

Identificación de genes de resistencia a mancha de la hoja y otros caracteres de importancia agronómica en trigo



TESIS DOCTORAL

Ing. Agr. Guillermo Sebastián Gerard

La Plata, Marzo de 2017

Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

Trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Agrarias.

Directora de tesis:

PhD. MSc. Ing. Agr. María Rosa Simón

Jurado de tesis:

Ing. Agr. Marina Noemí Sisterna

Dr. Ing. Agr. Sebastián Stenglein

Dr. Ing. Agr. Fernando Daniel Castaño

Dedicatorias

Quisiera dedicar esta tesis a mi familia, a mis amigos y especialmente a mi compañera de la vida Constanza. Este logro es en gran parte gracias a ustedes.

Agradecimientos

En principio quisiera agradecer a mi directora Dra. María Rosa Simón quien me ha dado la oportunidad de trabajar en una temática de mi interés. Agradezco su constante predisposición, conocimiento y tiempo dedicado durante todos estos años.

A mis colegas becarios de la Cátedra de Cerealicultura, quienes de una u otra forma han hecho aportes a este trabajo y con los que he compartido gran cantidad de momentos, tanto en el laboratorio como en los ensayos de campo.

A todos los integrantes de la cátedra de cereales por su amabilidad cuando llegue a la cátedra y por facilitarme la inserción en un nuevo grupo de trabajo.

Al personal de la estación experimental Julio Hirschhorn por su colaboración en los ensayos de campo.

A los evaluadores del proyecto y tesis doctoral por el significativo aporte que han realizado a fin de mejorar este trabajo, por su dedicación y predisposición.

A la ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) y el CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) por financiar mis estudios.

Producción científica derivada exclusivamente de esta tesis doctoral

Publicaciones

- **Gerard, G.S.**; Kobiljski, B.; Börner, A.; Lohwasser, U.; Simón, M.R. Genetic and molecular architecture of adult plant resistance to leaf rust in winter wheat. *Plant Pathology* ISSN: 1365-3059 (bajo revisión).
- **Gerard, G.S.**; Börner, A.; Lohwasser, U.; Simón, M.R. Genome-wide association mapping of genetic factors controlling *Septoria tritici* blotch resistance and their associations with plant height and heading date in winter wheat. *Euphytica* ISSN: 0014-2336 (bajo revisión).
- **Gerard, G.S.**; Börner, A.; Lohwasser, U.; Simón, M.R. 2016. Genetic architecture of adult plant resistance to leaf rust in winter wheat panel. Newsletter, Kansas Agricultural Experiment Station, Kansas State University, Manhattan. Vol. 62. Disponible en: http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/awn/62/AWN_VOL_62.pdf
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Börner, A.; Simón, M.R. 2015. Genome-wide association mapping for resistance components to *Zymoseptoria tritici* in seedlings and its association with plant height and heading date in bread wheat. Annual Wheat Newsletter, Kansas Agricultural Experiment Station, Kansas State University, Manhattan. Vol. 61. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2097/20424>. Páginas 8-13.
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Börner, A.; Simón, M.R. 2014. Location of resistance to *Mycosphaerella graminicola*, plant height, and heading date through genome-wide association mapping in wheat. Annual Wheat Newsletter, Kansas Agricultural Experiment Station, Kansas State University, Manhattan. Vol. 60. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2097/18262>. Páginas 10-17.
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Simón, M.R.; Lohwasser, U.; Börner, A. 2014. Identificación de resistencia a *Mycosphaerella graminicola* en trigo a través de mapeo por asociación de todo el genoma. Revista Agronómica del Noroeste Argentino, ISSN: 0080-2069 y 2314369X. Disponible en: <http://www.faz.unt.edu.ar/rana/rana34276.pdf>. Páginas 224-226.
- **Gerard, G.S.**; Uranga, J.P.; Simón MR. 2014. Efecto del ciclo de cultivo y variables ambientales sobre la expresión fenotípica de la resistencia a *Mycosphaerella graminicola* en trigo: importancia en la selección de fuentes de resistencia. Revista Agronómica del Noroeste Argentino, ISSN: 0080-2069 y 2314369X. Disponible en: <http://www.faz.unt.edu.ar/rana/rana34277.pdf>. Páginas 227-229.

Congresos

- **Gerard, G.S.**; Fleitas, M.C.; Simón, M.R. 2016. Evaluación fenotípica de la resistencia a *Zymoseptoria tritici* en una población de líneas dobles haploides en trigo. Boletín Estación Experimental Julio Hirschhorn. Actividades de docencia, investigación y extensión. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Periodo 2014-2016. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/53287>, Pág. 59-62.
- Schierenbeck, M.; Uranga, J.P.; Cardelli, M.G.; Pardi, M.; Dietz, J.I.; **Gerard, G.S.**; Börner, A.; Lohwasser, U.; Simón, M.R. Mapeo asociativo para rendimiento y sus componentes en trigo. VIII congreso nacional de trigo, VI simposio de cereales de siembra Otoño-Invernal, II encuentro del MERCOSUR, Pergamino 2016.
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Lohwasser, U.; Börner, A.; Simón, M.R. 2015. Location of resistance to *Zymoseptoria tritici* through genome-wide association mapping in adult stage of wheat. 9th International Wheat Conference 2015, 20 al 25 de Septiembre, Sidney, Australia. Páginas 170-171.
- Simón, M.R. **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Lohwasser, U.; Börner, A.; 2015. Location of resistance components to *Zymoseptoria tritici* in seedlings of winter wheat genotypes. 9th International Wheat Conference 2015, 20 al 25 de Septiembre, Sidney, Australia. Página 145.
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Simón, M.R.; Lohwasser, U.; Börner, A. 2014. Location of loci for resistance to *Mycosphaerella graminicola* through genome-wide association mapping in wheat. Seminario Internacional 1914-2014: Un siglo de mejoramiento de trigo en La Estanzuela; del 27 al 29 de Agosto, Colonia, Uruguay. Página 87.
- **Gerard, G.S.**; Sanabria, A.; Simón, M.R.; Lohwasser, U.; Börner, A. 2014. Identificación de resistencia a *Mycosphaerella graminicola* en trigo a través de mapeo por asociación de todo el genoma. Octava Reunión de Producción Vegetal y Sexta de Producción Animal del NOA, San Miguel de Tucumán, República Argentina; 4, 5 y 6 de Septiembre de 2014. IV Reunión de Biología Vegetal. Año 2009.
- **Gerard G.S.**; Uranga J.P.; Simón MR. 2014. Efecto del ciclo de cultivo y variables ambientales sobre la expresión fenotípica de la resistencia a *Mycosphaerella graminicola* en trigo: importancia

en la selección de fuentes de resistencia. Octava Reunión de Producción Vegetal y Sexta de Producción Animal del NOA, San Miguel de Tucumán, República Argentina; 4, 5 y 6 de Septiembre de 2014.

- **Gerard, G.S.;** Sanabria, A.; Simón, M.R.; Lohwasser, U.; Börner, A. 2014. Location of loci for Resistance to *Mycosphaerella graminicola*, Plant Height and Heading Date through Genome-Wide Association Mapping in Wheat. Eucarpia Cereals Section – I. T. M. I. Joint Conference Wernigerode, Germany, June 29 – July 4, 2014. (disponible en: http://meetings.ipkgatersleben.de/EUCARPIA_ITMI_2014/book_of_abstracts.pdf Página 253).
- **Gerard, G.S.;** Uranga, J.P.; Simón, M.R. 2014. Resistencia a *Mycosphaerella graminicola* en Cultivares Nacionales de Trigo Actuales y Postulación de Genes de Resistencia. Boletín Estación Experimental Julio Hirschhorn (Los Hornos). Actividades de docencia, investigación y extensión. (Facultad de Cs. Agrs. Y Ftles, UNLP), 4ta. Entrega periodo 2012-2014. Disponible en. <http://hdl.handle.net/10915/37091>. Páginas 59-62.
- **Gerard, G.S.;** Sanabria, A.; Simón, M.R. 2014. Estudio de Mapeo por Asociación para Características de Interés Agronómico en Trigo (*Triticum aestivum* L.). Boletín Estación Experimental Julio Hirschhorn (Los Hornos). Actividades de docencia, investigación y extensión. (Facultad de Cs. Agrs. Y Ftles, UNLP), 4ta. Entrega periodo 2012-2014. Disponible en. <http://hdl.handle.net/10915/37091>. Páginas 62-65.
- **Gerard, G.S.;** Uranga, J.P.; Fleitas, M.C.; Simón, M.R. 2013. Resistencia genética y postulación de genes de resistencia a mancha de la hoja en cultivares argentinos de trigo. XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología, 1 al 5 de Octubre de 2013, Lambayeque – Perú. Página 31.
- **Gerard, G.S.;** Uranga, J.P.; Simón, M.R. 2013. Resistencia genética a mancha de la hoja y su asociación con el ciclo a espigazón en cultivares argentinos de trigo. II Workshop Internacional de Ecofisiología Vegetal aplicada al mejoramiento vegetal. 26 y 27 de Agosto de 2013. Mar del Plata, Argentina. (Disponible en: <http://www.ecofisiovegetal.com.ar/pdf/PostersSesionII.pdf>. Página 12).

Contenidos

<i>Jurado de tesis</i>	i
<i>Dedicatorias</i>	ii
<i>Agradecimientos</i>	iii
<i>Trabajos publicados derivados de esta tesis</i>	iv
<i>Contenidos</i>	1
<i>Abreviaturas</i>	2
<i>Resumen</i>	3
<i>Summary</i>	5
Capítulo 1	
Introducción general	7
Diagrama de la tesis	33
Capítulo 2	
Introducción	34
Hipótesis	38
Objetivos	38
Materiales y métodos	39
Resultados	47
Discusión	58
Capítulo 3	
Introducción	65
Hipótesis	68
Objetivos	68
Materiales y métodos	69
Resultados	74
Discusión	88
Capítulo 4	
Introducción	93
Hipótesis	95
Objetivos	95
Materiales y métodos	96
Resultados	109
Discusión	139
Capítulo 5	
Discusión general	148
<i>Referencias bibliográficas</i>	157
Anexo	171

Abreviaturas

QTL	Quantitative Trait Locus
DL	Desequilibrio de Ligamiento
bp	Pares de bases
cM	Centimorgan
DArT	Diversity Arrays Technology
AsMC	Asociaciones Marcador-Carácter
ANAVA	Análisis de Varianza
N	Porcentaje de Necrosis
CP	Cobertura Picnidial
ABCPE	Área Bajo la Curva del Progreso de la
LP	Longitud de Pedúnculo
LE	Longitud de Espiga
PE	Peso de Espiga
PGE	Peso de Grano por Espiga
IE	Índice de Espiga
PMG	Peso de Mil Granos
NGE	Número de Granos por Espiga
FE	Fertilidad de Espiga
EE	Espiguillas por Espiga
EFE	Espiguillas Fértiles por Espiga
EEE	Espiguillas Estériles por Espiga
NGEF	Número de Granos por Espiguilla Fértil
AP	Altura de Planta
AT	Altura del Tallo
AHB	Altura de la Hoja Bandera
DAE	Días a Espigazón
DAA	Días a Antesis
DEA	Intervalo Espigazón-Antesis
P%	Porcentaje de Proteína en Grano
VS	Valor de Sedimentación
RH	Roya de la Hoja
FU	Fusarium
HB	Hoja Bandera
HB-1	Hoja Inmediatamente Inferior a la HB
HB-2	Hoja Inmediatamente Inferior a la HB-1

Resumen

El trigo pan (*Triticum aestivum* L.) es sembrado en una superficie de tierra mayor que la de cualquier otro cultivo, representando la fuente de grano alimenticio más importante de la humanidad. Su rendimiento ha experimentado incrementos sustanciales a través del tiempo, sin embargo, en los últimos años las tasas de ganancia se han visto disminuidas. Adicionalmente, se prevé que la demanda mundial de trigo, a causa del incremento demográfico, aumente a un ritmo más rápido que las ganancias genéticas del cultivo. Lo que, sumado al efecto del cambio climático y las pérdidas ocasionadas por enfermedades y plagas, deja en claro la necesidad de incrementar las tasas de ganancia. A fin de alcanzar este objetivo, el estudio y explotación de la diversidad genética a niveles moleculares y su integración con métodos de mejora convencionales es fundamental. En este contexto, la incorporación de resistencia durable es requerida, ya que no es posible obtener genotipos de alto rendimiento estable sin adecuada resistencia a las principales enfermedades del cultivo. La mancha de la hoja del trigo, causada por el ascomicete *Z. tritici*, es considerada una de las enfermedades de mayor importancia en la mayoría de las regiones productoras de trigo del mundo. Su manejo en gran medida se ha basado en el uso de fungicidas, sin embargo, el aumento de la resistencia o menor sensibilidad frente a los grupos químicos más utilizados, revela la necesidad e importancia de alcanzar adecuados niveles de resistencia genética. Esta medida de manejo presenta una baja relación costo-beneficio, evita la contaminación ambiental, determinando además el éxito de otras estrategias de manejo. Sin embargo, hasta la fecha solo 21 genes de resistencia han sido identificados. Esto sumado a la especificidad que en general presentan los mismos frente a los aislamientos del patógeno, evidencia la necesidad de explorar nuevo germoplasma a fin de identificar nuevos genes. En el **Capítulo 1** se presenta una introducción general a la tesis, en la que se describen las características del cultivo de trigo y el contexto actual. Adicionalmente, se presentan las características de *Z. tritici* y su implicancia sobre las medidas disponibles para su manejo. Finalmente, se describen las metodologías utilizada en la identificación de genes asociados a caracteres de importancia agronómica en trigo. En el **Capítulo 2** se presenta la caracterización fenotípica de un panel compuesto por 21 líneas diferenciales y 11 cultivares argentinos actuales frente a 10 aislamientos de *Z. tritici*. En este estudio se identificaron genotipos con ambos tipos de resistencia frente a los aislamientos utilizados. La interacción entre líneas diferenciales portadoras de genes *Stb* y los

aislamientos utilizados permitió postular la presencia de algunos de dichos genes en cultivares argentinos. Adicionalmente, se pudo demostrar la efectividad y espectro de la resistencia de algunos genes *Stb* frente a variantes locales del patógeno, por lo que podrían utilizarse en programas locales de mejoramiento. Finalmente, el análisis permitió identificar nuevas y promisorias fuentes de resistencia en cultivares argentinos y los posibles aislamientos a utilizar en futuros estudios de mapeo. El **Capítulo 3** describe el análisis fenotípico de la resistencia a *Z. tritici* en una población doble haploide originada a partir dos cultivares argentinos con comportamiento contrastante a la enfermedad. Ambos análisis, en plántula y estado adulto, mostraron una herencia compleja de la resistencia y la utilización de 3 aislamientos genéticamente diversos permitió demostrar la presencia de múltiples factores genéticos en el parental resistente. La presencia de líneas exhibiendo resistencia frente a todos los aislamientos indicó en principio la presencia de factores genéticos con efectos aditivos y el potencial de la estrategia de piramización de QTL en el mejoramiento. Finalmente, se identificó una relación genética entre severidad y ciclo de cultivo, pero la misma fue atribuida a unas pocas líneas. El **Capítulo 4** incluye un estudio de mapeo asociativo de todo el genoma sobre 96 genotipos de trigo. En la población de mapeo se evaluaron 23 caracteres de importancia agronómica a través de tres ambientes y por medio del análisis de desequilibrio de ligamiento se logró identificar un total de 213 marcadores DArT asociados a los mismo, en al menos dos de los tres ambientes. Varias regiones genéticas identificadas se correspondieron con genes o QTL previamente reportados, mientras que muchas otras parecen ser nuevas y por lo tanto recursos adicionales posibles de utilizar en programas de mejora posterior a su confirmación. En las enfermedades fúngicas evaluadas nuevamente se observaron efectos aditivos de los factores genéticos, identificándose diferencias significativas a través de la acumulación de los mismos en un mismo fondo genético. Las funciones biológicas identificadas a través de búsquedas *in silico*, en general presentaron relación con el carácter asociado. La asociación genética reportada entre resistencia a *Z. tritici* y ciclo fue corroborada a nivel genético pero la misma nuevamente solo fue observada en algunos genotipos. Por último, en el **Capítulo 5** se presenta una discusión general de los resultados y a partir de ello posibles futuras investigaciones.

Summary

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is grown on larger area than any other crop, representing the most important food source of humankind. Its yield has increased substantially over time. However, in recent years, the yield improvement rate has been diminished. In addition, global demand for wheat is predicted to increase at a faster rate than the genetic gains of the crop due to the population increase. Thus, together with the effect of climate change and yield losses caused by diseases and pests, makes clear the need of increasing the rate of yield gain. In order to achieve this goal, studying and exploring the genetic variability at molecular levels, and its integration with conventional breeding methods, is fundamental. In this context, the incorporation of durable resistance is required, since it is not possible to obtain stable high yielding genotypes without adequate resistance to the major diseases of the crop. Septoria tritici bloch (STB), caused by the ascomycete *Z. tritici*, is a major disease of wheat in the most wheat growing areas of the world. Management of STB usually relies to a large extent on the use of fungicides. However, increased resistance or reduced sensitivity against the most widely used chemical groups, reveals the need and importance of achieving adequate levels of genetic resistance. This management measure, presents a low cost-benefit ratio, avoids environmental contamination, and also determines the success of other management strategies. To date, however, only 21 resistance genes have been identified, which added to the specificity that the isolates presents, shows the need to explore new germplasm in order to identify new genes. **Chapter 1** is a general introduction to the thesis and covers wheat characteristics and the current context. In addition, the characteristics of *Z. tritici* and its implication on the measures available for its management are presented. In **Chapter 2**, the phenotypic characterization of a panel of 21 differential lines and 11 current argentine cultivars against 10 isolates of *Z. tritici* is presented. In the present study, genotypes with both types of resistance were identified. Interactions between differential lines carrying *Stb* genes and the isolates, enabled to postulate the presence of some of them in Argentine cultivars. Additionally, it was possible to demonstrate the effectiveness and resistance spectrum of some *Stb* genes to local variants of the pathogen, which could be used in local breeding programs. Finally, the analysis also allowed to identify new and promising sources of resistance in Argentine cultivars and possible isolates to be used in future mapping studies. **Chapter 3** describes the phenotypic analysis of resistance to *Z. tritici* in a double haploid population originated from two Argentine

cultivars with contrasting behaviors to the disease. Both analyzes, at seedling and adult plant stages, showed a complex inheritance of resistance, and the use of 3 genetically diverse isolations, allowed to demonstrate the presence of multiple genetic factors in the resistant parent. The presence of lines exhibiting resistance to all isolates, indicated the presence of genetic factors with additive effects and the potential of the QTL pyramiding strategy in breeding. Finally, a genetic relationship between severity and earliness was identified, but only in a few lines. **Chapter 4** includes a genome-wide associative mapping study using 96 wheat genotypes. In the mapping population, 23 traits of agronomic importance through three environments were evaluated and using linkage disequilibrium analysis, a total of 213 DArT markers associated with them were identified in at least two of the three environments. Several genetic regions identified corresponded to previously reported genes or QTLs, while others, appeared to be new, and therefore, additional resources to be used in breeding programs. In the evaluated fungal diseases, additive effects of genetic factors were again observed, demonstrating a significant pyramiding effect. The identified biological functions through *in silico* searches were generally related to the associated character. The genetic association reported between resistance to *Z. tritici* and earliness was corroborated at the genetic level, however this was only observed in some genotypes. Finally, **Chapter 5** presents a general discussion of the results and possible future research.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

El cultivo de trigo

Origen, evolución y genética

El trigo pan (*Triticum aestivum* L.) es una especie perteneciente a la familia de las gramíneas, nativo de Asia occidental (Cornell & Hovelings, 1998). Los trigos primitivos se cultivaban y cosechaban en el denominado Creciente fértil ubicado en el suroeste de Irán, el noreste de Irak, y el sureste de Turquía (Fig. 1); lugar donde todavía se pueden encontrar creciendo trigos de tipo silvestres. La domesticación comenzó hace aproximadamente 10.000 años en el creciente fértil, ayudando a la transición de la humanidad de la caza y la recolección nómada a la agricultura sedentaria. En un comienzo, las primeras formas cultivadas de trigos fueron especies de tipo diploide (genoma AA) (einkorn, *Triticum monococcum*) (Shewry, 2009). Posteriormente y a partir de un cruzamiento natural entre dos especies silvestres, *Triticum urartu* (genoma AA, $2n=2x=14$) y una especie de *Aegilops*, estrechamente relacionada con *Aegilops speltoides* (genoma BB, $2n=2x=14$), resultó en la generación de la forma emmer silvestre, *Triticum dicoccoides* con genoma tetraploide (AABB, $2n=4x=28$) (Daud & Gustafson, 1996). La selección de las formas emmer silvestres por mayores tamaños de espigas, resultó en su subsecuente domesticación (*Triticum dicocum*) y en su evolución al moderno trigo duro (*Triticum turgidum ssp. durum*). Posteriormente, un Segundo cruzamiento natural entre la especie emmer cultivada (genoma tetraploide AABB, $2n=4x=28$) y la especie silvestre *Aegilops tauschii* (genoma DD, $2n=2x=14$) resultó finalmente en la creación del trigo hexaploide *T. aestivum* actual (genoma AABBDD, $2n=6x=42$) (Kihara, 1944; McFadden & Sears, 1946). El conocimiento a priori de la composición del genoma del trigo es esencial, ya que presenta implicancias en el mejoramiento genético del cultivo.

Durante el periodo de domesticación del cultivo, la presión de selección aplicada, consciente o inconscientemente por el hombre se ha traducido en adaptaciones del mismo a las necesidades humanas. Los cambios genéticos responsables de tales adaptaciones se conocen con el nombre de “síndrome de la domesticación” (Hammer, 1984). Un componente principal de este proceso fue la pérdida del quebranto de la espiga, previniendo la dispersión de los granos por el viento y facilitando la cosecha (Dubcovsky & Dvorak, 2007).

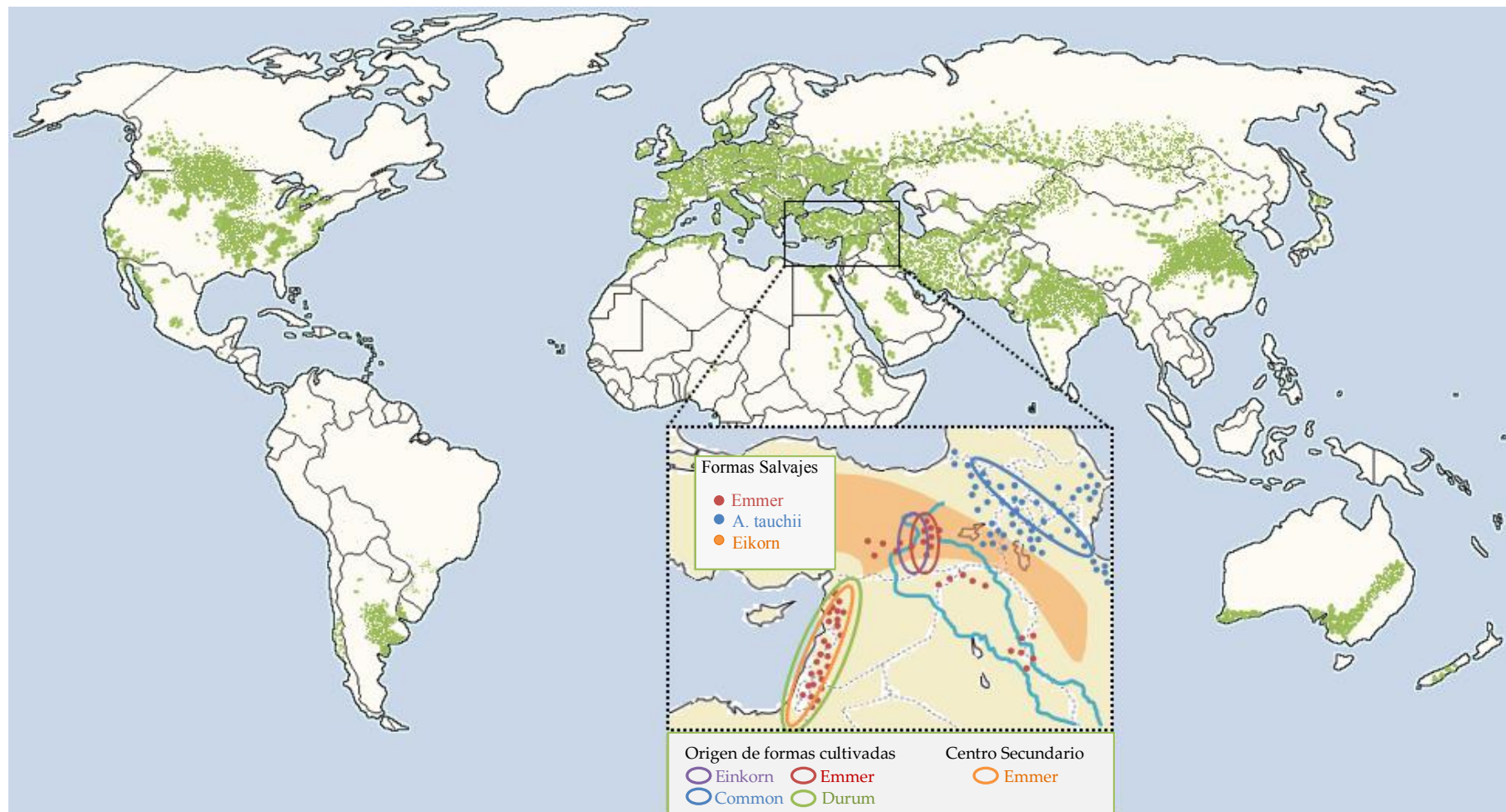


Figura 1. Centro de origen y distribución actual del cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.). Los óvalos indican las zonas de origen de las formas cultivadas. La distribución aproximada de las formas silvestres emmer y *Aegilops Tauschii* se indican con puntos, mientras las formas silvestres Eikorn están representadas por sombreado amarillo (adaptado de Dubcovsky & Dvorak, 2007).

Otro rasgo importante en la domesticación del trigo fue el paso de glumas resistentes a aquéllas que presentan mayor facilidad de trilla. Los determinantes genéticos de este cambio han sido mutaciones recesivas en el loci *Tg* (gluma tenaz), acompañado de la modificación de efectos de la mutación dominante en el locus *Q* y las mutaciones en varios otros loci (Jantasuriyarat *et al.*, 2004). Otros cambios que acompañaron la domesticación fueron el aumento de tamaño de semilla, un número reducido de macollos, crecimiento más erecto y reducida latencia de las semillas entre otros (Uauy *et al.*, 2006).

Desde el punto de vista genético el cultivo de trigo presenta un número haploide de cromosomas de $n=21$. En función de su similitud, los 21 pares de cromosomas homólogos (siete pares en cada genoma) se dividen en siete grupos homeólogos, conteniendo cada uno un par de cromosomas de los genomas A, B, y D, respectivamente (Sears, 1954). En cada grupo los cromosomas homeólogos, que se derivan de un cromosoma ancestral común, todavía comparten un alto grado de sintenia y homología. Sin embargo, difieren uno de otro en secuencias de ADN no codificante y altamente repetitivas (Flavell, 1982), así como también en muchos complejos de genes funcionales (Wicker *et al.*, 2011). A pesar de esta relación genética, los homeólogos no se emparejan entre sí en la meiosis, como consecuencia del control genético regulado por el gen *Ph1* localizado en el cromosoma 5B, así como también por las divergencias físicas existentes (Feldman & Levy, 2012). La genética del trigo es más complicada que la de la mayoría de las otras especies de plantas domesticadas. Es una especie con un gran tamaño de genoma, de alrededor de $1,8 \times 10^{10}$ pb, con un contenido promedio de 762 Mpb por cromosoma, lo que lo hace aproximadamente 35 veces y 110 veces mayor que el del arroz (*Oryza sativa* L.) y *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* L.), respectivamente (Hussain & Rivandi, 2007). Tres cromosomas del trigo transportan el mismo contenido de ADN del genoma del maíz haploide completo, y la mitad de un cromosoma promedio del trigo es equivalente al genoma del arroz haploide (Gill & Gill, 1994). El gran tamaño de su genoma se debe a extensas regiones de elementos de ADN repetitivos, que representan aproximadamente el 90 % del mismo (Wanjugi *et al.*, 2009). Como consecuencia de su poliploidía, el trigo es capaz de tolerar cambios en la estructura y el número de cromosomas. Esto ha llevado al desarrollo de poblaciones de complejos stock citogenéticos (líneas de delección, sustitución) (Endo & Gill, 1996). Estos materiales han sido de gran utilidad en el mapeo físico, en cromosomas específicos, de loci asociados a caracteres de importancia agronómica.

Importancia del cultivo

El trigo pan es uno de los primeros cultivos domesticados por el hombre y a lo largo de la historia ha sido el alimento básico de la mayoría de las civilizaciones. En la actualidad, es sembrado en una superficie de tierra mayor que la de cualquier otro cultivo comercial (ocupa el 15% de la superficie cultivable) y continúa siendo la fuente de grano alimenticio más importante de la humanidad (Joshi *et al.*, 2011). En este contexto, el grano de trigo proporciona 28 % del total de materia seca, cerca de 55 % de los carbohidratos y 20 % de las proteínas que se consumen como alimento en el mundo (Braun *et al.*, 2010; Joshi *et al.*, 2011). La contribución media mundial de trigo a la energía de la dieta humana (2870 kcal/cápita/día) se estima en el 18,25 % (524 kcal/cápita/día), aunque esto varía según regiones y hábitos nutricionales (Fig. 2) (FAO, 2011).

Además de ser una fuente importante de energía y proteína, el trigo también proporciona cantidades sustanciales de numerosos componentes que son beneficiosos para la salud, en particular vitaminas (principalmente B) y fibra dietética. Como consecuencia, el cultivo desempeña un papel crucial en la economía agrícola y en la seguridad alimentaria mundial, proveyendo más alimentos para las personas que cualquier otro cultivo en el mundo, con un impacto significativo en la salud humana (FAOSTAT, 2013). La gran demanda mundial de trigo se basa en la capacidad de hacer productos alimenticios únicos debido a las propiedades específicas de la fracción de proteína de gluten que permite la transformación del trigo en una gran cantidad de productos alimenticios desde pan, otros productos horneados, fideos y pastas, y una gama de ingredientes funcionales (Shewry & Hey, 2015).

Desde el punto de vista agronómico, el cultivo de trigo hace un importante aporte al balance de nutrientes en las rotaciones agrícolas. Al igual que otras gramíneas invernales, el trigo tiene una alta relación carbono-nitrógeno lo que le da a sus rastrojos una mayor resistencia a la descomposición, pero simultáneamente presenta una muy buena respuesta económica a la fertilización (Galarza *et al.*, 2011). Estas dos características hacen que su participación dentro de las rotaciones aporte tanto al balance de carbono como al de nitrógeno. El balance positivo de carbono, sumado a la alta relación C/N, le aporta estabilidad al sistema.

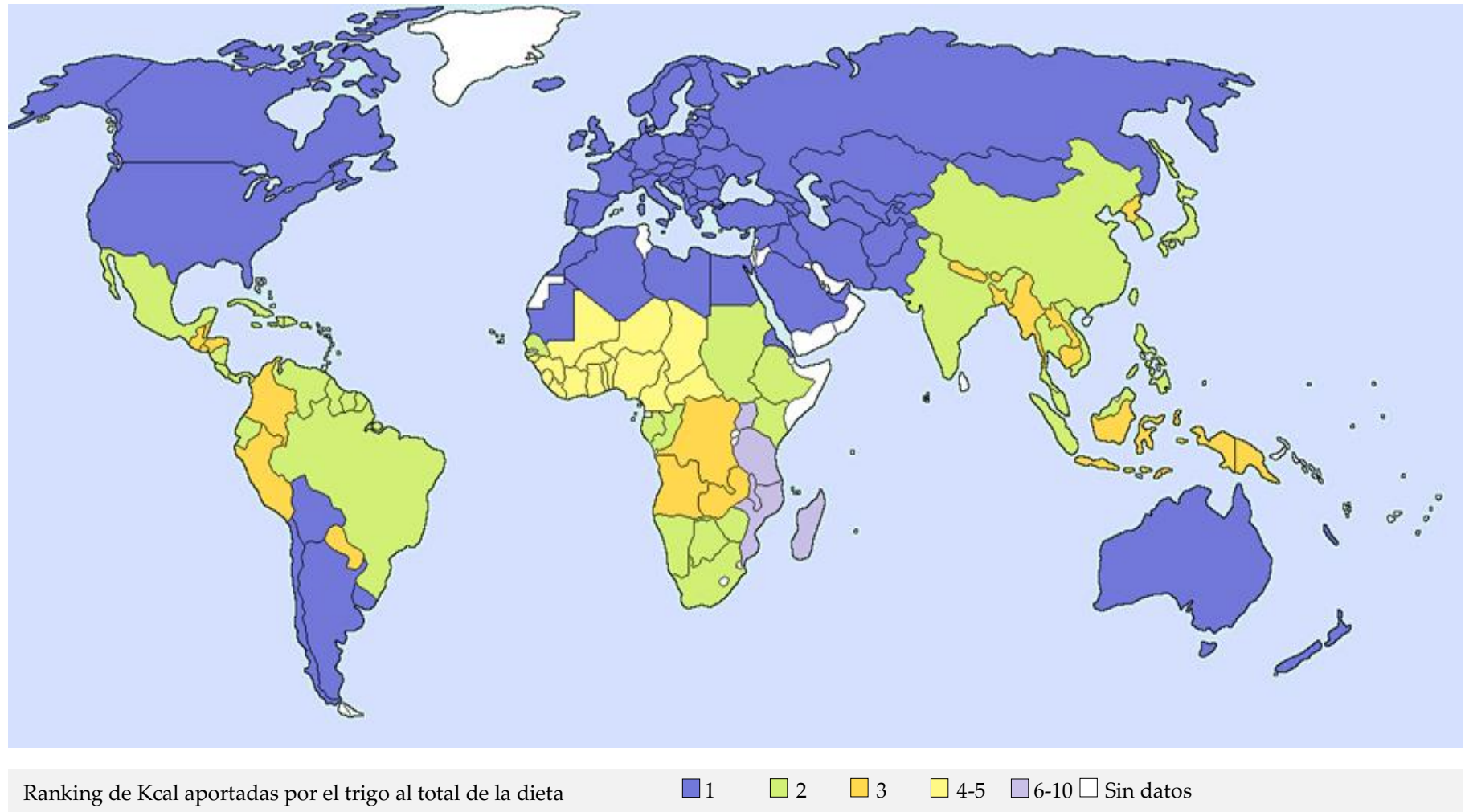


Figura 2. Ranking del trigo como fuente de energía para consumo humano en el mundo (adaptado de FAO, 2011).

Desafíos futuros en la producción

El rendimiento del cultivo se ha incrementado a través del tiempo en correlación con el incremento demográfico mundial. Así, a finales de la década del 60 el uso de variedades semi-enanas de alto rendimiento, mejoradas durante la revolución verde, y las mejores prácticas de cultivo generaron un aumento drástico de la productividad. El rendimiento aumentó a una tasa de 3,6 % anual durante el periodo 1966-1979, reduciendo de manera significativa el hambre y la pobreza en muchas partes de mundo. A partir de ese momento, el crecimiento de la productividad en el trigo ha disminuido de manera constante, cayendo a 2,8 % durante 1984-1994 y a 1,1 % en el periodo 1995-2006 (FAOSTAT, 2010). Como consecuencia, la producción de trigo se incrementó globalmente desde el año 60 a la actualidad en un 320 %, alcanzando 711 millones de toneladas en 2013, sobre una superficie estable de aproximadamente 200 millones de hectáreas, por lo que este progreso ha sido alcanzado por incremento en el rendimiento unitario más que por la expansión de tierra cultivable (FAO, 2013). Tal aumento de los rendimientos durante este periodo estuvo asociado con mejoras genéticas en el potencial de rendimiento, resistencia a enfermedades, la adaptación al estrés abiótico, y los avances en las prácticas agronómicas (Reynolds & Borlaug, 2006). A pesar que resulta dificultoso cuantificar de manera individual los aportes genéticos y agronómicos responsables del aumento de rendimiento, se estima que cerca del 70 % del incremento en los rendimientos se debe específicamente al mejoramiento genético.

Sin embargo, como resultado de menores inversiones en investigación y desarrollo del cultivo en el último periodo, como ya fue mencionado, la tasa de aumento de la productividad de trigo ha ido disminuyendo, existiendo proyecciones lineales realizadas a partir de las tasas actuales, que estarían indicando un crecimiento de solo el 0,8 % para 2050 (Fischer *et al.*, 2009), además de grandes variaciones de rendimiento entre países. Esto sumado a que se prevé que la demanda mundial de trigo aumente a un ritmo más rápido que el de las ganancias genéticas actuales (Miralles & Slafer, 2007), pone de manifiesto la necesidad de aumentar la tasa de mejora del rendimiento. Para el año 2050, se estima que la población mundial alcanzará los 9.000 millones de personas, lo que generará un incremento del 60 % en la demanda de trigo comparado con 2010. Para satisfacer esta demanda, los aumentos globales de rendimiento anuales deben elevarse desde el nivel actual del 1 % por año (2001-2010) al 1,6 % por año (2011-2050) (Wheat Initiative, 2015).

Una posibilidad es incrementar la extensión de tierra cultivable, pero esto representa un problema. Liberar tierra para cultivo significa generar un mayor impacto en el ambiente y acelerar el ritmo del cambio climático. Y esto sin considerar el hecho de que el cambio climático ya producirá impactos dramáticos en la agricultura mundial. Se cree que la producción de trigo en países en desarrollo se verá disminuida entre un 20 y 30 % como consecuencia del aumento de la temperatura (particularmente la temperatura nocturna) generado por el cambio climático (Rosegrand & Agcaoili, 2010). Así, por cada grado Celsius que la temperatura aumenta durante el ciclo de cultivo, la producción de trigo disminuye en un impresionante 6 %. El agua es también un problema: la agricultura consume ya un 85 % de este elemento en los países en desarrollo. En resumen, necesitamos producir más alimentos, en similar extensión de tierra y utilizando menos agua que nunca antes (CIMMYT, 2009).

Por otro lado, hasta un 20 % de la producción mundial de trigo se estima que se pierden cada año debido a enfermedades y plagas. Esto equivale a 140 millones de toneladas (35.000 millones de dólares) de pérdida considerando el total de trigo producido en 2012 (FAOSTAT, 2014). A nivel mundial, los rendimientos de trigo actuales no serían alcanzables sin la aplicación de protectores químicos, en particular, en los países desarrollados. Sin embargo, la preocupación por la salud y el llamado a la reducción en el uso de productos químicos, y su sustitución por cultivos resistentes a enfermedades y plagas, es un prerrequisito para alcanzar una producción amigable con el ambiente y los consumidores (Wheat Initiative, 2015). Como consecuencia, además de aumentos sostenidos en los rendimientos de trigo para satisfacer las demandas futuras, la notable capacidad de los patógenos de mutar, producir nuevas toxinas, y superar la resistencia del huésped, hace al logro de alcanzar resistencia duradera en el cultivo un reto considerable (Fig. 3). El desarrollo de resistencia durable a las enfermedades es la forma más eficaz y ecológicamente racional de manejo de las mismas. La brecha entre el rendimiento potencial y el rendimiento alcanzable debe ser reducida para aumentar la producción mundial de alimentos. La generación de cultivares con mayor resistencia al estrés biótico y abiótico, junto con las prácticas de gestión optimizadas se considera actualmente como la mejor estrategia para alcanzar este objetivo (Fischer & Edmeades, 2010).

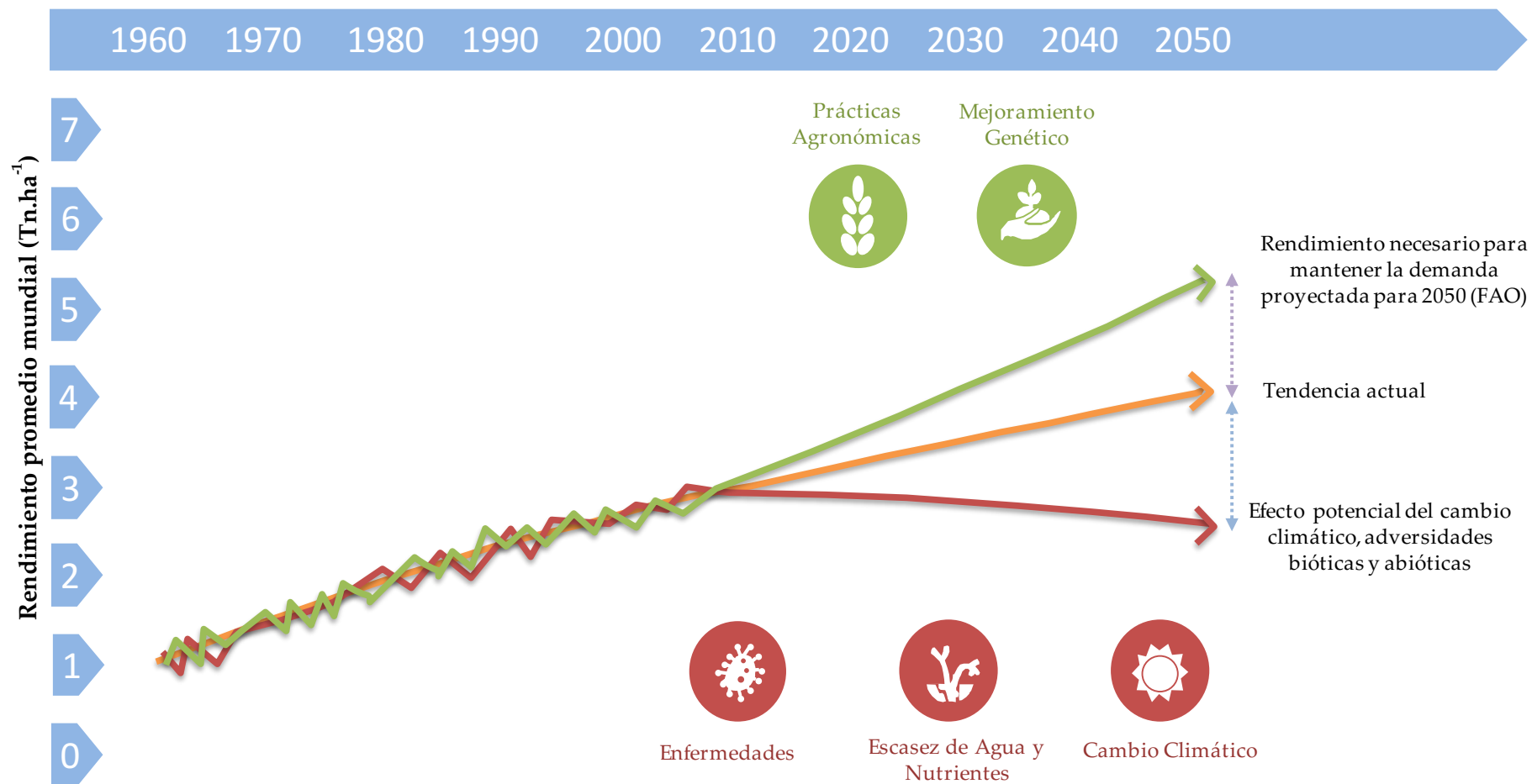


Figura 3. Evolución en el rendimiento del cultivo de trigo: tendencia actual (línea naranja), efecto estimado del cambio climáticos, adversidades bióticas y abióticas (línea bordó), y rendimiento a alcanzar a través del mejoramiento genético y prácticas agronómicas para satisfacer la demanda proyectada para 2050 (línea verde). Flechas punteadas, violeta: representa la necesidad de incremento del potencial de rendimiento, celeste: la necesaria reducción de pérdidas (adaptado de wheat matters, CGIAR, 2014).

Para incrementar el rendimiento potencial como alcanzable, el mejoramiento es una herramienta fundamental junto con la adopción de nuevas tecnologías de cultivo. Así, el futuro de la producción de trigo depende de la creación de nuevas variedades con mejoras en rasgos de importancia, como mejor resistencia al estrés biótico, tolerancia al estrés abiótico, una mejor calidad de uso final, y altos rendimientos estables a través de un amplio rango de ambientes. Incorporar resistencia a los principales patógenos es una prioridad ya que no es posible lograr rendimientos estables sin adecuada resistencia a las principales enfermedades (Rajaram, 1999). En Argentina las enfermedades foliares septoriosis o mancha de la hoja, mancha amarilla y roya de la hoja son consideradas las más limitantes del rendimiento, por frecuencia, nivel epidémico y la escasez de combinaciones genéticas efectivas en cultivares comerciales (Annone & García, 2004).

Mancha de la hoja del trigo

Importancia

La mancha de la hoja del trigo causada por el patógeno endófito *Zymoseptoria tritici* Quaedvlieg & Crous. (Anamorph, *Septoria tritici* Rob. ex Desm.), también conocido como *Mycosphaerella graminícola*, está presente y causa significativas pérdidas de rendimiento y calidad en todas las aéreas trigueras del mundo. Es considerada una de las enfermedades más dañinas del cultivo, generando mayores problemas en regiones caracterizadas por moderada temperatura y altas lluvias durante la estación de crecimiento (Holmes & Cohloun, 1974; Eyal *et al.*, 1987). La intensificación de los sistemas de cultivo, utilizando cultivares susceptibles, falta de rotación y prácticas de labranza mínima, así también como el cambio climático global, han incrementado la incidencia y severidad de la enfermedad (Fraaije *et al.*, 2005, Mergoum *et al.*, 2007). De esta forma, ha sido reportada en forma epidémica en las regiones húmedas de América del Sur, América del Norte, Europa, África, Asia y Australia (Eyal *et al.*, 1987). Como consecuencia, más de 50 millones de hectáreas de trigo se ven afectados en todo el mundo (Gilchrist & Dubin, 2007). Bajo ocurrencia de epidemias se han reportado pérdidas de rendimiento que varían entre 30-40% (Eyal, 1999; Palmer & Skinner 2002), 19 y 33 % (Brownell & Gilchrist, 1979), 31 y 54 % (Eyal *et al.*, 1987), 10 a 45 % (Caldwell & Narvaez, 1960), e incluso más de 60 % (Shipton *et al.*, 1971; King *et al.*, 1983). Particularmente, en Argentina, si bien es una enfermedad conocida desde hace varias décadas, su importancia creció a comienzos de los 70 con la liberación de la primera generación de trigos de

bajo porte y alto potencial de rendimiento, que resultó ser altamente susceptible a su agente causal (Annone & García, 2004).

Posteriormente, los efectos negativos de la enfermedad sobre el rendimiento del cultivo y su calidad industrial se incrementaron, como consecuencia de la adopción del sistema de siembra directa y la falta de rotación de cultivos, lo que favoreció el aumento de la cantidad de inóculo. Actualmente es una enfermedad endémica que se presenta prácticamente todos los años; considerándose la enfermedad más importante en el sudeste de la región triguera, llegando a presentar en el resto del área húmeda/sub-húmeda niveles de importancia similares a la roya de la hoja y fusariosis de la espiga. En nuestro país se han observado disminuciones en el rendimiento de entre 21 y 37 % (Kraan & Nisi, 1993) y de 20 a 50 % (Annone *et al.*, 1991). La influencia de la enfermedad sobre los componentes del rendimiento, depende del estado fenológico en el que ocurre y del índice de infección alcanzado. A su vez, el momento de ataque e índice de infección dependen de la susceptibilidad y características morfo-fisiológicas de los cultivares, composición y virulencia de la población del patógeno, condiciones ambientales y culturales, etc. En general infecciones tempranas reducen el número de espigas por metro cuadrado, mientras infecciones tardías afectan el peso de los granos. Por otro lado, incrementos en la severidad de la enfermedad afectan significativamente parámetros de calidad como por ejemplo el peso hectolítrico y la calidad de molienda reduciendo principalmente el rendimiento harinero, como también la calidad de horneado (Mc Kendry *et al.*, 1995).

Agente causal

Taxonomía

La mancha de la hoja del trigo fue descrita primeramente en Europa por Desmazières (1842) y posteriormente por Sprague (1938). Su agente causal, el patógeno endófito *Zymoseptoria tritici* Quaedvlieg & Crous.(Anamorph, *Septoria tritici* Rob. ex Desm.), fue observado a partir de 1894 pero su conexión con la enfermedad fue descubierta 80 años más tarde por Sanderson en Nueva Zelanda (1976). El patógeno, es un Ascomycota perteneciente a la clase Dothideomycetes, orden Capnodiales y familia Mycosphaerellaceae. En los últimos años se ha determinado que el género *Mycosphaerella* es polifilético y en este contexto *Zymoseptoria* recientemente se propuso como un nuevo género dentro de *Mycosphaerella* (Quaedvlieg *et al.*, 2011).

La historia de *Z. tritici* se remonta a la Creciente Fértil hace aproximadamente 11.000 años. Allí surgió como patógeno del trigo coincidiendo con la domesticación de este cultivo. A partir del estudio de especies silvestres, se descubrió que *Z. tritici* se separó de su especie estrechamente relacionada *Z. pseudotritici* como consecuencia de la domesticación del cultivo de trigo hace aproximadamente 11.000 años (Stukenbrock *et al.*, 2007). Desde ese entonces, *Z. tritici* co-evolucionó con el trigo y se adaptó a la presión de selección aplicada sobre el cultivo por el hombre. Esta larga co-evolución se ha traducido en un patógeno altamente especializado, el cual resulta difícil de controlar. Dos especies relacionadas *Z. pseudotritici* y *Z. ardabiliae* muestran similar biología en términos de infección, ciclo de enfermedad y síntomas, pero a diferencia de *Z. tritici* continúan adaptadas a pastizales naturales e infectan una mezcla de gramíneas silvestres. Este amplio rango de hospedantes reduce la virulencia de estos patógenos ya que tienen que mantener la capacidad de hacer frente a una mayor variedad de mecanismos de defensa de la planta (Muthamilarasan & Prasad, 2013). De esta forma, la evolución de los dos patógenos resulta contrastante con *Z. tritici*, el que está altamente especializado en el trigo y resulta más virulento que sus especies relacionadas (Stukenbrock *et al.*, 2011).

Biología y patogénesis

Z. tritici es considerado un patógeno hemibiotrófico, presentando un periodo inicial en el cual se comporta como biotrófico, matando luego a las células huésped que lo rodean y convirtiéndose en necrotrofico, utilizando tejido muerto (Ponomarenko *et al.*, 2011). A diferencia de muchos patógenos de plantas, una vez que el conidio germina (Fig. 4a), la entrada inicial en el huésped se produce por crecimiento de las hifas a través de los estomas (Fig. 4b); y aunque no genera apresorios claramente definidos, hifas engrosadas, se han descrito una vez alcanzada la cavidad sub-estomática. El hongo requiere un periodo de incubación de 48 h para alcanzar las células del mesófilo. Posteriormente crece dentro de los tejidos del huésped, las hifas proliferan extracelularmente (Fig. 4c), pero no penetran la epidermis de las células, derivando su nutrición desde el apoplasto alrededor de las células vivas sin provocar respuestas de defensa (McDonald *et al.*, 2015), trascurriendo generalmente 10-14 días (máximo de 4 semanas) antes de generar síntomas visibles (Fig. 4d).

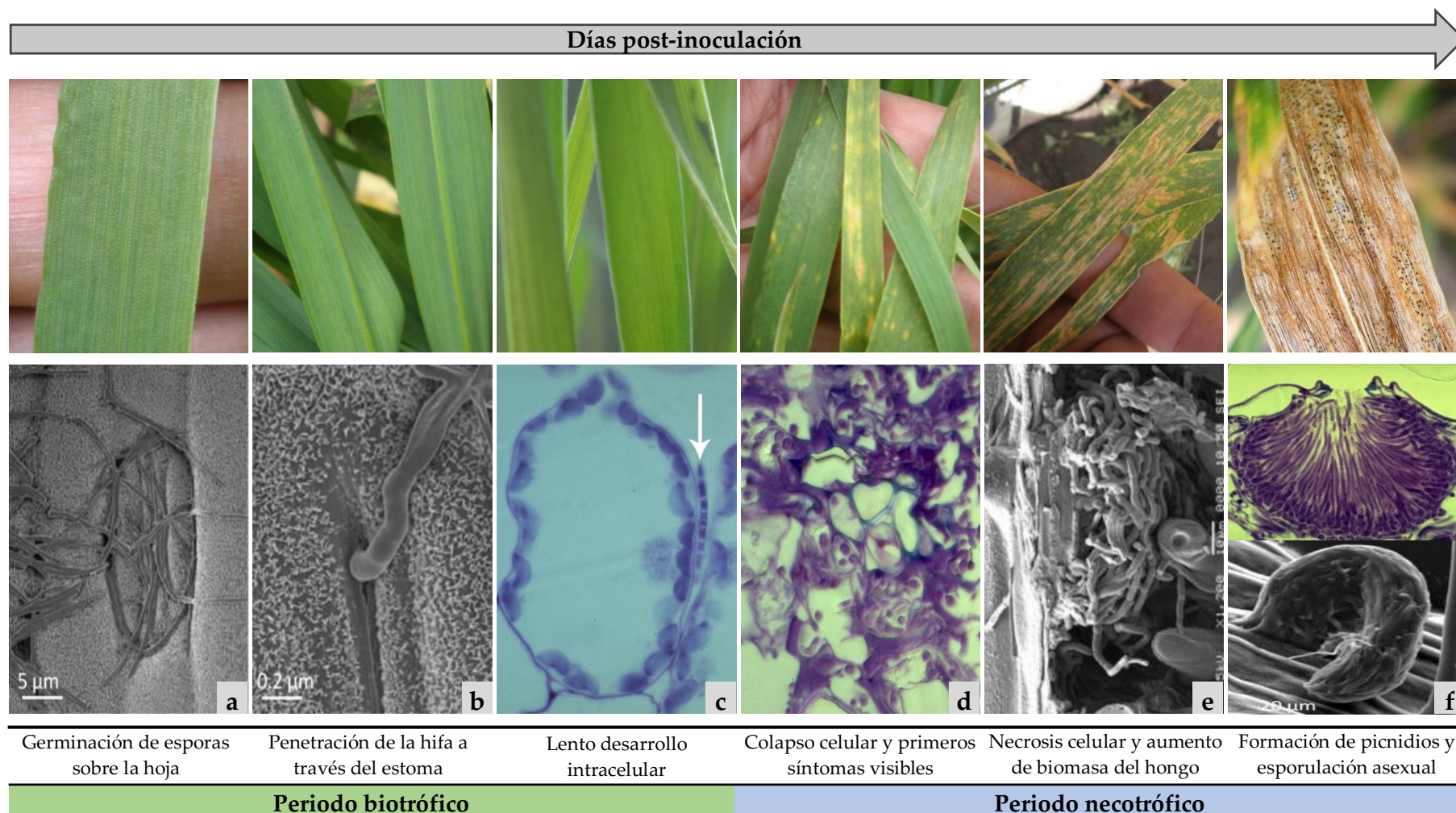


Figura 4. Patogénesis de *Z. tritici*: **a)** germinación del conidio sobre la superficie de la hoja, **b)** penetración de la hifa a través de la cavidad del estoma, **c)** proliferan extracelularmente, **d)** colapso de células y colonización intercelular **e)** proliferación del micelio sobre el tejido necrosado, **f)** formación de picnidios y esporulación asexual (adaptado de Ponomarenko *et al.*, 2011 y Rudd *et al.*, 2015).

Inmediatamente antes de los síntomas, se produce un cambio rápido a necotrófico. Tal cambio de biotrófico al crecimiento necotrófico al final de un largo período de latencia, es una característica inusual compartida por la mayoría de los hongos del género *Mycosphaerella*. Sin embargo, se sabe muy poco acerca del disparador para tal cambio (Keon *et al.*, 2007; Kema *et al.*, 2008). Durante la etapa necrotrofica, las células del huésped colapsan, liberando su contenido y permitiendo una rápida proliferación del patógeno por todo el tejido necrótico (Fig. 4e) y la formación de picnidios con conidios en cavidades sub-estomáticas de tejido senescente (Fig. 4f). Se sospecha de la participación de una toxina en el cambio de crecimiento de biotrófico a necrotrofico, pero aún no ha sido encontrada (Ponomarenko *et al.*, 2011). Una vez alcanzada la madurez de los picnidios y en presencia de humedad se liberan exudados, generando una gran cantidad de conidios, los que si las condiciones son favorables comenzarán un nuevo ciclo.

Ciclo de la enfermedad y epidemiología

El patógeno presenta a campo, tanto reproducción sexual (ascosporas) como multiplicación asexual (picnidiosporas). Pero mientras las ascosporas pueden viajar en el aire a grandes distancias, los conidios es poco probable que lleguen lejos de su lugar de origen, ya que son dispersados por la salpicadura de gotas de lluvia. Así, la infección por *Z. tritici* puede iniciarse mediante ascosporas transportadas por el aire y/o conidios dispersados por las salpicaduras de gotas de lluvia. Este último caso ocurre cuando los mismos están presentes en los residuos de la cosecha de la temporada anterior (Fig. 5). La infección primaria se produce poco después de que las plántulas emergen en el otoño. Periodos prolongados de lluvia (Eyal, 1981), alta humedad relativa durante 72 a 96 h (Hess & Shaner, 1987), y temperaturas medias de aproximadamente 22°C (Fellows, 1963) favorecen la infección. Una vez producido el ingreso a través de los estomas, las hifas crecen en el espacio intercelular durante varios días con poco aumento de su biomasa (periodo de latencia). Tras el cambio al crecimiento necrotrofico (colapso de células), se producen lesiones, inicialmente manchas pequeñas y cloróticas. Luego tales lesiones se expanden, principalmente en la dirección de las nervaduras de las hojas formando manchas necróticas estrechas y largas. En su interior se forman picnidios (estructuras asexuales que permiten la rápida dispersión del inóculo secundario), los que una vez maduros exudan picnidiosporas (conidios secundarios) a través de cirros gelatinosos e higroscópicos.

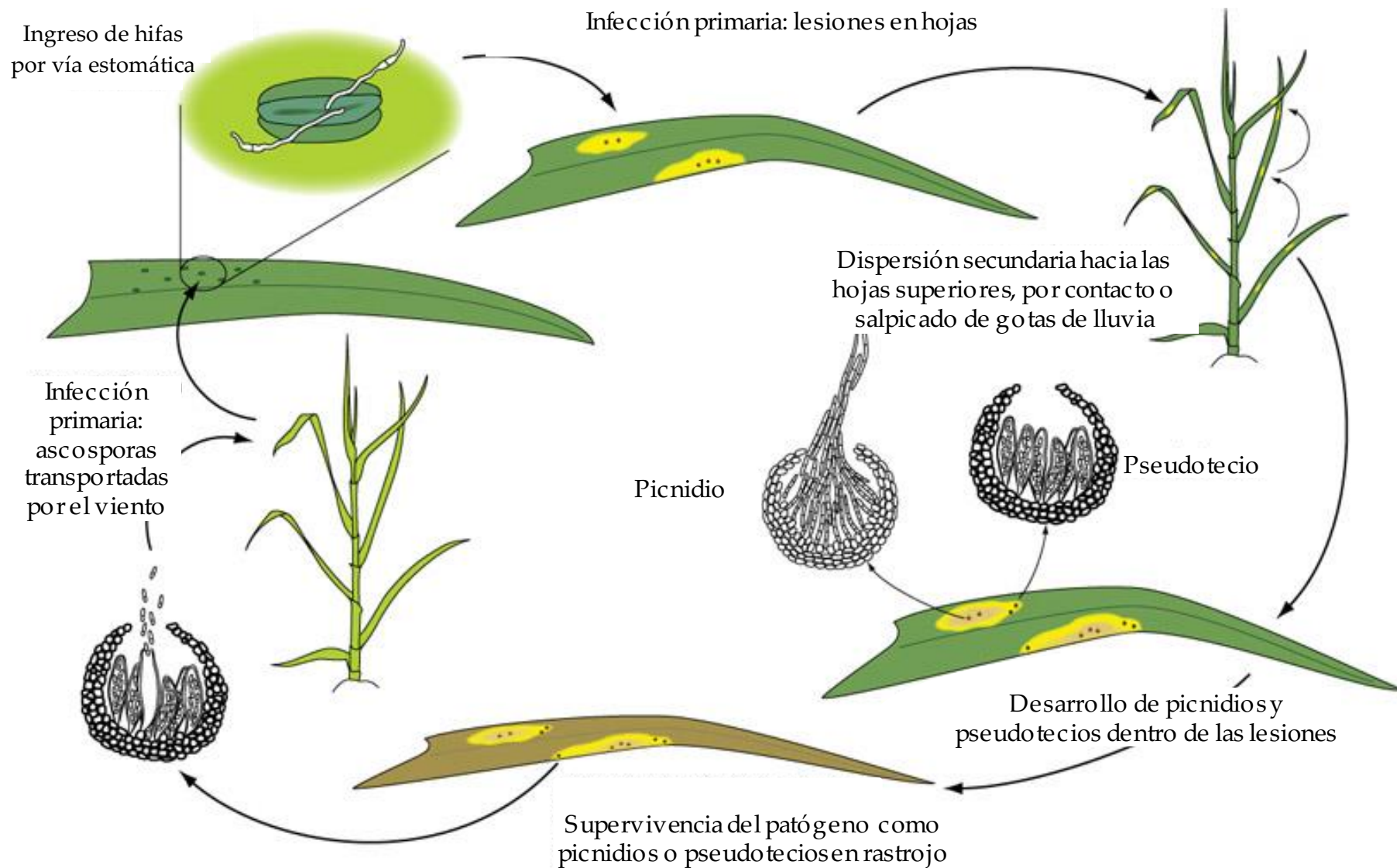


Figura 5. Ciclo de vida de *Z. tritici* (adaptado de Ponomarenko *et al.*, 2011).

Picnidios con conidios se producen más o menos 14 a 40 días después de la infección, en función del huésped y las condiciones estacionales. Las picnidiosporas son diseminadas localmente por salpicaduras de gotas de lluvia hacia las hojas superiores de la planta (lo que se denomina como “efecto escalera”), generando los ciclos de infecciones secundarias sobre el cultivo. Es común que la infección alcance la hoja bandera, lo que lleva a grandes reducciones del rendimiento y la mala calidad de los granos cosechados.

Una vez establecida la enfermedad, la producción y dispersión de los conidios se produce más rápido en comparación con la de los pseudotecios con ascosporas. Así, bajo condiciones predisponentes *Z. tritici* es capaz de completar un ciclo sexual dentro de aproximadamente cinco semanas (Kema *et al.*, 1996). Sin embargo, aunque el ciclo asexual es el dominante en el desarrollo de la epifitía (sobre todo en la primera etapa), se producen varios ciclos de reproducción sexual durante la estación de crecimiento. Dependiendo de las condiciones ambientales, completar un el ciclo sexual puede tomar entre 5 a 7 semanas, resultando en una población compleja y de excesiva variación genética (Kema *et al.*, 1996; Eriksen & Munk, 2003). Una vez finalizado el ciclo del cultivo y en regiones donde las rotaciones agrícolas son prácticas comunes, el telomorfo *Z. tritici* es considerado responsable de la supervivencia de la enfermedad (Shaw & Royle, 1993), mientras que la forma asexual también cumple esta función cuando quedan restos de cultivos.

Características genéticas

Como fue mencionado, el progreso de la enfermedad luego del establecimiento, no se limita solo a la dispersión de conidios asexuales, sino que también incluye procesos cíclicos de producción de ascosporas sexuales. Como resultado de la reproducción sexual frecuente, las poblaciones del patógeno son muy diversas, incluso a escala de campo (El Chartouni *et al.*, 2011). De esta forma, el cultivo de trigo está expuesto a varias generaciones de ascosporas genéticamente diferentes a lo largo de su temporada de crecimiento (Kema *et al.*, 1996). Al respecto, Boeger *et al.* (1993) identificaron diferentes genotipos del patógeno incluso dentro de una misma lesión, mientras que diferentes conidios dentro de un mismo picnidio presentaron genotipos idénticos.

Z. tritici es un hongo haploide con un sistema de apareamiento heterotálico bipolar (Kema *et al.*, 1996). Este sistema es de gran importancia ya que ha sido demostrado que controla la reproducción sexual y con ello la producción de ascosporas en muchos de los ascomicetes (Wirsal *et al.*, 1998). Esto tiene importancia en el manejo de la enfermedad debido a que la diversidad

genética como resultado de la recombinación sexual puede conducir a la mejora de la aptitud biológica del patógeno y así aumentar sus posibilidades de adaptarse rápidamente a los cambios ambientales, superar variedades de trigo resistentes y / o el desarrollo de resistencia a fungicidas (Chen & McDonald, 1996), resultando la principal fuerza impulsora para la aparición regular de epidemias de enfermedades (Shaw & Royle, 1989).

Adicionalmente, el genoma completo de *Z. tritici* ha sido recientemente secuenciado, representando la primera y más completa secuencia finalizada de un hongo filamentoso (Goodwin *et al.*, 2011). El mismo está compuesto por 21 cromosomas con un tamaño total de aproximadamente 39,7 Mpb, del cual alrededor de 17 % se estima que es repetitivo. De esta cantidad, el 70 % presenta una alta cantidad de retro-transposones de clase 1 (retro-elementos que amplifican a través de un ARN intermedio, introduciendo de este modo nuevas mutaciones). Dicho genoma presenta como característica sorprendente, que ocho de sus cromosomas pueden ser prescindibles (son supernumerarios o accesorios) y no generar ningún efecto aparente sobre la viabilidad del patógeno (Wittenberg *et al.*, 2009). El origen de tales cromosomas podría estar dado por transferencia horizontal seguida de una extensa recombinación, un posible mecanismo de patogenicidad sigilosa. La presencia de cromosomas prescindibles, polimorfismos en sus tamaños y elementos móviles, manifiesta la extrema plasticidad genómica que puede ser generada durante la meiosis (Goodwin *et al.*, 2011). Específicamente, la posibilidad de prescindir de hasta ocho cromosomas sugiere, que esto podría facilitar la pérdida de aquellos genes blancos de fungicidas, por lo que el patógeno rápidamente podría desarrollar resistencia a los mismos (Torriani *et al.*, 2009; Cools & Fraaije, 2013), alterar su especificidad frente a la planta huésped (Stukenbrock *et al.*, 2010) o ser capaz de superar la resistencia de un determinado genotipo de trigo (Rudd *et al.*, 2015).

Por otro lado, familias de genes involucrados en la degradación de la pared celular se encuentran ampliamente extendidas en patógenos fúngicos de plantas. Sin embargo, este tipo de genes está marcadamente reducido en *Z. tritici*, así, por ejemplo, el patógeno apenas tiene un tercio de la cantidad de genes encargados de la degradación de la pared celular, comparados con otros patógenos de plantas. El reducido número de este tipo de genes podría ser una adaptación evolutiva del patógeno para evitar la detección por la planta huésped durante su fase biotrófica de latencia prolongada, y de este modo evadir las defensas de la planta el tiempo suficiente para

causar la enfermedad (Goodwin *et al.*, 2011). También genes involucrados en la formación de apresorios, los cuales son requeridos en la patogénesis de muchos patógenos de plantas, se encuentran ausentes o en un número muy reducido en el genoma de *Z. tritici*. Estas dos características diferenciales del patógeno sugieren una estrategia diferente tanto en la penetración como degradación de las células de la planta y una fuente de nutrición alternativa durante la fase biotrófica. Dicha fuente nutricional incluiría la degradación de proteínas disponibles en el apoplasto, o posiblemente, el almidón de los cloroplastos que se liberan al principio del proceso de infección, evadiendo de esta forma las defensas del huésped (Kema *et al.*, 1996).

Manejo de la enfermedad

Para reducir los daños y pérdidas de rendimiento en el cultivo de trigo, el productor cuenta con el manejo integrado de enfermedades (MIE), en el que, mediante un proceso dinámico de decisión, jerarquiza tácticas y estrategias para asegurar la sustentabilidad. Las principales estrategias de control del MIE involucran el uso de cultivares resistentes, empleo de prácticas culturales y aplicación de fungicidas basada en el umbral de daño económico (Carmona, 2001).

Particularmente, en el manejo de *Z. tritici* el control químico es muy utilizado, sobre todo en regiones donde las pérdidas de rendimiento de granos son sustanciales. Así, por ejemplo, en Europa el 70 % de los fungicidas aplicados al cultivo de trigo se destinan a combatir esta enfermedad (Goodwin, 2007). Sin embargo, el uso indiscriminado de fungicidas no representa el método más apropiado de control, debido al alto costo (los gastos globales en fungicidas destinados al manejo de la enfermedad superan los 100 millones de dólares y efecto sobre el medio ambiente, perjudicando a organismos benéficos no objetivo) (Ponomarenko *et al.*, 2011). Adicionalmente, el uso excesivo y dependencia de los grupos de fungicidas más efectivos en su control (triazoles, estrobilurinas y carboxamidas) ha resultado en una gran presión de selección a favor de aislamientos resistentes de *Z. tritici* (Cuthbert, 2011). Como consecuencia, recientemente se identificó resistencia a estos grupos (Torriani *et al.*, 2009; Cools & Fraaije, 2013; Dooley *et al.*, 2016) generando mayor interés y necesidad de utilizar otras formas de manejo.

En este contexto, la resistencia genética resulta la forma de manejo más adecuada de la enfermedad, dado que no implica incrementos en los costos de producción ni contaminación del ambiente debido al uso de agroquímicos, con una relación costo-efectividad relativamente baja, además de determinar el éxito de otras estrategias de manejo (Simón, 2003). La misma puede

definirse como la capacidad de la planta para reducir el crecimiento y desarrollo del patógeno una vez en contacto con el huésped, o después de que ha iniciado su desarrollo o se ha establecido (Niks *et al.*, 1993). Es una característica heredable, controlada principalmente por el sistema genético nuclear y cuya efectividad a través del tiempo depende de la capacidad de la población patógena para generar variantes que no sean reconocidas por los factores de resistencia presentes en el huésped (Annone, 2003).

La utilización de cultivares resistentes, complementado con otras medidas de manejo integrado proveen un medio efectivo y económico para controlar la enfermedad. Sin embargo, hasta las últimas décadas la genética de la resistencia a la mancha de la hoja era desconocida y los mejoradores debían realizar selección en base a características fenotípicas sin un conocimiento pleno de los genes involucrados (Simón *et al.*, 2002). Así, el manejo de la enfermedad ha sido obstaculizado por el limitado entendimiento de las bases genéticas y bioquímicas de la patogenicidad, incluyendo mecanismos de infección y de resistencia en el huésped.

Un avance reciente ha sido la secuenciación completa del genoma de *Z. tritici*, lo que ha revelado características de gran importancia para el entendimiento de la patogénesis y el avance genético del manejo de la enfermedad (Goodwin *et al.*, 2011). Adicionalmente y en cuanto a la resistencia genética, en los últimos años diversos estudios permitieron determinar que en el patosistema *Z. tritici*/trigo co-existen la resistencia parcial, poligénica y no específica a los aislamientos (Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo 1997, 1998, 1999; Zhang *et al.*, 2001; Chartrain, 2004) con la resistencia completa, monogénica u oligogénica y específica a los mismos (Somasco *et al.*, 1996; Arraiano *et al.*, 2001; Brading *et al.*, 2002; Mc Cartney *et al.*, 2002; Chartrain, 2004). Interacciones específicas entre cultivares de trigo y aislamientos de *Z. tritici* pueden ocurrir tanto en plántula como en estado adulto (Arriano *et al.*, 2001; Brown *et al.*, 2001; Kema *et al.*, 1996, 1997). Esto establece la posibilidad de que las interacciones específicas puedan operar a través del mecanismo gen por gen (Eyal *et al.*, 1973; Kema *et al.*, 1996, 2000).

Por su parte, Jlibene & El Bouami (1995) indicaron que varios componentes de la resistencia parcial a la mancha de la hoja del trigo pueden ser combinados en el mismo fondo genético a través de cruzamientos, mientras que otros estudios cuantitativos han reflejado la capacidad de combinar la presencia de resistencia general y específica a la enfermedad (Van Ginkel & Scharen, 1987; Danon & Eyal, 1990; Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo, 1997,1998). Chartrain *et al.* (2004)

por su parte, demostraron que varias fuentes de resistencia a *Z. tritici* pueden tener muchos genes involucrados, sugiriendo que el apilamiento o piramización de genes de resistencia individuales puede ser usado en el mejoramiento. Esto último remarca la utilidad de etiquetar (utilizando marcadores moleculares) genes de resistencia en el patrimonio genético actual, con el fin de facilitar la selección simultánea de varios de ellos.

Sin embargo, recién en la última década con la aplicación de las nuevas tecnologías de genética molecular, se han podido identificar genes condicionando resistencia. Es así como en diversos materiales se han localizado 21 genes (*Stb1-21*), varios QTL y meta-QTL (Brown *et al.*, 2015). A nivel mundial y comparado con otras enfermedades de importancia en trigo, los estudios genéticos de resistencia a *Z. tritici* y la localización e identificación de genes con marcadores moleculares son recientes, mientras que en Argentina, a pesar de que algunos estudios fenotípicos han determinado la presencia de cultivares con buen comportamiento (Castillo *et al.*, 2010; Simón *et al.*, 2016), se desconoce cómo está condicionada la resistencia, cuáles son los genes involucrados y en que estadios de desarrollo son efectivos. La presencia e identificación de cultivares locales con buen comportamiento a la enfermedad, representa fuentes genéticas adicionales en la búsqueda de nuevos genes. Esto resulta de gran importancia teniendo en cuenta la escasa cantidad de genes identificados y la especificidad que en general presentan los mismos sobre los aislamientos, lo que dificulta el logro de adecuados niveles de resistencia a campo y perdurables en el tiempo.

Por otro lado, la mejora del rendimiento es el objetivo final de la mayoría de los programas de mejoramiento del trigo en todo el mundo. El rendimiento de grano es un rasgo complejo con baja heredabilidad y altamente influenciado por la interacción genotipo x ambiente, por lo que su estudio se puede realizar de manera más sencilla a través de sus componentes. El entendimiento de la base genética del rendimiento y sus componentes resulta crítico para la mejora de los cultivos. Adicionalmente, otros rasgos relacionados con la calidad del grano o el desarrollo, a través del que se busca una mejor adaptación del cultivo a la estación de crecimiento, también representan importantes objetivos de mejoramientos. En la búsqueda de este objetivo, el desarrollo y aplicación de marcadores moleculares se ha convertido en una herramienta de gran importancia.

Marcadores moleculares y selección asistida en el mejoramiento

La base fundamental del mejoramiento de plantas radica en la selección de genotipos específicos mostrando rasgos deseables. Selecciones típicas incluyen la evaluación de poblaciones de mejoramiento por uno o más rasgos de importancia agronómica, a fin de desarrollar nuevas variedades que presenten una adecuada combinación de genes (Bertrand *et al.*, 2008). En la búsqueda de este objetivo, la mayoría de los programas de mejoramiento utilizan cientos de poblaciones, las que involucran millones de plantas individuales (Witcombe & Virk, 2001). Adicionalmente, como la mayoría de los caracteres de importancia agronómica son complejos, es decir están determinados por muchos genes y en general presentan baja heredabilidad, la selección fenotípica es pospuesta hasta que las líneas alcanzan alto grado de homocigosis (F5 o F6). Luego de ello, las líneas seleccionadas son recién evaluadas a campo. Todos estos procesos, involucran tiempo (5-10 años) y costos considerables. En este tipo de trabajos, la selección asistida por marcadores puede ser de gran ayuda, incrementando significativamente la eficiencia y efectividad en el mejoramiento comparada con los métodos tradicionales de selección fenotípica (Collard *et al.*, 2005).

El uso de marcadores moleculares (fragmentos específicos de ADN con una ubicación conocida en el cromosoma) ofrece la oportunidad de realizar selección en generaciones y estadios tempranos, como así también estabilizar rápidamente en homocigosis aquellos genotipos deseados. Todo ello con un gran impacto en tiempo, recursos y esfuerzo. Adicionalmente, utilizando marcadores moleculares es posible identificar tanto los factores como la arquitectura genética asociados a un determinado rasgo, como también detectar co-variaciones entre caracteres, como por ejemplo resistencia a enfermedades, ciclo y altura de planta (Miedaner & Korzun, 2012). En general, tanto marcadores co-dominantes: SSRs (Simple Sequence Repeats) o RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms), como marcadores de tipo dominante: AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms) y RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNAs) han sido exitosamente usados en el mapeo de QTL (Landjeva *et al.*, 2007; Abdurakhmonov & Abdukarimov, 2008), aunque los últimos con menor poder estadístico.

Actualmente, marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) y DArT (Diversity Array Technology), están siendo ampliamente utilizados en el escaneo de todo el genoma a fin de identificar QTL en muchas especies de plantas (Poland *et al.*, 2012). Estos sistemas de marcadores

son de bajo costo por punto de datos y permiten detectar varios miles de loci en un solo ensayo, constituyendo plataformas de genotipado de alto rendimiento. Particularmente, la tecnología DArT se basa en la hibridación (similar a una plataforma de microarrays) para detectar presencia o ausencia de fragmentos individuales de ADN en representaciones genómicas generadas por métodos complejos de reducción de muestras de ADN (Jaccoud *et al.*, 2001). Esta técnica ha demostrado ser reproducible y de muy bajo costo, permitiendo la tipificación simultánea de varios cientos de loci polimórficos, extendidos a través de todo el genoma y sin la necesidad de tener información previa de la secuencia nucleotídica (Wenzel *et al.*, 2004).

Mapeo de genes asociados a caracteres de importancia agronómica

Comprender la base genética de rasgos cuantitativos complejos de importancia es uno de los principales objetivos en el fitomejoramiento. Este tipo de rasgos están controlados por muchos loci y su caracterización molecular y mapeo genético se denomina mapeo de QTL. El objetivo del mapeo de genes es encontrar marcadores moleculares, de herencia neutral, estrechamente relacionados con factores genéticos que regulan tales rasgos. Estimar la variación de fenotipos en forma de cambios en la secuencia de ADN y su ubicación en el genoma ha sido tradicionalmente, llevada a cabo utilizando mapeo de ligamiento, siendo este el enfoque clásico, en el cual el desequilibrio de ligamiento es creado a través del desarrollo de poblaciones de mapeo, seguido de la identificación de marcadores genéticos co-segregantes con el rasgo de interés (Collard *et al.*, 2005). Una alternativa más reciente y que ha demostrado mayor poder de mapeo en rasgos cuantitativos complejos es el mapeo asociativo, el cual centra la búsqueda de asociaciones marcador-carácter, basándose en el concepto de desequilibrio de ligamiento y sin necesidad de desarrollar poblaciones de mapeo (Flint-Garcia *et al.*, 2005).

Mapeo clásico

En el mapeo por ligamiento clásico la identificación de genes o QTL se basa en el principio de recombinación genética ocurrido en la meiosis (Tanksley 1993). Esto permite a partir de marcadores moleculares generar mapas de ligamiento para una población específica. Como consecuencia el primer paso, es desarrollar poblaciones de mapeo (tales como F2, BC, DH, RIL, etc.), derivadas de la hibridación genética entre dos genotipos parentales contrastaste para determinado rasgo de interés. Seguidamente, los genotipos que conforman la población desarrollada son evaluados a fin de conocer la segregación del rasgo bajo estudio en diferentes

ambientes. Posteriormente, un set de marcadores polimórficos entre ambos padres y segregante en la población de mapeo necesita ser identificado y genotipado. Los datos genotípicos generados, se utilizan para construir mapas de ligamiento, en los que se representa el orden (posición) y ligamiento (una distancia genética relativa en cM) de los marcadores moleculares usados, a lo largo de los grupos de ligamiento o segmentos de cromosomas particulares. Esto se logra mediante la evaluación de las tasas de recombinación entre marcadores. Por último, los marcadores ordenados a lo largo del mapa de ligamiento son estadísticamente correlacionados con el rasgo fenotípico medido en los genotipos de la población de mapeo. Esto permite identificar las regiones o QTL que afectan el rasgo de interés a partir de marcadores estrechamente ligados. En este último paso, los marcadores son utilizados para clasificar la población de mapeo en diferentes grupos genotípicos en base a la presencia/ausencia de un marcador particular, luego se determina si existen diferencias significativas entre grupos respecto al rasgo medido (Collard *et al.*, 2005). Diferencias significativas en las medias fenotípicas de los diferentes grupos, indican que el/los marcadores usados para definir los grupos en la población de mapeo, está ligado a el QTL que controla el rasgo en estudio.

Se han desarrollado distintos test estadísticos para la detección de QTL, comenzando con el análisis de marcador simple, mapeo por intervalo simple y, por último, el mapeo por intervalo compuesto (Liu, 1998). Los resultados en general son presentados a través de perfiles del logaritmo de las probabilidades o LOD (Logarithmic of Odds). Así, la posición más probable de un QTL sobre un cromosoma es aquella donde se obtiene un mayor valor de LOD. En principio eran ampliamente aceptados valores umbrales de LOD de 2 a 3, mientras que en la actualidad la determinación de umbrales de LOD se realiza comúnmente mediante pruebas de permutación y es específico de cada caso en particular (Churchill & Doerge, 1994).

Más allá de que este enfoque ha sido ampliamente utilizado y con el mismo se ha podido identificar una gran cantidad de QTL determinantes de caracteres de importancia, el mismo tiene una serie de limitaciones. Presenta altos costos y tiempo asociados al desarrollo de las poblaciones biparentales, tiene baja resolución de mapeo debido al bajo número de eventos meióticos ocurridos durante el/los cruzamiento/s que da origen a la población de mapeo y solo unos pocos alelos (limitados a los presentes en los dos parentales) pueden ser evaluados simultáneamente (Flint-García *et al.*, 2003; Gupta *et al.*, 2005). Por último, en general los dos parentales utilizados

difieren en uno o unos pocos caracteres de importancia (condición fundamental para poder mapear el carácter), por lo que son pocas las características que pueden ser estudiadas simultáneamente en la misma población de mapeo.

Mapeo por asociación

El mapeo por asociación es un enfoque relativamente nuevo en plantas, el que se ha comenzado a utilizar en la identificación de genes/QTL, ya que ha mostrado un mayor poder de detección en rasgos cuantitativos complejos, en comparación con el mapeo tradicional (Al-Maskri *et al.*, 2012). El mismo hace uso de poblaciones naturales (variedades locales, cultivares elite, materiales silvestres o exóticos, etc), evitando los tiempos y costos asociados al desarrollo de poblaciones biparentales. Adicionalmente, y como consecuencia de los numerosos eventos de recombinación históricos presentes en los genotipos incluidos en la población de mapeo, se genera una reorganización de los segmentos cromosómicos en pedazos más pequeños. Esto genera una reducción del DL en distancias cortas alrededor de los loci, y da lugar a significativa co-ocurrencia sólo entre loci físicamente cercanos, lo que aumenta en gran medida la resolución de mapeo (Fig. 6) (Ersoz & Buckler, 2009). Así, mientras en poblaciones bi-parentales utilizadas en mapeo clásico se generan pocos eventos de recombinación que permiten intercambio entre los cromosomas del orden de megabases, las poblaciones naturales empleadas en estudios de asociación presentan segmentos intercambiados del orden de kilobases (Paterson *et al.*, 1990; Stuber *et al.*, 1992; Thornsberry *et al.*, 2001). Adicionalmente, el mayor poder de detección de la metodología de mapeo asociativo permite identificar genes con efectos modesto o de baja heredabilidad sobre un determinado carácter (Hirschhorn & Daly 2005). El uso de poblaciones naturales permite a su vez, que pueda ser simultáneamente evaluado un pool genético mucho mayor y más representativo y como la variación alélica y marcadores polimórficos son observados en mayor frecuencia en el panel (comparado con poblaciones biparentales), pueden identificarse nuevos alelos asociados al carácter de interés. Por otra parte, debido a que los individuos que conforman el panel o colección difieren en innumerables caracteres, es posible estudiar simultáneamente una gran cantidad de características de interés y hasta utilizar datos fenotípicos históricos.

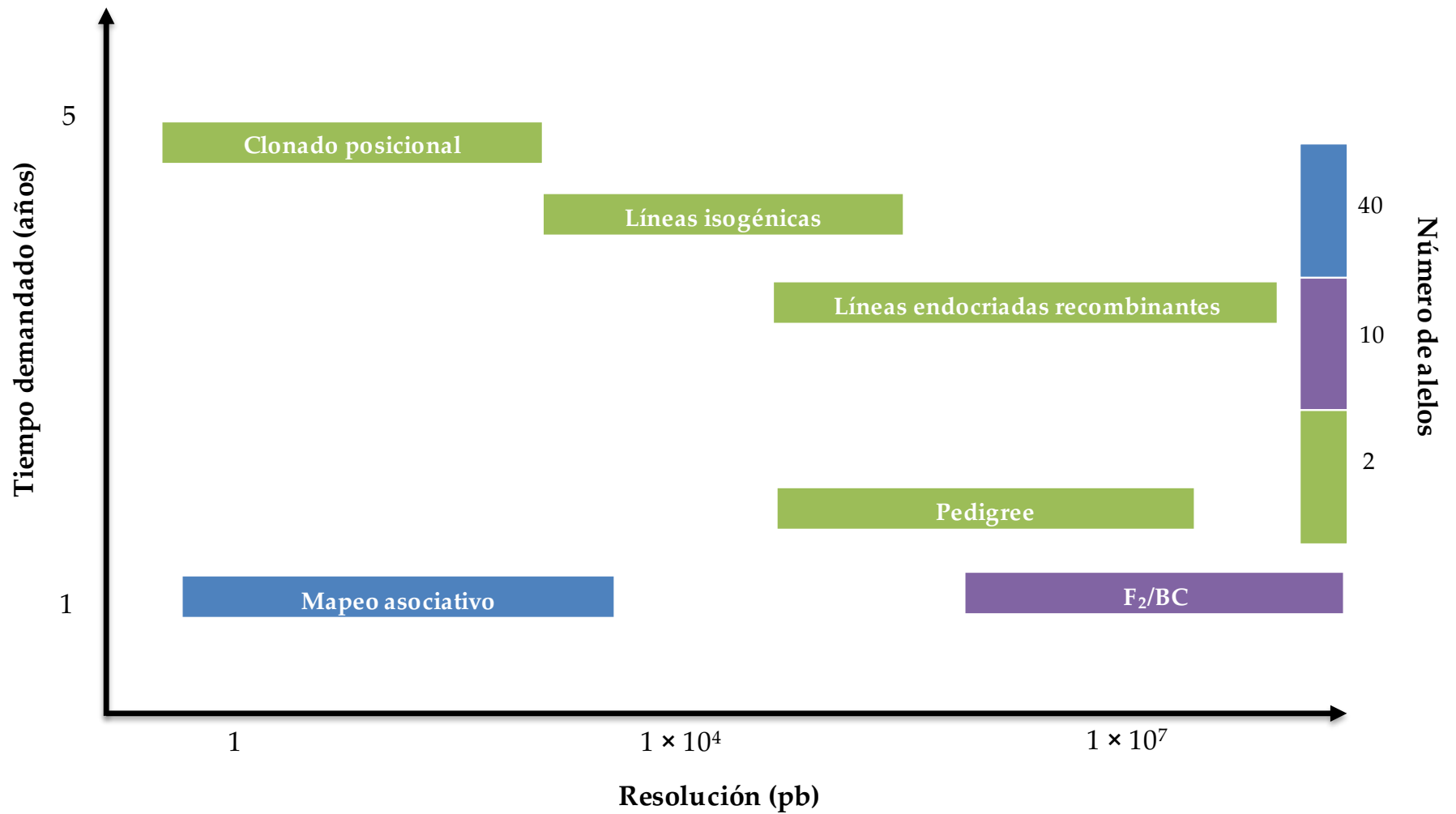


Figura 6. Comparación esquemática entre distintos métodos para identificar asociaciones entre caracteres y nucleótidos polimórficos en términos de resolución de mapeo, tiempo demandado en años y número de alelos posibles de detectar.

El principio del mapeo asociativo se basa en el DL, o asociación no aleatoria de alelos en loci adyacentes dentro de una población, la cual es determinada por la distancia física de los loci a través de los cromosomas y ha demostrado ser útil en la disección de rasgos complejos (Lynch & Walsh, 1998). Matemáticamente el DL puede ser descrito como $PAB \neq PA \times PB$, donde A y B son alelos de dos loci diferentes, PAB es la frecuencia de haplotipos que poseen ambos alelos en los dos loci, PA y PB es la frecuencia de haplotipos que poseen solo el alelo A o B, respectivamente (Gupta *et al.*, 2005). Existen varios estadísticos propuestos para la estimación de DL (Hedrick, 1987), sin embargo D' y r^2 (Lewontin, 1964; Hill & Robertson, 1968) son los más utilizados. Ambos reflejan diferentes aspectos del DL: D' solo refleja la historia de recombinación y por lo tanto es más preciso para estimar diferencias de recombinación; mientras r^2 tiene en cuenta tanto la historia de recombinación y mutación (Flint-Garcia *et al.*, 2003). Para dos loci bialelicos D' y r^2 toman valores entre 0 y 1 y tienen la siguiente fórmulas:

$$D' = |D| / D_{\max} \quad D_{\max} = \min(PA Pb, Pa PB) \text{ si } D > 0$$
$$D_{\max} = \min(PA PB, Pa Pb) \text{ si } D < 0$$
$$r^2 = D^2 / PA Pa PB Pb$$

Actualmente, la mayoría de los estudios de mapeo asociativo en planta utilizan r^2 en la estimación del DL ya que este también brinda información a cerca de la correlación entre marcadores y QTL de interés (Gupta *et al.*, 2005). En general valores de r^2 de 0,1 o 0,2 son considerados como el umbral mínimo para considerar como significativas asociaciones entre pares de loci y para describir la distancia genética o física mínima a partir de la cual el DL es significativo (Zhu *et al.*, 2008). El decaimiento del DL sobre la distancia física en estudios de mapeo asociativo determina la densidad de marcadores requeridos y el nivel de resolución posible de obtener. En general, en especies autóгамas como el trigo, el DL se mantiene a través de mayores distancias (Zhang *et al.*, 2010), en comparación con especies alógamas (Li *et al.*, 2011), como resultado de la autopolinización, la que reduce las oportunidades de efectivas recombinaciones debido a que los individuos presentan mayor grado de homocigosis (Flint-Garcia *et al.*, 2003). En general, se utilizan dos formas para visualizar el decaimiento en el DL; por un lado graficando los r^2 a través de la distancia genética (gráficos de dispersión). Este tipo de gráficos es útil para determinar la distancia umbral a partir de la cual se espera un significativo DL en base la curva de tendencia logarítmica no lineal que se fija a los puntos del gráfico (Brescghello & Sorrells, 2006).

Alternativamente, matrices o mapas de desequilibrio (“heat map”) son también muy útiles para la visualización de la disposición lineal de LD entre sitios polimórficos (Flint-Garcia *et al.*, 2003).

Por otro lado, uno de los principales inconvenientes en los estudios de mapeo asociativo es que determinados factores como la estructura poblacional o alelos que ocurren en muy baja frecuencia pueden generar DL entre loci que no están físicamente ligados, causando altas tasas de asociaciones marcador-carácter falsas positivas (Flint-Garcia *et al.*, 2005). A fin de evitar este inconveniente, se requiere una caracterización de los genotipos incluidos en la población de mapeo y la separación del DL debido a ligamiento físico de aquél generado por la estructura de la población (Tadesse *et al.*, 2014). Se han desarrollado varios métodos para cuantificar y tener en cuenta dicha estructura en los estudios de mapeo asociativo (Sukumaran & Yu, 2014). Uno de los más utilizados es el propuesto por Pritchard *et al.* (2000), el cual estima la estructura poblacional (Q) a partir de un set de marcadores distribuidos sobre todo el genoma, incorporándola como covariable en un modelo lineal general en el análisis de asociación. Este enfoque fue posteriormente ampliado a través de un modelo lineal mixto, en el cual adicionalmente se incluyen las relaciones de parentesco o “kinship matrix” (K), lo cual ofrece un mejor control de ambos tipos de errores (I y II) (Yu *et al.*, 2006). Dependiendo de la escala de investigación, el mapeo asociativo puede ser clasificado en estudios de genes candidatos o estudios de asociación de todo el genoma (Zhu *et al.*, 2008). Estos últimos se han comenzado a utilizar recientemente en cereales, debido a la imposibilidad previa de genotipar un gran número de genotipos con la cantidad de marcadores requeridos. Sin embargo, el desarrollo de sistemas de alto rendimiento tales como la tecnología de matrices de diversidad (DArT) (Jaccoud *et al.*, 2001) ha permitido superar tales dificultades, ya que proporciona una plataforma múltiple, lo que permite la genotipificación rápida y rentable de todo el genoma (Wenzl *et al.*, 2004). Así, este enfoque ha sido recientemente utilizado con éxito en numerosas especies de plantas para identificar marcadores asociados con diferentes rasgos agrónomicamente útiles, así como en el descubrimiento de su base genética (Zhu *et al.*, 2008).

A partir de todo lo expuesto, el objetivo general de esta tesis es contribuir al entendimiento de la base genética asociada a caracteres de importancia en el cultivo de trigo y particularmente a la resistencia a *Z. tritici*. Las hipótesis y los objetivos específicos son planteados en cada uno de los capítulos que se presentan a continuación.

Diagrama de la tesis

En el Capítulo 2, se presenta la caracterización fenotípica de la resistencia (necrosis y cobertura picnidial), en plántula y estadio adulto, de un panel compuesto por 23 líneas extranjeras portadoras de 18 de los 21 genes de resistencia a *Z. tritici* identificados hasta la fecha (utilizadas como diferenciales), conjuntamente con 11 cultivares nacionales comercializados en la actualidad, frente a 10 aislamientos monospóricos del patógeno caracterizados molecularmente.

En el capítulo 3, se presentan los resultados del comportamiento fenotípico de una población de líneas doble haploides originada a través del cruzamiento bi-parental entre los cultivares argentinos Klein Dragón (moderadamente resistente a mancha de la hoja) y Buck Brasil (moderadamente susceptible) en plántula y estadio adulto, frente a tres aislamientos genéticamente diversos de *Z. tritici*. Además de evaluar puntualmente la resistencia genética (necrosis y cobertura picnidial), se evaluaron los componentes de la misma incluyendo: periodo de latencia, periodo de incubación, número de picnidios por cm², número de esporas por picnidios y otros caracteres adicionales posiblemente relacionados con la resistencia como ciclo y altura de planta y sus asociaciones con la necrosis y cobertura picnidial.

En el Capítulo 4, se exponen los resultados del estudio de mapeo asociativo de todo el genoma en una colección de 96 genotipos de trigo provenientes de 21 países a lo largo de los 5 continentes. En esta población de mapeo se evaluaron 23 caracteres de importancia agronómica incluyendo resistencia a *Z. tritici*, lográndose identificar numerosos marcadores y QTL asociados a cada uno de ellos. Adicionalmente, a través de la secuencia de aquellos marcadores que resultaron significativos para cada uno de los caracteres evaluados, se realizó un análisis *in silico*, lo que permitió postular las posibles funciones biológicas en las que se encontraron involucrados tales factores genéticos.

Por ultimo, en el Capítulo 5, se presenta la discusión general de los principales resultados obtenidos en cada una de las investigaciones llevadas a cabo en esta tesis. Adicionalmente, se analiza la importancia de los nuevos conocimientos generados, así como también la posibilidad de su utilización y los trabajos adicionales requeridos a fin de aplicarlos en programas de mejora del cultivo de trigo.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA A *Z. TRITICI* EN CULTIVARES ARGENTINOS DE TRIGO

Introducción

En las últimas décadas a partir de la aplicación de nuevas tecnologías de genética molecular, se han logrado sustanciales avances en el conocimiento del patosistema *Z. tritici/Triticum aestivum*. En este sentido y como ha sido mencionado, ha sido posible revelar características genéticas del hongo, bases bioquímicas de la patogenicidad, mecanismos de infección y factores genéticos asociados a la resistencia en diferentes cultivares de trigo. Particularmente en lo referido a la resistencia en el huésped, el trigo presenta dos tipos de resistencia a *Z. tritici*, al igual que frente a otras enfermedades. Por un lado, se diferencia la resistencia cualitativa, controlada por genes mayores con grandes efectos, los que, como consecuencia, producen una resistencia casi completa y generalmente aislamiento-específica (Somasco *et al.*, 1996; Arraiano *et al.*, 2001; Brading *et al.*, 2002). Adicionalmente, también existe resistencia de tipo cuantitativa, controlada por numerosos genes de efecto pequeño, lo que genera un fenotipo de resistencia parcial y en general aislamiento-no específica (Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo 1997; Chartrain *et al.*, 2004). Como resultado de la simplicidad en su herencia y los grandes porcentajes de variación explicada, los primeros estudios tendientes a identificar factores de resistencia a la enfermedad, se han basado en la identificación de genes mayores, conocidos como genes *Stb* (Brown *et al.*, 2015). Así, hasta la fecha se han identificado 21 genes mayores (Tabla 1). El patrón de interacción de este tipo de genes con *Z. tritici* concuerda con la postulada relación gen a gen, la cual ha sido demostrada en el caso de *Stb6* (Brading *et al.*, 2002). Esto último, genera limitaciones en el uso de los mismos en el mejoramiento genético, ya que la mayoría de los genes de resistencia a enfermedades que actúan a través del mecanismo de gen a gen, a menudo han sido superados por la aparición de nuevas variantes virulentas del patógeno (Munt, 2014). Sin embargo, cultivares como Kavkaz-K 4500, TE9111 y Salamouni, que presentan una combinación de varios genes *Stb*, han demostrado que se comportan como promisorias fuentes de resistencia al patógeno (Brown *et al.*, 2015). Esto sugiere que la piramización de varios genes podría mejorar la efectividad de la resistencia, una estrategia que ha resultado efectiva en el control de otras enfermedades (Mundt, 2014).

Tabla 1. Genes mayores de resistencia a *Z. tritici* en trigo, localización cromosómica, marcadores asociados, aislamientos del patógeno, estadio de crecimiento (P: plántula y A: adulto) y fuente de resistencia en los que fueron identificados.

Gen	Crom ^a	Marcadores asociados	Aislamiento avirulento	Estadio	Fuente de resistencia	Referencia
<i>Stb1</i>	5BL	Xbarc74 (2.8cM) Xgwm335 (7.4cM)	IN95-Lafayette-1196- WW 1-4 - Purdue (USA)	P, A	Bulgaria 88	Adhikari <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb2</i>	1BS	Xwmc406 (6cM) Xwmc230 (5cM)	Paskeville (Australia)- IPO92034	A	Veranopolis	Liu <i>et al.</i> (2013)
<i>Stb3</i>	7AS	Xwmc83	Paskeville (Australia)	A	Israel 493	Goodwin & Thompson (2011)
<i>Stb4</i>	7DS	Xgwm111 (0.7cM)	IN95-Lafayette-1196 WW-1-4, I- 89	P, A	Tadinia	Adhikari <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb5</i>	7DS	Xgwm44 (7.2cM)	IPO94269	P, A	Synthetic 6x	Arraiano <i>et al.</i> (2001)
<i>Stb6</i>	3AS	Xgwm369 (2cM)	IPO323	P, A	Flame, Hereward	Brading <i>et al.</i> (2002)
<i>Stb7</i>	4AL	Xwmc313 (0.3 to 0.5cM) Xwmc219 (1cM)	MG2 (Canadá) IPO87019	P	ST6	McCartney <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb8</i>	7BL	Xgwm146 (3.5cM) Xgwm577 (5.3cM)	IN95-Lafayette-1196- WW 1-4	A	Synthetic W7984	Adhikari <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb9</i>	2BL	Xfbb226 (3.6cM) Xbarc0129	IPO89011	P	Courtot, Tonic	Chartrain <i>et al.</i> (2009)
<i>Stb10</i>	1DC	Xgwm848	IPO94269-ISR8036	P	Kavkaz-K4500	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
<i>Stb11</i>	1BS	Xbarc008 (1cM)	IPO90012	P	TE9111	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
<i>Stb12</i>	4AL	Xwmc219	ISR398-ISR8036	P	Kavkaz-K4500	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
<i>Stb13</i>	7BL	Xwmc396 (7-9cM)	MG96-36, MG2 (Canadá)	P	Salamouni	Cowling (2006)
<i>Stb14</i>	3BS	Xwmc500 (2cM) wmc632 (5cM)	MG2 (Canadá)	P	Salamouni	Cowling (2006)
<i>Stb15</i>	6AS	Xpsr904 (14cM)	IPO88004	P	Arina, Riband	Arraiano <i>et al.</i> (2007)
<i>Stb16q</i>	3DL	Xgwm494 (4.3cM) Xbarc128 (9.9cM)	IPO88018-IPO94218	P, A	SH M3	Tabib Ghaffary <i>et al.</i> (2012)
<i>Stb17</i>	5AL	Xhbg247 (3.1cM) Xgwm617 (38.3cM)	IPO88018	A	SH M3	Tabib Ghaffary <i>et al.</i> (2012)
<i>Stb18</i>	6DS	Xgpw5176 Xgpw3087	IPO323-IPO98022- IPO89011-IPO98046	P, A	Balance	Tabib Ghaffary <i>et al.</i> (2011)
<i>StbSm3</i>	3AS	barc321 (1.9cM)	MG96-36, MG2 (Canadá)	P	Salamouni	Cuthbert (2011)
<i>StbWW</i>	1BS	Xbarc119b (0.9–4.1cM)	79, 2, 1A	P	WW1842, WW2449, WW2451	Raman <i>et al.</i> (2009)
<i>TmStb1</i>	7AmS	Xbarc174 (23.5cM)	IPO323	P	MDR043 (<i>T. monococcum</i>)	Jing <i>et al.</i> (2008)

^aCrom: Cromosoma.

Por otro lado, en trabajos más recientes se han identificado un total de 167 QTL confiriendo resistencia de tipo cuantitativa, la cual es considerada como más durable (Brown *et al.*, 2015). Dichos QTL han sido detectados sobre 19 poblaciones bi-parentales, involucrando regiones cromosómicas distribuidas sobre todo el genoma, de las cuales 62 han sido efectivas en estado de plántula, 48 en estado adulto y 14 en ambos estadios. Esto último indica que mientras algunos cultivares presentan buen comportamiento en estado de plántula o planta adulta (Somasco *et al.*, 1996); otros muestran niveles de resistencia en ambos estadios (Arama, 1996).

Aunque la resistencia completa es interesante debido a la ausencia casi total de síntomas en el huésped, la resistencia parcial es de gran relevancia debido a la mayor durabilidad y el amplio espectro de expresión frente a diversos aislamientos del patógenos (Simón *et al.*, 2016). El uso combinado de ambos tipos de resistencia representa una alternativa a fin de alcanzar altos niveles de resistencia al patógeno, al mismo tiempo que extiende la vida útil de genes mayores (Palloix *et al.*, 2009). Adicionalmente, la identificación de materiales con resistencia en ambos estadios o la combinación de cultivares con resistencia en planta y adulto en un mismo fondo genético representan una alternativa posible de implementar en programas de mejoramiento tendientes a mejorar los niveles de resistencia a lo largo de todo el ciclo (Simón *et al.*, 2005).

Si bien como ha sido mencionado, en la actualidad se conocen diversos factores genéticos asociados con la resistencia a *Z. tritici*, los mismos han sido identificados en materiales foráneos (líneas europeas principalmente) o especies emparentadas con *Triticum aestivum*. Estos resultados son útiles, ya que la resistencia puede ser incorporada en materiales utilizados en Argentina por cruzamientos y selección. Sin embargo, poco se sabe acerca del comportamiento fenotípico y posibles factores genéticos presentes en cultivares localmente adaptados, cuya resistencia sería aún más útil de incorporar dada la mayor facilidad de recuperar los atributos agronómicos por los que han sido seleccionados bajo nuestras condiciones. En este contexto, los criaderos han clasificado los cultivares de mayor difusión en el país en un rango que varía desde moderadamente resistentes hasta susceptibles, lo que sugiere la presencia de resistencia cuantitativa parcial, aunque también se ha reportado resistencia cualitativa y aislamiento-específica (Perelló *et al.*, 1991; Simón *et al.*, 2005). En consecuencia, algunos de nuestros cultivares pueden representar una fuente genética adicional en la búsqueda de nuevos genes. Esto resultaría de gran importancia teniendo en cuenta la escasa cantidad de genes identificados y la

especificidad que presentan los mismos sobre los aislamientos, lo que dificulta el logro de adecuados niveles de resistencia a campo y perdurables en el tiempo.

En una investigación llevado a cabo por nuestro grupo de trabajo (Castillo *et al.*, 2010), en la que se estudió el comportamiento de 8 cultivares nacionales y 15 líneas diferenciales frente a diferentes aislamientos del patógeno caracterizados molecularmente, se observó que algunos cultivares nacionales muestran considerables niveles de resistencia al patógeno. La realización de tales trabajos de caracterización fenotípica, utilizando cultivares locales y diferentes variantes del patógeno debe hacerse con cierta periodicidad, ya que continuamente nuevos genotipos son liberados al mercado. Adicionalmente, repetir la caracterización de cultivares de buen comportamiento a través del tiempo, permite conocer la extensión con la que los factores de resistencia presentes en los mismos se mantienen efectivos a través del tiempo.

Uno de los principales inconvenientes en la mejora de los niveles de resistencia a *Z. tritici* a nivel mundial es la gran variabilidad patogénica del hongo y la especificidad que en muchos casos presentan sus aislamientos. Estudios de diversidad realizados sobre aislamientos provenientes de distintas localidades de la región triguera argentina utilizando marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), han revelado un alto grado de diversidad genética en la población del patógeno presente en Argentina (Castillo *et al.*, 2010). Como consecuencia, cultivares de trigo que han sido identificados como portadores de genes *Stb* o QTL de resistencia al patógeno, en una determinada región y frente a determinados aislamientos, pueden no tener el mismo comportamiento en condiciones locales y frente a variantes del patógeno predominantes en nuestra región triguera. En este contexto, la caracterización fenotípica de líneas portadoras de genes de resistencia frente a aislamientos locales del patógeno, resulta importante a fin de determinar si las mismas representan fuentes de resistencia efectivas y posibles de utilizar en programas de mejoramiento en Argentina. La caracterización de estos genotipos conjuntamente con cultivares nacionales actuales, frente a un mismo set de aislamientos genéticamente diversos del patógeno puede además permitir, a través de la comparación de su comportamiento inferir la presencia de los mismos genes en ambos fondos genéticos.

Hipótesis

- Los cultivares argentinos utilizados en el estudio presentan adecuados niveles de resistencia en plántula y/o estado adulto frente a los aislamientos utilizados del patógeno.
- Líneas diferenciales portadores de genes de resistencia conocidos a nivel internacional son efectivas frente a aislamientos locales del patógeno, por lo que pueden ser consideradas como fuentes de resistencia en programas de mejoramiento en Argentina.
- Algunos cultivares argentinos y líneas diferenciales exhiben resistencia parcial frente a los aislamientos del patógeno, mientras que otros pueden presentar interacciones específicas
- La expresión de la resistencia es dependiente del estadio fenológico considerado, aunque existen genotipos que presentan resistencia en estadio de plántula y adulto.
- Existen cultivares nacionales con comportamiento similar a líneas con genes conocidos a nivel internacional, existiendo la posibilidad de que presenten los mismos genes.

Objetivos

- Evaluar los niveles de resistencia en estado de plántula y planta adulta de nuevos cultivares argentinos de trigo frente a 10 aislamientos genéticamente contrastantes del patógeno provenientes de diferentes localidades de la región triguera argentina.
- Evaluar los niveles de resistencia en estado de plántula y planta adulta de líneas diferenciales portadores de conocidos genes de resistencia al patógeno frente a 10 aislamientos argentinos del patógeno.
- Determinar la especificidad del comportamiento de cultivares argentinos y líneas diferenciales frente a los 10 aislamientos del patógeno utilizados.
- Determinar si existen genotipos con niveles de resistencia en estadio de plántula y planta adulta.
- Comparar el comportamiento fenotípico de líneas diferenciales portadores de genes conocidos de resistencia al patógeno y cultivares argentinos.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Un total de 33 genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) fueron utilizados para su caracterización fenotípica, incluyendo 22 líneas diferenciales de origen extranjero conjuntamente con 11 cultivares argentinos actualmente disponibles en el mercado (Tabla 2). La selección del material se basó, en el caso de las líneas extranjeras en la presencia de genes *Stb*, mientras que en los cultivares argentinos, a partir de la información brindada por los criaderos (cada criadero indicó cuáles de sus materiales presentaban mejor comportamiento frente al patógeno) y por estudios fenotípicos realizados anteriormente por el grupo de trabajo. En el caso particular del cultivar foráneo Apache, aunque aún no se ha identificado factores de resistencia, ha sido reportado por presentar buen comportamiento frente al patógeno (Tabib Ghaffary, 2011). Por último, debido al alto grado de severidad observado previamente a campo, el cultivar argentino Lenox fue utilizado como control susceptible.

Diseño experimental

Se sembraron dos experimentos el 19 de junio de 2012 y 27 de junio de 2013, respectivamente, bajo un diseño de parcela sub-dividida con dos repeticiones. La parcela principal representó los ambientes, la sub-parcela 10 aislamientos del patógeno, y la sub-sub-parcela las 33 líneas/cultivares. Debido a que varios de los genotipos foráneos presentaron hábitos de crecimiento invernal (Tabla 2) y requerimientos de vernalización, las semillas fueron pre-germinadas en placas de Petri y vernalizadas en cámara de cultivo durante 3 semanas a 4-8 °C antes de la plantación a campo. Posteriormente, 15 plántulas de cada genotipo fueron plantadas en líneas de 0,5 metros de largo, separadas cada 0,2 metros por hileras de avena a fin de disminuir el traspaso de inóculo (Fig. 7). Ambos experimentos se realizaron sobre un suelo argiudol típico, cuyo análisis (0,20 Cm) determinó los siguientes valores: materia orgánica: 3,55 %; N: 0,139 %; P: 15 ppm y pH: 5,75. La totalidad de los experimentos fueron fertilizados a razón de 50 Kg N.ha⁻¹ de P₂O₅.ha⁻¹ como superfosfato triple de calcio a la siembra y con 100 kg N.ha⁻¹ como urea granulada, mitad a la siembra y la otra mitad en macollaje (GS 33; Zadoks *et al.*, 1974). Los datos meteorológicos (precipitación, humedad relativa y temperaturas) fueron registrados en una estación meteorológica Davis, situada a 300 m de los experimentos.

Tabla 2. Nombre, país de origen, hábito de crecimiento, tipo de material y genes *Stb* presentes en los genotipos utilizados en la caracterización fenotípica con 10 aislamientos de *Z. tritici*.

Cultivar/Línea	Origen	Hábito	Material	Gen <i>Stb</i>
Bulgaria 88	Bulgaria	Invernal	LM*	<i>Stb1y Stb6</i>
Oasis	Rusia	Invernal	cultivar	<i>Stb1</i>
Suvillan				<i>Stb1</i>
Veranopolis	Brasil	Primaveral	Cultivar	<i>Stb2, Stb6</i>
Israel 493	Israel	Primaveral	LM	<i>Stb3 y Stb6</i>
Tadinia	Estados Unidos	Primaveral	Cultivar	<i>Stb4, Stb6</i>
Tadorna	Estados Unidos	Primaveral	Cultivar	<i>Stb4, Stb6</i>
Synthetic N				<i>Stb5</i>
Synthetic 6x	Estados Unidos	Primaveral	LM	<i>Stb5, Stb6</i>
Shafir	Israel	Primaveral	Cultivar	<i>Stb6</i>
Estansuela Federal	Uruguay	Primaveral	Cultivar	<i>Stb7</i>
Synthetic W7984 (M6)	Estados Unidos	Invernal	LM	<i>Stb8</i>
Courtot	Francia	Invernal	Cultivar	<i>Stb9</i>
Tonic	Reino Unido	Invernal	Cultivar	<i>Stb9</i>
Kavkaz - K4500	CIMMyT	Invernal	LM	<i>Stb6, Stb7, Stb10 y Stb12</i>
TE 9111	Portugal	Primaveral	LM	<i>Stb6, Stb7 y Stb11</i>
Salamoumi	Canadá	Primaveral	Cultivar	<i>Stb13 y Stb14</i>
Arina	Suiza	Invernal	Cultivar	<i>Stb6 yStb15</i>
Riband	Reino Unido	Invernal	Cultivar	<i>Stb15</i>
Synthetic M3	CIMMYT	Primaveral	LM	<i>Stb16, Stb17</i>
Balance	Francia	Invernal	Cultivar	<i>Stb6 yStb18</i>
Apache	Francia	Invernal	Cultivar
Klein Volcán	Argentina	Primaveral	Cultivar
Klein Dragón	Argentina	Primaveral	Cultivar
Buck 75 Aniv S.A.	Argentina	Primaveral	Cultivar
SRM Nogal	Argentina	Primaveral	Cultivar
Buck AGP 127	Argentina	Primaveral	Cultivar
Buck SY 200	Argentina	Primaveral	Cultivar
Buck SY 300	Argentina	Primaveral	Cultivar
Biointa 2004	Argentina	Primaveral	Cultivar
Biointa 3005	Argentina	Primaveral	Cultivar
Buck SY 110	Argentina	Primaveral	Cultivar
Lenox	Argentina	Primaveral	Cultivar	Control Susceptible

*LM: Línea de mejoramiento



Figura 7. Ensayos de campo: **a, b** y **c**) las plántulas vernalizadas fueron colocadas manualmente en los surcos; **d** y **e**) colocación de redes a fin de evitar el daño de pájaros; **f**) separación de cultivares de trigo con hileras de avena; **g, h** y **i**) progresión fenológica de los experimentos.

Aislamientos de Z. tritici e inoculaciones

La caracterización fenotípica de los 33 genotipos de trigo incluidos en el estudio, fue realizada utilizando 10 aislamientos monospóricos del patógeno, elegidos en base a diferencias moleculares determinadas en un estudio de diversidad genética previo, llevado a cabo con marcadores ISSR (Castillo *et al.*, 2010). En dicho estudio, un total de 127 aislamientos monospóricos del patógeno provenientes de diferentes localidades de las regiones trigueras II sur y IV fueron clasificados por similitud en 14 clúster, utilizando el coeficiente de Dice (Nei & Li, 1979). A partir de esa información, los siguientes 10 aislamientos: FALP03305, FALP21507, FALP10005, FALP07505, FALP12005, FALP24807, FALP09305, FALP07905 y FALP0990 correspondientes a los clúster I, II, III, IV, V, VI, IX, XII, XIII y FALP03405 (el cual no amplificó con ningún marcador) (Castillo *et al.*, 2010) fueron seleccionados a fin de representar y exponer a los genotipos de trigo a una amplia diversidad genética del patógeno en la caracterización fenotípica.

Una vez seleccionados, los aislamientos fueron cultivados en cajas de Petri con medio agar-papa y posteriormente transferidos a un medio agar-malta para su esporulación, bajo condiciones controladas (19 °C de temperatura y con 12 h de alternancia luz-oscuridad), por un periodo aproximado de 10 días (Fig. 8a). Luego de alcanzado un buen desarrollo de conidios secundarios, los mismos fueron cosechados mediante el raspado con cepillo y agua destilada en condiciones asépticas (Fig. 8b, c y d). La concentración de esporas fue determinada utilizando cámara de Neubauer y la suspensión de conidios se ajustó a una concentración final de 5×10^6 esporas.mL⁻¹ (Fig. 8e, f y g). Finalmente, a las soluciones de conidios secundarios ya preparadas, se les agregó 0,5 ml de Tween 20 (tensioactivo) por cada litro de solución, para lograr una mejor adherencia del inóculo a la superficie de las hojas.

En cada ensayo se realizaron dos inoculaciones durante el ciclo del cultivo: en estadio de plántula con dos hojas desplegadas (GS 12) (Fig. 8h), y en pleno macollaje (GS 23) (Fig. 8i). Para ello, el material vegetal fue pulverizado con la suspensión de inóculo con una mochila de mano en horas del atardecer y a razón de 10 l.m² de ensayo. Después de la inoculación cada ensayo se pulverizó con agua varias veces al día durante 3 días, de manera de alcanzar la humedad necesaria para el desarrollo del proceso de infección (Fig. 8j).

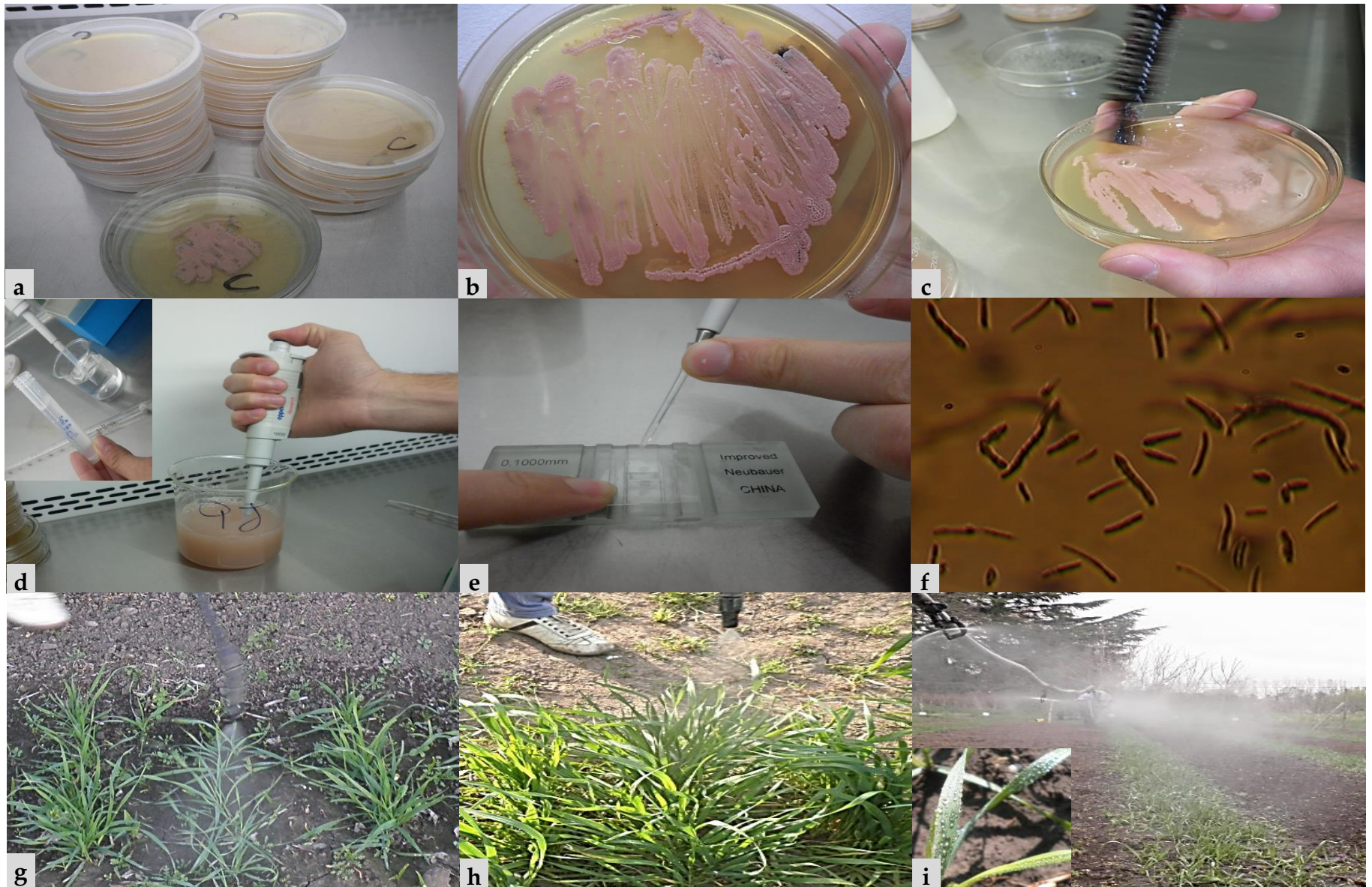


Figura 8. Proceso de inoculación: **a)** cajas de Petri con aislamiento de *Z. tritici* en crecimiento, **b)** Conidios secundarios desarrollados sobre medio de cultivo agar-malta, **c)** Raspado de conidios secundarios, **d)** Preparación de diluciones, **e)** carga de la cámara de Neubauer, **f)** conteo de esporas en microscopio estereoscópico, **g)** y **h)** inoculación de ensayos de campo a estado de plántula y pleno macollaje, respectivamente, **i)** Mojado posterior a la inoculación.

Evaluaciones fenotípicas

Estado de plántula

A fin de estimar en estado de plántula la resistencia genética de los genotipos a caracterizar, se evaluó la severidad de la enfermedad 28 a 30 días después de la primera inoculación (todos los genotipos fueron evaluados en el mismo estadio fenológico y momento temporal). Dicha evaluación se realizó mediante la estimación visual de N y CP en las tres primeras hojas de siete plantas de cada parcela (genotipo) para cada replicación (Fig. 9). Las evaluaciones comenzaron cuando los síntomas de la enfermedad fueron observados con claridad en el cultivar utilizado como control susceptible. Una vez registrados los niveles de enfermedad en cada hoja, se calculó un promedio de las tres hojas tanto para N como para CP.

Estado adulto

Para estimar la resistencia genética en estado adulto, la severidad de la enfermedad fue evaluada 30 días después de la aparición de la hoja bandera en cada genotipo. Esto con la finalidad de que el tiempo de exposición de dicha hoja a la enfermedad fuera el mismo en cada uno de ellos, evitando de esta forma sobre o subestimar los valores de severidad en función de mayores o menores tiempos de exposición experimentados por ciclos más cortos o más largos, respectivamente (todos los genotipos fueron evaluados al mismo estadio fenológico, pero en diferente momento temporal). La evaluación se realizó nuevamente a través de la estimación visual de N y CP de siete plantas de cada parcela (genotipo) para cada replicación, pero en esta ocasión en las tres hojas superiores (HB, HB-1 y HB-2) (Fig. 9). Nuevamente, las evaluaciones comenzaron cuando los síntomas de la enfermedad fueron observados con claridad en el cultivar utilizado como control susceptible. Una vez registrado los niveles de enfermedad en cada hoja, se calculó un promedio de las tres hojas tanto para el N y CP.



Figura 9. Evaluaciones en plántula: **a)** Hojas cloróticas con comienzo de necrosis, **b** y **c)** Hojas con manchas necróticas y presencia de picnidios y planta adulta: **a)** determinación de severidad **b)** Hojas con diferentes porcentajes de área necrosada y **c)** Hojas con presencia de picnidios sobre manchas necróticas.

Análisis estadístico de datos fenotípicos

El análisis fenotípico de los datos se llevó a cabo utilizando el software GenStat 12 Ed (VSN International, 2009). Se realizó un ANAVA utilizando el promedio de N y CP calculado a partir de las tres hojas evaluadas. Adicionalmente, se calcularon las diferencias mínimas significativas (LSD) de los factores principales y de la interacción genotipo \times aislamiento para identificar resistencia cualitativa o completa entre genotipos de trigo y aislamientos del patógeno (Cherif *et al.*, 2007). De esta forma y frente a un determinado aislamiento, genotipos con valores de severidad menores que el LSD ($P < 0,05$) fueron considerados estadísticamente no diferentes de cero y por lo tanto con resistencia completa. En el caso de la resistencia cuantitativa o incompleta, debido a que se ve más influenciada por el ambiente, se definió un valor umbral para cada experimento de acuerdo a la severidad alcanzada por el conjunto de genotipos en cada uno de ellos. Como resultado, en estado de plántula sólo aquellos genotipos con valores por debajo de 75 y 15 % y de 50 y 10% fueron considerados con resistencia parcial para las variables N y CP, en los experimentos realizados en 2012 y 2013, respectivamente. En estado adulto, los valores umbrales considerados fueron 60 y 30 % y 55 y 20 % para dichas variables y experimentos evaluados. Como se observa los valores fijados son mayores para 2012, esto se debe a que en general, en dicho año las condiciones fueron más favorables para el desarrollo de la enfermedad y por ende los valores mostrados por los genotipos en general fueron más altos.

Por otro lado, a fin de determinar si cultivares de buen comportamiento expresaron resistencia a lo largo de todo el ciclo de cultivo o solo en uno de los estadios de crecimiento evaluados, se llevó a cabo un análisis de correlación utilizando los valores de CP estimados en estado de plántula y planta adulta. Finalmente, a partir del tipo de respuesta observado en cada genotipo frente a cada uno de los aislamientos (resistencia completa, parcial o susceptibilidad) tanto en estado de plántula y planta adulta, se generó una matriz de similitud que fue utilizada para comparar el comportamiento fenotípico de cultivares argentinos respecto de líneas diferenciales. Para ello, se asignó un valor 0 a las interacciones que resultaron en resistencia completa, valor 1 a aquellas mostrando resistencia parcial y 2 a las interacciones susceptibles. La matriz así generada fue sometida a un análisis de agrupamiento jerárquico utilizando el método de la distancia euclídea (Corsten & Denis, 1990).

Resultados

Considerando la estación de crecimiento del cultivo (junio-diciembre), las tendencias observadas respecto de las variables ambientales humedad relativa y temperatura fueron similares en ambos años. Así, la temperatura presentó variaciones de 7,1 a 22,6 °C en 2012 y de 9,8 a 24,2 °C en 2013; mientras que la humedad relativa lo hizo de 71 a 90 % y 71 a 87 % en ambos años, respectivamente. En contraste, el patrón y la totalidad de precipitaciones variaron considerablemente entre años. El total de precipitaciones fue mayor en 2012 (687,6 mm) y menor en 2013 (414,1 mm), en comparación con los valores medios de la región (519,5 mm). La mayor diferencia mensual de lluvia caída se observó en el mes de agosto, donde las precipitaciones fueron muy superiores en 2012 (222,8 mm) respecto de 2013 (7,2 mm).

Resistencia en estado de plántula

El ANAVA mostró efectos altamente significativos ($P < 0,001$) de genotipos, aislamientos y la interacción línea/cultivar \times aislamiento para las dos variables analizadas (N y CP). Adicionalmente, para la variable CP también resultó altamente significativo el factor aislamiento y la interacción triple ensayo \times aislamiento \times cultivar (Tabla 3).

Tabla 3. Cuadrados medios para porcentaje de necrosis y cobertura picnidial en estado de plántula y planta adulta de 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales inoculados con 10 aislamientos de *Z. tritici* en los dos ambientes analizados.

Fuente de Variación	G.L.	Estado de plántula		Planta adulta	
		Necrosis	Cobertura Picnidial	Necrosis	Cobertura Picnidial
Ensayo (E)	1	843734,3	624,4	43890,4*	3120,0
Aislamiento (A)	9	706	244,5***	4752,5***	2783,0***
E \times A	0	657,9	3,3	175,1	39,5
Líneas/Cultivares (C)	32	987,5***	806,9***	7107,7***	3560,6***
E \times C	32	1199,9***	44,2***	388,2**	184,9***
A \times C	288	217,4***	50,8***	647,1***	298,1***
ExAxC	288	121,2	4,1***	191,8	18,3***
Error	640	109,7	2,2	195,7	11,5

*, ** y ***, significativo, test de F al nivel $P=0,05$; $0,01$ y $0,001$.

En este estadio, se observó una relativamente baja correlación entre las variables N y CP considerando el promedio de los ambientes (0,18). Esto fue consecuencia de elevados valores de N, ocurridos en 2012 debido a las altas precipitaciones en el mes de agosto. Las precipitaciones mencionadas favorecieron el contacto de las hojas con el suelo, generando un alto grado de senescencia natural y enmascarando los valores reales de necrosis producida por la enfermedad.

Este hecho dificultó la definición de resistencia específica para N en dicho año, ya que ningún valor fue menor al LSD (24,2 %). Considerando el promedio de los genotipos y experimentos, los aislamientos FALP07505 y FALP03305 fueron los más agresivos (72 y 5,5 %) para las variables N y CP, respectivamente. Contrariamente, FALP21507 y FALP07505 presentaron los menores valores de severidad (63,1 y 1,8 %) en ambas variables mencionadas. Adicionalmente y considerando CP, Shafir y Lenox resultaron los cultivares más susceptibles (14,8 y 16,4 %) dentro de las líneas diferenciales y cultivares argentinos, respectivamente. Mientras que Synthetic 6x y SRM Nogal fueron los más resistentes con valores de 0,2 y 1,5 %, respectivamente.

En estado de plántula y teniendo en cuenta la variable CP las siguientes cinco líneas diferenciales: Tadorna, Arina, Riban, Synthetic M3 y Synthetic 6x; mostraron resistencia completa a todos los aislamientos del patógeno en los dos años evaluados. En tanto que dentro de los cultivares nacionales se destacaron SRM Nogal y BioINTA 3005 los que presentaron resistencia completa frente a 9 de los 10 aislamientos en ambos años evaluados (Tabla 4). Por otro lado, numerosos cultivares mostraron resistencia parcial frente a los aislamientos del patógeno. Así, dentro de líneas diferenciales se destacaron Oasis, Balance y Kavkaz K 4500; los que presentaron resistencia parcial frente a 7, 5 y 4 aislamientos respectivamente, en los dos años evaluados. Mientras Buck SY 300 y Klein Dragón que mostraron resistencia parcial frente a 6 y 5 aislamientos del patógeno respectivamente, fueron los más destacados dentro de los cultivares nacionales. Considerando la variable N, debido a los altos niveles de senescencia observados en el cultivo, a causa de las elevadas precipitaciones, las que provocaron un mayor contacto de las hojas con el suelo y por lo tanto un deterioro prematuro de las mismas; se observaron muy pocas interacciones con resistencia completa. Adicionalmente, aquellos cultivares con resistencia parcial considerando esta variable, muestran resistencia específica al considerar CP (Klein Volcán, Suvillan, etc.) (Tabla 5). Por este motivo, se consideró a CP como la variable que mejor discrimina el comportamiento de los genotipos en estado de plántula.

Tabla 4. Medias de Cobertura Picnidial para la interacción línea/cultivar × aislamiento en 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales en estado de plántula frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* y dos años evaluados.

Aislamiento /Cultivar	FALP03305		FALP21507		FALP10005		FALP07505		FALP12005		FALP24807		FALP09305		FALP07905		FALP09905		FALP03405		Promedio
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	
Bulgaria 88	0,0	0,0	1,1	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,2	4,8	0,0	0,0	0,8	0,6	0,0	0,0	4,5	3,5	1,1
Oasis	7,8	6,1	7,5	5,9	5,1	4,0	0,1	0,1	10,7	8,4	6,1	4,8	2,5	2,0	8,4	6,6	18,2	14,3	5,6	4,4	6,4
Suvillan	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	9,8	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	1,6	1,1
Veranopolis	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	7,6	5,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	2,7	1,0
Israel	0,5	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,6	3,6	0,0	0,0	0,6	0,5	0,8	0,6	2,3	1,8	0,8
Tadinia	5,8	4,5	0,0	0,0	12,6	9,9	0,3	0,2	2,5	2,0	4,3	3,4	0,0	0,0	2,5	2,0	2,3	1,8	2,1	1,7	2,9
Tadorna	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,3	1,9	1,5	0,0	0,0	0,9	0,7	0,0	0,0	0,6	0,5	0,4
Synthetic/N	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,3	14,4	1,8
Shafir	27,4	21,5	7,7	2,8	23,9	18,7	16,5	1,4	17,8	14,0	20,1	15,8	15,3	12,0	17,8	10,4	18,8	14,8	11,1	8,7	14,8
Estanzuela Federal	19,6	15,4	7,7	6,0	9,2	7,2	9,9	3,5	25,6	20,1	14,0	11,0	19,3	15,2	14,6	11,5	27,1	21,3	11,2	8,8	13,9
Synthetic W7984	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	2,7	1,1	0,8	12,8	10,0	0,6	0,5	0,0	0,0	1,2	1,0	0,0	0,0	3,5	2,7	2,0
Courtot	0,6	0,5	7,8	6,1	6,2	4,9	2,6	2,0	2,6	2,0	7,5	5,9	3,4	2,7	3,6	2,8	0,5	0,4	8,8	6,9	3,9
Tonic	2,1	2,0	3,0	2,7	4,6	4,1	1,8	1,6	0,0	0,0	4,2	3,8	0,0	0,0	1,8	1,6	0,0	0,0	12,3	11,1	2,8
Kavkaz K 4500	10,5	9,5	3,5	3,2	2,3	2,1	0,6	0,6	12,4	11,3	5,9	5,4	3,0	2,7	2,1	2,0	0,8	0,7	3,3	3,0	4,2
TE 9111	19,9	18,1	0,6	0,5	7,8	7,1	0,0	0,0	9,5	8,7	6,6	6,0	6,7	6,1	0,4	0,3	0,0	0,0	1,7	1,6	5,1
Salamoumi	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	5,1	4,6	0,0	0,0	0,9	0,9	0,9	0,9	2,9	2,6	1,0
Arina	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	1,1	0,0	0,0	0,4	0,4	0,0	0,0	2,6	2,4	0,4
Riband	0,9	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	2,9	2,6	0,0	0,0	1,8	1,6	2,8	2,6	1,8	1,6	1,0
Synthetic M3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,7	0,9	0,9	0,0	0,0	2,8	2,6	0,0	0,0	2,0	1,8	0,6
Balance	7,0	6,4	0,3	0,3	11,0	10,0	0,4	0,4	9,1	8,3	3,4	3,1	6,4	5,9	6,2	5,6	2,8	2,5	13,5	12,3	5,7
Apache	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0	0,8	0,7	0,0	0,0	0,9	0,9	0,0	0,0	0,5	0,4	0,6	0,6	0,1	0,1	0,3
Synthetic 6x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Klein Volcán	14,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	7,4	4,0	1,0	0,7	2,0	1,5	3,5	2,6	1,5	1,1	4,3	3,2	2,4
Klein Dragón	30,2	22,4	4,1	3,0	10,6	7,9	1,9	1,4	34,9	25,9	12,9	9,5	15,8	11,7	7,0	5,2	4,9	3,7	21,4	15,9	12,5
SRM Nogal	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	1,3	1,0	0,0	0,0	12,9	9,5	0,0	0,0	1,6	1,2	0,0	0,0	1,5	1,1	1,5
Buck 75 Aniversario	0,0	0,0	6,0	4,5	5,3	3,9	2,3	1,7	8,6	6,4	0,0	0,0	1,8	1,4	3,1	2,3	2,7	2,0	1,5	1,1	2,7
Buck AGP 127	7,3	5,4	15,0	0,0	12,5	0,0	2,2	1,6	1,4	1,0	3,6	2,7	0,0	0,0	2,4	1,8	6,0	0,0	0,6	0,5	3,2
Buck SY 110	0,0	0,0	3,7	2,8	0,0	0,0	3,5	2,6	3,8	2,8	0,5	0,4	1,3	1,0	2,7	2,0	18,5	13,7	1,0	0,7	3,1
Buck SY 200	2,3	1,7	0,0	0,0	3,8	2,8	5,2	3,9	2,2	1,6	4,6	3,4	0,0	0,0	5,0	3,7	0,0	0,0	1,1	0,8	2,1
Buck SY 300	20,3	15,0	13,5	0,0	11,4	4,9	11,0	3,5	13,2	9,8	13,2	9,8	15,2	4,5	11,7	8,7	4,7	3,5	19,1	14,2	10,4
Lenox	20,4	15,1	21,5	3,7	31,9	23,6	20,5	2,7	16,8	12,5	23,5	6,5	18,8	13,9	13,1	9,3	14,0	10,4	28,9	21,4	16,4
BioINTA 2004	5,1	3,8	0,7	0,5	6,3	4,6	1,9	1,4	6,0	4,5	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	2,1	9,1	6,8	1,5	1,1	2,9
BioINTA 3005	5,0	3,7	2,1	1,5	1,2	0,9	1,4	1,1	2,3	1,7	1,3	1,0	0,2	0,1	2,0	1,5	2,0	1,5	2,6	1,9	1,7
Promedio	5,5		2,3		4,4		1,8		5,4		5,0		2,9		3,2		3,7		5,4		

Valores en: verde indican resistencia completa (valores < LSD interacción E × A × C: 2,93 %), amarillo indica resistencia parcial y negro reacción de susceptibilidad.

Tabla 5. Medias de Porcentaje de Necrosis para la interacción línea/cultivar × aislamiento en 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales en estado de plántula frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* y dos años evaluados.

Aislamiento /Cultivar	FALP03305		FALP21507		FALP10005		FALP07505		FALP12005		FALP24807		FALP09305		FALP07905		FALP09905		FALP03305		Promedio
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	
Bulgaria 88	96,0	35,2	100,0	50,0	95,5	36,9	97,0	34,9	93,5	30,7	100,0	27,7	100,0	49,8	88,5	41,0	92,5	49,8	94,0	47,5	68,0
Oasis	88,4	40,3	100,0	34,8	94,0	38,8	97,5	38,5	99,8	31,8	92,3	29,0	98,0	50,3	90,5	43,4	91,5	56,1	92,0	43,7	67,5
Su villan	90,6	38,9	78,5	31,6	68,3	41,8	85,5	36,5	65,3	31,8	94,3	50,4	65,3	35,7	94,0	45,6	88,8	45,8	93,8	42,5	61,3
Veranopolis	94,0	39,1	86,1	25,8	78,1	23,8	99,5	52,3	98,8	25,9	93,9	32,3	90,4	33,3	94,0	43,7	96,5	43,3	93,0	45,2	64,5
Israel	99,7	42,9	82,3	17,3	100,0	48,1	94,0	46,9	99,0	26,1	99,9	40,0	100,0	31,0	98,5	39,4	95,5	43,8	96,5	52,5	67,7
Tadinia	100,0	44,0	98,3	13,7	100,0	51,0	100,0	48,7	99,8	38,5	97,6	32,5	100,0	37,5	95,5	43,7	97,0	44,0	94,5	42,8	69,0
Tadorna	95,6	32,2	100,0	11,0	99,3	10,1	94,5	39,3	97,8	21,5	98,3	14,5	94,9	38,8	90,0	40,1	100,0	34,9	100,0	34,9	62,4
Synthetic/N	94,0	26,0	96,2	44,2	100,0	38,1	97,0	44,2	97,0	45,8	91,5	13,3	99,0	18,9	97,5	34,8	88,5	5,5	94,5	47,7	63,7
Shafir	100,0	46,1	93,8	54,2	99,8	65,2	96,5	49,0	100,0	71,2	100,0	51,0	100,0	67,9	98,0	53,8	96,0	50,9	95,5	53,0	77,1
Estanzuela Federal	100,0	53,2	99,2	50,1	100,0	59,2	97,0	38,5	100,0	48,3	99,8	45,4	93,8	52,3	99,5	55,2	93,0	56,9	95,5	44,0	74,0
Synthetic W7984	100,0	34,5	98,2	31,8	100,0	28,3	98,0	46,1	100,0	43,7	99,5	13,6	99,8	43,3	94,0	42,6	95,5	43,0	97,0	52,0	68,0
Courtot	100,0	41,0	100,0	46,8	100,0	41,4	100,0	41,5	100,0	38,6	100,0	39,8	100,0	41,4	100,0	45,7	100,0	40,4	100,0	42,9	71,0
Tonic	99,9	29,3	92,4	36,7	90,4	50,8	95,0	46,2	97,5	44,6	99,3	33,7	94,0	32,8	88,3	46,9	92,0	39,5	88,5	40,5	66,9
Kavkaz K 4500	100,0	53,8	100,0	43,6	99,0	46,7	96,5	70,8	83,5	61,0	99,8	31,4	98,8	65,8	97,0	47,3	94,0	53,8	95,3	43,1	74,1
TE 9111	100,0	55,9	87,5	38,4	98,6	52,8	97,0	72,6	100,0	55,0	99,5	38,0	99,6	50,8	97,0	41,6	96,5	46,1	94,0	41,4	73,1
Salamoumi	93,3	45,3	60,5	34,2	69,0	42,4	83,5	64,4	90,0	41,0	90,1	42,7	96,8	36,7	94,0	44,9	94,4	47,5	91,6	38,9	65,1
Arina	93,6	33,0	88,0	23,7	88,0	31,2	86,3	50,4	90,3	25,1	100,0	34,0	93,2	26,0	90,4	46,2	87,5	31,8	97,0	56,1	63,6
Riband	98,3	46,1	97,1	23,2	97,5	28,6	100,0	65,0	98,8	33,6	99,0	29,2	95,5	36,5	95,8	32,4	98,5	33,4	98,6	44,3	67,6
Synthetic M3	76,2	22,0	75,1	27,2	60,2	25,5	97,5	58,6	87,6	31,8	83,7	28,5	78,9	31,2	83,0	37,3	94,5	26,6	97,0	41,8	58,2
Balance	98,9	37,8	98,8	32,9	100,0	35,3	99,5	51,8	99,0	20,3	99,3	33,7	100,0	35,8	99,3	36,2	100,0	38,5	99,3	43,9	68,0
Apache	97,1	28,0	85,4	22,9	86,5	28,9	97,0	47,5	94,6	21,0	94,0	42,4	94,6	35,6	98,0	48,0	97,0	51,5	97,9	39,8	65,4
Synthetic 6x	87,8	38,8	88,8	38,7	80,5	31,5	84,3	45,8	81,5	35,1	86,3	35,0	87,8	47,8	88,5	34,3	87,0	35,5	63,0	20,8	59,9
Klein Volcán	68,9	43,6	52,4	36,6	93,6	81,4	51,5	54,9	60,5	40,3	63,2	33,6	61,3	35,5	66,9	33,8	54,5	39,5	50,0	40,5	58,1
Klein Dragón	100,0	54,3	92,9	46,4	94,5	71,5	84,9	56,3	99,5	65,2	95,2	44,3	100,0	51,0	96,5	39,6	95,5	54,0	94,0	45,7	74,1
SRM Nogal	87,7	60,3	98,7	58,0	91,7	63,6	93,3	49,3	82,3	51,5	90,2	47,7	90,6	58,6	99,8	36,0	99,8	69,3	96,3	48,6	73,7
Buck 75 Aniversario	100,0	45,5	92,0	55,0	91,5	58,5	99,5	51,7	90,4	36,0	97,1	42,8	84,3	50,5	91,0	37,2	98,0	38,7	98,5	41,5	70,0
Buck AGP 127	99,4	35,8	100,0	47,4	97,6	41,2	97,1	53,6	100,0	46,4	100,0	45,0	99,0	46,9	99,0	40,5	96,0	48,5	100,0	37,9	71,6
Buck SY 110	86,8	31,5	100,0	30,9	80,1	36,4	81,1	43,2	72,1	44,8	82,0	28,2	85,5	44,0	72,0	31,0	73,1	48,2	73,2	40,7	59,2
Buck SY 200	96,7	58,1	79,5	49,3	88,7	45,2	95,5	70,6	88,7	56,7	87,7	48,4	94,7	64,2	87,8	52,9	97,5	40,8	92,6	56,9	72,6
Buck SY 300	98,1	49,1	70,5	41,7	79,2	56,3	97,0	50,2	96,7	53,7	99,3	41,5	97,6	39,6	93,9	49,5	95,5	61,5	97,8	39,2	70,4
Lenox	99,5	44,1	74,2	30,0	100,0	50,4	100,0	44,3	99,3	48,0	100,0	51,2	100,0	46,0	100,0	39,4	100,0	59,2	97,7	35,8	71,0
BioINTA 2004	97,4	38,1	94,0	39,3	81,8	43,3	99,0	45,8	97,6	49,2	100,0	38,9	90,5	37,0	95,7	25,5	100,0	48,8	98,8	32,7	67,7
BioINTA 3005	98,6	32,5	100,0	34,4	93,9	33,7	95,3	53,7	94,4	39,3	96,8	46,5	96,3	29,1	99,5	41,0	99,5	51,4	97,4	37,7	68,6
Promedio		68,1		63,1		68,7		72,0		66,8		65,7		67,9		67,3		69,2		67,9	

Valores en verde indican resistencia completa (valores < LSD interacción A × C: 24,2 %), amarillo indica resistencia parcial y negro reacción de susceptibilidad.

Resistencia en estado adulto

En estado adulto el análisis de varianza mostró efectos altamente significativos ($P < 0,001$) de las líneas/cultivares, aislamientos y las interacciones línea/cultivar \times aislamiento y línea/cultivar \times ensayo para las dos variables analizadas (N y CP). Adicionalmente, para la variable CP también resultó altamente significativa la interacción triple ensayo \times aislamiento \times cultivar, mientras que para N el factor ensayo presentó significancia ($P = 0,05$) (Tabla 3).

En estado adulto se observó una mayor correlación entre las variables N y CP (0,72), en comparación con lo sucedido en plántula. Como consecuencia, la discriminación de cultivares en función de su comportamiento frente al patógeno fue similar considerando ambas variables. En este estadio, el aislamiento FALP12005 resultó el más agresivo para ambas variables N (46,8 %) y CP (18,4 %), mientras que FALP07505 presentó los valores más bajos de N (28,3 %) y CP (3,9 %), considerando el promedio de los genotipos y experimentos. Adicionalmente, los cultivares Synthetic M3 y SRM Nogal presentaron los menores valores de N (19,9 y 19,7 %) y CP (0,9 y 0,6 %), dentro de líneas diferenciales y cultivares argentinos, respectivamente. Contrariamente, Estanzuela Federal y Lenox con valores de N de 80,5 y 67,5 % y de CP de 40,1 y 32,9 % fueron los cultivares más susceptibles dentro de cada uno de los grupos, para el promedio de los aislamientos y experimentos (Tabla 6).

Por otro lado, dentro de las líneas diferenciales, la totalidad de cultivares sintéticos (Synthetic M3, Synthetic 6x, Synthetic N y Synthetic W7984), presentaron resistencia completa a la mayoría de los aislamientos utilizados (Tabla 6). Dentro de este grupo también se destacaron por presentar resistencia completa frente a un importante número de aislamientos los cultivares TE9111, K K 4500, Tadorna y Apache. Por su parte, los cultivares SRM Nogal, BioINTA 3005 y Buck SY 110 fueron los que presentaron mayores interacciones con resistencia completa frente a los aislamientos del patógeno. Respecto de la resistencia parcial, considerando N y CP simultáneamente, los cultivares Tonic, Oasis y Suvillan mostraron este tipo de resistencia frente a 5 de los 10 aislamientos utilizados. Adicionalmente y considerando la variable CP, los cultivares Salamouni y Balance presentaron resistencia incompleta frente a 3 aislamientos (Tablas 6 y 7). Finalmente, dentro de los cultivares nacionales se destacaron Klein Dragón, Buck 75 Aniversario, Klein Volcán y Buck SY 110, los que presentaron resistencia parcial frente a numerosos aislamientos del patógeno para las dos variables y años considerados.

Tabla 6. Medias de Cobertura Picnidial para la interacción línea/cultivar × aislamiento en 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales en estado adulto frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* y dos años evaluados.

Aislamiento /Cultivar	FALP03305		FALP21507		FALP10005		FALP07505		FALP12005		FALP24807		FALP09305		FALP07905		FALP09905		FALP03405		Promedio
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	
Bulgaria 88	36,0	21,0	1,6	1,3	7,3	5,9	2,2	1,7	1,8	1,5	3,0	2,4	1,6	1,3	1,1	0,9	1,0	0,8	16,3	13,1	6,1
Oasis	41,9	33,8	0,0	0,0	9,3	4,8	20,5	9,9	16,3	13,1	12,0	9,7	8,3	6,7	12,3	9,9	5,7	4,6	24,1	19,4	13,1
Suvillan	34,2	27,6	1,1	0,9	5,0	4,0	5,2	4,2	18,9	15,2	13,9	11,3	7,0	5,6	17,5	14,2	18,0	14,5	21,2	17,1	12,8
Veranopolis	6,0	2,1	0,0	0,0	2,3	1,9	1,6	1,3	2,3	1,9	14,4	11,7	4,3	3,5	9,1	7,3	0,1	0,1	6,6	5,3	4,1
Israel	44,1	35,6	2,0	1,6	3,8	3,0	2,7	2,1	13,5	10,8	19,7	15,8	2,9	2,4	12,2	9,8	0,9	0,7	8,4	6,7	9,9
Tadinia	17,0	9,0	0,2	0,2	0,9	0,7	1,2	1,0	1,0	0,8	0,0	0,0	1,2	1,0	4,9	3,9	0,1	0,1	6,8	5,5	2,8
Tadorna	13,0	11,0	1,5	1,2	0,2	0,2	1,5	1,2	0,1	0,1	2,1	1,7	0,9	0,7	2,9	2,3	0,8	0,6	0,6	0,5	2,2
Synthetic N	9,0	8,0	2,3	1,8	0,0	0,0	1,6	1,3	0,6	0,5	0,3	0,3	2,3	1,8	0,9	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6
Shafir	19,3	15,5	26,3	21,1	14,3	11,5	1,6	1,3	39,8	32,0	7,6	6,2	4,4	3,5	5,9	4,8	14,1	11,4	5,4	4,3	12,5
Estanzuela Federal	66,1	53,3	35,1	28,5	39,1	31,8	15,4	12,4	65,9	53,1	49,5	40,0	10,8	8,7	60,8	49,2	50,6	40,8	50,2	40,5	40,1
Synthetic W7984	0,1	0,1	1,3	1,0	2,9	2,5	0,0	0,0	17,0	13,7	1,3	1,0	0,3	0,3	2,6	2,1	1,0	0,8	1,7	1,4	2,6
Courtot	45,0	36,3	5,9	4,7	2,9	2,3	1,7	1,4	6,8	5,4	5,5	4,4	14,6	11,6	10,0	8,0	4,7	3,8	2,7	2,1	9,0
Tonic	8,2	6,5	4,8	3,9	9,2	7,5	6,2	5,0	4,8	3,9	8,6	6,8	6,7	5,4	8,3	6,7	6,1	5,0	19,0	15,5	7,4
Kavkaz K 4500	7,2	5,9	4,3	3,5	6,3	5,1	0,1	0,1	2,0	1,6	5,2	4,2	6,3	5,1	6,4	5,2	0,2	0,2	2,0	1,6	3,6
TE 9111	0,6	0,5	2,4	1,9	2,6	2,0	2,3	1,8	24,0	19,4	0,9	0,8	4,3	3,4	3,6	2,9	0,0	0,0	0,1	0,1	3,7
Salamoumi	5,5	4,3	29,9	24,2	9,0	7,2	0,5	0,4	33,6	27,0	7,9	6,4	0,5	0,4	19,0	15,3	5,8	4,7	10,0	8,1	11,0
Arina	1,0	0,8	1,2	1,0	0,6	0,5	1,4	1,1	1,5	1,2	28,7	23,2	0,7	0,5	0,0	0,0	2,6	2,1	10,0	3,8	4,1
Riband	2,9	2,3	1,6	1,3	2,8	2,3	1,4	1,1	28,2	22,8	19,6	15,7	7,5	6,0	28,8	17,9	4,8	3,8	38,5	17,0	11,3
Synthetic M3	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,8	0,6	2,3	1,9	1,6	1,3	0,1	0,1	2,4	2,0	0,2	0,1	2,1	1,7	0,9
Balance	20,5	16,4	2,7	2,2	14,9	8,5	3,5	2,9	35,7	28,8	50,9	41,2	12,0	9,6	13,2	10,6	3,5	2,8	6,4	5,1	14,6
Apache	0,6	0,5	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,8	2,7	2,2	0,9	0,7	3,2	2,5	4,8	3,8	1,0	0,8	1,3
Synthetic 6x	1,3	1,0	0,6	0,5	1,9	1,5	2,9	2,3	0,6	0,5	0,6	0,5	0,0	0,0	4,0	3,3	1,9	1,5	1,3	1,0	1,4
Klein Volcán	37,6	30,3	18,5	14,8	4,0	3,2	1,2	1,0	33,3	26,7	9,1	7,4	10,7	8,6	17,2	13,9	17,5	14,1	1,9	1,5	13,6
Klein Dragón	11,3	9,2	10,0	8,1	23,2	18,8	5,2	4,2	41,7	33,7	23,7	19,3	4,3	3,4	23,7	19,1	16,8	13,6	13,5	11,0	15,7
SRM Nogal	0,2	0,2	0,1	0,0	1,6	1,3	1,3	1,0	0,0	0,0	1,4	1,1	0,0	0,0	0,4	0,3	0,2	0,1	1,3	1,0	0,6
Buck 75 Aniversario	22,1	17,8	18,1	14,6	36,9	29,8	4,9	4,0	39,1	31,5	22,0	17,6	17,7	14,3	68,5	22,5	13,5	11,0	8,7	7,0	21,1
Buck AGP 127	27,0	10,9	4,0	2,5	9,3	7,6	6,0	2,0	60,7	40,7	20,7	14,4	15,4	7,3	5,7	4,2	49,9	34,2	11,3	6,6	17,0
Buck SY 110	22,0	6,5	4,7	3,8	3,7	2,9	12,2	9,8	12,2	9,8	10,3	8,3	8,3	6,6	7,6	6,1	2,5	2,0	6,1	4,9	7,5
Buck SY 200	15,1	12,2	7,8	6,2	30,7	24,7	6,7	5,5	46,3	37,3	18,3	14,7	5,5	4,4	27,3	22,0	31,0	25,0	18,6	15,0	18,7
Buck SY 300	31,0	25,0	3,5	2,7	6,1	4,9	6,1	5,0	57,9	46,7	39,2	31,7	17,6	14,2	33,8	27,3	26,1	21,0	25,5	20,5	22,3
Lenox	41,6	33,8	20,2	6,2	25,5	15,2	42,0	5,9	27,9	17,2	69,5	37,3	68,5	28,6	70,0	25,0	62,0	28,9	17,7	14,3	32,9
BioINTA 2004	41,1	33,2	2,7	2,1	17,0	13,8	2,4	1,9	36,3	29,2	43,8	35,3	4,0	3,1	7,3	5,9	43,0	34,7	8,4	6,8	18,6
BioINTA 3005	16,0	7,2	3,2	2,5	0,9	0,7	1,4	1,1	5,3	4,2	4,7	3,7	3,4	2,7	2,1	1,6	1,8	1,4	2,6	2,1	3,4
Promedio	17,0		5,8		7,9		3,9		18,4		13,9		6,4		12,4		10,3		9,3		

Valores en verde indican resistencia completa (valores< LSD interacción E × A × C: 6,82 %), amarillo indica resistencia parcial y negro reacción de susceptibilidad.

Tabla 7. Medias del Porcentaje de Necrosis para la interacción línea/cultivar × aislamiento en 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales en estado adulto frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* y dos años evaluados.

Aislamiento /Cultivar	FALP03305		FALP21507		FALP10005		FALP07505		FALP12005		FALP24807		FALP09305		FALP07905		FALP09905		FALP03405		Promedio
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	
Bulgaria 88	41,0	31,3	29,2	18,8	32,9	24,3	23,4	17,3	80,0	19,7	26,5	21,6	22,7	17,1	30,3	23,0	27,0	20,4	53,2	40,0	30,0
Oasis	93,5	66,7	29,0	19,0	34,5	21,4	48,7	36,5	57,0	39,7	58,5	36,1	38,9	30,5	51,5	31,7	60,5	30,0	80,0	60,0	46,2
Suwillan	83,0	57,5	28,7	19,0	35,1	22,4	37,0	22,2	54,6	37,3	47,0	34,5	35,0	24,9	59,8	41,2	49,2	37,5	55,9	45,2	41,4
Veranopolis	37,2	21,8	24,3	15,5	27,0	19,0	24,4	18,4	29,5	21,2	53,8	36,6	32,5	23,3	38,9	28,1	26,0	18,5	32,3	24,7	27,6
Israel	37,5	80,5	28,7	20,0	30,5	22,0	26,0	20,9	26,1	37,5	37,9	40,0	35,2	23,5	42,0	31,0	23,6	19,2	32,0	25,8	32,0
Tadinia	34,5	29,0	23,9	18,0	24,4	18,0	24,9	17,2	27,1	19,2	25,4	17,0	33,4	18,3	29,9	24,3	30,9	20,5	32,5	26,2	24,7
Tadorna	37,1	31,0	27,6	17,3	25,9	17,0	28,3	19,7	27,1	18,0	27,2	16,1	30,4	17,1	35,5	27,2	24,2	18,8	41,0	33,0	26,0
Synthetic N	21,1	37,0	30,0	19,7	27,1	17,0	25,6	17,4	26,1	17,0	27,6	18,0	33,5	21,4	24,5	16,8	23,0	13,5	25,0	16,5	22,9
Shafir	90,5	49,1	90,0	54,5	88,0	49,0	35,9	20,4	93,2	78,5	45,9	29,0	81,5	20,0	35,3	25,0	51,4	36,5	34,8	24,3	51,6
Estanzuela Federal	100,0	93,5	77,5	57,9	81,3	62,6	82,5	37,0	100,0	92,9	95,4	77,3	57,4	42,5	100,0	91,0	95,6	81,5	98,6	85,5	80,5
Synthetic W7984	41,0	17,0	29,2	16,5	32,9	19,1	23,4	16,0	80,0	34,8	26,5	16,5	22,7	16,5	30,3	20,4	27,0	17,9	53,2	17,5	27,9
Courtot	81,2	62,8	27,7	22,4	29,1	22,7	23,3	17,2	36,2	29,4	32,7	22,8	56,5	42,2	35,1	27,9	36,4	25,5	81,0	19,7	36,6
Tonic	71,0	28,0	29,7	44,5	32,8	26,7	32,1	53,5	27,8	22,4	40,1	31,5	45,8	44,5	33,8	26,4	32,4	21,9	53,5	41,5	37,0
Kavkaz K 4500	30,7	34,0	29,9	22,3	33,4	31,0	23,7	18,2	23,7	17,2	27,0	20,5	31,0	30,0	31,5	24,5	22,3	15,3	23,5	17,2	25,3
TE 9111	22,5	16,5	25,0	19,3	29,8	21,1	26,8	19,9	54,9	41,9	24,5	17,3	26,1	19,7	27,3	20,9	24,7	17,5	23,0	17,0	24,8
Salamoumi	28,9	21,0	73,4	57,0	28,0	25,0	23,5	18,0	81,6	63,0	33,3	25,5	50,0	18,1	54,1	42,3	33,2	25,1	32,7	24,8	37,9
Arina	27,2	20,0	24,5	18,2	69,5	15,7	25,3	19,5	22,0	16,7	77,7	60,0	27,0	20,5	24,0	18,5	23,3	18,8	31,6	24,3	29,2
Riband	24,6	100,0	26,1	21,0	59,0	21,7	22,8	17,3	78,4	62,0	79,9	59,1	31,5	23,3	52,5	39,9	27,7	21,4	47,9	34,6	42,5
Synthetic M3	20,5	15,0	22,0	16,0	22,5	17,0	22,2	15,9	24,4	16,2	22,0	16,8	24,5	18,7	24,5	16,5	23,7	16,7	25,7	17,4	19,9
Balance	47,0	37,8	24,3	18,0	32,5	25,5	27,6	22,4	68,1	55,0	89,3	72,3	70,6	28,4	83,0	29,7	25,9	20,4	30,1	24,6	41,6
Apache	23,0	45,0	22,5	16,5	22,5	15,5	22,6	18,0	60,5	17,2	30,9	41,0	25,3	18,0	32,3	25,5	27,1	21,9	28,0	19,5	26,6
Synthetic 6x	25,0	13,5	22,5	17,0	27,0	14,0	22,7	15,9	34,5	15,5	25,2	18,5	23,0	15,0	25,6	19,5	39,5	13,0	28,9	18,0	21,7
Klein Volcán	74,2	57,2	48,0	35,6	26,5	18,3	26,1	17,7	73,0	52,2	32,1	23,1	33,2	24,2	42,5	34,3	43,4	33,2	60,5	15,7	38,5
Klein Dragón	34,3	27,8	35,4	25,1	23,0	41,2	25,4	18,7	79,3	61,9	52,3	38,1	24,0	18,1	52,6	41,5	42,6	32,5	39,0	28,8	37,1
SRM Nogal	22,8	15,2	24,6	15,1	25,5	15,9	22,0	16,5	22,0	15,0	26,7	15,3	21,3	14,0	37,0	15,4	20,5	13,7	19,5	16,0	19,7
Buck 75 Aniversario	49,2	39,7	45,6	35,3	68,5	53,5	80,5	18,1	75,0	58,8	51,1	39,5	41,1	31,3	54,7	43,5	38,0	28,3	33,4	24,8	45,5
Buck AGP 127	39,4	30,1	23,1	16,2	31,5	25,6	22,0	15,1	100,0	84,0	42,9	33,1	32,8	25,2	23,7	17,1	90,8	71,0	32,7	23,8	39,0
Buck SY 110	30,2	44,0	32,0	24,9	22,7	16,7	87,5	29,5	36,8	28,6	35,2	26,5	31,4	24,2	29,0	22,0	29,4	22,2	30,2	21,6	31,2
Buck SY 200	38,2	29,9	31,2	22,8	52,0	59,7	26,5	19,2	42,5	23,0	48,6	38,0	27,5	21,2	39,5	48,1	45,1	57,5	29,3	33,7	36,7
Buck SY 300	59,6	46,3	23,9	18,3	27,1	20,6	88,0	22,8	100,0	87,5	75,2	59,0	42,9	33,1	75,4	61,2	59,3	47,0	60,1	46,1	52,7
Lenox	100,0	85,5	63,0	20,7	72,6	36,2	91,5	23,2	73,5	36,6	84,5	66,9	100,0	94,5	63,4	49,8	100,0	83,5	62,0	43,0	67,5
BioINTA 2004	45,0	58,5	29,3	21,3	35,5	33,1	25,5	19,0	49,5	55,6	50,6	61,8	22,7	16,4	31,1	22,1	56,0	66,0	35,7	24,8	38,0
BioINTA 3005	33,0	36,0	21,5	15,0	22,6	16,0	24,5	16,6	26,8	20,8	22,8	18,0	82,5	17,2	24,7	17,2	22,6	17,0	24,2	19,0	24,9
Promedio	44,3	29,1	31,8	28,3	46,8	39,7	32,5	36,3	34,9	35,2											

Valores en verde indican resistencia completa (valores< LSD interacción A × C: 27,7 %), amarillo resistencia parcial y negro reacción de susceptibilidad.

El análisis comparativo de la respuesta de los genotipos en plántula y estado adulto, frente a cada uno de los aislamientos, resultó en correlaciones moderadas y significativas a bajas y no significativas, variando de $r= 0,27$ a $0,64$. Esto indica significativas diferencias en la expresión de la resistencia en varias de las líneas/cultivares entre ambos estadios. Es decir, que existen cultivares con comportamientos fenotípicos contrastantes al comparar ambos estadios de crecimiento. Esto se puede observar en la Figura 10, en donde por ejemplo el cultivar Balance, considerando el aislamiento FALP24807, presenta en estado de plántula valores de CP por debajo de 5 %, mientras que, en estado adulto, dicho valor asciende por encima de 40 %. Un comportamiento similar se observa en los cultivares Buck SY 200, Buck AGP 127 y Courtot frente a FALP12005, FALP09905 y FALP03305. También se puede observar cultivares con comportamiento opuesto, es decir, con niveles considerables de resistencia en estado adulto, pero sin mantener este comportamiento en estado de plántula. Así, por ejemplo, la línea diferencial TE9111, considerando el aislamiento FALP03305, muestra valores de CP cercanos a 0 (resistencia completa) en estado adulto y valores próximos a 20 % en estado de plántula. Sin embargo, también se puede observar cultivares con resistencia estable en ambos estadios de crecimiento. Dentro de este último grupo se encuentra por ejemplo las líneas diferenciales Veranopolis, Apache y Synthetic 6x y los cultivares argentinos SRM Nogal y BioINTA 3005.

Por otro lado, el análisis de conglomerados muestra que algunos cultivares argentinos presentan similares patrones de respuesta respecto de líneas diferenciales portadoras de conocidos *Stb* genes frente a los aislamientos del patógeno utilizados (indicado con color azul en la figura 11). A pesar de que este enfoque no permite afirmar con certeza la presencia de los mismos genes en cultivares argentinos de similar comportamiento a determinada línea diferencial, debido a la falta de líneas isogénicas portadoras de genes *Stb* individuales y la variabilidad de los aislamientos proporciona una primera aproximación del comportamiento genético común entre ambos grupos. En este contexto, cultivares argentinos como Klein Volcán y Buck SY 300 presentan una respuesta similar frente a los aislamientos del patógeno a la observada en Balance, el cual contiene los genes *Stb6* y *Stb18*. Adicionalmente, los cultivares Klein Dragón, Buck SY 110, BioINTA 3005, aparecen en el dendrograma mostrando similar comportamiento al observado en Oasis, Tadorna y Shafir. Dichas líneas diferenciales son portadoras de los genes *Stb1*, *Stb4* y *Stb6*. Un caso particular representa el cultivar SRM Nogal, el cual se comportó como

resistente frente a todos los aislamientos, de igual manera que las líneas diferenciales Apache y Synthetic 6x. Es interesante notar que, el conjunto de cultivares argentinos Buck 75 Aniversario, Buck SY 200, Buck AGP 127 y BioINTA 2004, es clasificado en un mismo grupo de acuerdo al comportamiento fenotípico, el cual no coincide con ninguna de las líneas diferenciales utilizadas en el estudio (indicado con color rojo en la figura 11). Dicho grupo, presenta como característica común, una gran cantidad de interacciones con los aislamientos del patógeno mostrando resistencia parcial a los mismos. Esto no solo estaría indicando la presencia de nuevas fuentes de resistencia, que potencialmente portarían nuevos genes o combinaciones de genes, sino que también la misma al ser de tipo parcial sería durable.

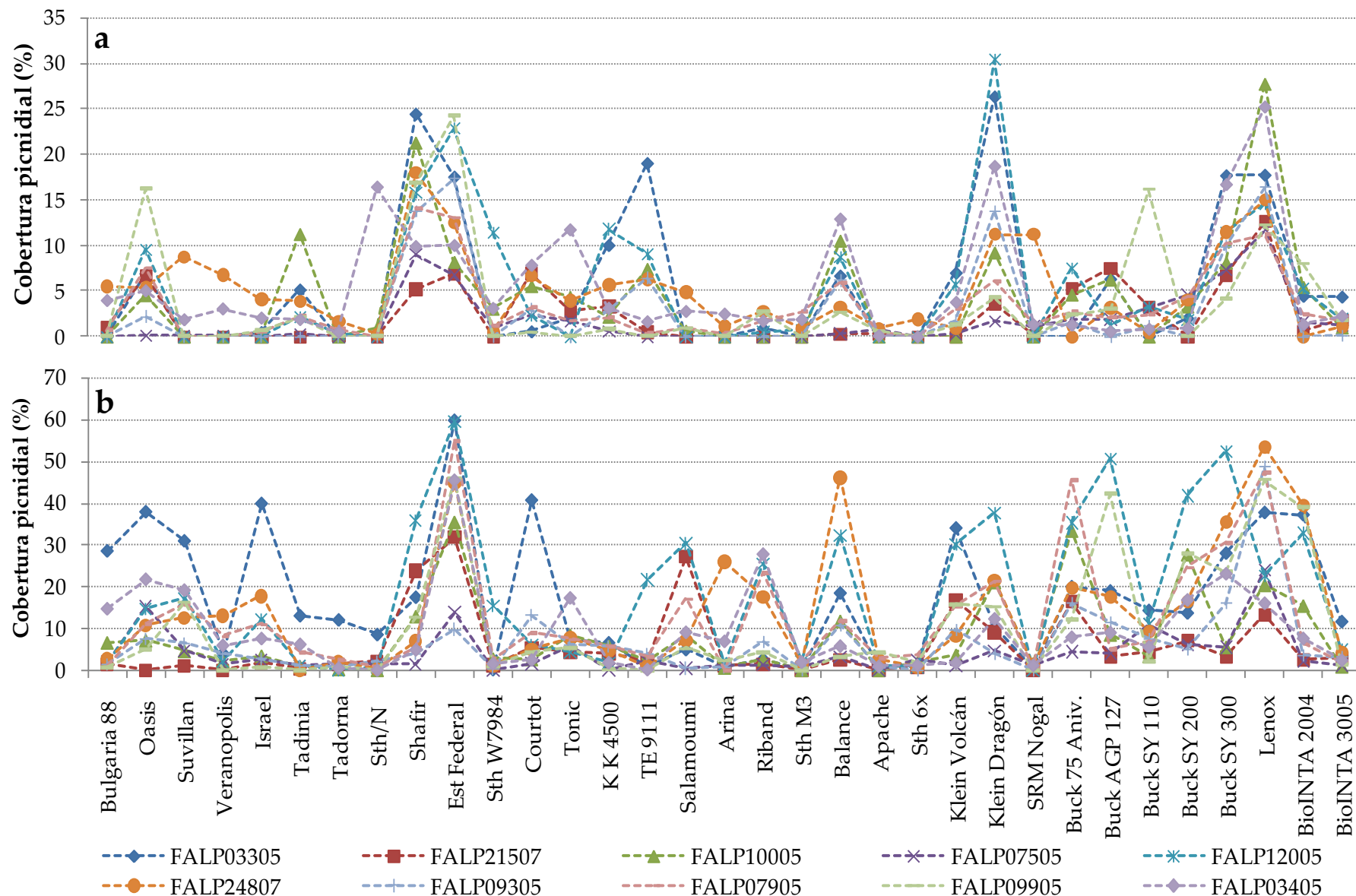


Figura 10. Comportamiento fenotípico de 22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* para el promedio de los experimentos en estado de plántula (a) y planta adulta (b). Sth: Synthetic.

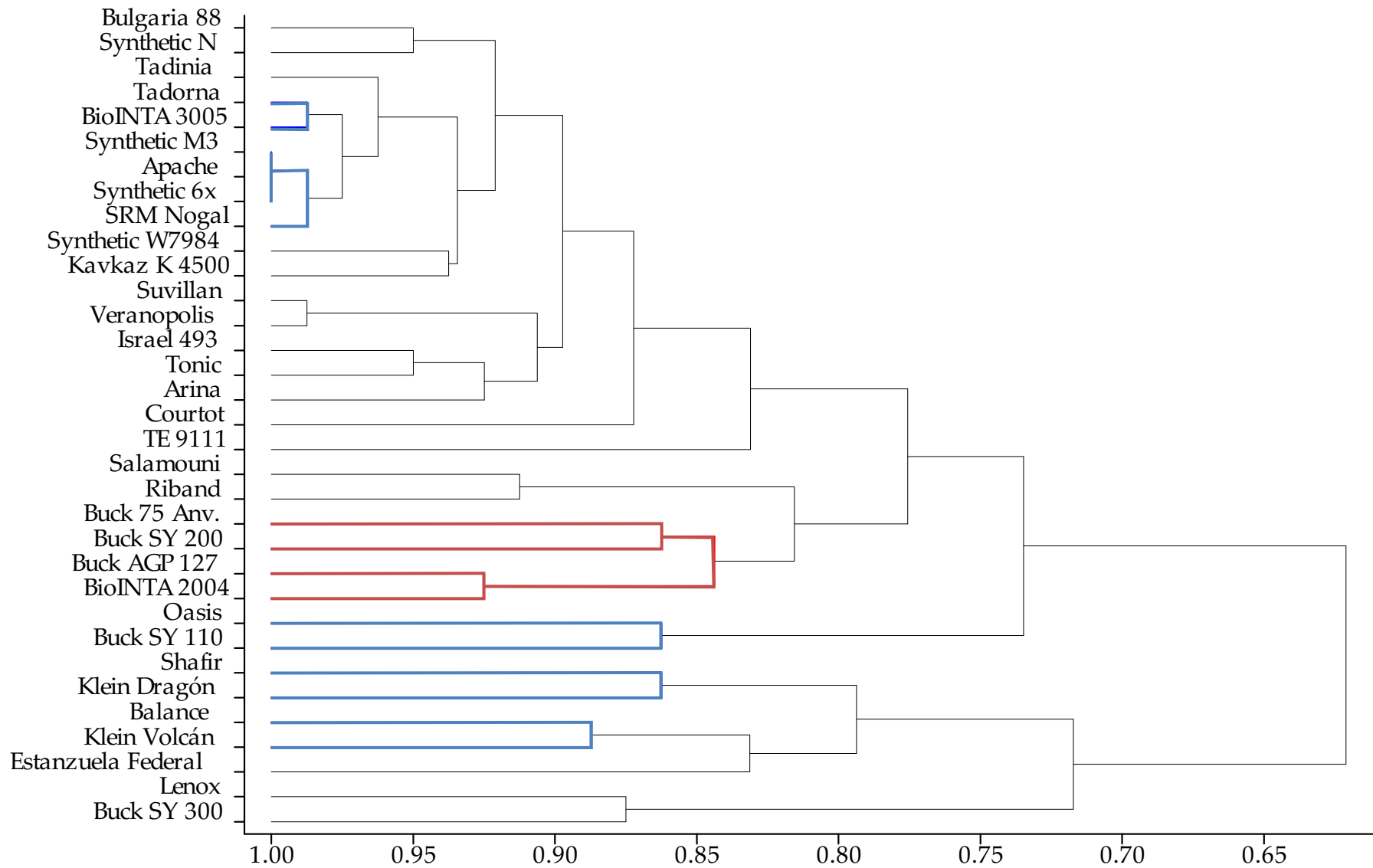


Figura 11. Dendrograma resultante de análisis de agrupamiento jerárquico de 22 líneas diferenciales y 11 cultivares argentinos en función del tipo de respuesta (Resistencia completa, parcial o susceptibilidad) frente a 10 aislamientos de *Z. tritici*. En azul se indican agrupamientos involucrando líneas diferenciales y cultivares nacionales, mientras que en rojo agrupamientos involucrando solo cultivares argentinos.

Discusión

Un fenotipado fiable de enfermedades foliares es de gran importancia ya que determina la veracidad de la caracterización fenotípica y el descubrimiento de la base genética determinante de la misma. La evaluación de los niveles de enfermedad a través de la estimación visual del área necrosada y/o el área cubierta por picnidios es la metodología actualmente más utilizada en mancha de la hoja del trigo (Adikari *et al.*, 2003). En este contexto, la CP es considerada como más adecuada, ya que evita efectos tales como la senescencia natural o la debida a otras enfermedades que pueden enmascarar los niveles finales de N. Sin embargo, en varios estudios, ambas variables han sido analizadas por estar altamente correlacionadas (Brown *et al.* 2001; Simón *et al.* 2005), resultando el N en estos casos, un buen indicador de la resistencia y de mayor facilidad en su evaluación. En este estudio en particular, esta última afirmación ha sido observada en las evaluaciones realizadas en estado adulto, donde ambas variables se correlacionaron en alto grado (0,72) y en general no presentaron diferencias en la discriminación de los cultivares en función de su respuesta a las mismas. Contrariamente, en estado de plántula se obtuvo una correlación sustancialmente más baja (0,18), resultado que atribuimos a los altos valores de senescencia registrados sobre todo en 2012, debido a altas precipitaciones registradas previo a las evaluaciones. La gran cantidad de precipitaciones ocurridas favoreció el contacto de las primeras hojas con la superficie del suelo, generando una rápida descomposición de las mismas y enmascarando en gran medida los niveles de necrosis generados por la enfermedad. Como consecuencia, CP permitió una mejor discriminación en la respuesta de los genotipos de trigo frente a los aislamientos del patógeno particularmente en este estadio.

Las inoculaciones artificiales utilizando aislamientos específicos del patógeno son dificultosas y representan un desafío considerable en términos de desarrollo de los experimentos, pero proporcionan una gran cantidad de información, la cual no puede ser lograda en infecciones naturales (Kema & vanSilfhout, 1997). El uso de aislamientos individuales bajo condiciones de campo es requerido cuando se quiere probar la efectividad y el espectro de un determinado gen de resistencia, y representa la única forma fenotípica fiable que ayuda al mejorador en la selección de nuevos genotipos de buen comportamiento (Tabib Ghaffary *et al.*, 2011). En este estudio, con el objeto de exponer y estudiar la respuesta de 33 genotipos de trigo a diversas variantes del patógeno, se utilizó un total de 10 aislamientos genéticamente diversos (Castillo *et al.*, 2010). La

diversidad genética de los aislamientos utilizados se vio reflejada a través de la variación en los niveles de agresividad observados en los mismos. Así, mientras FALP07505 resultó el aislamiento menos agresivo en ambos estadios evaluados, presentando interacciones avirulentas con la totalidad de los genotipos de trigo en los que fue inoculado; contrariamente FALP03305 y FALP12005 fueron los dos aislamientos con mayor agresividad en estado de plántula y planta adulta, respectivamente. En estado de plántula, 6 cultivares: Shafir, Estanzuela Federal, TE 9111, Klein Dragón, Buck SY 300 y Lenox mostraron reacción susceptible frente al aislamiento de mayor agresividad en este estadio. De similar manera, 11 cultivares: Shafir, Estanzuela Federal, Salamouni, Balance, Klein Dragón, Klein Volcán, Buck 75 Aniversario, Buck AGP 127, Buck SY 220, Buck SY 300 y BoINTA 3005 mostraron susceptibilidad frente a FALP12005 en estado adulto.

En este estudio, estuvieron representados 10 de los 15 grupos (14 clúster incluyendo aislamientos que amplificaron con los marcadores utilizados y un grupo adicional incluyendo los que no amplificaron) generados en función de la similitud genética por Castillo *et al.* (2010). Si asumimos que la diversidad genética del patógeno presente en las subregiones trigueras II sur y IV es bien representada por los 15 grupos generados en el estudio mencionado, resulta interesante indicar que dentro de los 33 cultivares utilizados, existe al menos uno con reacción resistente frente a cada uno de los aislamientos del patógeno. Adicionalmente, ha sido posible demostrar que muchos de los conocidos *Stb* genes presentes en líneas extranjeras son efectivos frente a variantes locales del patógeno. Así por ejemplo genes como *Stb5*, *Stb7* o *Stb11*, que han sido reportados como efectivos sobre variantes europeas del patógeno muestran también una gran efectividad y sobre todo un amplio rango de resistencia frente a aislamientos argentinos del patógeno. Más aún, ciertos cultivares como por ejemplo Courtot o Shafir que en la actualidad presentan bajos niveles de resistencia en Europa (Tabib Ghaffary, 2011), han mostrado resistencia frente a varios de los aislamientos utilizados en este estudio

Como ha sido mencionado, en el patosistema *Z. tritici/Triticum aestivum* coexiste la resistencia completa frente a determinados aislamientos del patógeno (Somasco *et al.*, 1996; Arraiano *et al.*, 2001; Brading *et al.*, 2002), conjuntamente con la resistencia parcial, la cual es considerada como de mayor duración (Simón & Cordo, 1997; Chartrain *et al.*, 2004). De acuerdo con esto, en la presente caracterización fenotípica se han observado ambos tipos de resistencia tanto en líneas diferenciales como en cultivares argentinos. En el grupo de diferenciales, las líneas Tadorna,

Arina, Riban, Synthetic M3 y Synthetic 6x fueron las que presentaron el mayor número de interacciones con resistencia específica en estado de plántula, mientras que en estado adulto nuevamente se destacaron Tadorna, Synthetic M3, Synthetic 6x y adicionalmente Kavkaz K 4500, TE9111 y Synthetic W7884. Estos resultados están de acuerdo con anteriores estudios, en los que por ejemplo Synthetic M3 portador del gen *Stb16*, ha sido reportado también como resistente a todos los aislamientos a los que fue probado (Tabib Ghaffary *et al.*, 2012). En el caso particular de Synthetic 6x, el cual presenta el gen *Stb5*, ha sido reportado como el genotipo más efectivo contra aislamientos europeos de *Z. tritici* y con sustanciales niveles de resistencia frente a un set global de aislamientos del patógeno (Arraiano *et al.*, 2001; Tabib Ghaffary, 2011). Esta efectividad sobre un amplio espectro de aislamientos observada en Synthetic 6x sugiere la presencia de varios genes adicionales como por ejemplo *Stb6*. El cultivar Arina portando los genes *Stb6* y *Stb15* también ha sido reportado como uno de los que presenta mayores niveles de resistencia (Brown *et al.*, 2001; Chartrain *et al.*, 2004). Por último, el cultivar TE 9111, ha sido descrito como el cultivar de mayor resistencia frente a *Z. triti* y se ha utilizado en gran medida como fuente de resistencia en Europa (Brown *et al.*, 2001).

Por su parte dentro de los cultivares nacionales fueron SRM Nogal y BioINTA 3005, los que presentaron el mayor número de interacciones con resistencia específica. De manera sorprendente, SRM Nogal presentó resistencia específica frente a 9 de 10 aislamientos en estado de plántula y frente a todos los aislamientos en estado adulto, con muy escaso desarrollo de síntomas. Un similar comportamiento en ambos estadios de desarrollo ha sido reportado para el cultivar Synthetic M3 por Tabib Ghaffary *et al.* (2012) portando el gen *Stb6* y como se menciona más adelante, es interesante observar que ambos cultivares son clasificados en el mismo grupo al tener en cuenta su comportamiento fenotípico. A pesar de que en general se considera la resistencia completa de menor duración relativa a la parcial, en el caso de SRM Nogal, sería interesante en futuros trabajos someterlo a nuevas variantes del patógeno, a fin de corroborar si mantiene el amplio espectro de resistencia observado en este trabajo. Tanto SRM Nogal como BioINTA 3005 no han sido anteriormente caracterizados frente a aislamientos argentinos de *Z. tritici*, por lo que, a partir de estos resultados, pueden ser considerados importantes nuevas fuentes de resistencia.

En referencia a la resistencia parcial, las líneas diferenciales en las que se observó mayormente ese comportamiento en estado de plántula fueron Balance, Oasis y Kavkaz K 4500; mientras que nuevamente Balance y Oasis, conjuntamente con Suvillan y Salamouni se destacaron como líneas diferenciales en estado adulto. Los resultados observados en Oasis concuerdan con lo reportados por Adhikari *et al.*, (2004) quienes demostraron que el mismo contienen el gen *Stb1*, proveniente de Bulgaria 88, el que forma parte de su genealogía y ha mostrado ser efectivo frente a un amplio espectro de aislamientos del patógeno en todo el mundo. También se ha reportado resistencia parcial utilizando aislamientos del patógeno de distintos continentes en los cultivares Balance y Salamouni (Tabib Ghaffary, 2011). Por otro lado, una importante cantidad de cultivares nacionales, incluyendo Klein Dragón, Klein Volcán, Buck 75 Aniversario, Buck SY 110y Buck SY 300 se destacaron por presentar frente a una gran cantidad de aislamientos resistencia parcial tanto en estado de plántula como planta adulta. De este grupo de cultivares, Klein Dragón, Klein Volcán, Buck 75 Aniversario han sido evaluados en un trabajo previo por Castillo *et al.* (2010) frente a otros aislamientos del patógeno y también han mostrado este tipo de resistencia. En tanto que Buck SY 110 y Buck SY 300 es la primera vez que son sometidos a una caracterización fenotípica de este tipo por nuestro grupo de trabajo y se desconocía información en ese sentido. La totalidad de estos cultivares resultan atractivos como nuevas fuentes de resistencia al patógeno, sobre todo por el tipo de resistencia que ha sido observada en los mismos. Este tipo de resistencia se espera que sea también efectiva contra nuevas variantes y de prolongada duración en el tiempo.

Por otro lado, en el presente estudio ha sido posible confirmar lo reportado por diversas investigaciones que sostienen que la resistencia en trigo frente a *Z. tritici* puede ser expresada específicamente en plántula o planta adulta (Simón *et al.*, 2005; Arraiano & Brown, 2006). La realización de los experimentos tanto en planta como en estado adulto demostró que la expresión de los genes de resistencia depende del estado fisiológico del cultivo, tal como ha sido demostrado en *Stb17* y otros genes *Stb* (Tabib Ghaffary *et al.*, 2011; Brown *et al.*, 2015). Así, cultivares como Balance y Courtot dentro del grupo de diferenciales y Buck SY 200, Buck AGP 127 como cultivares argentinos, han mostrado respuesta resistente en estado de plántula frente a determinados aislamientos del patógeno, pero altos niveles de severidad en estado adulto. Mientras que en TE9111 o Klein Dragón, por ejemplo, se observa un comportamiento opuesto, con mejores niveles

de resistencia en adulto. En estos casos, como propone Simón *et al.* (2005), cruzamientos de genotipos con resistencia en ambos estadios y selección, podría ser una estrategia a realizar a fin de alcanzar adecuados niveles de resistencia a lo largo de todo el ciclo de crecimiento. Respecto de la modulación de la expresión génica de la resistencia las líneas diferenciales Veranopoliz, Apache y Synthetic 6x y los cultivares nacionales SRM Nogal y BioINTA 3005 representan excepciones. Todas ellas han mostrado comportamiento resistente tanto en plántula como en planta adulta. Adicionalmente, el hecho de realizar el análisis de correlación individualmente para cada aislamiento ha permitido observar que el cambio de comportamiento de los cultivares frente a los dos estadios evaluados, es también dependiente del aislamiento del patógeno considerado. Así por ejemplo, mientras los aislamientos FALP03305, FALP24807 y FALP03405 mostraron correlaciones bajas (0,27; 0,32 y 0,29) y no significativas, lo cual indica que en promedio los comportamientos fenotípicos de los cultivares entre plántula y adulto han sido diferentes; contrariamente aislamientos como FALP07505, FALP07905 y FALP09305; presentaron correlaciones moderadas (0,64; 0,56 y 0,56) y estadísticamente significativas ($P < 0,001$).

La postulación inequívoca de genes comunes a dos genotipos a través de su comportamiento fenotípico, requiere de disponer de líneas isogénicas y testear las mismas frente a un mismo conjunto de aislamientos del patógeno. Dicha práctica es comúnmente utilizada en otras enfermedades como roya de la hoja, para la cual se dispone de una colección de líneas isogénicas ya desarrolladas (McIntosh *et al.*, 1995). En el caso de *Z. tritici*, aún no se dispone de tales materiales portadores de *Stb* genes, a pesar de que se están realizando esfuerzos tendientes a su obtención (Goodwin & Thompson, 2011). En consecuencia, la comparación y posterior agrupamiento de nuevas fuentes de resistencia respecto de líneas llevando genes conocidos, en función del tipo de respuesta que presentan frente a diversas variantes del patógeno representa una primera aproximación. En este estudio, el análisis comparativo del comportamiento fenotípico ha permitido determinar que algunos cultivares argentinos manifiestan patrones de resistencia similares a algunas líneas diferenciales. Como consecuencia, los mismos han coincidido dentro de un mismo grupo en el dendograma realizado y es posible que presenten los mismos genes o que posean otros genes que presentan una respuesta similar frente a los aislamientos argentinos. Así, los cultivares Klein Volcán y Buck SY 300 han mostrado similar respuesta entre sí frente a los 10 aislamientos utilizados en este estudio y también respecto al cultivar

Balance. Dicho cultivar de origen francés, presenta los genes *Stb6* y *Stb18*, pero debido a que cultivares como Shafir, que presenta sólo el *Stb6*, muestran un patrón de respuesta diferente, es probable entonces que la similitud en el comportamiento de los tres cultivares mencionados esté dada por el *Stb18* o un nuevo gen como similar comportamiento. Adicionalmente, el cultivar argentino SRM Nogal ha sido agrupado conjuntamente con las líneas diferenciales Apache, Synthetic 6x y Synthetic M3. Sobre este último, recientemente ha sido identificado el gen *Stb16*, el cual ha mostrado ser resistente frente a todos los aislamientos del patógeno testeados. Este mismo comportamiento ha sido observado en SRM Nogal, por lo que podría también ser portador del *Stb16*. Otros dos cultivares agrupados conjuntamente con Shafir y Tadorna son Klein Dragón y BioINTA 3005, dichas líneas diferenciales son portadores de *Stb6* y *Stb4* respectivamente. Algunas de estas aproximaciones serán próximamente confirmadas molecularmente por el grupo de trabajo, para lo que ya se dispone de los marcadores moleculares asociados a cada uno de los genes *Stb* identificados.

Por otro lado, también se observaron cultivares que difieren en su comportamiento fenotípico respecto del exhibido por la totalidad de líneas diferenciales utilizadas en este estudio. Los mismos han sido agrupados individualmente en el dendrograma incluyendo Buck 75 Aniversario, Buck AGP 127, Buck SY 200 y BioINTA 2004. Dichos cultivares han mostrado resistencia parcial frente a varios de los aislamientos testeados tanto en plántula como en estado adulto, y debido a su comportamiento fenotípico diferencial respecto a líneas con genes conocidos, es muy probable que lleven nuevos genes de resistencia. Como consecuencia pueden ser considerados como nuevas fuentes de resistencia durable y localmente adaptadas. Estas dos características, los convierten en materiales atractivos y posibles de implementar en programas genéticos tendientes a mejorar este rasgo. Sin embargo, se requieren trabajos adicionales tendientes a identificar los factores genéticos y mecanismos de resistencia presentes en los mismos.

En conclusión, el estudio de caracterización fenotípica llevado a cabo permitió demostrar que algunos de los genes *Stb* identificados en líneas extranjeras, también tienen efectividad sobre ciertas variantes locales del patógeno. Adicionalmente, ha permitido identificar materiales localmente adaptados presentando ambos tipos de resistencia frente al patógeno. Algunos de ellos exhibiendo resistencia a lo largo de todo su ciclo de cultivo, mientras que otros muestran un

comportamiento diferencial entre ambos estadios de desarrollo. En este último caso, cruzamientos y selección en ambos estadios podrían ser una alternativa a fin de lograr adecuado comportamiento en todo el ciclo. Por otro lado, ha sido posible observar que algunos de nuestros cultivares presentan similar comportamiento al de ciertas líneas diferenciales, puntualmente aquellas portadoras de los genes *Stb1*, *Stb4*, *Stb5*, *Stb6* y *Stb18*. Sin embargo, otras presentaron un comportamiento contrastante por lo que potencialmente portan nuevos genes. Dentro de este último grupo, algunos cultivares muestran resistencia parcial, la cual es considerada como de mayor durabilidad. Por este motivo, representa valiosas y nuevas fuentes de resistencia. Futuras investigaciones involucrando el desarrollo de poblaciones de mapeo y el uso de marcadores moleculares permitirían conocer los factores genéticos y mecanismos involucrados en la resistencia de dichos materiales localmente adaptados.

CAPÍTULO 3

RESISTENCIA GENÉTICA A *Z. TRITICI* EN UNA POBLACIÓN DE DOBLE HAPLOIDES DESARROLLADA A PARTIR DE CULTIVARES ARGENTINOS DE TRIGO

Introducción

El conocimiento de la base genética de la resistencia a *Z. tritici* es requerido a fin de mejorar la eficiencia en su mejoramiento (Chartrain *et al.*, 2004). En el caso particular de *Z. tritici*, la resistencia genética es compleja y menos estudiada que en otros patógenos del trigo tales como *Puccinia tritici* y *Blumeria graminis*. Como consecuencia, el número de genes *Stb* disponibles para su uso en programas de mejoramiento es sustancialmente menor (Komugi, 2011). Esto sumado a que la mayoría de los genes identificados muestran resistencia aislamiento-específica, representa una clara necesidad de descubrir nuevos genes posibles de utilizar en el mejoramiento del carácter (Tabib Ghaffary *et al.*, 2011).

La identificación de nuevos factores de resistencia requiere una primera instancia, donde un conjunto de genotipos determinado es caracterizado fenotípicamente utilizando variantes del patógeno. Una vez identificados materiales con resistencia frente a los aislamientos del patógeno utilizados, la disección genética de este tipo de rasgos complejos, requiere el desarrollo y correcta caracterización de poblaciones de mapeo (DH, RIL, F₂, BC, etc.), además del desarrollo de mapas genéticos. Particularmente en trigo, numerosas poblaciones de mapeo y sus respectivos mapas genéticos han sido desarrollados con el objetivo de identificar genes y QTL determinantes de rasgos agronómicos complejos (Nelson *et al.*, 1995; Pestsova *et al.*, 2000). La disponibilidad de mapas genéticos y marcadores moleculares asociados a factores de resistencia, permite que la selección fenotípica tradicional pueda ser asistida por marcadores, incrementando significativamente la eficiencia y efectividad en el mejoramiento por resistencia (Goodwin, 2007).

La acumulación de marcadores ligados a factores de resistencia es importante por incrementar tanto el espectro como los niveles de resistencia a *Z. tritici* (Tabib Ghaffary *et al.*, 2011). En este sentido, Chartrain *et al.* (2004) demostraron que algunas fuentes de resistencia a *Z. tritici* presentan varios genes, sugiriendo que la piramización de genes individuales en un mismo fondo genético es una estrategia válida y exitosa en el mejoramiento del carácter. Por lo tanto, resulta útil etiquetar con marcadores, nuevos genes de resistencia, los que pueden ser utilizados simultáneamente a través de estrategias de “stacking” en programas de mejoramiento comercial.

Como ha sido mencionado en el capítulo anterior de esta tesis, los factores de resistencia a *Z. tritici* actualmente conocidos, han sido identificados en cultivares de trigo extranjeros o especies emparentadas con *Triticum aestivum*. Particularmente en nuestro país, si bien algunos estudios de caracterización fenotípica han demostrado la presencia de resistencia parcial al patógeno en algunos cultivares nacionales como por ejemplo Klein Dragón, Klein Volcán, Buck 75 Aniversario, Buck SY 110, BioINTA 2004 (Simón *et al.*, 2005; Simón *et al.*, 2016 y Capítulo 2 de esta tesis), hasta el momento no se ha desarrollado ninguna población de mapeo tendiente a estudiar la base genética de la misma, a pesar de que tales cultivares representan una fuente genética adicional en la búsqueda de nuevos genes. Asimismo, aún se presentan numerosos interrogantes que incluyen: ¿cómo está condicionada esa resistencia? ¿cuántos son los genes o QTL que la determinan, son específicos o no específicos a los grupos de aislamientos que se han identificado? Resolviendo estos interrogantes sería posible piramizar genes y QTL a partir de materiales locales y obtener una resistencia a campo más efectiva y durable.

Desde el punto de vista epidemiológico, la resistencia parcial puede ser considerada como el resultado de varios componentes que operan en diferentes etapas del ciclo epidemiológico (Parlevliet, 1979). La combinación de estos componentes en una epifitía es lo que da lugar a la resistencia final observada a campo (Griffiths, 1978). Distintos cultivares pueden diferir respecto de tales componentes, presentando variabilidad en la resistencia a la infección, colonización, periodo de incubación, periodo de latencia, cantidad de picnidios, producción de esporas, etc. (Parlevliet & Kuiper, 1977). Cultivares con diferentes combinaciones de tales componentes pueden ser utilizados en el desarrollo de cruzamientos a fin de lograr mejores combinaciones de los mismos. En este sentido, Jeger *et al.* (1981) han demostrado que la combinación de cultivares presentando diferentes componentes de la resistencia, puede reducir los niveles de la enfermedad. Adicionalmente, se ha reportado que tales componentes son genéticamente independientes y que su control genético puede estar dado por unos pocos hasta varios genes (Nelson, 1978). Esto último indica que la combinación de alguno de estos componentes puede conducir al logro de resistencias más efectivas y duraderas (Simón & Cordo, 1998).

El efecto individual de cada uno de los componentes de la resistencia sobre el desarrollo de la epifitía puede diferir significativamente (Lancashire & Joneas, 1985). Adicionalmente, los mismos pueden tener influencia directa e indirecta (a través de otros componentes relacionados) sobre los

niveles de resistencia finalmente observada. En este sentido, resulta importante para la mejora genética tener una comprensión clara de la relación entre la resistencia genética a *Z. tritici* y sus componentes. Los coeficientes de correlación, a pesar de ser de gran utilidad en la cuantificación de la magnitud y dirección de las influencias de diversos componentes en la determinación de caracteres complejos, no indican la exacta importancia de los efectos directos e indirectos que tiene cada uno de ellos (Cruz & Regazzi, 1997). La metodología de análisis de coeficientes de sendero (Li, 1975), es frecuentemente utilizada por mejoradores a fin de identificar caracteres que son útiles como criterio de selección en la mejora de un determinado carácter. Esta metodología permite un examen crítico de factores específicos que dan lugar a una determinada correlación, particionado la misma en efectos directos e indirectos. Para su aplicación, se requiere trabajar con un diagrama lógico causa-efecto, construido a partir de los caracteres considerados. De esta forma puede ser empleado con el objetivo de desarrollar efectivas estrategias de selección.

Por otro lado, uno de los factores que más confunde en la determinación de la resistencia a *Z. tritici*, es la reportada interacción entre la misma y los caracteres morfo-fisiológicos altura de planta y ciclo de cultivo (Simón *et al.*, 2005). Numerosos trabajos han indicado incremento de la severidad en cultivares precoces y de baja estatura (Eyal *et al.*, 1987; Van Beuningen & Kohli 1990; Jlibene *et al.*, 1992; Camacho-Casas *et al.*, 1995). Arama *et al.* (1994) por su parte reportaron que las diferencias en ciclo tienen un efecto mucho mayor sobre la severidad de la mancha de la hoja que el carácter altura de planta. Diferentes estudios fenotípicos han asumido que la relación encontrada es debida a asociación genética entre los rasgos involucrados (Rosielle & Brown 1979; Danon *et al.*, 1982; Eyal, 1981; Baltazar *et al.*, 1990). A nivel de genes, dicha asociación ha sido reflejada por recientes estudios a través de la co-localización de QTL de resistencia a *Z. tritici* con loci asociados a altura de planta y ciclo (Eriksen *et al.*, 2003; Risser *et al.*, 2011; Goudemand *et al.*, 2013; Kollers *et al.*, 2013; Miedaner *et al.*, 2013). Sin embargo, en las mencionadas investigaciones el desarrollo de la enfermedad fue medido en la misma fecha para todos los cultivares, independientemente de su altura y ciclo fenológico. En acuerdo con Arama *et al.* (1999) y Simón *et al.* (2004, 2005), a fin de comparar la resistencia de un conjunto de cultivares y su asociación con precocidad y altura, la severidad de la enfermedad debería ser medida sobre el mismo estadio de desarrollo (no el mismo día cronológico). Esto es debido a que diferencias en niveles de severidad entre cultivares más precoces *vs.* más tardíos y/o más bajos *vs.* más altos pueden deberse a

diferencias en la edad de las hojas evaluadas como también a diferencias en la duración del periodo en el que las hojas estuvieron expuestas a la enfermedad. Estudios fenotípicos considerando este aspecto (Arama *et al.*, 1999; Simón *et al.*, 2005) concluyen que la asociación observada es principalmente debida a factores ambientales o epidemiológicos más que a asociación genética entre caracteres. Sin embargo, sostienen que la presencia de asociación genética puede depender del genotipo considerado y de la variabilidad genética de los caracteres involucrados, por lo que la misma debería ser tenida en cuenta.

Hipótesis

- Existe variabilidad fenotípica en la resistencia a tres aislamientos de *Z. tritici* entre 60 líneas doble haploides provenientes de la cruce de un genotipo resistente y otro susceptible.
- La expresión de la resistencia es dependiente del estadio fenológico considerado.
- Existe asociación y posible ligamiento genético entre la resistencia a *Z. tritici* y caracteres relacionados con el desarrollo.
- Los componentes de la resistencia presentan asociación y efecto significativo sobre los niveles finales de la misma.
- Los caracteres evaluados presentan herencia independiente y están determinados por numerosos genes.

Objetivos

- Evaluar los niveles de resistencia en estado de plántula y planta adulta de 60 líneas doble haploides frente a tres aislamientos de *Z. tritici* divergentes genéticamente.
- Evaluar si la resistencia se expresa específicamente en plántula, planta adulta o a lo largo de todo el ciclo del cultivo.
- Estudiar la asociación y posible ligamiento genético entre resistencia a *Z. tritici* y caracteres relacionados con desarrollo.
- Determinar la asociación y efecto de los componentes individual sobre los niveles finales de resistencia.

- Determinar el tipo de herencia que presenta cada uno de los caracteres evaluados y el número de genes involucrados en la determinación de cada uno de ellos.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se utilizaron 60 líneas doble haploides originadas a partir del cruzamiento de los cultivares argentinos Klein Dragón (moderadamente resistente) y Buck Brasil (moderadamente susceptible). Para su obtención, la F1 resultante, se hibridó con maíz y luego la progenie haploide generada se trató con colchicina siguiendo la metodología propuesta por Laurie & Bennett, (1988). Ambos parentales utilizados, fueron seleccionados en base a su comportamiento contrastante frente a diversas variantes del patógeno, en trabajos previos realizados por el grupo de trabajo. Particularmente, Klein Dragón presenta resistencia parcial a numerosos aislamientos provenientes de distintas áreas de la región triguera argentina (Simón *et al.*, 2005; Simón *et al.*, 2016). Esto ha sido confirmados frente a nuevas variantes del patógeno en el Capítulo 2 de esta tesis. Este tipo de resistencia es considerada de gran importancia en el mejoramiento, ya que es considerada como más duradera (Chartrain *et al.*, 2004). Conjuntamente con las líneas doble haploides se sembraron ambos parentales como control resistente y susceptible, respectivamente.

Diseño experimental

El experimento de campo fue sembrado el 28 de julio de 2014 en la Estación Experimental Julio Hirschhorn, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – Universidad Nacional de La Plata, bajo un diseño de parcela dividida con dos repeticiones (Fig. 12). La parcela principal representó los tres aislamientos del patógeno y la sub-parcela los dos parentales y las 60 líneas doble haploides. Para la siembra, se colocaron 15 semillas de cada genotipo separadas cada 2 cm en líneas, las líneas fueron separada cada 0,2 m por hileras de avena, a fin de disminuir el traspaso de inóculo (Fig. 7f). Las características del suelo y estrategias de fertilización fueron similares a las descriptas en los ensayos presentados en el Capítulo 2. Los datos meteorológicos (precipitación, humedad relativa y temperaturas) fueron registrados por una estación meteorológica Davis, situada a 100 m de los experimentos.



Figura 12. Experimento de campo población de doble haploides: **a, b, c, d, g y h**) diferentes estadios de crecimiento del cultivo, **e**) mochila empleada en la inoculación de los tres aislamientos del patógeno, **f**) colocación de sobres a fin de mantener la pureza de la semilla a cosechar y **i**) redes anti-pájaros.

Aislamientos de Z. tritici e inoculaciones

Para la caracterización fenotípica de la resistencia a *Z. tritici*, la población de mapeo fue inoculada con 3 aislamientos del patógeno genéticamente divergentes. Los aislamientos seleccionados denominados FALP00105, FALP23007 y FALP24307, habían sido previamente clasificados molecularmente en diferentes clúster (I, XI y XIV) por Castillo *et al.* (2010) y muestran respuesta contrastante frente a los dos parentales utilizados en el desarrollo de la población. La selección de aislamientos genéticamente divergentes se realizó con el objetivo de determinar si la resistencia observada en Klein Dragón varía en función del aislamiento considerado. En el experimento de campo se realizaron dos inoculaciones durante el ciclo del cultivo: en estado de plántula con dos hojas desplegadas (GS 12) (Fig. 7h), y en pleno macollaje (GS 23) (Fig. 7i). Las mismas fueron realizadas según lo descrito en los experimentos del Capítulo 2 (Pág. 42).

Evaluaciones fenotípicas

Las evaluaciones fenotípicas de N y CP a fin de estimar la resistencia genética en estado de plántula y planta adulta fueron realizadas de igual manera a la descrita en los ensayos presentados en el Capítulo 2 (Pág. 44). Adicionalmente, posterior a la primera inoculación (GS 12) se evaluaron los siguientes componentes de la resistencia:

- ✓ Periodo de incubación (PI): medido como el tiempo en días desde la inoculación hasta la aparición de clorosis (Fig. 13a y b).
- ✓ Periodo de latencia (PL): medido como el tiempo en días desde la inoculación hasta la aparición de picnidios (Fig. 13c y d).

En ambas determinaciones (PI y PL), debido a que los días necesarios para observar presencia de clorosis o picnidios en cada planta dentro de una línea fueron diferentes, se calculó un promedio ponderado de acuerdo al número de plantas que presentaron clorosis o picnidios en un determinado número de días. Las determinaciones fueron realizadas día por medio, comenzando y finalizando las mismas 7 y 37 días desde la inoculación.

- ✓ Picnidios por cm² (Pic.cm²): la determinación se realizó en macollaje, una vez que el desarrollo de picnidios había progresado. Para ello, se colectó la segunda hoja de tres plantas de cada línea y se cortó 1 cm² de lesión con presencia de picnidios en cada una de ellas. Posteriormente, en cada uno de los tres segmentos se determinó la cantidad de picnidios a través de una lupa binocular en laboratorio. Para facilitar el conteo, los segmentos de 1 cm² se montaron sobre una lámina de

plástico transparente presentando una cuadrícula de 2 × 2 mm (Fig. 13 e, f y g). De las tres determinaciones se realizó un promedio para caracterizar cada línea.

✓ Esporas por cm² (Esp.cm⁻²): la determinación fue realizada siguiendo la metodología descrita por Simón y Cordo, (1997). Cada segmento de 1 cm², una vez realizada la determinación de Pic.cm⁻², fue colocado en un tubo de plástico, al que se agregaron 5 ml de agua destilada con 0,1 % de Tween 20 (tensioactivo). Posteriormente, los tubos cerrados fueron colocados en un agitador mecánico conteniendo agua a 50 ° C, durante 30 minutos. Luego, se agregó 0,1 ml de lactofenol a fin de inhibir la germinación de esporas y lograr la tinción de las mismas, de manera de facilitar el posterior conteo. Finalmente, una alícuota de la muestra contenida en cada tubo fue utilizada para el conteo de esporas utilizando un microscopio estereoscópico. A partir del número determinado, se calcularon las esporas totales contenidas en cada uno de los tubos, lo que corresponde a 1 cm² de superficie con picnidios (Fig. 13h y i).

✓ Esporas por picnidio (Esp.pic⁻¹): se determinó como el cociente entre las Esp.cm⁻² y Pic.cm⁻².

Análisis estadístico de datos fenotípicos

la totalidad de caracteres evaluados fueron analizados a través de un ANAVA utilizando el software GenStat 12 Ed (VSN International, 2009). A partir de los cuadrados medios (CM) resultantes del ANAVA, se estimaron los componentes fenotípicos y genéticos de la varianza como: $\sigma^2g = (CML/CMe)/r$ y $\sigma^2p = \sigma^2g + (CMe/r)$; donde σ^2g denota la variancia genotípica, σ^2p la variancia fenotípica, CML cuadrado medio de las líneas, CMe cuadrado medio del error y r indica el número de repeticiones, respectivamente.

Para determinar la posible asociación entre la resistencia a *Z. tritici* y los caracteres morfo-fisiológicos AP y DAE, se realizó un análisis de regresión múltiple considerando la severidad (expresada como N y CP) como variable dependiente y AP y DAE como variables independientes, en estadio de plántula y adulto. Seguidamente, a fin de determinar si el efecto del ciclo sobre los niveles de severidad en estado de planta adulta se debía a la influencia diferencial del ambiente, las líneas fueron clasificados en función de la fecha de aparición de la HB en dos grupos de precocidad: precoces (71 a 85 días a HB) vs. tardíos (86 a 99 días a HB). Posteriormente, se calculó la temperatura, humedad relativa y precipitación media para cada uno de los dos grupos durante el tiempo de exposición de la hoja bandera y se analizó el posible efecto sobre los niveles de enfermedad observados en cada uno de ellos.



Figura 13. Determinación de los componentes de la resistencia a *Z. tritici*: **a** y **b**) comienzo de clorosis (Periodo de Incubación); **c** y **d**) aparición de picnidios sobre zonas necrosadas (Periodo de Latencia); **e**, **f** y **g**) materiales requeridos para conteo de picnidios por cm² y determinación de picnidios en lupa binocular; **h** y **i**) tubo con azul de bromofenol conteniendo las esporas presentes en 1 cm² de hoja y conteo de esporas en microscopio estereoscópico.

Se calculó la heredabilidad (h^2) de acuerdo con Singh y Chaudhary, (2000), utilizando la fórmula: $h^2 = (\sigma^2g/\sigma^2p) \times 100$. Adicionalmente, se utilizó la variancia genotípica de las líneas para estimar el número de genes determinantes de cada uno de los caracteres medidos en la población de mapeo. Para ello, se siguió la metodología de Mather & Jinks, (1971) asumiendo los supuestos de falta de epístasis aditiva, ligamiento y genes de similar efecto. De esta manera, el número de genes segregantes para cada carácter se calculó como: $(nd)^2/\sigma^2g$; donde nd representa el desvío de la línea más extrema respecto a la media poblacional y σ^2g la variancia genotípica.

Por otro lado, a fin de determinar si líneas con buen comportamiento frente al patógeno dentro de la población de mapeo, expresan la resistencia a lo largo de todo el ciclo de cultivo o sólo en uno de los estadios de crecimiento evaluados, se llevó a cabo un análisis de correlación utilizando los valores de CP estimados para cada aislamiento en estado de plántula y planta adulta. El análisis de correlación mencionado fue también realizado sobre al resto de las variables evaluadas. Esto último, con el objetivo de cuantificar la magnitud y el efecto que los diversos componentes tienen sobre los niveles finales de resistencia. Finalmente, los coeficientes de correlación obtenidos para cada comparación de variables, fueron particionado en efectos directos e indirectos a través de la aplicación del análisis de sendero (Li, 1975).

Resultados

El ANAVA reveló diferencias significativas para todos los caracteres evaluados entre ambos parentales y a través de las 60 líneas de la población de mapeo (Tabla 9). Adicionalmente, existió significativa interacción línea \times aislamiento para la severidad a *Z. tritici* y el ABCPE, expresadas como N y CP, como también en todos sus componentes. Esta interacción surge como resultado del efecto diferencial de los tres aislamientos utilizados en el estudio sobre las líneas incluidas en la población de mapeo. Como puede observarse en la Figura 15, líneas como la 23, 32 y 44 presentan similar comportamiento frente a los tres aislamientos del patógeno, exhibiendo bajos niveles de severidad a cada uno de ellos. Contrariamente, muchas otras líneas muestran comportamientos contrastantes en función del aislamiento considerado.

Resistencia per se

La resistencia a *Z. tritici* expresada como N y CP, presentó una significativa variación fenotípica tanto en plántula como en planta adulta (Tabla 10). En general se observó una distribución de tipo continua frente a los tres aislamientos del patógeno, por lo que no fue posible determinar una

clara proporción de segregación. En la Figura 14 se presenta la distribución de frecuencias para la variable CP en plántula y planta adulta, observándose líneas con niveles de severidad más extremos que los mostrados por los dos padres contrastantes. Estos resultados indicarían herencia de la resistencia de tipo poligénica, lo que resulta consistente con los niveles de resistencia parcial observados en Klein Dragón, pero además la presencia de algún factor de resistencia en el cultivar moderadamente susceptible Buck Brasil diferente de los de Klein Dragón.

Tabla 9. Cuadrados medios para ciclo, altura de planta, resistencia a *Z. tritici* y sus componentes en 60 líneas doble haploides inoculadas con 3 aislamientos del patógeno.

Fuentes de variación	Aislamiento (A)	Línea (L)	Aislamiento × Línea	Error
Grados de libertad	2	61	122	183
Plántula N	1896,4	86,9***	26,6**	17,2
CP	1789,8**	132,3***	22,4***	1,3
Adulto N	1883,4	808,2***	183,6***	91,7
CP	1140**	1267,8***	225,6***	9,3
ABCPE PN	3,8E+06	1,2E+06***	1,5E+05**	9,6E+04
ABCPE CP	1879505*	980957***	192852***	9050
Periodo de Incubación	8,5	15,5****	3,4***	1,8
Periodo de Latencia	3631**	81,1***	20,4***	5,9
Picnidios/cm ²	64618	28865***	18134***	9750
Esporas/Picnidio	3,37E+08**	2,18E+07***	1,54E+07***	4,62E+05
Esporas/cm ²	5,09E+13*	3,51E+12***	2,05E+12***	3,69E+11
Altura de planta	13,3	847,4****	11,3	9,2
Días a espigazón	0,3	208,7***	3,4	3,4

Niveles de significancia indicados con asterisco como: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Por otro lado, los coeficientes de correlación entre la severidad en estado de plántula y planta adulta, presentaron valores significativos pero moderados para cada uno de los aislamientos, variando entre 0,47 y 0,55. Esto indica que algunas líneas, frente a determinado aislamiento, presentan bajos valores de severidad a lo largo de todo el ciclo, como por ejemplo las líneas 6, 15 y 59 frente al aislamiento FALP00105; las líneas 3, 38 y 62 frente a FALP23007 y las líneas 3, 38 y 62 sobre FALP24307. Mientras que otras, sin embargo, muestran un comportamiento diferencial en ambos estadios (Fig. 15). Esto refleja la presencia de distintos tipos de genes, cuya expresión se manifiesta durante todo el ciclo del cultivo o a lo largo de diferentes etapas del mismo. Un resultado a destacar es que a pesar de la reportada interacción línea × aislamiento, las líneas 32, 44 y 46 mostraron muy buenos niveles de resistencia frente a los tres patógenos y en ambos estadios de desarrollo. Esto último, manifiesta la presencia de resistencia de amplio espectro.

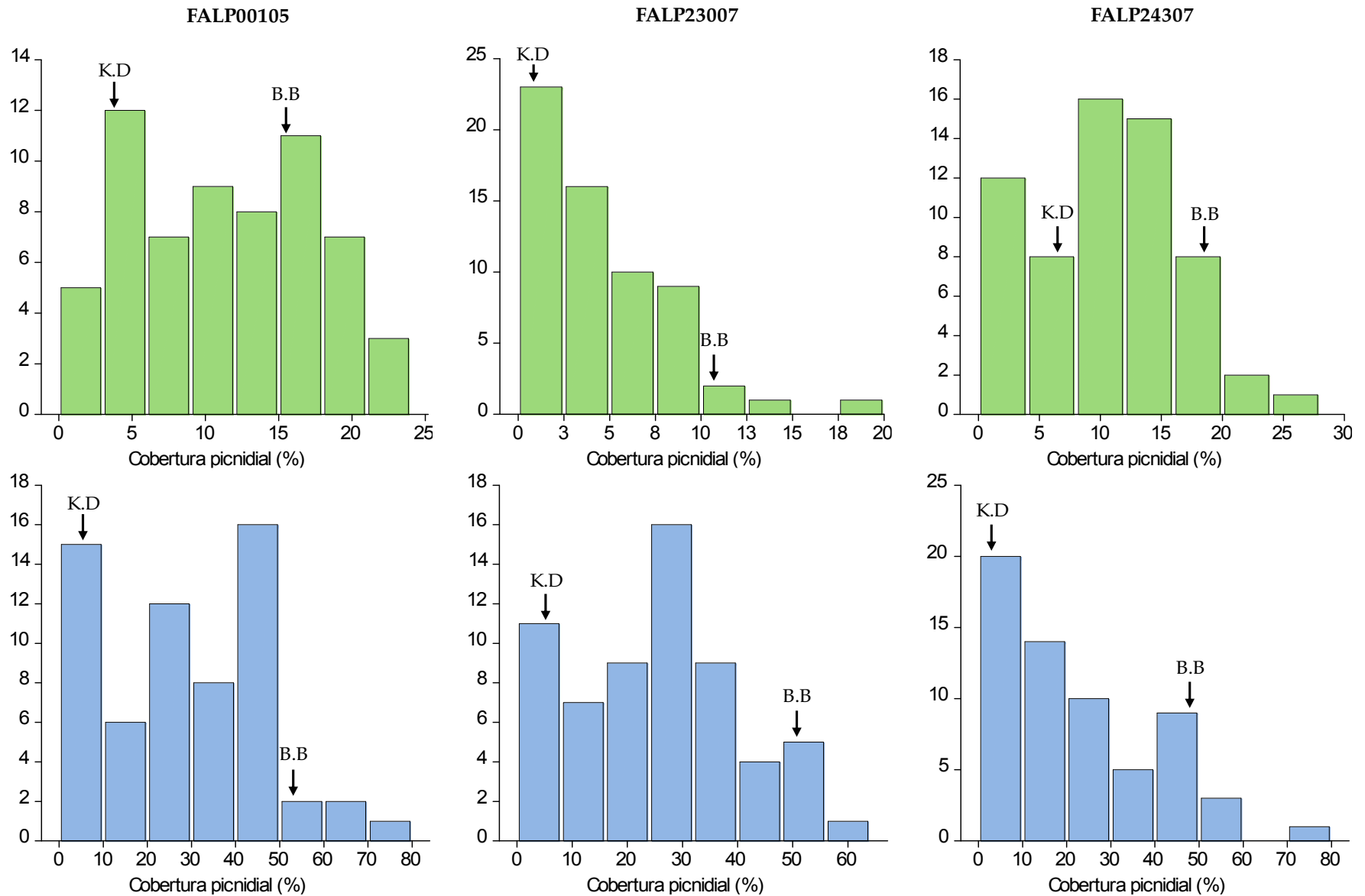


Figura 14. Distribución de frecuencia de la Cobertura Picnidial generada por tres aislamientos de *Z. tritici*, en estado de plántula (verde) y planta adulta (azul) en 60 líneas doble haploides de trigo. Las flechas indican el parental resistente K.D (Klein Dragón) y moderadamente susceptible B.B (Buck Brasil).

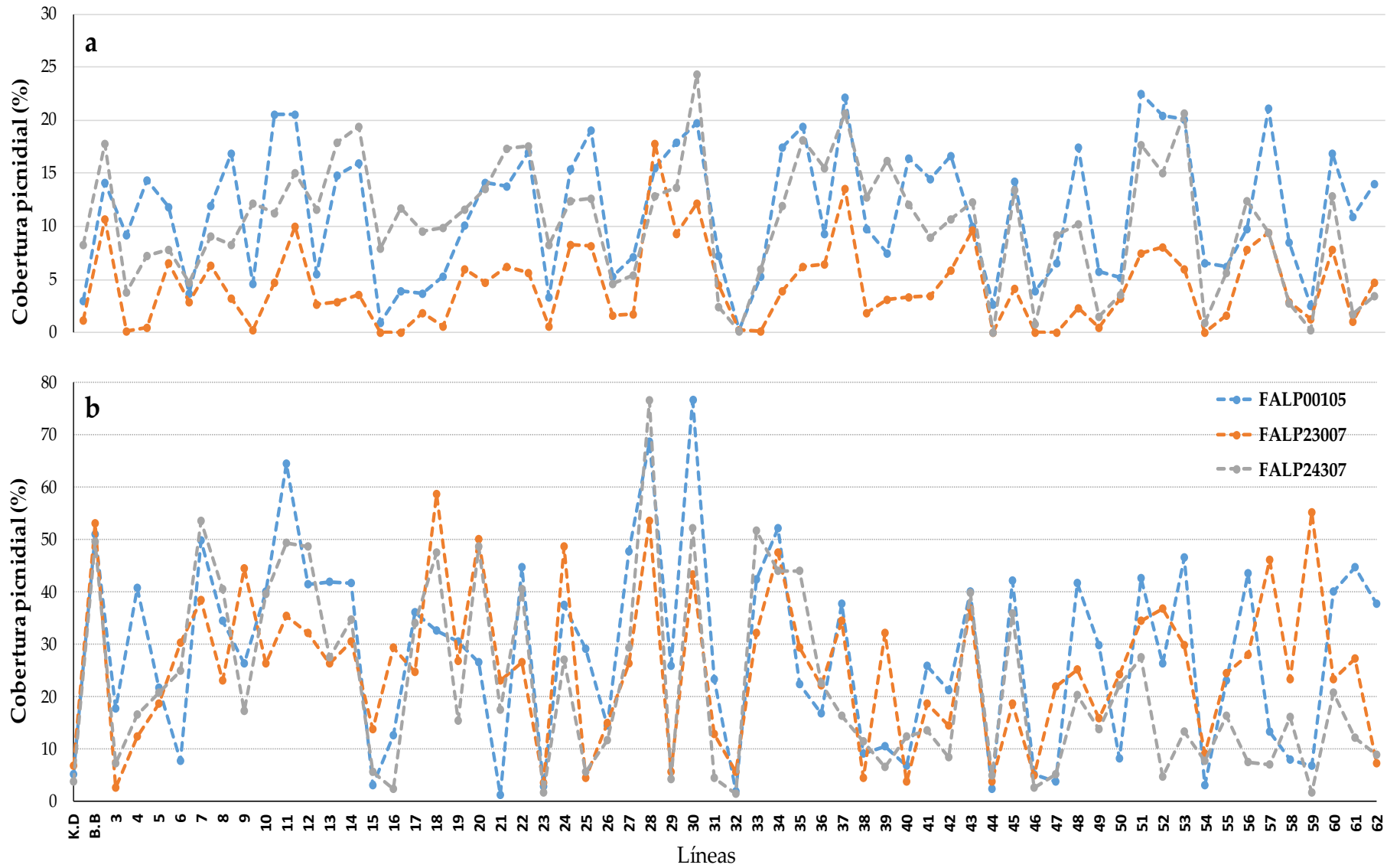


Figura 15. Comportamiento fenotípico de 60 líneas doble haploides y sus dos parentales: Klein Dragón (K.D) y Buck Brasil (B.B) frente a tres aislamientos de *Z. tritici*, en a) estado de plántula y b) planta adulta.

Tanto en plántula como en estado adulto el análisis de regresión múltiple presentó valores significativos de R^2 entre CP con AP y DAE en los tres aislamientos y también entre N con AP y DAE a excepción del aislamiento FALP00105 (Tabla 8). En todas las regresiones significativas, los coeficientes de regresión para DAE fueron también significativos, negativos y consistentes a través de los aislamientos y variables analizadas (excepto en N adulto para FALP23007, en la que fue positiva). Por el contrario, la variable AP mostró una respuesta menos consistente y sólo en la mitad de los casos analizados presentó coeficientes de regresión significativos. La regresión múltiple considerando ambas variables independientes, estadios y aislamientos, en general no explicó más del 20 % de la variación fenotípica observada. Esto estaría indicando que la asociación identificada solo involucra algunas de las 60 líneas doble haploides evaluadas.

Tabla 8. Regresión lineal múltiple entre las variables dependientes CP y N causados por tres aislamientos de *Z. tritici* en estado de plántula y planta adulta y las variables independientes DAE y AP en 60 líneas doble haploides de trigo.

Aislamiento	Carácter	Estadio	Parámetros ecuación			
			Constante	DAE	AP	R^2
FALP00105	N	Plántula	34,3**	-0,06	0,12*	0,03
		Adulto	115,6***	-0,30	-0,33**	0,05
	CP	Plántula	58,04***	-0,47***	-0,05	0,18***
		Adulto	205,20***	-1,68***	-0,32**	0,30***
FALP23007	N	Plántula	47,19***	-0,20***	0,02	0,13***
		Adulto	60,4	0,50*	-0,53***	0,17***
	CP	Plántula	35,36***	-0,25***	-0,10***	0,23***
		Adulto	114,5***	-0,75***	-0,27	0,12***
FALP24397	N	Plántula	31,12***	-0,07*	0,12**	0,06**
		Adulto	153,8***	-0,74**	-0,38**	0,11***
	CP	Plántula	42,80***	-0,38***	0,02	0,16***
		Adulto	168,70***	-1,47***	-0,19	0,27***

Niveles de significancia indicados con asterisco como: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Considerando que en estadio de plántula todos los genotipos estuvieron expuestos a las mismas condiciones ambientales (la totalidad se inoculó y evaluó el mismo día), la significancia de la regresión observada entre severidad y DAE, estaría indicando la presencia de asociación genética. Es decir, que existe ligamiento entre los factores genéticos determinantes de ambos caracteres.

En estado adulto, a diferencia de las evaluaciones en plántula, los genotipos fueron evaluados en diferentes fechas (de acuerdo a la aparición de la hoja bandera) y por lo tanto genotipos más precoces o más tardíos podrían haber estado expuestos a diferentes condiciones ambientales, las

que afectarían diferencialmente el desarrollo de la enfermedad. Como consecuencia, en este estadio, la asociación significativa observada entre la resistencia y DAE podría ser atribuida a dos causas (i) ligamiento genético (como en estado de plántula) o (ii) a efectos diferenciales de variables ambientales (temperatura, humedad relativa, precipitación, etc.) sobre líneas con diferente ciclo en la población de mapeo. Para determinar si existió efecto diferencial por parte del ambiente, los genotipos fueron clasificados en dos grupos de precocidad y se calculó la temperatura, humedad relativa y precipitación media para cada uno de ellos durante el tiempo de exposición de la hoja bandera a la enfermedad (30 días post aparición HB).

Considerando el periodo de 30 días posterior a la aparición de la HB en ambos grupos, tanto la temperatura y humedad relativa media calculada en ambos periodos, presentaron valores muy semejantes entre sí: 18,9 y 18,6 °C y 68 y 67 % para el grupo precoz y tardío, respectivamente. En el caso particular de las precipitaciones, en el grupo tardío estuvo expuesto a mayores precipitaciones durante el periodo de exposición de la HB a la enfermedad. La precipitación acumulada en dicho grupo durante el periodo de exposición de la HB resultó 22,8 mm superior al grupo más precoz (185,2 y 162,4 mm, respectivamente). Teniendo en cuenta el comportamiento conjunto de las variables ambientales, el grupo de cultivares más tardíos estuvo expuesto a condiciones más favorables para el desarrollo de la enfermedad (debido a las mayores precipitaciones). Sin embargo, en los resultados fenotípicos se observa un efecto inverso, es decir, los cultivares más tardíos presentan menores valores de severidad. Como consecuencia, nuevamente la asociación encontrada es adjudicada a un posible ligamiento genético de los factores determinantes de ambos caracteres. Nuevamente, al igual que en estado de plántula la regresión múltiple explicó menos del 20 % de la variación fenotípica, lo que vuelve a indicar que la asociación mencionada solo involucra algunas de las 60 líneas. Esto puede ser observado en la Figura 16, en donde líneas como la 16, 23 y 32, presentando los ciclos más largos de la población, muestran muy bajos valores de enfermedad. Sin embargo, también se observan algunas líneas con ciclos cercanos o por debajo a la media de la población (90 DAE), exhibiendo considerables niveles de resistencia. Líneas presentando este tipo de comportamiento fueron dependientes del aislamiento considerado. Así, por ejemplo, para FALP00105 fueron las líneas 3, 21, 46, 54 y 58 con ciclos por debajo de la media las que presentaron resistencia en ambos estadios evaluados.

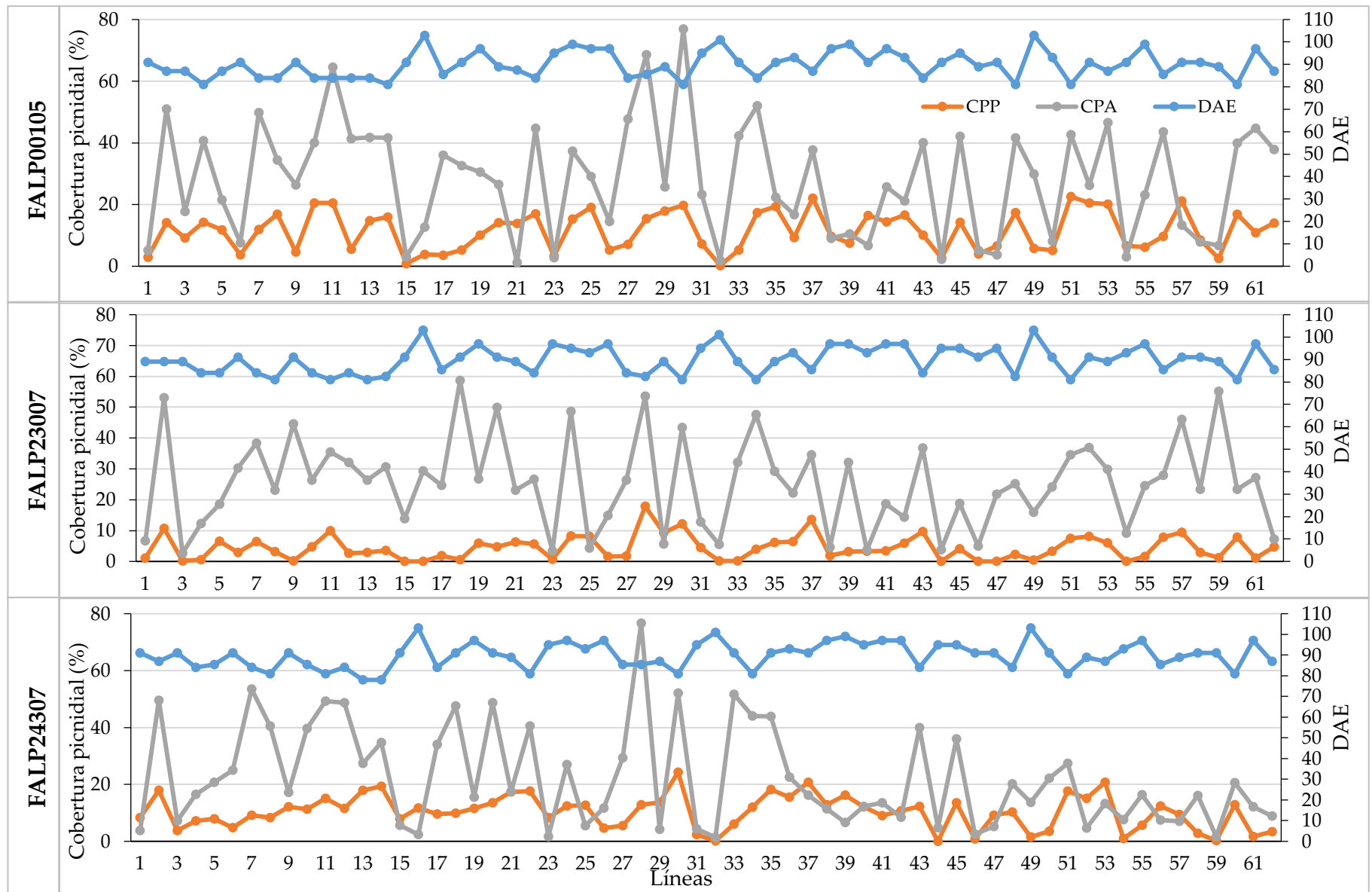


Figura 16. Relación entre la Cobertura Picnidial en plántula (CPP) y planta adulta (CPA) generada por tres aislamientos de *Z. tritici* y ciclo a espigazón (DAE) en 60 líneas doble haploides y sus dos parentales (1 y 2 Klein Dragón y Buck Brasil, respectivamente).

Un comportamiento similar se observa en las líneas 4, 22, 27, 56 y 62 frente al aislamiento FALP23007 y en las líneas 45, 56 y 61 frente a FALP24307. Adicionalmente, líneas de ciclo relativamente corto como las 7, 12, 27 y 34 presentan muy buen comportamiento en estado de plántula, pero son altamente susceptibles en estado adulto. Esto último estaría indicando que el ligamiento entre factores genéticos determinantes de la resistencia a *Z. tritici* y el ciclo del cultivo sería dependiente del estadio fenológico considerado.

Componentes de la resistencia

En los componentes de la resistencia se observó segregación transgresiva en la mayoría de ellos, lo que indica que también estarían determinados por múltiples genes. Sin embargo, sólo se observó con claridad una distribución continua en los componentes PI y Pic.cm⁻², mientras que en PL y Esp.pic⁻¹ el tipo de distribución observada dependió del aislamiento del patógeno considerado y en general con tendencia a ser sesgada a la izquierda (Fig. 17). Al igual que en la resistencia *per se*, existieron diferencias ampliamente significativas entre las dos líneas parentales y entre las 60 líneas que conformaron la población de mapeo (Tabla 10). Una excepción se observó para el componente Esp.pic⁻¹ frente al aislamiento FALP23007, en cuyo caso ambos parentales fueron clasificados en la misma clase fenotípica y no presentaron diferencias significativas.

El número total de genes involucrados en la base genética de los caracteres evaluados, presentó amplias variaciones entre los mismos. En todos ellos la base genética involucró al menos 4 genes. Para la resistencia *per se*, considerando ambos estadios, la cantidad de genes estimados varió desde 4 hasta 73. En todos los casos se estimó una menor cantidad de genes para la variable CP respecto de N. Así, el número de genes determinantes de la base genética de la CP varió desde 4 en el aislamiento FALP00105 hasta 14 frente a FALP23007, ambos casos en estado de plántula. Para N, se estimó un mayor número de genes, sin embargo, en esta variable los mismos mostraron efectos más pequeños (Tabla 10). Por su parte, los componentes de la resistencia mostraron una variación similar en el número de genes involucrados en su base genética, la cual osciló entre 4 y 69 genes. A su vez, dentro de los componentes de la resistencia, Pic.cm⁻² mostró en general un mayor número de genes en su control, mientras que en PL se observó la menor cantidad de los mismos. Por último, para ciclo y altura de planta se estimaron 5 y 8 genes como los determinantes genéticos de los mismos. En general, para cada variable considerada se observó una considerable variación en el número de genes estimados frente a los tres aislamientos utilizados en el estudio.

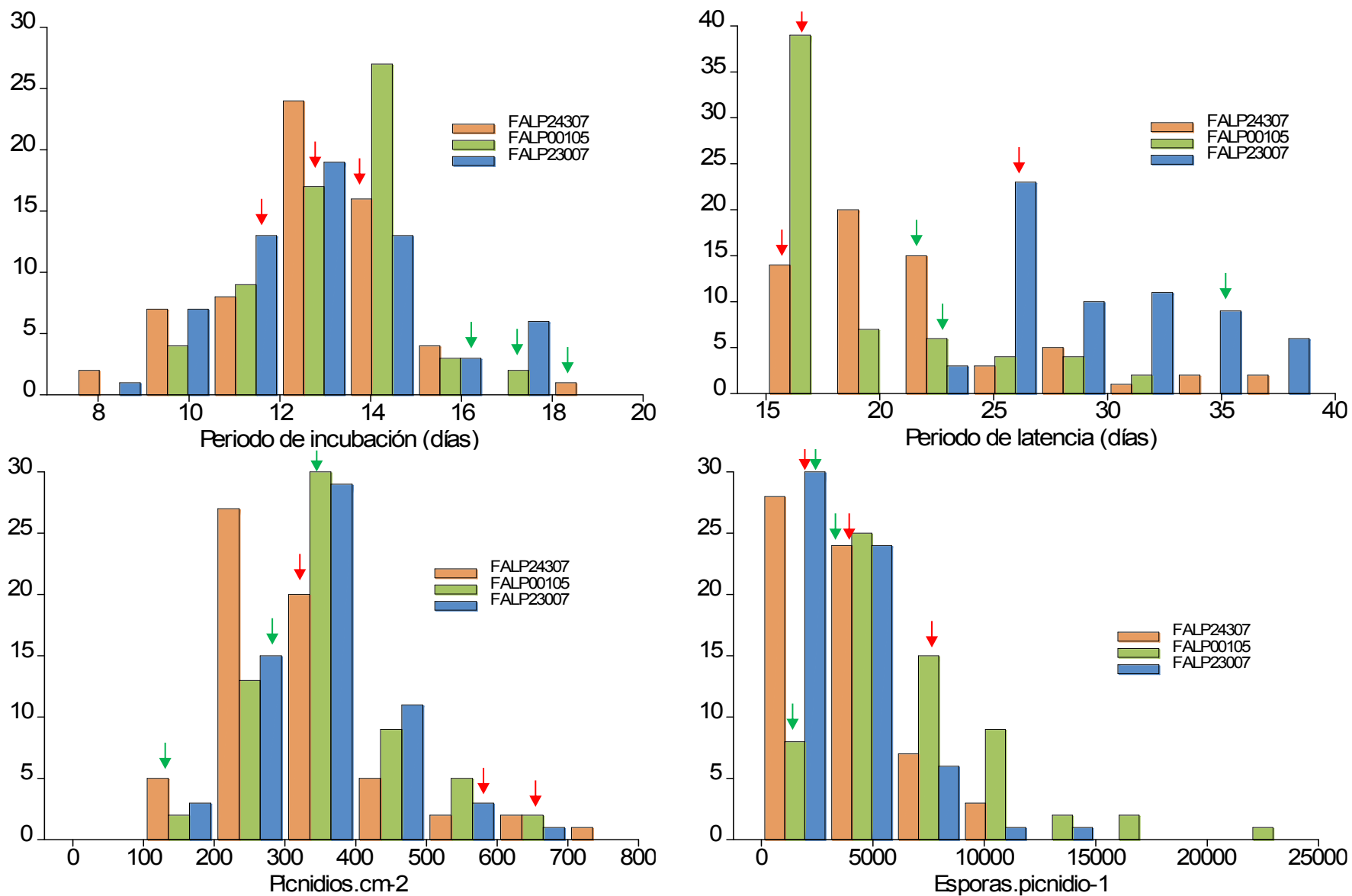


Figura 17. Distribución de frecuencia de los componentes de la resistencia (PI, PL, Pic.cm⁻² y Esp.pic⁻¹) frente a tres aislamientos de *Z. tritici* en 60 líneas doble haploides de trigo. Las flechas verdes indican el parental resistente K.D (Klein Dragón) y las rojas el moderadamente susceptible B.B (Buck Brasil).

Los valores de heredabilidad calculados a partir de la varianzas fenotípicas y genéticas estimadas también fueron variables para la resistencia y sus componentes. Respecto de la resistencia, mientras CPP y CPA mostraron valores superiores a 90 %, para la variable N se registraron valores más bajos, incluso inferiores a 40 %. Para los componentes de la resistencia se observaron valores moderados a altos, variando de 65 a 97 %, con la excepción de Pic.cm⁻² que presentó valores inferiores a 40 % frente a dos de los tres aislamientos del patógeno.

El análisis de correlación entre componentes de la resistencia, a través de los tres aislamientos, mostró que la mayoría de ellos no presentaron asociación significativa entre sí. Solo Esp.cm⁻² presentó significativa asociación con los componentes Pic.cm⁻² y Esp.pic⁻¹; especialmente con este último, los coeficientes de correlación fueron considerablemente elevados. Tales correlaciones son esperadas ya que el componente Esp.cm⁻² surge del producto de los dos componentes mencionados. Por otro lado, el efecto individual de los distintos componentes sobre la resistencia *per se* difirió significativamente y en muchos de ellos dependió del aislamiento considerado (Tabla 11). Para la variable CPP, solo los componentes PI y PL mostraron una correlación significativa en la mayoría de los aislamientos del patógeno. Adicionalmente, para esta variable también se observó una correlación significativa de los componentes Esp.pic⁻¹ y Esp.cm⁻², pero sólo frente al aislamiento FALP00105. Un similar efecto de los componentes de la resistencia se observó analizando la variable CPA. Mientras que para ABCPE CP, variable que cuantifica el desarrollo final alcanzado por la enfermedad, solo el PL correlacionó de manera significativa y consistente a través de los tres aislamientos del patógeno. Particularmente en el aislamiento FALP00105, al igual que en CPP y CPA, los componentes Esp.pic⁻¹ y Esp.cm⁻² también correlacionaron significativamente con el ABCPE CP. En el caso de la resistencia estimada a través del N, en ambos estadios y para el ABCPE como se esperaba solo el PI correlacionó de manera significativa.

La resistencia estimada en estado adulto presentó mayores correlaciones con el desarrollo final de la enfermedad (cuantificado a través del ABCPE), que la estimada en estado de plántula. A través del efecto sobre ambas variables, los componentes de la resistencia han contribuido de diferentes maneras y en distintos momentos sobre los niveles de severidad finalmente alcanzados. Para conocer el efecto directo e indirecto de cada uno de ellos y las variables asociadas a la resistencia sobre los niveles finalmente de enfermedad, a continuación, se presentan los resultados del análisis de coeficientes de sendero, aplicado sobre un diagrama lógico de causalidad (Fig. 18).

Tabla 10. Estadística descriptiva de la totalidad de caracteres evaluados en 60 líneas dobles haploides y sus dos parentales frente a tres aislamientos de *Z. tritici*: en azul se indican los estimadores de la resistencia, en verde sus componentes y en naranja altura de planta y ciclo.

Aislamiento	Carácter	Parentales			Población									
		K. Dragón	B. Brasil	Media	Min	Max	Media	LSD _{5%}	VG	VF	h ²	nd	d	Nº de genes
FALP00105	PNP	27,3	43,3	35,3	28,1	65,9	38,9	10,8	23,7	38,4	61,8	27,0	0,9	31
	CPP	3,0	14,2	8,6	0,2	23,9	11,6	2,6	38,6	39,4	97,8	12,3	3,1	4
	PNA	35,5	87,7	61,6	28,8	96,7	63,4	16,0	162,6	194,5	83,6	34,6	4,7	7
	CPA	5,1	51,0	28,1	0,5	77,4	28,3	6,3	327,5	332,4	98,5	49,1	6,7	7
	ABCPE PN	1629	3269	2449	1654	4782	2727	506	227329	259311	87,7	2055	111	19
	ABCPE CP	196	1522	859	47	1983	962	163	224018	227339	98,5	1021	219	5
	PI	17,6	12,2	14,9	7,5	19,0	13,2	2,8	1,8	2,7	65,4	5,8	0,3	19
	PL	24,6	17,6	21,1	12,5	33,2	18,9	5,4	14,7	18,3	80,0	14,3	1,0	14
	Pic.Cm ⁻²	316	679	498	147	823	360	230	4085	10712	38,1	463	8,8	52
	Esp.Pic ⁻¹	1637	7403	4520	830	24434	6709	1892	1,6E+7	1,6E+7	97,3	17725	911	19
	Esp.Cm ⁻²	5,2E+05	5,1E+06	2,8E+06	3,1E+05	8,8E+06	2,4E+06	1,8E+06	1,9E+12	2,3E+12	83,0	6,4E+06	3,0E+5	21
FALP23007	PNP	25,3	33,8	29,5	23,6	44,3	31,0	4,3	7,3	9,6	75,8	13,3	0,5	24
	CPP	1,1	10,7	5,9	0,0	18,9	4,3	1,6	14,6	15,0	97,8	14,5	1	14
	PNA	44,3	93,0	68,7	26,3	100,0	64,0	20,2	142,9	194,0	73,7	37,8	3,8	10
	CPA	6,7	53,1	29,9	1,9	62,1	25,5	7,2	209,6	216,1	97,0	36,7	5,7	6
	ABCPE PN	1991	3421	2706	1435	4298	2744	652	252671	305741	82,6	1554	163	10
	ABCPE CP	205	1587	896	64	1843	761	220	169503	175558	96,6	1082	157	7
	PI	16,8	11,3	14,1	7,4	19,6	12,9	2,5	3,9	4,7	82,9	6,7	0,6	11
	PL	35,0	25,6	30,3	21,7	37,0	29,4	4,1	15,5	17,6	88,2	7,7	2	4
	Pic.Cm ⁻²	267	542	405	128	833	351	223	3361	9603	35,0	482	7	69
	Esp.Pic ⁻¹	2564	1826	2195	816	13415	3760	1016	4558732	4687851	97,2	9655	472	20
	Esp.Cm ⁻²	6,8E+05	9,8E+05	8,3E+05	2,5E+05	6,1E+06	1,3E+06	9,7E+05	5,9E+11	7,0E+11	83,6	4,8E+06	1,2E+5	39
FALP24307	PNP	27,5	37,9	32,7	25,0	50,5	34,4	10,0	9,6	22,0	43,5	16,1	0,6	27
	CPP	8,3	17,9	13,1	0,0	25,5	10,2	2,4	33,4	34,1	97,9	15,3	2,2	7
	PNA	38,1	77,5	57,8	16,9	97,6	57,0	31,2	77,5	199,3	38,9	40,6	1,9	21
	CPA	3,8	49,5	26,6	0,7	80,7	22,1	4,5	308,6	311,1	99,2	58,6	5,3	11
	ABCPE PN	1879	2852	2366	1382	4488	2441	1005	57146	183449	31,2	2047	28	73
	ABCPE CP	349	1605	977	20	1943	770	145	187250	189891	98,6	1173	160	7
	PI	18,6	13,5	16,0	7,0	17,0	12,6	2,9	2,7	3,7	72,6	5,6	0,5	12
	PL	22,5	16,2	19,4	13,6	37,0	22,1	5,0	21,8	25,0	87,3	14,9	1,5	10
	Pic.Cm ⁻²	187	352	270	139	754	322	119	10490	12252	85,6	432	24	18
	Esp.Pic ⁻¹	2361	5081	3721	573	10562	3864	961	4958529	5074165	97,7	6698	740	9
	Esp.Cm ⁻²	4,4E+05	1,7E+06	1,1E+06	2,3E+05	5,6E+06	1,2E+06	5,6E+05	7,2E+11	7,6E+11	94,8	4,4E+06	1,6E+5	27
Altura	72,4	77,9	75,2	42,0	78,5	113,0	5,0	148,1	153,2	96,7	34	4,4	8	
Ciclo	90,3	87,7	89,0	78,0	89,8	103,0	5,0	36,4	37,8	96,2	13	2,8	5	

Tabla 11. Coeficientes de correlación entre la resistencia a *Z. tritici* y sus componentes frente a tres aislamientos del patógeno.

Carácter	ABCPE PN	ABCPE CP	PNP	CPP	PNA	CPA	PI	PL	Pic.Cm ⁻²	Esp.Pic ⁻¹	Esp.Cm ⁻²	
FALP00105	ABCPE N	-	0,03	0,36**	0,24	0,58***	0,08	0,32	0,08	0,21	0,06	0,03
	ABCPE CP		-	0,14	0,76***	0,58***	0,91***	0,18	0,61***	0,21	0,34**	0,45***
	NP			-	0,16	0,06	0,05	0,55***	0,15	0,03	0,01	0,03
	CPP				-	0,26*	0,55***	0,13	0,68***	0,14	0,25*	0,36**
	NA					-	0,57***	0,01	0,32	0,25	0,15	0,24
	CPA						-	0,14	0,43***	0,08	0,39**	0,41***
	PI							-	0,13	0,08	0,12	0,15
	PL								-	0,31	0,14	0,31
	Pic.Cm ⁻²									-	0,09	0,42***
	Esp.Pic ⁻¹										-	0,82***
	Esp.Cm ⁻²											-
	FALP23007	ABCPE N	-	0,14	0,03	0,19	0,81***	0,02	0,53***	0,18	0,21	0,16
ABCPE CP			-	0,09	0,51***	0,33**	0,96***	0,31	0,48***	0,10	0,13	0,11
NP				-	0,29*	0,03	0,13	0,15	0,06	0,01	0,08	0,03
CPP					-	0,06	0,42***	0,27*	0,76***	0,13	0,20	0,24
NA						-	0,28*	0,39**	0,11	0,24	0,09	0,12
CPA							-	0,35**	0,42***	0,05	0,03	0,00
PI								-	0,31*	0,02	0,09	0,06
PL									-	0,17	0,09	0,15
Pic.Cm ⁻²										-	0,02	0,30*
Esp.Pic ⁻¹											-	0,92***
Esp.Cm ⁻²												-
FALP24307		ABCPE N	-	0,07	0,39**	0,253*	0,55***	0,06	0,42***	0,19	0,05	0,15
	ABCPE CP		-	0,02	0,65***	0,57***	0,919***	0,36**	0,54***	0,08	0,10	0,10
	NP			-	0,00	0,10	0,03	0,42***	0,00	0,01	0,02	0,01
	CPP				-	0,18	0,4**	0,40**	0,70***	0,12	0,21	0,22
	NA					-	0,67***	0,06	0,20	0,05	0,09	0,05
	CPA						-	0,26*	0,37**	0,02	0,04	0,01
	PI							-	0,21	0,14	0,12	0,19
	PL								-	0,23	0,24	0,25*
	Pic.Cm ⁻²									-	0,08	0,31
	Esp.Pic ⁻¹										-	0,88***
	Esp.Cm ⁻²											-

Niveles de significancia indicados con asterisco como: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

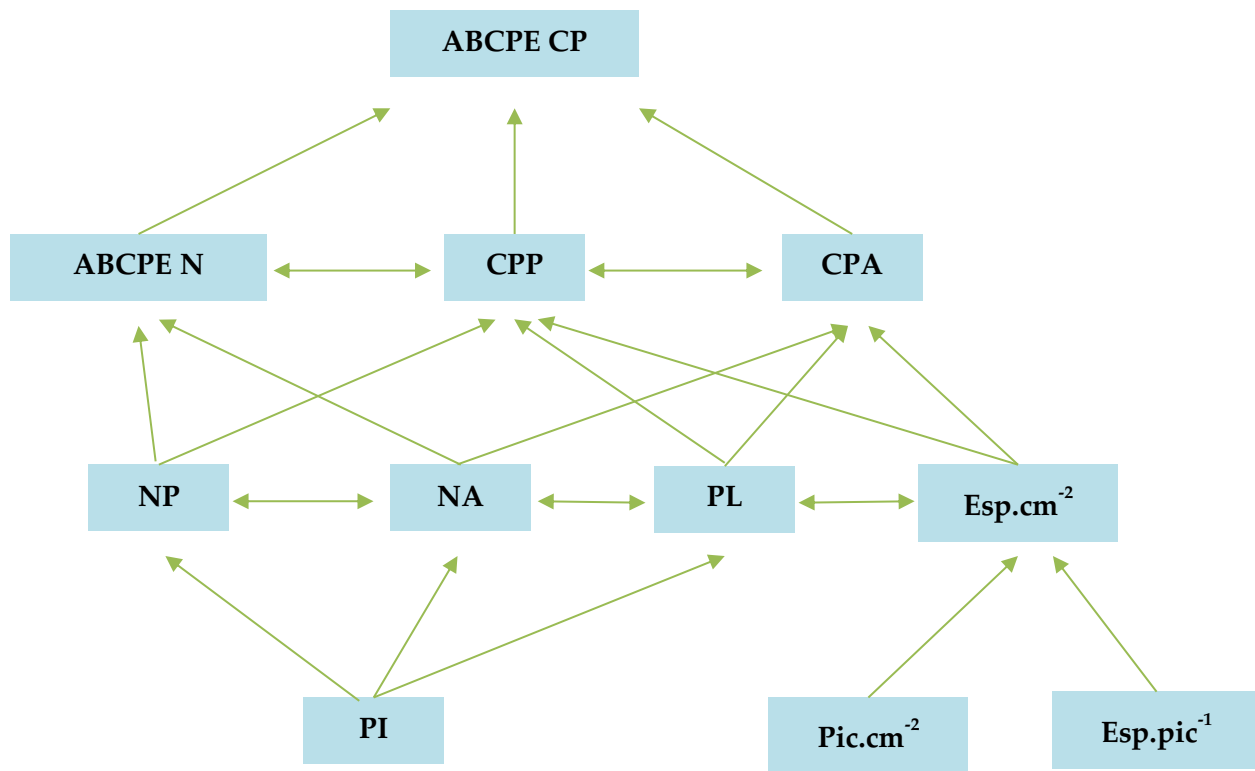


Figura 18. Diagrama de sendero describiendo la relación entre el nivel de enfermedad finalmente alcanzado (ABCPE CP), las demás variables asociadas a la resistencia (CPP, CPA, NP y NA), medidas a lo largo del ciclo del cultivo y los componentes de la resistencia (PI, PL, Pic.cm⁻², Esp.pic⁻¹ y Esp.cm⁻²).

El análisis de sendero se llevó a cabo sólo con aquellas variables que presentaron correlaciones significativas (Tabla 11). En este contexto, la variable CPA presentó los mayores efectos directos sobre los niveles finales de severidad, representados a través del ABCPE CP. A su vez, el efecto directo más elevado de la misma respecto del ABCPE CP se observó en el aislamiento FALP23007, que alcanzó el 90 %. Adicionalmente, a pesar que en los dos aislamientos restantes CPA presentó valores menores, los mismos fueron compensados por los efectos directos correspondientes a CPP. Como consecuencia el coeficiente de determinación (R^2) resultó cercano al 95 % en todos los aislamientos del patógeno.

Con respecto a los componentes de la resistencia, PL presentó los mayores efectos directos respecto a los demás componentes tanto frente a la resistencia en estado de plántula como planta adulta. Como era esperable los mismos fueron más elevados en estado de plántula. Contrariamente, en la variable Esp.cm⁻² se observaron mayores efectos directos sobre la resistencia estimada a estado adulto, indicando su mayor importancia epidemiológica sobre este estadio, a pesar de que resultó significativa sólo en el aislamiento FALP00105.

Tabla 12. Coeficientes de sendero mostrando los efectos directos e indirectos de los componentes de la resistencia a *Z. tritici* y el coeficiente de determinación de la variable que explican (R²) (ns: no significativo $P=0,05$).

ABCPE CP	Efecto de ABCPE N				Efecto de CPP				Efecto de CPA				R ²
	Directo	Vía CPP	Vía CPA	<i>r</i>	Directo	Vía ABCPE PN	Vía CPA	<i>r</i>	Directo	Vía ABCPE PN	Vía CPP	<i>r</i>	
FALP00105	ns	ns	ns	ns	0,37	ns	0,39	0,76	0,71	ns	0,20	0,91	0,92
FALP23007	ns	ns	ns	ns	0,13	ns	0,38	0,51	0,90	ns	0,05	0,95	0,93
FALP24307	ns	ns	ns	ns	0,34	ns	0,31	0,65	0,78	ns	0,13	0,91	0,94

CPP	Efecto de NP				Efecto de PL				Efecto de Esp.cm ⁻²				R ²
	Directo	Vía PL	Vía Esp.cm ⁻²	<i>r</i>	Directo	Vía PNP	Vía Esp.cm ⁻²	<i>r</i>	Directo	Vía PNP	Vía PL	<i>r</i>	
FALP00105	ns	ns	ns	ns	0,63	ns	0,05	0,68	0,17	ns	0,2	0,37	0,49
FALP23007	0,25	0,04	ns	0,29	0,75	0,02	ns	0,77	ns	ns	ns	ns	0,64
FALP24307	ns	ns	ns	ns	0,70	ns	ns	0,70	ns	ns	ns	ns	0,49

CPA	Efecto de PL				Efecto de Esp.cm ⁻²				Efecto de NA				R ²
	Directo	Vía Esp.cm ⁻²	Vía PNA	<i>r</i>	Directo	Vía PL	Vía PNA	<i>r</i>	Directo	Vía PL	Vía Esp.cm ⁻²	<i>r</i>	
FALP00105	0,32	0,06	0,16	0,54	0,19	0,10	0,12	0,41	0,51	0,10	0,04	0,65	0,51
FALP23007	0,45	ns	0,03	0,48	ns	ns	ns	ns	0,20	0,10	ns	0,30	0,25
FALP24307	0,37	ns	ns	0,37	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,14

Esp.cm ⁻²	Efecto de Esp.Pic ⁻¹				Efecto de Esp.Pic ⁻¹				R ²
	Directo	Vía Pic.cm ⁻²		<i>r</i>	Directo	Vía Pic.cm ⁻²		<i>r</i>	
FALP00105	0,44	0,03		0,47	0,38	0,04		0,42	0,52
FALP23007	ns	ns		ns	ns	ns		ns	ns
FALP24307	ns	ns		ns	ns	ns		ns	ns

Por otro lado, los componentes de la resistencia Pic.cm^{-2} y Esp.pic^{-1} mostraron similares efectos directos (0,44 y 0,38, respectivamente) sobre la variable Esp.cm^{-2} . Finalmente, PI es el único componente considerado con efecto directo sobre NP, NA y PL (en el esquema causa-efecto), motivo por el cual, el coeficiente de correlación que PI presentó respecto a las dos variables mencionadas no pudo ser dividido en efecto directo e indirecto. Sin embargo, ha correlacionado de manera significativa con ambas variables, por lo que representa un importante componente al momento de explicar los niveles finales de severidad observada.

Discusión

La población de mapeo presentó una variación genotípica altamente significativa entre las 60 líneas evaluadas. Adicionalmente la interacción línea \times aislamiento, también resultó significativa. Estos resultados demuestran la especificidad ampliamente reportada en el patosistema *Z. tritici*/trigo (Kema & van Silfhout 1997; Arraiano & Brown 2006; Tabit Gaffaryy, 2011). Sin embargo, también se pudo observar que diversas líneas mostraron resistencia parcial frente a los tres aislamientos del patógeno, indicando que la resistencia horizontal, no específica y de amplio espectro (Parlevliet, 1977) también está presente en la población de mapeo. Este último tipo de resistencia también ha sido reportado en trigo frente a diversas variantes del patógeno (Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo 1998; Chartrain, 2004) y es considerada de gran importancia ya que ha demostrado ser más durable (Brown *et al.*, 2015). Adicionalmente, la presencia de ambos tipos de resistencia en un mismo fondo genético ha sido reportada (Van Ginkel & Scharen, 1987; Danon & Eyal, 1990; Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo, 1997,1998). Por su parte, Chartrain *et al.* (2004) demostraron que varias fuentes de resistencia a *Z. tritici* pueden tener muchos genes involucrados en la misma, sugiriendo que el apilamiento o piramización de genes de resistencia individuales puede ser usado en el mejoramiento.

Por otro lado, interacciones específicas entre cultivares de trigo y aislamientos del patógeno pueden ocurrir en ambos estadios de crecimiento (Brown *et al.*, 2001; Kema & van Silfhout 1997; Simón *et al.*, 2005). En la población de mapeo analizada, correlaciones entre plántula y planta adulta considerando la variable CP, mostraron moderados valores en los tres aislamientos del patógeno utilizados. Arama, (1996) y Simón *et al.* (2005) encontraron resultados similares, particularmente en el último trabajo se evaluaron cultivares argentinos de trigo. La falta de asociación entre plántula y estado adulto observada en algunos cultivares, puede ser atribuida a

la modulación de la expresión génica, la cual suele ocurrir cuando los genes de resistencia son introgresados de especies de menor a especies de mayor ploidia (Zegeye *et al.*, 2014). En el caso del trigo, es ampliamente aceptada la contribución de la resistencia a *Z. tritici* por parte de especies emparentadas de menor ploidía, a tal punto que la misma ha sido explotada a través de la generación de materiales sintéticos. En estos casos, como propone Simón *et al.* (2005), cruzamiento y selección en ambos estadios pueden ser realizados a fin de alcanzar adecuados niveles de resistencia a través de todo el ciclo de cultivo.

La distribución fenotípica de las líneas de la población para la mayoría de los caracteres evaluados, reveló una amplia y continua variación fenotípica, indicando una herencia de tipo cuantitativa. Estos resultados son confirmados a partir del número de genes estimados como determinantes de la base genética de cada uno de los caracteres evaluados, a partir de la metodología propuesta por Mather & Jinks, (1971). Conocer el número de genes controlando un determinado carácter cuantitativo es de gran interés en el mejoramiento. Esta información permite al mejorador entender mejor la naturaleza de la herencia y con ello desarrollar estrategias de mejora más efectiva (Choo & Reinbergs, 1982). Sin embargo, la metodología utilizada se base en varios supuestos (asume falta de epístasis aditiva y ligamiento e igualdad de efectos génicos), algunos de los cuales pueden no ser cumplidos por la población de mapeo aquí analizada. Como consecuencia, es sólo una aproximación tendiente a demostrar la herencia cuantitativa observada en la distribución de frecuencia de muchos de los caracteres evaluados. Adicionalmente, la estimación del número de genes se realiza a partir del desvío de la línea más extrema respecto de la media poblacional. En poblaciones de tamaño moderado, como la de este estudio, la probabilidad de contener aquellas combinaciones de genes que generen los fenotipos más extremos se reducen, por lo que el número de genes puede ser subestimado. Algunos estudios con poblaciones doble haploides en trigo y analizando caracteres complejos como rendimiento en grano, determinaron que al menos 100 líneas fueron requeridas para disponer de los genotipos más extremos posibles (Choo & Reinbergs, 1982).

Moderada a alta heredabilidad ha sido reportada para la resistencia a *Z. tritici* en varios estudios (Simón *et al.*, 1998; Arraiano *et al.*, 2006; Goudemand *et al.*, 2013; Kollers *et al.*, 2013), alcanzando en algunos casos 98 % (Eriksen *et al.*, 2003) y hasta 99 % en evaluaciones de la resistencia utilizando diversas variedades de trigo (Rieser *et al.*, 2011). En nuestra población de

mapeo, se observó variación en los niveles de heredabilidad presentados por los caracteres de resistencia estimados en estado de plántula como planta adulta. En general, los valores observados fueron elevados, indicando que puede llevarse a cabo una exitosa selección directa por resistencia a *Z. tritici*. Adicionalmente, los componentes de la resistencia también presentaron valores considerables de heredabilidad, pero en general más bajos respecto de la resistencia *per se*. Una excepción representó el componente Esp.Pic⁻¹, el que mostró valores cercanos a 97 %. En este sentido, Wilkinson *et al.* (1990), estudiando los componentes de la resistencia en el patosistema *S. nodorum*/trigo, también encontraron moderados a altos valores de heredabilidad para los componentes PI (65 %) y Pic.cm⁻², respectivamente.

Los componentes de la resistencia parcial han sido investigados en solo pocas ocasiones tanto en *Z. tritici* como en *Septoria nodorum* (Simón & Cordo, 1997; Jeger, Griffiths & Jones, 1981; Lancashire & Jones, 1985). En general se espera que genotipos con resistencia parcial tengan mayores PI y PL, y a su vez presenten menor cantidad de Pic.cm⁻² o Esp.pic⁻¹, o una combinación de ambos, respecto de materiales susceptibles. En este estudio, el cultivar moderadamente resistente Klein Dragón mostró PI y PL más largos que los observados en el cultivar moderadamente susceptible Buck Brasil, frente a los tres aislamientos del patógeno utilizados. Adicionalmente, mostró una menor cantidad de Pic.cm⁻², mientras que también presentó menor cantidad de Esp.pic⁻¹ frente a dos de los tres aislamientos del patógeno. El análisis de correlación entre componentes solo mostró significancia de la variable Esp.cm⁻² respecto de Pic.cm⁻² y Esp.pic, resultado razonable ya que la misma es resultado del producto de ambos componentes. La falta de correlación entre la mayoría de los componentes de la resistencia, indica la independencia genética de cada uno de ellos. Es decir que cada uno de ellos estaría determinado por diferentes genes. Estos resultados concuerdan con lo reportado Jeger *et al.* (1983), quienes también encontraron independencia entre PI y PL e hipotetizaron que estarían involucrados cuatro grupos independientes de genes en la resistencia parcial del patosistema *S. nodorum*/trigo. A partir de los resultados de este estudio y de acuerdo con lo postulado por Simón & Cordo, (1997), cruzamientos y posterior selección en generaciones segregantes generadas a partir de parentales portadores de diferentes componentes de la resistencia, podría ser una estrategia tendiente a incrementar los niveles de resistencia. Sin embargo, experimentos de campo han mostrado que sólo ciertos componentes de la resistencia parcial reflejan con claridad los niveles finales de la enfermedad

(Nass & Johnston, 1985). Particularmente en este estudio, el PI y PL fueron los únicos dos componentes que se correlacionaron de manera significativa con la resistencia estimada como N y CP, respectivamente y en ambos estadios de desarrollo evaluados. Adicionalmente, los componentes Esp.pic⁻¹ y Esp.cm⁻² sólo mostraron significativa correlación con los niveles finales de resistencia frente al aislamiento FALP00105. La falta de correlación de ambas variables y Pic.cm⁻² frente a los dos aislamientos restantes, puede ser explicada en parte por la gran variación que los mismos presentaron entre repeticiones. Por último, a través del coeficiente de sendero fue posible determinar que el PL presentó los mayores efectos directos sobre la enfermedad, resultando en consecuencia un carácter posible de utilizar para la selección de genotipos de adecuado comportamiento a la enfermedad.

En el presente estudio, la reportada asociación entre severidad a *Z. tritici* y los caracteres AP y DAE, solo resultó significativa y consistente a través de ambos estadios y aislamientos evaluados con DAE como variable independiente. En estado de plántula, todas las líneas fueron inoculadas y evaluadas en el mismo momento cronológico, por lo que el periodo de exposición a la enfermedad de cada una de ellas fue el mismo. Por esta razón, asumimos que la asociación encontrada entre precocidad y susceptibilidad a *Z. tritici* es de tipo genética. En estado adulto, las líneas fueron evaluadas en distintos momentos cronológicos en función del momento de aparición de la HB (existieron diferencias significativas en la duración del ciclo). Como consecuencia, líneas con diferencias de ciclo, podrían haber estado expuestas a diferentes condiciones ambientales, que afectan de manera diferencial el desarrollo de síntomas. En el análisis de las variables ambientales durante el periodo de exposición de la HB entre ciclos más cortos vs. más largos, el efecto ambiental resultó más predisponente para el desarrollo de la enfermedad en cultivares más bien tardíos. Sin embargo, los ciclos más largos en general presentaron menores niveles de severidad, por lo que nuevamente la asociación encontrada fue atribuida a la presencia de asociación genética también en este estadio. Estos resultados concuerdan con los previamente reportados por numerosas investigaciones, incluyendo las reportadas por Rieser *et al.* (2011) y Goudemand *et al.* (2013). No obstante, los bajos coeficientes de regresión observados en ambos estadios indican que la misma es atribuible solo a algunas líneas dentro de la población de mapeo (16, 23, 32, 28, 30, 34, etc.), mientras que en otras (dependiendo del aislamiento) tal asociación no ha sido observada. Simón *et al.* (2004) también indicaron que estas asociaciones son dependientes del genotipo. En

aquéllos en que estas asociaciones no se presentan, es posible mejorar la resistencia al patógeno independientemente del ciclo del cultivo. Contrariamente, AP mostró una relación menos consistente y en varios casos no significativa con los niveles de la enfermedad, hecho que concuerda con lo reportado por Arama *et al.* (1994), quienes encontraron que la duración del ciclo del cultivo tuvo mucho mayor efecto sobre los niveles de la enfermedad comparado con AP. Adicionalmente, Simón *et al.* (2004), solo encontraron asociaciones entre susceptibilidad a *Z. tritici* y altura de planta en cultivares de altura extremadamente baja, indicando que cultivares moderadamente bajos no necesariamente son más susceptibles.

En conclusión, muchos de los caracteres evaluados en este estudio (resistencia estimada a partir de las variables N y CP en plántula y estado adulto, PI, Pic.cm⁻²) presentaron distribuciones fenotípicas de tipo continuas, indicando control poligénico. Estos resultados serán confirmados en un siguiente trabajo de mapeo y localización de los mismos a través de marcadores moleculares. En la población de mapeo analizada se observaron ambos tipos de resistencia, combinación que permite adecuados niveles de resistencia y perdurables en el tiempo. Varios de los componentes de la resistencia mostraron correlaciones significativas con la resistencia estimada en ambos estadios, destacándose el PI y PL. Este último presentó los mayores efectos directos sobre los niveles finales de enfermedad alcanzados. Finalmente, el posible efecto de caracteres morfo-fisiológicos como AP y DAE debe ser tenidos en cuenta al momento de caracterizar genotipos en función de su respuesta a *Z. tritici*.

CAPÍTULO 4

MAPEO POR ASOCIACIÓN DE CARACTERES DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA EN TRIGO

Introducción

El trigo provee más alimentos a las personas que cualquier otro cultivo en el mundo, con un impacto significativo en la salud humana (FAOSTAT, 2013). Sin embargo, la tasa de aumento de su productividad ha disminuido en los últimos años, existiendo proyecciones lineales que indican un crecimiento de solo el 0,8 % para 2050 (Fischer *et al.*, 2009). Esto sumado a que se prevé que la demanda mundial de trigo aumente a un ritmo más rápido que las ganancias genéticas (Miralles & Slafer, 2007) y a que su productividad es continuamente reducida por estrés bióticos y abióticos, pone de manifiesto la necesidad de aumentar la tasa de mejora genética.

A fin de alcanzar este objetivo, el estudio y exploración de la diversidad genética a niveles moleculares por medio de tecnologías de genética molecular y su integración con métodos de mejora convencionales es fundamental (Chao *et al.*, 2007). Explorar la diversidad e identificar los factores genéticos determinante de caracteres de importancia agronómica es vital en el desarrollo de genotipos mejorados. Actualmente gran parte de la variabilidad genética de trigo utilizada, se obtiene de cultivares comerciales o variedades locales a través de métodos de mejoramiento convencionales. Como consecuencia, la base del germoplasma disponible es estrecha. En este contexto, es esencial ampliar el acervo genético en vista de lograr ganancias genéticas satisfactorias y contrarrestar el efecto de estreses bióticos y abióticos emergentes debido al calentamiento global y el cambio climático. Para lograr tales objetivos, la mejora del potencial de rendimiento de los genotipos debe ir combinada con amplia adaptación al ambiente, resistencia a estrés bióticos y abióticos (con la finalidad de reducir el “gap” entre el rendimiento posible y el realmente logrado a campo) y mejoras de la calidad del grano.

El mapeo de QTL es una metodología clave para comenzar a entender la arquitectura genética de caracteres complejos en plantas (Holland, 2007). Sin embargo, a pesar de que el uso de métodos tradicionales de mejora como el mapeo por ligamiento (usando poblaciones bi-parentales), ha sido exitoso en la identificación de numerosos factores genéticos asociados con rasgos de importancia agronómica, el mismo presenta una serie de limitaciones. En principio, demanda considerables tiempos y costos en el desarrollo de las poblaciones bi-parentales. Adicionalmente, explica solo

una pequeña proporción de la estructura genética del rasgo bajo estudio ya que solo dos alelos por locus pueden ser evaluados simultáneamente. Por otro lado, presenta baja resolución de mapeo y los QTL detectados son específicos de la población utilizada. Estas limitaciones han contribuido en parte a la lenta transferencia del conocimiento de los estudios de mapeos biparentales a aplicaciones prácticas en el mejoramiento de plantas (Edae *et al.*, 2014). El mapeo por asociación, es un enfoque alternativo en el cual se utilizan poblaciones naturales, eliminando de esta forma el tiempo y costos requeridos en el desarrollo de poblaciones y permitiendo a su vez que un mucho más amplio y representativo pool de genes pueda ser evaluado simultáneamente. Por otro lado, como la variación alélica y los marcadores polimórficos son observados en mayor frecuencia, pueden ser identificados útiles y nuevos alelos asociados con el rasgo de interés (Bajgain *et al.*, 2015). Incluso aún más importante, esta metodología ofrece una mayor resolución de mapeo, debido a la exploración de un número mucho mayor de eventos meióticos ocurridos a través de la historia del germoplasma incluido en el panel de asociación (Yu & Buckler, 2006). Como consecuencia de esta mayor resolución, este enfoque tiene, además, el suficiente poder para detectar loci asociados a rasgos complejos y de baja heredabilidad (Brescaglio & Sorrells, 2006).

El principio del mapeo por asociación se basa en el LD, definido como la asociación no aleatoria de alelos en loci adyacentes dentro de una población, la cual es determinada por la distancia física de los loci a través de los cromosomas y ha demostrado ser útil en la disección de rasgos complejos (Lynch & Walsh, 1998). Sin embargo, determinados factores como la estructura poblacional o alelos que ocurren en muy baja frecuencia pueden generar DL entre loci que no están físicamente ligados, causando altas tasas de asociaciones marcador- carácter falsas positivas (Flint-Garcia *et al.*, 2005). A fin de evitar este inconveniente, se requiere una pre-caracterización de los genotipos incluidos en la población de mapeo y la separación del DL debido a ligamiento físico de aquel generado por la estructura de la población (Tadesse *et al.*, 2014). Varios son los métodos que han sido desarrollados para cuantificar y tener en cuenta dicha estructura en los estudios de mapeo asociativo (Sukumaran & Yu, 2014). En este contexto, uno de los más utilizados es el propuesto por Pritchard *et al.* (2000), el cual estima la estructura poblacional (Q) a partir de un set de marcadores distribuidos sobre todo el genoma, incorporándola como co-variable en un modelo lineal general en el análisis de asociación. Este enfoque fue posteriormente ampliado a través de un modelo lineal mixto, en el cual adicionalmente se incluyen las relaciones de parentesco o

“kinship matrix” (K), lo cual ofrece un mejor control de ambos tipos de errores (I y II) (Yu *et al.*, 2006). Superado el inconveniente de la estructura poblacional y debido a las ventajas ofrecidas, la metodología de mapeo por asociación ha comenzado a utilizarse de manera exitosa en numerosas especies de planta, permitiendo identificar marcadores moleculares y la base genética asociada a diferentes caracteres de importancia agronómica (Zhu *et al.*, 2008).

En base a estos antecedentes se plantean las siguientes hipótesis:

Hipótesis

- Existe variabilidad fenotípica respecto a los caracteres de importancia agronómica a evaluar, en una población constituida para estudios de mapeo por asociación.
- Los caracteres a evaluar presentan significativas correlaciones fenotípicas y genéticas.
- La variabilidad fenotípica de los caracteres de importancia agronómica a evaluar, presenta un componente genético, por lo que es posible localizar los genes/QTL que los determinan a través de mapeo por asociación.
- La acumulación de dos a más marcadores (alelos) significativamente asociados con la resistencia a enfermedades fúngicas en un mismo genotipo, presenta efectos aditivos y significativos sobre la misma.
- Existe asociación y posible ligamiento genético entre resistencia a *Z. tritici* y caracteres relacionados con desarrollo.
- Es posible postular la función biológica de marcadores significativamente asociados a los caracteres evaluados a partir del análisis *in silico* de su secuencia.

Objetivos específicos

- Evaluar la variabilidad fenotípica de los genotipos presentes en una población de mapeo frente a tres enfermedades fúngicas, caracteres asociados con el rendimiento, calidad y desarrollo del cultivo de trigo.
- Examinar la correlación fenotípica y genética entre los caracteres evaluados.
- Utilizar los datos fenotípicos en combinación con datos genéticos para realizar un análisis de mapeo por asociación de todo el genoma.

- Identificar marcadores DArT significativamente asociados con los caracteres bajo estudio.
- Evaluar el efecto de piramización de alelos de resistencia identificados sobre los niveles de severidad de las tres enfermedades evaluadas.
- Estudiar la asociación y posible ligamiento genético entre resistencia a *Z. tritici* y caracteres relacionados con desarrollo.
- Utilizar la secuencia genética de los marcadores significativamente asociados a los caracteres evaluados para realizar un análisis in silico a fin de postular la posible función biológica de cada uno de ellos.

Materiales y Métodos

Población de mapeo

Como población de mapeo se utilizó una colección núcleo de 96 genotipos de trigo (principalmente cultivares y líneas de mejoramiento avanzadas), provenientes de 20 países diferentes distribuidos en cinco continentes (Tabla 13). El panel de mapeo incluye accesiones de Europa (44,8 %), América del Norte (29,2 %), Asia (15,7 %) y América del Sur (3,1 %). En este último grupo, dos cultivares son originarios de nuestro país (Magnif 41 y Gala). Los genotipos incluidos en la población han sido cuidadosamente seleccionados de una colección mayor de 2500 genotipos pertenecientes a 50 países de las diferentes regiones productoras de trigo del mundo. Para ello, han sido evaluados a lo largo de ocho años (periodo 1993-2000) tomando en cuenta 54 caracteres agronómicos, morfológicos y fisiológicos de importancia y seleccionados en base al contraste en su variación fenotípica, a fin de acumular la mayor variación posible entre los 96 genotipos seleccionados (Kobiljski *et al.*, 2002). Estudios moleculares utilizando marcadores SSR a fin de evaluar la diversidad genética han concluido que se ha alcanzado gran variabilidad genética en el material seleccionado (Quarrie *et al.*, 2003). Tales evaluaciones fueron realizadas en el Instituto de Campo y Cultivos Vegetales (Novi Sad, Serbia) y condujeron al desarrollo de la colección núcleo de 96 genotipos altamente contrastantes que ha sido utilizada en nuestro estudio. La colección comprende un importante número de “genotipos fundadores” ampliamente utilizados en programas de mejoramiento utilizados en todo el mundo.

Tabla 13. Nombre, hábito de crecimiento (invernal *vs.* primaveral) y país de origen de los 96 genotipos de trigo incluidos en la población de mapeo analizada, conjuntamente con el sub-grupo Q definido por el análisis de estructura (Asignado a un sub-grupo si $P > 0,5$).

Genotipo	Origen ^a	HC ^b	Q	Genotipo	Origen ^a	HC ^b	Q
Magnif 41	ARG	Invernal	1	Florida	USA	Invernal	1
Cook	AUS	Primaveral	1	Hays 2	USA	Invernal	1
Kite	AUS	Primaveral	1	Helios	USA	Invernal	1
Min. Dwarf	AUS	Primaveral	1	Holly E	USA	Invernal	1
Timson	AUS	Invernal	1	Hope	USA	Invernal	1
Triple Dirk B	AUS	Primaveral	1	INTRO 615	USA	Invernal	1
Triple Dirk S	AUS	Primaveral	1	Lr 10	USA	Invernal	1
Rusalka	BUL	Invernal	1	Norin 10/Brev.14	USA	Invernal	1
Lambriego Inia	CHL	Invernal	1	Phoemix	USA	Invernal	1
Al-Kan-Tzao	CHN	Primaveral	1	Puerd./Loras	USA	Invernal	1
Ching-Chang 6	CHN	Primaveral	1	Purd.38120	USA	Invernal	1
Peking 11	CHN	Facultativo	1	Purd.5392	USA	Invernal	1
Ana	CRO	Invernal	1	Red Coat	USA	Invernal	1
ZG 1011	CRO	Invernal	1	Semilla Eligulata	USA	Invernal	1
ZG 987/3	CRO	Invernal	1	UC 65680	USA	Primaveral	1
ZG K 3/82	CRO	Invernal	1	Vel	USA	Invernal	1
ZG K 238/82	CRO	Invernal	1	WWMCB 2	USA	Primaveral	1
ZG K T 159/82	CRO	Invernal	1	Ivanka	SER	Invernal	1
Capelle Desprez	FRA	Invernal	1	Mina	SER	Invernal	1
Durin	FRA	Invernal	1	NS 22/92	SER	Invernal	1
Avalon	GBR	Invernal	1	NS 559	SER	Invernal	1
Brigant	GBR	Invernal	1	NS 602	SER	Invernal	1
Highbury	GBR	Primaveral	1	NS 63-24	SER	Invernal	1
TJB 990-15	GBR	Invernal	1	NS 66/92	SER	Invernal	1
Bankut 1205	HUN	Invernal	1	NS 79/90	SER	Invernal	1
L-1	HUN	Invernal	1	Revensansa	SER	Invernal	1
Szegedi 768	HUN	Invernal	1	Sava	SER	Invernal	1
Hira	IND	Primaveral	1	Slavija	SER	Invernal	1
Sonolika	IND	Primaveral	1	Gala	ARG	Invernal	2
Suwon 92	IND	Invernal	1	Triple Dirk B (bulk)	AUS	Primaveral	2
UPI 301	IND	Primaveral	1	BCD 1302/83	MDA	Invernal	2
Acciaio	ITA	Facultativo	1	Cajeme 71	MEX	Primaveral	2
Ai-bian	JPN	Primaveral	1	Bezostaja 1	RUS	Invernal	2
Norin 10	JPN	Invernal	1	Centurk	USA	Invernal	2
Saitama 27	JPN	Primaveral	1	Lr 12	USA	Invernal	2
Tr. Compactum	LV	Invernal	1	Tr. Sphaerococcum	USA	Invernal	2
Inia 66	MEX	Primaveral	1	L 1/91	SER	Invernal	2
Mex. 120	MEX	Primaveral	1	L 1A/91	SER	Invernal	2
Mex. 17 bb	MEX	Invernal	1	Nizija	SER	Invernal	2
Mex. 3	MEX	Primaveral	1	Nov. Crvena	SER	Invernal	2
S. Cerros	MEX	Primaveral	1	Nova banatka	SER	Invernal	2
Vireo "S"	MEX	Invernal	1	NS 33/90	SER	Invernal	2
F 4 4687	RUM	Invernal	1	NS 46/90	SER	Invernal	2
Donska polupat.	RUS	Invernal	1	NS 55-25	SER	Invernal	2
Tibet Dwarf	TIB	Primaveral	1	NS 74/95	SER	Facultativo	2
Tom Thumb	TIB	Invernal	1	PKB Krupna	SER	Invernal	2
Mironovska 808	UKR	Invernal	1	Pobeda	SER	Invernal	2
Benni multifloret	USA	Invernal	1	Sofija	SER	Invernal	2

^aARG, Argentina; AUS, Australia; BGR, Bulgaria; CHL, Chile; CHN, China; CRO, Croacia; FRA, Francia; GBR, Gran Bretaña; HUN, Hungría; IND, India; ITA, Italia; JPN, Japón; MDA, Moldavia; MEX, México; RUM, Rumania; RUS, Rusia; SRB, Serbia; TIB, Tíbet; UKR, Ucrania; USA, Estados Unidos de América. ^b Hábito de Crecimiento.

Experimentos de campo

En total se llevaron a cabo seis experimentos de campo en la Estación Experimental Julio Hirschhorn, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – Universidad Nacional de La Plata, durante los años 2012 y 2013. En tres de ellos se evaluó la respuesta fenotípica de la población de mapeo frente a inoculaciones artificiales de *Z. tritici* conjuntamente con caracteres asociados al desarrollo del cultivo, relacionados con la epidemiología de la enfermedad: AP, AT, AHB, DAE, DAA e DEA. Mientras que en otros tres ensayos equivalentes y simultáneos se evaluaron caracteres asociados a rendimiento: LP, LE, PE, PGE, IE, PMG, NGE, FE, EE, EFE, EEE, NGEF; calidad de grano: P%, VS; desarrollo: AP, AT, AHB, DAE, DAA e DEA y severidad a *Puccinia triticina* y *Fusarium graminearum* (epidemias naturales) a fin de evitar que las inoculaciones artificiales de *Z. tritici* interfirieran en la determinación de los mismos.

Mancha de la hoja y caracteres asociados al desarrollo

Diseño experimental

Se sembraron tres experimentos el 21 de junio de 2012, 14 de junio y 31 de julio de 2013, respectivamente, con un diseño de parcela sub-dividida con dos repeticiones. La parcela principal representó el ambiente, la sub-parcela los aislamientos del patógeno, y la sub-sub-parcela los cultivares. Conjuntamente con los 96 genotipos de la población de mapeo, se incluyeron los cultivares locales, Lenox y BioINTA 3005, utilizados como control susceptible y resistente a *Z. tritici*, respectivamente. Debido a que muchos genotipos en la población de mapeo presentan hábitos de crecimiento invernal y requerimientos de vernalización, las semillas fueron germinadas en placas de Petri y vernalizadas en cámara de cultivo durante 3 semanas a 4-8 °C antes de ser plantadas a campo (Fig. 19). Posteriormente, 15 plántulas de cada genotipo fueron plantadas en líneas aproximadamente cada 2 cm una de otra. Cada genotipo (línea) fue separado cada 0,2 metros por hileras de avena, a fin de reducir el traspaso de inóculo. Las características del suelo donde se llevaron a cabo los experimentos y su fertilización fueron similares a las descriptas en el Capítulo 2 de esta tesis. Los datos meteorológicos (precipitación, humedad relativa y temperaturas) fueron registrados por la ya mencionada estación meteorológica Davis, situada a 300 m de los experimentos.



Figura 19. Experimentos de campo mapeo asociativo: **a, b y c)** Plántulas vernalizadas plantadas a mano; **e, f y g)** Evolución fenológica; **d y h)** Redes anti-pájaros en implantación y espigazón; **i)** Llegada madurez de cosecha cada genotipo fue cosechado a fin de realizar las determinaciones de laboratorio.

Inoculaciones

La población de mapeo fue inoculada con dos aislamientos de *Z. tritici*, FALP0112 y FALP0212, provenientes de las localidades de Pla y Nueve de Julio, respectivamente, seleccionados en base a su diferente origen en la región triguera Argentina. La metodología utilizada para el crecimiento de ambos aislamientos, preparación del inóculo y posteriores inoculaciones fue igual a la descripta en el Capítulo 1 (Pág. 42). Las evaluaciones fenotípicas de la resistencia tanto en plántula como en planta adulta también fueron realizadas como se indica en el Capítulo 1 (Pág. 44). Pero mientras las evaluaciones en estado de plántula se llevaron a cabo solo en dos de los tres experimentos realizados, la evaluación en estado adulto se realizó en los tres experimentos. Por último, en dos de los tres experimentos en donde se realizó tanto la evaluación en plántula como adulto, se calculó el ABCPE. La misma, fue determinada considerando como comienzo de la enfermedad el día de la primera inoculación, en estado de dos hojas GS 12 (0% de severidad) y luego los valores estimados en estado de plántula y planta adulta en cada genotipo. Los días de duración del periodo, desde la primera inoculación hasta la evaluación en estado adulto fueron variables en función de la duración del ciclo en cada genotipo.

Adicionalmente, en los tres experimentos y sobre 10 o 15 macollos se evaluaron los siguientes caracteres relacionados con el desarrollo del cultivo: **AP**, medida como la longitud media de la planta en centímetros desde la base del tallo hasta el extremo superior de la espiga (incluyendo aristas); **AT**, medida como la longitud media de la planta en centímetros desde la base del tallo hasta la base de la espiga; **AHB**, medida como la longitud media de la planta en centímetros desde la base del tallo hasta la vaina de la hoja bandera; **DAE**, medidos como el número de días desde la siembra hasta la completa emergencia del 50 % de espigas sobre la hoja bandera; **DAA**, medidos como el número de días desde la siembra hasta la presencia del 50 % de las espigas en antesis y **DEA**, medidos como el número de días desde la emergencia del 50 % de espigas sobre la hoja bandera hasta la presencia del 50 % de las espigas en antesis.

Caracteres asociados a rendimiento, calidad de grano, desarrollo, resistencia a roya de la hoja y fusariosis de la espiga.

Para la evaluación fenotípica de estos caracteres se llevaron a cabo tres experimentos adicionales, implantados en las mismas fechas de siembra y bajo condiciones similares a las descritas para mancha de la hoja, pero bajo un diseño de bloques al azar.

Roya de la Hoja

La población de mapeo fue evaluada en estado adulto bajo una epifitía natural de la enfermedad (German *et al.*, 2007 y Campos & López, 2015 han reportado un número significativo y compleja composición de razas en la región. MFP y MDP han sido reportadas como las razas de mayor frecuencia, acompañadas por TDT 10-20, una raza actualmente en crecimiento). El cultivar local Buck SY 110 caracterizado como moderadamente susceptible por el criadero frente a las razas de la zona, fue utilizado como control susceptible. Con el fin de estimar la resistencia de planta adulta, los genotipos fueron evaluados por su reacción frente a *P. triticina* a través de una estimación visual del porcentaje de área de la hoja con presencia de pústulas (Fig. 20a, b y c). La evaluación se realizó sobre las tres hojas superiores (HB, HB-1 Y HB-2) de siete plantas en cada parcela y con los datos obtenidos se calculó el promedio de las tres hojas. Las evaluaciones en cada experimento comenzaron cuando el control susceptible mostró una clara reacción al patógeno en las tres primeras hojas (aproximadamente GS 70).

Fusariosis de la Espiga

Al igual que en roya de la hoja, la población de mapeo fue evaluada bajo epifitía natural de *F. graminearum*. A fin de que las condiciones sean similares para cada genotipo independientemente de su fecha de antesis, a lo largo de todo este estadio se realizaron aspersiones periódicas con agua sobre el cultivo. Las evaluaciones de severidad se realizaron sobre los granos, una vez cosechado el material. Para ello se tomaron al azar 10 espigas de cada genotipo y una vez trilladas se determinó el porcentaje de granos enfermos sobre el total de granos (Fig. 20d, e y f).



Figura 20. Determinación de roya de la hoja: **a)** Genotipo muy afectado por la enfermedad, **b** y **c)** Mostrando gran cantidad de pústulas; y fusariosis de la espiga: **d)** Espigas infestadas con micelio salmón de *Fusarium*, **e)** Trilla de 10 espigas para determinación de la severidad en granos, **f)** Granos con y sin *fusarium* (izquierda y derecha, respectivamente).

Caracteres asociados a rendimiento

La evaluación se llevó a cabo sobre 10 o 15 macollos tomados al azar en cada parcela, en los que se midió: **LP**, medida como la longitud media en centímetros desde la base de la hoja bandera hasta la base de la espiga; **LE**, medida como la longitud media en centímetros desde la base hasta el extremo de la espiga (sin arista), **PE**, medido como el peso medio de la espiga en gramos utilizando una balanza precisa; **EFE y EEE**, determinadas por la presencia o ausencia de granos en espiguillas respectivamente, **EE**, determinada como la suma de EFE y EEE; **NGE**, medido como el número medio de granos presentes por espiga; **NGEF**, medido como el número medio de granos presentes por espiguilla fértil; **PGE**, medido como el peso medio en gramos de los granos presentes por espiga utilizando una balanza precisa; **PMG**, medido como el peso medio en gramos de mil granos de cada genotipo utilizando una balanza precisa; **IE**, calculado como la relación entre PGE y PE; **FE**, calculado como la relación entre NGE y PE.

Caracteres asociados a calidad de grano

Porcentaje de proteína

Para el análisis del contenido de proteína en grano, los granos de 15 espigas de cada parcela fueron molidos utilizando un molinillo. Posteriormente se tomaron 0,07 gramos de muestra molida, en los que se determinó el contenido de nitrógeno a través el método Microkjeldhal (A.O.A.C, 1970). El porcentaje de proteína en grano se calculó como: $P \% = N \times 5,7$ y, por último, el valor hallado se ajustó a 14,5 % de humedad (IRAM 15852:2002) (Fig. 21a, b y c).

Valor de sedimentación

El volumen de sedimentación se determinó en base al método Zeleny (IRAM 15875/ ICC estándar 116/1, 2008). Para ello, se obtuvo una muestra de harina a partir de una muestra de granos, utilizando un molino Quadromatic Junior (Fig. 21d y e). Posteriormente, 3,2 gramos de harina fueron pesados y colocados en una probeta graduada (Fig. 21f). En dicha probeta se agregó 50 ml de colorante (solución de azul de bromofenol 4 mg.l⁻¹) y se agitó vigorosamente de manera que la muestra de harina quede en suspensión. La muestra en suspensión se colocó en un agitador automático (Fig. 21g) durante 5 minutos, luego de lo cual se adicionó 25 ml de reactivo para ensayo (180 ml de solución de ácido láctico 85 % + 200 ml alcohol isopropilico 99 % + 620 ml de agua destilada) y se procedió al agitado por 5 minutos adicionales.

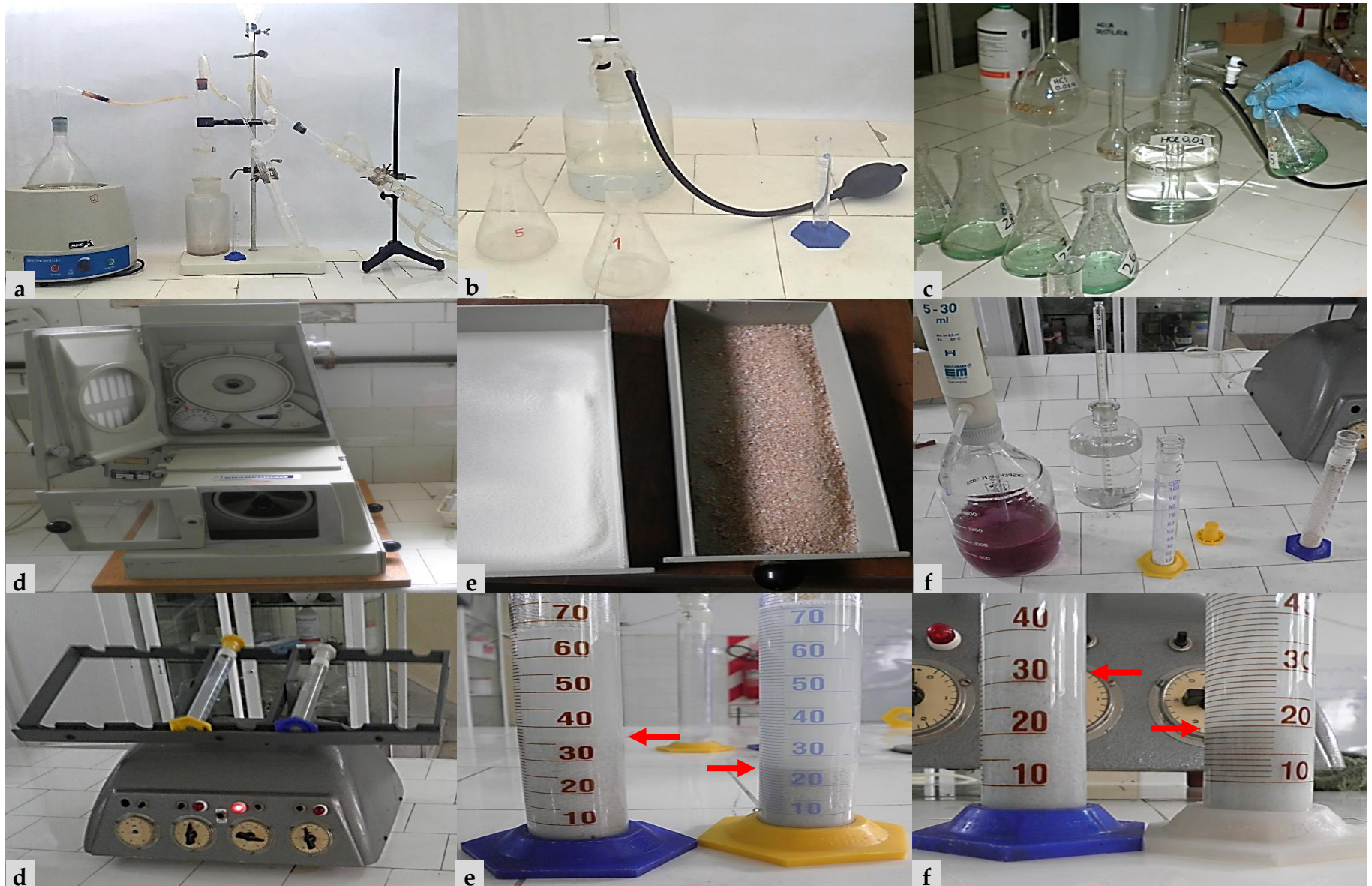


Figura 21. Determinación de proteína: **a)** Microkjeldhal, **b)** y **c)** Titulación; y valor de sedimentación: **d)** Molino Quadromatic utilizado para obtener harina utilizada en el test, **e)** Harina y pericarpio resultado del paso de la muestra de granos por el molino, **f)** Probetas graduadas y dosificadores de reactivos requeridos en el test, **g)** Agitador automático, **h)** y **i)** Probetas al momento de la determinación, flechas rojas indican diferentes valores de sedimentación.

Por último, las probetas se dejaron en reposo otros 5 minutos en posición vertical, luego de lo cual se realizó la lectura directa del volumen de sedimentación en cm^3 (Fig. 21h y i). El volumen de lectura fue corregido por el correspondiente factor de humedad y cada muestra se realizó por duplicado.

Análisis estadístico de datos fenotípicos

La totalidad de caracteres evaluados fueron analizados a través de un ANAVA utilizando el software GenStat 12 Ed (VSN International, 2009). Para los caracteres severidad de *Z. tritici* y *P. triticina*, en el análisis se utilizó el promedio calculado a partir de las tres hojas evaluadas. Particularmente, para el carácter resistencia a *Z. tritici*, al igual que en el Capítulo 3, se realizó un análisis de regresión múltiple considerando la severidad (N, CP y ABCPE) como variable dependiente y DAE y AP como variables independientes, a fin de determinar la posible asociación y el porcentaje de severidad explicado por ambos rasgos morfo-fisiológicos. Adicionalmente, para determinar si el efecto de ambos rasgos morfo-fisiológicos sobre los niveles de severidad se debía a la influencia diferencial del ambiente, los genotipos de la colección fueron clasificados en tres grupos de precocidad (92, 108 y 124 días promedio a hoja bandera), se calculó la temperatura, humedad relativa y precipitación media para cada uno de ellos durante el tiempo de exposición de la hoja bandera a la enfermedad (30 d) y se analizó el posible efecto sobre los niveles de enfermedad observados en cada uno de ellos.

Por otro lado, para evaluar la consistencia en el comportamiento de los genotipos a través de los experimentos y la asociación entre caracteres evaluados, se calcularon los coeficientes de correlación fenotípicos y genéticos. Adicionalmente, a partir de los datos del ANAVA, se estimaron los componentes fenotípicos y genéticos de la variancia. Esta información se utilizó para calcular la heredabilidad (h^2), como la relación entre la variancia genética y fenotípica: $h^2 = \sigma^2g / (\sigma^2g + \sigma^2ge/E + \sigma^2/ER)$, donde σ^2g denota la variancia genotípica, σ^2ge la variancia debido a la interacción genotipo \times ambiente y σ^2 la variancia debido al error. E y R indican el número de ambientes y repeticiones, respectivamente.

Genotipado y construcción del mapa genético

El panel de mapeo fue genotipado con marcadores DArT. La tecnología fue proporcionada por Triticarte Pty Ltd (Canberra, Australia; <http://www.triticarte.com.au>), un laboratorio de servicio de genotipificación de todo el genoma. Se utilizó un total de 874 marcadores DArT denominados

a través del prefijo “wPt” seguido por un identificador numérico. Aquellos con una frecuencia alélica < 5 % fueron excluidos del análisis, removiéndose así un total de 39 marcadores. Para la ubicación cromosómica de los marcadores se utilizó un mapa integrado desarrollado por Crossa *et al.* (2007), con el que se asignaron en una determinada posición cromosómica un total de 525 marcadores. La localización cromosómica del resto de los marcadores fue proporcionada por Triticarte.

Estructura poblacional y desequilibrio de ligamiento

A fin de evitar falsos positivos en el análisis de asociación marcador-carácter, se determinó tanto la presencia de estructura genética como de co-ancestría en la colección de mapeo utilizada. Para ello, un sub-conjunto de 219 marcadores DArT distribuidos de manera uniforme en todo el genoma fue analizado utilizando el software STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). La metodología de análisis propuesta por Pritchard *et al.* (2000) asume que los individuos dentro de la colección son una mezcla provienen de K poblaciones y que el genoma de cada genotipo puede estar conformado por una o más de tales poblaciones. Como consecuencia se utilizó el modelo de mezcla de poblaciones y frecuencias alélicas correlacionadas (Falush *et al.*, 2003), con un largo del periodo de burn-in de 10.000 iteraciones, y una duración de 10.000 MCMC (métodos Monte Carlo usando cadenas de Markov) para testear valores de K entre 1 y 12. Posteriormente, se estimó el número más probable de sub-poblaciones presentes en la colección siguiendo el método de Evanno *et al.* (2005), en el cual el número de sub-grupos (ΔK) es maximizado. Adicionalmente, se calculó la matriz de parentesco “K” también conocida como coeficiente de co-ancestría, como factor adicional que considera la probabilidad de que, para un locus dado, dos alelos al azar en dos individuos diferentes sean idénticos por descendencia. Dos alelos son idénticos por descendencia cuando son copia del mismo gen ancestral (Kerr & Thornton, 2013). Dicha matriz fue calculada utilizando el software TASSEL (versión 2.1), considerando todos los marcadores utilizados para el genotipado. En dicho programa la matriz de parentesco es generada convirtiendo la matriz de distancia en una matriz de similitud a partir de la función cladograma. Una vez definida la estructura poblacional, para determinar su significancia y efecto sobre cada uno de los caracteres evaluados, se realizó un análisis de regresión.

El DL fue determinado utilizando el software TASSEL 2.01 (Bradbury *et al.*, 2007). Para ello se calcularon las correlaciones de las frecuencias alélicas de todos los loci de acuerdo a Weir (1996)

usando la función de DL y se computó la significancia entre pares usando 1000 permutaciones. El análisis de DL se realizó por separado para loci sobre el mismo cromosoma y loci inter-cromosómicos. El análisis se realizó sobre la colección completa como así también para cada uno de los sub-grupos Q identificados por el STRUCTURE. Seguidamente, se estimó un valor de r^2 crítico siguiendo la metodología propuesta por Breseghello & Sorrells, (2006), en donde los valores de r^2 estimados son transformados por medio de la raíz cuadrada, considerando el percentil de 95 % de distribución como umbral, a partir del cual el DL es considerado causa de un ligamiento físico real. Finalmente, los valores de r^2 se graficaron en función de la distancia genética (cM) para determinar a qué distancia la curva LOESS (“Local Regression”) interceptaba la línea del r^2 crítico a fin de observar cuán rápido ocurría la caída del DL.

Análisis de asociación genotipo-fenotipo

En el análisis de asociación cada experimento fue analizado por separado y el valor fenotípico de cada carácter correspondió al valor medio de sus dos repeticiones. Las asociaciones entre marcadores y rasgos fenotípicos se realizaron con el software TASSEL 2.01, utilizando en principio un modelo lineal general basado en la matriz Q (MLG-Q) derivada del STRUCTURE, la que fue introducida en el modelo como co-variable a fin de evitar falsos positivos debido a la presencia de estructura en la población de mapeo. Adicionalmente, utilizando la versión 2.1 de TASSEL se implementó el modelo lineal mixto sugerido por Yu *et al.* (2006), el cual utiliza tanto la matriz Q como la matriz de parentesco K (MLM-Q+K) en el siguiente modelo:

$y = X\beta + Qv + Zu + e$ donde y es el vector de observaciones fenotípicas, X es una matriz de datos genotípicos como efecto fijo, Q es la matriz de estructura como efecto fijo y Z la matriz de parentesco como efecto aleatorio.

Se utilizó el método EMMA (Efficient Mixed-Model Association), propuesto por Kang *et al.* (2008) para reducir el tiempo computacional requerido, mientras que los demás parámetros del MLM fueron dejados predeterminados por TASSEL. En todos los caracteres evaluados, se consideró como asociaciones marcador-carácter significativa o altamente significativa cuando presentaron valores de $P < 0,05$ o $P < 0,001$ en dos de los tres experimentos analizados y bajo los dos modelos utilizados (MLG y MLM). Adicionalmente, dos o más marcadores significativos para un determinado carácter, adyacentes o en la misma posición, fueron asignados a una misma región cromosómica cuando estuvieron a menos de 1 cM de distancia y presentando una dirección

consistente de sus efectos. El mapa genético mostrando marcadores y/o regiones cromosómicas asociadas con cada rasgo evaluado fue realizado con el software MapChart versión 2.3 (Voorrips, 2002). Para visualizar la presencia de ligamientos entre rasgos, se presenta la distancia genética en cM. Finalmente, las regiones cromosómicas identificadas como significativas en este estudio fueron inspeccionadas por su correspondencia con regiones asociadas con genes o QTL identificados previamente. Para ello, se utilizaron los mapas genéticos integrados reportados por Semagn *et al.* (2006) y Crossa *et al.* (2007).

Análisis funcional de los clones DArT asociados a los caracteres evaluados

A fin de inferir la posible función biológica de los marcadores DArT significativamente asociados con los caracteres evaluados en este estudio, se realizó un análisis *in silico*. Para ello, las secuencias de los marcadores fueron primeramente analizadas con el algoritmo BLASTN en una búsqueda de similitud utilizando la base de datos Cerealsdb (<http://www.cerealsdb.uk.net>). Las secuencias originales o las encontradas en Cerealsdb (en caso de que estas hayan sido más largas) fueron seguidamente usadas como “query” en un BLASTX en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Las secuencias de los DArT que co-segregaron con los rasgos fenotípicos fueron obtenidas del sitio web de Triticarte (<http://www.diversityarrays.com/sequences.html>). Sin embargo, como no todas las secuencias están disponibles, se definió un intervalo de confianza en base a la distancia entre marcadores a partir de la cual los mismos se encuentran en completo DL, considerando la colección completa (3,6 cM). Luego el número de marcadores dentro del intervalo de confianza correspondiente a cada uno de los marcadores significativamente asociados con alguno de los rasgos estudiados, fue incrementado por proyección de otros mapas conteniendo un mayor número de marcadores DArT. Finalmente, se usaron marcadores dentro del intervalo de confianza y con secuencia disponible para realizar la búsqueda. Adicionalmente, debido a que la secuencia del genoma del trigo disponible aun es incompleta (“draft sequence”), se explotó la sintenia presentada por los genomas de *Brachypodium* (*Brachypodium distachyum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.) para identificar posible colinealidad con estas especies usando la base de datos phytozome (<http://www.phytozome.net/>).

Resultados

Datos climáticos

La temperatura media no presentó grandes diferencias entre los años en los que se desarrollaron los experimentos. Considerando la estación de crecimiento del cultivo (junio a diciembre), la misma presentó un valor medio de 14,6 °C en 2012 y de 14,4 °C en 2013, con una variación de 6,7 a 22,9 °C y de 8,2 a 27 °C, respectivamente (Fig. 22). La humedad relativa también mostró valores mínimos y máximos similares entre años variando de 71 % a 90 % en 2012 y de 71 % a 87 % en 2013. Sin embargo, una variación considerable de sus valores medios diarios se observó entre los meses de julio y agosto de ambos años (Fig. 22). Por último, la precipitación fue la variable que mayor variación presentó entre años, con un valor acumulado de 687,6 mm en 2012 y de 414,1 mm en 2013. Comparado con la precipitación media de la región (519,5 mm), 2012 resultó un año húmedo mientras que 2013 fue más bien seco. La mayor variación en lluvia caída mensual se observó en el mes de agosto, donde en el primer año se registraron 222,8 mm mientras que en el segundo solo 7,2 mm (Fig. 22). Esto último en correlación con la variación en humedad relativa para este mes, generó condiciones de mayor predisposición para el desarrollo de enfermedades foliares como mancha de la hoja en 2012 comparado con 2013.

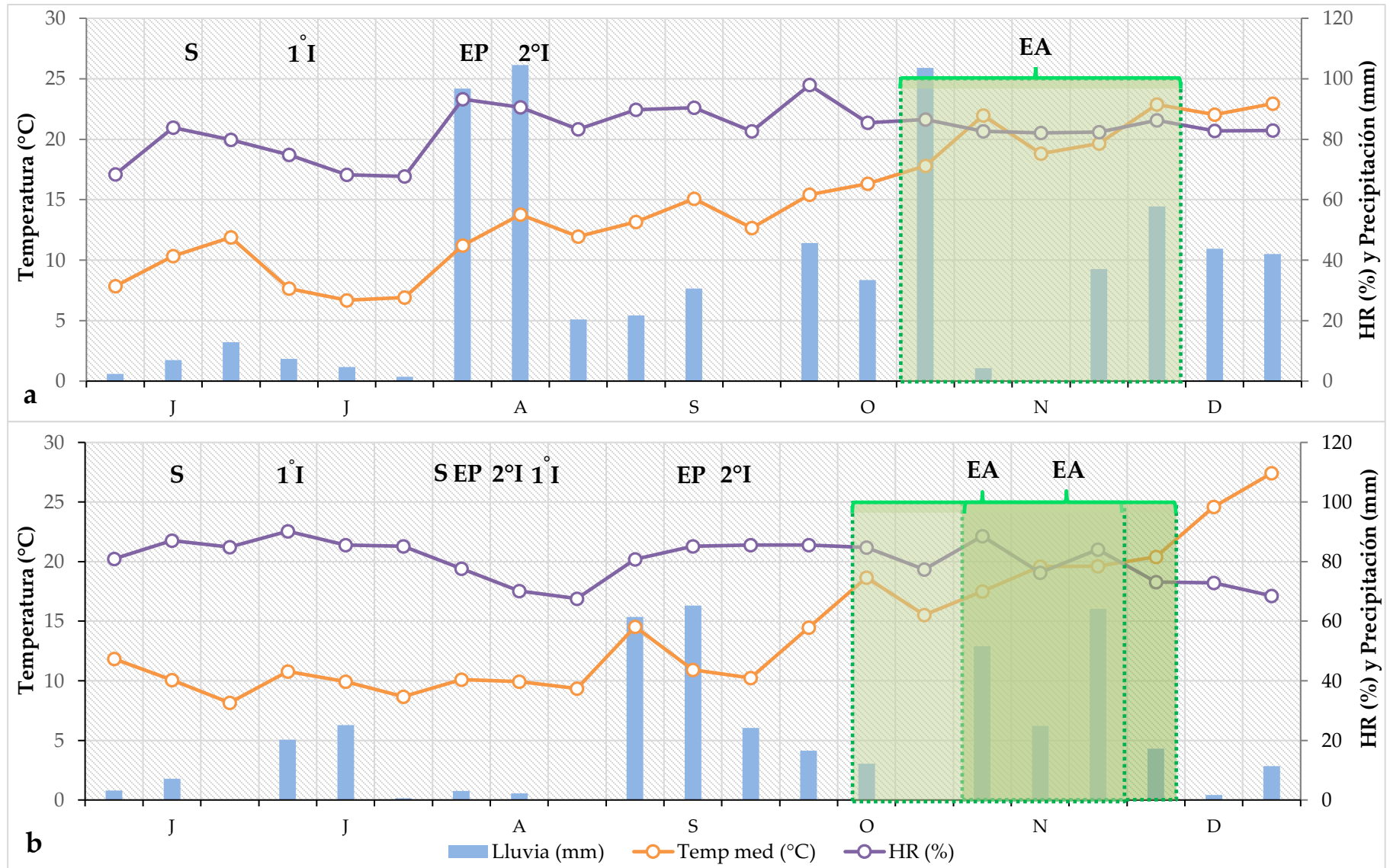


Figura 22. Comportamiento de las variables ambientales durante la estación de crecimiento del cultivo (Junio-diciembre) durante: a) 2012 y b) 2013 (dos fechas de siembra). Siembra (S); primer y segunda inoculación (1°I y 2°I); evaluación de mancha de la hoja al estado de plántula (EP). Rectángulos indican el periodo de evaluación de mancha de la hoja en estado adulto (EA). HR: Humedad Relativa.

Datos fenotípicos

Mancha de la hoja y caracteres asociados al desarrollo

Se observaron amplias diferencias fenotípicas entre los genotipos incluidos en la población de mapeo para todos los caracteres bajo estudio y en todos los experimentos realizados. Así, AP, AT y AHB mostraron una variación de 19,52 a 140,2; 12,88 a 109,7 y de 12,87 a 103,2 cm; mientras DAE, DAA y DEA lo hicieron de 77 a 155, 82 a 162 y de 0 a 30 días. Adicionalmente, para mancha de la hoja, a estado de plántula N varió de 1 a 100 % y CP de 0 a 25,6 %, mientras que en estado adulto lo hicieron de 20,6 a 100% y de 0 a 61,9 %. Finalmente, el ABCPE osciló de 1233 a 15650 y de 0 a 4330 en CP y N, respectivamente.

En el ANAVA combinado a través de los tres experimentos se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre genotipos tanto para severidad a mancha de la hoja en plántula, planta adulta y ABCPE (en ambas variables N y CP), como también para los caracteres morfo-fisiológicos (AP, AT, AHB, DAE, DAA). Para el carácter severidad a mancha de la hoja, también resultaron altamente significativas ($P < 0,001$) las interacciones genotipo \times experimento, genotipo \times aislamiento y genotipo \times experimento \times aislamiento. El DAE presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) para la interacción genotipo \times experimento y también para experimentos, en tanto AP presentó diferencias altamente significativas para la interacción genotipo \times experimento.

La considerable variación en precipitaciones entre 2012 y 2013 (Fig. 22) se reflejó de manera consistente en los niveles de severidad de la enfermedad tanto en plántula como estado adulto. Como consecuencia se observaron mayores niveles de enfermedad promedio en 2012 comparado con 2013. También se observó un comportamiento diferencial de algunos genotipos frente a los aislamientos, lo que demuestra la presencia de resistencia específica. Sin embargo, otros mostraron similar comportamiento a través de los aislamientos y experimentos, dando lugar a la significativa interacción genotipo \times experimento \times aislamiento. Adicionalmente, se observó una moderada pero significativa correlación en el comportamiento de los genotipos entre el estado de plántula y adulto. ($r = 0,47$ y $r = 0,55$; $P < 0,01$ para FALP0112 y FALP0212, respectivamente). Mientras algunos genotipos presentaron buen comportamiento en ambos estadios, otros se comportaron de manera contrastante. Esto último, pone en evidencia la presencia de factores genéticos que se expresan en distintos periodos del ciclo del cultivo. La respuesta del panel de

genotipos mostró una variación de tipo continua frente a *Z. tritici* en los dos estadios evaluados. En todos los experimentos, dicha distribución estuvo sesgada a la izquierda (genotipos con bajos niveles de severidad). Esto último, sugiere una herencia de la resistencia de tipo cuantitativa, poligénica y de control genético complejo. Por último, la heredabilidad en sentido amplio de la resistencia presentó valores de 0,40 y de 0,76 para N y CP en estado de plántula, mientras que en estado adulto fue de 0,75 y 0,78 para cada uno de estos componentes. Adicionalmente, el ABCPE presentó valores de 0,79 y 0,75, respectivamente.

Relación fenotípica entre la severidad a *Z. tritici*, DAE y AP

En ambos estadios de desarrollo, el análisis de regresiones múltiple utilizando CP como variable dependiente y DAE y AP como variables independientes, presentó significativos R^2 en la mayoría de las combinaciones de aislamientos y experimentos (Tabla 14). En general, los coeficientes de DAE fueron significativos, negativos y consistentes. Contrariamente, los coeficientes de regresión de AP, pocas veces fueron significativos y en general inconsistentes. Adicionalmente, cuando se utilizó N como variable dependiente, el análisis de regresión múltiple también resultó significativo en la mayoría de las combinaciones aislamientos y experimentos, tanto en plántula como en planta adulta. En este caso, los coeficientes de DAE nuevamente fueron significativos, pero mientras en plántula se observó una relación negativa, en estado adulto resultó positiva. Adicionalmente, como sucedió con la variable CP, los coeficientes de AP fueron nuevamente inconsistentes. Considerando el promedio de ambos aislamientos y experimentos, los modelos incluyendo ambas variables independientes explicaron 11,95 y 6,35 % y 8,8 y 32,3 % de la variación en CP y N, en plántula y estado adulto, respectivamente.

Analizando lo sucedido en estado de plántula, al igual que lo mencionado en el Capítulo 3, todos los genotipos fueron inoculados y evaluados en el mismo momento, por lo que la asociación encontrada es adjudicada al ligamiento genético de los factores determinantes de ambos caracteres. En estado adulto, las variables ambientales precipitación y humedad se comportaron de manera opuesta al comparar las medias de cada una entre los genotipos precoces y tardíos. La humedad fue más baja para el grupo de genotipos tardíos (82,05; 82,91 y 79,66 %) respecto de los precoces (88,63; 84,68 y 81,89 %) en los tres experimentos, mientras que las precipitaciones fueron mayores para genotipos tardíos (2,82; 4,4 y 83,24 mm) respecto a los más precoces (5,49; 1,51 y 2,46 mm) en dos de los tres experimentos. La temperatura media durante el periodo de exposición de

la hoja bandera como se esperaba, fue mayor en genotipos tardíos (20,75; 19,04 y 19,68 °C) comparada con la media de los genotipos precoces (17,9; 14,34 y 17,62 °C), en los tres experimentos realizados. A pesar de las diferentes condiciones ambientales a las que estuvieron expuestos los distintos grupos de precocidad, la regresión entre severidad expresada como CP y DAE siempre se mantuvo consistente y negativa por lo que se puede asumir que la misma está dada por una asociación genética más que por efecto ambiental. En el caso particular de la severidad expresada como N, presentó una relación positiva con DAE, lo que puede ser atribuido a las mayores temperaturas a las que fueron expuestos los genotipos tardíos, lo que podría haber generado mayores niveles de senescencia natural del cultivo interfiriendo en los resultados.

Tabla 14. Regresión lineal múltiple entre CP y N causados por dos aislamientos de *Z. tritici* como variables dependientes y DAE y AP como variables independientes de 96 genotipos de trigo en estado de plántula y planta adulta en los experimentos de campo realizados.

Aislamiento		FALP0112				FALP0212			
Parámetros ecuación		Constante	DAE	AP	R ²	Constante	DAE	AP	R ²
Experimento 1		GS							
N	Plántula	106,8***	-0,12**	-0,06	0,08*	112,32***	-0,20**	0,00	0,11*
	Adulto	-32,2*	0,85***	0,04	0,44***	34,35*	0,32*	0,08	0,10**
CP	Plántula	19,8***	-0,17**	0,09	0,10**	4,95***	-0,04**	0,01	0,08*
	Adulto	7,7	0,01	-0,01	0,00	49,51***	-0,25*	-0,01	0,06*
Experimento 2									
N	Plántula	19,3*	-0,09	0,05	0,03	26,05*	-0,18	0,09	0,04
	Adulto	-4,7	0,59**	0,25**	0,18***	-28,73	0,89***	0,18	0,21***
CP	Plántula	7,22***	-0,08***	0,02*	0,17***	11,74***	-0,13***	0,04*	0,12***
	Adulto	9,88	-0,01	-0,04	0,02	36,53**	-0,22	-0,06	0,04
Experimento 3									
N	Adulto	-101,38***	1,26***	-0,00	0,58***	-58,34***	0,97***	-0,00	0,40***
CP	Adulto	24,04***	-0,13***	-0,03*	0,26***	39,68***	-0,20**	-0,08	0,14***

Niveles de significancia indicados con asterisco como: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

Caracteres asociados al rendimiento y calidad de grano, resistencia a roya de la hoja y fusariosis de la espiga.

En estos caracteres también se observó una amplia diferencia entre genotipos a lo largo de los ensayos. En el ANAVA combinado a través de los años se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) a través de los genotipos, experimentos y en la interacción para todos los caracteres evaluados, con la excepción del factor experimento para los caracteres P% e índice de espiga que fueron significativos ($P = 0,01$) y no significativo, respectivamente (Tabla 15). La interacción genotipo × experimento indica que algunos genotipos son dependientes no solo del

componente genético sino también de las condiciones ambientales y por lo tanto el efecto de ambos factores no puede ser considerado de manera separada.

Por otro lado, la mayoría de los caracteres evaluados mostraron relativamente altos valores de heredabilidad. Los valores más elevados se observaron en caracteres relacionados con el desarrollo (en promedio 97,4 %) a excepción de DEA que presentó el valor más bajo de todos los caracteres evaluados (32 %). Dentro de los caracteres relacionados con el rendimiento del cultivo se destacaron LP, LE y EE con valores de heredabilidad de 98, 98 y 97, respectivamente. Dentro de este grupo los valores más bajos correspondieron a GEF y FE con valores de 72 y 77, respectivamente. Por último, tanto los caracteres relacionados con la calidad del grano (P% y VS) como las enfermedades (RH y FU) presentaron valores de heredabilidad moderados (Tabla 15).

Tabla 15. Cuadrados medios del ANAVA y estadísticos descriptivos: media (med), mínimo (min), máximo (max), coeficiente de variación (CV%) y heredabilidad (h^2) de los 98 genotipos constituyen el panel de asociación para los caracteres evaluados en los tres experimentos.

FV	Experimento (E)	Cultivar (C)	E × C	Residual	Estadísticos descriptivos				
GL	2	97	194	882	Med	Min	Max	CV %	h^2
AP	918,42	4960,86	99,35	24,18	19,52	80,72	140,20	6,10	0,98
AT	1570,20	4750,00	75,53	9,62	12,88	68,41	129,70	4,50	0,98
AHB	246,82	3036,82	63,15	7,83	12,87	55,52	103,20	5,00	0,98
DAE	120859,87	15551,35	82,36	8,43	77,00	117,10	155,00	2,50	0,99
DAA	137755,93	1222,63	76,07	7,84	82,00	124,40	162,00	2,30	0,94
DEA	709,38	44,06	30,05	3,64	0,00	7,29	30,00	26,20	0,32
LP	586,96	484,37	7,97	1,80	0,00	12,89	32,62	10,40	0,98
LE	40,59	34,02	0,56	0,30	3,85	9,00	16,55	6,10	0,98
PE	37,27	1,61	0,23	0,01	0,58	1,64	3,17	6,60	0,86
PGE	17,85	0,88	0,15	0,01	0,21	1,14	2,35	7,00	0,83
IE	0,00‡	0,04	0,01	0,00	0,30	0,69	0,86	4,70	0,81
PMG	3522,00	390,12	60,43	7,60	11,28	31,64	63,33	8,70	0,85
NGE	6619,84	539,14	99,17	5,68	13,41	36,19	75,40	6,60	0,82
FE	29023,90	4070,30	926,50	165,20	13,32	79,45	196,40	16,20	0,77
EE	808,84	211,99	6,05	0,83	10,70	20,60	42,29	4,40	0,97
EFE	1179,33	89,86	6,48	0,78	5,70	17,06	33,14	5,20	0,93
EEE	80,19	57,10	4,81	0,28	0,10	3,55	18,70	14,90	0,92
GEF	0,31	0,93	0,26	0,04	1,03	2,13	5,26	9,30	0,72
P%	5,65†	14,00	4,51	0,85	8,26	11,95	18,18	7,70	0,68
VS	640,29	223,45	36,16	2,31	14,28	28,16	43,94	5,40	0,84
RH	30907,48	1491,24	327,80	14,09	0,00	12,54	75,95	29,90	0,78
FU	7877,56	366,79	115,50	11,21	0,00	5,62	64,29	59,60	0,69

Todos significativos al $P < 0,001$; excepto: † significativo al $P = 0,001$; ‡ no significativo.

Análisis de correlación

Las correlaciones fenotípicas como genéticas fueron altamente significativas ($P < 0,001$) entre la mayoría de los caracteres a través de los experimentos, tal como se muestra en la Tabla 16. Analizando las correlaciones genéticas, como era esperable los caracteres AP, AT y AHB presentaron altos y positivos coeficientes de correlación de Pearson, dichos caracteres también mostraron una asociación positiva con LP. DAE mostró una elevada y positiva correlación con DAA ($rg = 0,99$), mientras que DEA presentó una correlación negativa con ambos ($rg = -0,69$ y $rg = -0,58$ respectivamente). El carácter LP no presentó asociación significativa con LE, por lo que podrían ser seleccionados de manera independiente y opuesta. Por su parte, LE se asoció de manera positiva con PE, EE ($rg = 0,58$ y $rg = 0,71$) y DAE ($rg = 0,42$), esto último podría estar asociado al mayor periodo de crecimiento de la espiga. En consistencia con estos resultados, PE también presentó una correlación positiva con DAE ($rg = 0,19$). Adicionalmente y como era de esperar presentó una positiva correlación con PGE, NGE y EFE ($rg = 0,93$, $rg = 0,75$ y $rg = 0,68$). Contrariamente presentó una relación negativa con el carácter FE ($rg = -0,27$). PGE se asoció de forma positiva con NGE, PMG y EFE ($rg = 0,67$, $rg = 0,69$ y $rg = 0,53$) y negativa con FU ($rg = -0,29$). IE no presentó una correlación significativa con PE, pero sí estuvo positivamente asociado con PGE y FE ($rg = 0,47$ y $rg = 0,72$). El carácter NGE presentó una correlación positiva con los caracteres PE ($rg = 0,75$), EFE ($rg = 0,69$), GEF ($rg = 0,66$), DAE ($rg = 0,19$) y DAA ($rg = 0,20$). FE se asoció de manera positiva con IE ($rg = 0,72$) y con GEF ($rg = 0,60$), mientras que con LE ($rg = -0,42$), PE ($rg = -0,27$) y EEE ($rg = -0,43$) su relación fue negativa. Los caracteres asociados a calidad del grano en general presentaron correlaciones negativas con el resto de los caracteres, pero positiva entre sí ($rg = 0,38$). Respecto a las enfermedades, la susceptibilidad a roya se asoció positivamente con AP ($rg = 0,29$) (no afecta su dispersión) y con la longitud del ciclo del cultivo: DAE ($rg = 0,41$) y DAA ($rg = 0,40$) lo que puede estar asociado a mayores temperaturas experimentadas por genotipos más tardíos. En el caso de FU, este no afectó los parámetros de calidad, lo cual se explica debido a que tales determinaciones se realizaron sobre granos sanos. Sin embargo, FU si se asoció de manera positiva con DEA ($rg = 0,47$), el cual puede ser un estimador de la duración del periodo de antesis.

Tabla 16. Matriz de correlación genética (encima de la diagonal) y fenotípica (debajo de la diagonal) estimados para cada par de caracteres evaluados. El nivel de significancia es indicado con color: negro $P<0,001$; Azul $P<0,01$, celeste $P<0,05$ y verde no significativo.

	AP	AT	AHB	DAE	DAA	DEA	LP	LE	PE	PGE	IE	PMG	NGE	FE	EE	EFE	EEE	GEF	P%	VS	RH	FU
AP	-	0,99	0,95	0,39	0,36	-0,41	0,71	0,28	0,38	0,44	0,39	0,41	0,25	0,13	0,20	0,33	-0,02	0,01	-0,25	-0,38	0,29	-0,42
AT	0,98	-	0,96	0,39	0,36	-0,42	0,72	0,21	0,32	0,42	0,44	0,42	0,20	0,19	0,16	0,28	-0,04	0,00	-0,25	-0,35	0,29	-0,42
AHB	0,94	0,96	-	0,56	0,53	-0,53	0,51	0,27	0,37	0,42	0,35	0,37	0,26	0,12	0,31	0,39	0,10	-0,05	-0,21	-0,33	0,34	-0,47
DAE	0,26	0,27	0,35	-	0,99	-0,69	-0,19	0,42	0,19	0,08	-0,21	-0,06	0,19	-0,18	0,60	0,44	0,60	-0,22	0,12	-0,10	0,41	-0,49
DAA	0,22	0,23	0,29	0,98	-	-0,58	-0,21	0,42	0,18	0,06	-0,25	-0,08	0,20	-0,20	0,61	0,46	0,61	-0,23	0,15	-0,09	0,40	-0,46
DEA	-0,23	-0,24	-0,31	-0,09	0,10	-	-0,01	-0,27	-0,14	-0,13	-0,04	-0,10	-0,10	0,03	-0,29	-0,20	-0,31	0,06	0,10	0,14	-0,29	0,47
LP	0,68	0,71	0,48	-0,03	-0,03	0,02	-	-0,02	0,09	0,24	0,51	0,38	-0,01	0,31	-0,28	-0,12	-0,40	0,15	-0,27	-0,27	0,05	-0,14
LE	0,28	0,20	0,26	0,14	0,10	-0,19	-0,03	-	0,58	0,39	-0,29	0,09	0,45	-0,42	0,71	0,67	0,52	-0,10	0,25	-0,18	0,15	-0,27
PE	0,30	0,26	0,29	-0,20	-0,24	-0,21	0,06	0,50	-	0,93	0,12	0,53	0,75	-0,27	0,48	0,68	0,06	0,28	-0,18	-0,26	-0,07	-0,26
PGE	0,35	0,33	0,34	-0,23	-0,27	-0,20	0,17	0,36	0,94	-	0,47	0,69	0,67	0,02	0,28	0,53	-0,13	0,34	-0,34	-0,24	-0,13	-0,29
IE	0,30	0,35	0,28	-0,09	-0,10	-0,05	0,39	-0,22	0,09	0,40	-	0,57	0,06	0,72	-0,35	-0,13	-0,50	0,25	-0,49	-0,08	-0,14	-0,24
PMG	0,34	0,35	0,31	-0,12	-0,14	-0,13	0,31	0,11	0,58	0,69	0,45	-	-0,06	-0,12	-0,03	0,07	-0,16	-0,13	-0,26	-0,03	-0,17	-0,25
NGE	0,20	0,16	0,21	-0,18	-0,21	-0,16	-0,03	0,41	0,73	0,69	0,12	-0,02	-	0,12	0,44	0,69	-0,03	0,60	-0,22	-0,32	0,05	-0,18
FE	0,07	0,12	0,07	0,01	0,02	0,05	0,19	-0,32	-0,33	-0,09	0,70	-0,25	0,11	-	-0,36	-0,21	-0,43	0,40	-0,35	-0,06	-0,03	-0,06
EE	0,19	0,14	0,29	0,14	0,10	-0,22	-0,27	0,67	0,46	0,31	-0,27	0,01	0,43	-0,29	-	0,89	0,81	-0,35	0,27	-0,16	0,19	-0,30
EFE	0,27	0,22	0,32	-0,10	-0,14	-0,22	-0,12	0,60	0,66	0,55	-0,08	0,11	0,67	-0,18	0,85	-	0,45	-0,14	0,03	-0,27	0,18	-0,30
EEE	-0,02	-0,04	0,09	0,40	0,37	-0,11	-0,35	0,42	-0,05	-0,17	-0,40	-0,12	-0,13	-0,29	0,70	0,22	-	-0,49	0,49	0,03	0,14	-0,21
GEF	0,03	0,02	-0,02	-0,10	-0,10	0,00	0,10	-0,05	0,29	0,35	0,26	-0,12	0,62	0,35	-0,28	-0,13	-0,34	-	-0,33	-0,19	-0,16	0,07
P%	-0,18	-0,18	-0,15	0,04	0,05	0,05	-0,18	0,16	-0,13	-0,22	-0,32	-0,12	-0,19	-0,21	0,18	-0,03	0,38	-0,21	-	0,38	-0,14	0,09
VS	-0,30	-0,28	-0,26	-0,15	-0,16	-0,02	-0,21	-0,11	-0,05	-0,03	-0,04	0,08	-0,14	-0,10	-0,07	-0,11	0,02	-0,12	0,30	-	-0,27	0,13
RH	0,21	0,20	0,24	-0,15	-0,20	-0,26	0,02	0,18	0,18	0,12	-0,09	-0,01	0,20	-0,11	0,24	0,32	0,02	-0,08	-0,10	-0,07	-	-0,27
FU	-0,29	-0,30	-0,33	-0,20	-0,15	0,29	-0,13	-0,19	-0,31	-0,33	-0,18	-0,35	-0,14	0,09	-0,19	-0,20	-0,08	0,01	0,07	-0,02	-0,19	-

Rendimiento versus calidad de grano

El carácter P% en grano como se esperaba, tanto en las correlaciones fenotípicas como genéticas, se asoció de manera significativa y negativa con 8 de los 12 caracteres asociados con el rendimiento del cultivo. Adicionalmente, con tres de ellos (LE, EE y EEE) la asociación fue positiva, mientras que con EFE no mostró correlación. Dentro de las correlaciones negativas se destacan IE ($r_g = -0,49$), FE ($r_g = -0,35$) y PGE ($r_g = -0,34$). En las asociaciones positivas el mayor coeficiente se observó con EEE ($r_g = 0,49$). Por su parte, VS se asoció tanto fenotípica como genéticamente en forma negativa y significativa con 7 de los 12 caracteres asociados al rendimiento. Mientras que, con el resto, la correlación no resultó significativa a excepción de PMG en la correlación fenotípica, pero en este caso con un bajo coeficiente. Dentro de las asociaciones negativas se destacó la observada con NGE ($r_g = -0,32$). Por último, entre ambos caracteres relacionados con la calidad del grano (P% y VS) la correlación resultó positiva y significativa con un coeficiente moderado ($r_g = 0,38$).

Distribución de marcadores, estructura poblacional y desequilibrio de ligamiento

De los 525 marcadores DArT con posición conocida, 190 se ubicaron sobre el genoma A, 310 sobre el genoma B y 47 sobre el genoma D, cubriendo una distancia genética de 949,2, 1060,1 y 283,5 cM, respectivamente. De esta forma, el distanciamiento entre marcadores fue de 4,9, 3,5 y 6,0 cM para los genomas A, B y D, respectivamente. Todos los cromosomas, con excepción del 6D fueron cubiertos por marcadores, aunque los del genoma D con una menor cantidad de marcadores.

La presencia de estructuración en la población de mapeo puede ocasionar asociaciones espurias, por lo que debe ser considerada en el análisis (Flint-Garcia *et al.*, 2003). En este estudio, dos sub-grupos de estructura fueron identificados en la población de mapeo (Fig. 23). La mayoría de los genotipos (76) en el análisis fueron asignados al sub-grupo 1 (Q1), mientras que los 20 restantes conformaron el segundo sub-grupo (Q2). El agrupamiento por estructura fue consistente con el origen y pedigree de los genotipos, ya que por ejemplo Q2 incluyó los cultivares Nova Banatka, Nizija y Bezostaja 1, siendo este último el padre de los dos primeros. Adicionalmente, Q2 incluyó principalmente cultivares de origen serbio (12 de

20 cultivares), mientras que en Q1 presentó cultivares de diversos orígenes. Los dos cultivares argentinos pertenecieron uno a cada grupo (Magnif 41 a Q1 y Gala a Q2).

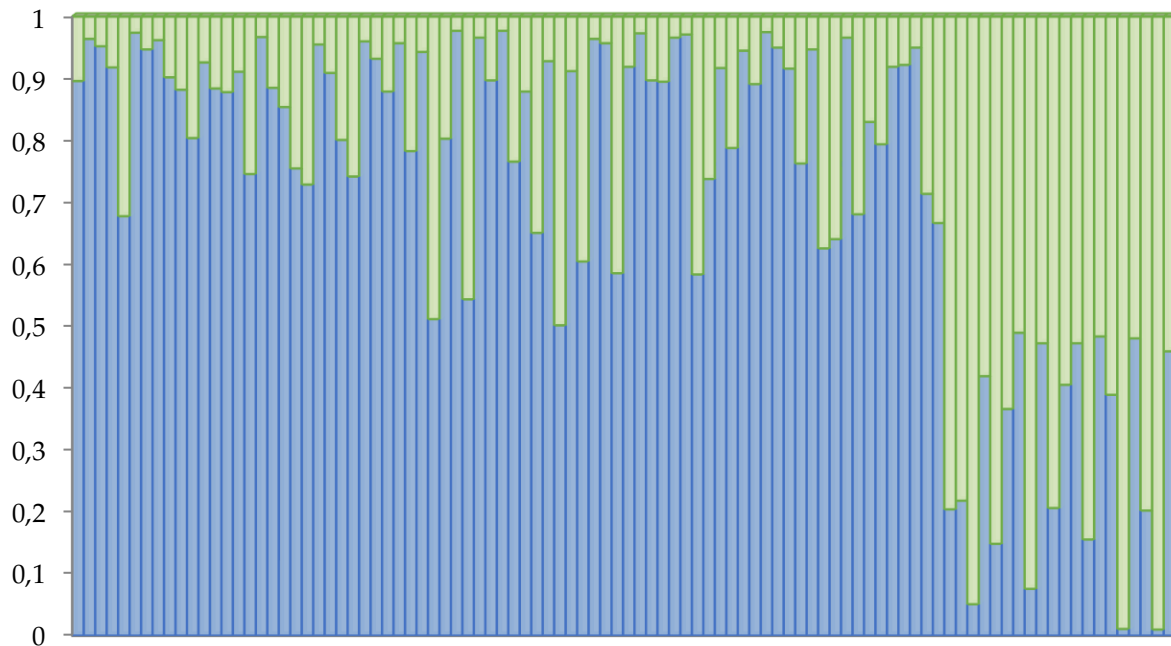


Figura 23. Estructura poblacional de 96 genotipos de trigo. Cada genotipo está representado por una línea coloreada, donde cada color representa la proporción de pertenencia del mismo a los K clúster (● Sub-grupo 1, Q1; ● Sub-grupo 2, Q2).

La estructura poblacional definida por STRUCTURE presentó efectos significativos sobre varios de los caracteres fenotípicos evaluados (resistencia a *Z. tritici*, DAE, DAA, PE, PGE, IE, PMG, NGE, FE, EE, EEE y ACP), aunque el porcentaje de variación que explicaron en general fue bajo (Tabla 17). Con respecto al comportamiento frente a mancha de la hoja y considerando la variable CP en el promedio de los 3 experimentos, los genotipos incluidos en Q1 mostraron ser más resistentes que los incluidos en Q2 tanto en estado de plántula (2,40 vs. 2,96 %) como en planta adulta (7,76 vs. 11,77 %). Particularmente para este carácter la estructura poblacional también mostró diferencias en cuanto a la significancia de la regresión entre severidad/resistencia y el ciclo del cultivo, realizada en el análisis fenotípico de los datos (Tabla 17). Las figuras 24 y 25, muestran la regresión entre severidad a mancha de la hoja (expresada como N y CP) causada por dos aislamientos (FALP0112 y FALP0212) y DAE.

Tabla 17. Significancia y porcentaje de la variación fenotípica explicada (R^2) por la estructura poblacional sobre los caracteres fenotípicos evaluados a través de los ambientes.

Carácter	Experimentos ^a	R ² (%)	Valor P ^b	Q1	Q2
AP	3	0,00	0,967	80,76	80,69
AT	3	0,02	0,597	68,31	69,10
AHB	3	0,00	0,849	55,60	55,37
DAE*	3	0,39	0,035	117,62	114,73
DAA*	3	0,42	0,027	124,98	121,95
DEA	3	0,02	0,598	7,35	7,22
LP*	3	0,38	0,035	12,71	13,73
LE	3	0,16	0,173	9,05	8,88
PE**	3	0,76	0,003	1,62	1,72
PGE***	3	1,62	0,000	1,12	1,23
IE***	3	3,38	0,000	0,69	0,72
PMG***	3	1,36	0,000	31,14	33,26
NGE*	3	0,47	0,020	35,89	37,38
FE***	3	1,40	0,000	77,93	85,47
EE*	3	0,46	0,021	20,81	20,05
EFE	3	0,13	0,223	17,03	17,32
EEE***	3	3,11	0,000	3,78	2,72
GEF	3	0,10	0,276	2,12	2,15
P%	3	0,11	0,265	12,00	11,87
VS	3	0,33	0,051	28,02	28,76
PPN	2	0,06	0,506	50,91	53,08
PCP	2	0,28	0,142	2,40	2,96
APN	3	0,05	0,467	72,44	71,35
ACP***	3	2,41	0,000	7,77	11,78
ABCPE PN	2	0,00	0,960	7760	7742
ABCPE CP***	2	2,12	0,000	641	902
RH	3	0,00	0,816	12,66	12,92
FU	3	0,06	0,390	5,65	5,12

^a Número de experimentos utilizados en el análisis de datos; ^b Umbral de significancia del valor $P=0,05$; significancia indicadas con asterisco como: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$.

Esta asociación tanto en plántula como planta adulta, ha sido atribuida anteriormente a la presencia de ligamiento entre los factores genéticos determinantes de cada uno de los rasgos (a excepción de N en estado adulto cuyo comportamiento se vio influenciado por la temperatura). En dicha gráfica, sin embargo, la regresión se realizó para cada uno de los grupos de estructura definidos por STRUCTURE de manera individual y como se puede observar, mientras Q1 muestra consistente y significativa regresión con el ciclo, en Q2 esta relación no es significativa.

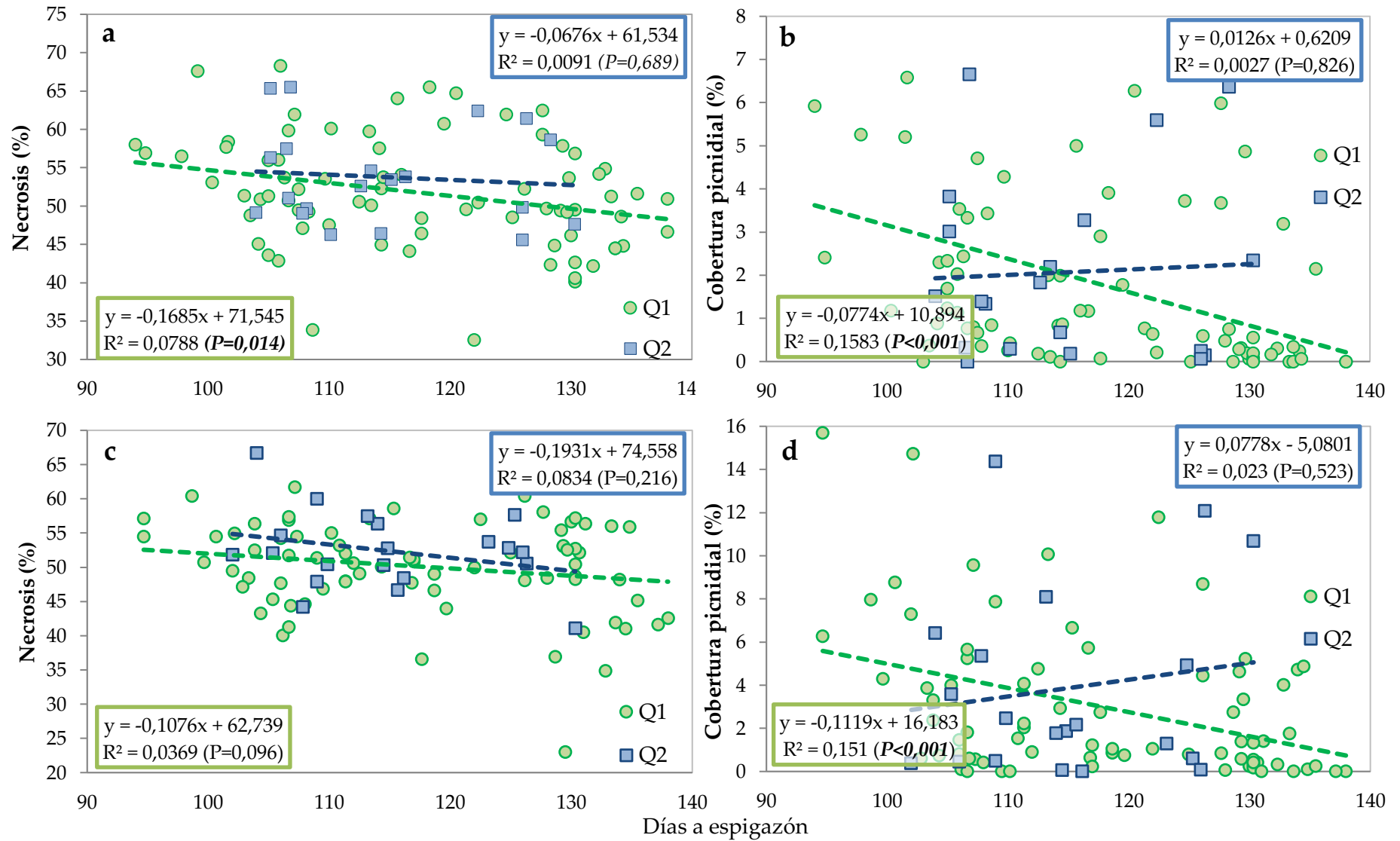


Figura 24. Regresión entre N y CP causada por: a y b) FALP0112 y c y d) FALP0212 en estado de plántula y días a espigazón en 96 cultivares de trigo. Los grupos de estructura son indicados como: ● Sub-grupo 1, Q1; ■ Sub-grupo 2, Q2.

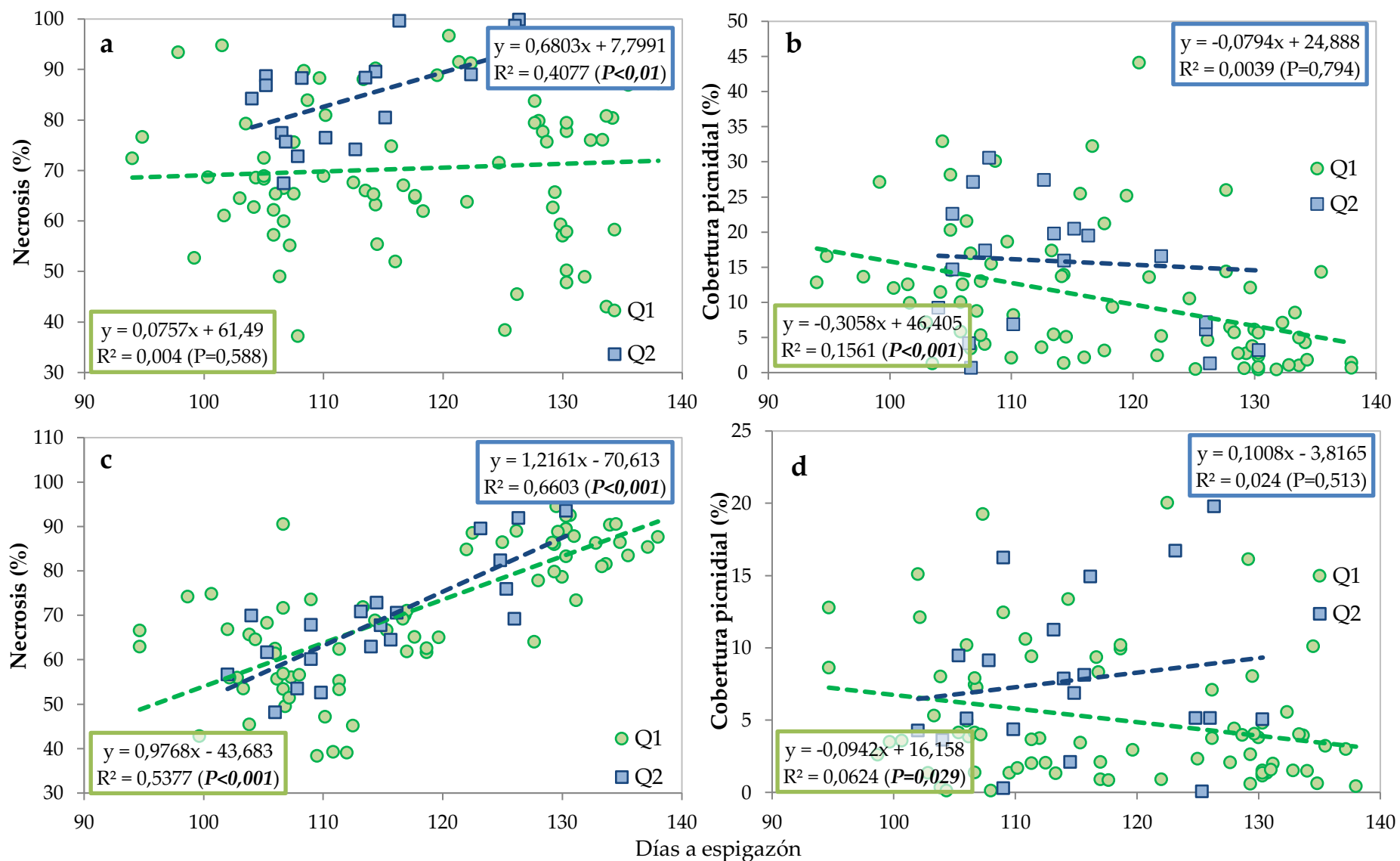


Figura 25. Regresión entre N y CP causada por: a y b) FALP0112 y c y d) FALP0212 en estado adulto y días a espigazón en 96 cultivares de trigo. Los grupos de estructura son indicados como: ● Sub-grupo 1, Q1; ● Sub-grupo 2, Q2.

Esto último estaría indicando que la presencia de ligamiento genético entre la resistencia a *Z. tritici* y el ciclo dependería del fondo genético analizado. Así por ejemplo los genotipos correspondientes a Q2 no presentan este tipo de asociación, mientras que en Q1 no todos los genotipos que conforman el grupo cumplen con tal condición, lo cual es indicado por los bajos coeficientes de determinación. Adicionalmente, analizando el efecto de la estructura sobre el resto de caracteres se observa que: los genotipos incluidos en Q1 presentaron ciclos más largos (117,62 vs. 114,73); mayor cantidad de: EE (20,81 vs. 20,05), EEE (3,78 vs. 2,72) y mayor resistencia a *Z. tritici* en estado adulto (7,77 vs. 11,78 para CP). Por su parte, los genotipos de Q2 presentaron mayor: PE (1,72 vs. 1,62), PGE (1,23 vs. 1,12), IE (0,72 vs. 0,69), PMG (33,26 vs. 31,14), NGE (37,38 vs. 35,89) y FE (85,47 vs. 77,93).

La eficacia de estudios de asociación de todo genoma en la identificación de rasgos depende de la descomposición de LD inicialmente presente en una población a una velocidad determinada por la distancia genética entre loci y el número de generaciones ocurridas. En este estudio, la colección completa presentó 10.412 pares de marcadores intracromosómicos, con un valor de r^2 promedio de 0,069. De ese total, 1.549 (14,9 %) pares de marcadores mostraron un significativo valor de DL ($P < 0,01$). Analizando el DL en los grupos de estructura, el Q1 presentó valores similares a lo de la colección completa tanto en la cantidad de pares en DL como en su valor de r^2 (1213 y 0,069). Sin embargo, Q2 presentó una menor cantidad de pares en DL (522) pero con un valor r^2 medio mucho más alto (0,146). Adicionalmente, Q2 presentó una mayor cantidad de pares en completo DL (416), comparado con la colección completa (205) y Q1 (210). Los pares en total DL presentaron una distancia media de 11,6 cM en Q2, mientras que en Q1 y la colección completa esta distancia solo se extendió 3,6 cM. También el r^2 crítico (valor a partir del cual el DL es causado por ligamiento genético) fue mayor en Q2 (0,535) que en la colección completa y Q1 (0,263 y 0,279, respectivamente). La curva LOESS (Local Regression) ajustada al gráfico de DL en función de la distancia genética (cM) no llegó a interceptar la línea del valor crítico de r^2 , lo que refleja la rápida caída en promedio del DL incluso en Q2. Este último sub-grupo, presentó un patrón de caída del DL similar al de Q1 y la colección completa, pero partiendo desde valores de r^2 mayores, como consecuencia en este sub-grupo la caída media de DL se

mantuvo por encima de 0,15 por una distancia de 18 cM mientras que en Q1 la colección completa el DL cayó por debajo de ese valor a 4 cM de distancia (Fig. 26).

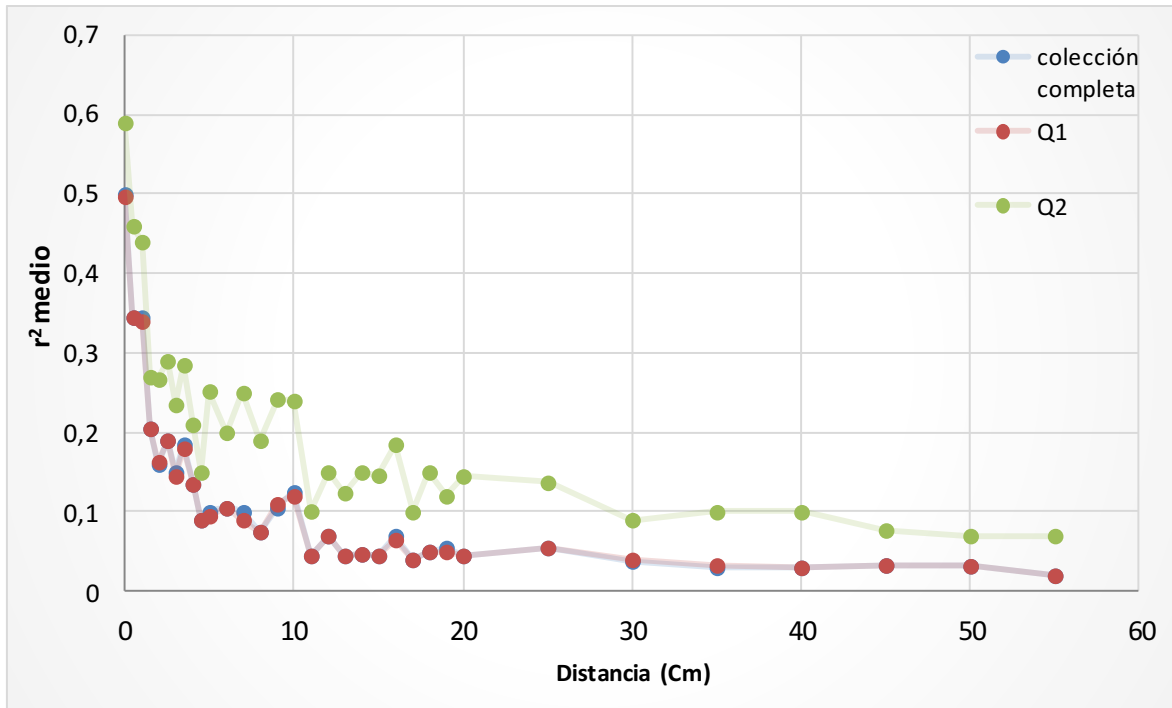


Figura 26. Caída del DL en la colección completa y los dos grupos definido por STRUCTURE representado a través de los valores medios de r^2 para diferentes distancias en cM.

Con respecto al DL intercromosómico, éste presentó un valor medio de r^2 más bajo (0,019) comparado con el intracromosómico (0,069). En este caso, nuevamente Q2 mostró un mayor valor de r^2 y menor número de pares significativos. Así, en la población completa se detectaron 3,2 % del total de pares (115.215) con significativo DL, de los cuales 24 estuvieron en desequilibrio completo. Gran parte del DL detectado resultó de la interacción de dos marcadores (uno sobre el brazo cromosómico 3AS y otro sobre 7DS) con ocho marcadores mapeados dentro de un intervalo de 17 cM sobre el brazo corto del cromosoma 1B (17 de los 24 pares). Otros cuatro pares resultaron de la interacción entre un único marcador sobre 6BL con otros cuatro mapeados cerca del centrómero de 3B. Q1 presentó los mismos 24 pares que la colección completa en total DL, mientras que en Q2 se observó un total de 66 pares en completo DL, de los cuales 17 resultaron de la interacción entre 3 marcadores sobre 2B y 6 marcadores sobre 6B. Los otros 49 pares se extendieron a lo largo de varios cromosomas y no son debidos a una interacción en particular. Por último, de los marcadores no

mapeados, 1.809 (3,5 %) de los 51.677 pares posibles presentaron significativo DL, de los cuales 69 estuvieron en completo DL. Considerando el DL entre marcadores mapeados y no mapeados, se encontró que, de 171.434 pares en total, 5991 (3,5 %) presentaron significativo DL ($P < 0,01$), de los cuales 101 estuvieron en completo DL.

Análisis de asociación genotipo-fenotipo

Asociaciones marcador carácter fueron consideradas significativas cuando presentaron valores de $P < 0,05$ o $P < 0,01$ bajo los dos modelos utilizados (MLG y MLM). La consistencia a través de dos de los tres experimentos, se consideró como criterio adicional para reducir el riesgo de incluir asociaciones falso-positivas. Considerando ambos criterios, se identificaron un total de 463 AsMC relativas a 213 marcadores DArT sobre los 23 caracteres evaluados. Del total de marcadores significativos, 107 estuvieron asociados a un solo rasgo y por lo tanto fueron considerados como rasgo-específicos, mientras que los restantes 106 se consideraron como marcadores multi-rasgos. Dentro de este último grupo, el marcador wPt7063 presentó el mayor número de asociaciones (10). Todos los cromosomas con la excepción del 6D presentaron AsMC. El mayor número fue encontrado sobre el cromosoma 6B que presentó 63, mientras que el menor correspondió a 3D que solo presentó 1. Con respecto a los grupos homeólogos, el grupo 2 contuvo el mayor número de AsMC (95), seguido por 1 (80), 7 (79), 3 (64), 6 (62), 5 (45) y finalmente 4 (38). Del total el genoma B presentó 233 AsMC seguido por el A con 160 y finalmente el D con 50. A continuación se describen las AsMC correspondientes a cada grupo de caracteres agrupados por similitud.

Enfermedades fúngicas

Mancha de la hoja

Plántula

En estado de plántula, se encontraron un total de 42 AsMC relativas a 30 marcadores DArT significativamente asociadas con la resistencia a *Z. tritici*. Del total, 8 y 11 fueron efectivos contra el aislamiento FALP0112, mientras que 7 y 16 lo fueron contra el aislamiento FALP0212 para las variables N y CP, respectivamente (Anexo: Tabla 1). Siete de los 30 marcadores significativos en este estadio fueron asociados a ambos aislamientos simultáneamente. La variación fenotípica explicada por los marcadores considerando N

varió de 3,96 (wPt0694 sobre 2BL) a 10,70 % (wPt6116 sobre 6BL) para FALP0112, mientras que para FALP0212 lo hizo de 3,37 (wPt8650 sobre 4B/7A) a 9,72 % (wPt6240 sobre 1BL). Adicionalmente, la variación fenotípica explicada por los marcadores asociados con la resistencia expresada como CP varió de 4,57 (wPt0049 sobre 2BL) a 18,10 % (wPt8168 sobre 1BL) para FALP0112, mientras que para FALP0212 lo hizo de 4,16 (wPt7062 sobre 4BL) a 15,40 % (wPt7599 sobre 6A/6B). Por último, los 30 marcadores involucrados en las asociaciones detectadas en este estadio fueron asignados a 25 regiones genómicas (en base a la distancia genética), ubicadas sobre los cromosomas 1AS (tres), 1BS, 1BL, 2AS, 2BL (tres), 2DS, 3AL, 3BS (dos), 3DS, 4BL, 5AS, 5BL, 6AS, 6BL, 7AS (dos), 7AL, 7DS, 4BS/7ASy 6AL/6BS (Fig. 27).

Planta adulta

En estado de planta adulta, se identificaron 36 AsMC correspondientes a 32 marcadores DARt. Catorce y 5 de ellas resultaron efectivas frente al aislamiento FALP0112, mientras 7 y 10 lo fueron frente a FALP0212 para las variables N y CP, respectivamente (Anexo: Tabla 2). De los 32 marcadores significativos a estado adulto, solo tres resultaron comunes a ambos aislamientos. Considerando la variable N, la variación fenotípica explicada por los marcadores a través de los 3 experimentos varió de 4,21 (wPt0950 sobre 2BL) a 16,91 % (wPt0689 sobre 6A/7B) para FALP0112 y de 4,25 (wPt0003 sobre 2AS) a 10,85 % (wPt1853 sobre 7BS) en el caso de FALP0212. Mientras que la variación fenotípica explicada por los marcadores asociados a la resistencia expresada como CP varió de 4,19 (wPt4229 sobre 6AL) a 11,66 % (wPt9380 sobre 1DS) en FALP0112 y de 3,95 (wPt8920 sobre 7BS) a 8,11 % (wPt7734 sobre 7AS) para FALP0212 (Tabla 20). En estado de planta adulta, los marcadores que resultaron significativos fueron asignados a 26 diferentes regiones genómicas distribuidas sobre 14 cromosomas: 1BS, 1BL, 1DS, 2AS, 2BS (cuatro), 2DS, 3AS, 3AL, 3BS, 4AS, 4BL, 5DS (dos), 6AS (dos), 6AL, 6BS, 7AS (tres), 7BS (dos) y 6AS/7AL (Fig. 27). Por último, los marcadores significativos al estado de planta adulta: wPt7094, wPt8168, wPt7062, wPt3883, y wPt7734 localizados sobre los cromosomas 1BS (11,9), 1BL (44,7), 4BL (109,8), 7AS (88,8) y 7AL (89,6), también fueron significativos en plántula.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad

Finalmente, para la variable ABCPE se identificaron 41 AsMC involucrando 36 marcadores DArT. De las cuales 16 y 5 fueron efectivas frente a FALP0112, mientras que 9 y 11 lo fueron contra FALP0212 para las variables N y CP, respectivamente (Anexo: Tabla 3). Los marcadores significativos Para el carácter ABCPE se dispusieron sobre 25 regiones genómicas distribuidas sobre 14 cromosomas: 1AL, 1BS, 1BL, 1DS, 2AS (dos), 2BS, 3AL, 3BS (dos), 3BL, 4AS, 4BL, 5DS, 6AS, 6AL, 6BS (dos), 7AS (tres), 7BS (tres) y 7BL.

Roya de la Hoja

Un total de 14 AsMC fueron asociadas con resistencia a roya en estado de planta adulta (Anexo: Tabla 4). Tales marcadores se distribuyeron sobre 11 de los 21 cromosomas y fueron asignados a 13 regiones genómicas ubicadas sobre los brazos cromosómicos 1BL, 1DS, 2AS, 2BL, 2DS, 3BS, 3BL, 4AL, 6BS (dos), 7DS, 5BS/7BS y 6AS/6BS. Para este carácter y a través de los tres experimentos realizados, la variación fenotípica explicada varió de 4,6 % (wPt9809 sobre 1BL) a 13,55 % (wPt7502 sobre 3BL).

Fusariosis de la Espiga

Con respecto a la resistencia a *F. graminearum* se identificaron 16 AsMC en al menos dos de los tres años (Anexo: Tabla 3). Las mismas fueron asignadas a 13 regiones genómica ubicadas sobre los brazos cromosómicos 1BS, 2AS, 2AS, 3BL, 5BL, 5BL, 6BL, 7AS, 7BL, 7BL, 7BL, 6AL/6BS, 6AS/6BS. La variación fenotípica del porcentaje de granos con fusarium explicada por los marcadores significativamente asociados varió de 4,83 % (wPt1325 sobre 6BL) a 19,07 % (wPt1541 sobre 6BL). Este último, representa el porcentaje de la variación fenotípica explicado más alto por un solo marcador sobre las tres enfermedades evaluadas.

Relación entre resistencia y número de alelos favorables

En las tres enfermedades fúngicas evaluadas se observó una clara relación entre los niveles de severidad alcanzados y el número de alelos acumulados en un mismo genotipo. En mancha de la hoja la cantidad de alelos de resistencia acumulados en un mismo genotipo varió entre 1 y 19 en estado de plántula y entre 2 y 14 alelos en estado adulto. En ambos estadios, el incremento en la cantidad de alelos mostró una reducción significativa en los

niveles de la enfermedad, indicando efectos aditivos de los factores genéticos identificados. Adicionalmente, se puede observar que, a mayor número de alelos de resistencia, menor es la dispersión respecto de la recta de regresión (Fig. 27a y b). Sin embargo, existen clases (grupo de genotipos) que, a pesar de tener un mayor número de alelos, presentan mayores niveles de severidad que la clase anterior (con menor cantidad de alelos). Esto último, está dado por la presencia de diferentes alelos en uno y otro grupo, los cuales presentan diferente efecto sobre la enfermedad. Como consecuencia, en genotipos presentando menor cantidad de alelos de resistencia, pero de mayor efecto, se pueden observar menores niveles de la enfermedad que en otros con mayor cantidad de factores genéticos, pero de menor efecto.

En el caso de roya de la hoja la cantidad de alelos favorables acumulados sobre un mismo genotipo varió de 1 a 12. En esta enfermedad también se observó una clara relación lineal entre niveles de severidad y número de alelos acumulados. Sin embargo, el efecto de cada uno de los alelos individuales parece ser similar, ya que en muy pocos casos fue posible observar genotipos que, presentando menor número de alelos, muestren mayores niveles de resistencia (Fig. 28). Particularmente en roya de la hoja, a medida que el valor unitario de alelos combinados aumentó, la severidad de la enfermedad se redujo a una tasa de -3,44 % ($P < 0,0001$) y con un valor de R^2 de 0,33 (Fig. 28a). Una reducción estadísticamente significativa en los niveles de severidad se observó con el aumento del número de alelos favorables, alcanzando valores por debajo de 15 % cuando estuvieron presentes 7 o más alelos en el mismo genotipo.

Una tendencia similar se observó para fusariosis de la espiga (Fig. 28b), con marcadas diferencia en la severidad de genotipos con 1 vs. 3 o más alelos. Entre estos dos grupos la severidad se redujo aproximadamente un 15 %.

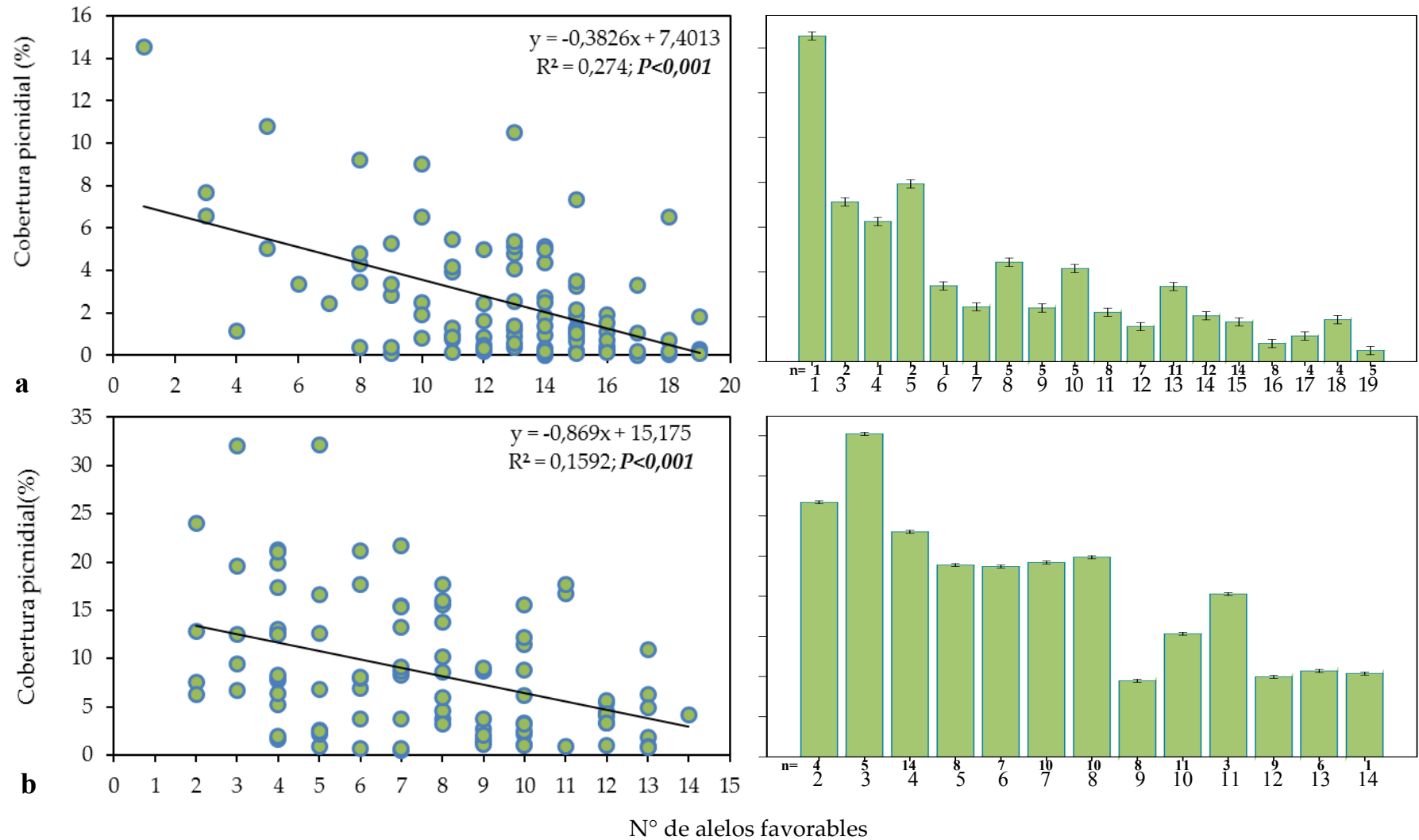


Figura 27. (Izquierda) Regresión entre Cobertura Picnidial de *Z. tritici* y el número de alelos de resistencia acumulados por genotipo frente a ambos aislamientos del patógeno. **(Derecha)** Nivel de Cobertura Picnidial promedio de genotipos con diferente cantidad de alelos favorable acumulados. Las barras de error indican diferencias significativas entre clases ($P < 0,05$) y **n** el número de genotipos en cada clase. **a** y **b** representan los estadios de plántula y planta adulta respectivamente.

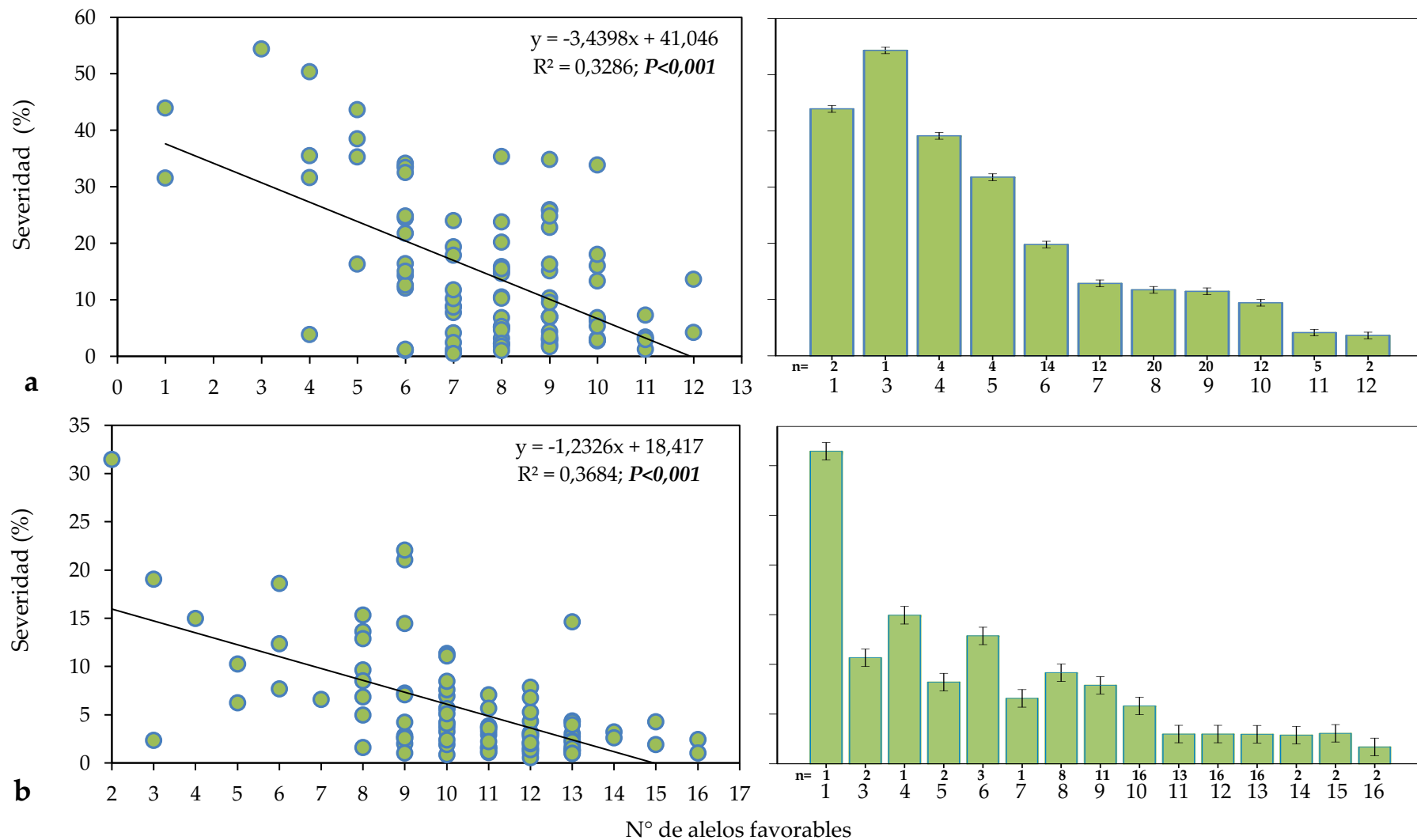


Figura 28. (Izquierda) Regresión entre el nivel de severidad (%) y el número de alelos de resistencia acumulados por genotipo. **(Derecha)** Nivel de severidad promedio de genotipos con diferente cantidad de alelos favorable acumulados. Las barras de error indican diferencias significativas entre clases ($P < 0,05$) y **n** el número de genotipos en cada clase. **a** y **b** representan la severidad correspondiente a roya de la hoja y fusariosis de la espiga, respectivamente.

Caracteres asociados al desarrollo del cultivo

Para los caracteres AP, AT y AHB se detectaron 11 AsMC que resultaron comunes a todos ellos. Las mismas se distribuyeron en 7 regiones genómicas sobre los brazos cromosómicos 1BS, 2BS (cinco), 3AL (dos), 4AL, 7AL y 6AL/6BS. Adicionalmente, se encontraron asociaciones específicas para AP sobre 3AL y 7AL; AT en 5BL, 5BL/7BL y 6BL y para AHB en los brazos cromosómicos 1BS, 2BL (dos), 2DS, 4AL, 5DS, 6AL y 6BS. El porcentaje de variación fenotípica explicada por los marcadores para cada uno de los tres caracteres varió de 3,97 % (wPt8168 sobre 1BL) a 17,45 % (wPt0433 sobre 7AL), de 5,17 % (wPt1553 sobre 7BL) a 18,14 % (wPt0433 sobre 7AL) y de 4,85 % (wPt4424 sobre 4AL) a 15,69 % (wPt0959 sobre 6A/6B) para AP, AT y AHB, respectivamente (Anexo: Tabla 5).

Con respecto a los caracteres relacionados con el ciclo del cultivo: DAE y DAA presentaron 14 AsMC en común, mientras que con DEA solo compartieron una (wPt7063 sobre 6AL). Las 14 AsMC compartidas por DAE y DAA se ubicaron en 13 regiones genómicas sobre los cromosomas 1A/2B, 1BS, 1BL, 2BS, 2BL, 3BS, 3BL, 4B, 5DS (dos), 6AL, 6BS, 6BL. Dos AsMC identificadas sobre 6A/6B y 5AS fueron específicas de DAE, mientras que otras dos sobre 2BS y 5AS resultaron específicas de DAA. Por su parte, DEA presentó 10 AsMC significativas adicionales, a la compartida con dos caracteres antes mencionados, Las mismas se ubicaron en 6 regiones genómicas sobre los cromosomas 3A (dos), 6A, 7A (dos) y 7B. La variación fenotípica explicada para cada uno de los tres caracteres varió de 3,02 % (wPt3921 sobre 3B) a 16,77 % (wPt6240 sobre 1B), de 5,47 % (wPt1328 sobre 1B) a 19,24 % (wPt6240 sobre 1B) y de 5,31 % (wPt7063 sobre 6A) a 20,09 % (wPt7027 sobre 6A), respectivamente (Anexo: Tabla 5).

Relación genética entre resistencia a *Z. tritici*, DAE y AP.

El ligamiento genético entre marcadores/regiones significativamente asociadas a la resistencia a *Z. tritici* con DAE y AP fue definido siguiendo la clasificación propuesta por Maccaferri *et al.* (2005), quien definió cuatro clases de pares de marcadores en (en función de su distancia genética): 1- ligamiento estrecho (<10 cM); 2- ligamiento moderado (10–20 cM); 3- ligamiento escaso (20–50 cM); 4- independientes (>50 cM). Siguiendo este criterio y considerando ambos estadios, un total de 11 y 7 regiones cromosómicas asociados a la

resistencia fueron encontradas en una posición similar y en ligamiento estrecho con marcadores asociados con DAE y AP, respectivamente.

En estado de plántula, 8 regiones cromosómicas asociadas a la resistencia, distribuidas sobre los brazos cromosómicos 1AS, 1BS, 1BL, 2BL, 3BS, 4BL, 6AL y 6BS (incluyendo 4 marcadores asociados al N y 7 asociados a CP), se localizaron en ligamiento estrecho con AsMC correspondientes a DAE. Particularmente, el marcador wPt6240 sobre el cromosoma 1BL (45,6 cM) resultó significativo para ambos rasgos. Por otro lado, 5 regiones cromosómicas distribuidas sobre 1BL, 3AS, 6AL, 6BS y 7AL presentaron superposición con marcadores asociados con AP. Mientras que el marcador wPt8168 sobre 1BL (44,7 cM) resultó significativo para ambos rasgos (Fig. 29).

En estado adulto, 4 regiones cromosómicas asociadas con la resistencia a *Z. tritici* localizadas sobre los brazos cromosómicos 2BS, 2BL, 4BL y 6BS, presentaron ligamiento estrecho con AsMC identificadas para DAE. Mientras que 4 marcadores, wPt9432, wPt9510, wPt1400 y wPt2856 sobre 3BS (44 and 44,4 cM) y 5DS (0 and 17,6 cM), directamente co-localizaron para ambos rasgos. Mientras que 3 regiones cromosómicas distribuidas sobre 2BS, 3AS y 7AL se superpusieron con marcadores asociados a AP. Adicionalmente, el marcador wPt8168 sobre 1BL (44,7 cM), resultó significativo para ambos rasgos.

Del total de regiones cromosómicas asociadas con la resistencia y ligadas a DAE y AP, 3 ubicadas sobre 1BL, 4BL and 7AL, fueron comunes entre el estado de planta y planta adulta. Adicionalmente, el 63,5 % de las regiones cromosómicas asociadas a la resistencia y ligadas con ambos caracteres asociados al desarrollo, correspondieron al aislamiento FALP0112, mientras que el 36 % restante correspondió a FALP0212.

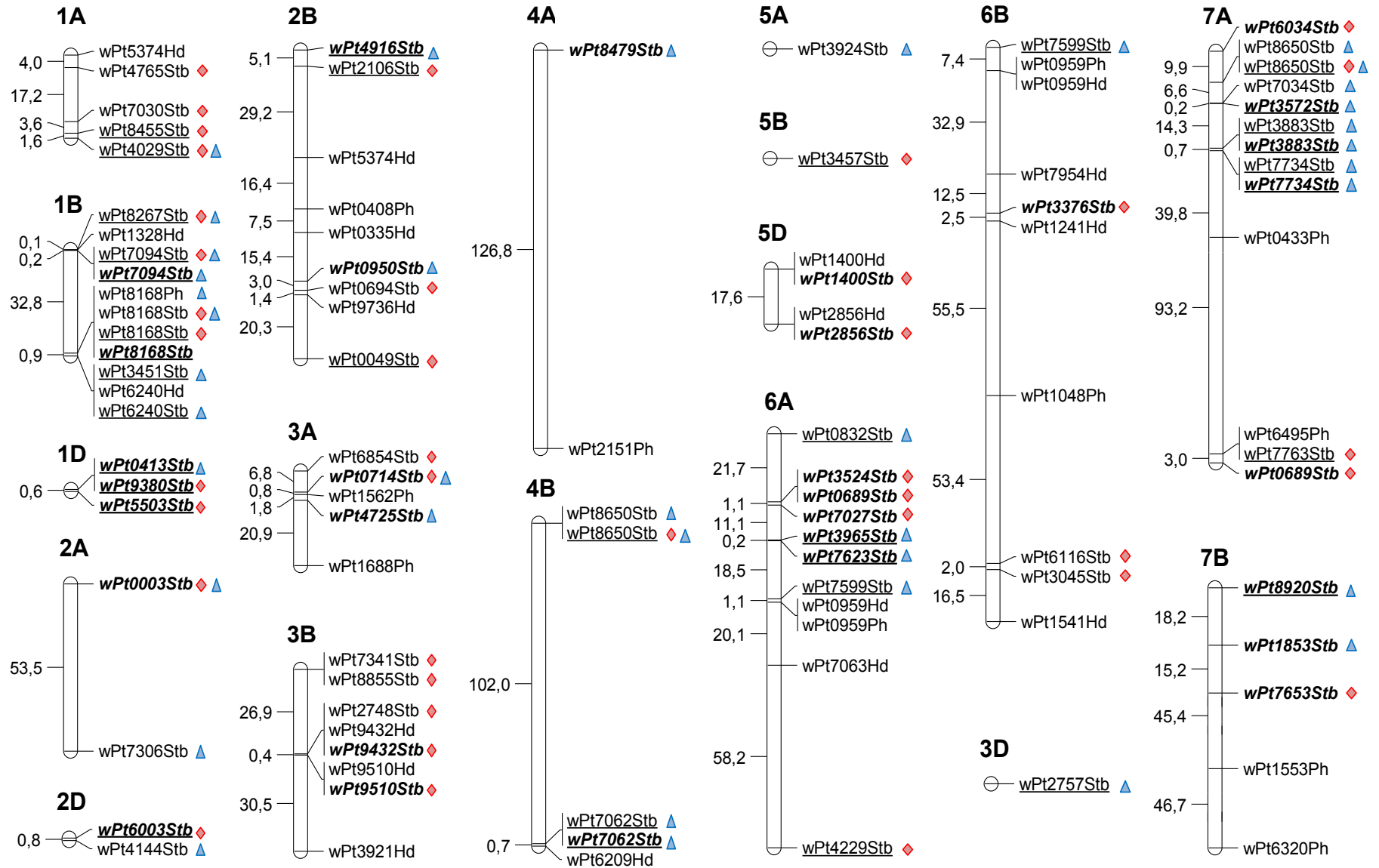


Figura 29. Mapa genético incluyendo AsMC para resistencia a *Z. tritici* (Stb), ciclo (Hd) y altura (Hg). Marcadores con y sin negrita representan AsMC en plántula y planta adulta, respectivamente. Marcadores con y sin subrayado corresponden a las variables CP y N, respectivamente. Los símbolos ♦ y ▲ representan a FALP0112 y FALP0212. La distancia entre marcadores es proporcionada en cM.

Caracteres relacionados con rendimiento

En los 12 caracteres asociados al rendimiento se identificaron un total de 187 AsMC relativas a 113 marcadores (Anexo: Tabla 6). Del total de marcadores involucrados, 68 resultaron rasgo-específicos, mientras que el resto se asoció con al menos 2 y hasta con 5 caracteres distintos simultáneamente (wPt2135 sobre 2BL). El carácter LP presentó el mayor número de asociaciones (26), las cuales se distribuyeron sobre 22 regiones cromosómicas ubicadas sobre 1AS (dos), 1AL (dos), 1BS, 3AL, 4AL, 4BS, 4BL, 5AS, 5BL, 5DS, 6BS, 6BL (dos), 7AS, 7AL, 7BL (cuatro) y 7DS. Del total de asociaciones identificadas para este carácter 18 resultaron rasgo-específicas. Por su parte, para LE se detectaron 23 AsMC distribuidos en 16 regiones ubicadas sobre los brazos cromosómicos 1AS, 1DL, 2BL (dos), 3AL (dos), 3BL, 4AL, 4DS, 5BL (dos), 6AL, 6BS, 6BL, 7AS. De las 23 AsMC identificadas, 12 fueron rasgo-específicas mientras que las restantes se asociaron con al menos dos rasgos distintos simultáneamente.

Un total de 20 AsMC significativas y estables fueron identificadas para el carácter PE, de las cuales solo 4 fueron rasgo-específicas. Las mismas se ubicaron sobre 16 regiones cromosómicas en 1AL (dos), 1BS, 1DL, 2BS, 2DS, 3AL (dos), 4AL, 4BS, 5AS, 5BL, 6AL, 7BL (dos), 5BL/7BL. Adicionalmente, 10 AsMC significativas fueron identificadas para PGE, distribuidas sobre 10 regiones cromosómicas dispuestas sobre 1AL, 1DS, 2BS, 3AL, 4AL, 5BL, 7AS, 7BL (dos), 5BL/7BL. Este carácter no presentó asociaciones rasgo-específicas y muchas de sus asociaciones fueron compartidas con los caracteres PE y NGE. Para NGE se identificaron 12 AsMC significativas, distribuidas sobre 8 regiones cromosómicas sobre 1AS (dos), 1AL, 2BL, 2DS, 4AL, 5AS, 6AL/6BS, de las cuales 7 fueron asociaciones rasgo-específicas. Por su parte el carácter PMG también presentó 12 AsMC significativas, sin embargo, estas se distribuyeron sobre 11 regiones cromosómicas diferentes 2BS (tres), 3AL, 4AL, 4BL, 5BL, 6BL, 7AL, 7BL (dos). Del total de asociaciones, 7 fueron rasgo-específicas.

Para el carácter IE se identificaron 16 AsMC significativas de las cuales 5 fueron rasgo-específicas. Las mismas se ubicaron sobre 14 regiones cromosómicas distribuidas en 1AL (dos), 1DS (dos), 1DL, 2BL, 3AL, 5BL (dos), 6BS, 6BL, 7AS (dos) y 7AL. Mientras que para FE 10 AsMC resultaron significativas y se ubicaron en 8 regiones cromosómicas dispuestas

sobre 1DS, 2BS, 4AL, 5BL (dos), 6BL, 7AS (dos). Seis de estas asociaciones resultaron rasgo específicas, mientras que los cuatro restantes también resultaron significativos para el carácter IE.

Por último, para el carácter EE se identificaron 18 asociaciones significativas ubicadas sobre 12 regiones cromosómicas diferentes en 1BS (tres), 1BL, 2AS, 2BL (dos), 2DS (dos), 4BL, 6AL, 6BS, de las cuales solo dos fueron rasgo-específicas. Mientras que 9 AsMC significativas se identificaron para EFE, ubicadas sobre 6 regiones cromosómicas ubicadas en los brazos cromosómicos 2BS, 2BL (dos), 2DS, 4BL y 6AL. En EFE se identificaron 24 asociaciones significativas dispuestas sobre 17 regiones cromosómicas en 1BS (dos), 1BL, 2AS, 2BL, 2DS, 3AL (dos), 4BL, 5AS, 5BL, 6BS, 7AS (dos), 7BS y 7BL. Tres de las asociaciones identificadas para este carácter fueron rasgo-específicas, mientras que solo una correspondiente al marcador wPt2135 fue compartida con EFE. Esto último, muestra un control genético independiente para estos dos caracteres contrastantes. Ocho asociaciones significativas fueron también obtenidas para GEF, las mismas se ubicaron en 5 regiones cromosómicas sobre los brazos 2BS, 2BL, 5AS, 5BS, 7BL. De las 8 asociaciones 3 fueron rasgo-específicas. Respectos al porcentaje de variación explicada por los marcadores, en general el mismo fue mayor para LP.

Caracteres asociados a la calidad de grano

Un total de 28 AsMC fueron identificadas como significativamente asociadas con la calidad del grano de trigo, las mismas se ubicaron en 11 de los 21 cromosomas (Anexo: Tabla 7). Al P% en grano correspondieron 13 de estas AsMC, las cuales se ubicaron en 7 regiones cromosómicas sobre 2BS, 3AL, 3BS, 3BL (dos), 5DS, 6BL, 7BL (tres). El porcentaje de variación fenotípica explicado por cada marcador para este carácter varió de 4,29 % a 15,89 %, ambos porcentajes correspondientes al marcador wPt1400 (diferentes experimentos) ubicado sobre el cromosoma 5DS. Por su parte VS, presentó 15 AsMC significativas, las que se ubicaron sobre 9 regiones correspondientes a 1AL, 1BS, 2AS, 2BL, 3AS, 3AL, 4AL, 5BS (dos), 5BL. La variación explicada por los marcadores presentó valores entre 5,04 % (wPt1220 sobre 5BS) a 13,39 % (wPt3457 sobre 5BL). Sorpresivamente, no se encontró ningún marcador que resulte significativo para ambos caracteres asociados a la calidad del grano.

Relación genética entre rendimiento y calidad de grano

Un total de 11 regiones cromosómicas ubicadas sobre los brazos 1AL, 1BS, 2BS, 2BL, 3AL, 4AL, 5BL, 5DS, 6BL y 7BL presentaron AsMC significativas a ambos tipos de caracteres, con alto grado de ligamiento genético entre las mismas (a menos de 3,6 cM) (Fig. 30). Particularmente, 10 marcadores resultaron ser multi-rasgo y se asociaron tanto a calidad como a rendimiento. Dentro de las 11 regiones estuvieron involucradas 34 AsMC significativamente a caracteres asociados al rendimiento del cultivo, lo que representa solo el 18 % del total de asociaciones identificadas relativas a los mismos. De las 11 regiones encontradas, 4 involucraron al P % en grano, el cual en 3 de ellas se encontró ligado con el carácter LP solamente. Seis de las 7 regiones restantes involucraron al carácter VS, el que también se presentó en ligamiento sobre todo con LP (tres ocasiones) y EE (dos ocasiones).

La región restante involucrando a ambos caracteres asociados a la calidad del grano se destacó por presentar 15 AsMC relativas 7 marcadores sobre una extensión de tan solo 5,4 cM sobre brazo cromosómico 3AL. En esta oportunidad los caracteres asociados al rendimiento que se vieron involucrados fueron LE (cuatro AsMC), PE (cuatro AsMC), PGE y PMG.

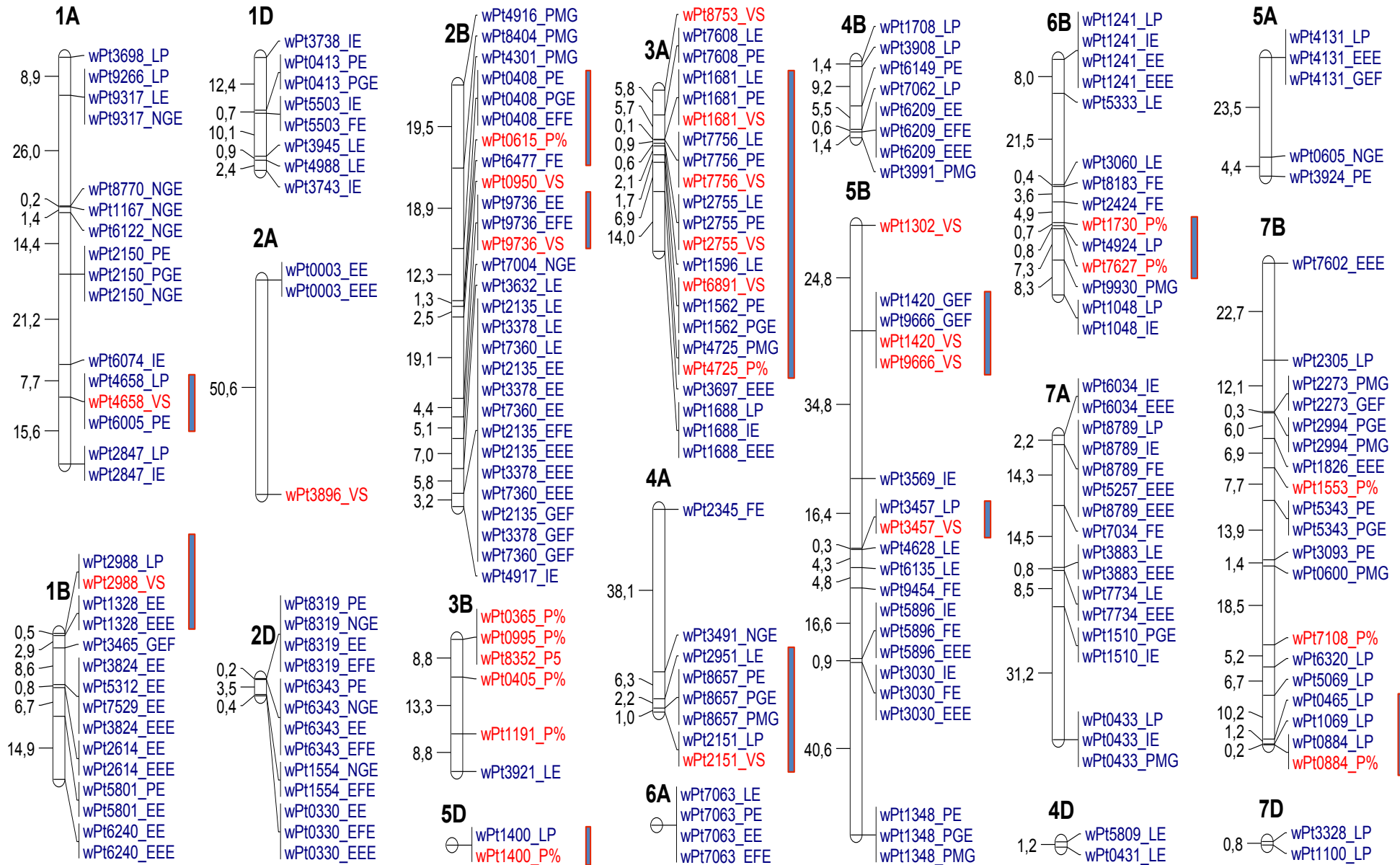


Figura 30. Ubicación cromosómica de marcadores significativamente asociados con caracteres asociados al rendimiento (Azul) y calidad de grano (Rojo). Las barras indican las 11 regiones cromosómicas que presentan AsMC significativamente asociadas a ambos rasgos con un alto grado de ligamiento genético (<3,6 cM).

Análisis funcional de los clones DArT asociados a los caracteres evaluados

De los 213 marcadores involucrados en asociaciones significativas con al menos uno de los 23 caracteres evaluados, 99 presentaron secuencia disponible en triticarte (<http://www.diversityarrays.com/sequences.html>). Mientras que para 38 marcadores adicionales se logró identificar una secuencia a través de la proyección de marcadores sobre su intervalo, definido como la distancia promedio a partir de la cual dos marcadores están en completo DL (3,6 cM). Como consecuencia, un total de 137 secuencias genómicas fueron utilizadas en la búsqueda de similitud a través de las tres bases de datos utilizadas. En base a los resultados de las búsquedas de similitud, se postularon posibles funciones para 128 marcadores, ya que para 9 de ellos, la secuencia no presentó anotación funcional o dominio conocido (Anexo: Tabla 8). En general, la posible función encontrada a partir de la secuencia de un determinado DArT, se correspondió con el carácter al que resultó asociado. Así, por ejemplo, la secuencia de muchos de los marcadores asociados con resistencia a enfermedades, se correspondió con secuencias asociadas con genes de resistencia NBS-LRR y proteínas quinasa.

Adicionalmente, las funciones encontradas en las búsquedas *in silico* fueron clasificadas en función de los procesos biológicos involucrados. Esta clasificación se realizó para cada uno de los 4 grandes grupos de caracteres evaluados: resistencia a enfermedades fúngicas, caracteres asociados al rendimiento, calidad y desarrollo del cultivo. Como puede observarse en la figura 31, los principales procesos biológicos involucrados con DArT significativos frente a enfermedades fúngicas, se corresponden principalmente con resistencia a enfermedades (48 %), señalización (23 %) y en menor medida tolerancia a estrés (6,8 %). Dentro de estos tres procesos biológicos se encuentran involucrados principalmente genes codificantes de proteínas de resistencia tipo NBS-LRR, hidrolasas y dominós f- box, proteínas asociadas a la transmisión de señales como serina/treonina fosfatasa (quinasa), receptores asociados a la pared celular, receptores de proteínas quinasa (LRR RLK ERL1); todos ellos reportados en la bibliografía como involucrados con diferentes vías de defensa en plantas. Por su parte, las funciones encontradas para aquellos marcadores asociados con el rendimiento, involucran principalmente procesos biológicos como metabolismo (16,4 %) (Principalmente de hidratos de carbono), señalización (14,5 %), división y expansión celular (12,7 %), transporte (10,9 %), desarrollo (10,9 %) y hasta fotosíntesis (1,8 %). Así, dentro de estos grupos se han encontrado genes codificantes de factores de crecimiento,

promotores de proliferación y elongación celular, transportadores de azúcares, receptores controladores del desarrollo y metabolismo, encimas involucradas en rutas de biosíntesis, plástido oxidasas asociadas al flujo fotosintético de electrones. Adicionalmente, las funciones identificadas para DArT asociados con ciclo y altura de planta, estuvieron también principalmente asociadas con los procesos de división y expansión celular (43,4 %), señalización (13 %), desarrollo (8,7 %), y biosíntesis (8,7 %). Dentro de estos grupos, se encontraron receptores de auxina, proteínas asociadas a órganos florales (AP2), Beta-fructofuranosidas asociadas a la expansión celular y encimas asociadas a la biosíntesis de carbohidratos (fructuosa sintetetas, Beta-fructofuranosidasa). Finalmente, funciones asociadas a DArT significativos para P% y VS, correspondieron principalmente con procesos de metabolismo (26,6 %), biosíntesis (13,3 %) y transporte (6,6 %) (Fig. 31).

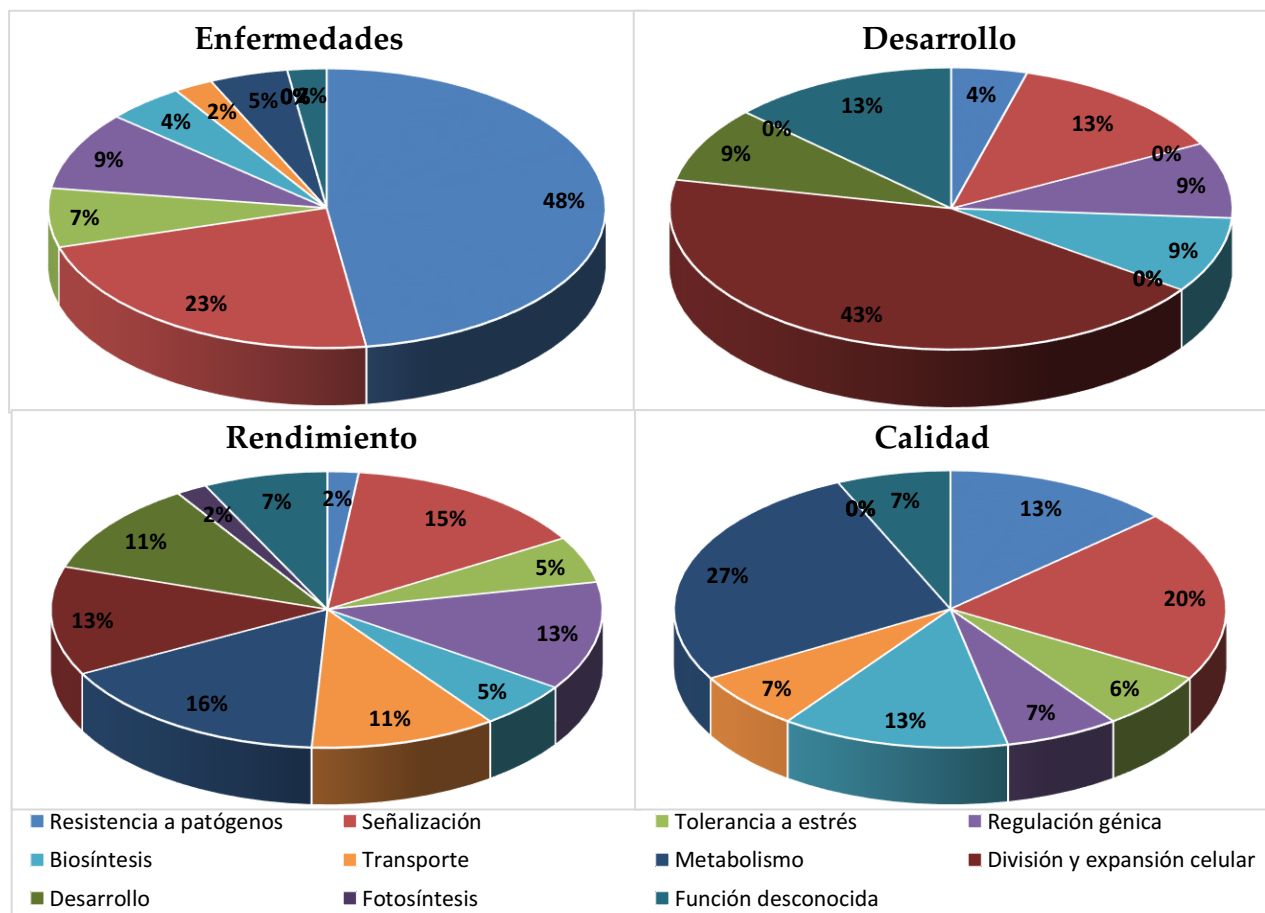


Figura 31. Procesos biológicos asociados a las funciones encontradas en las búsquedas *in silico* a partir de la secuencia de marcadores DArT asociados con alguno de los caracteres evaluados en este estudio.

Discusión

La disección de rasgos complejos en el mejoramiento requiere significativa diversidad genética dentro del germoplasma a ser analizado (Flint-García *et al.*, 2005). En especies como el trigo donde se dispone de colecciones núcleo, las mismas constituyen un material ideal para estudios de mapeo por asociación (Whitt & Buckler, 2003). En la población de mapeo utilizada, se ha observado una considerable y significativa variación fenotípica en todos los caracteres evaluados y bajo todos los experimentos; permitiendo estudiar la base genética responsable de tales variaciones, como también su estabilidad a través de los ambientes evaluados. Estos resultados eran esperables ya que como se mencionó la colección ha sido seleccionada a partir de 2500 genotipos en base a su diversidad fenotípica respecto a caracteres de importancia agronómica (incluyendo varios de los aquí analizados) evaluados durante un periodo de 8 años (Kobiljski *et al.*, 2002). Gran variación fenotípica ha sido previamente reportada por otros trabajos sobre la misma población y bajo diferentes ambientes (Neumann *et al.*, 2011) y es respaldada por estudios moleculares de diversidad genética, utilizando marcadores SSR, los que han concluido que se ha alcanzado exitosamente una gran variabilidad genética en el material seleccionado (Quarrie *et al.*, 2003). Adicionalmente, significativos efectos del ambiente han sido observados para la mayoría de los caracteres evaluados. En este sentido, los experimentos realizados en 2012 estuvieron expuestos a mayores precipitaciones, mientras que la fecha más tardía de 2013 presentó mayores temperaturas, los cuales afectaron de manera diferencial la expresión fenotípica de los caracteres a través de los genotipos, sobre todo las enfermedades foliares.

En el caso de mancha de la hoja, mientras algunos de los genotipos en la colección mostraron comportamientos contrastantes frente a los dos aislamientos utilizados (reacción específica), otros presentaron similar reacción frente a ambos aislamientos y aunque deberían ser probados frente a un mayor número de variantes del patógeno, esto sugeriría la presencia de resistencia aislamiento no específica. Este tipo de resistencia representa un recurso genético importante para el mejoramiento de la respuesta del trigo frente a mancha de la hoja y ha sido reportado en varios estudios (Jlibene *et al.*, 1994; Simón & Cordo 1998; Chartrain *et al.*, 2004). Adicionalmente, en esta enfermedad, interacciones resistentes entre cultivares y aislamientos del patógeno pueden ocurrir tanto en estado de plántula como en planta adulta (Brown *et al.*, 2001; Kema & van Silfhout 1997; Simón *et al.*, 2005). En este estudio, correlaciones fenotípicas entre los valores de severidad (CP)

en planta y planta adulta presentaron valores moderados en ambos aislamientos, indicando que algunos genotipos presentan resistencia en ambos estadios, mientras otros muestran una reacción contrastante.

El comportamiento diferencial observado en ciertos genotipos, respecto de su respuesta frente a los dos aislamientos de *Z. tritici*, como así también entre los dos estadios de desarrollo evaluados, también se corroboró a nivel genético. Así, mientras algunas regiones genéticas resultaron significativas frente a ambos aislamientos y estadios de desarrollo, otras sin embargo fueron estadio y aislamiento específicas (Fig. 27). Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Arama (1996) y Simón *et al.* (2004). La falta de asociación entre estadios respecto al comportamiento frente a la enfermedad de algunos genotipos puede ser atribuido a la modulación de la expresión génica que a veces ocurre cuando genes de resistencia son introgresados de especies de menor a mayor ploidía (Zegeye *et al.*, 2014). En estos casos, de acuerdo con lo propuesto por Simón *et al.* (2005), se podría hacer selección en ambas etapas a fin de lograr niveles aceptables de resistencia a lo largo de todo el período de crecimiento.

Con respecto a la relación entre los caracteres evaluados, como era esperado, se observaron correlaciones tanto fenotípicas y genéticas negativas entre PMG y los componentes numéricos del rendimiento (NGE, FE, EE y GEF). Este tipo de relación entre NGE y PMG ha sido ampliamente reportado en numerosos trabajos como un mecanismo de compensación del cultivo (Slafer & Andrade, 1993). El carácter PMG también presentó una correlación negativa con los parámetros de calidad del cultivo (P% y VS), lo cual en general es atribuido a el efecto de dilución generado por la mayor acumulación de carbohidratos. Dicha asociación negativa entre el PMG o rendimiento y P% ha sido reportada por Abbate, (2016). Los parámetros de calidad también presentaron correlaciones negativas en relación a los niveles de severidad de roya de la hoja observados en la población de mapeo (por lo tanto, una relación positiva con la resistencia). Cuando predominan patógenos biotróficos, la infección puede ser más limitante para la acumulación de N en el grano que para la acumulación de materia seca, dando lugar a menores porcentajes de proteína (Dimmock & Gooding, 2002). Por su parte, Caldwell *et al.* (1934) y Greaney *et al.* (1941) demostraron que la infección con *P. triticina* en los cultivares más susceptibles incrementó la concentración de proteínas en tallos y hojas y redujo la concentración en el grano.

Por último, ambas enfermedades fúngicas (RH y FU) afectaron negativamente la expresión fenotípica de todos los factores relacionados con el rendimiento del cultivo. Respecto a este punto, en general la expresión temprana de enfermedades foliares afecta el número de granos, mientras que infecciones de tipo tardía tienen mayor impacto en el peso final de los mismos (Madden & Nutter 1995; Bingham *et al.*, 2009). En cuanto a la reportada relación entre la severidad de *Z. tritici* con las variables morfo-fisiológicas AP y DAE, en el presente trabajo resultó significativa solo con DAE como variable independiente. Así, en estado de plántula se observó una significativa y negativa asociación entre los niveles de severidad de *Z. tritici*, considerando tanto CP como N, y DAE. Estos resultados concuerdan con lo observado sobre la población doble haploide en el Capítulo 3 y lo previamente reportados por Rieser *et al.* (2011) y Goudemand *et al.* (2013). Contrariamente, AP mostró una relación inconsistente y no significativa con los niveles de la enfermedad, hecho que concuerda con lo reportado por Simón *et al.* (2004), quienes solo encontraron asociaciones entre susceptibilidad a *Z. tritici* y reducida altura de planta en cultivares de altura extremadamente baja, indicando que cultivares moderadamente bajos no necesariamente son más susceptibles. Considerando que, en este estadio, todos los genotipos fueron inoculados y evaluados tanto en el mismo estadio fenológico como fecha cronológica, no existieron diferencias ambientales que afecten diferenciablemente los niveles de resistencia y su asociación con los rasgos morfo-fisiológicos. Por esta razón, asumimos que la asociación encontrada entre precocidad y susceptibilidad a *Z. tritici* es de tipo genética. Sin embargo, al igual que en el Capítulo 3, los bajos coeficientes de regresión observados indican que la misma es atribuible a unos pocos genotipos dentro de la población de mapeo (Tibet Dwarf, Tom Thumb, Brigand, Ana, México 3, Helios, Hira), en los que la misma fue observada. Contrariamente muchos otros genotipos no cumplieron con tal asociación, así por ejemplo Lambriego Inia y Tr. Compactum con ciclos relativamente largos (131 y 134 DAE) mostraron mayores valores tanto de cobertura picnidial como de porcentaje de necrosis (3,95 y 56,62 %), que el promedio de los genotipos (51,23 and 2,53 %). Mientras que genotipos como Triple Dirk "S" y Ai-Bian con ciclos relativamente cortos (103 y 105 DAE), mostraron valores de CP y N más bajos (0,6 y 41,43 %) que el promedio de los genotipos, considerando el promedio de los aislamientos y experimentos. En estado adulto nuevamente se observó solo asociación de la severidad de *Z. tritici* solo con DAE, pero mientras en la variable CP la misma continuó siendo negativa, el N contrariamente mostró

una asociación positiva. En este estadio los genotipos fueron evaluados al mismo estadio fenológico (30 días después de hoja bandera), a fin de que las hojas de genotipos con diferentes ciclos estuvieron expuestas el mismo periodo de tiempo a la enfermedad, pero en diferente fecha cronología. Sin embargo, el posible efecto de las variables ambientales sobre genotipos precoces y tardíos no modificó la tendencia negativa de la correlación observada en estado plántula. Excepto para el N, la cual puede ser explicada por las mayores temperaturas a las que estuvieron expuestos los genotipos tardíos, esto puede haber generado mayores niveles de senescencia, interfiriendo de este modo en los resultados. Como consecuencia, la asociación significativa y negativa observada entre DAE y severidad a *Z. tritici* expresada como CP puede ser nuevamente atribuida a factores genéticos. Como en el estado de plántula, los coeficientes fueron bajos indicando que tal asociación ocurre en un número limitado de genotipos dentro de la población de mapeo.

Las asociaciones genéticas asumidas a partir del comportamiento fenotípico de los genotipos tanto en plántula como en estado adulto, fue confirmado a nivel de genes a partir de la presencia de ligamiento genético o co-localización de marcadores asociados con la resistencia y DAE. Un total de ocho regiones genómicas asociadas con resistencia a *Z. tritici* fueron encontradas en posición similar a la correspondiente a AsMC asociadas con DAE. De ese total, una co-localización fue identificada específicamente en estado de plántula, dos en estado adulto y los cinco restantes en ambos estadios. Dos de las asociaciones marcador carácter que co-localizaron para ambos caracteres sobre los cromosomas 2BL y 3BL en este estudio, también han sido reportados por Risser *et al.* (2011). Este hallazgo indica que la asociación genética entre la resistencia a *Z. tritici* y DAE no sólo depende del material evaluado, sino también el estado de desarrollo.

En general el DL puede permanecer grandes distancias, pero también caer rápidamente entre loci muy cercanos (Comadra *et al.*, 2009). Considerando el DL en toda la colección, el mismo decayó de manera rápida incluso en Q2, grupo que presentó mayores valores de DL. Esta rápida caída del DL se ve reflejada en el hecho de que la curva LOEES nunca llegó a interceptar el valor r^2 crítico. El patrón de decaimiento del DL en esta población es similar a lo encontrado por Braseghello & Sorrells (2006) en trigo y por Comadra *et al.* (2009) en una población de 100 líneas invernales de cebada. Otro factor que refleja el rápido decaimiento del DL en la colección utilizada es el porcentaje de pares de marcadores a menos de 10 cM de distancia que presenta significativo

DL, el cual solo alcanzó el 38 %. Adicionalmente, el número de pares intracromosómicos en significativo DL (14,9 %) identificado en la población resulta más bajo que los encontrados por Somers *et al.* (2007) o Crossa *et al.* (2007), quienes reportaron valores de 56,7 % y 26 % en poblaciones de trigo de similar tamaño a la utilizada en este estudio. Esto último sin embargo podría ser explicado por la mayor cantidad de marcadores utilizados en comparación con los dos trabajos mencionados (875 vs. 370 y 242 respectivamente), lo que en general produce una ruptura de grandes bloques de LD. Por su parte el r^2 crítico de la colección es cerca del doble de los reportados por Crossa *et al.* (2007) y Comadran *et al.* (2009), lo que resulta probablemente de la mayor cantidad de pares en alto DL. Del mismo modo, el mayor número de pares en total DL en Q2 respecto de Q1 resultó en un mayor r^2 crítico. Estas diferencias entre sub-grupos de estructura, tanto en cantidad y extensión del DL, también han sido reportadas anteriormente por Comadran *et al.* 2009.

Por otro lado, el r^2 medio (0,019) para pares intercromosómicos fue muy parecido al reportado por Braseghello & Sorrells (2006) en una población de similar tamaño (0,022). Sin embargo, el r^2 crítico es mucho mayor en este trabajo respecto del citado por dichos autores, lo que puede estar dado por la mayor densidad de marcadores utilizados, lo que genera mayor oportunidad de detectar pares en alto DL, como también a diferente tipo de marcadores utilizados (DArT vs. SSR). El total de pares intercromosómicos en significativo DL (3,2 %) es comparable con los resultados obtenidos por Crossa *et al.* (2007) y Tommasini *et al.* (2007), quienes reportaron 5 y 2,9 % respectivamente.

La totalidad de caracteres evaluados presentó una distribución fenotípica continua, indicando herencia de tipo cuantitativa y poligénica. Este hecho fue corroborado a través del análisis de asociación en donde se identificaron numerosas AsMC para cada uno de los caracteres evaluados. La mayor cantidad de AsMC estuvo asociada al carácter resistencia a *Z. tritici* (79: incluyendo ambos estadios, aislamientos y variables), seguido por LP (26), EEE (24), LE (23), PE (20), EE (18), IE y FU (16), VS (8), ciclo (14: incluyendo DAE y DAA), P% (13), NGE y PMG (12), altura de planta (11: incluyendo AP, AT y AHB), FE (10), EFE (9), y por último GEF (8). Adicionalmente, como es característico de herencias poligénicas, las AsMC solo explicaron una pequeña proporción de la variación fenotípica asociada a cada carácter. Adicionalmente, en el caso de las enfermedades fúngicas, se observó una significativa correlación entre el número de AsMC presentes por

genotipos y los niveles de resistencia alcanzados. Estos resultados indican la presencia de efectos aditivos y, por lo tanto, la posibilidad de piramizar diferentes factores de resistencia en un mismo fondo genético utilizando los marcadores asociados a los mismos, a fin de mejorar los niveles como la persistencia de la resistencia a campo. Esta estrategia ha sido sugerida y reportada en las tres enfermedades abordadas en este estudio, logrando significativa mejora en los niveles de resistencia (Goodwin, 2007; Salameh *et al.*, 2010; Lagudah, 2011). En este contexto, recientes disecciones de la base genética de cultivares altamente resistentes a *Z. tritici*, revelaron la presencia de múltiples genes de resistencia, indicando que la piramización puede resultar una estrategia adecuada a fin de lograr este objetivo (Chartrain *et al.*, 2005).

Por otro lado, gran cantidad de las AsMC identificadas para muchos de los caracteres evaluados en este estudio, fueron localizadas en similar región cromosómica que la previamente reportada para genes o QTL asociados al mismo carácter. Así, por ejemplo, las regiones genómicas asociadas con resistencia a *Z. tritici* sobre los brazos cromosómicos 1BS, ADS, 2BL, 3AS, 3BS, 5AL, 6AS, 7AS y 7BL, fueron identificadas en similar región a la reportada para los conocidos genes de resistencia *Stb11/Stb2*, *Stb10*, *Stb9*, *Stb6*, *Stb14*, *Stb17*, *Stb15*, *Stb3* y *Stb8*, respectivamente (Brown *et al.*, 2015). En roya de la hoja, la posición cromosómica de las regiones 2AS, 2BL, 2DS, 3BS, 4AL y 6BS fue similar a la de los genes *Lr45*, *Lr50/58*, *Lr39/22*, *Lr27*, *Lr28* y *Lr36/53* (McIntosh *et al.*, 2013). Mientras que varias de las asociaciones significativas para *F. graminearum* también se ubicaron en similar posición que la previamente reportada para numerosos QTL de resistencia al patógeno (Tabla 21). Adicionalmente, muchas de las regiones genómicas asociadas con resistencia a los tres patógenos evaluados en este trabajo, han sido reportadas como confiriendo resistencia a otros patógenos como *Pyrenophora tritici-repentis*, *Puccinia striiformis* o *Erysiphe graminis* (Cossa *et al.* 2007; Singh *et al.*, 2015). La resistencia de amplio espectro ha sido reportada en trigo, incluyendo la detección en diferente germoplasma de resistencia a múltiples enfermedades, así también como la agrupación o “clustering” de genes de resistencia en distintas regiones genómicas (Gurung *et al.*, 2009; Mago *et al.*, 2011). Estos resultados además concuerdan con lo reportado por Miedaner *et al.*, (2012) y Zwart *et al.* (2010), quienes encontraron regiones genómicas confiriendo resistencia simultánea a *F. graminearum*, *P. triticina*. Apilar factores genéticos ubicados en regiones cromosómicas diferentes, controlando diferentes características de interés, en un mismo fondo genético demanda considerable tiempo y representa un desafío considerable para el mejoramiento

de plantas. El uso de marcadores asociados a múltiples rasgos en selección asistida por marcadores permite aumentar la eficiencia de piramización de QTL (Edae *et al.*, 2014), representando una exitosa estrategia en el mejoramiento. Por último, muchos de los marcadores DArT significativamente asociados con diversos caracteres (resistencia a patógenos, caracteres asociados al rendimiento, etc.) en este estudio, han sido también reportados como asociados al mismo carácter por una gran cantidad de investigaciones previas, en las que también se ha utilizado este tipo de marcadores (Crossa *et al.*, 2007; Neumann *et al.*, 2011; Riser *et al.*, 2011; Goudemand *et al.*, 2013). Estos resultados demuestran la potencialidad y reproducibilidad del enfoque de mapeo asociativo en la disección de rasgos complejos. Contrariamente, mucha otras AsMC, según nuestro conocimiento, no han sido reportadas previamente, representando por lo tanto nuevos factores genéticos posibles de utilizar en la mejora genética de caracteres de importancia agronómica. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales y validación de las mismas. Esto resultaría de gran importancia ya que permitiría el uso de los marcadores aquí identificados para realizar selección asistida por marcadores.

Marcadores de tipo DArT presentan la ventaja de que no se requiere tener un conocimiento previo de la secuencia para realizar un análisis genético. Sin embargo, conocer su secuencia permite postular un significado funcional a través del análisis *in silico*. La información así generada puede ser de utilidad en estudios posteriores de mapeo fino, estudios de colinearidad o en la identificación de genes candidatos. En el caso particular de las interacciones planta-patógeno, éstas involucran varios mecanismos moleculares que representan diferentes niveles de defensa de plantas huésped (Jones & Dangle 2006). Un mejor entendimiento de como los genes de resistencia actúan a nivel molecular en la planta y su interacción con genes del patógeno, resulta útil en la elaboración de estrategias tendientes a lograr adecuados niveles de resistencia y perdurables en el tiempo. En este estudio, la búsqueda *in silico* de las posibles funciones biológicas asociadas a marcadores ligados con resistencia a enfermedades reveló que las mismas están representada por una alta diversidad de funciones (Fig. 31). Es sabido que la respuesta de plantas frente a patógenos está asociada con numerosos cambios en la expresión génica, implicando una amplia gama de respuestas biológicas (Tao *et al.*, 2003). Dentro de las funciones implicadas en la respuesta contra patógenos, la secuencia de muchos marcadores se correspondió con dominios NB-ARC (Anexo: Tabla 8), los cuales han sido descriptos como motivos de señalización

compartido por genes de resistencia a patógenos en muchas plantas (Takken & Goverse, 2012). Las proteínas NB-ARC actúan como interruptores moleculares que regulan procesos como inmunidad y apoptosis (Danot *et al.*, 2009). Las mismas pueden reconocer la presencia de patógenos directa o indirectamente por inducción de otras proteínas de la planta huésped y su activación usualmente resulta en la muerte celular programada de la zona afectada. Esto último, es comúnmente denominado como respuesta de hipersensibilidad (Qi & Innes, 2013) y es una respuesta característica de genes mayores (genes R) (Dmochowska-Boguta *et al.*, 2015). Otro dominio que ha sido encontrado en gran frecuencia dentro de los marcadores asociados con resistencia a enfermedades es el correspondiente a proteínas quinasas (serine/threonine kinase). Dicho dominio ha sido reportado también jugando un rol clave en vías de señalización (Thomas *et al.*, 1999) y corresponde está asociado a otra clase de genes R. Su función biológica ha sido ligada con la biosíntesis de aminoácidos y modificación de la pared celular (Brueggeman *et al.*, 2002; Qi *et al.*, 2012). Adicionalmente a las mencionadas funciones asociadas con genes mayores, las secuencias de algunos marcadores estuvieron asociadas con enzimas como alpha-L-fucosidasa. Dicha enzima es una hidrolasa relacionada a la pared celular y ha sido ampliamente estudiada en las interacciones planta- patógeno. Como consecuencia ha sido encontrada, involucrada en mecanismos de defensa contra hongos fitopatógenos por digestión de los β -glucanos presenta en su pared celular de los mismos (Cheong *et al.*, 2000). Además, ha sido reportada por activar otros mecanismos de defensa como fitoalexinas (Shi *et al.*, 2006) y en la defensa contra *E. graminis* en trigo (Pudake *et al.*, 2009). Este tipo de defensa no específica es interesante, ya que, a diferencia de aquella asociada a genes mayores, en general son menos específicas y de mayor duración.

Por otro lado, genes asociados con caracteres asociados con el rendimiento o desarrollo del cultivo, al igual que lo sucedido con las enfermedades, se encontraron asociados a funciones que están relacionadas con el rasgo en cuestión. Así, por ejemplo, muchos de los marcadores asociados a rendimiento presentaron como posibles funciones o procesos biológicos, transporte de carbohidratos, enzimas relacionadas con la cadena de electrones de la fotosíntesis, desarrollo floral, etc. Esto último a pesar de que requiere la validación por estudios adicionales, también demuestra que la colinearidad y conservación de regiones codificantes dentro y entre especies relacionadas puede ser utilizada como primera aproximación a través del análisis comparativo.

En conclusión, el estudio de mapeo por asociación realizado permitió determinar los factores genéticos determinantes de la base genética de una gran cantidad de caracteres de importancia agronómica. Del total de marcadores asociados con los diferentes rasgos, una considerable proporción de acuerdo a nuestro conocimiento no han sido reportados previamente y por lo tanto representan nuevos factores genéticos posibles de utilizar en el mejoramiento. Sin embargo, una validación previa de los mismos es necesaria a fin de poder utilizar los mismos en selección asistida por marcadores. Los efectos aditivos identificados en aquellos marcadores asociados con resistencia a enfermedades confirman que su piramización en un mismo fondo genético representa una estrategia válida. Adicionalmente, ha sido posible demostrar que la relación reportada entre resistencia a *Z. tritici* y caracteres morfo-fisiológicos es dependiente del material genético, como también del estadio de desarrollo considerado. En el caso particular de la asociación entre calidad y rendimiento, a pesar que algunas regiones co-localizaron sobre los cromosomas, muchas otras fueron independientes por lo que es posible mejorar ambas características de manera independiente. Por último, el análisis comparativo de secuencia ha generado información de las posibles funciones y procesos biológicos asociados a cada factor genético identificado. Esta información puede ser de gran ayuda en el desarrollo de nuevas variedades mejoradas, aunque una validación más precisa de los resultados es requerida.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN GENERAL

En la actualidad, la mancha de la hoja es considerada una de las enfermedades más dañinas del cultivo de trigo en todas las aéreas trigueras del mundo. La intensificación de los sistemas de cultivo, utilización de cultivares susceptibles, falta de rotación y prácticas de labranza mínima, así también como el cambio climático global, han incrementado la incidencia y severidad de la enfermedad (Annone & García, 2004; Fraije *et al.*, 2005, Mergoum *et al.*, 2007). Como consecuencia, la resistencia genética en la planta huésped se ha convertido en un carácter objetivo en el mejoramiento genético del cultivo; aunque más reciente comparado con otras enfermedades como royas o mildew. Así, en contraste con los cientos de genes de resistencia identificados en otras enfermedades, en mancha de la hoja solo se han identificado 21 (Brown *et al.*, 2015).

EL progreso de la enfermedad luego del establecimiento, no se limita solo a la dispersión de conidios asexuales, sino que también incluye procesos cíclicos de producción de ascosporas sexuales. Como resultado de la reproducción sexual frecuente, las poblaciones del patógeno son muy diversas, incluso a escala de campo (El Chartouni *et al.*, 2011). De esta forma, el cultivo de trigo está expuesto a varias generaciones de ascosporas genéticamente diferentes a lo largo de su estación de crecimiento (Kema *et al.*, 1996). Esto dificulta el manejo de la enfermedad debido a que la diversidad genética resultante de la recombinación puede conducir a la mejora de la aptitud biológica del patógeno permitiéndole, entre otras cosas, alterar su especificidad frente a la planta huésped (Stukenbrock *et al.*, 2010) o ser capaz de superar la resistencia de un determinado genotipo de trigo (Rudd *et al.*, 2015). Esto sumado a la mencionada escasez de factores genéticos identificados y su especificidad frente a aislamientos del patógeno, pone en evidencia la necesidad de nuevas fuentes de resistencia y la identificación cromosómica precisa de la base genética determinante, a fin de facilitar su uso en el mejoramiento y lograr un adecuado manejo de la enfermedad.

El primer paso en la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia es la caracterización fenotípica de diversos genotipos de trigo. En este tipo de evaluaciones es esencial la utilización de aislamientos de *Z. tritici* bien caracterizados (Tabit Gaffary, 2011). Adicionalmente, en lugar de un único aislamiento, es recomendado el uso de múltiples aislamientos, ya que permiten determinar la eficacia y espectro de resistencia de posibles factores genéticos presentes en el material a ser

caracterizado. En el Capítulo 2 se logró caracterizar la respuesta fenotípica de un panel compuesto de 33 cultivares de trigo (22 líneas diferenciales y 11 cultivares nacionales actuales) frente a 10 aislamientos de *Z. tritici* caracterizados molecularmente a través de marcadores ISSR, clasificados en diferentes clúster (Castillo *et al.*, 2010). La incorporación en el panel de caracterización de cultivares portadores de genes *Stb* conocidos permitió, por un lado, (i) comparar su comportamiento fenotípico respecto al de cultivares argentinos. Así, en el análisis de conglomerados los cultivares Buck SY 110, BioINTA 3005, Klein Volcán y Klein Dragón fueron agrupados por similitud en su comportamiento conjuntamente con las líneas diferenciales Oasis, Tadorna, Balance y Shafir, por lo que es posible que contengan alguno de los genes presentes en dichas líneas (*Stb1*, *Stb4*, *Stb5*, *Stb6*, *Stb16*, *Stb17* y *Stb18*) o genes nuevos con similar efecto frente a los aislamientos del patógeno utilizados. Un caso adicional se observó con el cultivar argentino SRM Nogal el cual presentó resistencia tanto en estadio de plántula como planta adulta frente a todos los aislamientos testeados. En dicho cultivar se observó un comportamiento similar al que mostraron las líneas diferenciales Apache, Synthetic 6x y Synthetic M3. Estos tres cultivares han sido reportados presentando resistencia de amplio espectro frente a diferentes aislamientos del patógeno (Arraiano *et al.*, 2001; Simón *et al.*, 2003; Tabib Ghaffary *et al.*, 2012), lo cual ha sido adjudicado a la presencia de varios genes *Stb* en cada una de ellas. Como consecuencia, SRM Nogal representa una valiosa nueva fuente de resistencia al patógeno, presentando posiblemente una combinación de genes, los cuales resultan efectivos frente a un amplio espectro de aislamientos locales del patógeno. Por otro lado, (ii) también permitió confirmar la utilidad de algunas líneas diferenciales como fuentes efectivas de resistencia en programas locales de mejoramiento. Esto a partir del buen comportamiento exhibido por algunas de ellas como por ejemplo los cultivares sintéticos, los que mostraron resistencia completa frente a la mayoría de los aislamientos tanto en plántula como planta adulta. Los trigos sintéticos representan una rica fuente de variación genética y presentan la ventaja de que pueden ser fácilmente cruzados con diversos germoplasmas incluyendo material elite. Como consecuencia han sido ampliamente explotados como fuente de resistencia contra factores abióticos y bióticos incluyendo resistencia a *Z. tritici* (Arraiano *et al.*, 2001; Adhikari *et al.*, 2003; Simón *et al.*, 2003; Tabib Ghaffary *et al.*, 2012). Adicionalmente, las líneas diferenciales Balance; Kavkaz K 4500, Tonic y Suvillan también

mostraron resistencia, pero de tipo parcial sobre los aislamientos utilizados, siendo además dependiente del estadio fenológico considerado.

Respecto del comportamiento de cultivares argentinos incluidos en el panel, se observó variabilidad en los niveles y tipos de respuestas exhibidos, así como también en el momento del ciclo fenológico en el que se expresó la misma. Los cultivares SRM Nogal y BioINTA 3005 presentaron la mayor cantidad de reacciones de tipo completa frente a los aislamientos independientemente del estadio de desarrollo considerado. Mientras que en Buck SY 110 se observó resistencia completa, pero principalmente en estado adulto. Ambos tipos de comportamiento han sido previamente reportados. Así por ejemplo autores como Arama (1996) y Simón (2003) han identificado genotipos con buen comportamiento en ambos estadios, mientras que otras investigaciones reportan interacciones específicas tanto en plántula como en planta adulta (Kema & van Silfhout 1997; Kema *et al.*, 1996; Brown *et al.*, 2001). Resistencia parcial también se observó en algunos cultivares nacionales, incluyendo Klein Dragón, Buck SY 300, Buck 75 Aniversarios, Klein Volcán y Buck SY 110 frente muchos de los aislamientos del patógeno. Este tipo de resistencia, como fue mencionado, resulta de gran importancia ya que en general es considera de mayor duración en el tiempo (Simón *et al.*, 2016). Esta última afirmación fue corroborada por los resultados obtenidos en los cultivares Klein Dragón, Klein Volcán y Buck 75 Aniversario, en los cuales este tipo de resistencia ya ha sido reportada en dos trabajos previos (Simón *et al.*, 2005 y 2016) y aún continúa siendo efectiva frente a nuevas variantes del patógeno. Por último, dentro de los cultivares nacionales caracterizados y actualmente en el mercado, Buck SY 200 y BioINTA 2004, presentaron ambos tipos de resistencia (en función de los aislamientos considerados) tanto en plántula como estado adulto y a diferencia de otros genotipos argentinos, su comportamiento difirió respecto del exhibido por todas las líneas diferenciales. La existencia de ambos tipos de resistencia en un mismo genotipo y el comportamiento diferencial respecto a líneas portadoras de genes STB, estaría indicando la presencia de varios y nuevos genes de resistencia, por lo que son una promisorio fuente de resistencia a ser analizada.

El conocimiento de la base genética de la resistencia a *Z. tritici* es requerido a fin de mejorar la eficiencia en su mejoramiento (Chartrain *et al.*, 2004). Para ello, una vez identificados materiales con adecuados niveles de resistencia, la disección genética de este tipo de rasgos complejos, requiere el desarrollo y correcta caracterización de poblaciones de mapeo. En el Capítulo 3 se

realizó la caracterización fenotípica y estudio de la base genética de la resistencia de una población doble haploide desarrollada a partir de los cultivares nacionales Klein Dragón y Buck Brasil, moderadamente resistente y susceptible a aislamientos locales del patógeno, respectivamente. Al igual que en el panel del Capítulo 2, la población bi-parental fue testeada frente a un set de aislamientos (tres) del patógeno genéticamente divergentes. Esto contrasta con el análisis realizado en la identificación de la mayoría de los genes *Stb* previamente reportados, en los cuales en general se utilizó un único aislamiento (Adhikari *et al.*, 2003; Adhikari *et al.*, 2004; Arraiano *et al.*, 2007; Chartrain *et al.*, 2009; McCartney *et al.*, 2003). Sin embargo, el uso de múltiples variantes del patógeno permite discernir si los diferentes aislamientos detectan un mismo QTL, o si el cultivar presenta una combinación de QTL, los que determina una resistencia de amplio espectro frente a los mismos. Para la población de mapeo analizada, la interacción línea × aislamiento resultó significativa, demostrando que la resistencia exhibida por Klein Dragón frente a los tres aislamientos utilizados está (al menos en parte) determinada por distintos factores genéticos. Estos resultados también permitieron demostrar que la acumulación de QTL contribuye a una eficacia más amplia de la resistencia. Como consecuencia, la identificación de nuevos genes y su acumulación en un determinado germoplasma representa una estrategia exitosa para contribuir al manejo de la enfermedad. Esto es también demostrado por algunas líneas diferenciales que presentan amplio espectro de resistencia, en las cuales se sabe de la presencia de hasta 4 genes *Stb* (Brown *et al.*, 2015). Analizando cada aislamiento de manera individual, al igual que en el panel del Capítulo 2, fue posible observar líneas dentro de la población exhibiendo niveles de resistencia ya sea en plántula, estado adulto o en ambos estadios simultáneamente. Esto indica a su vez, la presencia de múltiples factores, característicos de resistencia de tipo parcial, frente a cada uno de los aislamientos, lo cual se vio reflejado en la distribución tipo continúa mostrada por el carácter.

La resistencia parcial observada en la población de mapeo puede ser considerada como el resultado de varios componentes que operan en diferentes etapas del ciclo epidemiológico (Parlevliet, 1979). La combinación de estos componentes en una epifitía es lo que da lugar a la resistencia final observada a campo (Griffiths, 1978). Sin embargo, el efecto individual de cada uno de los componentes sobre la enfermedad puede diferir significativamente (Lancashire & Joneas, 1985). El PL presentó los mayores coeficientes de correlación, como también mayores efectos directos sobre los niveles finales de la enfermedad, en los tres aislamientos utilizados. Por

su parte PI también presentó efectos significativos, pero de menor magnitud; mientras que el resto de los componentes (Pic.cm⁻², Esp.pic⁻¹ y Esp.cm⁻²) solo se observó efectos significativos frente a un solo aislamiento. Esto último, indica que además del efecto diferencial reportado de los componentes sobre la enfermedad, el mismo sería aislamiento dependiente. Por otro lado, no se observó relación significativa entre componentes, por lo que su herencia en la población analizada sería independiente. Se han reportado que tales componentes son genéticamente independientes y que su control genético puede estar dado por unos pocos hasta varios genes (Nelson, 1978). Teniendo en cuenta estos resultados, la combinación de cultivares presentando diferentes componentes de la resistencia, puede ser una estrategia a seguir para reducir los niveles de la enfermedad (Jeger *et al.*, 1981).

Uno de los factores que más confunde en la determinación de la resistencia a *Z. tritici*, es la reportada interacción entre la misma y los caracteres morfo-fisiológicos altura de planta y ciclo de cultivo (Arama *et al.*, 1999; Simón *et al.*, 2005). En este contexto, se han reportados resultados contrastantes respecto de los factores responsables de la asociación, lo cual ha generado controversia. Mientras algunas investigaciones sostienen que en la misma, factores ambientales o epidemiológico son mucho más importante que factores de tipo genético (Simón *et al.*, 2005), otros en base al comportamiento genotípico, adjudican la asociación al ligamiento entre los factores genéticos determinantes de los caracteres involucrados (Rosielle & Brown 1979; Danon *et al.*, 1982; Eyal, 1981; Baltazar *et al.*, 1990). En muchos de estos estudios, la base genética analizada en general ha sido estrecha, lo que dificulta poder realizar una consideración general sobre el origen de la asociación. Sin embargo, el contraste en los resultados obtenidos, en principio da idea de que la presencia de ligamiento entre caracteres puede depender del germoplasma utilizado. En trabajos más recientes en los que se utilizaron genotipos de diversos orígenes (Risser *et al.*, 2011; Goudemand *et al.*, 2013; Kollers *et al.*, 2013; Miedaner *et al.*, 2013), la asociación planteada fue corroborada a nivel genético a través de la co-localización de factores genéticos asociados a los caracteres involucrados. Sin embargo, en todos estos trabajos las evaluaciones en estado de planta adulta fueron realizadas en el mismo momento cronológico. A fin de comparar la resistencia *per se* de un conjunto de cultivares y su asociación con precocidad y altura, la severidad de la enfermedad debería ser medida sobre el mismo estadio de desarrollo y no el mismo día cronológico (Arama *et al.*, 1999). De lo contrario, diferencias de severidad entre cultivares precoces

y tardíos y/o bajos y altos pueden deberse a diferencias en la edad de las hojas evaluadas como también a diferencias en la duración del periodo en el que las mismas estuvieron expuestas a la enfermedad. Teniendo en cuenta este factor, la asociación mencionada fue analizada tanto en la población bi-parental (Capítulo 3) como también en la población de mapeo asociativo constituida por una colección núcleo de 96 genotipos de trigo altamente contrastantes para los tres caracteres analizados (Capítulo 4). En la población bi-parental, los genotipos extremos presentaron amplias diferencias en ciclo (25 días) y altura de planta (71 cm), como así también en resistencia a *Z. tritici*, tanto en plántula como estado adulto. En esta población, la asociación entre respuesta a *Z. tritici* solo resultó significativa y consistente con DAE. En ambos estadios se observó una negativa asociación entre ambos caracteres frente a los tres aislamientos utilizados, pero solo aplicable a algunas de las líneas de la población (Fig. 14). Dicha asociación no se vio afectada por condiciones diferenciales del ambiente sobre los genotipos extremos, por lo que fue atribuida a la presencia de ligamiento genético. Sin embargo, en esta población la base genética es estrecha y los resultados son propios de los dos genotipos utilizados en el desarrollo de la población bi-parental. Un comportamiento similar se observó en la población de mapeo analizada en el Capítulo 4, donde nuevamente solo DAE estuvo involucrado en una asociación significativa y negativa con la severidad de la enfermedad. En este caso, los genotipos incluidos en la población presentaron diferencias en ciclo (121 cm) y altura de planta (78 días) mucho más extremas y los resultados obtenidos, debido a la amplia base genética utilizada, pueden ser considerados como más generales. La asociación negativa observada entre ciclo y severidad a *Z. tritici* no se vio afectada por el ambiente y nuevamente fue atribuida al ligamiento de los factores genéticos determinantes de uno y otro carácter. Sin embargo, al considerar en el análisis los dos grupos de estructura definidos por el STRUCTURE, en función de la similitud genética de los genotipos, se pudo observar que la asociación mencionada involucra solo uno de los dos grupos, Q1 (Fig. 25 y 26). Esto permitió corroborar la especulación de que la presencia de asociaciones genéticas es dependiente del germoplasma utilizado. Adicionalmente, también se observó que dentro del sub-grupo Q1, muchos de los genotipos no cumplen con tal asociación y que la misma aún se restringe a un sub-grupo más pequeño. Como conclusión se puede afirmar que en muchos de los genotipos de trigo la selección por resistencia a *Z. tritici* se puede realizar independientemente de los

caracteres morfo-fisiológicos mencionados, mientras que en otros la misma debe ser tenida en cuenta.

El mejoramiento genético conjuntamente con mejoras en las prácticas agronómicas ha generado importantes incrementos en el rendimiento de cultivo de trigo tanto a nivel mundial como en Argentina (FAO, 2013; Vanzetti *et al.*, 2013). Sin embargo, en los últimos años la tasa de aumento de la productividad de trigo ha ido disminuyendo, lo que, sumado al efecto previsto del cambio climático, las pérdidas ocasionadas por enfermedades y plagas y el incremento demográfico estimado, deja en claro la necesidad de incrementar las tasas de ganancia. A fin de alcanzar este objetivo, el estudio y exploración de la diversidad genética a niveles moleculares por medio de tecnologías de genética molecular y la integración de dicha información con métodos de mejora convencionales es fundamental (Chao *et al.*, 2007). La diversidad genética es vital en el desarrollo de genotipos mejorados y un análisis que permite desarrollar su conocimiento es el desequilibrio de ligamiento (LD). El mismo representa la base de los estudios de mapeo por asociación, los que permiten que un muy amplio pool de genes pueda ser analizado. La disección de la base genética de rasgos complejos a través de mapeo por asociación ha sido reportada en diversos cultivos como arroz, maíz, cebada y trigo (Zhu *et al.*, 2008). En el Capítulo 4 se utilizó la metodología de mapeo por asociación en la determinación de la base genética de más de 20 caracteres de importancia agronómica en una población de 96 genotipos de trigo, utilizando marcadores DArT. Numerosos factores genéticos fueron identificados explicando cada uno de los caracteres, muchos de los cuales coinciden con genes o QTL identificados previamente para el carácter. Esto último, demuestra la potencialidad de la metodología de mapeo e incrementa la disponibilidad de marcadores ligados a los mismos, posibles de ser utilizados en selección asistida. Por otro lado, otras asociaciones fueron identificadas en regiones cromosómicas las que hasta la fecha y según nuestro conocimiento no has sido reportadas, por lo que representan nuevos factores genéticos posibles de utilizar en el mejoramiento del cultivo. En el caso particular de las enfermedades fúngicas evaluadas, fue posible determinar que en general los diferentes factores genéticos identificados presentan efectos aditivos significativos, por lo que piramizar QTL de resistencia constituye una estrategia válida. Similares resultados han sido reportados en estudios de mapeo previos (Risser *et al.*, 2011; Kollers *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015; Naruoka *et al.*, 2015).

En marcadores como los DArT no se requieren tener un conocimiento previo de la secuencia, sin embargo, dicha información actualmente está disponible y su uso puede generar algunas ventajas en el análisis genético. En general estudios sobre la expresión de los genes, funcionalidad y mecanismos moleculares en los que actúan se ha generado con mayor velocidad en especies de genoma más pequeño, las que resultan más sencillas para este tipo de estudios. Sin embargo, a partir del conocimiento de la colinearidad y conservación del genoma a través de especies filogenéticamente relacionadas, la genómica comparativa basada en regiones ricas en genes se ha convertido en una estrategia exitosa para comenzar a comprender las funciones biológicas y los mecanismos moleculares de los genes asociados con caracteres importantes en especies de mayor ploidía (Feuillet & Keller, 2002). En el Capítulo 4 las secuencias asociadas a los marcadores que resultaron significativos en al menos un carácter fueron utilizadas para búsquedas *in silico*. De esta manera se identificaron numerosas funciones y procesos biológicos involucrado, muchos de los cuales se corresponde con el carácter con el que el marcador resultó asociado. Como consecuencia, a pesar de que se trata de un método indirecto, el mismo representa una primera aproximación en el entendimiento de las funciones biológicas y procesos moleculares en los que los factores genéticos identificados están involucrados. Una mejor comprensión de cómo cada gen actúa a nivel molecular resulta de utilidad en la elaboración de estrategias efectivas de mejoramiento.

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis se propone como futuras investigaciones, por un lado, en aquellos cultivares argentinos utilizados en la caracterización fenotípica (Capítulo 2), en los que se ha postulado la presencia de conocidos genes *Stb*, corroborar su presencia a través del uso de marcadores moleculares. Para ello, se utilizarán marcadores que han sido reportados como ligados a cada uno de ellos (la mayoría SSR). En este sentido el grupo de trabajo ya dispone de los mismos por lo que se espera que en un futuro cercano tales confirmaciones puedan ser llevadas a cabo. Adicionalmente, se propone el desarrollo de poblaciones de mapeo a partir de los cultivares argentinos que han exhibido resistencia frente a los aislamientos del patógeno. Dentro de este grupo como fue mencionado se destacaron los cultivares SRM Nogal y BioINTA 3005 los que presentaron resistencia completa frente a todos los aislamientos. En el caso particular de Buck SY 200 y BioINTA 2004, los que presentaron resistencia completa conjuntamente con resistencia parcial y cuyo comportamiento no se asemejó al de ninguna línea diferencia, indicando la

presencia de nuevos genes de resistencia, también se pretende el desarrollo de tales poblaciones tendientes a identificar los mismos.

Respecto al Capítulo 3, como trabajo futuro aún resta mapear la población bi-parental con el objetivo de identificar la posición precisa de los genes determinantes de la resistencia observada. Este trabajo permitirá completar el estudio de la base genética de la resistencia en el cultivar Klein Dragón y su posterior uso en el mejoramiento del carácter a través por ejemplo de selección asistida. Adicionalmente, la identificación molecular de los caracteres evaluados permitirá por ejemplo confirmar la independencia observada entre los componentes de la resistencia, así como también la asociación genética postulada entre la resistencia a *Z. tritici* y los caracteres morfo-fisiológicos.

Por último, más allá del hecho que muchos de los factores genéticos identificados a través de mapeo asociativo (Capítulo 4) coincide con genes previamente reportados, lo cual demuestra la utilidad de la metodología utilizada, dichos resultados deben ser validados antes de ser utilizados en el mejoramiento. Para tales validaciones se propone utilizar diferentes metodologías, desde el desarrollo de poblaciones bi-parentales, líneas isogénicas, mapeo fino, etc.

Referencias bibliográficas

- Abdurakhmonov, I.Y. & A. Abdugarimov. 2008. Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. *International Journal of Plant Genomics* 2008:1-18.
- Adhikari, T.B., X. Yang, J.R. Cavaletto, X. Hu, G. Buechley, H.W. Ohm, G. Shaner & S.B. Goodwin. 2004. Molecular mapping of *Stb1*, a potentially durable gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 109:944–953.
- Adhikari, T.B., J.M. Anderson & S.B. Goodwin. 2003. Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* 93:158–1164.
- Al-Maskri, A.H., M. Sajjad & S.H. Khan. 2012. Association mapping: a step forward to discovering new alleles for crop improvement. *International Journal of Agricultural and Biological* 14:1537–1546.
- Annone, J. 2003. Principales enfermedades foliares del trigo: Importancia relativa y condiciones predisponentes para su establecimiento y desarrollo. En: Trigo en siembra directa; dirigida por Trucco, V. Rosario, AAPRESID. pp. 73- 77.
- Annone, J.G. & R. García. 2004. Las principales manchas foliares del trigo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); Revista Idia XXI N° 6 junio 2004. pp 58-64.
- Annone, J., A. Calzolari, O. Polidoro & H. Conta. 1991. Efecto de la mancha de la hoja causada por *Septoria tritici* sobre el rendimiento. INTA EEA Pergamino. Informe N° 122: 4 pp.
- A.O.A.C. 1970. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 11th Ed. Washington DC, USA, 1015 p.
- Arama, P.F. 1996. Effects of cultivar, isolate and environment on resistance of wheat to *Septoria tritici* blotch in Kenya. Thesis Wageningen Agricultural Wageningen, pp. 115.
- Arama, P.F., J.E. Parlevliet & C.H. Van Silfhout. 1999. Heading date and resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat not genetically associated. *Euphytica* 106:63-68.
- Arama, P.F., J.E. Parlevliet & C.H. Van Silfhout. 1994. Effect of plant height and days to heading on the expression of resistance in *Triticum aestivum* to *Septoria tritici* in Kenya. In: Arseniuk E, Goral T, Czembor P. (Eds), Proceedings of the 4th International Workshop on: *Septoria of Cereals*. July 4-7, 1994, pp. 153-157. IHAR Radzikow, Poland.
- Arraiano, L.S., P.A. Brading, F. Dedryver & J.K.M. Brown. 2007. Resistance of wheat to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) and associations with plant ideotype and the 1BL-1RS translocation. *Plant Pathology* 55:52-61.
- Arraiano, L.S. & J.K.M. Brown. 2006. Identification of isolate-specific and partial resistance to septoria tritici blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathology*. 55:54–61.
- Arraiano, L.S., A.J. Worland, C. Ellerbrook & J.K.M. Brown. 2001. Chromosomal location of a gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x'. *Theoretical and Applied Genetics* 103:758–64.
- Bajgain, P., M. Rouse, P. Bulli, S. Bhavani, T. Gordon, R. Wanyera, et al. 2015. Association mapping of North American spring wheat breeding germplasm reveals loci conferring resistance to Ug99 and other African stem rust races. *Biomed Central Plant Biology* 15:1-19.

- Baltazar, B.M., A.L. Scharen & Kronstad, W.E. 1990. Association between dwarfing genes Rht1 and Rht2 and resistance to *Septoria tritici* blotch in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 79:422-6.
- Bertrand, C., Y. Collar & D.J. Mackill. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. — *Phil. Trans. roy. Soc. London B.* 363:557–572.
- Boeger, M., R.S. Chen & B.A. McDonald. 1993. Gene flow between geographic populations of *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) detected with RFLP markers. *Phytopathology* 83:1148-1154.
- Bradbury, P.J., Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss & E.S. Buckler. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23:2633-2635.
- Brading, P.A., E.C.P. Verstappen, G.H.J. Kema & J.K.M. Brown. 2002. A gene for gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the septoria tritici blotch pathogen. *Phytopathology* 92:439-445.
- Braun, H.J., G. Atlin & T. Payne. 2010. Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. In: Reynolds MP, ed. *Climate change and crop production*. Wallingford, UK: CABI Publishers, pp.115–138.
- Breseghele, F. & M.E. Sorrells. 2006. Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Science* 46:1323-1330.
- Brown, J.K., L. Chartrain, P. Lasserre-Zuber & C. Saintenac. 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology* 79:33-41.
- Brown, J.K.M., G.H.J. Kema, H.R. Forrer, E.C.P., Verstappen, L.S. Arraiano, P.A. Brading, E.M. Foster, P.M. Fried & Jenny, E. 2001. Resistance of wheat cultivars and breeding lines to septoria tritici blotch caused by isolates of *Mycosphaerella graminicola* in field trials. *Plant Pathology* 50:325–38.
- Brownell, K.H. & L. Gilchrist. 1979. Assessment of yield in wheat cultivars infected by *Septoria tritici* in California. *Phytopathology* 69:1022.
- Brueggeman, R., N. Rostoks, D. Kudrna, A. Kilian, F. Han, J. Chen, et al. 2002. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 99:9328–9333.
- Caldwell, R.M. & I. Narvaez. 1960. Losses to winter wheat from infection by *Septoria tritici*. *Phytopathology* 50:630.
- Camacho-Casas, M.A., W.E. Kronstad & A.L. Scharen. 1995. *Septoria tritici* resistance and associations with agronomic traits in a wheat cross. *Crop Science* 35:971-976.
- Campos, P. & J. López. 2015. Physiological specialization of *Puccinia triticina* on wheat in Argentina in 2013. BGRI 2013 Technical Workshop.
- Carmona, M. 2001. Manual para el manejo Integrado de enfermedades en el cultivo de trigo, Bs. As. 32 p.
- Castillo, N. 2010. Caracterización de aislamientos argentinos del agente causal de la mancha de la hoja del trigo (*Mycosphaerella graminicola*) e identificación de marcadores moleculares asociados a genes de resistencia al patógeno. Tesis doctoral. FCAyF-UNLP, la plata, Argentina, 168 p.
- Castillo, N., C. Cordo & M. R. Simón. 2010. Molecular variability among isolates of *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of septoria tritici blotch, in Argentina. *Phytoparasitica*, 38:379–389.

- Chao, S., W. Zhang, J. Dubcovsky & M. Sorrells. 2007. Evaluation of genetic diversity and genome-wide linkage disequilibrium among U.S. wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm representing different market classes. *Crop Science* 47:1018–1030.
- Chartrain, L. 2004. Genes for isolate-specific and partial resistance to septoria tritici blotch in wheat. Ph.D. Thesis, John Innes Centre, University of East Anglia, Norwich, UK, 151 p.
- Chartrain, L., P. Sourdille, M. Bernard & J.K.M. Brown. 2009. Identification and location of *Stb9*, a gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat cultivars Courtot and Tonic. *Plant Pathology* 58:547–555.
- Chartrain, L., P. Joaquin, S.T. Berry, L.S. Arraiano, F. Azanza & J.K.M. Brown. 2005. Genetics of resistance to septoria tritici blotch in the Portuguese line TE 9111. *Theoretical and Applied Genetics*. 110:1138–1144.
- Chartrain, L., P.A. Brading, J.P. Widdowson & J.K.M. Brown. 2004. Partial resistance to *Septoria tritici* blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in wheat cultivars Arina and Riband. *Phytopathology* 94:497–504.
- Chen, R.S. & B.A. McDonald. 1996. Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Genetics* 142:1119–1127.
- Cheong, Y.H., C.Y. Kim, H.J. Chun, B.C. Moon, H.C. Park, K.J. Kim, S. Lee, C. Han, S.Y. Lee & M.J. Cho. 2000. Molecular cloning of a soybean class III β -1,3-glucanase gene that is regulated both developmentally and in response to pathogen infection. *Plant Science* 154:71–81.
- Cherif, M., S. Rezgui, P. Devaux & M. Harrabi. 2007. Interaction between *Rhynchosporium secalis* and *Pyrenophora teres* in the field and identification of genotypes with double resistance in a doubled-haploid barley population. *Journal of Phytopathology* 155:90–96.
- Choo, T.M. & E. Reinbergs. 1982. Estimation of the number of genes in doubled haploid populations of barley (*Hordeum vulgare*). *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 24:337–341.
- Churchill, G.A. & R.W. Doerge. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138:963–971.
- CIMMYT. 2009. Agricultura para el futuro de nuestros nietos: producción de maíz y trigo y el cambio climático en los países en desarrollo. Informe Anual del CIMMYT 2008-2009. México, D.F.: CIMMYT. 20 p.
- Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer & E.C.K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142:169–196.
- Comadran, J., W.T.B. Thomas, F.A. Van Eeuwijk, S. Ceccarelli, S. Grando, A.M. Stanca, N. Pecchioni, T. Akar, A. Al-Yassin, A. Benbelkacem, H. Ouabbou, J. Bort, I. Romagosa, C.A. Hackett & J.R. Russell. 2009. Patterns of genetic diversity and linkage disequilibrium in a highly structured *Hordeum vulgare* association-mapping population for the Mediterranean basin. *Theoretical and Applied Genetics* 119:175–187.
- Cools, H.J. & B.A. Fraije. 2013. Update on mechanisms of azole resistance in *Mycosphaerella graminicola* and implications for future control. *Pest Management Science* 69:150–155.
- Cordo, C.A., A.E. Perelló, H.E. Alippi & H.O. Arriaga. 1990. Presencia de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter teleomorfo de *Septoria tritici* Rob. ex Desm. en trigos maduros de la Argentina. *Revista Facultad Agronomía* 66/67: 49–55.

- Cornell, H.J. & A.W. Hoveling. 1998. Wheat: chemistry and utilization, technomic publishing Co. Pennsylvania, USA. 422 p.
- Corsten, L.C.A. & J.B. Denis. 1990. Structuring interaction in the two-way tables by clustering. *Biometrics* 46:207-215.
- Crossa, J., J. Burgueno., S. Dreisigacker., M. Vargas, S.A. Herrera- Foessel, M. Lillemo, R.P. Singh, R. Trethowan, M. Warburton, J. Franco, M. Reynolds, J.H. Crouch & R. Ortiz. 2007. Association analysis of historical bread wheat germplasm using additive genetic covariance of relatives and population structure. *Genetics* 177:1889-1913.
- Cruz, C.D. & A. Regazzi. 1997. Modelos Biométricos Aplicados a Melhoramento Genético. Segunda edición UFV. Brasil. 390 p.
- Cuthbert, R. 2011. Molecular Mapping of Septoria tritici Blotch Resistance in Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph.D. Thesis, University of Manitoba, 140p.
- Danon, T. & Z. Eyal. 1990. Inheritance of resistance to two *Septoria tritici* isolates in spring and winter bread wheat cultivars. *Euphytica* 47:203-14.
- Danon, T., J.M. Sacks & Z. Eyal. 1982. The relationship among plant stature, maturity class, and susceptibility to septoria leaf blotch of wheat. *Phytopathology* 72:1037-1042.
- Danot, O., E. Marquet, D. Vidal-Ingigliardi, E. Richet. 2009. Wheel of Life, Wheel of Death: A Mechanistic Insight into Signaling by STAND Proteins. *Structure* 17:172-182.
- Daud, H.M. & J.P. Gustafson. 1996. Molecular evidence for *Triticum speltoides* as B-genome progenitor of wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 39:543-548.
- Desmazières, J.B.H.J. 1842. Neuvième notice sur quelques plantes cryptogames. *Annales des Sciences Naturelles; Botanique, Série 2* 17:91-118.
- Dmochowska-Boguta M., S. Alaba, Y. Yanushevska, U. Piechota, E. Lasota, A. Nadolska-Orczyk, W.M. Karlowski, W. Orczyk. 2015. Pathogen-regulated genes in wheat isogenic lines differing in resistance to brown rust *Puccinia triticina*. *Biomed Central Genomics* 16:742.
- Dooley, H., M.W. Shaw, J. Mehenni-Ciz, J. Spink & S. Kildea. 2016. Detection of *Zymoseptoria tritici* SDHI-insensitive field isolates carrying the SdhC-H152R and SdhD-R47W substitutions. *Pest Management Science* 72:2203-2207.
- Dubcovsky, J. & J. Dvorak. 2007. Genome plasticity a key factor in the success of polyploidy wheat under domestication. *Science* 316:1862-1866.
- Edae, E.A., P.F. Byrne, S. Haley., M.S. Lopes & M.P. Reynolds. 2014. Genome-wide association mapping of yield and yield components of spring wheat under contrasting moisture regimes. *Theoretical and Applied Genetics* 127: 791-807.
- El Chartouni, L., B. Tisserant A. Siah, F. Duyme, C. Deweer, C. Fichter, J. Sanssené, J.B. Leducq, R. Durand, P. Halama & P. Reignault. 2011. Genetic diversity and population structure in French populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Mycologia* 103:764-774.
- Endo, T.R. & B.S. Gill. 1996. The deletion stocks of common wheat. *Journal of Heredity* 87:295-307.
- Eriksen, L., F. Borum & A. Jahoor. 2003. Inheritance and localization of resistance to *Mycosphaerella graminicola* causing Septoria tritici blotch and plant height in the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome with DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* 107:515-527.
- Eriksen, L. & L. Munk. 2003. The occurrence of *Mycosphaerella graminicola* and its anamorph *Septoria tritici* in winter wheat during the growing season. *European Journal of Plant Pathology* 109:253-259.

- Ersoz, E.S., J. Yu & E.S. Buckler. 2009. Applications of linkage disequilibrium and association mapping in maize Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement, Springer Berlin Heidelberg, 173–195 pp.
- Evanno, G., S. Regnaut & J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620.
- Eyal, Z. 1999. The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat. *European Journal of Plant Pathology* 105:629-641.
- Eyal, Z. 1981. Integrated control of septoria diseases of wheat. *Plant Disease* 65:763-768.
- Eyal, Z., A.L. Scharen, J.M. Prescott, M. Van Ginkel. 1987. The Septoria diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico D.F, p 47.
- Eyal, Z., Z. Amiri & I. Wahl. 1973. Physiologic specialization of *Septoria tritici*. *Phytopathology* 63:1087-1091.
- Falush, D., M. Stephens & J.K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567–1587.
- FAOSTAT, 2010 y 2014. <http://faostat.fao.org/>.
- Feldman, M. & A.A. Levy. 2011. Instantaneous genetic and epigenetic alterations in the wheat genome caused by allopolyploidization, in *Transformations of Lamarckism, From Subtle Fluids to Molecular Biology*, edited by S. B. Gissis, E. Jablonka. The MIT press, Cambridge, MA, 261–270 pp.
- Fellows, H. 1962. Effect of light, temperature and fertilizer on infection of wheat leaves by *septoria tritici*. *Plant Disease Reporter* 46:846-848.
- Feuillet, C. & B. Keller. 2002. Comparative genomics in the grass family: molecular characterization of grass genome structure and evolution. *Annals of Botany* 89:3–10.
- Fischer, R.A. & G.O. Edmeades. 2010. Breeding and cereal yield progress. *Crop Science* 50:85–98.
- Fischer, R.A., D. Byerlee & G.O. Edmeades. 2009. Can technology deliver on the yield challenge to 2050? Proceedings of the Expert Meeting on How to Feed the World in 2050, FAO, Rome.
- Flavell, R.B. 1982. Sequence amplification, deletion and rearrangement: major sources of variation during species divergence, in *Genome Evolution*, edited by G. A. Dover and R. B. Flavell, Academic Press, New York, 301-323 pp.
- Flint-Garcia, S.A., A.C. Thuillet, J. Yu, G.S. Pressoir, M. Romero, et al. 2005. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *Plant Journal* 44:1054-1064.
- Flint-Garcia, S.A., J.M. Thornsberry & E.S. Buckler. 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology* 54:357-374.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. FAOSTAT. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Ultimo acceso junio de 2016.
- Fraaije, B.A., H.J. Cools, J. Fountaine, D.J. Lovell, J. Motteram, J.S. West & J.A. Lucas. 2005. Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* 95:933–941.
- Slafer G.A. & F.H. Andrade. 1993. Physiological attributes related to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. *Field Crops Reserch* 31:351–367.
- Galarza, C., P. Vallone, V. Gudelj, C. Cazorla & T. Baigorria. 2011. Caracterización de rastrojos en sistemas agrícolas estabilizados. EEA Marcos Juárez, 7 p.

- Germán, S., A. Barcellos, M. Chaves, M. Kohli, P. Campos & L. Viedma. 2007. The situation of common wheat rusts in the Southern Cone of America and perspectives for control. *Australian Journal of Agricultural Research* 58:620-630.
- Gilchrist, L. & H.J. Dubin. 2002. Septoria diseases of wheat. In B.C. Curtis, S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (eds.), *Bread improvement and production*. FAO Plant Production and Protection Series. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 273-278 pp.
- Gill, K.S.Y. & B.S. Gill. 1994. Higher level of recombination in wheat is due to more cross-overs/arm and localized recombination hot-spots, in *Plant Genome II. The second International Conference on the Plant Genome*, San Diego, 64 p.
- Goodwin, S.B. 2007. Back to basics and beyond: increasing the level of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Australasian Plant Pathology* 36:532–538.
- Goodwin, S.B. & I. Thompson. 2011. Development of isogenic lines for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 47:98–101.
- Goodwin, S.B., S.B. M'Barek, B. Dhillon, A. H. Wittenberg, C. F. Crane, J. K. Hane, G. H.J. Kema, et al. 2011. Finished Genome of the Fungal Wheat Pathogen *Mycosphaerella Graminicola* Reveals Dispensome Structure, Chromosome Plasticity, and Stealth Pathogenesis. *PLoS Genetic*, 7, e1002070.
- Goudemand, E., V. Laurent, L. Duchalais, S.M. Tabib Ghaffary, G.H.J. Kema, P. Lonnet, E. Margale & O. Robert. 2013. Association mapping and meta-analysis: two complementary approaches for the detection of reliable *Septoria tritici* blotch quantitative resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding* 32:563-584.
- Griffiths, E. 1978. Plant disease epidemiology - retrospect and prospect. In *Plant disease epidemiology*, 3-9 pp. Eds P. R. Scott & A. Bainbridge. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Gupta, P.K., S. Rustgi & P.L. Kulwal. 2005. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Molecular Biology* 57:461–485.
- Gurung, S., J.M. Bonman, S. Ali, J. Patel, M. Myrfield, M. Mergoum, P.K. Singh & T.B. Adhikari. 2009. New and diverse sources of multiple disease resistance in wheat. *Crop Science* 49:1655-1666.
- Hammer, K. 1984. The domestication syndrome. *Kulturpflanze* 32:11–34 (in German).
- Hedrick, P.W. 1987. Gametic disequilibrium measures – proceed with caution. *Genetics* 117:331–341.
- Hess, D. & G. Shaner. 1987. Effect of moisture and temperature on development of *Septoria tritici* blotch in wheat. *Phytopathology* 77:215-219.
- Hill, W.G. & A. Robertson. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theoretical and Applied Genetics* 38:226–231.
- Hirschhorn, J.N. & M.J. Daly. 2005. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics* 6:95–108.
- Holland, J.B. 2007. Genetic architecture of complex traits in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 10:156–161.
- Holmes, S.J.I. & J. Cohloun. 1974. Infection of wheat by *Septoria nodorum* and *S. tritici* in relation to plant age, air temperature and relative humidity. *Transactions of the British Mycological Society*. 63:329-338.
- Hussain, S.S. & A. Rivandi. 2007. Molecular breeding for drought tolerance in plants: wheat prospective. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences* 44:35-62.
- I.R.A.M. 15852:2002. Cereales. Determinación de proteínas totales. Método Kjeldahl modificado

- Jaccoud, D., K. Peng, K. Feinstein & A. Kilian. 2001. Diversity arrays: a solidstate technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Reserch* 29:1–7.
- Jantasuriyarat, C., M.I. Vales, C.J.W. Watson & O. Riera-Lizarazu. 2004. Identification and mapping of genetic loci affecting the free threshing habit and spike compactness in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 108:261–273.
- Jeger, M.J., D.G. Jones & E. Griffiths. 1983. Components of partial resistance of wheat seedlings to *Septoria nodorum*. *Euphytica* 32:575-584.
- Jeger, M.J., E. Griffiths & D.G. Jones. 1981. Disease progress of non-specialised fungal pathogens in intraspecific mixed stands of cereal cultivars. I. Models. *Annals of Applied Biology* 98:187-198.
- Jlibene, M. & F. El Bouami. 1995. Inheritance of partial resistance to *Septoria tritici* in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), in L. Gilchrist, et al. (ed.) *Proceedings of a Workshop, Mexico, DF, CIMMYT, Mexico. 20–24 Sept. 1993. CIMMYT, México, DF, 117–125 pp.*
- Jlibene, M., J.P. Gustafson & S. Rajaram. 1994. Inheritance of resistance to *Mycosphaerella graminicola* in hexaploid wheat. *Plant Breeding* 112:301-310.
- Jlibene, M., J.P. Gustafson & S. Rajaram. 1992. A field disease evaluation method for selecting wheats resistant to *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Breeding* 108:26-32.
- Jones, J.D. & J.L. Dangl. 2006. The plant immune system. *Nature* 444:323–9.
- Joshi, A.K., M. Azab, M. Mosaad, M. Moselhy, M. Osmanzai, S. Gelalcha, G. Bedada, M.R. Bhatta, A. Hakim, P.K. Malaker, M.E. Haque, T.P. Tiwari, A. Majid, M.R. Jalal-Kamali, Z. Bishaw, R.P. Singh, T.S. Payne & H.J. Braun. 2011. Delivering rust resistant wheat to farmers: a step towards increased food security. *Euphytica* 179:187-196.
- Kang, H.M., N.A. Zaitlen, C.M. Wade, A. Kirby, D. Heckermann, M.J. Daly & E. Eskin. 2008. Efficient control of population structure in model organism association mapping. *Genetics* 178:1709-1723.
- Kema, G.H.J. & C.H. Van Silfhout. 1997. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat *Mycosphaerella graminicola* pathosystem .3. Comparative seedling and adult plant experiments. *Phytopathology* 87:266-272.
- Kema, G.H.J., D.Z. Yu, F.H.J. Rijkenberg, M.W. Shaw & R.P. Baayen. 1996a. Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* 86:777-786.
- Kema, G.H.J., E.C.P. Verstappen, M. Todorova & C. Waalwijk. 1996b. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics* 30:251-258.
- Kema, G.H.J., R. Sayoud, J.G. Annone & C.H. Van Silfhout. 1996c. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem .2. Analysis of interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology* 86:213-220.
- Kema, G.H.J., T.A.J. Van der Lee, O. Mendes, E.C.P. Verstappen, R.K. Lankhorst, H. Sandbrink, A. Van der Burgt, L.H. Zwiers, M. Csukai, C. Waalwijk. 2008. Large-scale gene discovery in the septoria tritici blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* with a focus on in planta expression. *Molecular Plant–Microbe Interactions* 21:1249-1260.
- Keon, J., J. Antoniw, R. Carzaniga, S. Deller, J.L. Ward, J.M. Baker, et al. 2007. Transcriptional adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to programmed cell death (PCD) of its susceptible wheat host. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20:178–193.

- Kerr, K. & T. Thornton. 2013. Population Genetics and Association Mapping. 18th Summer Institute in Statistical Genetics. University of Washington 8:90-110.
- Kihara, H. 1944. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of *Triticum vulgare* (Japanese). *Agricultural and Horticulture* 19:13-14.
- King, J.E., R.J. Cook & S.C. Melville. 1983. A review of Septoria diseases of wheat and barley. *Annals of Applied Biology* 103:345–373.
- Kobiljski, B., S.A. Quarrie, S. Dencic', J. Kirby & M. Iveges. 2002. Genetic diversity of the Novi Sad wheat core collection revealed by microsatellites. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7:685-694.
- Kollers, S., B. Rodemann, J. Ling, V. Korzun, E. Ebmeyer, O. Argillier, M. Hinze, J. Plieske, D. Kulosa, M.W. Ganal & M.S. Roder. 2013. Genetic architecture of resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in European winter wheat. *Molecular Breeding* 32:411-423.
- Komugi. 2011. http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp;sessionid=1CA5DE44F4C227079C2326DA1ACA904B.4_5.
- Kraan, G. & J.E. Nisi. 1993. Septoriosi del trigo en la República Argentina. Situación del cultivo frente a la enfermedad. In: Gilchrist, L. (ed.) Proceedings of the *Septoria tritici* Workshop. 20-24 Sept., CIMMYT, Mexico City, DF, Mexico. 1-8pp.
- Lagudah, E.S. 2011. Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. *Euphytica* 179:81-91.
- Lancashire, P.D. & D.G. Jones. 1985. Components of partial resistance to *Septoria nodorum* in winter wheat. *Annals of Applied Biology* 106:541-553.
- Landjeva, S., V. Korzun & A. Borner. 2007. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. *Euphytica* 156:271–296.
- Laurie, D.A. & M.D. Bennett. 1988. The production of haploid wheat plants from wheat x maize crosses. *Theoretical and Applied Genetics* 76:393-391.
- Lewontin, R.C. 1964. The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models. *Genetics* 49:49–67.
- Li, C.C. 1975. Path Analysis: A primer. In: Boxwood Press. Pacific Grove, CA, 347 p.
- Li, Y., G. Haseneyer, C. Schön, D. Ankerst, V. Korzun, P. Wilde & E. Bauer. 2011. High levels of nucleotide diversity and fast decline of linkage disequilibrium in rye (*Secale cereale* L.) genes involved in frost response. *BMC Plant Biology* 11:1-14.
- Liu, B. 1998. Statistical Genomics: Linkage, Mapping and QTL Analysis CRC Press, Boca Raton, 648 p.
- Liu, J.D., Z.H. He, L. Wu, B. Bai, W.E. Wen, C.J. Xie & X.C. Xia. 2015. Genome-wide linkage mapping of QTL for adult-plant resistance to stripe rust in a Chinese wheat population Linmai 2 × Zhong 892. *PLoS One* 10:e0145462.
- Lynch, M. & B. Walsh. 1998. Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 980 p.
- Maccaferri, M., M.C., Sanguineti, E. Noli, R. Tuberosa. 2005. Population structure and long-range linkage disequilibrium in a durum wheat elite collection. *Molecular Breeding* 15:271-289.
- Mago, R., L. Tabe., R.A. McIntosh, Z. Pretorius, R. Kota, E. Paux, T. Wicker, J. Breen, E.S. Lagudah, J.G. Ellis & Spielmeyer, W. 2011. A multiple resistance locus on chromosome arm 3BS in wheat confers resistance to stem rust (*Sr2*), leaf rust (*Lr27*) and powdery mildew. *Theoretical and Applied Genetics* 123:615–623.

- Mather, K. & J.L. Jinks. 1971. Biometrical genetics. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, 382 p.
- McCartney, C.A., A.L. Brulé Babel & L. Lamari. 2002. Inheritance of race-specific resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* 92:138-144.
- McCartney, C.A., A.L. Brulé-Babel, L. Lamari, D.J. Somers. 2003. Chromosomal location of a race specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6. *Theoretical and Applied Genetics* 107:1181–1186.
- McDonald, M.C., B.A. McDonald & P.S. Solomon. 2015. Recent advances in the *Zymoseptoria tritici*-wheat interaction: insights from pathogenomics. *Frontiers in Plant Science* 6:102
- Mcfadden, E.S. & E.R. Sears. 1946. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *Journal of Heredity* 37:81-89.
- McIntosh, R.A., C.R. Wellings & R.F. Park. 1995. Wheat Rusts, an Atlas of Resistance Genes. CSIRO, Melbourne, Australia, 200 p.
- McKendry, A.M., G.E. Henke & P.L. Finney. 1995. Effects of Septoria leaf blotch on soft red winter wheat milling and baking quality. *Cereal Chemistry* 72:142-146.
- Mergoum, M., P. Singh, S. Ali, E. Elias, J. Anderson, K. Glover & T. Adhikari. 2007. Reaction of elite wheat genotypes from the northern Great Plains of North America to Septoria diseases. *Plant Disease* 91:1310–1315.
- Miedaner, T., Y. Zha, M. Gowda, C.F.H. Longin, V. Korzun, E. Ebmeyer, E. Kazman, J.C. Reif. 2013. Genetic architecture of resistance to Septoria tritici blotch in European wheat. *BMC Genomics* 14: 858.
- Miedaner, T., P. Risser, S. Paillard, T. Schnurbusch, B. Keller, L. Hartl, J. Holzapfel, V. Korzun, E. Ebmeyer & H.F. Utz. 2012. Broad-spectrum resistance loci for three quantitatively inherited diseases in two winter wheat populations. *Molecular Breeding* 29:731-742.
- Miedaner, T.H. & V. Korzun. 2012. Marker-Assisted Selection for Disease Resistance in Wheat and Barley Breeding, *Phytopathology*, 102:560-566.
- Miralles, D.J. & G.A. Slafer. 2007. Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? *The Journal of Agricultural Science* 145:139–149.
- Mundt, C.C. 2014. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. *Infection, Genetics and Evolution* 27:446-455.
- Muthamilarasan, M. & M. Prasad. 2013. Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism. *Journal of Biosciences* 38:433–49.
- Nass, H.G. & H.W. Johnston. 1985. Evaluation of methods and criteria for identifying resistance to *Septoria nodorum* in spring wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 7:91-98.
- Nelson, R.R. 1978. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 16:359-378.
- Nelson, J., A. Deynze, M. Sorrells, E. Autrique, Y. Lu, S. Negre, M. Bernard & P. Leroy. 1995. Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 3. *Genome* 38:525-533.
- Neumann, K., B. Kobiljski, S. Dencic, R.K. Varshney, A. Borner. 2011. Genome-wide association mapping: a case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding* 27:37-58.
- Niks, R.E., P.R. Ellis & J.E. Parlevliet. 1993. Resistance to parasites. In Hayward, M.D., Bosemark, N.O., Romagosa, I. eds. *Plant breeding: principles and prospects*. London, Chapman & Hall, 422-447 pp.

- Palloix, A., V. Ayme, B. Moury. 2009. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytology* 183:190–199.
- Palmer, C.L. & W. Skinner. 2002. *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics. *Molecular Plant Pathology* 3:63-70.
- Parlevliet, J. E. & H. J. Kuiper. 1977. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. IV. Effect of cultivar and development stage on infection frequency. *Euphytica* 26:249-255.
- Parlevliet, J.E. 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* 17:203-222.
- Paterson, A.H., J.W. DeVerna, B. Lanini, S.D. Tanksley. 1990. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in an interspecies cross of tomato. *Genetics* 124:735–742.
- Perelló, A.E., C.A Cordo, H.O. Arriaga & H.E. Alippi. 1991. Variation in virulence of *Septoria tritici* Rob. ex Desm. Isolates in wheat. *Agronomie* 11:571-579.
- Pestsova, E., M.W. Ganal, M.S. Röder, 2000. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43:689-697.
- Poland, J.A., P.J. Brown, M.E. Sorrells & J.L. Jannink. 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE* 7(2):e32253.
- Ponomarenko, A., S.B. Goodwin & G.H.J. Kema. 2011. *Septoria tritici* blotch lesson. Plant Health Instructor. www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/Septoria.aspx.
- Pritchard, J.K., M. Stephens & P.J. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Pudake, R.N., M.M. Xin, Y.J. Yin, Z.F. Ni & Q.X. Sun. 2009. Cloning and Characterization of a Novel Wheat Glycoside Hydrolase Gene TaGlc2 Induced by Powdery Mildew Pathogen Infection. *Acta Agronomica Sinica* 35:786–794.
- Qi, D., B.J. Deyoung & R.W. Innes. 2012. Structure-function analysis of the coiled-coil and leucine-rich repeat domains of the RPS5 disease resistance protein. *Plant Physiology* 158:1819–3210.
- Qi, D. & R.W. Innes. 2013. Recent Advances in Plant NLR Structure, Function, Localization, and Signaling. *Frontiers in Immunology* 4:348.
- Quaedvlieg, W., G.H.J. Kema, J.Z. Groenewald, G.J.M. Verkley, S. Seifbarghi, M. Razavi, A. Mirzadi Gohari, R. Mehrabi & P.W. Crous. 2011. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* 25:57-69.
- Quarrie, S.A., D. Dodig, S. Pekic, J. Kirby & B. Kobiljski. 2003. Prospects for marker-assisted selection of improved drought responses in wheat. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* (special issue): 83-95.
- Rajaram, S. 1999. Historical aspects and future challenges of an international wheat program. In: M. van Ginkel, Mc Nab, A., Krupinsky J. (eds.), *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals. A compilation of global research*. CIMMYT, México, pp.1-17.
- Reynolds, M.P. & N.E. Borlaug. 2006. Impacts of breeding on international collaborative wheat improvement. *The Journal of Agricultural Science* 144:3–17.

- Risser, P., E. Ebmeyer, V. Korzun, L. Hartl & T. Miedaner. 2011. Quantitative trait loci for adult-plant resistance to *Mycosphaerella graminicola* in two winter wheat populations. *Phytopathology* 101: 1209-1216.
- Rosegrant, M.W. & M. Agcaoili. Global food demand, supply, and price prospects to 2010. Washington, DC: International Food Policy Research Institute; 2010.
- Rosielle, A.A. & A.G.P. Brown. 1979. Inheritance, heritability and breeding behaviour of three sources of resistance to *Septoria tritici* in wheat. *Euphytica* 28:285-392.
- Rudd, J.R., K. Kanuka, K. Hassani-Pak, M. Derbyshire, A. Andongabo, J. Devonshire, A. Lysenko, M. Saqu, N.M. Desai, S.J. Powers, J. Hooper, L. Ambroso, A. Bharti, A. Farmer, K.E. Hammond-Kosack, R.A. Dietrich & M. Courbot. 2015. Transcriptome and metabolite profiling the infection cycle of *Zymoseptoria tritici* on wheat reveals a biphasic interaction with plant immunity involving differential pathogen chromosomal contributions and a variation in the hemibiotrophic lifestyle definition. *Plant Physiology* 167:1158-1185.
- Salameh, A., M. Buerstmayr, B. Steiner, A. Neumayer, Lemmens, M. & H. Buerstmayr. 2010. Effects of introgression of two QTL for Fusarium head blight resistance from Asian spring wheat by marker assisted backcrossing into European winter wheat on Fusarium head blight resistance, yield and quality traits. *Molecular Breeding* 28:485-494.
- Sanderson, F. 1976. *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Sanderson comb. nov., the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. apud Desm. *New Zealand Journal of Botany* 14:359-360.
- Sears, E.R. 1954. The aneuploids of common wheat. *Missouri Agricultural Experiment Station Research bulletin* 572:1-58.
- Semagn, K., A. Bjornstad, H. Skinnes, A.G. Marøy, Y. Tarkegne, et al. 2006. Distribution of DArT, AFLP and SSR markers in a genetic linkage map of a double haploid hexaploid wheat population. *Genome* 49:545-555.
- Shaner, G. & R.E. Finney. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056.
- Shaw, M.W. & D.J. Royle. 1993. Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology* 42:882-899.
- Shaw, M.W. & D. Royle. 1989. Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infection in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology* 38:35-43.
- Shewry, P.R. & S.J. Hey. 2015. The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy* 178-202.
- Shewry, P.R. 2009. Wheat. *Journal of Experimental Botany* 60:1537-1553.
- Shi, Y., Y. Zhang & D.S. Shih. 2006. Cloning and expression analysis of two β -1,3-glucanase genes from strawberry. *Journal Plant Physiology* 163:956-967.
- Shipton, W.A., W.J.R. Boyd & A.A. Rosielle. 1971. The common *Septoria* diseases of wheat. *Botanical Review* 37:231-262.
- Simón, M.R., N.S. Castillo & C.A. Cordo. 2016. New sources of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat seedlings. *European Journal Plant Pathology* 146:625.
- Simón, M.R., A.E. Perelló, C.A. Cordo, S. Larrán, P. Van der Putten & P. C. Struik. 2005. Association between *septoria tritici* blotch, plant height, and heading date in wheat. *Agronomy Journal*, 97:1037-1278.

- Simón, M.R., F.M. Ayala, C.A. Cordo, M.S. Röder, A. Börner. 2004. Molecular mapping of quantitative trait loci determining resistance to septoria tritici blotch caused by *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Euphytica* 138:41-48.
- Simón, M.R. 2003. Genetic, environmental and cultural factors influencing the resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in wheat. PhD thesis Wageningen University, 137 p.
- Simón, M.R., A.E. Perelló, C.A. Cordo, P.C. Struik. 2002. Influence of septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) on yield, yield components and test weight of wheat under two nitrogen fertilization conditions. *Crop Science* 42:1974-1981.
- Simón, M.R. & Cordo, C.A. 1999. Diallel analysis of incubation and latent period of *Septoria tritici* at two growth stages of wheat. *Journal of Genetics and Breeding* 53:73-78.
- Simón, M.R. & C.A. Cordo. 1998. Diallel analysis of four resistance components to *Septoria tritici* in six crosses of wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 117:123-126.
- Simón, M.R. & C.A. Cordo. 1997. Inheritance of partial resistance to *Septoria tritici* in wheat (*Triticum aestivum* L.): Limitation of pycnidia number and spore production. *Agronomie* 17:343-347.
- Singh, R.P., D. P. Hodson, Y. Jin, E. S. Lagudah, M. A. Ayliffe, S. Bhavani, et al. 2015. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: continued threat to food security and prospects of genetic control. *Phytopathology* 105:872–884.
- Singh, R.K. & B.D. Chaudhary. 2000. *Biometrical Techniques in Quantitative Genetic Analysis*. Kalyain Publishers, Ludhiana, New Delhi, India, 303 p.
- Somasco, O.A., C.O. Qualset & D.G. Gilchrist. 1996. Single gene resistance to *Septoria tritici* blotch in the spring wheat cultivar "Tadinia". *Plant Breeding* 115:261-267.
- Somers, D., T. Banks, R. DePauw, S. Fox, J. Clarke, C. Pozniak & C. McCartney. 2007. Genome-wide linkage disequilibrium analysis in bread wheat and durum wheat. *Genome* 50:557–567.
- Sprague, R. 1950. *Diseases of cereals and grasses in North America*. Ronald Press Co, 588 p.
- Stuber, C.W., S.E. Lincoln, D.W. Wolff, T. Helentjaris & E.S. Lander. 1992. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132:823–839.
- Stukenbrock, E.H., T. Bataillon, J.Y. Duthiel, T.T. Hansen, R. Li, M. Zala, B.A. McDonald, J. Wang, & M.H. Schierup. 2011. The making of a new pathogen: insights from comparative population genomics of the domesticated wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* and its wild sister species. *Genome Research* 21:2157–2166.
- Stukenbrock, E.H., F. G. Jørgensen, M. Zala, T.T Hansen, B.A. McDonald, M.H. Schierup, & F.G. Jørgensen. 2010. Whole-genome and chromosome evolution associated with host adaptation and speciation of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. H.S. Malik, ed. *PLoS Genetic* 6:e1001189.
- Stukenbrock, E.H., S. Banke, M. Javan-Nikkhah & B.A. McDonald. 2007. Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation. *Molecular Biology and Evolution*. 24:398–411.
- Sukumaran, S. & J. Yu. 2014. Association mapping of genetic resources: achievements and future perspectives, in: Tuberosa R, Garner A, Frison E (eds) *Genomics of Plant Genetic Resources*, 207–235 pp.
- Tabib Ghaffary, S.M., J.D. Faris, T.L. Friesen, R.G.F. Visser, T.A.J. Van der Lee, O. Robert, G.H.J. Kema. 2012. New broad-spectrum resistance to *Septoria tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 124:125–142.

- Tabib Ghaffary, S.M. 2011. Efficacy and mapping of resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat. Doctoral Thesis Wageningen University, Wageningen, NL 233 p.
- Tabib Ghaffary, S.M., O. Robert, V. Laurent, P. Lonnet, E. Margale, T.A.J. Van der Lee, R.G.F. Visser & G.H.J. Kema. 2011. Genetic analysis of resistance to Septoria tritici blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache. *Theoretical and Applied Genetics* 123:741–754.
- Tadesse, W., F.C. Ogonnaya, A. Jighly, K. Nazari, S. Rajaram, M. Baum. 2014. Association mapping of quantitative resistance to stripe rust (*Puccinia tritici*) in winter wheat cultivars and elite genotypes targeted to the CWANA region. *Crop Science* 54:607–616.
- Takken, F.L.W. & A. Goverse. 2012. How to build a pathogen detector: structural basis of NB-LRR function. *Current Opinion in Plant Biology* 15:375–384.
- Tanksley, S.D., 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics* 27: 205–233.
- Tao, Y., Z. Xie, W. Chen, J. Glazebrook, H.S. Chang, B. Han, T. Zhu, G. Zou & F. Katagiri. 2003. Quantitative nature of Arabidopsis responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell* 15:317–330.
- Thomas, J.A., J.L. Allen, M. Tsen, T. Dubnicoff, J. Danao, X.C. Liao, Z. Cao, S.A. Wasserman. 1999. Impaired cytokine signaling in mice lacking the IL-1 receptor-associated kinase. *Journal of Immunology* 163:978–985.
- Thornsberry, J.M., M.M. Goodman, J. Doebley, S. Kresovich, D. Nielsen & E.S. Buckler. 2001. Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nature Genetic* 28:286–289.
- Tommasini, L., T. Schnurbusch, D. Fossati, F. Mascher & B. Keller. 2007. Association mapping of Stagonospora nodorum blotch resistance in modern European winter wheat varieties. *Theoretical and Applied Genetics* 115:697–708.
- Torriani, S.F., P.C. Brunner, B.A. McDonald & H. Sierotzki 2009. QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 65:155–162.
- Uauy, C., A. Distelfeld, T. Fahima, A. Blechl & J. Dubcovsky. 2006. ANAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc and iron content in wheat. *Science* 314:1298–1301.
- Van Beuningen, L.T. & M.M. Kohli. 1990. Deviation from the regression of infection on heading and height as a measure of resistance to septoria tritici blotch in wheat. *Plant Disease* 74:488–493.
- Van Ginkel, M., A.L. Scharen. 1987. Generation mean analysis and heritabilities of resistance to *Septoria tritici* in durum Wheat. *Phytopathology* 77:1629–1633.
- Vanzetti, L.S., N. Yerkovich, E. Chialvo, L. Lombardo, L. Vaschetto & M. Helguera. 2013. Genetic structure of argentinean hexaploid wheat germplasm. *Genetics and Molecular Biology* 36:391–399.
- Wanjugi, H.; D. Coleman-Derr, N. Huo, O. Anderson & Y.Q. Gu. 2009. Rapid development of PCR-based genome-specific repetitive DNA junction markers in wheat. *Genome* 52:576–587.
- Weir, B.S., 1996. Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data. Sinecure Associates Inc., Sunderland, 445 p.
- Wenzl, P., J. Carling, D. Kudrna, D. Jaccoud, E. Huttner, A. Kleinjohs & A. Kilian. 2004. Diversity arrays technology (DART) for whole-genome profiling of barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101:9915–9920.

- Wheat initiative. 2015. Disponible en http://www.wheatinitiative.org/sites/default/files/attached_file/wheatinitiative_visiondocument.pdf. Ultimo acceso junio 2016.
- Whitt, S.R. & Buckler, E.S. 2003. Using natural allelic diversity to evaluate gene function. *Methods in Molecular Biology* 236: 123-139.
- Wicker, T., K.F.X. Mayer, H. Gundlach, M. Martis, B. Steuermagel, et al. 2011. Frequent gene movement and pseudogene evolution is common to the large and complex genomes of wheat, barley, and their relatives. *Plant Cell* 23:1706–1719.
- Wilkinson, C. A., J. P. Murphy & R. C. Rufty. 1990. Diallel analysis of components of partial resistance to *Septoria nodorum* in wheat. *Plant Disease* 74:47-50.
- Wirsel S., B. Horwitz, K. Yamagushi, O.C. Yoder, B.G. Turgeon. 1998. Single mating type-specific genes and their 3' UTRs control mating and fertility in *Cochliobolus heterostrophus*. *Molecular and General Genetics* 259:272-281.
- Witcombe, J.R. & D.S. Virk. 2001. Number of crosses and population size for participatory and classical plant breeding. *Euphytica* 122:451–462.
- Wittenberg, A.H.J., T.A.J. Van der Lee, S. Ben M'barek, S. B. Ware, S. B. Goodwin, A. Kilian, R.G.F. Visser, G. H. J. Kema & H.J. Schouten. 2009. Meiosis drives extraordinary genome plasticity in the haploid fungal plant pathogen *Mycosphaerella graminicola*. J.E. Stajich, ed. *PLoS One*. 4:e5863.
- Naruoka, Y., K.A. Garland-Campbell & A.H. Carter. 2015. Genome-wide association mapping for stripe rust (*Puccinia striiformis* F. sp. *tritici*) in US Pacific Northwest winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 128:1083-101.
- Yu, J. & Buckler, E.S. 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinion in Biotechnology* 17:155–160.
- Yu, J., G. Pressoir, W.H. Briggs, I. Vroh Bi, M. Yamasaki, J.F. Doebley, M.D. McMullen, B.S. Gaut, D.M. Nielsen, J.B. Holland, et al. 2006. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics* 38:203-208.
- Zadoks, J.C., T.T. Chang & C.F. Konzak. 1974. A decimal code for the growth stage of cereals. *Weed Research* 14:415–421.
- Zegeye, H., A. Rasheed, F. Makdis, A. Badebo & F.C. Ogbonnaya. 2014. Genome-Wide Association Mapping for Seedling and Adult Plant Resistance to Stripe Rust in Synthetic Hexaploid Wheat. *PLoS ONE* 9(8): e105593.
- Zhang, D., G. Bai, C. Zhu, J. Yu & Carver B. 2010. Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in U.S. elite winter wheat. *The Plant Genome* 3:117-127.
- Zhang, X., S.D. Haley & Y. Jin. 2001. Inheritance of septoria tritici blotch resistance in winter wheat. *Crop Science*. 41:323-326.
- Zhu, C., M. Gore, E. Buckler & J. Yu. 2008. Status and prospects of association mapping in plants. *The Plant Genome* 1:5-20.
- Zwart, R.S., J.P. Thompson, A.W. Milgate, U.K. Bansal, P.M. Williamson, H. Raman & H.S. Bariana. 2010. QTL mapping of multiple foliar disease and root-lesion nematode resistances in wheat. *Molecular Breeding* 26:107-124.

Anexo

Tabla 1. Asociaciones marcador-carácter para resistencia a *Z. tritici* en estado de plántula expresada como Porcentaje de Necrosis (N) y Cobertura Picnidial (CP) frente a FALP0112 y FALP0212 en un panel de 96 genotipos de trigo.

Carácter	Marcador	Crom ^a	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Postulación	Referencia	
				P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²			
Porcentaje de Necrosis	FALP0112	wPt4765	1AS	6,3	4,9E-03	7,5E-03	0,0864	7,2E-03	1,1E-02	0,0789	Nuevo	-----
		wPt7030	1AS	23,6	6,0E-03	1,0E-02	0,0806	3,9E-03	6,7E-03	0,0890	Nuevo	-----
		wPt0694	2BL	94,3	6,4E-03	1,2E-02	0,0787	5,6E-02	4,7E-02	0,0396	Nuevo	-----
		wPt6854	3AL	11,7	1,2E-02	3,4E-02	0,0672	1,4E-02	3,9E-02	0,0640	Nuevo	-----
		wPt7341	3BS	17,1	1,7E-02	4,9E-02	0,064	4,5E-02	4,9E-02	0,0460	Nuevo	-----
		wPt8855	3BS	17,1	1,3E-02	3,1E-02	0,0648	4,6E-02	4,1E-02	0,0424	Nuevo	-----
	wPt2748	3BS	44,0	1,3E-02	3,1E-02	0,0648	4,6E-02	4,1E-02	0,0424	Stb14	Cowling (2006)	
	wPt6116	6BL	171,4	3,7E-02	4,2E-02	0,0493	1,9E-03	5,2E-03	0,1070	Nuevo	-----	
	FALP0212	wPt8168	1BL	44,7	2,4E-02	2,4E-02	0,0542	2,2E-02	2,2E-02	0,0579	Nuevo	-----
		wPt6240	1BL	45,6	1,9E-03	1,9E-03	0,0972	1,9E-02	4,3E-02	0,0589	Nuevo	-----
		wPt7306	2AS	59,6	3,7E-03	5,0E-03	0,0895	2,2E-02	4,1E-02	0,0593	Nuevo	-----
		wPt4144	2DS	5,3	4,6E-02	4,9E-02	0,0422	6,6E-03	1,8E-02	0,0797	Nuevo	-----
wPt8650		4BS/7AS	7,8/67,7	2,2E-02	4,2E-02	0,0337	2,1E-02	3,2E-02	0,0649	Nuevo	-----	
wPt3924		5AS	62,6	3,0E-03	3,0E-03	0,0855	4,2E-02	7,4E-02	0,0428	Stb17	Ghaffary <i>et al.</i> (2012)	
Cobertura picnidial	FALP0112	wPt8455	1AS	27,1	2,7E-03	4,8E-03	0,1010	4,2E-04	6,9E-03	0,1370	Nuevo	-----
		wPt4029	1AS	28,8	1,2E-03	2,6E-03	0,1060	3,6E-04	9,4E-03	0,1280	Nuevo	-----
		wPt8267	1BS	11,6	4,0E-03	1,6E-02	0,0883	2,9E-02	4,2E-02	0,0518	Stb11;	Chartrain <i>et al.</i> (2005); Liu <i>et al.</i> (2013)
		wPt7094	1BS	12,0	1,6E-02	3,4E-02	0,0622	2,3E-02	3,9E-02	0,0559	Stb2	
		wPt8168	1BL	44,7	1,5E-02	3,1E-02	0,0660	3,1E-05	6,6E-03	0,1810	Nuevo	-----
		wPt2106	2BS	22,8	1,7E-02	5,9E-02	0,0638	5,7E-03	2,5E-02	0,0838	Nuevo	-----
		wPt0049	2BL	116,0	4,1E-02	5,0E-02	0,0457	2,6E-02	2,1E-02	0,0542	Stb9	Chartrain <i>et al.</i> (2009)
		wPt8650	4BS/7AS	7,8/67,7	3,3E-03	7,5E-03	0,0923	2,0E-02	3,6E-02	0,0589	Nuevo	-----
		wPt3457	5BL	92,3	5,2E-03	1,6E-02	0,0829	4,1E-03	1,1E-02	0,0871	Nuevo	-----
		wPt7763	7AL	222,6	8,1E-03	2,9E-02	0,0740	1,5E-03	3,9E-02	0,1040	Nuevo	-----
FALP0212	wPt8455	1AS	27,1	5,9E-04	4,3E-03	0,1300	3,1E-03	1,1E-02	0,0959	Nuevo	-----	
	wPt4029	1AS	28,8	1,3E-03	6,7E-03	0,1040	2,3E-03	1,0E-02	0,0925	Nuevo	-----	
	wPt8267	1BS	11,6	3,1E-02	4,9E-02	0,0503	1,1E-02	3,3E-02	0,0669	Nuevo	-----	
	wPt8168	1BL	44,7	1,6E-04	1,2E-03	0,1480	5,0E-03	2,7E-02	0,0845	Nuevo	-----	
	wPt3451	1BL	45,6	2,7E-02	4,7E-02	0,0513	4,5E-03	1,4E-02	0,0815	Nuevo	-----	
	wPt6240	1BL	45,6	7,6E-04	4,0E-03	0,1190	2,6E-02	4,2E-02	0,0525	Nuevo	-----	
	wPt2757	3DS	6,0	8,3E-04	3,3E-03	0,1150	1,2E-02	3,1E-02	0,0651	Nuevo	-----	
	wPt7062	4BL	109,9	7,3E-03	2,2E-02	0,0743	4,5E-02	4,9E-02	0,0416	Nuevo	-----	
	wPt8650	4BS/7AS	7,8/67,7	4,5E-02	4,7E-02	0,0436	5,1E-03	2,1E-02	0,0822	Nuevo	-----	
	wPt0832	6AS	3,9	1,9E-03	1,3E-02	0,1010	2,0E-02	3,7E-02	0,0575	Stb15	Arraiano <i>et al.</i> (2007)	
	wPt7599	6AL/6BS	56,5/7,2	1,1E-04	6,5E-04	0,1540	1,5E-02	2,7E-02	0,0637	Nuevo	-----	
	wPt3883	7AS	88,8	4,8E-03	2,1E-02	0,0840	2,8E-02	4,2E-02	0,0511	Nuevo	-----	
	wPt7734	7AS	89,6	4,8E-03	2,2E-02	0,0831	1,7E-02	3,6E-02	0,0594	Nuevo	-----	
wPt4555	7DS	97,1	6,9E-04	2,6E-03	0,1150	7,5E-03	2,3E-02	0,0726	Nuevo	-----		

^a Crom: Cromosoma

Tabla 2. Asociaciones marcador-carácter para resistencia a *Z. tritici* en planta adulta expresada como Porcentaje de Necrosis (N) y Cobertura Picnidial (CP) frente a FALP0112 y FALP0212 en un panel de 96 genotipos de trigo.

Carácter	Marcador	Croma	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 3			Región similar a	Referencia	
				P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2			
Porcentaje de Necrosis	FALP0112	wPt0003	2AS	6,1	ns	4,9E-02	0,0237	1,5E-02	6,2E-04	0,0644	1,1E-02	5,3E-03	0,0678		
		wPt0615	2BS	69,7	ns	ns	0,0056	2,0E-02	1,1E-02	0,0568	3,9E-02	2,7E-02	0,0431		
		wPt0714	3AL	18,5	8,0E-03	3,6E-02	0,0750	ns	ns	0,0258	5,9E-03	1,2E-02	0,0786	Stb6	Brading <i>et al.</i> (2002)
		wPt9432	3BS	44,0	2,9E-02	1,9E-02	0,0513	ns	ns	0,0071	6,1E-03	1,1E-02	0,0773	Stb14	Cowling (2006)
		wPt9510	3BS	44,4	3,2E-02	3,9E-02	0,0497	ns	ns	0,0043	8,6E-03	2,4E-02	0,0714		
		wPt1400	5DS	0	ns	ns	0,0302	5,5E-03	6,3E-03	0,0843	8,3E-03	4,0E-03	0,0732		
		wPt2856	5DS	17,6	1,2E-02	4,4E-02	0,0660	ns	ns	0,0003	1,1E-02	2,3E-02	0,0648		
		wPt3524	6AS	25,7	1,2E-04	2,0E-02	0,1542	ns	ns	0,0027	3,5E-03	4,3E-02	0,0896		
		wPt7027	6AS	26,7	7,7E-05	1,2E-02	0,1691	ns	ns	0,0120	8,7E-04	3,7E-03	0,1162		
		wPt0689	6AS/7AL	25/225	6,0E-05	1,5E-02	0,1601	ns	ns	0,0027	1,6E-03	2,3E-02	0,0991		
		wPt3376	6BS	60	8,5E-03	3,2E-02	0,0714	1,8E-02	5,0E-02	0,0585	4,2E-02	5,0E-02	0,0421		
		wPt6034	7AS	57,8	1,6E-03	4,3E-03	0,1038	1,0E-03	3,6E-03	0,1133	1,2E-02	1,2E-02	0,0659	Stb3	Goodwin & Thompson (2011)
wPt7653	7BS	45,9	3,8E-02	3,4E-02	0,0476	4,2E-02	3,8E-02	0,0461	5,2E-04	1,9E-03	0,1243				
Porcentaje de Necrosis	FALP0212	wPt0003	2AS	6,1	ns	ns	0,0006	4,1E-02	1,2E-03	0,0461	3,1E-02	2,6E-03	0,0494		
		wPt0950	2BS	31,3	4,7E-02	5,0E-02	0,0425	3,3E-03	4,0E-02	0,0917	ns	4,0E-02	0,0374		
		wPt0615	2BS	63,7	ns	ns	0,0367	9,9E-03	5,5E-03	0,0691	6,1E-03	2,7E-03	0,0756		
		wPt0714	3AS	18,5	1,5E-02	1,5E-02	0,0630	2,9E-02	ns	0,0516	3,4E-02	ns	0,0479	Stb6	Brading <i>et al.</i> (2002)
		wPt4725	3AS	21,0	3,5E-03	3,6E-03	0,0897	3,5E-02	4,2E-03	0,0484	1,6E-02	1,1E-02	0,0596		
		wPt8479	4AS	56,8	1,0E-02	7,7E-03	0,0706	2,6E-02	3,9E-02	0,0542	ns	ns	0,0359		
wPt1853	7BS	30,6	ns	ns	0,0191	1,5E-03	2,4E-02	0,1085	1,2E-02	3,6E-02	0,0680				
Cobertura picnidial	FALP0112	wPt8168	1BL	44,7	3,1E-03	1,0E-02	0,0782	3,2E-03	3,2E-03	0,0837	ns	ns	0,0119		
		wPt9380	1DS	49,2	9,8E-03	4,0E-02	0,0598	3,4E-04	3,4E-04	0,1166	ns	ns	0,0000	Stb10	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
		wPt5503	1DS	49,8	1,7E-03	4,0E-03	0,0851	1,7E-03	1,7E-03	0,0896	ns	ns	0,0001		
		wPt6003	2DS	4,5	1,5E-02	2,5E-02	0,0528	ns	ns	0,0119	3,0E-02	3,8E-02	0,0520		
		wPt4229	6AL	135,9	ns	ns	0,0141	2,3E-02	2,3E-02	0,0642	3,4E-02	3,2E-02	0,0419		
	FALP0212	wPt7094	1BS	11,9	1,1E-02	4,6E-02	0,0559	2,3E-02	2,3E-02	0,0480	ns	ns	0,0015	Stb11; Stb2	Chartrain <i>et al.</i> (2005); Liu <i>et al.</i> (2013)
		wPt0413	1DS	49,2	1,4E-02	4,3E-02	0,0529	9,0E-03	9,0E-03	0,0656	ns	ns	0,0011	Stb10	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
		wPt4916	2BS	17,7	4,4E-03	1,9E-02	0,0734	3,8E-02	3,8E-02	0,0418	ns	ns	0,0066		
		wPt7062	4BL	109,9	2,8E-02	2,4E-02	0,0422	3,4E-02	4,1E-02	0,0424	ns	ns	0,0080		
		wPt3965	6AS	37,8	6,1E-03	2,4E-02	0,0656	6,8E-03	6,8E-03	0,0707	2,1E-02	6,0E-03	0,0593		
wPt7623	6AS	38,0	ns	ns	0,0318	2,3E-02	2,3E-02	0,052	1,7E-02	3,1E-03	0,0640				
wPt3572	7AS	74,5	1,7E-02	ns	0,0513	1,3E-02	1,5E-02	0,0596	4,6E-02	4,0E-02	0,0436				
wPt3883	7AS	88,8	3,1E-03	1,2E-02	0,0767	2,1E-02	2,1E-02	0,0517	4,5E-01	4,3E-01	0,0064				
wPt7734	7AS	89,6	2,3E-03	1,2E-02	0,0811	1,5E-02	1,5E-02	0,0568	ns	ns	0,0094				
wPt8920	7BS	12,4	3,2E-02	1,5E-02	0,0404	4,2E-02	5,0E-02	0,0395	1,9E-02	2,4E-03	0,0587				

^aCrom: Cromosoma. ns: no significativo $P=0,05$.

Tabla 3. Asociaciones marcador-carácter para resistencia a *Z. tritici* expresada como ABCPE del Porcentaje de Necrosis (N) y Cobertura Picnidial (CP) frente a FALP0112 y FALP0212 en un panel de 96 genotipos de trigo.

Carácter	Marcador	Crom ^a	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Región similar a	Referencia	
				P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²			
Porcentaje de Necrosis	FALP0112	wPt0003	2AS	6,1	3,2E-02	3,9E-02	0,0331	2,0E-02	2,6E-03	0,0589		
		wPt5672	2BS	66,8	3,4E-02	4,4E-02	0,0320	2,1E-02	3,3E-02	0,0568		
		wPt5556	2BS	68,3	2,9E-02	3,1E-02	0,0355	1,7E-02	2,8E-02	0,0617		
		wPt4125	2BS	69,5	3,2E-02	4,4E-02	0,0320	2,1E-02	3,3E-02	0,0568		
		wPt7757	2BS	69,8	3,5E-02	4,0E-02	0,0336	1,8E-02	2,8E-02	0,0587		
		wPt7360	2BL	113,6	6,5E-04	3,1E-02	0,1173	2,4E-02	4,0E-02	0,0537	Stb9	Chartrain <i>et al.</i> (2009)
		wPt9432	3BS	44,0	1,6E-02	2,5E-02	0,0615	3,3E-02	4,6E-02	0,0405	Stb14	Cowling (2006)
		wPt9510	3BS	44,4	1,4E-02	3,0E-02	0,0644	3,9E-02	4,8E-02	0,0388		
		wPt3921	3BL	74,9	6,5E-03	3,9E-02	0,0803	1,8E-02	4,1E-02	0,0622		
		wPt6209	4BL	110,5	1,3E-03	1,5E-02	0,1126	2,9E-02	4,6E-02	0,0544		
		wPt1400	5DS	0	3,2E-02	2,4E-02	0,0502	3,0E-03	1,1E-03	0,0946		
		wPt7063	6AL	77,7	2,5E-04	5,3E-02	0,1431	5,3E-04	4,3E-03	0,1301		
		wPt3376	6BS	60	2,2E-02	4,8E-02	0,0540	2,4E-03	8,8E-03	0,0943		
		wPt1241	6BS	62,7	1,1E-02	4,2E-02	0,0684	1,3E-02	4,2E-02	0,0650		
		wPt6034	7AS	57,8	2,8E-02	4,2E-02	0,0515	9,5E-03	2,4E-02	0,0716	Stb3	Goodwin &Thompson (2011)
wPt1853	7BS	30,6	1,2E-02	3,8E-02	0,0689	7,4E-04	5,6E-03	0,1203				
Porcentaje de Necrosis	FALP0212	wPt4725	3AL	21,0	8,1E-03	1,5E-02	0,0754	1,6E-02	1,9E-02	0,0625	Stb6	Brading <i>et al.</i> (2002)
		wPt8479	4AS	58,8	3,2E-02	3,5E-02	0,0505	4,4E-02	4,7E-02	0,0448		
		wPt7063	6AL	77,7	6,8E-04	2,5E-02	0,1263	4,1E-03	5,0E-02	0,0919		
		wPt3304	6BS	41,4	1,1E-02	1,1E-02	0,0674	4,6E-02	3,4E-02	0,0312		
		wPt1852	6BS	41,9	1,1E-02	8,2E-03	0,0709	1,8E-02	2,3E-02	0,0340		
		wPt5257	7AS	59,9	2,4E-03	3,1E-02	0,1010	2,7E-02	4,3E-02	0,0549		
		wPt1853	7BS	30,6	2,2E-02	4,0E-02	0,0585	8,8E-03	3,8E-02	0,0749		
		wPt7653	7BS	45,9	9,7E-03	9,4E-03	0,0735	1,8E-03	8,7E-03	0,1055		
		wPt5816	7BL	137,9	4,1E-02	3,0E-02	0,0454	4,5E-02	1,8E-02	0,0438		
Cobertura picnidial	FALP0112	wPt4029	1AL	28,7	4,5E-02	4,7E-02	0,0365	9,0E-03	1,2E-02	0,0621		
		wPt8168	1BL	44,7	2,8E-03	6,4E-03	0,0830	1,6E-03	1,6E-03	0,0955		
		wPt5503	1DS	49,8	3,0E-03	1,3E-02	0,0787	1,4E-03	1,4E-03	0,0925	Stb10	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
		wPt3883	7AS	88,8	2,4E-03	5,0E-03	0,0840	4,3E-02	5,0E-02	0,0393		
		wPt7734	7AS	89,6	1,1E-03	3,0E-03	0,0975	3,4E-02	4,5E-02	0,0429		
Cobertura picnidial	FALP0212	wPt7094	1BS	11,9	1,4E-02	4,1E-02	0,0522	3,8E-02	3,8E-02	0,0403	Stb11; Stb2	Chartrain <i>et al.</i> (2005); Liu <i>et al.</i> (2013)
		wPt0413	1DS	49,2	9,8E-03	3,5E-02	0,0584	1,7E-02	1,7E-02	0,0549		
		wPt9380	1DS	49,2	1,1E-02	4,0E-02	0,0580	3,4E-03	3,4E-03	0,0809	Stb10	Chartrain <i>et al.</i> (2005)
		wPt5503	1DS	49,8	3,7E-03	2,5E-02	0,0716	1,5E-02	1,5E-02	0,0549		
		wPt4201	2AS	60,4	4,0E-02	5,0E-02	0,0323	3,0E-02	3,7E-02	0,0472		
		wPt7062	4BL	109,9	1,9E-02	2,0E-02	0,0474	3,7E-02	4,1E-02	0,0414		
		wPt3965	6AS	37,8	8,3E-03	4,6E-02	0,0611	7,0E-03	7,0E-03	0,0703		
		wPt3572	7AS	74,5	1,2E-02	4,6E-02	0,0561	1,5E-02	1,8E-02	0,0574		
		wPt3883	7AS	88,8	2,2E-03	7,2E-03	0,0810	3,1E-02	3,1E-02	0,0456		
		wPt7734	7AS	89,6	1,7E-03	8,6E-03	0,0846	2,2E-02	2,2E-02	0,0507		
		wPt8920	7BS	12,4	4,6E-02	2,9E-02	0,0296	2,3E-02	2,6E-02	0,0493		

^a Crom: Cromosoma.

Tabla 4. Asociaciones marcador-carácter significativas para resistencia a *P. triticina* y *F. graminearum* en un panel de 96 genotipos de trigo.

C ^a	Marcador	Crom ^b	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 3			Región similar a	Referencia
				P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2		
Roya de la Hoja	wPt9809	1BL	71,1	8,3E-03	9,6E-03	0,0870	1,7E-02	4,2E-02	0,0780	4,9E-02	4,9E-02	0,0460	Nuevo	-----
	wPt0413	1DS	49,2	7,8E-03	6,7E-03	0,0915	4,6E-03	1,2E-02	0,1145	ns	ns	-----	Nuevo	-----
	wPt3114	2AS	68,3	2,4E-02	2,5E-02	0,0645	3,1E-03	8,9E-03	0,1090	1,3E-02	1,5E-02	0,0765	Lr45	McIntosh & Friebe (1995)
	wPt8460	2BL	92,8	1,1E-02	1,2E-02	0,0785	2,5E-03	2,5E-03	0,1145	7,0E-03	6,9E-03	0,0930	Lr50; Lr58	Brown-Guedira <i>et al.</i> (2003); Marais <i>et al.</i> (2007)
	wPt0330	2DS	8	3,6E-03	3,8E-03	0,1000	3,7E-02	3,0E-02	0,0640	1,4E-02	1,1E-02	0,0785	Lr39; Lr22	Friebe <i>et al.</i> (1992); Dyck (1979)
	wPt7212	3BS	23,2	1,1E-02	1,1E-02	0,0880	ns	ns	-----	6,2E-03	8,0E-03	0,0890	Lr27/Sr2	Singh & McIntosh (1984)
	wPt7502	3BL	57,4	5,5E-04	5,5E-04	0,1295	7,5E-04	1,3E-03	0,1355	3,4E-02	5,0E-02	0,0580	Nuevo	-----
	wPt7280	4AL	142,9	1,3E-02	1,3E-02	0,0770	1,9E-02	1,6E-02	0,0800	ns	ns	-----	Lr28/Sr7	McIntosh (1982)
	wPt9467	5B/7B	77/50	8,0E-03	5,4E-03	0,0780	3,7E-02	8,8E-03	0,0620	1,9E-02	7,2E-03	0,0655	Nuevo	-----
	wPt8833	6A/6B	56,5/5,2	7,5E-03	7,5E-03	0,0780	8,1E-03	8,1E-03	0,0860	4,2E-02	4,2E-02	0,0540	Nuevo	-----
	wPt6282	6BS	41,4	1,2E-02	1,2E-02	0,0770	2,8E-03	8,5E-03	0,1140	ns	ns	-----	Nuevo	-----
	wPt3116	6BS	41,4	9,4E-03	9,4E-03	0,0800	8,9E-03	2,1E-02	0,0905	ns	ns	-----	Nuevo	-----
	wPt2175	6BS	64,9	3,0E-02	3,0E-02	0,0520	1,3E-02	1,6E-02	0,0820	4,0E-02	3,5E-02	0,0510	Lr36; Lr53	Dvorak & Knott (1990); Marais <i>et al.</i> (2005)
	wPt2565	7DS	1,3	1,1E-02	1,1E-02	0,0730	ns	ns	-----	1,8E-02	2,6E-02	0,0765	Nuevo	-----
Fusariosis de la Espiga	wPt6117	1BS	32,3	3,9E-03	1,1E-02	0,0885	1,8E-03	1,1E-02	0,1131	5,8E-03	2,2E-02	0,0831	GluB1; F201R	Buerstmayr <i>et al.</i> (2002), Shen <i>et al.</i> (2003)
	wPt6833	1BS	32,3	3,4E-03	8,7E-03	0,0683	1,5E-03	8,0E-03	0,1217	4,4E-03	1,5E-02	0,0891		
	wPt8682	1BS	31,7	2,5E-03	3,7E-02	0,0966	3,3E-04	2,5E-02	0,1368	3,6E-03	2,9E-02	0,1079		
	wPt3114	2AS	68,3	7,8E-03	9,3E-03	0,0801	5,2E-03	1,2E-02	0,0697	5,4E-03	7,9E-03	0,0730	Nuevo	-----
	wPt7306	2AS	59,6	1,0E-02	1,7E-02	0,0832	1,2E-02	2,1E-02	0,0763	2,1E-02	2,8E-02	0,0791	Ning 7840; Wangshuibai	Zhou <i>et al.</i> (2002); Ma <i>et al.</i> (2006)
	wPt6973	3BL	54,2	8,5E-03	2,2E-02	0,0763	3,7E-03	2,9E-02	0,0945	7,4E-03	2,9E-02	0,0905		
	wPt1179	5BL	160,5	ns	ns	-----	2,7E-03	2,3E-02	0,0942	2,0E-03	1,5E-02	0,1075	Nuevo	-----
	wPt1951	5BL	76,1	ns	ns	-----	1,6E-02	1,3E-02	0,0644	2,0E-02	2,8E-02	0,0745	Wangshuibai	Jia <i>et al.</i> (2005)
	wPt9690	6AL/6BS	51,9/0,0	1,8E-02	3,3E-02	0,0607	2,3E-02	2,4E-02	0,0592	2,6E-02	2,9E-02	0,0713		
	wPt2573	6AL/6BS	52,8/1,2	2,6E-02	4,7E-02	0,0532	2,8E-02	2,8E-02	0,0543	2,8E-02	2,8E-02	0,0650		
	wPt1325	6BL	129,0	2,4E-02	8,8E-03	0,0551	3,4E-02	6,4E-03	0,0483	1,2E-02	5,2E-03	0,0917	Wangshuibai	Lin <i>et al.</i> (2004)
	wPt1541	6BL	180,9	4,4E-05	1,2E-03	0,1739	3,5E-06	5,9E-04	0,2155	2,2E-05	5,1E-04	0,1907	Nuevo	-----
	wPt3572	7AS	74,5	1,7E-02	2,8E-02	0,0637	3,7E-02	3,3E-02	0,0496	3,6E-02	3,6E-02	0,0530	Nuevo	-----
	wPt1553	7BL	91,3	1,0E-02	3,1E-02	0,0602	5,5E-03	2,3E-02	0,0831	5,4E-03	2,3E-02	0,0910	Nuevo	-----
wPt5069	7BL	144,7	ns	ns	-----	1,7E-03	4,0E-02	0,1065	1,2E-03	1,4E-02	0,1172	Goldfield; DH181	Gilsinger <i>et al.</i> (2005); Yang <i>et al.</i> (2005)	
wPt6320	7BL	137,9	ns	ns	-----	1,9E-03	4,3E-02	0,1024	1,4E-03	1,8E-02	0,1152			

^aC: Carácter; ^bcrom: Cromosoma. ns: no significativo $P=0,05$.

Tabla 5. Asociaciones marcador-carácter significativas para caracteres asociados con el desarrollo del cultivo en un panel de 96 genotipos de trigo.

C ^a	Marcador	Crom ^b	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 3			Región similar a	Referencia
				P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2	P (Q)	P (Q+K)	R2		
AP-AT-AHB	wPt8168	1BL	44,7	1,8E-02	4,0E-02	0,0625	4,2E-02	4,5E-02	0,0397	1,3E-02	2,7E-02	0,0695	wPt8168	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt0408	2BS	68,3	6,4E-03	3,0E-03	0,0798	7,5E-04	2,0E-04	0,1181	6,4E-03	2,0E-03	0,0855	<i>QHt.inra-2B</i> ; wPt0408	Neumann <i>et al.</i> (2011); Gervais <i>et al.</i> (2003).
	wPt4125	2BS	69,5	8,2E-03	2,1E-02	0,0751	7,5E-03	3,0E-02	0,065	8,6E-03	3,2E-02	0,0707		
	wPt5556	2BS	68,3	4,7E-03	2,4E-02	0,0886	3,4E-03	3,2E-02	0,0789	5,5E-03	3,3E-02	0,0804		
	wPt5672	2BS	66,8	8,2E-03	2,1E-02	0,0751	7,5E-03	3,0E-02	0,065	8,6E-03	3,2E-02	0,0707		
	wPt7757	2BS	69,8	7,6E-03	2,0E-02	0,0758	7,0E-03	2,8E-02	0,0651	7,8E-03	3,0E-02	0,0713		
	wPt4077	3AL	20,2	6,4E-03	3,6E-02	0,0861	8,3E-04	4,6E-03	0,1258	1,9E-03	2,7E-02	0,0999		
	wPt1688	3AL	41,9	2,5E-04	9,0E-04	0,1372	7,0E-04	1,8E-03	0,128	1,1E-03	5,0E-03	0,1229	wPt1688	Riser <i>et al.</i> 2011
	wPt2151	4AL	183,6	3,0E-04	1,1E-03	0,147	1,8E-03	8,2E-03	0,112	1,8E-03	1,4E-02	0,1139	<i>QHt.inra-4A</i> ; wPt2151	Neumann <i>et al.</i> (2011); Gervais <i>et al.</i> (2003).
	wPt0959	6AL/6BS	57/14	5,8E-03	2,4E-02	0,0828	ns	ns	ns	1,3E-03	2,0E-02	0,1129		
wPt0433	7AL	129,3	1,0E-04	1,4E-02	0,161	5,0E-05	3,2E-03	0,1745	2,0E-04	9,2E-03	0,1488			
DAE-DAA	wPt5374	1A/2B	2/52	ns	ns	ns	0,0010	1,9E-02	0,1119	2,0E-03	3,1E-02	0,1017		
	wPt1328	1BS	11,6	3,0E-02	1,5E-02	0,0508	2,0E-02	1,5E-02	0,0574	ns	ns	ns		
	wPt6240	1BL	45,5	5,0E-05	1,3E-02	0,1677	1,0E-04	1,1E-02	0,1622	4,0E-04	1,6E-02	0,1348	<i>Eps</i>	Tóth <i>et al.</i> (2003); Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt0335	2BS	75,9	1,0E-03	1,3E-02	0,1211	3,1E-03	2,0E-02	0,0971	4,4E-03	2,6E-02	0,0916		
	wPt9736	2BL	95,7	3,1E-02	2,5E-02	0,0506	4,2E-02	1,8E-02	0,045	1,4E-02	1,4E-02	0,0637		
	wPt9432	3BS	44	1,3E-02	3,9E-02	0,0705	3,0E-03	8,4E-03	0,097	7,5E-03	2,9E-02	0,0773		
	wPt9510	3BS	44,4	9,1E-03	4,0E-02	0,0771	1,5E-03	4,6E-03	0,1091	5,7E-03	4,0E-02	0,0814		
	wPt3921	3BL	74,9	3,3E-03	2,9E-02	0,0962	ns	ns	ns	6,2E-03	1,9E-02	0,0813	wPt10142	Edae <i>et al.</i> , 2014; Riser <i>et al.</i> 2011
	wPt6209	4BL	110,5	6,5E-04	6,1E-03	0,0129	3,8E-03	6,4E-03	0,0946	2,0E-04	1,7E-03	0,1521	wPt5996	Edae <i>et al.</i> , (2014); Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt1400	5DS	0	ns	ns	ns	0,0250	4,4E-03	0,0553	2,2E-02	2,9E-03	0,0572		
	wPt2856	5DS	17,6	1,5E-03	2,4E-03	0,1073	8,2E-03	2,6E-02	0,0743	4,4E-03	1,5E-02	0,0892	wPt2856	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt7063	6AL	77,7	1,00E-05	6,0E-03	0,1942	4,5E-04	1,4E-02	0,1333	2,0E-04	7,7E-03	0,1535		
	wPt7954	6BS	47,5	1,10E-03	3,0E-02	0,1112	4,5E-04	6,4E-03	0,1234	2,0E-03	4,5E-02	0,0995	wPt7954	Neumann <i>et al.</i> (2011)
wPt1241	6BS	62,5	ns	ns	ns	0,0050	2,2E-02	0,0834	2,6E-02	4,2E-02	0,0529			
DEA	wPt1681	3AL	15,6	1,73E-02	3,5E-02	0,0774	ns	ns	ns	1,3E-02	1,3E-02	0,0734		
	wPt2755	3AS	16,6	2,04E-02	3,3E-02	0,0710	ns	ns	ns	1,4E-02	1,4E-02	0,0734		
	wPt7608	3AS	9,9	1,87E-02	3,1E-02	0,0823	ns	ns	ns	1,2E-02	1,2E-02	0,0748		
	wPt7756	3AL	15,7	2,09E-02	3,2E-02	0,0710	ns	ns	ns	1,4E-02	1,4E-02	0,0804		
	wPt7027	6AS	26,7	8,06E-05	5,1E-04	0,2009	2,4E-02	2,4E-02	0,0698	ns	ns	ns		
	wPt3883	7AS	88,8	7,69E-04	2,9E-02	0,1363	1,2E-02	2,3E-02	0,0793	ns	ns	ns		
	wPt5533	7AL	221,8	9,30E-03	4,0E-02	0,0893	7,3E-03	9,3E-03	0,0913	ns	ns	ns		
	wPt6495	7AL	222,6	6,40E-03	3,0E-02	0,0920	1,4E-02	1,8E-02	0,0758	ns	ns	ns		
	wPt7734	7AS	89,6	4,29E-04	2,0E-02	0,1446	1,4E-02	2,5E-02	0,073	ns	ns	ns		
wPt1826	7BL	84,4	1,01E-02	3,2E-02	0,0851	4,2E-02	9,5E-03	0,0581	ns	ns	ns			

^aC: Carácter; ^bCrom: Cromosoma.

Tabla 6. Asociaciones marcador-carácter significativas para caracteres asociados con el rendimiento del cultivo en un panel de 96 accesiones de trigo.

C ^a	Marcador	Crom ^b	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 3			Region similar a	Referencia
				P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²		
LP	wPt2847	1AL	98,9	5,5E-04	1,3E-02	0,126	5,8E-04	8,0E-03	0,1237	6,3E-04	1,3E-02	0,1223	wPt2847	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt3698	1AS	3,5	3,5E-06	3,8E-04	0,2152	1,4E-05	9,5E-04	0,1919	8,5E-06	5,2E-04	0,2002		
	wPt4658	1AL	83,3	4,6E-06	1,7E-03	0,2161	5,6E-05	5,3E-03	0,1709	4,9E-06	1,7E-03	0,214	QTL; wPt4658	Zhang <i>et al.</i> (2012); Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt9266	1AS	12,4	ns			9,9E-03	4,9E-02	0,0738	9,2E-03	4,9E-02	0,0752	wPt9266	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2988	1BS	11,2	6,3E-04	1,9E-02	0,1274	2,2E-03	3,3E-02	0,1035	3,3E-04	1,8E-02	0,1398		
	wPt1688	3AL	41,9	4,6E-04	8,2E-04	0,1253	7,0E-04	2,6E-03	0,1177	1,4E-03	1,1E-03	0,1056	wPt1688	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2151	4AL	183,6	1,2E-03	1,0E-02	0,1166	2,1E-03	1,5E-02	0,1058	3,8E-03	2,4E-02	0,0947	wPt2151	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt1708	4BS	93,8	4,1E-02	7,0E-03	0,0472	ns			2,4E-02	2,0E-03	0,0576		
	wPt3908	4BS	95,2	2,6E-02	1,3E-03	0,0567	2,1E-02	1,9E-03	0,0603	2,3E-02	9,0E-04	0,0592	wPt3908; Rht-1	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7062	4BL	109,9	3,1E-03	6,0E-03	0,0908	7,4E-04	2,0E-03	0,1166	1,6E-03	5,9E-03	0,1031		
	wPt4131	5AS	34,7	5,1E-05	1,2E-02	0,1737	1,3E-04	1,2E-02	0,1566	6,8E-05	1,4E-02	0,1686	wPt4131	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt3457	5BL	92,3	3,3E-05	1,9E-02	0,1748	1,6E-04	2,2E-02	0,1464	1,9E-04	4,4E-02	0,1435		
	wPt1400	5DS	0,0	2,7E-02	2,3E-02	0,0546	3,8E-02	3,4E-02	0,0479	1,1E-02	7,1E-03	0,0705	wPt1400	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt1048	6BL	118,1	1,7E-04	3,6E-04	0,1502	7,9E-04	1,8E-03	0,1215	1,1E-04	1,6E-04	0,1588		
	wPt1241	6BS	62,6	2,2E-02	1,8E-02	0,0565	1,9E-02	2,0E-02	0,0584	2,9E-02	3,6E-02	0,0513		
	wPt4924	6BL	101,7	3,6E-04	4,6E-02	0,1295	3,6E-03	1,0E-02	0,0882	2,3E-04	2,1E-02	0,1373		
	wPt0433	7AL	129,3	3,7E-05	1,7E-02	0,1784	8,7E-05	1,4E-02	0,1626	1,4E-04	3,4E-02	0,1535	wPt0433	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt8789	7AS	60,0	1,5E-05	8,6E-03	0,195	2,4E-04	2,7E-02	0,1441	4,5E-05	1,5E-02	0,1746	wPt8789	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt0465	7BL	154,9	1,4E-04	7,5E-03	0,149	3,0E-04	9,3E-03	0,1358	3,6E-04	1,9E-02	0,1325		
	wPt0884	7BL	156,3	1,1E-02	4,0E-02	0,0685	8,0E-03	3,0E-02	0,0745	9,3E-03	3,5E-02	0,0718		
	wPt1069	7BL	156,1	8,4E-05	2,3E-03	0,16	1,4E-04	4,0E-03	0,1499	1,3E-04	2,8E-03	0,1524		
	wPt2305	7BL	66,0	2,7E-02	5,7E-03	0,0518	ns			8,4E-03	6,5E-04	0,0729		
	wPt5069	7BL	144,7	3,6E-04	6,4E-03	0,1339	5,8E-04	9,1E-03	0,1246	4,9E-04	9,2E-03	0,1282	wPt5069	Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt6320	7BL	138,0	1,7E-04	3,1E-03	0,144	2,4E-04	3,7E-03	0,1379	2,6E-04	4,1E-03	0,137	wPt6320	Crossa <i>et al.</i> (2007); Neumann <i>et al.</i> (2011)
	wPt1100	7DS	42,2	9,1E-04	1,5E-02	0,1132	ns			5,4E-03	4,4E-02	0,0809		
	wPt3328	7DS	41,4	5,9E-04	1,3E-02	0,1208	4,2E-03	4,5E-02	0,0855	4,4E-03	4,2E-02	0,0848		
LE	wPt9317	1AS	12,4	2,0E-03	2,2E-02	0,1307	3,9E-04	9,0E-03	0,1505	4,3E-03	4,9E-02	0,1043		
	wPt3945	1DL	60,0	3,8E-03	1,1E-02	0,1166	7,2E-03	1,4E-02	0,0916	6,4E-03	1,4E-02	0,0921		
	wPt4988a	1DL	60,9	5,4E-03	1,8E-02	0,1097	1,0E-02	2,2E-02	0,0868	1,2E-02	2,7E-02	0,0816		
	wPt2135	2BL	113,6	1,3E-04	3,7E-03	0,1849	1,5E-03	1,6E-02	0,1255	1,7E-03	7,1E-03	0,1191	wPt2135	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt3378	2BL	113,6	4,1E-04	1,8E-02	0,1506	ns			1,5E-03	2,3E-02	0,1152	wPt3378	Crossa <i>et al.</i> (2007)
wPt7360	2BL	113,6	3,2E-04	7,3E-03	0,1613	3,0E-03	3,9E-02	0,1078	1,2E-03	9,5E-03	0,1229	wPt7360	Crossa <i>et al.</i> (2007)	

	wPt3632	2BL	107,8	ns	4,1E-02	0,0699	4,9E-02	3,7E-02	0,0574	2,1E-02	2,7E-02	0,0714		
	wPt1596	3AL	17,2	2,2E-02	4,7E-02	0,1009		ns		1,7E-02	4,7E-02	0,0855		
	wPt1681	3AL	15,6	1,3E-03	4,6E-03	0,1369	1,2E-03	6,8E-03	0,1234	1,1E-03	3,9E-03	0,1249	wPt1681	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2755	3AL	16,6	2,0E-03	5,4E-03	0,1248	2,0E-03	9,1E-03	0,1118	1,5E-03	4,1E-03	0,1158		
	wPt7756	3AL	15,7	2,2E-03	5,6E-03	0,1249	2,2E-03	9,4E-03	0,1118	1,5E-03	4,3E-03	0,1161	wPt7756	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7608	3AL	9,9	1,4E-03	4,6E-03	0,1371	1,4E-03	6,5E-03	0,1238	1,2E-03	4,0E-03	0,1249		
	wPt3921	3BL	74,9		ns		1,8E-02	2,7E-02	0,0753	2,3E-02	3,1E-02	0,0691	2 QTL	Bennett <i>et al.</i> (2012)
	wPt2951	4AL	180,4	8,6E-03	7,9E-03	0,0956	2,2E-02	1,6E-02	0,0664	2,6E-02	1,5E-02	0,0629		
	wPt0431	4DS	20,5	8,1E-03	1,0E-02	0,1056	1,1E-02	5,5E-03	0,0879	1,3E-02	8,5E-03	0,0806		
	wPt5809	4DS	19,3	1,4E-02	1,4E-02	0,0933	1,1E-02	4,9E-03	0,0855	2,6E-02	1,3E-02	0,0674		
	wPt4628	5BL	92,6	1,5E-02	6,6E-03	0,0891	1,1E-02	1,4E-02	0,0809	2,5E-03	2,5E-03	0,1059		
	wPt6135	5BL	96,9	3,9E-02	2,3E-02	0,0776	2,8E-02	3,0E-02	0,067	1,6E-02	1,9E-02	0,0784		
	wPt7063	6AL	77,7	1,5E-04	3,0E-03	0,1759	1,3E-03	9,4E-03	0,1237	7,4E-03	3,2E-02	0,0895	wPt7063	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt3060	6BL	92,1	2,8E-03	9,5E-03	0,1247	1,1E-02	4,5E-02	0,0857	7,3E-03	1,7E-02	0,0921		
	wPt5333	6BS	70,6	3,2E-03	1,6E-02	0,1182		ns		3,3E-03	2,8E-02	0,1036	QTL	Zhang <i>et al.</i> (2012)
	wPt3883	7AS	88,8	2,9E-03	4,7E-02	0,1262	1,9E-03	3,0E-02	0,1201		ns			
	wPt7734	7AS	89,6	1,6E-03	3,7E-02	0,1355	1,0E-03	2,0E-02	0,1304	5,6E-03	4,3E-02	0,097		
	wPt2150	1AL	54,4	6,4E-03	3,0E-02	0,0788	1,7E-03	1,4E-02	0,1254	6,3E-04	5,0E-03	0,1773		
	wPt6005	1AL	83,3	4,5E-02	4,3E-02	0,043		ns		1,1E-02	3,1E-02	0,1277	QTL	Zhang <i>et al.</i> (2012)
	wPt5801	1BS	30,7		ns		3,7E-02	3,3E-02	0,0688	2,6E-02	2,9E-02	0,128	1B.1R; wPt5801	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt0413	1DL	49,2		ns		2,0E-02	9,6E-03	0,0779	3,1E-03	8,8E-03	0,1484		
	wPt0408	2BS	68,4	2,1E-02	1,4E-02	0,0576	1,6E-02	1,6E-02	0,0866	3,1E-03	6,9E-03	0,1515		
	wPt6343	2DS	4,1	7,1E-03	9,8E-03	0,0827	1,1E-02	1,5E-02	0,0885	9,4E-04	7,5E-03	0,1823		
	wPt8319	2DS	3,9	4,2E-02	3,7E-02	0,044	1,5E-02	1,4E-02	0,0834	1,7E-03	1,0E-02	0,1563		
	wPt1562	3AL	19,3	3,7E-02	4,8E-02	0,049	7,8E-03	6,1E-03	0,0959		ns		QTL; wPt1562	Zhang <i>et al.</i> (2012); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt1681	3AL	15,6	1,1E-03	6,9E-03	0,1107	5,4E-03	3,3E-02	0,1015	1,2E-02	4,8E-02	0,1232	wPt1681	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2755	3AL	16,6	8,5E-04	4,1E-03	0,1148		ns		1,3E-02	4,3E-02	0,13		
	wPt7756	3AL	15,7	9,7E-04	4,2E-03	0,1135		ns		1,4E-02	4,6E-02	0,1288	wPt7756	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7608	3AL	9,9	1,2E-03	7,3E-03	0,1099	6,0E-03	2,9E-02	0,0974	1,3E-02	5,0E-02	0,1192		
	wPt8657	4AL	182,6		ns		3,9E-04	3,4E-04	0,1508	9,1E-03	1,0E-02	0,1309		
	wPt6149	4BS	104,4	5,4E-03	1,4E-02	0,084	1,4E-03	7,7E-03	0,129	1,8E-03	8,9E-03	0,1563	wPt6149	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt3924	5AS	62,6	1,4E-02	4,8E-02	0,0632	2,3E-02	1,6E-02	0,0776		ns			
	wPt1348	5BL	159,8		ns		8,7E-03	3,3E-03	0,1045	2,8E-02	2,2E-02	0,1277		
	wPt0103	5BL/7BL	77,8/63,3		ns		1,3E-02	4,2E-02	0,0857	2,0E-03	4,1E-03	0,1534	Vrn-A2; wPt0103	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7063	6AL	77,7	1,0E-04	3,3E-04	0,1617	8,0E-03	1,4E-02	0,0956		ns		wPt7063	Crossa <i>et al.</i> , 2007
	wPt3093	7BL	112,9	2,3E-03	9,6E-03	0,0991	3,7E-03	2,2E-02	0,1091	1,8E-02	4,6E-02	0,1094		

PE

PGE	wPt5343	7BL	99,0	8,9E-04	4,0E-03	0,1199	1,2E-02	2,0E-02	0,0964	ns	wPt5343	Crossa <i>et al.</i> (2007)		
	wPt2150	1AL	54,4	4,8E-03	1,3E-02	0,0677	4,9E-03	1,1E-02	0,1455	1,2E-03	1,6E-03	0,1941		
	wPt0413	1DS	49,2	ns			2,9E-02	5,7E-03	0,1113	4,4E-03	5,0E-03	0,1658		
	wPt0408	2BS	68,4	1,4E-02	9,7E-03	0,0795	1,8E-02	1,3E-02	0,1247	5,2E-03	8,6E-03	0,1695		
	wPt1562	3AL	19,3	2,8E-02	3,6E-02	0,0594	1,6E-02	1,2E-02	0,1204	ns	QTL; wPt1562	Zhang <i>et al.</i> (2012); Messmer <i>et al.</i> (2000); Crossa <i>et al.</i> (2007)		
	wPt8657	4AL	182,6	ns			3,1E-04	6,5E-04	0,1951	9,7E-03	1,5E-02	0,1543		
	wPt1348	5BL	159,8	ns			9,0E-03	4,1E-03	0,1432	1,5E-02	1,5E-02	0,1612	wPt6971	Edae <i>et al.</i> (2014)
	wPt0103	5BL/7BL	77,8/63,2	ns			1,3E-02	1,6E-02	0,125	9,0E-03	9,9E-03	0,1534	Vrn-A2; wPt0103	Van Beem <i>et al.</i> (2005); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt1510	7AS	98,1	5,6E-03	9,3E-03	0,0914	1,3E-02	1,8E-02	0,1349	5,6E-03	2,8E-03	0,1642		
	wPt2994	7BL	78,4	4,5E-02	4,7E-02	0,0531	4,0E-03	1,8E-02	0,1516	2,0E-02	3,8E-02	0,1402		
IE	wPt5343	7BL	99,0	6,5E-03	1,8E-02	0,0891	2,3E-02	3,8E-02	0,1237	ns	wPt5343	Crossa <i>et al.</i> (2007)		
	wPt2847	1AL	98,9	2,7E-02	3,4E-02	0,115	ns			6,6E-04	1,0E-03	0,171		
	wPt6074	1AL	75,6	5,0E-02	2,0E-02	0,1097	2,3E-02	4,4E-02	0,195	ns				
	wPt3738	1DS	36,8	ns			4,1E-03	2,2E-02	0,2127	8,9E-04	3,3E-03	0,1661	wPt3738	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt3743	1DL	63,3	ns			4,7E-03	5,6E-03	0,2097	9,3E-04	4,9E-03	0,1586	QTL; wPt3743	Kumar <i>et al.</i> (2007); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt5503	1DS	49,9	3,3E-03	2,5E-02	0,1641	9,6E-05	5,3E-04	0,2685	7,7E-03	5,5E-03	0,1237		
	wPt4917	2BL	116,8	ns			7,8E-04	1,4E-03	0,2398	1,2E-02	3,1E-02	0,1202		
	wPt1688	3AL	41,9	5,5E-03	1,0E-02	0,1448	6,1E-03	8,4E-03	0,2018	ns	QTL; wPt1688	Messmer <i>et al.</i> (2000); Crossa <i>et al.</i> (2007)		
	wPt3569	5BL	75,9	7,2E-04	2,9E-03	0,1807	ns			1,8E-03	6,4E-03	0,1495		
	wPt3030	5BL	119,2	6,0E-03	3,7E-02	0,1455	1,5E-04	1,2E-03	0,2618	7,6E-03	8,3E-02	0,1262	QTL; wPt3030	Miura <i>et al.</i> (1992); Crossa <i>et al.</i> (2007)
PMG	wPt5896	5BL	118,3	6,7E-03	3,9E-02	0,1437	2,0E-04	1,3E-03	0,2632	ns				
	wPt1048	6BL	118,1	1,2E-02	1,9E-02	0,1312	ns			3,1E-02	2,8E-02	0,0974		
	wPt1241	6BS	62,6	ns			7,1E-03	1,6E-02	0,2001	4,7E-04	2,9E-03	0,1732		
	wPt0433	7AL	129,3	4,6E-03	5,0E-03	0,1433	ns			2,7E-02	3,9E-02	0,1006		
	wPt1510	7AS	98,1	1,2E-02	2,9E-02	0,1295	1,9E-03	1,2E-02	0,2232	ns				
	wPt6034	7AS	57,8	6,0E-03	2,8E-02	0,1485	4,9E-04	1,7E-03	0,2538	4,8E-03	2,5E-02	0,1399	QTL; wPt6034	Kumar <i>et al.</i> (2007); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt8789	7AS	60,0	5,6E-03	2,6E-02	0,145	3,3E-02	4,4E-02	0,1875	2,8E-03	1,1E-02	0,1445		
	wPt4301	2BS	56,1	2,9E-03	2,0E-02	0,1261	2,4E-02	3,4E-02	0,1693	2,7E-02	4,3E-02	0,1384		
	wPt4916	2BS	17,7	1,0E-03	2,4E-03	0,153	1,6E-03	1,6E-03	0,2367	2,9E-02	3,2E-02	0,1349	Ppd2; wPt4916	Van Beem <i>et al.</i> (2005); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt8404	2BS	37,2	ns			7,0E-03	9,4E-03	0,2019	1,8E-04	2,3E-04	0,2146		
wPt4725	3AL	21,0	ns			1,9E-02	1,9E-02	0,1852	2,7E-03	3,3E-03	0,1701	wPt4725	Crossa <i>et al.</i> (2007)	
wPt8657	4AL	182,6	2,4E-03	4,5E-02	0,1343	1,1E-02	1,0E-02	0,204	3,2E-02	2,6E-02	0,1333			

	wPt3991	4BL	111,9	9,4E-03	3,9E-02	0,0959	3,8E-02	3,9E-02	0,173	ns				
	wPt1348	5BL	159,8	2,7E-02	3,0E-02	0,0895	1,4E-03	1,4E-03	0,2361	3,3E-03	4,2E-03	0,1677	wPt4091	Edae <i>et al.</i> (2014)
	wPt9930	6BL	109,8	1,8E-02	9,2E-03	0,0874	1,4E-02	1,2E-02	0,1826	2,0E-02	6,0E-03	0,1311		
	wPt0433	7AL	129,3	3,5E-02	2,2E-02	0,0627	2,9E-02	2,6E-02	0,1762	7,8E-03	1,2E-02	0,1516		
	wPt0600	7BL	114,3	1,4E-02	1,8E-02	0,1153	4,5E-02	4,5E-02	0,1782	2,5E-02	2,7E-02	0,1174	QTL; wPt0600	Xu <i>et al.</i> (2005); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2273	7BL	78,1	5,6E-04	2,3E-03	0,1782	7,8E-03	7,8E-03	0,2101	1,7E-02	1,7E-02	0,1411		
	wPt2994	7BL	78,4	1,2E-04	1,3E-03	0,2029	1,6E-03	1,6E-03	0,2289	3,7E-03	5,6E-03	0,1608		
NGE	wPt9317	1AS	12,4	8,5E-03	2,2E-02	0,0854	7,9E-03	1,9E-02	0,0835	ns			wPt665174	Edae <i>et al.</i> (2014)
	wPt1167	1AS	38,6	2,7E-02	3,6E-02	0,0553	1,9E-02	3,0E-02	0,0642	6,7E-03	2,8E-02	0,0916		
	wPt8770	1AS	38,4	2,6E-02	3,4E-02	0,0597	1,5E-02	1,9E-02	0,0699	1,5E-02	2,8E-02	0,0871		
	wPt6122	1AS	40,0	ns			6,6E-03	1,1E-02	0,0789	4,7E-04	2,0E-02	0,1366		
	wPt2150	1AL	54,4	ns			5,7E-03	8,9E-03	0,0853	5,5E-03	4,0E-02	0,0916		
	wPt7004	2BL	100,8	ns			2,1E-02	2,6E-02	0,0587	5,8E-04	7,8E-03	0,1321		
	wPt6343	2DS	4,1	7,5E-03	1,6E-02	0,0854	2,6E-02	2,6E-02	0,0567	1,0E-04	1,7E-03	0,1713		
	wPt8319	2DS	3,9	1,6E-02	2,1E-02	0,0642	3,0E-02	2,5E-02	0,0514	2,1E-04	2,9E-03	0,1481		
	wPt1554	2DS	7,6	ns			2,5E-02	4,7E-02	0,0553	1,6E-02	7,2E-03	0,072		
	wPt3491	4AL	174,1	2,1E-02	9,0E-03	0,0628	8,2E-03	1,4E-03	0,0817	ns				
	wPt0605	5AS	58,2	4,1E-02	2,5E-02	0,0461	1,9E-02	1,7E-02	0,0588	5,4E-03	4,4E-02	0,0862		
	wPt0959	6AL 6BS	57,6/14,6	5,8E-03	1,0E-02	0,0838	1,8E-02	3,1E-02	0,064	ns			wPt0959	Crossa <i>et al.</i> (2007)
FE	wPt5503	1DS	49,9	ns			6,2E-04	1,5E-03	0,1307	7,8E-03	4,6E-03	0,0781		
	wPt6477	2BS	72,2	ns			1,2E-03	6,9E-04	0,1228	4,3E-02	3,7E-02	0,047		
	wPt2345	4AL	136,0	9,4E-03	3,6E-02	0,1197	2,4E-03	1,3E-02	0,1053	ns				
	wPt3030	5BL	119,2	3,1E-03	6,6E-03	0,1341	9,4E-04	6,9E-03	0,1226	2,7E-02	6,8E-02	0,0564	QTL; wPt3030	Miura <i>et al.</i> (1992); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt5896	5BL	118,3	4,4E-03	9,0E-03	0,1269	1,8E-03	7,3E-03	0,1163	ns				
	wPt9454	5BL	101,7	ns			7,6E-04	6,9E-03	0,1276	1,0E-03	3,4E-03	0,1179		
	wPt9454	6BL	96,1	ns			2,3E-04	7,6E-04	0,1559	9,3E-03	2,4E-02	0,0757		
	wPt8183	6BL	92,5	ns			8,0E-05	9,9E-04	0,1674	8,7E-03	2,4E-02	0,0755		
	wPt7034	7AS	74,3	6,8E-04	1,5E-03	0,1709	8,6E-04	2,8E-03	0,1294	6,1E-04	9,2E-04	0,1268		
wPt8789	7AS	60,0	5,8E-04	1,4E-03	0,1646	3,5E-03	8,1E-03	0,1028	4,7E-04	1,1E-03	0,1337	QTL; wPt6034	Kumar <i>et al.</i> (2007); Crossa <i>et al.</i> (2007)	
EE	wPt1328	1BS	11,7	4,4E-03	4,1E-03	0,1035	1,6E-02	2,1E-02	0,0801	3,6E-03	1,9E-02	0,078	wPt1328	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2614	1BS	24,0	7,5E-03	4,7E-03	0,0917	2,6E-02	2,0E-02	0,0692	9,3E-03	3,0E-02	0,0771		
	wPt3824	1BS	23,2	7,5E-03	4,7E-03	0,0917	2,6E-02	2,0E-02	0,0692	9,3E-03	3,0E-02	0,0771		
	wPt5312	1BS	23,2	1,0E-02	5,7E-03	0,0883	3,0E-02	2,5E-02	0,0693	5,1E-03	1,9E-02	0,0752		
	wPt7529	1BS	23,2	8,8E-03	8,1E-03	0,0905	2,7E-02	3,4E-02	0,0693	3,3E-03	2,0E-02	0,081		
	wPt5801	1BS	30,7	4,9E-03	1,1E-02	0,1079	9,4E-03	4,1E-02	0,0949	6,0E-03	1,7E-02	0,0757	wPt5801	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt6240	1BL	45,6	1,4E-02	1,4E-02	0,085	ns			1,5E-02	3,5E-03	0,0669		

	wPt0003	2AS	6,1	5,4E-03	6,0E-03	0,1025	3,4E-02	2,5E-02	0,0647	ns				
	wPt2135	2BL	113,6	1,4E-05	8,8E-03	0,2153	4,3E-05	1,9E-02	0,1907	9,8E-06	4,0E-03	0,2145		
	wPt3378	2BL	113,6	7,9E-06	2,4E-02	0,2134	ns			1,0E-05	2,7E-02	0,1979	QTL; wPt2135	Marza <i>et al.</i> (2006); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7360	2BL	113,6	1,9E-05	1,5E-02	0,2049	ns			3,4E-05	1,7E-02	0,1756		
	wPt9736	2BL	95,7	4,8E-03	9,5E-03	0,0999	5,9E-04	1,0E-03	0,1413	9,7E-03	7,4E-03	0,0726		
	wPt0330	2DS	8,0	1,1E-04	2,4E-03	0,169	1,6E-05	3,2E-03	0,2097	7,1E-05	3,5E-03	0,1678		
	wPt6343	2DS	4,1	1,2E-02	6,3E-03	0,0909	2,4E-02	1,4E-02	0,084	5,7E-03	4,5E-03	0,0899		
	wPt8319	2DS	3,9	1,3E-02	6,4E-03	0,0883	2,1E-02	1,2E-02	0,0827	6,9E-03	4,4E-03	0,0823		
	wPt6209	4BL	110,5	1,9E-05	4,4E-04	0,2127	2,9E-04	1,1E-03	0,1612	7,2E-04	4,4E-03	0,1291		
	wPt7063	6AL	77,7	2,5E-03	2,5E-02	0,1117	1,9E-03	1,4E-02	0,1309	ns		wPt7063	Crossa <i>et al.</i> (2007)	
	wPt1241	6BS	62,6	1,4E-02	4,1E-02	0,073	1,3E-02	2,3E-02	0,0768	1,9E-02	2,5E-02	0,0614		
	wPt0408	2BS	68,4	7,2E-03	1,6E-02	0,0774	3,1E-02	3,0E-02	0,0508	ns				
EFE	wPt2135	2BL	113,6	1,8E-03	4,7E-02	0,1129	ns			3,1E-04	1,5E-02	0,1618	QTL; wPt2135	Marza <i>et al.</i> (2006); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt9736	2BL	95,7	1,6E-04	8,3E-03	0,1463	9,4E-05	3,1E-05	0,1553	1,0E-02	4,4E-03	0,0801		
	wPt0330	2DS	8,0	6,5E-05	9,5E-03	0,1673	2,2E-04	1,7E-02	0,1447	1,0E-04	1,3E-02	0,1679		
	wPt1554	2DS	7,6	1,7E-02	8,6E-03	0,0621	2,2E-03	3,6E-02	0,0996	ns				
	wPt6343	2DS	4,1	1,9E-05	2,2E-04	0,1903	1,1E-02	9,9E-03	0,0736	1,7E-03	6,9E-03	0,1158		
	wPt8319	2DS	3,9	8,9E-05	4,7E-04	0,1547	1,1E-02	9,5E-03	0,0689	3,0E-03	8,5E-03	0,0983		
	wPt6209	4BL	110,5	1,2E-04	8,8E-03	0,1601	1,8E-04	1,7E-03	0,1534	1,6E-03	1,5E-02	0,1194		
	wPt7063	6AL	77,7	1,6E-02	1,7E-02	0,0655	1,1E-03	5,7E-03	0,1166	2,4E-02	4,8E-02	0,0699	wPt7063	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt1328	1BS	11,7	5,7E-03	2,3E-02	0,1146	1,9E-03	1,0E-02	0,1488	1,0E-02	4,3E-02	0,125	wPt1318	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2614	1BS	24,0	2,2E-02	4,3E-02	0,0883	6,0E-03	1,5E-02	0,1259	1,9E-02	4,9E-02	0,1128		
	wPt3824	1BS	23,2	2,2E-02	4,3E-02	0,0883	6,0E-03	1,5E-02	0,1259	1,9E-02	4,9E-02	0,1128		
	wPt6240	1BL	45,6	ns			3,4E-02	1,0E-02	0,1075	4,7E-03	2,4E-02	0,1456		
	wPt0003	2AS	6,1	1,8E-03	1,6E-02	0,1373	2,0E-02	1,7E-02	0,1131	1,0E-02	1,8E-02	0,1348		
	wPt2135	2BL	113,6	3,7E-04	3,6E-03	0,1502	6,1E-05	1,9E-02	0,1978	1,3E-05	8,4E-04	0,2265		
	wPt3378	2BL	113,6	2,0E-05	9,3E-04	0,2002	1,3E-06	8,2E-03	0,2645	1,3E-07	6,5E-04	0,3016	QTL; wPt2135	Marza <i>et al.</i> (2006); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7360	2BL	113,6	3,9E-06	2,5E-04	0,2415	1,9E-06	5,6E-03	0,2719	3,3E-08	2,3E-05	0,338		
	wPt5374	2BS/1AS	52/2,3	2,6E-03	4,8E-02	0,1195	ns			2,3E-04	3,3E-02	0,1895	wPt5374	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt0330	2DS	8,0	ns			7,8E-05	5,7E-03	0,2103	1,1E-02	2,4E-02	0,1326		
	wPt1688	3AL	41,9	3,3E-03	4,5E-03	0,1183	1,1E-02	2,0E-02	0,1149	2,1E-02	3,1E-02	0,1094	wPt1688	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt3697	3AL	27,9	3,2E-03	1,2E-02	0,1257	1,8E-03	2,4E-02	0,151	ns				
	wPt6209	4BL	110,5	1,3E-02	3,5E-02	0,1166	9,7E-03	1,6E-02	0,136	1,2E-02	2,2E-02	0,1395		
	wPt4131	5AS	34,7	1,6E-04	9,3E-03	0,1867	ns			4,1E-04	3,1E-02	0,1885		
	wPt3030	5BL	119,2	ns			1,2E-03	1,3E-02	0,1682	3,5E-03	3,4E-02	0,1588	QTL; wPt3030	Miura <i>et al.</i> (1992); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt5896	5BL	118,3	ns			1,4E-03	1,4E-02	0,1668	4,0E-03	3,3E-02	0,1559		

	wPt1241	6BS	62,6	8,2E-03	4,7E-02	0,1031		ns	6,8E-05	7,8E-04	0,2081			
	wPt6034	7AS	57,8	4,1E-02	3,3E-02	0,0834	9,1E-03	2,2E-02	0,1243	1,7E-03	2,3E-03	0,1589	QTL; wPt6034	Kumar <i>et al.</i> (2007); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt5257	7AS	60,0	2,7E-04	1,8E-02	0,1819		ns	5,3E-04	3,2E-02	0,1853			
	wPt8789	7AS	60,0	1,5E-05	1,5E-03	0,2298		ns	5,2E-04	4,5E-02	0,1891	QTL; wPt6034	Kumar <i>et al.</i> (2007); Crossa <i>et al.</i> (2007)	
	wPt3883	7AS	88,8	4,2E-03	2,9E-02	0,1261	3,9E-05	5,0E-04	0,2291	2,3E-05	3,3E-04	0,2456		
	wPt7734	7AS	89,6	1,5E-03	2,1E-02	0,1359	7,9E-06	2,4E-04	0,2399	5,2E-06	1,8E-04	0,2531		
	wPt1826	7BL	84,4	1,5E-02	4,8E-02	0,1007	2,0E-02	3,4E-02	0,111		ns			
	wPt7602	7BS	43,3	4,9E-03	4,0E-02	0,1332	6,6E-03	3,8E-02	0,1433	7,4E-03	4,1E-02	0,1437		
GEF	wPt3465	1BS	14,6	4,4E-03	4,3E-03	0,0946	1,4E-03	4,9E-03	0,1353		ns		wPt3465	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt2135	2BL	113,6		ns		3,2E-03	1,9E-02	0,1151	4,4E-03	1,7E-02	0,1081		
	wPt3378	2BL	113,6	1,4E-03	1,4E-03	0,109	2,0E-05	4,8E-05	0,201	1,6E-04			QTL; wPt2135	Marza <i>et al.</i> (2006); Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt7360	2BL	113,6	1,4E-03	1,4E-03	0,1065	1,7E-04	2,2E-04	0,166	4,3E-05				
	wPt4131	5AS	34,7	6,4E-04	1,2E-03	0,1281	2,7E-03	5,3E-03	0,1038	1,2E-03	4,9E-03	0,1174		
	wPt1420	5BS	41,1	3,5E-02	3,3E-02	0,05		ns	9,8E-03	1,8E-02	0,0734		wPt1420	Crossa <i>et al.</i> (2007)
	wPt9666	5BS	41,1	3,0E-02	2,9E-02	0,0518		ns	1,3E-02	2,4E-02	0,0666			
	wPt2273	7BL	78,1	3,2E-02	3,1E-02	0,0848		ns	1,7E-02	1,7E-02	0,0693			

^aC: Carácter; ^bCrom: Cromosoma. ns: no significativo $P=0,05$.

Tabla 7. Asociaciones marcador-carácter significativas para porcentaje de proteína y valor de sedimentación en un panel de 96 genotipos de trigo.

C ^a	Marcador	Crom ^b	Posición (cM)	Experimento 1			Experimento 2			Experimento 3			Postulación	Referencia
				P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²	P (Q)	P (Q+K)	R ²		
P%	wPt0615	2BS	69,7		ns		3,9E-02	2,8E-02	0,0454	3,0E-02	3,0E-02	0,0497		
	wPt4725	3AL	21,0	1,5E-02	3,1E-02	0,0668		ns		3,9E-02	3,9E-02	0,0469		
	wPt0365	3BS	44,0	1,6E-02	5,1E-03	0,0691	1,2E-02	1,9E-02	0,0733		ns			
	wPt0405	3BL	52,8	2,2E-02	1,0E-02	0,0685	1,5E-02	2,6E-02	0,0778		ns			
	wPt0995	3BS	44,0	2,2E-02	1,5E-02	0,0647	7,7E-03	1,2E-02	0,0793		ns			
	wPt1191	3BL	66,1	6,0E-03	1,8E-04	0,0882	1,7E-02	1,2E-02	0,0609	8,5E-03	9,3E-03	0,0737		
	wPt8352	3BS	44,0	2,0E-02	1,4E-02	0,0683	1,5E-02	2,9E-02	0,0677		ns			
	wPt1400	5DS	0,0	1,5E-04	1,3E-04	0,1589	9,2E-03	7,7E-03	0,0746	5,0E-02	3,5E-02	0,0429		
	wPt1730	6BL	101,0		ns		1,7E-02	3,1E-02	0,0618	4,2E-02	4,2E-02	0,0447		
	wPt7627	6BL	102,5	2,0E-02	7,0E-03	0,0697	2,1E-02	4,2E-02	0,0726		ns			
	wPt0884	7BL	156,3	2,3E-03	2,3E-02	0,1037		ns		1,2E-03	1,2E-03	0,109		
	wPt1553	7BL	91,3	3,3E-02	1,8E-02	0,0584		ns		3,4E-02	3,4E-02	0,0482		
	wPt7108	7BL	132,8	3,5E-03	2,6E-02	0,1022	1,4E-02	2,4E-02	0,0687	5,5E-03	5,5E-03	0,0873		
VS	wPt4658	1AL	83,3	2,9E-03	1,1E-02	0,1008	2,0E-02	2,0E-02	0,0742		ns			
	wPt2988	1BS	11,2	1,1E-02	1,9E-02	0,0742	1,0E-03	1,0E-03	0,127	5,5E-03	8,0E-03	0,1205		
	wPt3896	2AS	56,7	1,1E-02	1,5E-02		3,0E-02	3,0E-02	0,0752	1,8E-02	2,5E-02	0,056		
	wPt0950	2BL	91,3		ns		5,7E-03	5,7E-03	0,0909	4,8E-03	1,0E-02	0,1105		
	wPt9736	2BL	95,7	1,1E-02	2,4E-02	0,0722	2,8E-02	2,8E-02	0,06	4,8E-03	1,2E-02	0,0984		
	wPt1681	3AL	15,6	2,0E-02	4,9E-02	0,0611		ns		2,1E-02	3,9E-02	0,0819		
	wPt2755	3AL	16,6	1,7E-02	3,5E-02	0,0629		ns		2,3E-02	4,0E-02	0,0754		
	wPt6891	3AL	19,3	1,8E-02	1,5E-02	0,0625		ns		2,7E-02	4,0E-03	0,0761		
	wPt7756	3AL	15,7	1,5E-02	3,0E-02	0,0653		ns		2,3E-02	3,9E-02	0,0755		
	wPt8753	3AS	4,1	1,7E-02	2,2E-02	0,0625		ns		2,7E-02	4,0E-03	0,0787		
	wPt2151	4AL	183,6	9,2E-03	1,5E-02	0,0829	2,6E-02	2,6E-02	0,0705	1,2E-02	2,4E-02	0,1111		
	wPt1302	5BS	16,3		ns		2,3E-02	2,3E-02	0,0623	3,4E-03	8,9E-03	0,114		
	wPt1420	5BS	41,1	1,9E-02	2,6E-02	0,0674	4,7E-02	4,7E-02	0,0504	2,5E-02	2,5E-02	0,0898		
wPt3457	5BL	92,3	4,4E-03	7,5E-03	0,0915	9,3E-04	9,3E-04	0,1339	8,6E-04	1,6E-03	0,106			
wPt9666	5BS	41,1	3,4E-02	4,2E-02	0,0547	3,8E-02	3,8E-02	0,0553	3,0E-02	3,0E-02	0,0858			

^aC: Carácter; ^bCrom: Cromosoma. ns: no significativo $P=0,05$.

Tabla 8. Anotación funcional y proceso biológico identificado en búsquedas in silico a partir de la secuencia de marcadores DArT significativamente asociados con los caracteres evaluados sobre el panel de 96 genotipos de trigo en este estudio.

Marcador	Crom	Posición	Rasgo	Anotación	Proceso biológico involucrado
wPt5374	1A/2B	2,3/52	DAE-DAA	hypothetical protein	-----
wPt4765	1A	6,3	MH	Sin anotación	-----
wPt9317	1A^a	12,4	LE-NGE		
wPt2872	1A	12,4		Predicted protein	-----
wPt7030	1A	23,6	MH	Sin anotación	-----
wPt4029	1A	28,7	MH	ABC transporter	Transporte
wPt8770	1A	38,4	NGE	Transforming growth factor-beta	Transporte
wPt6122	1A	40,0	NGE		
wPt6358	1A	41,4		Response to stress	Respuesta a estrés
wPt4658	1A	83,3	LP-VS		
wPt6005	1A	83,3	PE		
wPt4709	1A	82,9		Glycerophosphodiester phosphodiesterase	Proliferación celular (Cheng <i>et al.</i> , 2011)
wPt2847	1A	98,9	LP-IE	Alanine-tRNA ligase	ATP binding
wPt7094	1B	12,0	MH	Apoptotic chromatin condensation inducer	Muerte celular programada
wPt2614	1B	24,0	EPE	Nucleotide-diphospho-sugar transferases	Metabolismo de azúcares (Chang <i>et al.</i> , 2005)
wPt5562	1B	28,3	AHB	Funcion desconocida	-----
wPt5801	1B	30,7	PE-EE		
wPt8616	1B	32,3		Zinc ion binding	Ion binding (Ciftci-Yilmaz & Mittler, 2008)
wPt8682	1B	31,7	FU	ATP binding	Regulación génica (Ciftci-Yilmaz & Mittler, 2008)
wPt6117	1B	32,3	FU		
wPt6833	1B	32,3	FU		
wPt8616	1B	32,3		Zinc ion binding	Regulación génica (Ciftci-Yilmaz & Mittler, 2008)
wPt3451	1B	45,6	MH	Protein kinase family	Señalización (Stone & Walker, 1995).
wPt9809	1BL	71,1	RH		
wPt9032	1B	70,6		NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos (Takken & Goverse, 2012)
wPt3738	1D	36,8	IE	Exocyst complex protein exo70	Morfogénesis (Hála <i>et al.</i> , 2008)
wPt0413	1DS	49,2	PE-PGE-RH-MH	Alpha-L-fucosidase 2-like	Resistencia a patógenos (Cheong <i>et al.</i> , 2000).
wPt3945	1D	60,0	LE		
wPt4988	1D	60,9	LE		
wPt0077	1D	59,5		Plastid terminal oxidase	Fotosíntesis (Nawrocki <i>et al.</i> , 2015)
wPt0003	2A	6,1	MH-EEE		
wPt7626	2A	0,1		Serine/threonine protein kinase	Señalización (Stone & Walker, 1995).
wPt3896	2A	56,7	VS	NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos
wPt7306	2A	59,6	MH-FU	Serine/threonine protein kinase	Señalización (Stone & Walker, 1995).

wPt3114	2AS	68,3	RH		
wPt0921	2A	70,4		Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	Actividad reductasa (Frandsen <i>et al.</i> , 2010)
wPt4916	2B	17,7	MH-PMG		
wPt3459	2B	19,1		Serine/threonine-protein kinase	Señalización (Stone & Walker, 1995).
wPt0950	2B	31,3	MH	NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos (Takken & Goverse, 2012)
wPt8404	2B	37,2	PMG		
wPt8326	2B	40,9		Bidirectional sugar transporter SWEET6b	Trasporte (Kang <i>et al.</i> , 2011)
wPt4301	2B	56,1	PMG		
wPt3561	2B	57,8		Cathepsin B	
wPt8072	2B	57,8		Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase 4	Metabolismo y proliferación celular
wPt9402	2B	57,8		Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase 4	Metabolismo y proliferación celular
wPt5556	2B	68,3	MH-AP-AT-AHB	F-box domain	Resistencia a patógenos (Lechner <i>et al.</i> , 2006)
wPt0408	2B	68,4	MH-AP-AT-AHB	Sin anotacion	-----
wPt7757	2B	69,8	MH-AP-AT-AHB	F BOX domain	Resistencia a patógenos (Lechner et al., 2006)
wPt8460	2BL	92,8	RH		
wPt0950	2B	91,3		NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos (Takken & Goverse, 2012)
wPt7004	2B	100,8	NGE		
wPt9336	2B	102,7		S-locus glycoprotein domain	Desarrollo
wPt3632	2B	107,8	LE	ATP-dependent RNA helicase DOB1	Metabolismo
wPt2135	2B	113,6	LE-EE-EFE-GEF-AHB	F-box domain	Expansión celular
wPt4917	2B	116,8	IE	AAA ATPASE:	Metabolismo
wPt5374	2B/1A	52,0/2,3	DAE-DAA	F-box domain	
wPt8319	2D	3,9	PE-EE-EFE-NGE	Nuclear hormone receptor binding	Desarrollo, homeostasis y metabolismo
wPt6343	2D	4,1	PE-EE-EFE-NGE	Serine/threonine-protein kinase CTR1	Señalización
wPt1554	2D	7,6	NGE-EFE		
wPt0330	2DS	8,0	EE-EFE- ROYA		
wPt3728	2D	9,4		Hypothetical protein	-----
wPt7608	3A	9,9	LE-PE-DEA		
wPt9369	3A	9,6		Piwi domain:	Desarrollo
wPt1681	3A	15,6	DAE-LE-PE-VS	Hypothetical protein	-----
wPt2755	3A	16,6	LE-PE-VS-DEA	Beta-galactosidase 8 precursor,	Metabolismo de carbohidratos
wPt1596	3A	17,2	LE	3-dehydroquinate dehydratase activity	Metabolismo
wPt0714	3A	18,5	MH	Nitric-oxide synthase (NADPH); ABC transporter	Resistencia a patógenos
wPt1562	3A	19,3	PGE-PE	Methyl-CpG binding domain containing protein	Regulación génica
wPt4725	3A	21,0	PMG-MH	Zinc-binding region	Tolerancia a estrés
wPt3816	3A	44,7	AP	Hypothetical protein	-----
wPt7341	3B	17,1	MH		

<i>wPt8855</i>	3B	17,1	MH		
<i>wPt7984</i>	3B	17,9		Ribosomal protein L6	Integridad de ribosomas
<i>wPt7212</i>	3BS	23,2	RH		
<i>wPt0302</i>	3B	24,2		Serine/Threonine kinases, IRAK and STKs	Señalización
<i>wPt0365</i>	3B	44,0	P%	Protein serine/threonine phosphatase	Señalización (Schweighofer & Meskiene, 2015)
<i>wPt2748</i>	3B	44,0	DAE-DAA-MH		
<i>wPt9432</i>	3B	44,0	DAE-DAA-MH		
<i>wPt9510</i>	3B	44,4	DAE-DAA-MH		
<i>wPt8352</i>	3B	44,0	P%		
<i>wPt0995</i>	3B	44,0	P%		
<i>wPt9310</i>	3B	44,1		Protein serine/threonine phosphatase	Señalización (Schweighofer & Meskiene, 2015)
<i>wPt0405</i>	3B	52,8	P%		
<i>wPt6973</i>	3B	54,2	FU		
<i>wPt2119</i>	3B	54,4		Diphosphomevalonate decarboxylase	Resistencia a patógenos (Pel <i>et al.</i> , 2007)
<i>wPt7502</i>	3BL	57,4	RH	Phosphate cytidyltransferase	Resistencia a patógenos (Ivanov <i>et al.</i> , 2005)
<i>wPt1191</i>	3B	66,1	P%	NBS-LRR disease resistance protein	Resistencia a patógenos
<i>wPt3921</i>	3B	74,9	DAE-DAA-LE-MH		
<i>wPt6785</i>	3B	72,5		F-box domain	
<i>wPt2757</i>	3D	6,0	SEP		
<i>wPt1741</i>	3D	5,4		E3 ubiquitin-protein ligase SINA-like 10	Tolerancia a estrés
<i>wPt7280</i>	4AL	142,9	RH	O-acetyltransferase activity	Actividad transferasa
<i>wPt3491</i>	4A	174,1	NGE	Strictosidine synthase	Metabolismo
<i>wPt2951</i>	4A	180,4	LE	Gag-polypeptide of LTR copia-type	Regulación génica
<i>wPt2151</i>	4A	183,6	VS- AP- AT-AHB	Phosphoinositide phosphatase sac6	Expansión celular (Nováková <i>et al.</i> , 2014)
<i>wPt7062</i>	4B	109,9	MH	Serine protease inhibitor, serpin	Resistencia a patógenos (Fluhr <i>et al.</i> , 2012)
<i>wPt8650</i>	4B/7A	7,8/67,7	MH	Wall-associated receptor kinase 3	Señalización (Kohorn & Kohorn, 2012).
<i>wPt4131</i>	5A	34,7	GEF	1,3-beta-glucan synthase	Biosíntesis
<i>wPt0605</i>	5A	58,2	NGE	Transposase-associated domain	Regulación génica
<i>wPt1302</i>	5B	16,3	VS	Electron transfer flavoprotein	
<i>wPt1420</i>	5B	41,1	GEF-VS	Protein serine/threonine kinase activity	Señalización
<i>WPt1325</i>	5B	41,1	GEF-VS	Protein serine/threonine kinase activity	Señalización
<i>wPt3569</i>	5B	75,9	IE	Protein kinase family protein	Desarrollo
<i>wPt4628</i>	5B	92,6	LE	Alpha/beta-Hydrolases	Biosíntesis
<i>wPt9454</i>	5B	101,7	FE	Protein-cysteine S-palmitoleyltransferase	Trasporte y señalización (Li <i>et al.</i> , 2016)
<i>wPt0103</i>	5B/7B	77,8/	PE-PGE	SPX and EXS domain	Señalización (Secco <i>et al.</i> , 2012)
<i>wPt9467</i>	5B/7B	77/50	RH		
<i>wPt8890</i>	5B	77,9		SPX and EXS domain	Señalización (Secco <i>et al.</i> , 2012)

<i>wPt1250</i>	5B/7B	93,12/70	AT	Auxin-responsive SAUR gene	Desarrollo (Kant & Rothstein, 2009)
<i>wPt1400</i>	5D	0,0	MH- P%- DAE- DAA	GDP-fucose synthetase	Biosíntesis
<i>wPt0832</i>	6A	3,9	MH	Retrotransposon protein	Regulación génica
<i>wPt3524</i>	6A	25,7	MH		
<i>wPt7027</i>	6A	26,7	MH- DEA		
<i>wPt6904</i>	6A	26,5		Serine/Threonine kinases, IRAK and STKs	Señalización
<i>wPt3965</i>	6A	37,8	MH	Protein serine/threonine phosphatase	Tolerancia a estrés (País <i>et al.</i> , 2009)
<i>wPt8833</i>	6A/6B	56,5/5,2	RH	LRR receptor-like serine/threonine kinase	Resistencia a patógenos (Shiu <i>et al.</i> , 2004).
<i>wPt3304</i>	6B	41,4	MH	F-Box domain	Resistencia a patógenos (Lechner <i>et al.</i> , 2006)
<i>wPt3116</i>	6BS	41,4	RH	F-Box domain	Resistencia a patógenos (Lechner <i>et al.</i> , 2006)
<i>wPt1241</i>	6B	62,6	MH- EE- IE- DAE- DAA	Metallohydrolase domain	
<i>wPt2175</i>	6BS	64,9	RH	NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos (Takken & Goverse, 2012)
<i>wPt5333</i>	6B	70,6	LE	Peroxidase / Lactoperoxidase	Resistencia y metabolismo
<i>wPt2424</i>	6B	96,1	FE	Tyrosine-sulfated glycopeptide receptor 1	Promotor de división y expansión celular (Amano <i>et al.</i> , 2007)
<i>wPt7627</i>	6B	102,5	P%	Sin anotacion	-----
<i>wPt9930</i>	6B	109,8	PMG	Wall-associated receptor kinase 3	Expansión celular (Kohorn & Kohorn, 2012).
<i>wPt1541</i>	6B	181,0	FU- AT-DAE	F-Box domain	Resistencia a patógenos (Lechner <i>et al.</i> , 2006)
<i>wPt5257</i>	7A	60,0	MH		
<i>wPt8789</i>	7A	60,0	IE		
<i>wPt7151</i>	7A	60,2		Zinc finger fyve domain	Trasporte y factor de crecimiento (Wywial & Singh, 2010)
<i>wPt3572</i>	7A	74,5	MH-FU	NB-ARC domain: LRR	Resistencia a patógenos (Takken & Goverse, 2012)
<i>wPt7734</i>	7A	89,6	LE-DEA- MH	F-box domain	Resistencia a patógenos (Lechner <i>et al.</i> , 2006)
<i>wPt1510</i>	7A	98,1	PGE-IE	zinc finger, C3HC4 type domain	Desarrollo del fruto (Wu <i>et al.</i> , 2014)
<i>wPt5533</i>	7A	221,8	DEA	AP2-containing protein	Desarrollo
<i>wPt6495</i>	7A	222,6	DEA-AP	AP2-containing protein	Desarrollo
<i>wPt2273</i>	7B	78,1	PMG-GEF	Retrotransposon protein	Regulación génica
<i>wPt1826</i>	7B	84,4	DEA-EEE	Función desconocida	-----
<i>wPt5343</i>	7B	99,0	PE-PGE	Zinc-binding in reverse transcriptase	Tolerancia a estrés (Wang <i>et al.</i> , 2008).
<i>wPt3093</i>	7B	112,9	PE	Gag-polypeptide of LTR copia-type	Regulación génica
<i>wPt0600</i>	7B	114,3	PMG		
<i>wPt3093</i>	7B	112,8		Maturase K, putative, expressed	Fotosíntesis (arthet & Hilu, 2007)
<i>wPt7108</i>	7B	132,9	P%	Cation-transporting atpase 13a1	Trasporte de moléculas (+)
<i>wPt0465</i>	7B	154,9	LP	GTP binding (Elongation factor Tu domain 2)	Factor de elongación
<i>wPt0884</i>	7B	156,3	LP-P%	Maturase K, putative, expressed	Fotosíntesis (arthet & Hilu, 2007)
<i>wPt2565</i>	7DS	1,3	RH	Phosphatidylethanolamine-binding protein	Señalización

^aen negrita se indican aquellos marcadores cuya secuencia no fue disponible, por lo que se proyectó otros marcadores en su intervalo (< 3,6 cM). MH: Mancha de la Hoja.