

# MAPEO POR ASOCIACIÓN PARA CARACTERES ASOCIADOS A TOLERANCIA A SALINIDAD EN SORGO

Luna DF<sup>1</sup>; Bustos DA<sup>1</sup>; Vieira de Sousa L<sup>3</sup>; da Silva L<sup>3</sup>; Pittaro MG<sup>1</sup>; Ortiz D<sup>2</sup>

1. Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV-UDEA INTA CONICET) Córdoba, Argentina. E-mail: [luna.fernando@inta.gob.ar](mailto:luna.fernando@inta.gob.ar)

2. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi (INTA) Córdoba, Argentina.

3. Universidade Federal Rural do Semi Arido (UFERSA) Mossoró, Brasil.

## ASSOCIATION MAPPING FOR CHARACTERS ASSOCIATED WITH SALINITY TOLERANCE IN SORGHUM

### Abstract

Sorghum breeding for salinity tolerance has lagged behind compared to other types of stress, possibly because it is a complex trait. A valid option to address this type of study is through genome-wide association mapping (GWAS). This work aimed to characterize genomic regions associated with salinity tolerance. A total of 325 sorghum genotypes from the Sorghum Association Panel (SAP) were tested. Four trials were carried out in a greenhouse, using a hydroponics system with automatic irrigation. Hoagland 0.5X complete nutrient solution was used for the control condition and for the saline treatment was 150 mM NaCl was used. Salinity condition was imposed when plants presented two fully developed leaves. At the fourth fully developed leaf, physiological variables (leaf temperature, chlorophyll content and its fluorescence) and growth (plant dry weight, height) were measured. A correlation matrix suggested that among evaluated fluorescence parameters, those of photochemical and non-photochemical quenching (PhiNPQ, NPQt, Phi2), SPAD and Fv'/Fm' could be more suitable for continuing exploring new relevant SNP. A total of 5, 8 and 6 SNPs were significantly associated with plant dry weight, height and SPAD, respectively.

Palabras Clave: Sorgo, salinidad, GWAS, fluorescencia.

Keywords: Sorghum, salinity, GWAS, fluorescence.

### Introducción

La salinidad y la alcalinidad en suelos representan un importante problema a nivel mundial debido a su efecto adverso para la agricultura, en cuanto a productividad y sostenibilidad. Según reportes de la Nations University Institute for Water, Environment and Health (UNU-INWEH) del 2014, cerca del 20% de las áreas irrigadas se encuentran afectadas por salinidad. La Argentina es, según FAO-UNESCO, el tercer país con mayor superficie de suelos afectados por halomorfismo en el mundo, después de Rusia y Australia (Taleisnik y Lavado 2017).

El sorgo constituye un alimento básico de las regiones semiáridas de los países de bajo nivel de desarrollo, siendo éste clave para alcanzar el objetivo de la seguridad alimentaria, por ser una especie de alto potencial para suelos marginales. En los últimos años, su producción en nuestro país se ha extendido

gracias a su tolerancia la sequía; sin embargo, su producción en suelos salinos es todavía limitada debido a que los avances en mejoramiento genético par su tolerancia dicha condición se encuentra atrasada con respecto al mejoramiento para otro tipo de estreses. Esto puede explicarse a que la tolerancia a la salinidad es un rasgo complejo tanto fisiológica como genéticamente (herencia cuantitativa), siendo controlada por numerosos QTLs. Una de las técnicas más apropiadas para abordar este tipo de estudios es el mapeo por asociación de genoma completo (GWAS), cuya ventaja radica en una mayor resolución para la identificación de genes causales.

La fluorescencia de la clorofila es una técnica ampliamente utilizada en fenómica para evaluar cómo responde la actividad fotosintética de un cultivo ante diversas condiciones ambientales; y que genes/regiones genéticas se asocian a ellos (McAusland et al, 2019; Pérez-Bueno et al, 2019, <http://www.plantphenomics.org>). Se demostró que en condiciones de salinidad, diversos parámetros fotosintéticos se ven afectados tales como el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII; Fv/Fm), el coeficiente de extinción fotoquímico (qP), la tasa de transporte de electrones (ETR), el quenching no fotoquímico (qN), entre otros (Netondo et al, 2004).

El objetivo de este estudio consistió en la caracterización fenotípica de variables fotosintéticas de medición rápida bajo condiciones de salinidad en sorgo, y la identificación de regiones genómicas asociadas a estos caracteres.

## **Materiales y Métodos**

Se evaluó la tolerancia a la salinidad de un panel de 325 genotipos de sorgo (Sorghum Association Panel) desarrollado por un grupo de investigadores de EE.UU. para realizar estudios de mapeo por asociación (Casa et al, 2008). Para ello, se llevaron a cabo 4 ensayos en invernadero, en condiciones controladas de luz y temperatura, utilizando un sistema de hidroponía con irrigación automática. Las plantas fueron cultivadas en tubetes de 500 cc con arena/perlita (3:1). Para la condición control se utilizó solución nutritiva completa Hoagland 0.5X; mientras que, para el tratamiento salino, se utilizó la misma solución más el agregado progresivo de 150 mM de NaCl, iniciándose cuando las plantas desarrollaron completamente su segunda hoja. Una vez alcanzado el desarrollo de la cuarta hoja, se midieron variables fisiológicas (temperatura foliar, contenido de clorofilas y su fluorescencia) y de crecimiento (peso, altura y espesor de hojas). La actividad fotosintética se evaluó utilizando un medidor portátil de fluorescencia (MultispeQ, PhotosynQ, East Lansing, MI, USA).

El efecto de la salinidad sobre algunas variables (Figura 1) se analizaron mediante ANOVA, determinado las diferencias entre las medias utilizando la prueba de Tukey.

El análisis de matriz de correlaciones se realizó utilizando el paquete estadístico de R "GGally" <https://cran.r-project.org/web/packages/GGally/GGally.pdf>

Para el análisis de datos fenotípicos se utilizó el siguiente modelo mixto:

$$Y = \mu + R + T + G + \varepsilon$$

donde Y es la variable respuesta,  $\mu$  es la media general, R es la repetición, T es el tratamiento salino, G es el genotipo y  $\epsilon$  es el residual. A partir del mejor predictor lineal insesgado (BLUP, por sus siglas en inglés), obtenidos para cada variable fenotípica, se realizó un mapeo por asociación a través del software TASSEL.

## Resultados

El análisis de la varianza determinó que efecto de la salinidad sobre el SAP fue altamente significativo en mayoría de los parámetros evaluados tanto de crecimiento como fotosintéticos (Figura 1). Un análisis más detallado permitió además identificar 30 genotipos con marcado contraste a la salinidad para estas variables (Datos no presentados).

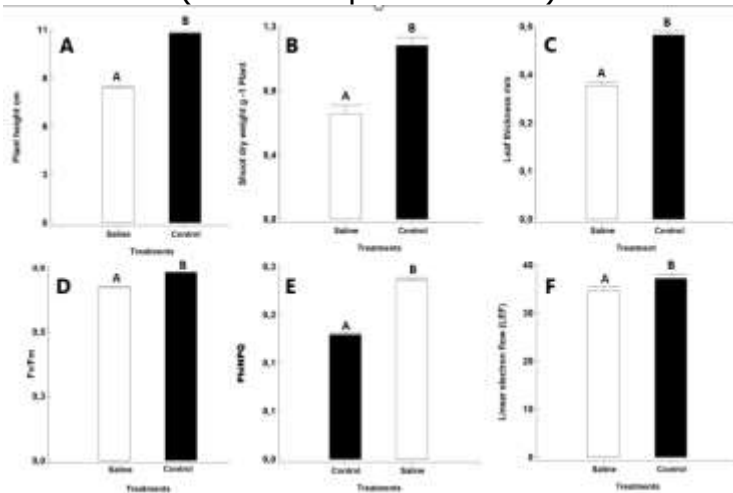


Figure 1 Efecto de la salinidad (150 mmol NaCl) de un panel de asociación de 320 genotipos de sorgo (SAP), medidos sobre la cuarta hoja completamente desarrollada (35 días después de la siembra), sobre parámetros de crecimiento (A, B, C) y fluorescencia (D, E, F).

A su vez, la mayoría parámetros fotosintéticos evaluados en este estudio mostraron correlacionaron estadística significativa en respuesta a la salinidad (Figura 2). De ellos, los más significativos en condición salina fueron las variables de quenching foto/no fotoquímico ( $\Phi_{NPQ}$ ,  $NPQ_t$ ,  $\Phi_2$ ), rendimiento cuántico máximo potencial ( $F_v'/F_m'$ ) y el índice de verdor SPAD. Dichas variables se muestran promisorias para posteriores análisis de mapeo por asociación para la localización de nuevos marcadores moleculares de tolerancia a salinidad.



Figura 2. Matriz de correlación y distribución los parámetros de fluorescencia de la clorofila utilizados en este estudio. Para más detalles de estos parámetros ver <https://help.photosynq.com/view-and-analyze-data/references-and-parameters.html#chlorophyll-fluorescence-pam>.

Por último, el análisis de mapeo por asociación un total de 5, 8 y 6 SNP se asociaron significativamente con el peso seco, la altura y el SPAD de la planta, respectivamente (Figura 2).

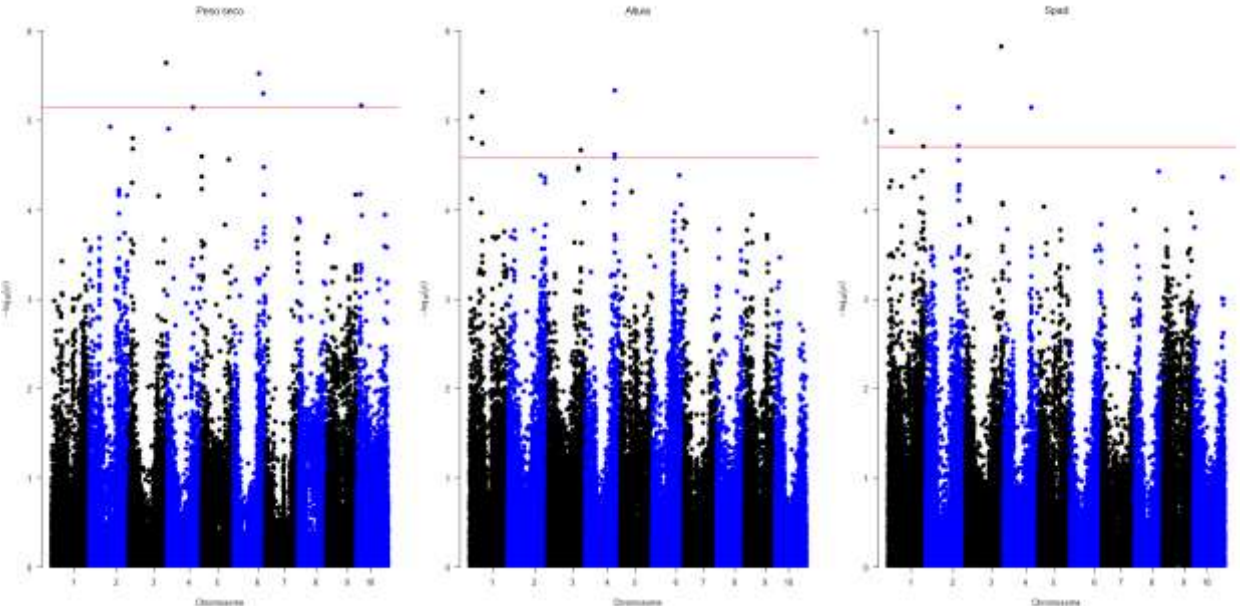


Figura 3. Manhattan plot de regiones genómicas asociadas a peso seco, altura y SPAD en sorgo bajo condiciones de salinidad Línea roja indica significancia de regiones genómicas (FDR)

**Conclusión**

Estos resultados constituyen una oportunidad para la identificación de nuevos genes candidatos para la respuesta del sorgo a la salinidad y el desarrollo de genotipos más tolerantes a salinidad.

## **Referencias**

Taleisnik y Lavado, (2017) Ambientes salinos y alcalinos de la Argentina. Buenos Aires p. 624.

Casa, A.M., Pressoir, G., Brown, P.J., Mitchell, S.E., Rooney, W.L., Tuinstra, M.R. et al. (2008) Community resources and strategies for association mapping in sorghum. *Crop Science*, 48(1), 30–40

**Apoyo financiero:** Proyectos INTA I110, I084, I102.