



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario Mixto de Biología Molecular y Celular de Plantas

Identificación de genes implicados en la regulación de la
producción de biomasa en condiciones de cambio climático

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Biotecnología Molecular y Celular de
Plantas

AUTOR/A: Wei , Shurong

Tutor/a: Mulet Salort, José Miguel

Cotutor/a: Agusti Feliu, Javier

Director/a Experimental: BRUNOT GARAU, PAULA

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

Identificación de genes implicados en la regulación de la producción de biomasa en condiciones de cambio climático

Biotecnología Molecular y Celular de Plantas

Trabajo Final de Máster

Enero 2023



Autora:

Shurong Wei

Directora:

Paula Brunot Garau

Tutor:

Javier Agustí Felú

Agradecimientos

El tiempo vuela, y pronto pasará el año y medio de mi vida del Máster en España, y he ganado mucho durante este tiempo. No es fácil para mí completar este trabajo, es solo gracias a la innumerable ayuda de las personas que siempre se han preocupado por mí y me han apoyado que puedo completarlo con éxito. Me gustaría aprovechar esta oportunidad para expresarles mi gratitud. En primer lugar quiero agradecer a mi tutor, Javier Agustí Feliu, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo como estudiante, y por darme muchas orientaciones y sugerencias para este trabajo, que son de decisiva importancia para mi formación académica. En segundo lugar, a mi directora Paula Brunot Garau, no importa desde el comienzo de la orientación del experimento hasta el resumen final del trabajo, ella siempre me está guiando con paciencia y me ayudaba lo antes posible con los problemas que encontraba, y puso mucho esfuerzo y tiempo en este trabajo. También a Miguel Ángel Blázquez, recuerdo que cuando llegó por primera vez al laboratorio 2.07 nos entretuvo muy amablemente a Siyi Wu ya mí, y nos introdujo todo sobre el laboratorio.

Cabe mencionar a todos los compañeros de los laboratorios 2.07 y 2.08, no dudaron en ayudarme aunque era en algo pequeño y siempre llenaron el trabajo de vitalidad. En especial Cristina Úrbez, ella siempre me saludaba cálidamente a mí y a otros estudiantes y me ayudaba mucho. Y mis compañeros de Máster me dieron más ayuda en mi estudio, en especial Marina y María, me llevaron a visitar Barcelona y Andalucía, para que me integraba rápidamente a la vida y cultura española, y el tiempo que viajábamos juntas es una de mis mejores memorias.

Finalmente, me gustaría agradecer a mi familia. Es su apoyo espiritual y material lo que me dio más coraje para completar este Máster. Y a Siyi Wu, que me ha acompañado y animado durante mucho tiempo, haciéndome la vida en España más relajado y agradable.

Muchas gracias a todas las personas aquí mencionadas que me han ayudado de diferentes maneras en este trabajo, me hacen sentir muy afecto y yo estoy muy feliz de conocerlos a todos.

Resumen

Todos los aspectos fisiológicos y celulares de las plantas dependen del agua, y la escasez de agua debido al cambio climático es un estrés abiótico importante que limita el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos, cuyos efectos directos conducen a una biomasa vegetal reducida. Sin embargo, existe una falta de comprensión clara de cómo se regula el crecimiento de las plantas en condiciones de sequía no letales. Los avances recientes en las ciencias ómicas permiten un análisis en profundidad de la variación natural. En este estudio, cuantificamos el alcance de los cambios inducidos por la sequía en la biomasa y los fenotipos de las raíces laterales en 118 accesiones de *Arabidopsis thaliana*, realizamos un análisis de asociación genómica y detectamos los principales lugares de variación en el valor de aptitud. Sin embargo, pocos genes están asociados con caracteres relacionados con la sequía y, por lo tanto, pueden estar involucrados en la adaptación ambiental, y el amplio rango de climas presentes en la Península Ibérica es una fortaleza de este estudio. Las accesiones de *Arabidopsis* altamente diversas de la región proporcionan un excelente recurso para estudiar la complejidad espacial de la adaptación climática.

Palabras clave: *Arabidopsis thaliana*; cambio climático; sequía; biomasa; GWAS

Summary

All physiological and cellular aspects of plants are dependent on water, and water scarcity due to climate change is a major abiotic stress limiting plant growth and crop yield, the direct effects of which lead to reduced plant biomass. However, there is a lack of clear understanding of how plant growth is regulated under non-lethal drought conditions. Recent advances in the omics sciences allow an in-depth analysis of natural variation. In this study, we quantified the extent of drought-induced changes in biomass and lateral root phenotypes in 118 *Arabidopsis thaliana* accessions, performed genomic association analysis, and detected major loci of variation in fitness value. However, few genes are associated with drought-related traits and therefore may be involved in environmental adaptation, and the wide range of climates present in the Iberian Peninsula is a strength of this study. The region's highly diverse *Arabidopsis* accessions provide an excellent resource for studying the spatial complexity of climate adaptation.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*; climate change; drought; biomass; GWAS

Resum

Tots els aspectes fisiològics i cel·lulars de les plantes depenen de l'aigua, i l'escassetat d'aigua a causa del canvi climàtic és un estrés abiòtic important que limita el creixement de les plantes i el rendiment dels cultius, els efectes directes dels quals condueixen a una biomassa vegetal reduïda. No obstant això, existeix una falta de comprensió clara de com es regula el creixement de les plantes en condicions de sequera no letals. Els avanços recents en les ciències òmicas permeten una anàlisi en profunditat de la variació natural. En aquest estudi, quantifiquem l'abast dels canvis induïts per la sequera en la biomassa i els fenotips de les arrels laterals en 118 accessions de *Arabidopsis thaliana*, realitzem una anàlisi d'associació genòmica i detectem els principals llocs de variació en el valor d'aptitud. No obstant això, pocs gens estan associats amb caràcters relacionats amb la sequera i, per tant, poden estar involucrats en l'adaptació ambiental, i l'ampli rang de climes presents en la Península Ibèrica és una fortalesa d'aquest estudi. Les accessions de *Arabidopsis* altament diverses de la regió proporcionen un excel·lent recurs per a estudiar la complexitat espacial de l'adaptació climàtica.

Paraules clau: *Arabidopsis thaliana*; canvi climàtic; sequera; biomassa; GWAS

摘要

植物的所有生理和细胞方面都依赖于水，气候变化导致的缺水是限制植物生长和作物产量的主要非生物胁迫，其直接影响导致植物生物量减少。然而，对于在非致命干旱条件下如何调节植物生长缺乏清晰的认识。组学科学的最新进展允许对自然变异进行深入分析。在这项研究中，我们量化了 118 份拟南芥种质中干旱引起的生物量和侧根表型变化的程度，进行了基因组关联分析，并检测了适应值变异的主要位点。然而，很少有基因与干旱相关性状相关，因此可能参与环境适应，伊比利亚半岛存在的广泛气候是这项研究的优势。该地区高度多样化的拟南芥种质为研究气候适应的空间复杂性提供了极好的资源。

关键词: 拟南芥；气候变化；干旱；生物质；GWAS

Índice

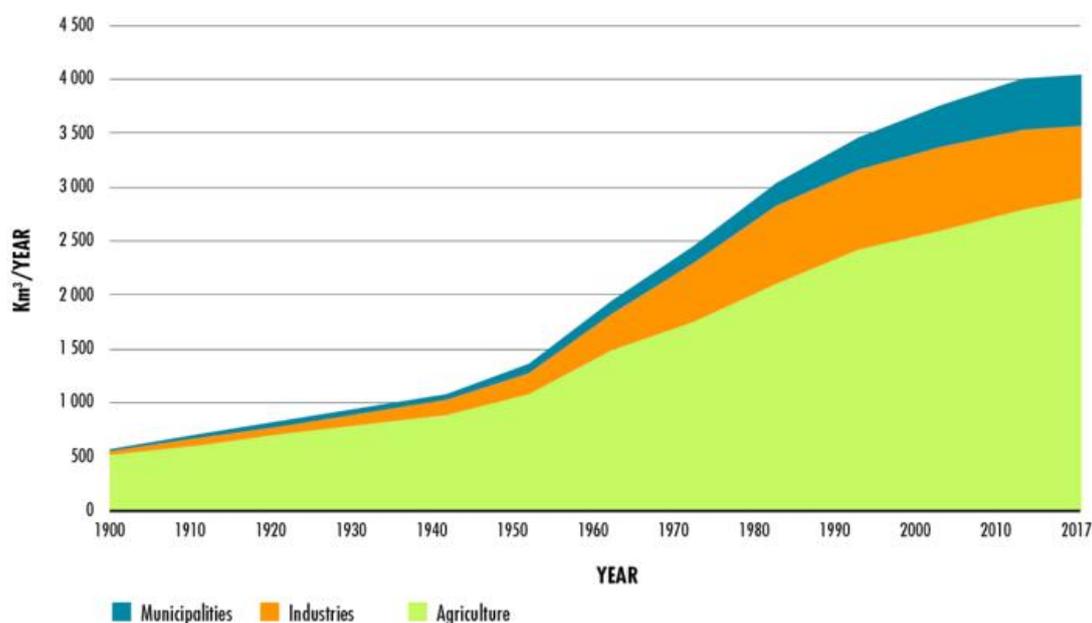
| | |
|--|----|
| 1. Introducción | 7 |
| 1.1 Sequía | 7 |
| 1.2 Variación genética natural | 7 |
| 1.3 Variación natural asociada a GWAS | 9 |
| 1.4 Impacto del cambio climático en la biomasa | 10 |
| 2. Objetivos | 12 |
| 2.1 Identificar variación genética natural que, durante la evolución, ha sido clave para adaptar la capacidad de formación de biomasa/raíz lateral a la sequía: un efecto directo del cambio climático | 12 |
| 2.2 Respuesta de vasculadura a la sequía | 12 |
| 3. Materiales y métodos | 14 |
| 3.1 Material vegetal | 14 |
| 3.2 Condiciones de crecimiento | 14 |
| 3.3 Análisis histológicos | 14 |
| 3.4 Análisis de imagen | 15 |
| 3.5 GWAS | 15 |
| 3.6 Análisis estadísticos | 15 |
| 4. Resultados | 17 |
| 4.1 Variación natural | 17 |
| 4.2 Estudio GWAS de la variación natural de la producción de biomasa | 17 |
| 4.3 Asociación del estudio de variación natural en el número de raíces laterales a GWAS | 20 |
| 4.4 Correlaciones de las variables fenotípicas entre condiciones estándar y sequía | 22 |
| 4.5 Correlaciones de variables fenotípicas con el clima | 24 |
| 4.6 Las respuestas están conservadas en vasculatura | 25 |
| 5. Discusión | 29 |
| 5.1 Variación natural en dos fenotipos relacionados con el cambio climático | 29 |
| 5.2 Asociación de variación natural fenotípica con GWAS | 29 |
| 5.3 Correlación de variables fenotípicas | 30 |
| 5.4 Relación entre cambio climático y variables fenotípicas | 31 |
| 6. Conclusión | 33 |
| 7. Bibliografía | 35 |
| 8. Anexos | 40 |

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1 Sequía

La abundancia de agua disminuye año tras año debido al cambio climático mientras el consumo de agua continúa aumentando. Este aumento de consumo es causado por el crecimiento de la población, el cual acarrea no solo un aumento de consumo directo sino de consumo por parte de las actividades industriales y agrícola. La sequía es uno de los principales factores de estrés que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas. En este contexto, las pérdidas de productividad de los cultivos relacionadas con la sequía dificultan la sostenibilidad agrícola a nivel global. De hecho, la escasez de agua es la mayor causa de las pérdidas de la producción agrícola, siendo responsable de aproximadamente el 34% de las mismas a nivel mundial según la FAO (Food and Agriculture Organization of the United States) ('The impact of disasters and crises on agriculture and food security: 2021', 2021). Por tanto, resulta acuciante hallar soluciones frente a la carencia de agua y asegurar así la seguridad alimentaria. En este marco, la biotecnología ofrece la posibilidad de aumentar la resiliencia de los cultivos a sequía si se conoce qué genes son responsables de una mayor tolerancia a este factor de estrés (Figura1).



Figural : El consumo de agua aumenta año tras año
'The State of Food and Agriculture 2020' (2020). FAO

1.2 Variación genética natural

La variación natural define las diferencias observables entre individuos en condiciones naturales, y puede manifestarse tanto a nivel anatómico como fisiológico o genómico. En plantas, Arabidopsis constituye un modelo ideal para entender cómo se genera dicha variación y cuáles son las consecuencias de la misma. En gran medida,

esto es debido a la disponibilidad de genomas de calidad de una gran cantidad de ecotipos de esta especie (Supplemental Information 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in *Arabidopsis Thaliana*, n.d.) . Además, existen diversas herramientas bioinformáticas gratuitas que permiten analizar en detalle la variación genética natural observada en los diversos ecotipos. El 1001 Genomes Consortium agrupa los genomas de 1135 líneas endogámicas naturales (también denominadas accesiones), así como las coordenadas en las que fueron recolectadas, que representan los rangos nativos de Eurasia y el norte de África y la América del Norte (recientemente colonizada por la especie). Los conocimientos sobre la historia de la especie y la fina distribución de la diversidad genética proporcionan la base para aprovechar al máximo la variación natural en *Arabidopsis* a través de la integración de la variación genómica con fenotipos, ya sean moleculares o no moleculares, y con distribución geográfica. De esta manera, es posible identificar variación genética natural responsable de la adaptación a variables climáticas concretas, como por ejemplo la sequía.

Una de las consideraciones a tener en cuenta cuando se lleva a cabo un estudio de variación natural es la estructura de la población utilizada. Así, por ejemplo, en los estudios de adaptación al medio, poblaciones globales y grandes pueden diluir la presencia de alelos de baja frecuencia que, en determinadas circunstancias, son clave para la adaptación. Para evitar este efecto, es conveniente utilizar colecciones de poblaciones regionales. Un ejemplo claro es la colección ibérica de accesiones de *Arabidopsis*. Esta colección está considerada como ideal para estudiar genética de la adaptación, ya que (i) está muy bien documentada, (ii) muestra una gran variación genética representada en la existencia de cuatro grupos genéticos diferenciados entre sí, y (iii) en la Península Ibérica hay una gran diversidad de climas en una extensión relativamente reducida de territorio, lo cual implica que deben coexistir diversas estrategias de adaptación que pueden ser identificadas utilizando esta colección (Tabas-Madrid et al., 2018). Entre las accesiones estudiadas de la Península Ibérica cabe destacar aquellas que derivan de germoplasma proveniente de diferentes refugios de la última glaciación (Picó et al., 2008a) . Estas accesiones constituyen un grupo genético diferenciado de los demás y son denominadas como relictas, ya que, genéticamente, representan el grupo más semejante al ancestro de *A. thaliana*. A lo largo del tiempo, la península Ibérica fue colonizada por accesiones no relictas que pertenecen a distintos grupos genéticos. Se ha visto que durante esta colonización, las accesiones no relictas incorporaron en su genoma alelos relictos que permitieron su adaptación a las condiciones climáticas ibéricas, así como su persistencia en la Península (C. R. Lee et al., 2017).

En los últimos años, los factores climáticos como la temperatura se han convertido en el foco de atención. Actualmente se están realizando esfuerzos para comprender los mecanismos involucrados en la adaptación de las plantas a la temperatura ambiental, y se han identificado varios genes en *Arabidopsis* que contribuyen a la variación natural en la termomorfogénesis. En este estudio utilizamos 174 accesiones de

Arabidopsis thaliana de la Península Ibérica para definir nuestra población de estudio (Figura 2).

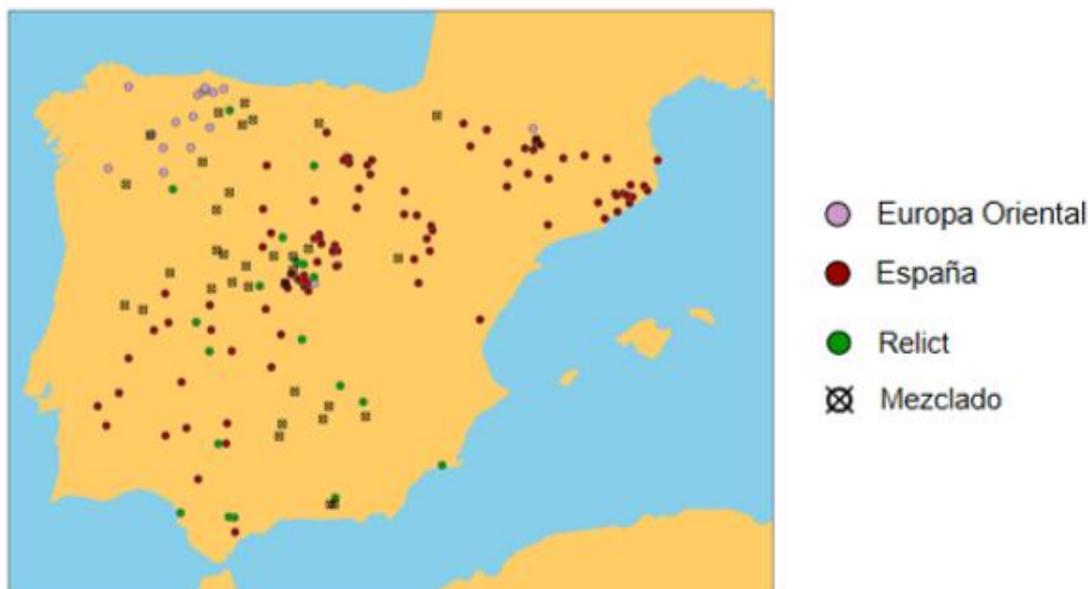


Figura2. Población regional: 174 accesiones de la Península Ibérica

1.3 Variación natural asociada a GWAS

GWAS (genome-wide association study) es un método para asociar variación fenotípica natural a variación genética natural en un conjunto de accesiones. La aplicación de tecnología de genotipado de alto rendimiento ha promovido en gran medida el desarrollo de GWAS. La generación de la plataforma 1001 genomes (Koch, 2016) tiene varias motivaciones: cuantificar la variación genómica en una muestra representativa de la especie; investigar la historia demográfica de la especie; identificar qué hace que un subconjunto geográfico o genético en particular sea particularmente adecuado para la genética avanzada, los ensayos de campo y la selección las características del escaneo y proporcionar una poderosa plataforma GWAS. En las plantas, el uso de GWAS no solo puede identificar genes o intervalos relacionados con rasgos específicos de varias poblaciones naturales a nivel de todo el genoma con alta resolución, sino que también revela el panorama de la arquitectura genética responsable de la variación fenotípica que se observa. En la actualidad, se han descubierto loci de caracteres cuantitativos (QTL) y sus loci de genes candidatos que están significativamente relacionados con varios caracteres en *Arabidopsis* y otras plantas modelo y líneas de cultivo importantes mediante el uso de métodos de análisis GWAS, y se ha aclarado la base genética de estos caracteres. También proporciona genes candidatos para revelar los mecanismos moleculares detrás de estos caracteres, y también proporciona una base teórica para la mejora de variedades de cultivos de alto rendimiento y alta calidad (Yuhui & Xiuxiu, n.d.).

Las diferencias en las accesiones naturales de *Arabidopsis thaliana* se pueden utilizar para revelar la base genética inherente a diversos caracteres y procesos de la biología

vegetal. GWAS es una herramienta muy útil para identificar dichas bases genéticas de forma rápida y eficiente. Dichos resultados pueden servir tanto para identificar nuevos genes reguladores de los procesos estudiados como para determinar bases genéticas de la adaptación al medio. Esto último es debido a que, como se ha explicado previamente, GWAS asocia variación fenotípica natural con variación genotípica natural. Así, GWAS juega un papel clave en los estudios actuales de genética de la adaptación, los cuales son de alta relevancia en el contexto actual de cambio climático. Con GWAS también podemos obtener información acerca de la contribución de los procesos demográficos y adaptativos a la heterogeneidad espacial en los patrones geográficos de variación genética. Los polimorfismos identificados por GWAS asociados al desarrollo de las plantas, así como a caracteres fisiológicos o químicos pueden domesticarse artificialmente. Por ejemplo, Tabas et al. para determinar la base genómica de la adaptación del tiempo de floración a la variabilidad de la temperatura, analizaron sistemáticamente 174 germoplasmas de *Arabidopsis* muy diversos de la Península Ibérica (Tabas-Madrid et al., 2018). Compararon asociaciones fenotípicas y genómicas ambientales conocidas para identificar genes candidatos que alteran la adaptación del tiempo de floración a la temperatura climática. Por una parte, este trabajo confirmó que las accesiones de la Península Ibérica proporcionan un recurso excelente para la complejidad espacial de la adaptación climática y, por otra, identificaron alelos susceptibles de ser domesticados para adaptar el tiempo de floración a escenarios climáticos diferentes al actual.

1.4 Impacto del cambio climático en la biomasa

En el contexto actual de cambio climático, asegurar un desarrollo social sostenible y respetuoso con el medio ambiente es un reto fundamental para la humanidad. La biomasa vegetal juega un papel clave en este sentido ya que (i) es sumidero de una grandísima cantidad de CO₂ atmosférico, (ii) constituye la materia prima para la fabricación de materiales reciclables, (iii) es fuente de una gran cantidad de energía renovable y (iv) es la base de la cadena alimentaria. Este proyecto, por tanto, aborda la problemática de asegurar la producción de suficiente biomasa vegetal en condiciones de cambio climático. Así, planteamos que, entender los mecanismos genéticos que han utilizado las plantas durante la evolución para adaptar sus capacidades de crecimiento y desarrollo al clima actual, puede ayudar a identificar genes y circuitos genéticos clave para iniciar nuevas aproximaciones biotecnológicas encaminadas a asegurar que nuestros cultivos y especies forestales generen suficiente biomasa en condiciones climáticas comprometidas. Adicionalmente realizamos análisis fenotípicos sobre el número de raíces laterales. Porque uno de los efectos más evidentes de la sequía es una reducción drástica del número de raíces laterales, los órganos de las plantas responsables de la absorción de agua.

OBJETIVOS

2. Objetivos

En base a lo expuesto en la sección **Introducción** de esta memoria, los objetivos principales de este trabajo son:

2.1 Identificar variación genética natural que, durante la evolución, ha sido clave para adaptar la capacidad de formación de biomasa/raíz lateral a la sequía: un efecto directo del cambio climático

Uno de los efectos más claros de la sequía es la disminución del biomasa/número de raíces laterales desarrolladas. Por tanto, para alcanzar este objetivo utilizamos GWAS utilizando datos de variación natural en la capacidad de producción de biomasa/raíces laterales en sequía en poblaciones naturales (accesiones) de *Arabidopsis thaliana*. Los datos se obtendrán como el ratio entre el numero de raíces laterales desarrolladas en sequía y en condiciones normales (mock) en plántulas de 10 días cultivadas in-vitro. Nuestros datos preliminares -obtenidos mediante este ratio- utilizando 20 accesiones, indican la existencia de una marcada variación natural en este parámetro, por lo que se espera, una vez fenotipadas las 174 accesiones de nuestra colección, identificar regiones genómicas estadísticamente asociadas a dicha variación mediante GWAS.

2.2 Respuesta de vasculadura a la sequía

La vasculadura de las raíces de *Arabidopsis* puede formar nuevo xilema y floema a través del engrosamiento continuo, mejorando así la capacidad de transporte de agua. Las raíces laterales son una parte indispensable de la función del sistema radicular. Lo que queríamos saber era si vasculadura respondería a la sequía. Mediante microscopía, analice la vasculadura de mismas accesiones en condiciones de sequía y compare el tamaño del área en condiciones estándar para determinar qué tipo de retroalimentación dará la vasculadura.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. Materiales y métodos

3.1 Material vegetal

Se utilizaron 174 accesiones de *Arabidopsis thaliana* procedentes de la península Ibérica. Estas líneas fueron obtenidas de la base de datos de variación natural de *Arabidopsis thaliana* 1001 Genomes (<https://1001genomes.org/>). Todo el material vegetal utilizado en este trabajo se enumera en la Tabla suplementaria.

3.2 Condiciones de crecimiento

En cuanto al cultivo in vitro, las semillas fueron esterilizadas según el método descrito por Parsa et al., aunque con una serie de modificaciones (Parsa et al., 2018). Las semillas se incubaron con una solución de etanol (70%) y tritón-X (0,05%) durante 10 minutos y luego se lavaron con etanol absoluto durante 2 minutos.

Las plantas se cultivaron en placas cuadradas (12 cm x 12 cm) que contenían medio de cultivo compuesto por 3 g/L de sales Murashige and Skoog (MS), 7 g/L de Phyto agar y 10 g/L de sacarosa a un pH de 5,7. Las placas se mantuvieron en posición vertical durante todo el período de crecimiento.

Después de la siembra, se estratificaron las semillas en oscuridad a 4 °C durante 10 días, luego se transfirió a una sala de cultivo a 22 °C y con fotoperiodo largo (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad). Tras 7 días, se iniciaron los tratamientos. Para el tratamiento de sequía, placas con el medio de cultivo mencionado antes fueron incubadas durante 24 horas con una solución de polietilenglicol (PEG 8000) con una concentración al 15%, que además contiene 0,03% MS y pH 5,7 (al igual que el medio de cultivo). En paralelo, las placas del grupo control se trataron a su vez con una solución que también contenía 0,03% MS, pH 5,7. Fenotipamos, una semana después de transferir las plántulas, las raíces laterales. Para ello, las placas fueron escaneadas y posteriormente analizadas. Finalmente, cuando las plántulas alcanzaban los 18 días, se recolectó la biomasa aérea y se pesó con una balanza de precisión. Además, los hipocótilos también fueron recolectados para realizar análisis histológicos.

3.3 Análisis histológicos

Los hipocótilos conservados en el experimento anterior se fijaron con etanol al 70 % y se almacenaron a 4 °C. Posteriormente, las muestras se incluyeron en un Technovit 7100 siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación, se generaron secciones transversales de 4 µm con un ultramicrotomo Ultracut E de Reichert-Jung, montado en agua sobre portaobjetos de vidrio y fijando por calor. Las secciones obtenidas se tiñeron con azul de toluidina al 0,05 % (Ragni et al., 2011).

Finalmente, las imágenes de las muestras histológicas se tomaron con un microscopio Leica DM5000 B.

3.4 Análisis de imagen

En cuanto al fenotipado de raíces laterales, el número de raíces laterales de cada línea bajo las diferentes condiciones de crecimiento se cuantificó con el software ImageJ.

Asimismo, en las imágenes obtenidas para los análisis histológicos se midió el área del xilema haciendo uso también de ImageJ.

3.5 GWAS

El experimento de GWAS se realizó con el software easyGWAS(Grimm et al., 2017), utilizando la base de datos de 1001 Genomes. Asimismo, se descartaron los SNPs con una frecuencia alélica menor del 3% en la población.

Para seleccionar las asociaciones, se estableció como umbral de significancia la corrección de Bonferroni (5%). Los genes obtenidos de este estudio derivan de las posiciones en las que se encontraron SNPs significativos.

3.6 Análisis estadísticos

Para los distintos análisis llevados a cabo, antes se evaluó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk.

Con el fin de examinar la correlación entre los rasgos fenotípicos evaluados en condiciones normales y en condiciones de tratamiento de sequía, se obtuvo el coeficiente de correlación de Pearson.

Por otro lado, con el objetivo de analizar la autocorrelación espacial de las variables fenotípicas de biomasa y raíces laterales, se utilizó el Índice de Moran.

Para examinar las asociaciones de las variables fenotípicas con el clima, se obtuvieron 19 variables climatológicas, relacionadas con precipitaciones y temperatura, de la base de datos Worldclim (<http://www.worldclim.org/bioclim>) (Mousavi-Derazmahalleh et al., 2018) . Los valores obtenidos de estas variables corresponden a las coordenadas en las que las accesiones de nuestra población de estudio fueron recolectadas. La relación entre las variables fenotípicas y climatológicas se evaluaron mediante el modelo de autorregresión espacial (SAR).

El conjunto de análisis estadísticos se llevaron a cabo con la versión 4.0.2 de R Studio.

RESULTADOS

4. Resultados

4.1 Variación natural

La tolerancia a la sequía es una característica multifactorial. De entre los diversos factores implicados, destacan las capacidades de transporte y absorción de agua. Dos efectos evidentes de la sequía en las plantas son la reducción del número de raíces laterales y la reducción de su biomasa. Con el fin de estudiar la variación natural en la respuesta a sequía, se fenotipó la biomasa y el número de raíces laterales en 118 accesiones ibéricas de *Arabidopsis thaliana* cultivadas en condiciones estándar (MOCK) y condiciones de sequía simulada (PEG). Para ello, las plántulas crecieron primero en condiciones estándar durante una semana, momento en que se inició un tratamiento con PEG (concentración al 15 %) para simular el estrés de sequía. En paralelo se llevó a cabo un tratamiento control (condiciones estándar). Luego, siete días después de iniciar dichos tratamientos, se escanearon las placas para cuantificar posteriormente el número de raíces laterales. Finalmente, se pesó la biomasa fresca con una balanza de precisión 14 días después del tratamiento. Obtuvimos los siguientes datos (Figura3 A,B). Se puede observar que las plántulas tratadas con PEG tenían menos biomasa fresca y menos raíces laterales que las cultivadas en condiciones normales (MOCK). Asimismo, es importante recalcar de estos resultados que existe una gran variación natural en ambos fenotipos (biomasa fresca y raíces laterales) tanto en condiciones normales como en condiciones de sequía, así como en la respuesta, ya que la tasa de reducción en ambos fenotipos es variable entre las distintas accesiones.

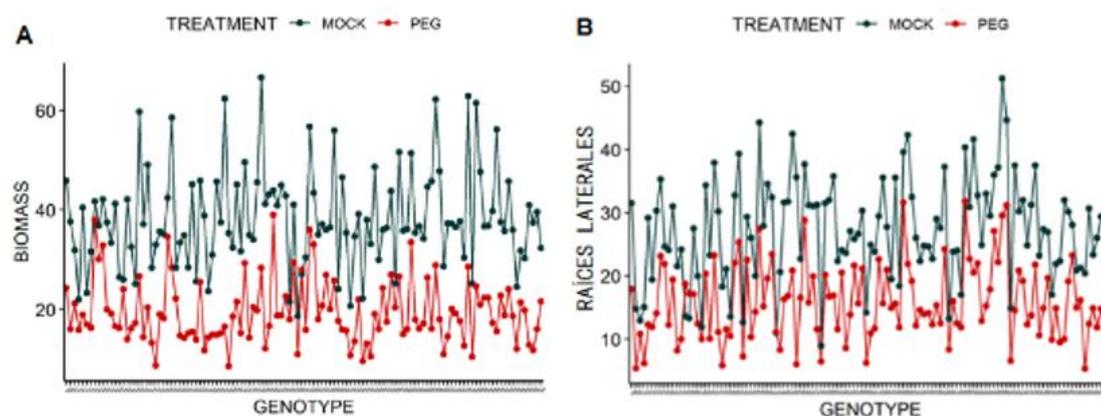


Figura3. Variables fenotípicas cuantificadas. (A) Variables fenotípicas de la biomasa en condiciones normales y de sequía. (B) Variables fenotípicas de raíces laterales en condiciones normales y de sequía.

4.2 Estudio GWAS de la variación natural de la producción de biomasa

Para continuar con los distintos análisis que se desean llevar a cabo, se comprobó en primer lugar la normalidad de las distintas variables fenotípicas. Para ello, realizamos el test de Shapiro-Wilk e hicimos gráficas de QQPlot (Quantile-Quantile Plot) para examinar la normalidad. Tanto los fenotipos de raíz lateral como de biomasa en

condiciones normales son variables con una distribución normal (p-value: 0.05964 y 0.6533 respectivamente) (Figura suplementaria1,2 A,A). En cambio, ninguno de los dos fenotipos en condiciones de sequía obedecieron la distribución normal (p-value=3.235e-09 para biomasa, p-value=0.009365 para raíces laterales). Para corregir esto, transformamos la variable de biomasa fresca en condiciones de sequía con log10 (p-value = 0.1628) y la variables de raíces laterales también bajo sequía (p-value = 0.2776) (Figura suplementaria1,2 B,B).

Como se ha mencionado previamente, nuestro objetivo era estudiar 174 accesiones de la población ibérica para identificar nuevos genes con valor adaptativo a sequía. En el actual trabajo se examinaron 118 de ellas (Figura4,5 A). A continuación, se llevó a cabo un análisis GWAS utilizando estos datos de variación natural con el fin de identificar genes involucrados en el desarrollo radicular (midiendo el número de raíces laterales) y la producción de biomasa en condiciones de sequía (midiendo el peso de biomasa aérea fresca). Para realizar estos análisis de asociación genómica, cada variable fenotípica fue analizada de forma independiente con el fin de comparar posteriormente los resultados obtenidos en condiciones estándar y bajo sequía en el caso de cada fenotipo examinado.

En primer lugar, en cuanto a la biomasa aérea fresca en condiciones estándar, se identificó un pico significativamente asociado que se localiza en una región del cromosoma 3 en la que se encuentran 13 genes (Figura4 B). Entre ellos, detectamos algunos que, en base al conocimiento existente sobre ellos, son candidatos a desarrollar funciones relacionadas con la capacidad de tolerancia a sequía. Uno de estos casos es el gen AT3G19190 (ATG2), encargado de controlar la homeostasis de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en las células de guarda mediante la eliminación de los peroxisomas oxidados, lo que permite la apertura de los estomas. Asimismo, se ha visto que este gen promueve la diferenciación del xilema, tejido vascular encargado del transporte de agua a las distintas partes de la planta (Escamez et al., 2016) . Por otro lado, el gen AT3G19210 codifica la proteína RAD54, un miembro de la familia ATPasa SWI2/SNF2. Además de ser necesaria para el correcto desarrollo de la planta, esta proteína tiene un papel regulador en el control del crecimiento de la raíz durante la respuesta radio-adaptativa (RAR) en un contexto de microgravedad (Deng et al., 2017).

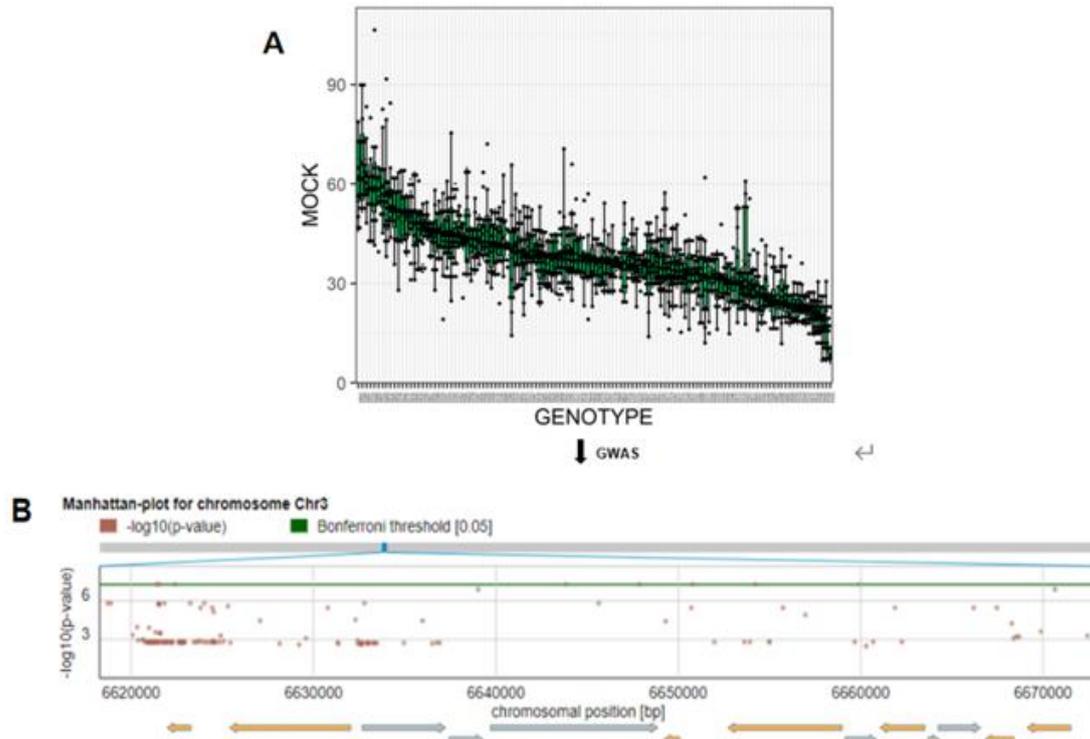


Figura4. Análisis de asociación del genoma (A) Variables fenotípicas de la biomasa en condiciones normales. (B) Posiciones de SNPs en regiones del cromosoma 3 identificadas como picos significativamente asociados en el umbral de significancia por easyGWAS con corrección de Bonferroni (5 %)

En paralelo, también se utilizó la variable fenotípica de biomasa aérea fresca en condiciones de sequía para llevar a cabo un análisis de asociación genómica (GWAS). En este caso, se identificaron dos picos distintos con una asociación significativa localizados en los cromosomas 2 y 3 respectivamente (Figura5 B,C). El pico identificado en el cromosoma 2 contiene dos genes (AT2G602890 y AT2G602950), mientras que el pico situado en el cromosoma 3 puede asociarse a tres genes diferentes (AT3G18524, AT 3G18530 y AT3G18535). Entre estos genes, ninguno de ellos parece desempeñar, a priori, una función que pueda estar claramente asociada a la respuesta a sequía, o bien no está descrita la función que tienen. No obstante, sería necesario realizar experimentos con mutantes para estos genes y otros ensayos moleculares para poder determinar si están relacionados con la resistencia a la sequía. Además, cabe mencionar que el grupo de investigación va a continuar examinando más accesiones para repetir este trabajo de asociación genómica con la población regional completa de 174 accesiones, por lo que es posible que se identifiquen nuevas regiones genómicas estadísticamente asociadas con la variación fenotípica observada.

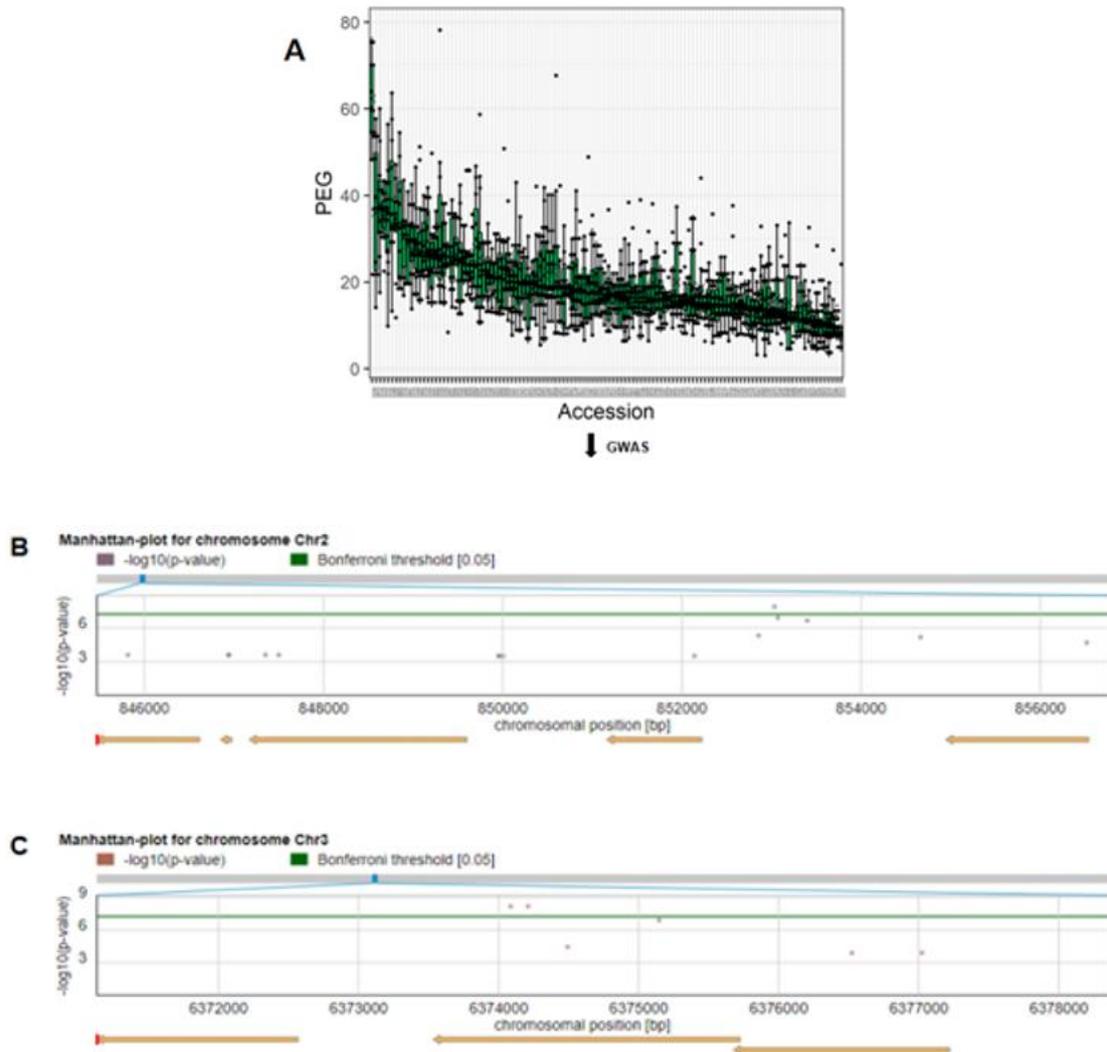


Figura5. Análisis de asociación del genoma (A) Variables fenotípicas de la biomasa en condiciones de sequía. (B) (C) Las posiciones de los SNPs en las regiones de los cromosomas 3 y 4 se identificaron como picos significativamente asociados en el umbral de significación mediante easyGWAS con corrección de Bonferroni (5 %).

4.3 Asociación del estudio de variación natural en el número de raíces laterales a GWAS

Al igual que hicimos con el fenotipo de biomasa, correlacionamos la variación natural del número de raíces laterales en condiciones estándar y de sequía (Figura6 A,B) con las variaciones del genoma presentes en las accesiones estudiadas utilizando GWAS. En primer lugar, en cuanto al número de raíces laterales en condiciones estándar, no se halló ningún pico significativo. Este resultado negativo puede deberse a que la población examinada es incompleta (se repetirá este trabajo cuando se haya evaluado la población regional por completo). Por otro lado, respecto al número de raíces laterales en condiciones de sequía, se encontró un pico muy próximo al umbral de significancia en el cromosoma 1 (Figura6 C). En esta región en la que se acumula un gran número de SNPs, se encuentran 17 genes. Recuperamos cuatro genes que, en

base a la literatura, pueden estar relacionados con la regulación de la sequía. El gen AT1G76970 codifica un miembro de la familia de proteínas de unión a ubiquitina TOL (TOM1-LIKE) de Arabidopsis. Este gen se encarga de regular la distribución dinámica de auxinas y las respuestas de crecimiento relacionadas. Otro gen interesante es la proteína AtSKP2;2 (AT1G77000), que regula negativamente el desarrollo de las raíces laterales y también participa en la aclimatación al calor de las plantas (Lim et al., 2006). Asimismo, la proteína FLM (AT1G77080) es un gen que regula el tiempo de floración y que contribuye a la floración sensible a la temperatura en Arabidopsis (Lee et al., 2020). No obstante, como se ha mencionado anteriormente, el grupo de investigación va a continuar examinando más accesiones para repetir este trabajo de asociación genómica con la población regional completa de 174 accesiones.

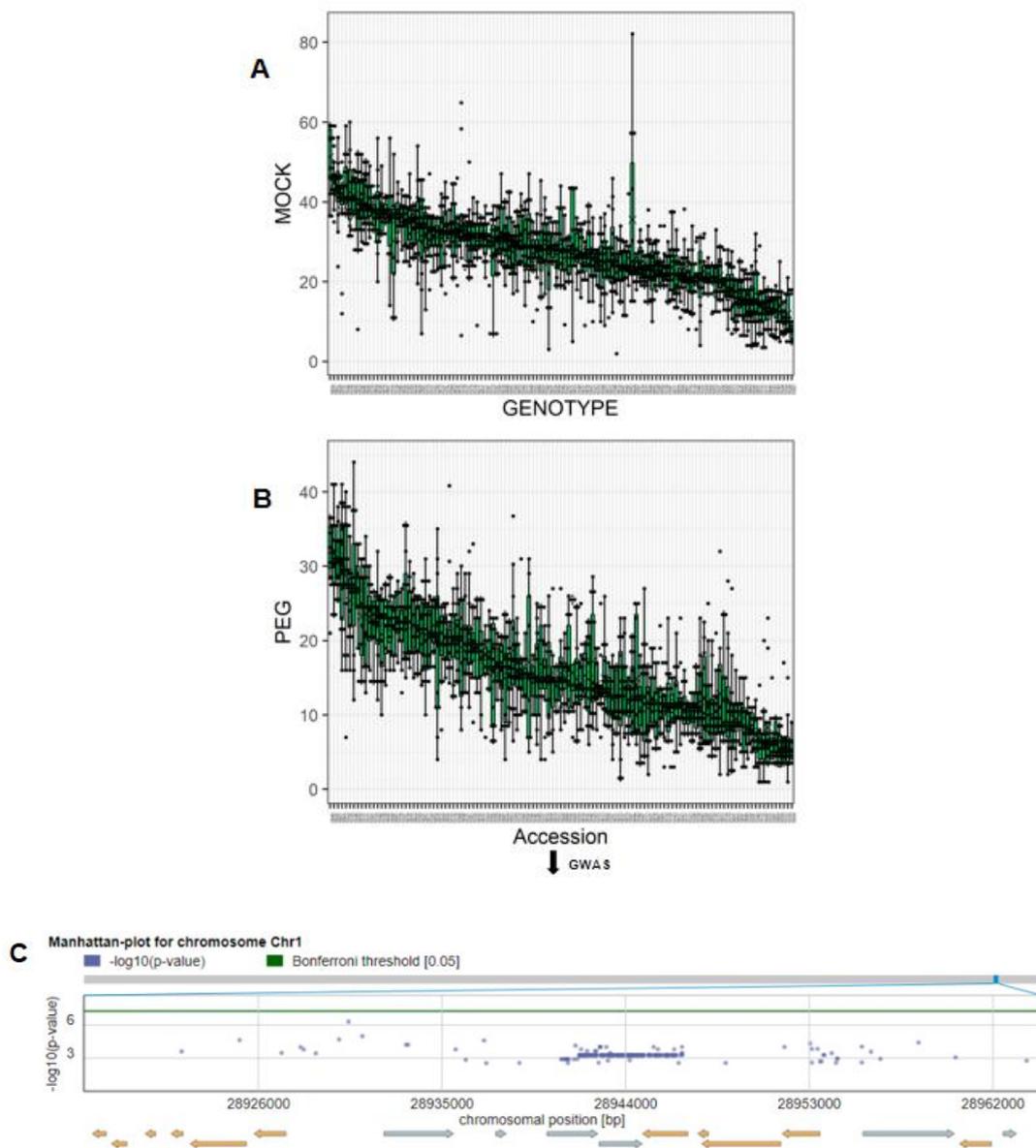


Figura6. Análisis de asociación del genoma (A) Variables fenotípicas de raíces laterales en condiciones normales. (B) Variables fenotípicas en raíces laterales en condiciones de sequía. (C) Posiciones de SNP en regiones del cromosoma 1 identificadas como picos cercanos a una asociación significativa en umbrales significativos por easyGWAS con corrección de Bonferroni (5%).

4.4 Correlaciones de las variables fenotípicas entre condiciones estándar y sequía

La siguiente pregunta que nos planteamos fue si existe una correlación significativa en las distintas variables fenotípicas entre condiciones estándar y sequía y, en caso de ser así, en qué grado. Para saber qué test estadístico debíamos emplear, en primer lugar realizamos el test de Moran, el cual sirve para medir la autocorrelación geográfica. Esto fue necesario porque las variables que muestran autocorrelación geográfica deben tratarse con tests estadísticos que corrijan la influencia de posición geográfica. Los resultados obtenidos muestran que tanto las variables de biomasa como de raíces laterales bajo las diferentes condiciones de crecimiento no presentan autocorrelación geográfica (Tabla 1). Los coeficientes de biomasa MOCK y PEG son: 0,026133 y 0,095895, y p-value son 0,346 y 0,178 respectivamente. Los coeficientes de raíz lateral MOCK y PEG son: -0,016599 y 0,12929, y p-value son 0,513 y 0,117.

| | BIOMASA | | RAÍZ LATERAL | |
|--------------|----------|-----------|--------------|---------|
| | MOCK | PEG | MOCK | PEG |
| Coefficiente | 0,026133 | -0,016599 | 0,095895 | 0,12929 |
| p-value | 0,346 | 0,513 | 0,178 | 0,117 |

Tabla 1. Prueba del índice de Moran para medir la autocorrelación geográfica. Los coeficientes y p-value de biomasa y raíces laterales en condiciones normales y de sequía.

Asimismo, podemos ver este mismo resultado en mapas geográficos en los que se puede observar el rango de los fenotipos de biomasa fresca y raíces laterales en la Península Ibérica en condiciones normales (Figura 7 A,C) y en condiciones de sequía (Figura 7 B,D). Así, como podemos ver en estos mapas, no parece haber ningún patrón geográfico en la distribución de los fenotipos analizados.

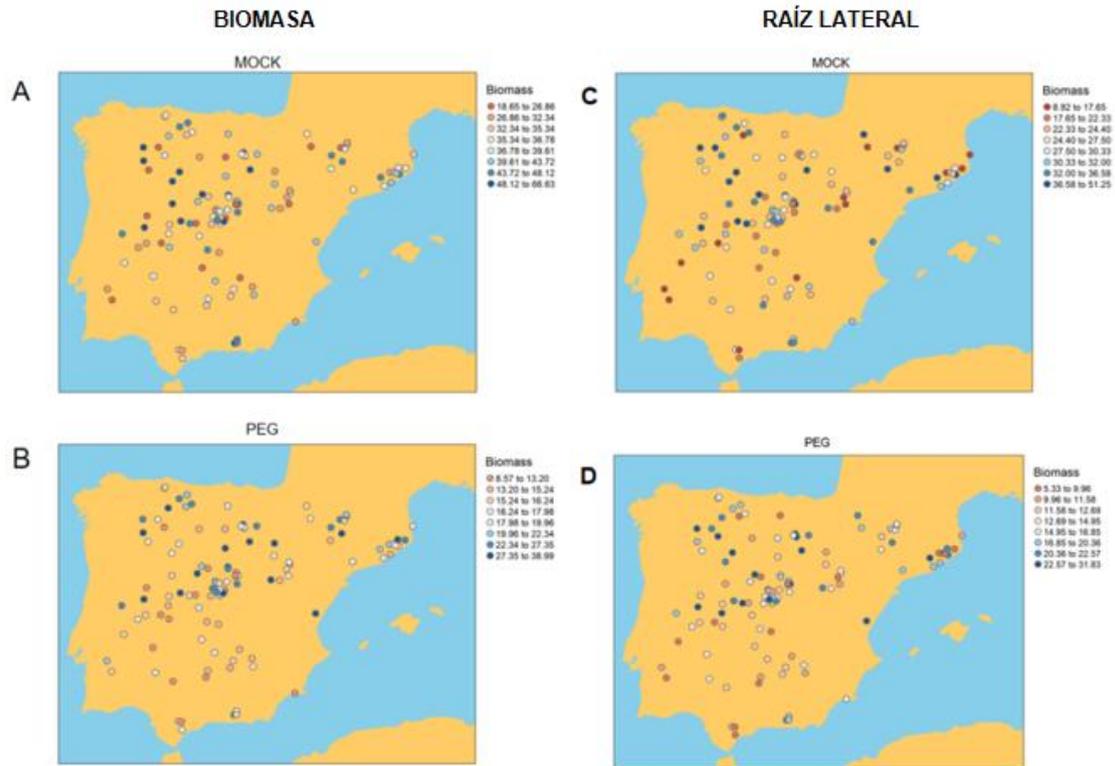


Figura 7. Mapa de distribución fenotípica de 118 accesiones de la Península Ibérica. (A) Distribución del fenotipo de la biomasa en condiciones normales. (B) Distribución de fenotipos de biomasa en condiciones de sequía. (C) Distribución de fenotipos de raíces laterales en condiciones normales. (D) Distribución de fenotipos de raíces laterales en condiciones de sequía.

Después de descartar que estas variables fenotípicas presentaran autocorrelación geográfica, procedimos a realizar correlación de Pearson entre condiciones estándar y sequía, con el fin de medir la relación lineal entre las dos variables, para cada fenotipo examinado.

En primer lugar, respecto al número de raíces laterales, obtuvimos una correlación alta entre condiciones normales y sequía (coeficiente 0.7216287 con p-value < 2.2e-16) (Figura 8 A). Respecto a la biomasa fresca, obtuvimos una correlación baja entre ambas condiciones de crecimiento (coeficiente 0.3589532 con p-value = 6.563e-05) (Figura 8 B).

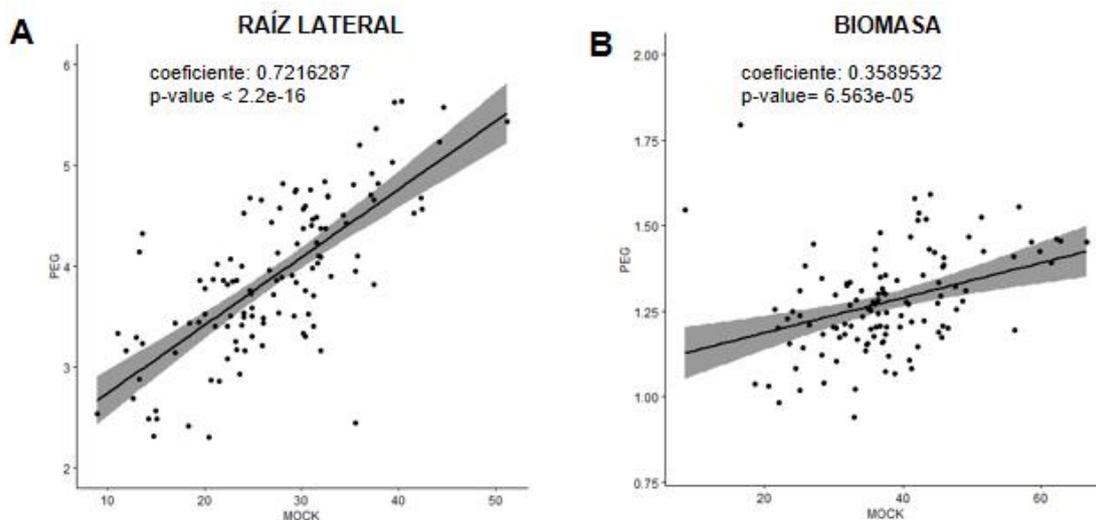


Figura 8. Correlación de Pearson (A) Relación lineal entre dos variables (MOCK vs. PEG) para raíces laterales. (B) Relación lineal entre dos variables de biomasa (MOCK y PEG).

4.5 Correlaciones de variables fenotípicas con el clima

A continuación, nos preguntamos si existe una asociación significativa entre alguna de las variables fenotípicas con el clima. Con este fin, obtuvimos 19 variables climáticas relacionadas con la precipitación y la temperatura de la base de datos Worldclim (<http://worldclim.org>). Estos valores bioclimáticos se han expresado con los nombres BIO1 a BIO19. Las variables bioclimáticas representan tendencias anuales (p. ej., temperatura media anual, precipitación anual), estacionalidad (p. ej., rangos anuales de temperatura y precipitación) y factores ambientales extremos o restrictivos (p. ej., temperaturas de los meses más fríos y cálidos y precipitación húmeda). Los valores obtenidos de estas variables corresponden a las coordenadas en las que se recolectó nuestra población de estudio. La relación entre las variables fenotípicas y climáticas para la biomasa y las raíces laterales en diferentes condiciones de crecimiento se evaluó por separado utilizando modelos autorregresivos espaciales (SAR).

Los coeficientes de correlación de 19 biomasa obtenidos por SAR (Tabla suplementaria 2-5) se pueden observar en el eje Y (figura9). En cuanto a los diferentes colores, estos representan los distintos grados de significancia en la correlación entre el clima y el fenotipo: el gris representa correlaciones no significativas, el amarillo p-value < 0,1, el verde claro p-value < 0,05 y el verde oscuro p-value < 0,01. Aunque en la mayoría de los fenotipos su biomasa bajo las dos diferentes condiciones de crecimiento no se correlacionó con el clima, se observaron algunas correlaciones significativas.

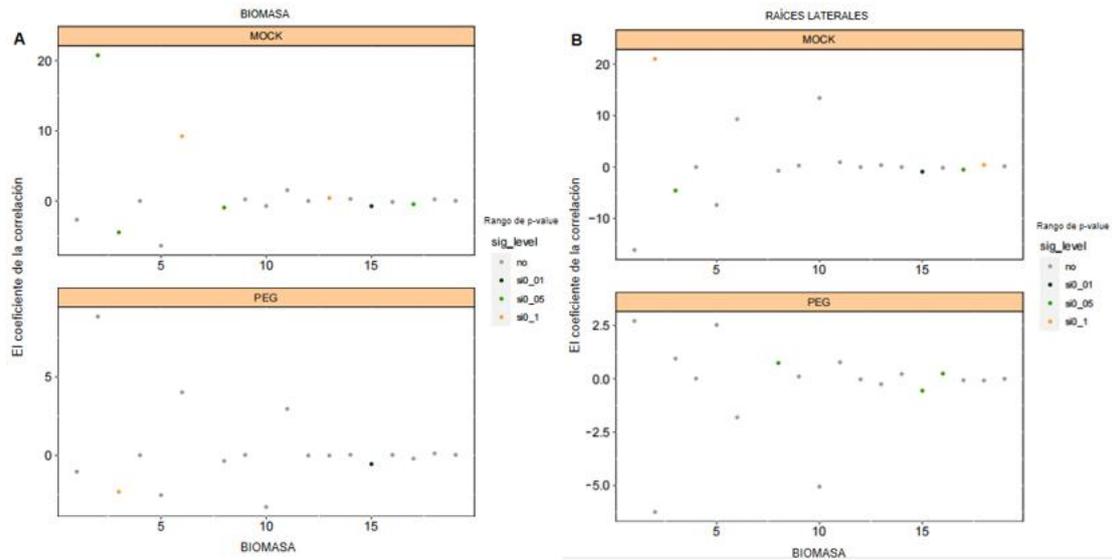


Figura9. Modelos autorregresivos espaciales (SAR) que evalúan la relación entre las variables fenotípicas y climáticas para la biomasa y las raíces laterales por separado en diferentes condiciones de crecimiento. (A) Coeficientes de correlación entre fenotipos de biomasa y variables climáticas (B) Coeficientes de correlación entre fenotipos de raíces laterales y variables climáticas.

4.6 Las respuestas están conservadas en vasculatura

El xilema de las especies leñosas conduce a la formación de madera, lo cual es importante porque la madera acumula el mayor porcentaje de biomasa en la tierra (Agustí & Blázquez, 2020). Además, en condiciones de sequía, el xilema juega un papel muy importante en las plantas, ya que es responsable del transporte y distribución del agua a las diferentes partes de la planta. Quisimos explorar en este trabajo si las respuestas más cambiantes, en comparación a Col-0, observadas en determinadas accesiones se conservan también en el xilema. En otras palabras: establecimos la hipótesis de que existe una correlación entre la capacidad de formación de raíces laterales y de desarrollo de xilema secundario. Para abordar de forma preliminar esta hipótesis, se recolectaron los hipocótilos de algunas de las accesiones evaluadas para la formación de raíces laterales. Dichos hipocótilos se fijaron en etanol al 70 %. Después de incluir estas muestras en resina, se obtuvieron secciones con un ultramicrotomo, las cuales se tiñeron con azul de toluidina. Finalmente, se tomaron fotografías y se cuantificó el área de xilema secundario.

Como se muestra en los histogramas (Figura10), en condiciones normales, solo 9525 y 9586 tenían una diferencia de tamaño obias de Col-0, mientras que la diferencia de la 9586 bajo condiciones de sequía fue todavía más obvias (Figura10 B). En la micrografía de xilema (Figura11,12,13), podemos ver intuitivamente las diferencias entre las distintas accesiones y Col-0.

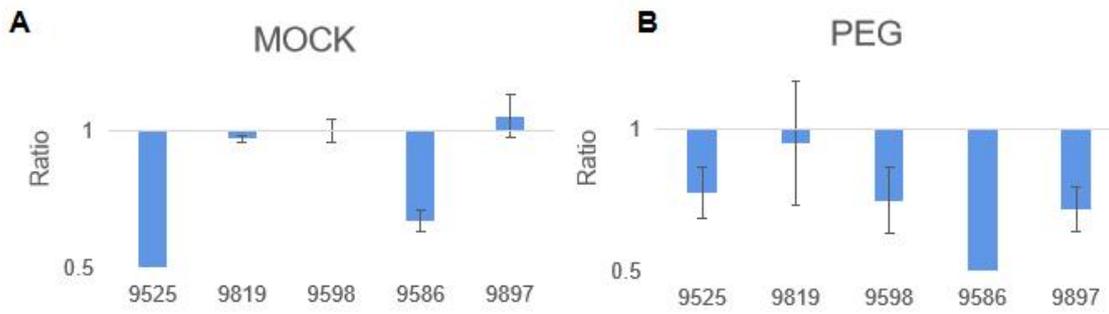


Figura10. Cuantificación del área de xilema secundario en comparación con Col-0
 (A) Condiciones estándar (B) Condiciones de sequía

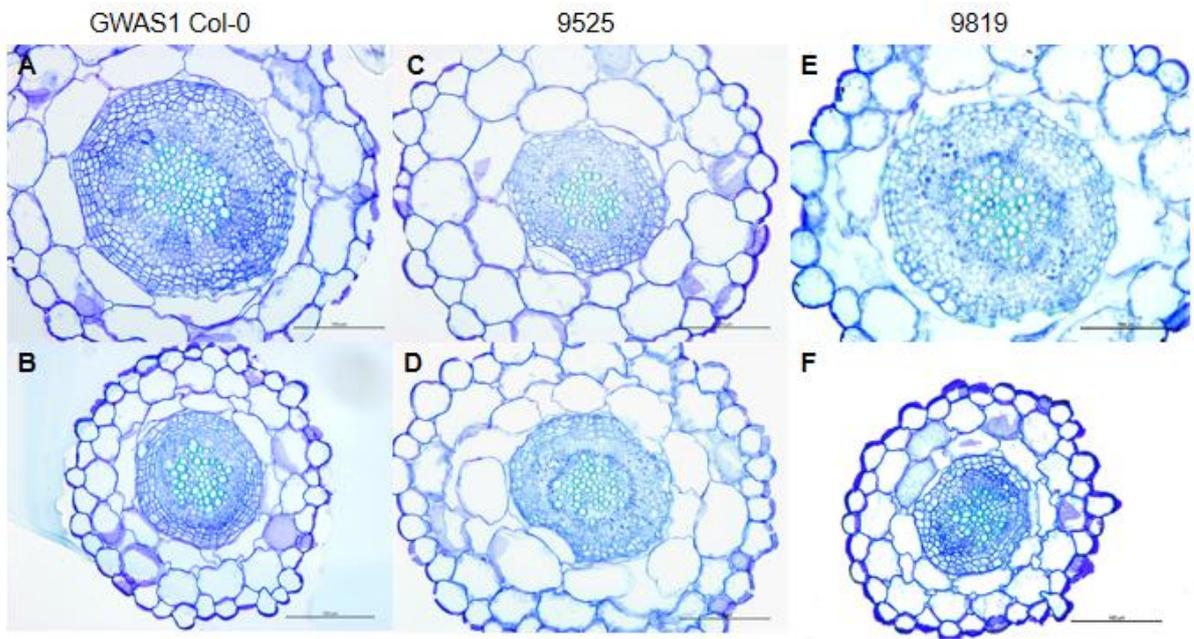


Figura11. Micrografías de xilema en lote GWAS1
 (A) (C) (E) son el xilema de condición estándar de Col-0, 9525, 9819
 (B) (D) (F) son el xilema de sequía de Col-0, 9525, 9819

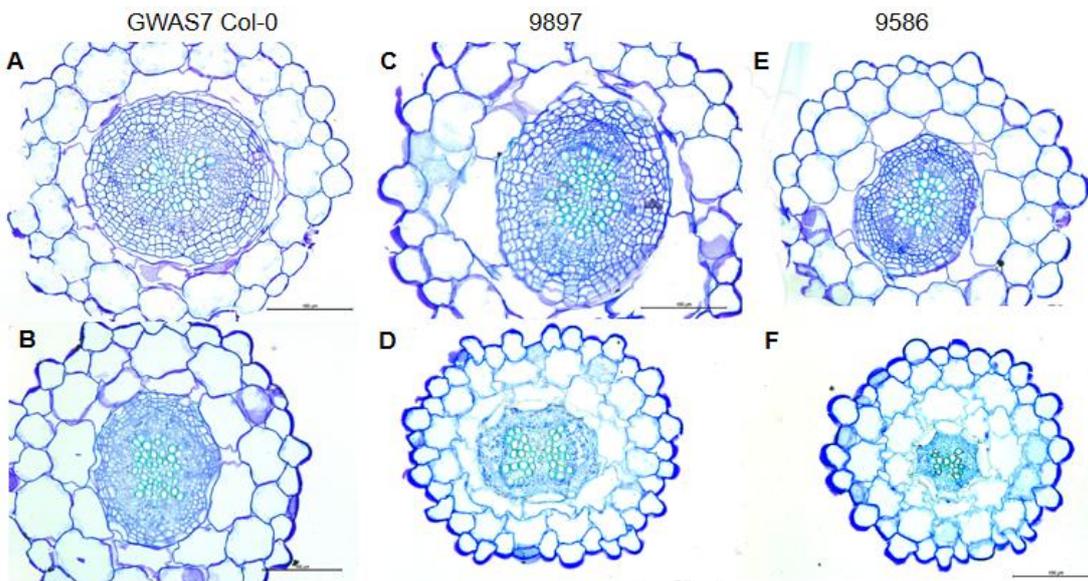


Figura12. Micrografías de xilema en lote GWAS7

(A) (C) (E) son el xilema de condición estándar de Col-0, 9897, 9586
(B) (D) (F) son el xilema de sequía de Col-0, 9897, 9586

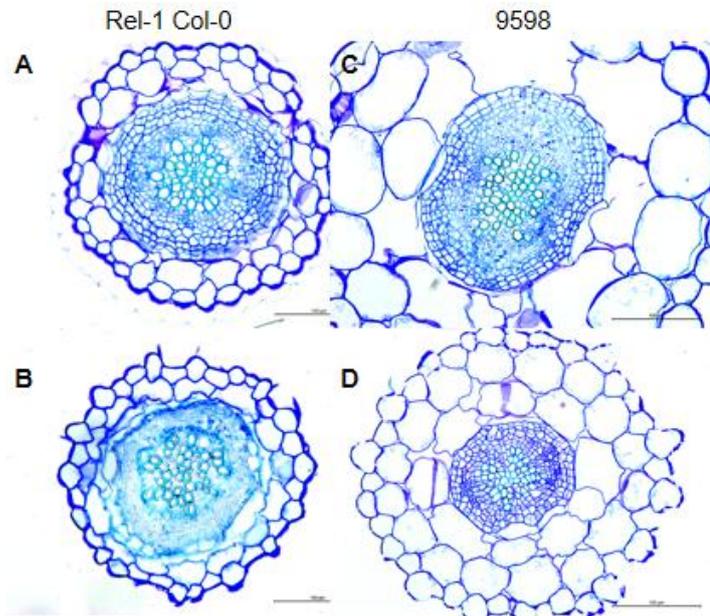


Figura13. Micrografías de xilema en lote Rel-1

(A) (C) son el xilema de condición estándar de Col-0,9598
(B) (D) son el xilema de sequía de Col-0, 9598

DISCUSIÓN

5. Discusión

5.1 Variación natural en dos fenotipos relacionados con el cambio climático

La variación natural puede servir para identificar genes responsables de la regulación de caracteres ecológicamente importantes. Asimismo, proporciona información sobre los procesos de evolución del genoma, la estructura geográfica de la población y los mecanismos de selección que dan forma a la variación de dichos caracteres (Mitchell-Olds & Schmitt, 2006). En nuestro estudio de 118 accesiones procedentes de la Península Ibérica, se observó una considerable variación natural, tanto en condiciones normales como en respuesta al tratamiento de sequía, en las diferentes variables fenotípicas analizadas (biomasa aérea fresca y número de raíces laterales). Es sabido que los genes con variación nucleotídica natural pueden estar involucrados en la adaptación local de *Arabidopsis* al clima (Lasky et al., 2014). Así, la gran variabilidad detectada en el comportamiento entre las diferentes accesiones puede estar relacionada con el perfil climático de las distintas regiones de la Península Ibérica (Lasky et al., 2012). En cuanto a nuestros resultados, mientras que en muchas accesiones la tasa de reducción de crecimiento o en el número de raíces laterales es proporcional respecto a su propio fenotipo en condiciones normales, otras presentan una disminución alterada en respuesta al tratamiento en comparación a la mayoría, ya sea por una reducción considerablemente mayor o menor. La variación genética existente en la población es probablemente la responsable de conferir una mayor o menor tolerancia a la sequía en las distintas accesiones (Rockman, 2008). A partir de estos escenarios, se puede estudiar con mayor profundidad y detalle el impacto de la variación genética en la población sobre los fenotipos, no solo bajo condiciones predictivas de cambio climático (sequía) sino también bajo condiciones estándar, así como realizar un estudio provisional de asociación genómica con el fin de identificar regiones cromosómicas asociadas a los fenotipos examinados.

5.2 Asociación de variación natural fenotípica con GWAS

Los avances en las tecnologías de genotipado y secuenciación han hecho que los estudios de asociación del genoma completo (GWA) sean un método versátil y eficaz para estudiar la genética de la variación natural y mejorar caracteres relevantes para la agricultura (Atwell et al., 2010). Se ha visto que las principales asociaciones son comunes para la mayoría de las variaciones fenotípicas, probablemente porque esta variación es adaptativa y la variación alélica se mantiene a través de la selección (Huang et al., 2010), aunque las diferencias entre poblaciones también pueden reflejar diferencias ambientales no controladas (Sohail et al., 2019). Los individuos utilizados en los estudios de GWAS a menudo no están relacionados de manera uniforme entre sí, pero sus relaciones están influenciadas por la estratificación de la población y las correlaciones implícitas, denominadas colectivamente aquí como estructura de la población (McCarthy et al., 2008). La estructura de la población conduce al desequilibrio de ligamiento (LD) entre regiones físicamente no relacionadas, lo que resulta en correlaciones entre marcadores en estas regiones (Klasen et al., 2016).

Además de la estructura de la población, la herencia poligénica de rasgos complejos complica aún más la asociación de marcadores individuales con fenotipos, ya que la verdadera asociación de variantes causales y fenotipos puede quedar enmascarada por el trasfondo genético que resume los efectos de todos los demás loci en el genoma (Vilhjálmsón & Nordborg, 2013) . La genotipificación de los SNPs identificados utilizando grandes poblaciones regionales nos permitió identificar genes candidatos con valor adaptativo (Horton et al., 2012). Entre las diferentes variables fenotípicas de biomasa y raíces laterales, hemos identificado genes con valor adaptativo, la mayoría de los cuales están relacionados con la regulación del crecimiento de las raíces de las plantas.

Asimismo, este estudio se va a continuar primero completando el fenotipado de la población para luego repetir el estudio de GWAS. Los genes candidatos que se obtengan se examinarán en detalle estudiando su perfil de expresión y analizando mutantes con pérdida de función entre otros experimentos.

5.3 Correlación de variables fenotípicas

La variabilidad en la biomasa y la respuesta a la sequía que se encuentra en las accesiones naturales de *Arabidopsis thaliana* es una herramienta útil para comprender las relaciones entre el agua y las plantas. Varios estudios han explorado cambios en los parámetros fisiológicos de esta especie, lo que puede jugar un papel en su adaptación a ambientes secos (Schmalenbach et al., 2014). Sin embargo, pocos genes están asociados con rasgos relacionados con la sequía y, por lo tanto, pueden estar involucrados en la adaptación ambiental. Es sabido que parte del sistema de defensa a estrés en *Arabidopsis thaliana* pasa por frenar el crecimiento de la planta. De hecho, se han reportado en varias ocasiones que determinados genotipos que muestran una mayor tolerancia a distintos factores de estrés también presentan un crecimiento reducido en condiciones normales (Wang et al., 2020) . Por esta razón, nos preguntamos si existe, para cada fenotipo analizado, una correlación significativa entre las condiciones estándar y de sequía.

En nuestros resultados, obtuvimos una correlación baja en el caso de la biomasa aérea. Aunque se repetirán estos análisis cuando se disponga del fenotipo para la población completa, quizá este resultado esté indicando distintos escenarios. Una opción plausible es que la reducción de crecimiento bajo condiciones de sequía sea una respuesta muy específica tras el tratamiento que no se esté plasmando en condiciones estándar en aquellas accesiones aparentemente más tolerantes, o viceversa en aquellas aparentemente más sensibles. También podría suceder que frenar el crecimiento no sea la estrategia predominante en la población de estudio.

En cuanto al número de raíces laterales, sí se observó una correlación alta entre ambas condiciones de crecimiento. Stinchcombe y otros señalan que esta correlación es una correlación real con la adaptación natural (Stinchcombe et al., 2004). Este resultado

parece indicar que las respuestas y comportamientos observados en la población son órgano-específicas.

5.4 Relación entre cambio climático y variables fenotípicas

Las plantas anuales están adaptadas a diferentes ambientes climáticos que varían, entre otros, en términos de precipitaciones, temperatura y estacionalidad (Manzano-Piedras et al., 2014). Se espera que en las distintas accesiones su fisiología varíe en función de las condiciones ambientales y ecológicas, que actúan como presiones selectivas, propias de las regiones en que habitan (Pigliucci & Schlichting, 1998) (Montesinos-Navarro et al., 2011) . El análisis de correlación entre la variación genética en los rasgos fenotípicos y los cambios ambientales ha sido durante mucho tiempo un método efectivo para detectar la selección en gradientes ambientales (Rausher, 1992).

En este trabajo utilizamos una colección de la Península Ibérica, una región que ha sido estudiada durante muchos años debido a la gran variación genética y ambiental que hay en ella (Montesinos et al., 2009) (Picó et al., 2008b). Cuando analizamos las posibles correlaciones entre las variables fenotípicas examinadas y distintas variables climáticas, detectamos pocas correlaciones altas. Una razón que explique este resultado puede ser porque la variación fenotípica, aunque muy probablemente sea fruto de la adaptación al clima, no deja de ser un proceso multifactorial. No obstante, resulta interesante que dos de las pocas correlaciones altas significativas tienen en común la misma variable climática, el rango diurno de temperatura media. Estas dos correlaciones con esta misma variable climática se dan tanto con la biomasa aérea como con el número de raíces laterales en condiciones estándar, lo que podría indicar que se trata un factor que ejerce bastante presión selectiva sobre *Arabidopsis thaliana* en nuestra población de estudio.

En el contexto actual del calentamiento global, los métodos geográficamente explícitos, que evalúan la coincidencia entre los organismos y los entornos que habitan, pueden ayudar a evaluar y predecir mejor las consecuencias del calentamiento global a nivel genómico. En el ámbito de la biología vegetal y la agricultura, este conocimiento puede ser útil para preparar nuestros cultivos y especies forestales para futuros escenarios climáticos.

CONCLUSIÓN

6. Conclusión

- I. Existe una gran variación natural tanto en la formación de biomasa aérea como en el desarrollo de raíces laterales en respuesta a la sequía.
- II. Se han identificado algunos genes con valor potencial de adaptación a la sequía.
- III. Las variables fenotípicas de 118 accesiones de la Península Ibérica no siguen autocorrelación espacial.
- IV. Tanto para producción de biomasa aérea como en desarrollo de raíces laterales se observa una fuerte correlación entre condiciones normales y de sequía en la población de accesiones estudiada.
- V. Un pequeño número de accesiones están fuertemente correlacionados con el clima bajo diferentes condiciones de crecimiento.
- VI. La respuesta del desarrollo vascular frente a la sequía muestra paralelismos con la respuesta de formación de biomasa y de desarrollo de raíces en dicha condición ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

1. Agustí, J., & Blázquez, M. A. (2020). Plant vascular development: mechanisms and environmental regulation. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 77, Issue 19, pp. 3711–3728). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.
2. Atwell, S., Huang, Y. S., Vilhjálmsson, B. J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A. M., Hu, T. T., Jiang, R., Mulyati, N. W., Zhang, X., Amer, M. A., Baxter, I., Brachi, B., Chory, J., Dean, C., Debieu, M., Nordborg, M. (2010). Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, 465(7298), 627–631.
3. Deng, C., Wang, T., Wu, J., Xu, W., Li, H., Liu, M., Wu, L., Lu, J., & Bian, P. (2017). Effect of modeled microgravity on radiation-induced adaptive response of root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 796, 20–28.
4. Escamez, S., André, D., Zhang, B., Bollhöner, B., Pesquet, E., & Tuominen, H. (2016). METACASPASE9 modulates autophagy to confine cell death to the target cells during *Arabidopsis* vascular xylem differentiation. *Biology Open*, 5(2), 122–129.
5. Grimm, D. G., Roqueiro, D., Salomé, P. A., Kleeberger, S., Greshake, B., Zhu, W., Liu, C., Lippert, C., Stegle, O., Schölkopf, B., Weigel, D., & Borgwardt, K. M. (2017). easyGWAS: A cloud-based platform for comparing the results of genome-wide association studies. *Plant Cell*, 29(1), 5–19.
6. Horton, M. W., Hancock, A. M., Huang, Y. S., Toomajian, C., Atwell, S., Auton, A., Mulyati, N. W., Platt, A., Sperone, F. G., Vilhjálmsson, B. J., Nordborg, M., Borevitz, J. O., & Bergelson, J. (2012). Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel. *Nature Genetics*, 44(2), 212–216.
7. Huang, X., Wei, X., Sang, T., Zhao, Q., Feng, Q., Zhao, Y., Li, C., Zhu, C., Lu, T., Zhang, Z., Li, M., Fan, D., Guo, Y., Wang, A., Wang, L., Deng, L., Li, W., Lu, Y., Weng, Q., ... Han, B. (2010). Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nature Genetics*, 42(11), 961–967.
8. Klasen, J. R., Barbez, E., Meier, L., Meinshausen, N., Bühlmann, P., Koornneef, M., Busch, W., & Schneeberger, K. (2016). A multi-marker association method for genome-wide association studies without the need for population structure correction. *Nature Communications*, 7.

9. Koch, L. (2016). Plant genomics: 1001 genomes and epigenomes. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 17, Issue 9, p. 503). Nature Publishing Group.
10. Lasky, J. R., des Marais, D. L., Lowry, D. B., Povolotskaya, I., McKay, J. K., Richards, J. H., Keitt, T. H., & Juenger, T. E. (2014). Natural variation in abiotic stress responsive gene expression and local adaptation to climate in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Biology and Evolution*, *31*(9), 2283–2296.
11. Lasky, J. R., des Marais, D. L., McKay, J. K., Richards, J. H., Juenger, T. E., & Keitt, T. H. (2012). Characterizing genomic variation of *Arabidopsis thaliana*: The roles of geography and climate. *Molecular Ecology*, *21*(22), 5512–5529.
12. Lee, C. R., Svardal, H., Farlow, A., Exposito-Alonso, M., Ding, W., Novikova, P., Alonso-Blanco, C., Weigel, D., & Nordborg, M. (2017). On the post-glacial spread of human commensal *Arabidopsis thaliana*. *Nature Communications*, *8*.
13. Lee, K. C., Chung, K. S., Lee, H. T., Park, J. H., Lee, J. H., & Kim, J. K. (2020). Role of *Arabidopsis* Splicing factor SF1 in Temperature-Responsive Alternative Splicing of FLM pre-mRNA. *Frontiers in Plant Science*, *11*.
14. Lim, C. J., Yang, K. A., Hong, J. K., Choi, J. S., Yun, D. J., Hong, J. C., Chung, W. S., Lee, S. Y., Cho, M. J., & Lim, C. O. (2006). Gene expression profiles during heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* suspension-culture cells. *Journal of Plant Research*, *119*(4), 373–383.
15. Manzano-Piedras, E., Marcer, A., Alonso-Blanco, C., & Picó, F. X. (2014). Deciphering the adjustment between environment and life history in annuals: Lessons from a geographically-explicit approach in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, *9*(2).
16. McCarthy, M. I., Abecasis, G. R., Cardon, L. R., Goldstein, D. B., Little, J., Ioannidis, J. P. A., & Hirschhorn, J. N. (2008). Genome-wide association studies for complex traits: Consensus, uncertainty and challenges. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 9, Issue 5, pp. 356–369).
17. Mitchell-Olds, T., & Schmitt, J. (2006). Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. In *Nature* (Vol. 441, Issue 7096, pp. 947–952). Nature Publishing Group.
18. Montesinos, A., Tonsor, S. J., Alonso-Blanco, C., & Picó, F. X. (2009). Demographic and genetic patterns of variation among populations of *Arabidopsis thaliana* from contrasting native environments. *PLoS ONE*, *4*(9).
19. Montesinos-Navarro, A., Wig, J., Xavier Pico, F., & Tonsor, S. J. (2011). *Arabidopsis thaliana* populations show clinal variation in a climatic gradient associated with

altitude. *New Phytologist*, 189(1), 282–294.

20. Mousavi-Derazmahalleh, M., Bayer, P. E., Nevado, B., Hurgobin, B., Filatov, D., Kilian, A., Kamphuis, L. G., Singh, K. B., Berger, J. D., Hane, J. K., Edwards, D., Erskine, W., & Nelson, M. N. (2018). Exploring the genetic and adaptive diversity of a pan-Mediterranean crop wild relative: narrow-leaved lupin. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(4), 887–901.
21. Parsa, S., Ortiz, V., Gómez-Jiménez, M. I., Kramer, M., & Vega, F. E. (2018). Root environment is a key determinant of fungal entomopathogen endophytism following seed treatment in the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Biological Control*, 116, 74–81.
22. Picó, F. X., Méndez-Vigo, B., Martínez-Zapater, J. M., & Alonso-Blanco, C. (2008b). Natural genetic variation of *Arabidopsis thaliana* is geographically structured in the Iberian Peninsula. *Genetics*, 180(2), 1009–1021.
23. Pigliucci, M., & Schlichting, C. D. (1998). Reaction norms of *Arabidopsis*. V. Flowering time controls phenotypic architecture in response to nutrient stress. *Journal of Evolutionary Biology*, 11(3), 285–301.
24. Ragni, L., Nieminen, K., Pacheco-Villalobos, D., Sibout, R., Schwechheimer, C., & Hardtke, C. S. (2011). Mobile gibberellin directly stimulates *Arabidopsis* hypocotyl xylem expansion. *Plant Cell*, 23(4), 1322–1326.
25. Rausher, M. D. (1992). The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, 46(3), 616–626.
26. Rockman, M. v. (2008). Reverse engineering the genotype-phenotype map with natural genetic variation. In *Nature* (Vol. 456, Issue 7223, pp. 738–744). Nature Publishing Group.
27. Schmalenbach, I., Zhang, L., Reymond, M., & Jiménez-Gómez, J. M. (2014). The relationship between flowering time and growth responses to drought in the *Arabidopsis* Landsberg erecta x Antwerp-1 population. *Frontiers in Plant Science*, 5(November), 1–9.
28. Sohail, M., Maier, R. M., Ganna, A., Bloemendal, A., Martin, A. R., Turchin, M. C., Chiang, C. W. K., Hirschhorn, J., Daly, M. J., Patterson, N., Neale, B., Mathieson, I., Reich, D., & Sunyaev, S. R. (2019). Polygenic adaptation on height is overestimated due to uncorrected stratification in genome-wide association studies. *ELife*, 8.
29. Stinchcombe, J. R., Weinig, C., Ungerer, M., Olsen, K. M., Mays, C., Halldorsdottir ¶, S. S., Purugganan, M. D., & Schmitt, J. (2004). *A latitudinal cline in flowering time in*

Arabidopsis thaliana modulated by the flowering time gene *FRIGIDA*.

30. *Supplemental Information 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in Arabidopsis thaliana*. (n.d.).
31. Tabas-Madrid, D., Méndez-Vigo, B., Arteaga, N., Marcer, A., Pascual-Montano, A., Weigel, D., Xavier Picó, F., & Alonso-Blanco, C. (2018). Genome-wide signatures of flowering adaptation to climate temperature: Regional analyses in a highly diverse native range of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environment*, *41*(8), 1806–1820.
32. Vilhjálmsón, B. J., & Nordborg, M. (2013). The nature of confounding in genome-wide association studies. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 14, Issue 1, pp. 1–2). H
33. Wang, Z., Liu, L., Cheng, C., Ren, Z., Xu, S., & Li, X. (2020). GAI functions in the plant response to dehydration stress in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3).
34. Zhao, Y., & Li, X. Bioinformatics Analysis Methods I: An Overview of Genome-Wide Association Analysis. *Acta Bot Chinese Bulletin of Botany*, *2020*(6), 715–732.

ANEXOS

8. Anexos I

| Genome ID | Accession name | Acronym | Admixture Group | Latitude | Longitude |
|-----------|--------------------------|---------|-----------------|----------|-----------|
| 9506 | Alcongosta | Alo0 | admixed | 40.1097 | -7.4761 |
| 9509 | Reguengo | Reg0 | spain | 39.2874 | -7.4018 |
| 9511 | Valverde | Vav0 | spain | 38.5324 | -8.0185 |
| 9512 | Vidigueira | Vid1 | spain | 38.2237 | -7.8453 |
| 9513 | Argamasilla de Calatrava | Adc5 | admixed | 38.7652 | -4.0734 |
| 9514 | Arroba de los Montes | Adm0 | spain | 39.1451 | -4.5442 |
| 9515 | Alcántara | Ala0 | spain | 39.7213 | -6.8918 |
| 9518 | Almedíjar | Alm0 | spain | 39.8836 | -0.3652 |
| 9519 | Anglés | Ang0 | spain | 41.939 | 2.6427 |
| 9520 | Aranda de Duero | Ara4 | spain | 41.7009 | -3.6832 |
| 9521 | Barcelona | Bar1 | spain | 41.433 | 2.1299 |
| 9522 | Benarrabá | Bea0 | spain | 36.5199 | -5.2692 |
| 9523 | Benatae | Ben0 | admixed | 38.3711 | -2.6565 |
| 9524 | Bernués | Ber0 | spain | 42.516 | -0.5618 |
| 9525 | Bisaurri | Bis0 | spain | 42.4888 | 0.5354 |
| 9526 | Cabrera de Mar | Cab3 | spain | 41.5384 | 2.3875 |
| 9527 | Candelario | Cad0 | admixed | 40.365 | -5.7418 |
| 9528 | Calamocha | Cal0 | spain | 40.9411 | -1.3705 |
| 9529 | Capileira | Cap1 | admixed | 36.9676 | -3.3598 |
| 9530 | Cardeña | Car1 | admixed | 38.2513 | -4.3253 |
| 9531 | Ciruelos de Coca | Cdc3 | spain | 41.2135 | -4.5456 |
| 9532 | Castrillejos de la Olma | Cdo0 | spain | 42.231 | -4.638 |
| 9533 | Carbonero el Mayor | Cem0 | relict | 41.1484 | -4.3173 |
| 9534 | Cardiel de los Montes | Cmo3 | spain | 40.0487 | -4.6522 |
| 9535 | Cap de Creus | Coc1 | spain | 42.3105 | 3.1934 |
| 9536 | Molina de Aragón | Cor0 | admixed | 40.8297 | -2.0012 |
| 9539 | Dehesa de Perosín | Deh1 | spain | 40.2881 | -6.6681 |
| 9540 | El Brull | Elb0 | spain | 41.8097 | 2.3393 |
| 9542 | Fuenfría | Fun0 | relict | 40.7872 | -4.0503 |
| 9543 | Grazalema | Gra0 | relict | 36.7678 | -5.3949 |
| 9546 | Hombrados | Hom4 | spain | 40.8168 | -1.686 |
| 9548 | Hoyocasero | Hoy0 | admixed | 40.3948 | -4.9985 |
| 9549 | Humienta | Hum2 | relict | 42.2272 | -3.6889 |
| 9550 | Isoba | Iso4 | relict | 43.0478 | -5.3723 |
| 9551 | Jiménez de Jamuz | Jim1 | admixed | 42.2822 | -5.9186 |
| 9554 | La Solana | Lso0 | relict | 38.8577 | -3.1629 |
| 9555 | Marjaliza | Marj | relict | 39.5813 | -3.9316 |
| 9556 | Menasalbas | Men2 | spain | 39.6577 | -4.3454 |
| 9557 | Montanuy | Moa0 | spain | 42.4623 | 0.6976 |
| 9558 | Molacillos | Moc11 | admixed | 41.5651 | -5.6408 |
| 9559 | Montoro | Mon5 | admixed | 38.0595 | -4.3842 |
| 9560 | Montemolín | Mot0 | spain | 38.1914 | -6.2378 |
| 9562 | Mura | Mur0 | spain | 41.6739 | 1.9991 |
| 9574 | Relumbrar | Rel0 | relict | 38.6022 | -2.7055 |
| 9578 | San Martín de Castañeda | Sac0 | western europe | 42.1267 | -6.6986 |
| 9579 | Santa Elena | San10 | admixed | 38.3314 | -3.5089 |
| 9581 | Santa Olaja de Varga | Sdv3 | admixed | 42.8363 | -5.1229 |
| 9583 | Sierra Nevada | Sne0 | relict | 37.0746 | -3.2625 |
| 9584 | Santo Tomás del Puerto | Stp0 | spain | 41.1922 | -3.5815 |
| 9586 | Tamajón | Tam0 | spain | 41.0273 | -3.2716 |
| 9587 | Torrijo de la Cañada | Tdc0 | spain | 41.4958 | -1.8857 |
| 9588 | Tolva | Tol7 | spain | 42.1092 | 0.5939 |
| 9591 | Valdenoceda | Vad0 | admixed | 42.8583 | -3.5915 |
| 9593 | Valdezcaray | Vaz0 | spain | 42.2604 | -2.9888 |
| 9597 | Viguera | Vig1 | spain | 42.3079 | -2.5313 |
| 9598 | Villarino de Manzanas | Vim0 | relict | 41.8771 | -6.5101 |

| | | | | | |
|------|--------------------------|-------|----------------|---------|---------|
| 9599 | Viñayo | Viñ0 | western europe | 42.7978 | -5.7709 |
| 9600 | Villareal de San Carlos | Vis0 | relict | 39.846 | -6.0455 |
| 9601 | Vozmediano | Voz0 | spain | 41.8444 | -1.8793 |
| 9817 | Acehúche | Ace0 | spain | 39.8384 | -6.5987 |
| 9819 | Amunartia | Amu0 | spain | 42.3528 | -3.0356 |
| 9820 | Arévalo | Are0 | spain | 41.0035 | -4.7125 |
| 9821 | Arbúcies | Aru0 | spain | 41.8125 | 2.493 |
| 9822 | Aulencia | Aul0 | spain | 40.5191 | -4.0192 |
| 9824 | Besande | Bes5 | admixed | 42.9092 | -4.915 |
| 9825 | Boadilla del Monte | Boa0 | spain | 40.3957 | -3.8815 |
| 9826 | Borrenes | Bor0 | western europe | 42.4914 | -6.7076 |
| 9828 | Brazuelo | Bra0 | western europe | 42.4952 | -6.151 |
| 9830 | Busquístar | Bus0 | admixed | 36.9718 | -3.2795 |
| 9831 | Castellar de Santiago | Cas0 | admixed | 38.5341 | -3.3907 |
| 9832 | Cantoblanco | Cat0 | relict | 40.5421 | -3.6869 |
| 9833 | Chapinería | Cha0 | spain | 40.3775 | -4.2127 |
| 9834 | La Chopera de las Rozas | Cho0 | spain | 40.5135 | -3.8981 |
| 9835 | Ciudad Rodrigo | Cir0 | admixed | 40.6083 | -6.5714 |
| 9836 | Codos | Cod0 | spain | 41.2531 | -1.317 |
| 9837 | Constantina | Con0 | relict | 37.9382 | -5.5991 |
| 9838 | Cotanes del Monte | Cot0 | admixed | 41.8265 | -5.3804 |
| 9840 | Daroca | Dar0 | spain | 41.1291 | -1.4322 |
| 9841 | San Lorenzo del Escorial | Ees0 | spain | 40.5883 | -4.1468 |
| 9843 | El Pinar de las Rozas | Elp0 | spain | 40.5265 | -3.9184 |
| 9844 | Escanilla | Esn2 | spain | 42.2697 | 0.1923 |
| 9845 | Ermita Virgen del Soto | Evs0 | spain | 40.4792 | -3.9597 |
| 9846 | Ezcaray | Ezc2 | spain | 42.3049 | -3.0257 |
| 9848 | Garganta de la Olla | Glo1 | spain | 40.1105 | -5.7759 |
| 9850 | Hecho | Hec0 | spain | 42.8552 | -0.6966 |
| 9852 | Madrid-INIA | Ini0 | spain | 40.4542 | -3.7479 |
| 9853 | Las Caldas | Lac0 | western europe | 43.3244 | -5.9157 |
| 9854 | La Frialdad | Laf1 | western europe | 43.3595 | -5.8833 |
| 9855 | Las Matas | Lam0 | spain | 40.5667 | -3.8894 |
| 9856 | Pardillo | Lch0 | spain | 40.5046 | -3.9972 |
| 9864 | Martorell de la Selva | Mat0 | spain | 41.7609 | 2.685 |
| 9866 | Molinos de Duero | Mdd0 | spain | 41.8873 | -2.7878 |
| 9867 | Mierla | Mie1 | spain | 40.9415 | -3.2189 |
| 9869 | Montejaque | Moj0 | relict | 36.7567 | -5.2814 |
| 9870 | Monzón | Moz0 | spain | 41.913 | 0.1711 |
| 9871 | Navacerrada | Nac0 | relict | 40.751 | -3.9939 |
| 9876 | Prades | Pad0 | spain | 41.3367 | 0.9917 |
| 9878 | Pedrezuela | Pee0 | spain | 40.7756 | -3.6221 |
| 9879 | Perín | Per0 | relict | 37.5952 | -1.1216 |
| 9881 | Piedrahita | Pie0 | admixed | 40.4636 | -5.325 |
| 9887 | Puente Nueva | Pun0 | relict | 40.4033 | -4.7757 |
| 9888 | Puebla de Valles | Pva1 | spain | 40.9273 | -3.3064 |
| 9890 | Ribota | Rib1 | admixed | 43.156 | -5.0757 |
| 9891 | Santa Pellaia | Sal0 | spain | 41.9256 | 2.915 |
| 9894 | Senet | Sen0 | admixed | 42.587 | 0.7631 |
| 9895 | Sant Feliu de Buixalleu | Sfb6 | spain | 41.7834 | 2.5688 |
| 9897 | Santa Marta de Tormes | Smt1 | admixed | 40.9506 | -5.6352 |
| 9898 | Somosierra | Som0 | spain | 41.138 | -3.5796 |
| 9901 | Urdanta | Urd1 | spain | 42.273 | -2.9839 |
| 9902 | Usanos | Usa0 | spain | 40.7102 | -3.2461 |
| 9903 | Valgañón | Va0 | spain | 42.3081 | -3.0964 |
| 9904 | Valdesotos | Vas0 | spain | 40.9483 | -3.3122 |
| 9905 | El Ventorrillo | Ven0 | relict | 40.7585 | -4.0141 |
| 9942 | Aguarón | Agu-1 | spain | 41.32 | -1.3413 |
| 9943 | Casas de Miravete | Cdm-0 | spain | 39.7255 | -5.7441 |
| 9946 | Mérida | Mer-6 | spain | 38.9159 | -6.3376 |
| 9947 | La Pedriza | Ped-0 | relict | 40.7385 | -3.8978 |
| 9950 | Vielha | Vie-0 | spain | 42.6266 | 0.7626 |

Tabla suplementaria1: 118 accesiones de la Península Ibérica

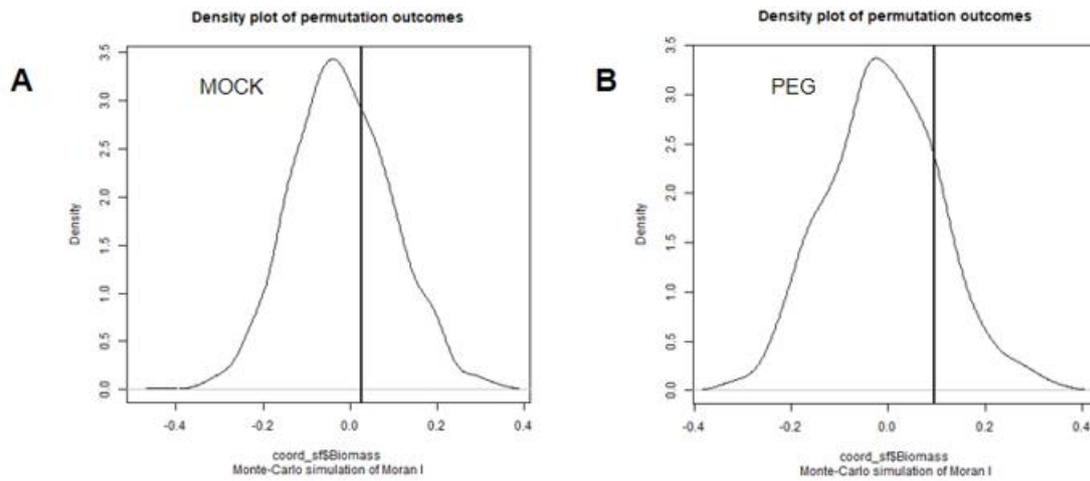


Figura suplementaria1. Gráfico QQPlot (gráfico cuantil-cuantil) para verificar la normalidad
 (A) Gráfico de distribución normal de fenotipos de biomasa en condiciones estándar
 (B) Gráfico de distribución normal de fenotipos de biomasa en condiciones de sequía

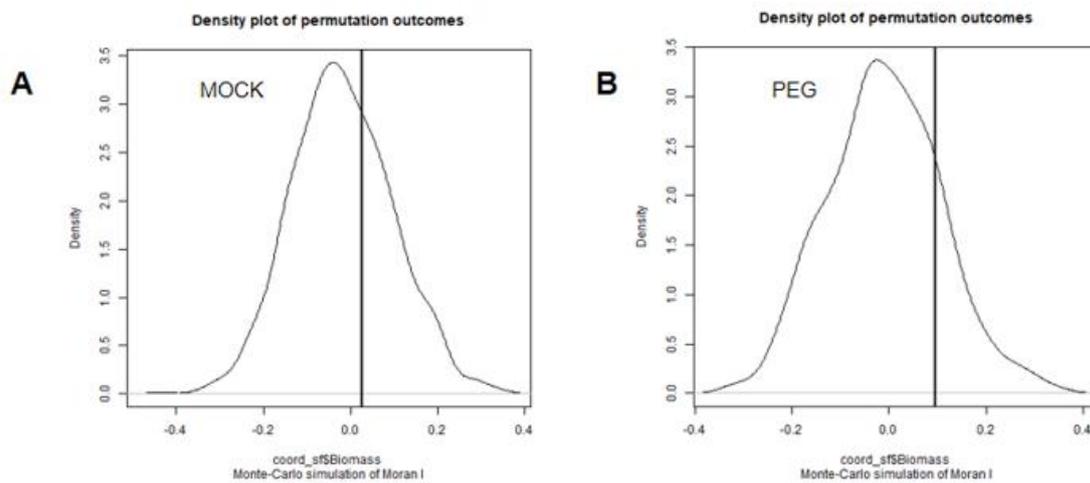


Figura suplementaria2. Gráfico QQPlot (gráfico cuantil-cuantil) para verificar la normalidad
 (A) Gráfico de distribución normal de fenotipos de raíces laterales en condiciones estándar
 (B) Gráfico de distribución normal de fenotipos de raíces laterales en condiciones de sequía

| | Estimate | Std,Error | Z value | Pr(> z) |
|-------------|-----------|-----------|---------|----------|
| (Intercept) | 1.91E+06 | 7.32E+05 | 26,100 | 0,009056 |
| Altitude | -4.63E-01 | 3.30E+01 | -0,0140 | 0,988800 |
| Bio1 | -2.66E+04 | 1.01E+05 | -0,2627 | 0,792816 |
| Bio2 | 2.08E+05 | 8.78E+04 | 23,638 | 0,018087 |
| Bio3 | -4.46E+04 | 1.82E+04 | -24,466 | 0,014420 |
| Bio4 | 4.35E+01 | 2.87E+02 | 0,1514 | 0,879674 |
| Bio5 | -6.37E+04 | 4.58E+04 | -13,908 | 0,164291 |
| Bio6 | 9.23E+04 | 4.81E+04 | 19,207 | 0,054775 |
| Bio7 | NA | NA | NA | NA |
| Bio8 | -9.32E+03 | 3.93E+03 | -23,687 | 0,017852 |
| Bio9 | 2.36E+03 | 2.85E+03 | 0,8288 | 0,407228 |
| Bio10 | -7.11E+03 | 1.47E+05 | -0,0485 | 0,961325 |
| Bio11 | 1.54E+04 | 1.01E+05 | 0,1531 | 0,878317 |
| Bio12 | 6.20E+01 | 6.47E+02 | 0,0958 | 0,923666 |
| Bio13 | 4.30E+03 | 2.38E+03 | 18,081 | 0,070597 |
| Bio14 | 2.96E+03 | 4.86E+03 | 0,6088 | 0,542677 |
| Bio15 | -7.34E+03 | 2.59E+03 | -28,283 | 0,004679 |
| Bio16 | -1.43E+03 | 1.32E+03 | -10,860 | 0,277482 |
| Bio17 | -4.49E+03 | 1.89E+03 | -23,702 | 0,017777 |
| Bio18 | 2.45E+03 | 1.90E+03 | 12,845 | 0,198968 |
| Bio19 | 3.66E+02 | 1.21E+03 | 0,3030 | 0,761905 |

Tabla suplementaria 2. Coeficientes de correlación de 19 variables climáticas relacionadas con la precipitación y la temperatura obtenidos por SAR en condiciones estándar de variables de fenotipo de raíz lateral

| | Estimate | Std,Error | Z value | Pr(> z) |
|-------------|-----------|-----------|---------|----------|
| (Intercept) | 1.19E+06 | 5.54E+05 | 21,568 | 0,031018 |
| Altitude | -4.78E+00 | 2.42E+01 | -0,1971 | 0,843760 |
| Bio1 | -1.04E+04 | 7.75E+04 | -0,1348 | 0,892733 |
| Bio2 | 8.85E+04 | 6.67E+04 | 13,257 | 0,184945 |
| Bio3 | -2.32E+04 | 1.38E+04 | -16,839 | 0,092199 |
| Bio4 | 7.63E+01 | 2.20E+02 | 0,3470 | 0,728621 |
| Bio5 | -2.53E+04 | 3.51E+04 | -0,7221 | 0,470257 |
| Bio6 | 4.02E+04 | 3.69E+04 | 10,899 | 0,275765 |
| Bio7 | NA | NA | NA | NA |
| Bio8 | -3.61E+03 | 3.07E+03 | -11,738 | 0,240492 |
| Bio9 | 2.71E+02 | 2.10E+03 | 0,1296 | 0,896914 |
| Bio10 | -3.29E+04 | 1.11E+05 | -0,2966 | 0,766762 |
| Bio11 | 2.96E+04 | 7.68E+04 | 0,3856 | 0,699800 |
| Bio12 | -9.97E+01 | 5.09E+02 | -0,1959 | 0,844719 |
| Bio13 | -9.00E+01 | 1.84E+03 | -0,0488 | 0,961061 |
| Bio14 | 3.90E+02 | 3.78E+03 | 0,1033 | 0,917748 |
| Bio15 | -5.54E+03 | 2.06E+03 | -26,970 | 0,006998 |
| Bio16 | 3.47E+02 | 1.03E+03 | 0,3355 | 0,737263 |
| Bio17 | -2.06E+03 | 1.41E+03 | -14,617 | 0,143829 |
| Bio18 | 1.25E+03 | 1.43E+03 | 0,8725 | 0,382945 |
| Bio19 | 3.32E+02 | 9.44E+02 | 0,3518 | 0,724962 |

Tabla suplementaria 3. Coeficientes de correlación de las variables fenotípicas de la raíz lateral de 19 variables climáticas relacionadas con la precipitación y la temperatura adquiridas por SAR en condiciones de sequía

| | Estimate | Std,Error | Z value | Pr(> z) |
|-------------|-------------|------------|---------|----------|
| (Intercept) | 224.0473233 | 90.6417004 | 2.4718 | 0.013444 |
| Altitude | -0.0041431 | 0.0040048 | -1.0345 | 0.300886 |
| Bio1 | -16.1279796 | 12.6269642 | -1.2773 | 0.201509 |
| Bio2 | 21.0135915 | 10.8934546 | 1.929 | 0.05373 |
| Bio3 | -4.5758056 | 2.2534669 | -2.0306 | 0.042299 |
| Bio4 | -0.0128469 | 0.0358322 | -0.3585 | 0.719948 |
| Bio5 | -7.3882165 | 5.7213321 | -1.2913 | 0.196584 |
| Bio6 | 9.3114696 | 6.0070642 | 1.5501 | 0.121121 |
| Bio7 | NA | NA | NA | NA |
| Bio8 | -0.7297515 | 0.4978359 | -1.4658 | 0.14269 |
| Bio9 | 0.2780276 | 0.3459629 | 0.8036 | 0.421608 |
| Bio10 | 13.4282724 | 18.1544951 | 0.7397 | 0.459502 |
| Bio11 | 0.9303428 | 12.5288889 | 0.0743 | 0.940807 |
| Bio12 | -0.0128214 | 0.0821258 | -0.1561 | 0.875939 |
| Bio13 | 0.3559652 | 0.2987078 | 1.1917 | 0.233385 |
| Bio14 | -0.0115051 | 0.6121012 | -0.0188 | 0.985004 |
| Bio15 | -0.9150167 | 0.3312168 | -2.7626 | 0.005734 |
| Bio16 | -0.1468434 | 0.1670085 | -0.8793 | 0.379262 |
| Bio17 | -0.5216629 | 0.2316074 | -2.2524 | 0.0243 |
| Bio18 | 0.4047518 | 0.2336595 | 1.7322 | 0.083233 |
| Bio19 | 0.1249793 | 0.1523752 | 0.8202 | 0.412098 |

Tabla suplementaria 4. Coeficientes de correlación de las variables del fenotipo de la biomasa en condiciones estándar para 19 variables climáticas relacionadas con la precipitación y la temperatura obtenidas por SAR

| | Estimate | Std.Error | Z value | Pr(> z) |
|-------------|-------------|-------------|---------|----------|
| (Intercept) | 9.78756091 | 58.86780052 | 0.1663 | 0.86795 |
| Altitude | 0.00086679 | 0.00252566 | 0.3432 | 0.73145 |
| Bio1 | 2.70098216 | 8.29813837 | 0.3255 | 0.74481 |
| Bio2 | -6.24055932 | 7.10400203 | -0.8785 | 0.3797 |
| Bio3 | 0.94496308 | 1.46093744 | 0.6468 | 0.51775 |
| Bio4 | 0.0071995 | 0.02362631 | 0.3047 | 0.76058 |
| Bio5 | 2.51723623 | 3.76990465 | 0.6677 | 0.50431 |
| Bio6 | -1.80604899 | 3.9641728 | -0.4556 | 0.64868 |
| Bio7 | NA | NA | NA | NA |
| Bio8 | 0.73867053 | 0.3345462 | 2.208 | 0.02725 |
| Bio9 | 0.10370811 | 0.21868582 | 0.4742 | 0.63533 |
| Bio10 | -5.05043865 | 11.80148083 | -0.4279 | 0.66869 |
| Bio11 | 0.7744354 | 8.22679709 | 0.0941 | 0.925 |
| Bio12 | -0.03128979 | 0.05569579 | -0.5618 | 0.57425 |
| Bio13 | -0.25900081 | 0.199797 | -1.2963 | 0.19487 |
| Bio14 | 0.21879539 | 0.40968082 | 0.5341 | 0.5933 |
| Bio15 | -0.55931679 | 0.22653228 | -2.469 | 0.01355 |
| Bio16 | 0.23810075 | 0.11302405 | 2.1066 | 0.03515 |
| Bio17 | -0.07154839 | 0.14876597 | -0.4809 | 0.63055 |
| Bio18 | -0.07973835 | 0.15088738 | -0.5285 | 0.59718 |
| Bio19 | -0.00441623 | 0.10255737 | -0.0431 | 0.96565 |

Tabla suplementaria 5. Coeficientes de correlación de las variables fenotípicas de la biomasa de 19 variables climáticas relacionadas con la precipitación y la temperatura obtenidas por SAR en condiciones de sequía

ANEXO II. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030

Anexo al Trabajo de Fin de Grado y Trabajo de Fin de Máster: Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030

Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

| Objetivos de Desarrollo Sostenibles | Alto | Medio | Bajo | No Procede |
|---|-------------|--------------|-------------|-------------------|
| ODS 1. Fin de la pobreza. | | | | X |
| ODS 2. Hambre cero. | | X | | |
| ODS 3. Salud y bienestar. | | | | X |
| ODS 4. Educación de calidad. | | | | X |
| ODS 5. Igualdad de género. | | | | X |
| ODS 6. Agua limpia y saneamiento. | | | | X |
| ODS 7. Energía asequible y no contaminante. | | | | X |
| ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico. | | | | X |
| ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras. | | | | X |
| ODS 10. Reducción de las desigualdades. | | | | X |
| ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles. | | | | X |
| ODS 12. Producción y consumo responsables. | | | X | |
| ODS 13. Acción por el clima. | X | | | |
| ODS 14. Vida submarina. | | | | X |
| ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres. | X | | | |
| ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas. | | | | X |
| ODS 17. Alianzas para lograr objetivos. | | | | X |

Descripción de la alineación del TFG/TFM con los ODS con un grado de relación más alto.

***Utilice tantas páginas como sea necesario.