

SELECCIÓN DE UNA POBLACION DE MAPEO PARA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS HIDRICO EN GIRASOL (*Helianthus annuus* var. *macrocarpus* (DC) Cockerell)

GRANDON N.G.¹, M.V MORENO¹, L. MECCHIA², E.A.MARTIN³.

¹Laboratorio de Biotecnología, INTA-EEA Manfredi. Ruta Nac. N° 9. Km 636. (5988) Manfredi, Córdoba, Argentina.

²Instituto A. P. Ciencias Básicas y Aplicadas. Universidad Nacional de Villa María. Av. Arturo Jauretche 1555. (5900) Villa María, Córdoba, Argentina.

³IICAR-CONICET. Campo Experimental Villarino, CC N° 14 (S2125ZAA). Zavalla, Santa Fe, Argentina. E-mail: grandon.nancy@inta.gob.ar.

INTRODUCCION

Argentina es el cuarto productor mundial de aceite de girasol. No obstante, la traslación del cultivo hacia zonas marginales con un déficit hídrico marcado, ha hecho que los rendimientos no hayan aumentado significativamente en los últimos años. Por esto, resulta interesante identificar las regiones genómicas asociadas a la tolerancia a dicho estrés para ser utilizadas en la Selección Asistida por Marcadores (MAS) en este cultivo.

OBJETIVO

Seleccionar una población de mapeo F₂ segregante para el carácter tolerancia a estrés hídrico y que sea adecuada para el desarrollo posterior de un mapa de ligamiento, mediante el análisis con marcadores microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats).

MATERIALES Y METODOS

Se caracterizaron siete líneas endocriadas (B59, HA64, HA89, HAR4, R419, R423 y R432) pertenecientes al Banco de Germoplasma de Girasol de INTA-EEA Manfredi con 127 marcadores SSR. El análisis de conglomerados se realizó a partir de las distancias genéticas calculadas con el índice Nei *Standard* y el ordenamiento con UPGMA. Cuatro de estas líneas se utilizaron para generar cinco poblaciones F₂ segregantes (B59xR432, B59xR423, R423xR419, R419xR423 y R419xR432). Se caracterizaron 70 individuos de cada una de ellas con 34 SSR polimórficos previamente seleccionados, a fin de determinar si estos presentaban segregación mendeliana ($\chi^2 \leq \chi^2_{\alpha=0,05}$). La selección de la población de mapeo F₂ se hizo con base en el porcentaje de marcadores distorsionados, en el nivel de polimorfismo (Tabla 1), en la distancia genética (Figura 1) y en el contraste fenotípico de las líneas parentales.

RESULTADOS



Muestreo de hoja en líneas parentales y poblaciones F₂



Extracción de ADN



Genotipificación de las siete líneas parentales con 127 marcadores SSR.

Total: 262 alelos.
Promedio: 2,88 alelos/locus.
78% SSR detectaron entre dos y tres alelos.

91 SSR
amplificados

Tabla 1: Nivel de polimorfismo detectado entre las líneas parentales de las cinco poblaciones F₂.

Poblaciones F ₂	B59xR432	B59xR423	R423xR419	R419xR423	R419xR432
% de polimorfismo entre parentales	59	56	47	47	66



Figura 1: Dendrograma UPGMA calculado a partir de la distancia de Nei *Standard* para las siete líneas parentales. Coeficiente de correlación cofenética: 0,71.

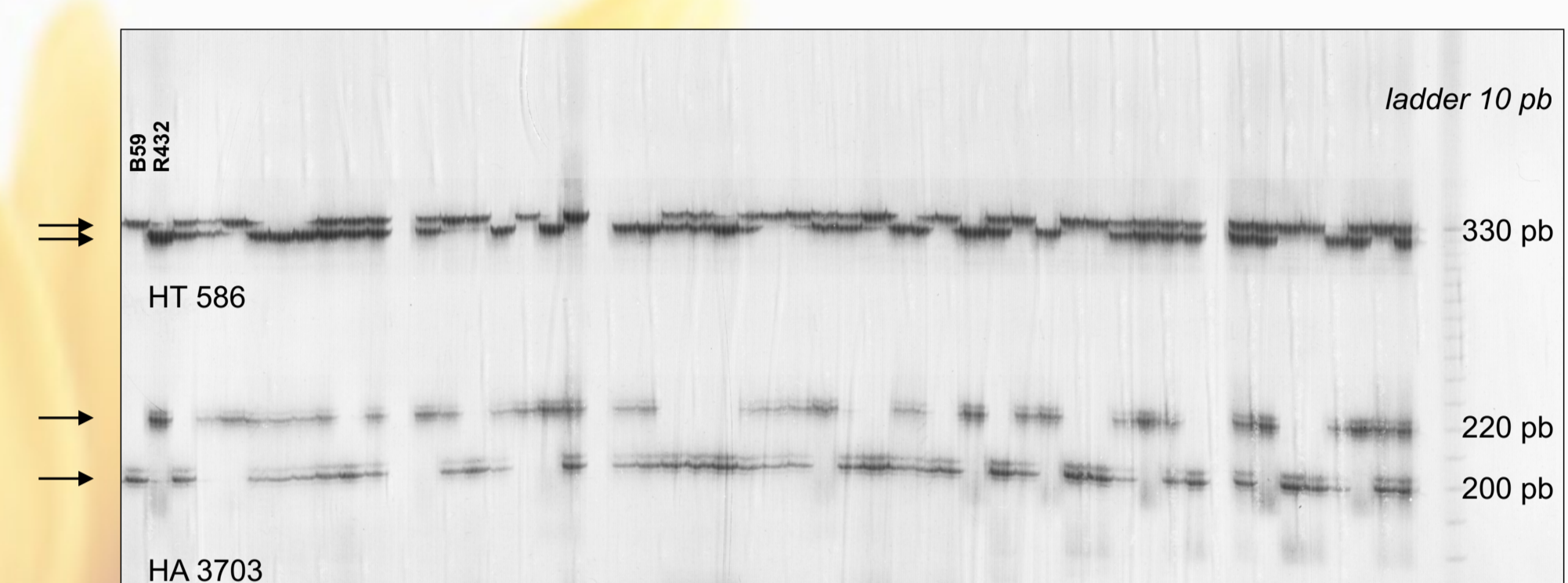


Imagen de una corrida electroforética en gel de poliacrilamida 6% (p/v) con dos marcadores (HT586 y HA3703) para la población B59xR432. Los alelos se indican con flechas. pb: pares de bases. Ladder 10 pb: marcador de peso molecular.

Análisis de segregación de marcadores

El análisis mostró distorsión en las cinco poblaciones F₂ (Tabla 2), pero en R423xR419 se evidenció el efecto más marcado para todos los *loci*, dado que el 100% de los individuos distorsionaron hacia el parental femenino R423.

Tabla 2: Lista de marcadores distorsionados en cuatro de las cinco poblaciones (valores expresados en porcentaje).

Población F ₂	Marcador	GL	$\chi^2_{1,2,1}$	A%	H%	B%
B59xR432	HA2905	234,00	100 ^a	0	0	0
	HA920	10	112,56	26	0	74 ^b
	ORS316	13	11,26	9	65 ^c	26
B59xR423	HA1402	17	8,92	39 ^a	43	17
	HA2053	9	18,53	32	26	42 ^b
	HA2178		20,55	14	32	55 ^b
	HA3627	5	10,18	12	67 ^c	21
	ORS1041	7	6,33	24	39	38 ^b
	ORS297	17	8,63	32 ^a	58	11
	ORS371	1	6,15	16	64 ^c	19
R419xR423	HA4011	13	15,72	44 ^a	32	24
	HT761	2	104,77	25	3	73 ^b
	HT974	1	110,11	26	0	74 ^b
	ORS297	17	13,15	46 ^a	24	29
	ORS959	1	116,29	76 ^a	1	22
R419xR432	HA2053	9	9,73	33	30	37 ^b
	HA2579	10	213,00	100 ^a	0	0
	HA3555	12	94,31	25	4	71 ^b
	HT974	1	223,10	1	0	99 ^b
	ORS613	10	228,00	100 ^a	0	0

GL: Grupo de Ligamiento; $\chi^2_{1,2,1}$: Chi-cuadrado ($\alpha=0,05$); A%: porcentaje de individuos con el alelo A; H%: porcentaje de individuos heterocigotas; B%: porcentaje de individuos con el alelo B. ^amarcadores con distorsión para el alelo A; ^bmarcadores con distorsión para el alelo B; ^cmarcadores con distorsión para el heterocigota.

CONCLUSION

El cruzamiento R419xR432 sería la población más adecuada para continuar las evaluaciones a fin de identificar las regiones genómicas involucradas en la tolerancia al estrés hídrico mediante la construcción de un mapa de ligamiento genético. Esta población mostró el mayor porcentaje de marcadores polimórficos entre sus parentales (64%), los cuales a su vez se ubicaron en subgrupos distintos del dendrograma, con una distancia igual a 1,29.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación