRESIÓN DE CARACTERES
FENOTÍPICOS QUE CONFIEREN TOLERANCIA AL FRÍO
EN TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens* L., Fabaceae).**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Agronómicas con
Mención en Producción y Protección Vegetal

JOEL ISAAC IBÁÑEZ FLORES
CHILLÁN- CHILE
2019

Profesor Guía: Dr. Luis Inostroza Fuentealba
Departamento de Producción Vegetal. Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción

IDENTIFICACIÓN DE REGIONES CROMOSÓMICAS ASOCIADAS A LA EXPRESIÓN DE CARACTERES FENOTÍPICOS QUE CONFIEREN TOLERANCIA AL FRÍO EN TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens* L., Fabaceae).

IDENTIFICATION OF QUANTITATIVE TRAIT LOCI ASSOCIATED WITH THE EXPRESSION OF PHENOTYPIC CHARACTERS FOR COLD TOLERANCE IN WHITE CLOVER (*Trifolium repens* L., FABACEAE).

Palabras adicionales: Tolerancia al frío, población de mapeo asociativo, fenotipado de alto rendimiento, estudio de asociación del genoma completo.

RESUMEN

El trébol blanco (*Trifolium repens* L.) es la leguminosa forrajera perenne de pastoreo más importante de las zonas centro-sur y sur de Chile, y en las regiones de clima templado en el mundo. La tasa de crecimiento del trébol blanco está limitada por bajas temperaturas, afectando la supervivencia en invierno y el rebrote temprano en primavera. Por ello, la tolerancia al frío es uno de los estreses abióticos más estudiados por los mejoradores en el mundo. A pesar de la importancia de la tolerancia al frío para el desarrollo de cultivares de trébol blanco, su base genética sigue, en gran parte, desconocida. Los objetivos de esta investigación fueron (i) determinar la relación entre caracteres fenotípicos, medido mediante el procedimiento de fenotipado de alto rendimiento y la producción de materia seca (MS), e (ii) identificar regiones cromosómicas (QTL) para caracteres relacionados con la tolerancia al frío en trébol blanco. Se utilizó una población de mapeo asociativo (PMA) conformada por 192 genotipos, los cuales fueron propagados vegetativamente para establecerlos en tres localidades que representan un gradiente de temperatura invernal. Se utilizó un diseño Alpha-Lattice, con 24 bloques incompletos y dos repeticiones. Los índices espectrales Vogelmann 1, 2 y 3 mostraron los mayores valores de correlación fenotípica (R_f) y genética (R_g) con la producción de MS (0,7 y 0,82,

respectivamente), con un valor alto de heredabilidad en sentido amplio (H^2) (en promedio, 0,81). Debido a la naturaleza alotetraploide del genoma de trébol blanco, se probaron modelos que difieren en su acción genética para la identificación de QTLs. El GWAS permitió la identificación de 214 asociaciones SNP-carácter ($P < 0,05$) con 12 caracteres fenotípicos, de las cuales, sólo 12 QTLs presentaron estabilidad en los diferentes ambientes y/o controlaron la expresión de más de un carácter fenotípico. La búsqueda en BLAST detectó siete de ellos relacionados con la tolerancia al frío de especies vegetales. Estas asociaciones podrían incorporarse a los programas de mejoramiento genético para acelerar la tasa de ganancia genética en el desarrollo de cultivares de trébol blanco tolerantes a frío.

ABSTRACT

White Clover (*Trifolium repens* L., Fabaceae) is the most important grazing perennial forage legume in central-southern and southern Chile, and in temperate regions of the world. The growth rate of white clover is limited by low temperatures, affecting winter survival and re-growth early in spring. Thus, cold tolerance is one of the most studied abiotic stresses by breeders in the world. Despite of importance of cold tolerance for white clover cultivar development, the genetic basis remains largely unknown. The objectives of this experiment were (i) to determine the relationship between phenotypic characters measured by the high-throughput phenotyping procedure and dry matter production (DM), and (ii) to identify quantitative trait loci (QTL) associated with phenotypic characters related to cold tolerance in white clover. A population of association mapping (MAP) corresponding to 192 genotypes was used, which were clonally propagated and established in the three locations that represent winter temperature gradient. An Alfa Lattice experimental design with 24 incomplete blocks and with two replicates was used. The Vogelmann spectral indices 1, 2 and 3 showed the highest phenotypic (R_f) and genetic (R_g) correlation values with DM production (0.7 and

0.82, respectively), with a high heritability in broad sense value (H^2) (average, 0.81). Due to the allotetraploid nature of the white clover genome, different genetic action models were used for the identification of QTL. GWAS allowed the identification of 214 SNP-trait associations ($P < 0.05$) with 12 phenotypic traits, of which only 12 QTLs showed stability in the different environments or controlled the expression of more than one trait. The BLAST search detected seven of them related to cold tolerance of plant species. These associations could be incorporated into breeding programs to accelerate the rates of genetic gain in the development of cold-tolerant in white clover cultivars.

