

Mappaggio per associazione di QTL che influenzano tratti delle radici seminali in orzo (*Hordeum vulgare* L.)

Giuseppe Sangiorgi (1), Giuseppe Sciara (1), Alessandro Tondelli (2), Agostino Fricano (2), Serena Rosignoli (1), Roberto Tuberosa (1), Silvio Salvi (1)

(1) Department of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, vialeFanin44, 40127, Bologna, Italy.

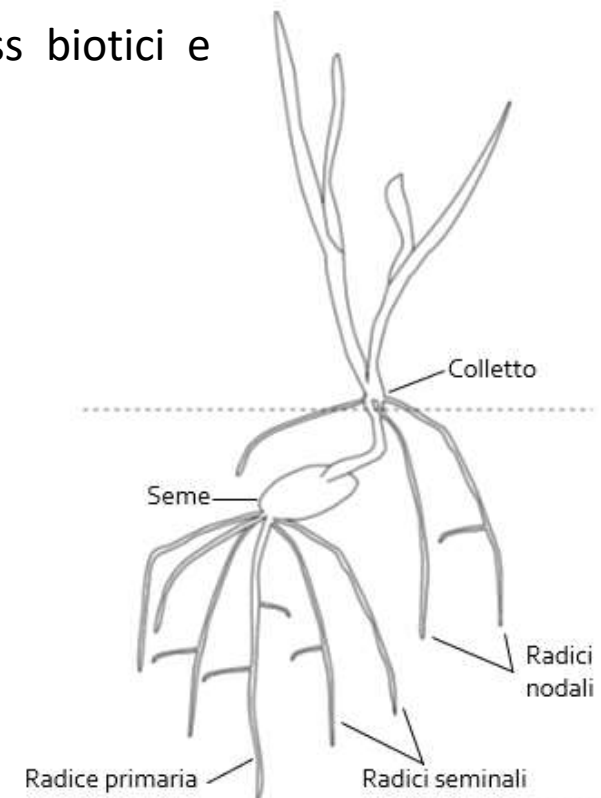
(2) CREA –Research Centre for Genomics and Bioinformatics, Via S. Protaso 302, 29017, Fiorenzuola d'Arda, Italy.

L'orzo (*H. vulgare* L.)

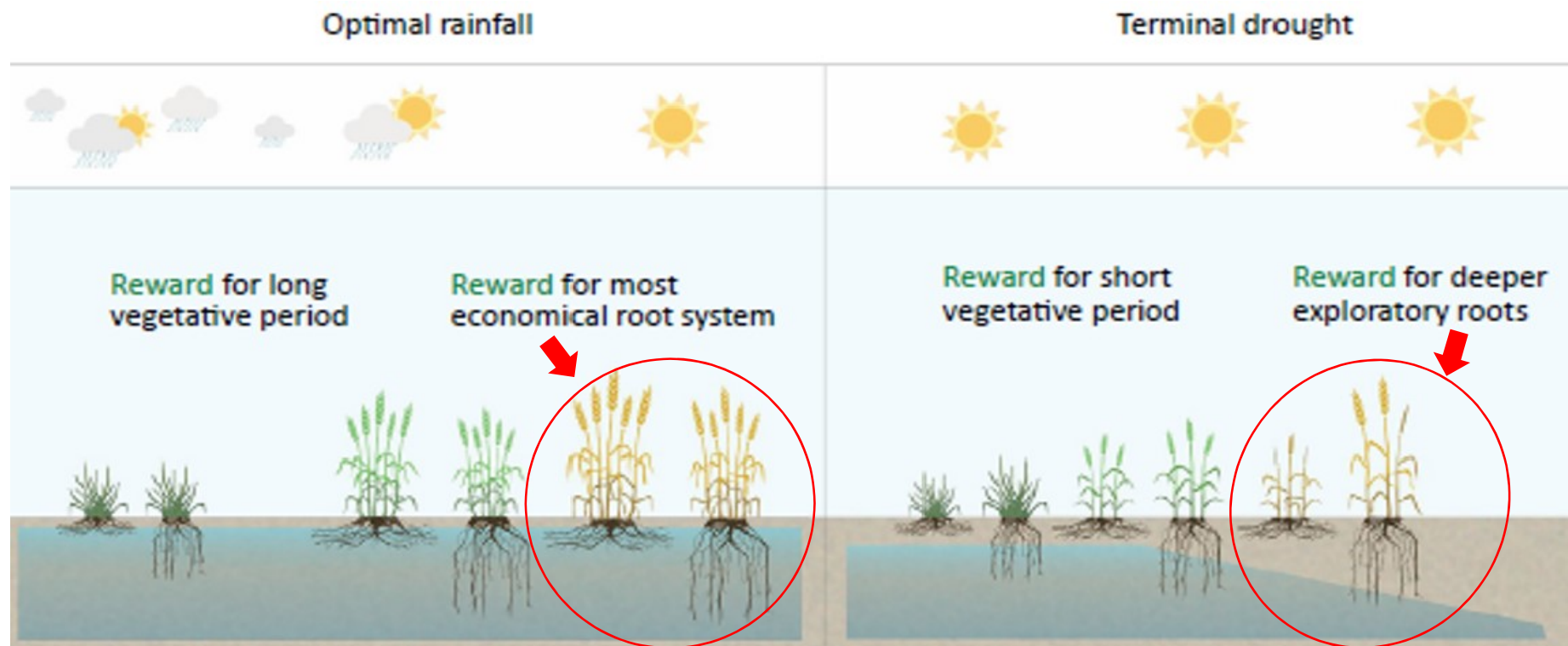
- Quarto cereale al mondo per importanza dopo frumento, riso e mais
- Ampio areale di coltivazione e adattamento a diversi ambienti
- Elevata variabilità genetica: risorsa per la ricerca di varianti alleliche d'interesse agronomico
- Modello per studiare l'adattamento dei cereali a condizioni di stress (siccità, ridotta fertilità dei suoli, resistenza a malattie, etc.)

L'apparato radicale di orzo

- Difficile da studiare in quanto «nascosto» ed altamente influenzato dall'ambiente
- Essenziale per l'assorbimento di acqua e sostanze nutritive influenzando il vigore della pianta e le performance produttive
- Importante per l'adattabilità e la resistenza a stress biotici e abiotici
- Caratteri fenotipici legati all'architettura radicale:
 - Numero di radici seminali, nodali e laterali
 - Pattern di ramificazione
 - Lunghezza
 - Angolo di crescita
 - Numero e distribuzione dei peli radicali



Diversi ideotipi radicali per diverse condizioni ambientali



Voss-Fels, 2018, *Trends in Plant Science*

Obiettivo dello studio

2018

2022

1. Descrizione della variazione dei caratteri delle radici seminali all'interno della collezione di orzo WHEALBI.
2. Mappaggio dei loci genici preposti al controllo dei caratteri dell'architettura radicale mediante analisi di associazione GWA (*Genome Wide Association*).

Materiale vegetale ed informazioni molecolari

Collezione di circa 500 accessioni di orzo comprendenti:

- cultivar moderne, ecotipi coltivati e accessioni di orzo selvatico (*Hordeum spontaneum*)
- Popolazione genotipizzata con marcatori SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

Protocollo di allevamento in sistema semi-idroponico

1. Sterilizzazione dei semi in soluzione NaClO (10%) per 7 minuti
2. Pre-germinazione in piastre Petri a 28°C per 24 ore
3. 5 semi per ciascun pannello (38 x 42 cm) posti tra 2 fogli di carta bibula imbevuta di acqua deionizzata
4. 20 pannelli per contenitore con 10 litri di acqua deionizzata
5. Crescita delle plantule in fitotrone per 13 giorni a:
 - 16 ore di luce a 22° C
 - 8 ore di buio a 16° C



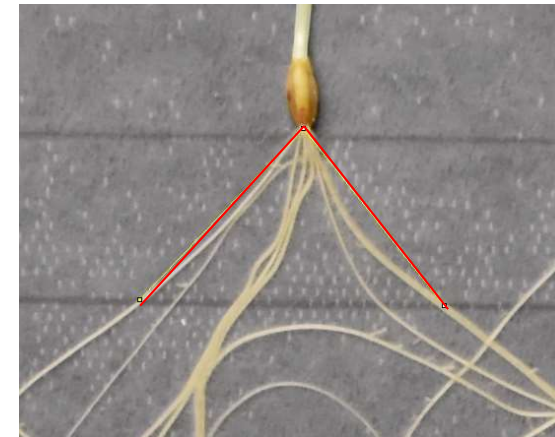
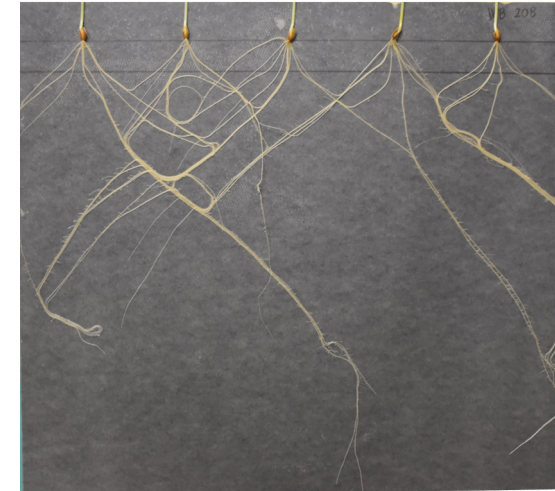
Raccolta dati fenotipici

Caratteri rilevati:

- ✓ peso di dieci semi
- ✓ numero di radici seminali
- ✓ lunghezza del germoglio
- ✓ angolo radicale
- ✓ peso secco dell'apparato radicale

Software utilizzati:

- ImageJ
- GIMP
- R-studio



Genome Wide Association (GWA) per caratteri della radice

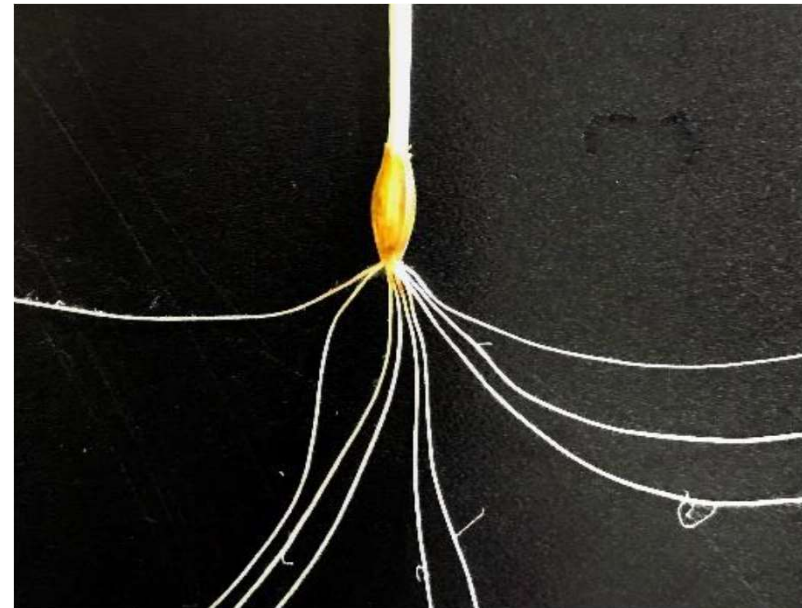
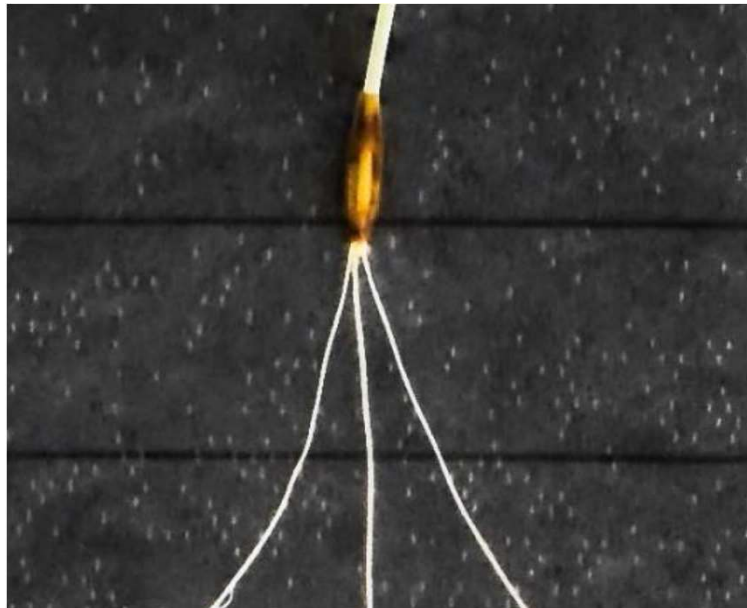
- GWA: Modello BLINK (Huang *et al.*, 2019) implementato nel pacchetto R GAPIT (Lipka *et al.*, 2012).
- Utilizzati solo marcatori con MAF (Minor Allele Frequency) >5%
- QTL (Quantitative Trait Locus) dichiarati a marcatori SNP con $-\log(p) > 4,75$

Variazione fenotipica osservata

	Carattere	Valore minimo	Valore massimo	Valore medio	Ereditabilità	Significatività p-value
SRN	Numero di radici seminali	3.00 ± 0.00	8.20 ± 0.57	5.88	0.87	<2.2e ^{-16***}
RG	Angolo di crescita radicale	17.23 ± 5.96	118.51 ± 8.86	55.66	0.81	<2.2e ^{-16***}
RTL	Lunghezza totale delle radici	60.3 ± 0.42	230.46 ± 8.22	154.79	0.55	<2.2e ^{-16***}
ARL	Lunghezza media della singola radice	18.44 ± 2.31	36.27 ± 4.94	26.36	0.78	<2.2e ^{-16***}
RDW	Peso secco dell'apparato radicale	3.43 ± 0.61	28.01 ± 0.58	17.67	0.55	<2.2e ^{-16***}

Numero di radici seminali: range di variazione

	Carattere	Valore minimo	Valore massimo	Valore medio	Ereditabilità	Significatività p-value
SRN	Numero di radici seminali	3.00 ± 0.00	8.20 ± 0.57	5.88	0.87	$<2.2e^{-16}***$

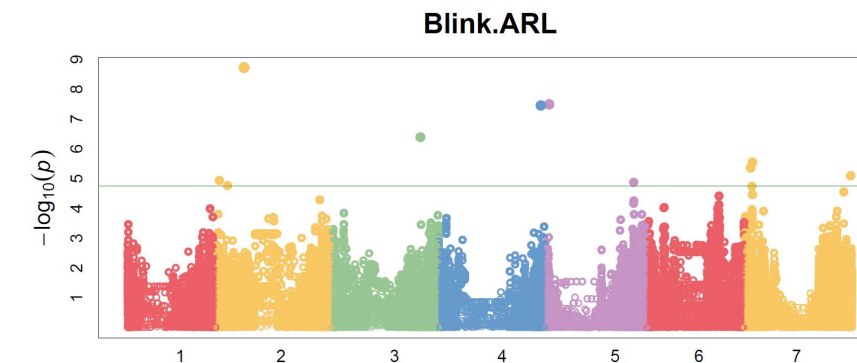
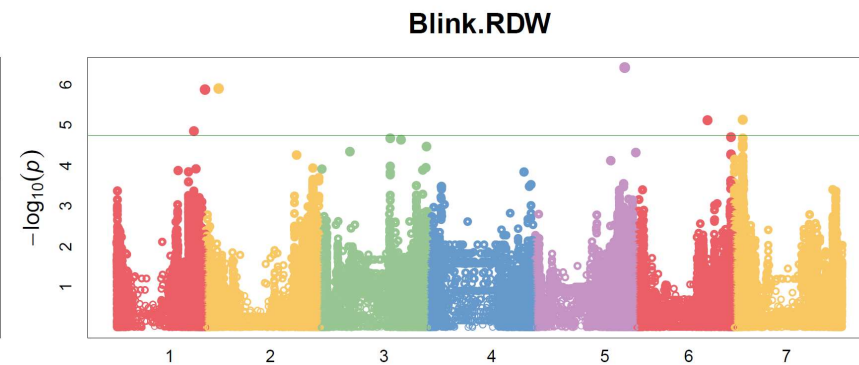
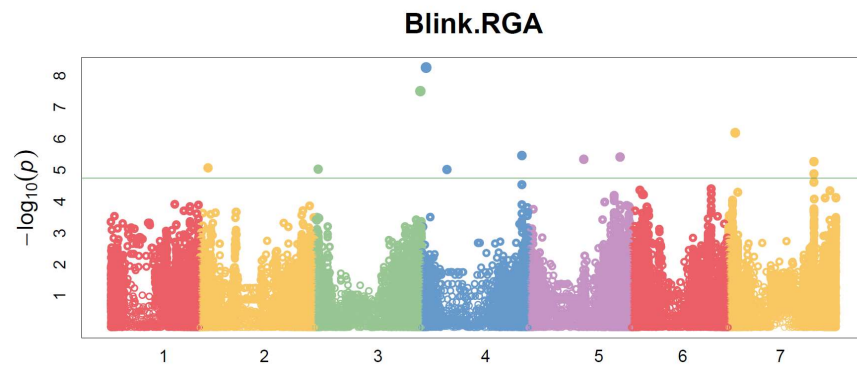
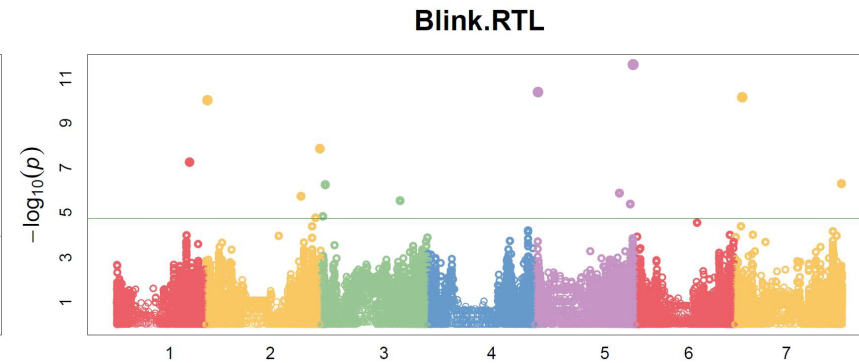
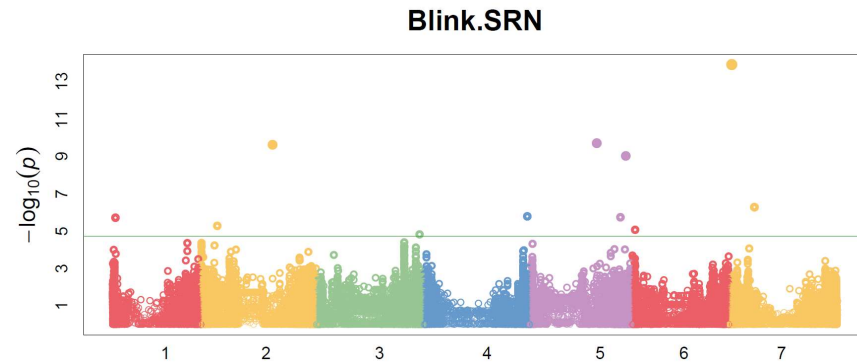


Angolo radicale: range di variazione

	Carattere	Valore minimo	Valore massimo	Valore medio	Ereditabilità	Significatività p-value
RGA	Angolo di crescita radicale	17.23 ± 5.96	118.51 ± 8.86	55.66	0.81	<2.2e ⁻¹⁶ ***



Analisi di associazione GWA: Manhattan Plots



Conclusioni

- È stata rilevata la presenza di ampia variabilità genetica per tutti i caratteri analizzati
- Sono stati identificati 51 QTL per tratti delle radici seminali: 11 per il numero di radici seminali, 14 per la lunghezza totale delle radici, 10 per la lunghezza media della singola radice, 10 per l'angolo di crescita delle radici e 6 per il peso secco dell'apparato radicale

Progetti futuri

- Stesura di un protocollo di fenotipizzazione su piante adulte e in condizioni di crescita simili a quelle in campo
- Identificazione dei geni candidati all'interno delle regioni dei QTL
- Identificazione di varianti alleliche naturali che possano essere utilizzate nei programmi di miglioramento genetico basate sulla selezione assistita per sviluppare nuove cultivar maggiormente adattate all'ambiente di coltivazione e resilienti allo stress idrico

Grazie per l'attenzione!

