



Marcadores morfo-fisiológicos asociados con la tolerancia a la sequía en soja - hacia el mejoramiento genético 4.0.

H1

Campana 2022/2023

Laila Toum^{1,2}, Lucía Sandra Pérez-Borroto^{1,3}, Andrea Natalia Peña-Malavera¹, Carla María Lourdes Rocha¹, Gabriela García¹, Esteban Mariano Pardo¹ y Atilio Pedro Castagnaro¹

¹ Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

² Instituto de Ciencia y Tecnología "Dr. César Milstein", Fundación Pablo Cassará-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

³ Plant Breeding, Wageningen University & Research, 6708 PB Wageningen, The Netherlands.
E-mail: marianopardo@eeaoc.org.ar

Introducción

La erradicación del hambre constituye uno de los objetivos del desarrollo sostenible (ODS) de la agenda 2030 que plantea la ONU. Sin embargo, aproximadamente 800 millones de personas en todo el mundo siguen sufriendo hambre y se estima que para 2030 todavía habrá un 8% de la población mundial desnutrida, alrededor de 650 millones de personas (De Clercq et al., 2018). Además, la demanda sigue creciendo, por lo que se prevé que para el año 2050 será necesario producir un 70% más de alimentos.

Sin embargo, esta producción de alimentos no podrá ni deberá hacerse avanzando sobre las fronteras agrícolas puesto que acentuaría aún más la crisis hídrica, ambiental y climática. Debe hacerse sin dudas mejorando los cultivos de tal manera que, bajo un marco integrado de manejo, disminuyan la huella hídrica y la huella de carbono. Esto implica la optimización de técnicas agrícolas y la adopción de prácticas que minimicen el uso de agua y emisiones de carbono, al tiempo que mantienen la producción de alimentos.

No alcanza solo con la voluntad, se necesitan inversiones significativas para alcanzar el objetivo de acabar con el hambre. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura se necesita un monto estimado en U\$265 mil millones anuales de inversión global (FAO *et al.*, 2023). Los desafíos que enfrenta la agricultura tradicional requieren la adopción de tecnologías innovadoras y la colaboración internacional como vías para abordar la escasez de alimentos. Un punto crucial es desarrollar nuevas variedades de cultivos que sean más resistentes a enfermedades, plagas y al cambio climático. Este debe ser uno de los objetivos centrales de los programas de mejoramiento genético, que pueden aportar tecnologías más avanzadas para combatir el hambre y la pobreza a nivel mundial.

Los avances de las tecnologías de la información y la comunicación (TIC), combinados con la necesidad de mejorar la productividad agrícola, han traído consigo importantes innovaciones. Al igual que otros sectores de la economía, la agricultura también avanza hacia la digitalización. La relación de este concepto con el del paradigma de la

Industria 4.0 (es decir, la adopción de tecnologías digitales para apoyar los procesos de las empresas manufactureras) es evidente. Así, la Agricultura 4.0 utiliza tecnologías avanzadas como robots, sensores y GPS para hacer que la producción de alimentos sea más eficiente y amigable con el medio ambiente (Maffezzoli *et al.*, 2022). Incluso algunas ideas como la impresión 3D de alimentos, la producción de carne en laboratorio, la edición genética, y la agricultura utilizando agua de mar parecían ciencia ficción hasta hace poco tiempo, pero las noticias actuales son sorprendentes (Jiménez, 2023).

En este sentido, los avances en biotecnología, genética y otras áreas científicas son herramientas esenciales para desarrollar cultivos más resistentes y adaptados a los cambios ambientales (Varshney *et al.*, 2017). Combinando estas técnicas con la Agricultura 4.0, se abre un panorama de innovación sin precedentes. Las tecnologías modernas, como robots y sensores, no solo ayudarán a las empresas a ser más eficientes y amigables con el entorno, sino que también serán cruciales para quienes trabajan en el desarrollo de variedades y evaluación de cultivos.

A medida que avanzamos en el mejoramiento de plantas, el análisis de datos juega un papel clave, y el "fitomejoramiento 4.0" utiliza esta información para tomar decisiones más inteligentes. El éxito de estas iniciativas modernas depende de la gestión de datos, asegurando que la información genómica, fenotípica y ambiental esté bien organizada. En la agricultura actual, la inteligencia artificial será cada vez más importante para la investigación y desarrollo. A medida que avanzamos hacia la próxima fase, las tecnologías integradas y el análisis de grandes cantidades de datos permitirán a los agricultores seleccionar los mejores cultivos para cada entorno específico (Kuriakose *et al.*, 2020).

En la Sección Biotecnología de la EEAOC y el ITANOA estamos atentos a las innovaciones y dispuestos a usar las mejores herramientas disponibles para apoyar al Programa de Mejoramiento Genético de la Soja. En este artículo, compartiremos algunos avances en el uso de algunas de estas herramientas que nos permiten fenotipar (caracterizar) profundamente genotipos de soja en respuesta a estrés hídrico, a fin de generar conocimiento integrado de utilidad para los mejoradores y la toma de decisiones.

Una de las metas de nuestro equipo es optimizar un sistema bajo condiciones controladas para identificar genotipos tolerantes a la sequía y caracteres que indiquen esa tolerancia. Esos caracteres, morfológicos, fisiológicos y/o moleculares, pueden ser utilizados para seleccionar líneas con potencial tolerancia a la sequía en etapas tempranas del proceso de mejoramiento. Esta línea de trabajo se inició desarrollando un sistema para reproducir el estrés en invernadero y medir su impacto en diversos genotipos; en esta etapa logramos establecer un ranking de genotipos desde susceptibles a tolerantes (Pardo *et al.*, 2015). Posteriormente, elegimos los dos genotipos extremos (el más tolerante y el más susceptible) para realizar una serie de investigaciones a fin de caracterizar profundamente sus diferencias. Esto último se resume en una publicación internacional (Toum *et al.*, 2022), en la cual combinamos metodologías moleculares (expresión masiva de genes), morfo-fisiológicas (uso del agua, apertura de estomas, actividad de enzimas, etc) y tecnológicas (imágenes termográficas) que contaremos brevemente es este artículo.

■ Metodología

Diseño experimental

Se evaluó la respuesta de MUNASQA (tolerante) y TJ2049 (susceptible) al déficit hídrico moderado (-0,65 MPa) aplicado en los estadio R5 mediante un análisis de expresión génica masiva. Posteriormente, se realizaron estudios comparativos para determinar la respuesta del genotipo al déficit hídrico impuesto en los estadios V3 y R5. Finalmente, se analizaron todos los marcadores evaluados según su fuerza de asociación entre los estadios fenológicos y el rendimiento.

Parámetros evaluados

Transcriptómica masiva: Se evaluó la expresión masiva de genes comparando genotipos y tratamientos mediante MACE (*Massive Analysis of cDNA Ends*).

Parámetros morfo-fisiológicos: se evaluaron 22 marcadores funcionales clasificados en tres categorías: i. Respuesta a estrés: actividad de enzimas superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), peroxidasa (POX) y catalasa (CAT), acumulación de prolina (PRO), producción de malondialdehído (MDA), clorofilas totales y carotenoides totales; ii. Crecimiento: índice de

área foliar (LAI), tasa de área foliar (LAR), tasa de asimilación neta (NAR), tasa relativa de crecimiento (RGR), tasa de crecimiento del cultivo (CGR) y iii. Uso del agua: contenido relativo de agua (RWC), eficiencia en el uso del agua (WUE), depresión de la temperatura de la canopia (CTD), grosor de lámina foliar, densidad de tricomas abaxial, densidad de tricomas adaxial, densidad de estomas abaxial, densidad de tricomas adaxial y apertura estomática).

La temperatura de la canopia se controló y registró con una cámara térmica FLIR ONE-3 (0,3456 Mpx) para calcular la depresión de la temperatura del canopeo (CTD).

Análisis de datos

La fuerza de asociación de los marcadores entre las etapas fenológicas, V3 y R5, se midió mediante un análisis de correlación de Pearson ajustado por Bonferroni ($P < 0.05$ indicado como *; $P < 0.01$ ** y $P < 0.001$ ***). Luego, se evaluó la correlación de los marcadores con el rendimiento relativo. Los coeficientes de correlación (r^2) se clasificaron como "Fuerte" ($> \pm 0.60$) y "Débil"

(por debajo de ± 0.59). Todos los marcadores fueron sometidos a un Análisis de Componentes Principales (PCA) para discriminar las principales asociaciones entre marcadores, genotipos y tratamientos.

Además, los marcadores se clasificaron según "complejidad" y "costo" y se clasificaron en 4 categorías: fácil y económico (1), fácil y costoso (2), complicado y económico (3) o complicado y costoso (4). Los marcadores fuertemente correlacionados entre las etapas fenológicas con el rendimiento y alta significancia estadística se seleccionaron como los marcadores más eficientes.

Resultados y Discusión

Efecto de los tratamientos

Los tratamientos empleados fueron determinantes entre los genotipos Munasqa (tolerante) y TJ2049 (susceptible), como se evidencia a través del análisis del rendimiento y el índice de susceptibilidad a la sequía (DSI) asociada al rendimiento (Figura 1).

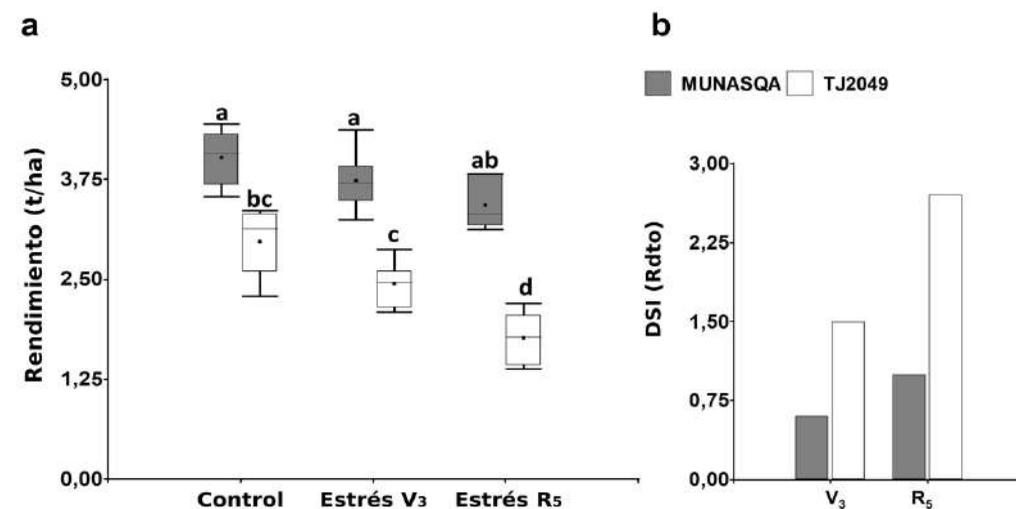


Figura 1. Efectos del déficit hídrico leve en el rendimiento e índice de susceptibilidad a la sequía asociada al rendimiento (DSI). a) Efectos del déficit hídrico leve en el rendimiento de MUNASQA y TJ2049 en estadios fenológicos V3 y R5. Tratamientos: control ($\Psi_s = -0,05$ Mpa), estrés hídrico ($\Psi_s = -0,65$ Mpa). b) Rendimiento-DSI para cada genotipo en V3 y R5. Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$ (ANOVA de dos vías). Las barras de error representan el desvío estándar de experimentos independientes, $n = 300$ por ensayo.

Análisis moleculares

Se evaluaron los cambios en la transcripción masiva de genes en MUNASQA y TJ2049 después de 72 h de exposición a un déficit hídrico leve. De los 38,658 transcritos analizados, las plantas de MUNASQA y TJ2049 bajo estrés por sequía presentaron 2952 y 1126 transcritos con cambios significativos en sus niveles de expresión, respectivamente. La reprogramación transcripcional a gran escala ha sido reconocida durante mucho tiempo como la primera respuesta a la sequía, iniciando vías de mitigación del estrés y cambios metabólicos. Además, la rapidez para percibir y responder a los estreses podría ser esencial para diferenciar genotipos tolerantes y susceptibles. Aquí, después de una sequía leve los genotipos mostraron cambios drásticos en sus perfiles transcripcionales y ninguna alteración fenotípica observable. En el mapa de calor (Figura 2a), los perfiles de expresión se clasificaron en 8 grupos, y casi el 50% de los genes expresados diferencialmente (GEDs) de MUNASQA mostraron represión bajo condiciones de estrés.

Generalmente, en respuesta a la sequía, las plantas inicialmente activan el control transcripcional y la señalización hormonal, lo que conduce al ajuste metabólico para hacer frente a la baja disponibilidad de agua. Los mecanismos celular-

res como la captación y el transporte de agua/iones, la homeostasis redox, la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la osmorregulación y la protección de membranas se acompañan de respuestas fisiológicas como la regulación de los estomas, el desarrollo de las raíces y la protección de la maquinaria de la fotosíntesis. MUNASQA reguló positivamente varios GEDs involucrados en estas respuestas fisiológicas relacionados con la "unión a la clorofila" y "actividad antioxidante" (categoría función molecular, MF), "tilacoide", "membranas de tilacoide" y "cloroplasto" (categoría componente celular, CC), y "fotosíntesis", "respuesta al agua" y "respuesta a la desecación" (categoría proceso biológico, BP), como se puede observar en la Figura 2b. En conjunto, estos resultados indican una regulación muy ajustada de los mecanismos de respuesta al estrés, crecimiento y uso del agua en MUNASQA bajo sequía. Además, los genes que codifican proteínas detoxificantes como SOD, CAT y APX fueron regulados diferencialmente en ambos genotipos. Detectamos dos genes SOD sobre-expresados bajo condiciones de estrés en MUNASQA y, al contrario de TJ2049, tres genes APX y CAT estaban reprimidos. En consecuencia, las mediciones de actividad SOD en R5 corroboraron estas diferencias en la actividad transcripcional entre los dos genotipos.

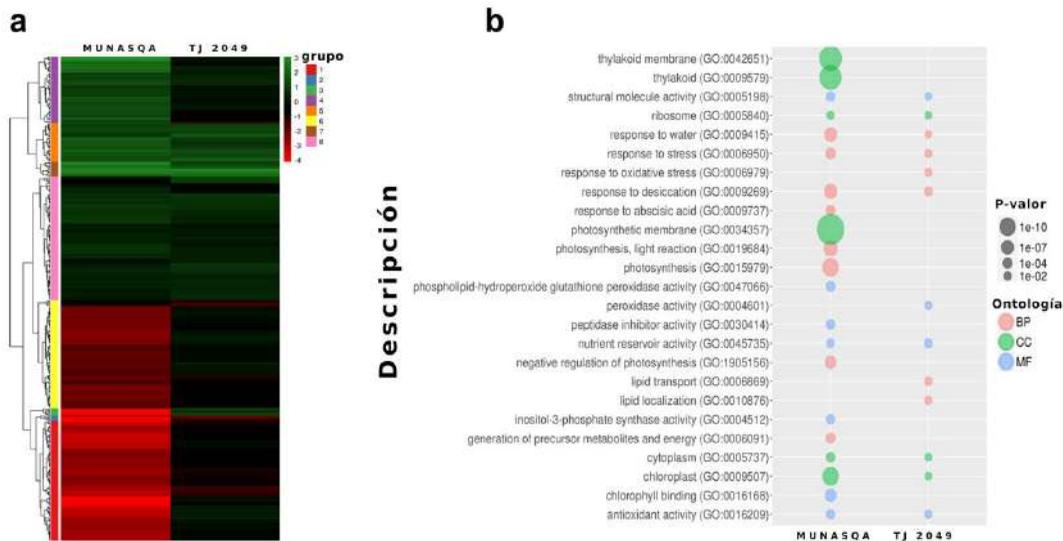


Figura 2. Análisis transcriptómico de los genotipos MUNASQA y TJ2049 en condiciones de sequía. a) Mapa de calor de todos los genes expresados diferencialmente (GEDs) para MUNASQA y TJ2049 en condiciones de sequía. El color de la escala indica en verde la regulación al alza y en rojo la regulación a la baja. b) Análisis de enriquecimiento ontológico en MUNASQA y TJ2049 para procesos biológicos (BP, en rojo), función molecular (MF, en azul) y componente celular (CC, en verde). Se representan las categorías relevantes que muestran enriquecimiento de GEDs para ambos genotipos. Los términos GO se trazaron tras aplicar un FDR = 0,1 El tamaño de la burbuja se correlaciona con los valores del factor de enriquecimiento; para cada tamaño de burbuja se indica el valor P.

Marcadores de respuesta al estrés

Una actividad antioxidante eficiente es crucial para resistir un bajo contenido de agua celular, y su importancia en la tolerancia de las plantas a la sequía se ha informado ampliamente. Aquí, se encontraron diferencias sustanciales en la regulación de las enzimas SOD, APX, POX y CAT en MUNASQA y TJ2049 a lo largo del tiempo, bajo déficit hídrico e independientemente de la etapa fenológica. MUNASQA alcanzó la máxima actividad para todas las enzimas después de 4 días de déficit hídrico, mientras que la mayor actividad en TJ2049 ocurrió a los 8 días después del inicio del estrés, excepto para CAT. Es importante destacar que, en condiciones no estresadas, todas las actividades enzimáticas, excluyendo CAT, mostraron una mayor actividad en el genotipo tolerante que en el susceptible, fortaleciendo la hipótesis de que TJ2049, en comparación con MUNASQA, presenta mecanismos de percepción y respuesta al estrés retrasados. Además, el perfil general de expresión génica con respecto a la regulación de estas enzimas fue consistente con los resultados bioquímicos.

En relación con la acumulación de PRO, uno de los osmoprotectores más comunes en las plantas, el genotipo tolerante MUNASQA mostró una acumulación más alta y rápida de después de 4 días de déficit hídrico en ambas etapas fenológicas. Al analizar la producción de MDA, un indicador de peroxidación lipídica y severidad del estrés, se detectó una acumulación más alta y rápida en las plantas de TJ2049 en respuesta al déficit hídrico, en comparación con MUNASQA. La sequía también afecta el contenido de pigmentos foliares. Los cambios en los pigmentos fotosintéticos pueden alterar varios procesos de captación de luz, mientras que la acumulación de compuestos fotoprotectores desempeña un papel esencial en la prevención del daño foto-oxidativo. Según nuestros resultados, la tolerancia a la sequía de MUNASQA está fuertemente relacionada con una capacidad rápida de detección y respuesta al estrés, y un sistema eficiente de eliminación de ROS, mecanismos esenciales para la tolerancia al estrés en numerosas especies.

Marcadores de crecimiento y rendimiento

Los genotipos MUNASQA y TJ2049 mostraron diferencias en términos de varios marcadores, incluyendo el LAI, LAR, NAR, RGR, CGR, el rendimiento relativo y el índice de susceptibilidad a la sequía (DSI).

MUNASQA mostró un mayor LAI en comparación con TJ2049, independientemente de la etapa fenológica o la disponibilidad de agua. Esto sugiere una mayor capacidad de fotosíntesis en MUNASQA. La relación entre el área foliar y la biomasa (LAR) se vio afectada por la sequía en ambas variedades, pero solo durante la etapa vegetativa. La tasa de asimilación neta (NAR) se redujo en respuesta a la sequía en ambas etapas fenológicas. MUNASQA tuvo una mayor NAR en condiciones normales y mantuvo un aumento bajo sequía, mientras que TJ2049 tuvo valores más bajos y reducidos bajo sequía. La tasa de crecimiento relativo (RGR) se redujo significativamente en la etapa vegetativa debido a la sequía, especialmente en TJ2049. La tasa de crecimiento del cultivo (CGR) mostró diferencias significativas en las etapas V3 y R5 después de exposición a la sequía.

En general, MUNASQA mostró una mejor respuesta al estrés, regulando de manera más eficiente la asignación de recursos y manteniendo la eficiencia fotosintética, lo que resultó en un mejor rendimiento y menor susceptibilidad a la sequía en comparación con TJ2049.

Marcadores de uso del agua

Mantener el contenido de agua en tejidos/células y/o la actividad metabólica en potenciales hídricos bajos son estrategias fisiológicas para sobrevivir la sequía. Rasgos como la pubescencia, el grosor de las hojas, la densidad y el cierre estomáticos, el marchitamiento lento, la temperatura del dosel, el contenido relativo de agua (RWC) y la eficiencia en el uso del agua (WUE) son esenciales para determinar la tolerancia a la sequía en las plantas. Por lo tanto, todos estos parámetros de uso del agua se evaluaron en MUNASQA y TJ2049 en respuesta a la sequía. Después de 21 días de déficit hídrico, los genotipos exhibieron adaptaciones inducidas por la sequía en rasgos de morfología foliar, como los estomas, la densidad de tricomas y el grosor de las hojas.

Se observaron cambios sustanciales en la densidad estomática en respuesta a la sequía. MUNASQA mostró un aumento del 89% y 65% en las superficies foliares abaxial y adaxial, respectivamente, mientras que TJ2049 mostró una disminución considerable. Además, se observó un aumento en la densidad de tricomas en MUNASQA, especialmente en la superficie foliar abaxial. En respuesta a la sequía, las plantas

pueden reducir el tamaño, densidad o apertura de los estomas y desarrollar una mayor pubescencia, principalmente en la superficie foliar abaxial.

La densidad estomática y el control de la apertura estomática refuerzan el carácter tolerante a la sequía de MUNASQA. Bajo condiciones no estresadas, el genotipo susceptible TJ2049 mostró estomas más abiertos (aproximadamente un 22% más que MUNASQA). Después de 3 días de sequía en la etapa V3, esta diferencia aumentó a casi un 50% en la apertura estomática.

La pérdida de agua de hojas separadas se usó para medir la tolerancia a la sequía. Después de 48 horas, MUNASQA mostró un fenotipo de marchitamiento más lento, vinculado a la tolerancia a la sequía. Además, MUNASQA demostró un comportamiento de ahorro de agua a través de parámetros como el contenido relativo de agua (RWC) y la eficiencia en el uso del agua (WUE), regulados de manera efectiva bajo sequía.

La WUE, que se refiere a la biomasa producida por unidad de agua, mostró un aumento gradual en MUNASQA en respuesta a la sequía en las etapas V3 y R5. Esto sugiere una regulación más

estricta de los movimientos estomáticos y una menor pérdida de agua en MUNASQA.

El CTD, relativo a la diferencia de temperatura entre el dosel de la planta y el aire circundante, se considera un rasgo sustitutivo de la conductancia estomática y un buen indicador de la tasa de transpiración de la planta (Figura 3A). Como era de esperar, en respuesta a la sequía, las plantas MUNASQA mostraron valores más bajos de CTD (Figura 3B), un hallazgo que apoya los resultados de la apertura estomática y sugiere fuertemente el comportamiento ahorrador de agua del genotipo. Las plantas con mayor conductancia estomática transpiran más y, por tanto, mantienen un dosel más fresco. Así, en las plantas estresadas TJ2049, el CTD alto y positivo confirmó una mayor apertura estomática y tasa de transpiración que concuerda con un comportamiento derrochador de agua. Además, TJ2049 también presentó mayores tasas de transpiración en condiciones no estresadas (Figura 3B). Hallazgo que podría ser evidencia de una diferencia natural y predisponente entre genotipos tolerantes y susceptibles.

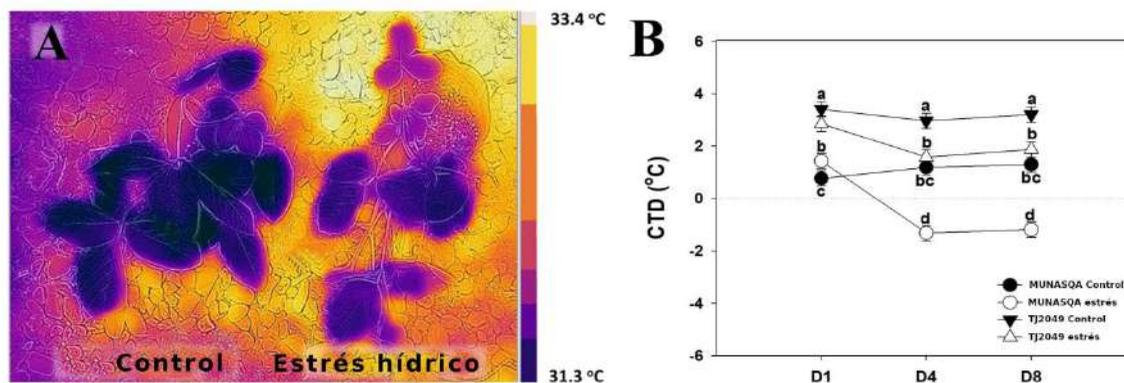


Figura 3. Diferencia en la temperatura de la canopia (CTD). A) ejemplo de imagen termográfica entre plantas estresadas (estrés hídrico) y bien regadas (control); B) valores promedios de CTD entre MUNASQA y TJ2049 bajo estrés y riego a los días 1, 4 y 8 posteriores al inicio de los tratamientos.

En resumen, MUNASQA mostró adaptaciones específicas a la sequía en rasgos de morfología foliar, regulación estomática y uso del agua, lo que respalda su mayor tolerancia a la sequía en comparación con TJ2049.

Selección de marcadores

Identificar y explotar marcadores morfo-fisiológicos y/o moleculares asociados con la tolerancia a la sequía mejorará las estrategias de selección de genotipos/variedades. Sin embargo, para implementar con éxito marcadores en un programa de mejora genética es imperativo validar su (i) precisión, (ii) viabilidad y (iii) fuerza de asociación con el rasgo deseado. Para entender mejor la contribución de los marcadores a la tolerancia a

la sequía y la estabilización del rendimiento en MUNASQA y TJ2049, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA). Se llevó a cabo un PCA inicial para todos los parámetros morfo-fisiológicos evaluados junto con el rendimiento absoluto (Figura 4). Aquí, los datos de MUNASQA bajo estrés se separaron del resto de los tratamientos y genotipos en el Componente Principal (PC) I, mostrando la mayor disimilitud. Mientras tanto, los datos de estrés de TJ2049 se separaron en PC II. Sin embargo, los dos primeros componentes solo explicaron el 53.48% de la varianza. Además, no se observó una clara asociación entre el rendimiento absoluto y el resto de los parámetros.

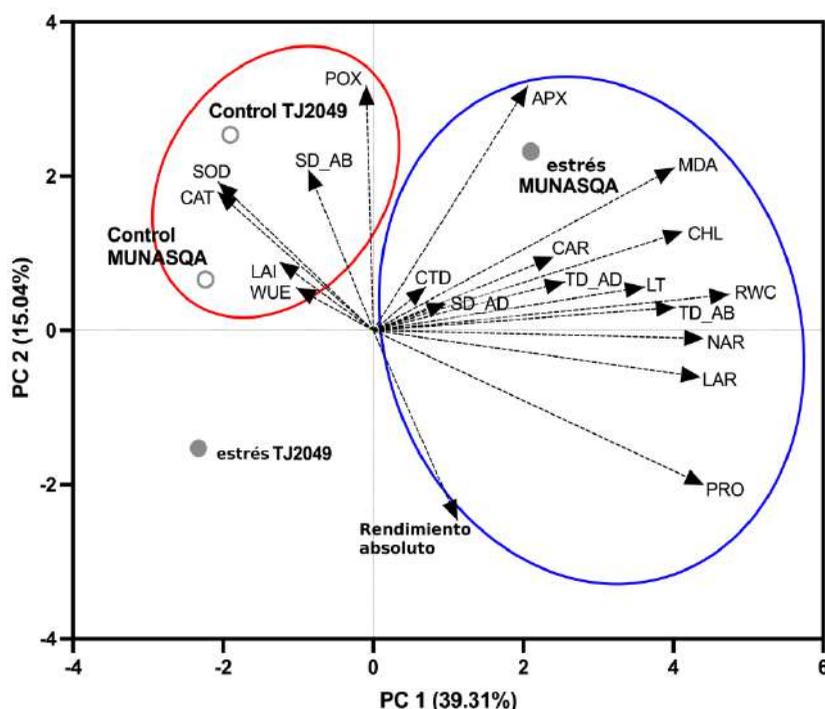


Figura 4. Análisis de componentes principales (ACP) para todos los marcadores morfo-fisiológicos evaluados en los genotipos MUNASQA y TJ2049.

Para discriminar qué marcadores explicaban mejor la variabilidad entre genotipos y tratamientos, se realizaron PCA independientes utilizando conjuntos de parámetros agrupados por procesos biológicos en categorías de "respuesta al estrés", "crecimiento" y "uso del agua". Se

midieron los marcadores en las etapas V3 y R5 mediante la correlación de Pearson para determinar su fuerza de asociación entre las etapas fenológicas y la estabilización del rendimiento (Figura 5).

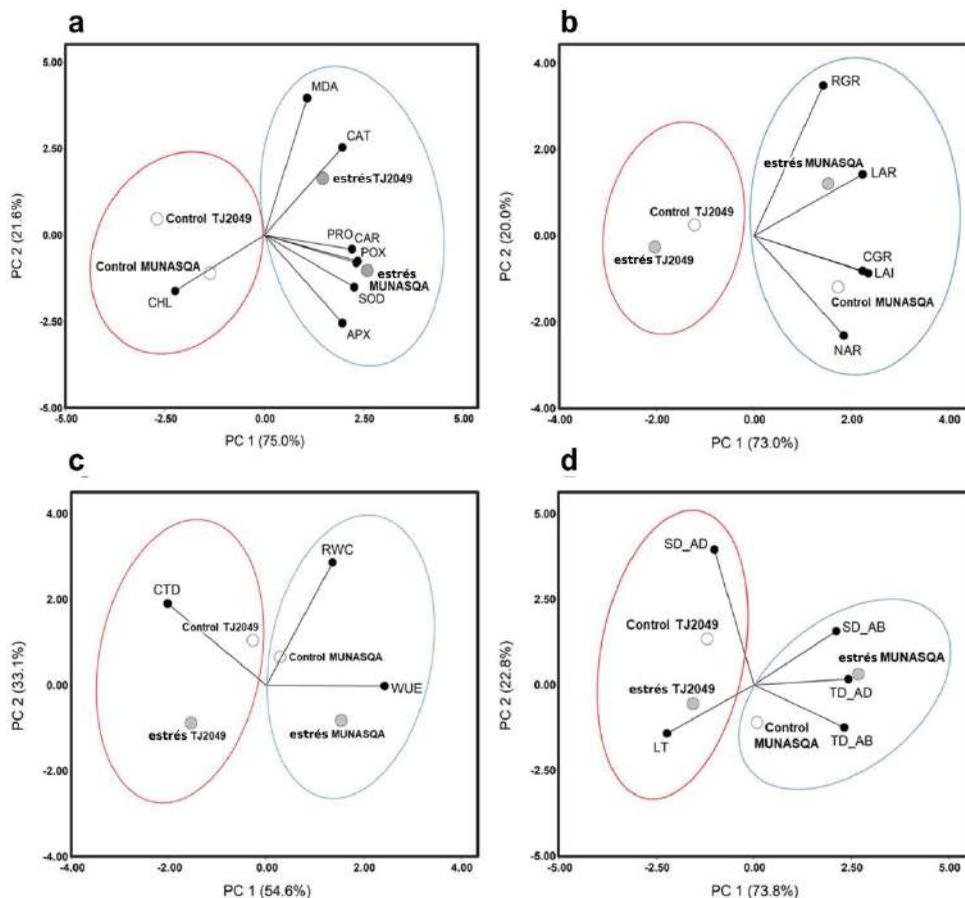


Figura 5. PCA para determinar la interacción de los marcadores con los genotipos y los tratamientos. a) Conjunto de marcadores I: respuesta al estrés. El ACP se realizó utilizando los datos de SOD, APX, POX, CAT, MDA, PRO, CHL y CAR. b) Conjunto de marcadores II: crecimiento. Se realizó PCA utilizando los datos de LAI, LAR, NAR, RGR y CGR. c) Marcadores fisiológicos del Conjunto III: uso del agua. El PCA se realizó utilizando los datos de RWC, WUE y CTD. d) Marcadores morfológicos del conjunto III: uso del agua. El PCA se realizó utilizando los datos LT, TD_AB, TD_AD, ST_AB y SD_AD.

Los marcadores de respuesta al estrés como enzimas antioxidantes y pigmentos foliares se confirmaron como respuestas adaptativas al estrés de desecación, útiles para seleccionar genotipos bajo sequía. Los resultados de PCA mostraron una clara discriminación de las respuestas a la sequía de MUNASQA y TJ2049 (Figura 5a). En el PCA de "crecimiento", los marcadores se asociaron principalmente con MUNASQA (Figura 5b). En los marcadores de "uso del agua", se observó la mayor contribución a la discriminación de respuestas tolerantes y susceptibles a la sequía (Figura 5c y d).

Determinar qué marcadores son más adecuados para evaluar la tolerancia a la sequía representa a menudo un reto y depende de los criterios del investigador, por ejemplo, si la tolerancia se basa en el mantenimiento del rendimiento o en mecanismos intrínsecos que aseguran la supervivencia

de la planta a expensas de la productividad. Durante esta investigación, evaluamos numerosos parámetros asociados con el rendimiento de la planta y las respuestas al estrés, con el objetivo de identificar un pequeño grupo de marcadores relacionados con la estabilización del rendimiento, la tolerancia al estrés, o ambos, y de ser posible, no destructivos y fácilmente medibles. A menudo, algunos marcadores son muy precisos (estables durante el ciclo de vida de la planta) pero caros y laboriosos. Por lo tanto, sin menospreciar la importancia de la precisión, también consideramos que los marcadores que sean rentables y puedan ser evaluados de manera masiva son fuertes candidatos para el fenotipado de la tolerancia a la sequía. Durante esta investigación, los marcadores seleccionados fueron (i) densidad estomática en la superficie adaxial y (ii) abaxial de la hoja, (iii) densidad de tricomas en la cara abaxial, y (iv) CTD. Estos cuatro rasgos fueron

elegidos como los marcadores de fenotipado más eficientes para la tolerancia a la sequía debido a su alta precisión, fuerte asociación con las estrategias de ahorro de agua en condiciones de sequía, alta rentabilidad (asequible y fácil de medir) y evaluación no destructiva. Por lo tanto, ideales para el fenotipado de alto caudal.

■ Consideraciones finales

Se llevaron a cabo experimentos de fenotipado en profundidad para comprender mejor los mecanismos moleculares y morfo-fisiológicos implicados en las respuestas de genotipos de soja a la sequía.

Se confirmó la eficacia de las metodologías utilizadas, reforzando la utilidad de MUNAS-QA y TJ2049 como genotipos modelos para investigar respuestas al estrés hídrico.

Se identificaron y validaron estadísticamente los rasgos asociados con la tolerancia a la sequía y la estabilización del rendimiento.

Se identificaron cuatro marcadores de tolerancia a la sequía que se podrían implementar en distintas etapas del SPMGS de manera masiva, ya que son fáciles de implementar, económicos y no destructivos.

▼ Bibliografía citada

De Clercq, M., Vats, A. and Biel, A. (2018) 'Agriculture 4.0: The future of farming technology', *Proceedings of the world government summit, Dubai, UAE*, pp. 11–13.

FAO et al. (2023) *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023*. Rome: FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO; Available at: <https://doi.org/10.4060/cc3017en>.

Jiménez, M. (2023) *Estados Unidos abre una nueva era al aprobar la venta de carne cultivada en laboratorio, El País*. Available at: <https://elpais.com-ciencia/2023-06-22/estados-unidos-abre-una-nueva-era-al-aprobar-la-venta-de-carne-cultivada-en-laboratorio.html> (Accessed: 7 August 2023).

Kuriakose, S.V., Pushker, R. and Hyde, E.M. (2020) 'Data-driven decisions for accelerated plant breeding', *Accelerated Plant Breeding, Volume 1: Cereal Crops*, pp. 89–119.

Maffezzoli, F. et al. (2022) 'Agriculture 4.0: A systematic literature review on the paradigm, technologies and benefits', *Futures*, 142, p. 102998. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.futures.2022.102998>.

Pardo, E.M. et al. (2015) 'Drought tolerance screening under controlled conditions predicts ranking of water-limited yield of field-grown soybean genotypes', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201(2), pp. 95–104. Available at: <https://doi.org/10.1111/jac.12106>.

Toum, L. et al. (2022) 'Selecting putative drought-tolerance markers in two contrasting soybeans', *Scientific Reports*, 12(1), p. 10872. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14334-3>.

Varshney, R.K., Roorkiwal, M. and Sorrells, M.E. (2017) *Genomic selection for crop improvement: new molecular breeding strategies for crop improvement*. Springer.

