

# ASOCIACIÓN ENTRE MARCADORES GENÉTICOS Y CARACTERES DE INTERÉS AGRONÓMICO EN LA COLECCIÓN NACIONAL DE TRIGO

María del Pilar Suaste Franco

## TESIS

Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO**



**Universidad Autónoma Agraria**

**Antonio Narro**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
Mayo del 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

Asociación entre marcadores genéticos y caracteres de interés agronómico en  
la Colección Nacional de Trigo

TESIS

POR

MARÍA DEL PILAR SUASTE FRANCO

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y  
aprobada como requisito parcial para optar el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOMEJORAMIENTO

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal

  
Dr. Víctor Manuel Zamora yilla

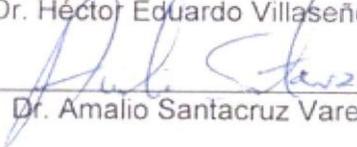
Asesor

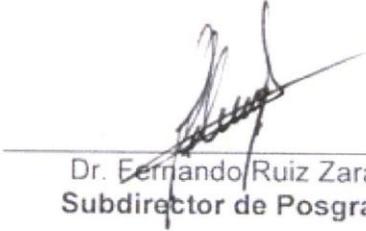
  
Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés

Asesor

  
Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir

Asesor

  
Dr. Amalio Santacruz Varela

  
Dr. Fernando Ruiz Zarate  
Subdirector de Posgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Mayo de 2014

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por darme la oportunidad de ingresar al Programa de Postgrado en Fitomejoramiento y brindarme las facilidades para la obtención de un grado académico.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico durante mis estudios de Maestría.

Al **Dr. Víctor Manuel Zamora Villa** por haberme permitido realizar la presente investigación bajo su dirección y asesoramiento, por su confianza, tiempo y dedicación.

Al **Dr. M. Humberto Reyes Valdés** por la asesoría brindada durante la elaboración de esta tesis.

Al **Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir** por su disponibilidad para resolver dudas y redacción de la tesis, también por el material proporcionado y la ayuda en la toma de datos de campo de este trabajo de investigación.

Al **Dr. Amalio Santacruz Varela** por brindarme y ofrecerme sus amplios conocimientos y aportaciones para la realización de esta investigación.

A **mis profesores de maestría** que contribuyeron a mi formación profesional y personal.

Al **Dr. José Espinoza Velázquez** quien en su papel de Jefe de Programa Docente siempre se mostro atento, diligente y amable para resolver cualquier situación difícil.

Al **Dr. Ernesto Solís Moya** por estar siempre al pendiente de mi avance en la elaboración de esta tesis, por su apoyo y confianza, por su disponibilidad para resolver dudas y por todas sus atenciones brindadas antes y durante mis estudios de Maestría.

A la **Dra. Susanne Dreisigacker**, genetista molecular de trigo del CIMMYT, por su valiosa colaboración para llevar a cabo la amplificación y lectura de fragmentos, así como su asesoría y guía durante el proceso.

A mis compañeros y amigos de Generación de la Maestría en Fitomejoramiento **Gabriela, Diana, Agustín, José Antonio y Javier** por su apoyo, amistad y confianza. También a mis compañeros y amigos de la maestría **Alondra, Mayra, José Luis, Eva y Rosendo**.

A mis compañeras y amigas de INIFAP **Lulu, Mary, Olga y Sra. Rebeca** por ser siempre amables conmigo y brindarme su amistad y apoyo en todo momento.

Se agradece al Fondo S0007-2010-03 de la Convocatoria SAGARPA-CONACYT por el financiamiento total de la presente investigación a través del proyecto No. 146788 denominado: **SISTEMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO PARA GENERAR VARIEDADES RESISTENTES A ROYAS, DE ALTO RENDIMIENTO Y ALTA CALIDAD PARA UNA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE DE TRIGO EN MÉXICO.**

## DEDICATORIAS

A mis padres **Martin Suaste Guerrero y Esperanza Franco Guerrero**, por su apoyo incondicional brindado durante toda mi vida, por darme la mejor herencia que puedo recibir: Mi carrera. Porque me enseñaron que todo en la vida se logra con esfuerzo, y que en la lucha de la vida diaria por superarnos, la educación, el conocimiento y la perseverancia son las mejores herramientas. Por el gran esfuerzo que hicieron al darme educación profesional y por apoyarme siempre en las decisiones importantes como la realización de estudios de postgrado, por lo cual los admiro, respeto y quiero mucho.

A mi abuelo **Mateo Franco Suaste**, por seguir siendo una persona a la cual admiro y respeto, así como mi ejemplo a seguir en la vida por su rectitud, honestidad, dedicación, perseverancia, ingenio y creatividad.

## **COMPENDIO**

### **Asociación entre marcadores genéticos y caracteres de interés agronómico en la Colección Nacional de Trigo**

**POR:**

**MARÍA DEL PILAR SUASTE FRANCO  
MAESTRA EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
Buenavista, saltillo, Coahuila, Mayo de 2014**

**Palabras clave:** Fenotipo, Genotipo, Marcadores moleculares, Asociación, Agrupamientos, Pleiotropía.

En la búsqueda de diversidad para incluir en los programas de mejoramiento es de gran importancia el estudio de la colección nacional de trigo como fuente donadora de genes y con base en el comportamiento genotípico y fenotípico de sus accesiones detectar las asociaciones de importancia entre ambos caracteres, agrupar individuos con fondos genéticos similares para características de interés agronómico y detectar la posibilidad de efectos pleiotrópicos en los alelos estudiados. Para la evaluación de los caracteres fenotípicos, el ensayo se estableció en Nanacamilpa, Tlax. y Roque, Gto.; durante dos ciclos en cada localidad, Otoño-Invierno (O-I) 2010-2011 y 2011-2012 en Roque, y Primavera-Verano (P-V) 2011 y 2012 en Nanacamilpa. Para las variables genotípicas se usaron 16 marcadores moleculares previamente asociados a diferentes características de interés en trigo: royas (*Lr68*, *Lr34*,

*Lr46* y *Sr2*), gluteninas (*Glu-A1b*, *Glu-B1a1* y *Glu-D1*), altura de planta (*Rht-B1* y *Rht-D1*), fotoperiodo (*Ppd-D1a*), vernalización (*Vrn-A1*, *Vrn-B1* y *Vrv-D1a*), dureza del grano (*PinA-D1a* y *PinB-D1a*) y almidón (*GBSS*). Las medias de los caracteres fenotípicos se conjuntaron con los resultados de los marcadores y se analizaron mediante un análisis de conglomerados, usando el método de Ward (1963). Se formaron 12 grupos, siendo las variedades del grupo 5 las más precoces, con un ciclo medio a floración y madurez de 74.8 y 118.6 dds respectivamente. Las variedades más tardías están ubicadas en el grupo 6 (sin alelos *Ppd-D1*) con una diferencia de hasta 14.3 días en el ciclo a madurez. En general, los grupos 3, 4 y 12 poseen variedades con características deseables (precocidad, resistencia a enfermedades y calidad industrial). Se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar la asociación entre caracteres fenotípicos y marcadores moleculares. Se ha reportado previamente que los marcadores *GBSS*, *Glu-A1b*, *Glu-B1a1* y *PinA* y *B-D1a*, son específicos a ciertos caracteres propios de la calidad de harina y masa de trigo; en el presente estudio no se detectó significancia con las variables fenotípicas aquí evaluadas; sin embargo, para el marcador *Sr2* se detectaron diferencias con la variable DF; con *Ppd-D1a* y la variable AP; *Rht-D1* para las variables DF y DM; y *Glu-D1* para DF, DM y AP, de tal forma que se puede asumir la posibilidad de pleiotropía para estos cuatro genes, los cuales para las variedades de la Colección Nacional podrían influir en caracteres donde no se había reportado asociación.

## ABSTRACT

**Association between genotypes of the National Collection of wheat based to genes of agronomic interest**

**BY:**

**MARÍA DEL PILAR SUASTE FRANCO  
MAESTRA EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
Buenavista, saltillo, Coahuila, Mayo de 2014**

**Key Words:** Phenotype, Genotype, Molecular markers, Association, Clusters, Pleiotropy.

The national collection of wheat is of great importance as donor source of genes in seeking diversity to include in the breeding programs and to detect important associations between genotypic and phenotypic characters based on the assessment of its accessions, grouping individuals with similar genetic backgrounds for characteristics of agronomic interest and detecting eventual pleiotropic effects between the studied alleles. For the evaluation of phenotypic characters, the trial was established at Nanacamilpa, Tlax. and Roque, Gto.; during two cycles in each locality, Autumn -Winter (O-I) 2010-2011 and 2011-2012 in Roque; and Spring-Summer (P-V) 2011 and 2012 in Nanacamilpa. For genotypic traits 16 molecular markers previously associated with different characteristics in wheat were used: rusts (*Lr68*, *Lr34*, *Lr46* and *Sr2*), glutenins (*Glu-A1b*, *Glu-D1* and *Glu-B1a*), plant height (*Rht-B1* and *Rht-D1*), photoperiod

(*Ppd-D1a*), vernalization (*Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrv-D1a*), kernel hardness (*PinA-D1a* and *PinB-D1a*) and starch (*GBSS*). Means of phenotypic characters were combined with results of markers and analyzed by cluster analysis, using the method of Ward (1963). Twelve groups were formed with varieties of group 5 as the earliest ones, with a mean cycle to flowering and maturity of 74.8 and 118.6 days after planting respectively. The latest varieties are included into Group 6 (with no *Ppd-D1* alleles) with a difference of up to 14.3 days in the cycle to maturity. In general groups 3, 4 and 12 possess varieties with desirable characteristics (earliness, disease resistance and industrial quality). Kruskal-Wallis test was applied to determine the association between phenotypic characters and molecular markers. It has been previously reported that markers *GBSS*, *Glu-A1b*, *Glu-B1a1* and *PinA* and *B-D1a*, are specific to certain characters related to quality of flour and wheat dough; also, in this study no significance was detected with phenotypic traits evaluated; however, for marker *Sr2* differences were detected with variable DF; *Ppd-D1a* and variable AP; *Rht-D1* for variables DF and DM, and *Glu-D1* for DF, DM and AP, so that pleiotropy cannot be assumed as a possibility for those four genes, which could influence over characters where no associations have been yet reported in varieties of the National Collection.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Hoja de Firmas.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Dedicatorias.....	v
Compendio.....	vi
Abstrac.....	viii
Índice de Cuadros.....	xiii
Índice de Figuras.....	xiv
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>¿De qué Depende el Éxito en el Fitomejoramiento?.....</b>	<b>1</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>2</b>
General.....	2
Específicos.....	2
<b>Hipótesis.....</b>	<b>3</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
<b>Importancia Mundial y Nacional del Trigo.....</b>	<b>4</b>
<b>Origen Geográfico.....</b>	<b>5</b>
<b>Antecedentes Históricos del Mejoramiento del Trigo.....</b>	<b>6</b>
<b>Genética Molecular y el Cultivo de Trigo.....</b>	<b>8</b>
<b>Genes Importantes en Trigo.....</b>	<b>11</b>
De interés para resistencia a royas.....	11
Lr34.....	12
Lr46.....	13
Lr68.....	13
Sr2.....	13
De interés para la respuesta al fotoperiodo.....	14
Ppd-D1a.....	14
De interés para la reducción de la altura de planta.....	15
Rht-B1 y Rht-D1.....	15
De interés para el requerimiento de vernalización.....	15

Vrn-A1.....	16
Vrn-B1.....	17
Vrn-D1a.....	17
De interés para el contenido de amilosa.....	17
GBSS (Wx-B1).....	18
De interés para el contenido de gluteninas de alto peso molecular....	19
Glu-A1b (subunidad Ax2*).....	20
Glu-B1al (subunidad BxOE).....	20
Glu-D1 (subunidad 5 +10).....	21
De interés para determinar la dureza del grano.....	21
PinA-D1a y PinB-D1a.....	22
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
<b>Material Genético.....</b>	<b>23</b>
<b>Estructura del Estudio.....</b>	<b>23</b>
Fase de campo (información fenotípica).....	23
Sitios experimentales.....	23
Diseño y unidad experimental.....	24
Variables medidas.....	24
Fase de laboratorio (información genotípica).....	24
Extracción y cuantificación de ADN.....	24
Marcadores analizados.....	25
Amplificación de fragmentos por PCR.....	25
Lectura de fragmentos.....	27
<b>Análisis Estadístico.....</b>	<b>28</b>
Análisis de componentes principales.....	28
Análisis de conglomerados.....	29
Comparación de medias multivariadas.....	29
Análisis de Kruskal-Wallis.....	30
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>Análisis de Componentes Principales.....</b>	<b>32</b>
<b>Análisis de Conglomerados.....</b>	<b>40</b>

Comparación de Medias Multivariadas.....	48
Análisis de Kruskal-Wallis.....	50
V. CONCLUSIONES.....	57
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	59
VII. APÉNDICE.....	68

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
<b>Cuadro 1.</b> Vectores propios del análisis de componentes principales para las 22 variables de estudio (fenotípicas y genotípicas).....	34
<b>Cuadro 2.</b> Número de individuos y valores medios en las variables fenotípicas y genotípicas.....	47
<b>Cuadro 3.</b> Estadístico H y valores medios de los tratamientos para GBSS, Glu-A1b, Glu-B1a, Glu-D1, PinA-D1a y PinB-D1a.....	51
<b>Cuadro 4.</b> Estadístico H y valores medios de los tratamientos para Lr34, Lr46, Lr68 y Sr2.....	53
<b>Cuadro 5.</b> Estadístico H y valores medios de los tratamientos para Ppd-D1a, Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-B1a, Vrn-B1b y Vrn-D1a.....	55
<b>Cuadro 6.</b> Estadístico H y valores medios de los tratamientos para Rht-B1 y Rht-D1.....	56
<b>Apéndice A.</b> Variedades de trigo harinero utilizadas en el presente estudio pertenecientes a la Colección Nacional de Trigo de INIFAP y año de liberación.....	68
<b>Apéndice B.</b> Diferenciación de grupos y variables fenotípicas y genotípicas subyacentes.....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Esquematización de ciclos para PCR de SSRs.....	26
<b>Figura 2.</b> Esquematización de ciclos para PCR de SNPs.....	26
<b>Figura 3.</b> Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP2 del análisis de componentes principales.....	35
<b>Figura 4.</b> Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP3 del análisis de componentes principales.....	36
<b>Figura 5.</b> Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP4 del análisis de componentes principales.....	37
<b>Figura 6.</b> Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP5 del análisis de componentes principales.....	38
<b>Figura 7.</b> Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP6 del análisis de componentes principales.....	39
<b>Figura 8.</b> Asociación entre variables y con el CP1 y CP7 del análisis de componentes principales.....	40
<b>Figura 9.</b> Agrupamiento de las variedades estudiadas.....	41
<b>Figura 10.</b> Asociación entre grupos resultantes del análisis de conglomerados con el CP1 y CP2 del análisis de componentes principales.....	49

## I. INTRODUCCIÓN

### **¿De qué Depende el Éxito en el Fitomejoramiento?**

Actualmente existe un gran número de accesiones de germoplasma que contiene genotipos con un alto valor agronómico, susceptibles de ser usados en los programas de mejoramiento genético; sin embargo, en muchas ocasiones el conocimiento de la organización genética y la relación existente entre el material disponible es escaso, lo que impide su utilización óptima en fitomejoramiento.

En 1943, el gobierno mexicano solicitó apoyo a la Fundación Rockefeller para el establecimiento de la Oficina de Estudios Especiales (OEE). Como primera acción se recopilaron las mejores variedades locales de trigo y se establecieron viveros en diferentes áreas de México para evaluar roya del tallo. Las primeras variedades liberadas en México fueron Supremo 211, Frontera, Kenia Rojo y Kenia Blanco. En 1949, se liberaron las primeras variedades resistentes a roya del tallo (Yaqui 48, Nasas 48 y Chapingo 48) (Borlaug, 1969). Las primeras variedades semi-enanas en México fueron Pitic 62 y Penjamo 62 (Hanson *et al.*, 1982). De esta forma se fue integrando la Colección Nacional de trigo, que comprende desde variedades criollas hasta variedades recientemente liberadas.

A la fecha, en México ha sido difícil el estudio de la colección nacional de acuerdo a su comportamiento genotípico, por lo cual se realizará un análisis a través de marcadores moleculares (SSR's y SNP's) e información fenotípica de las variedades que se han liberado en México en diferentes épocas.

Es de gran importancia para los mejoradores de plantas el estudio de la colección nacional de trigo de acuerdo a su comportamiento genotípico y fenotípico para detectar las asociaciones entre ambos caracteres e identificar fuentes donadoras de genes. Esta información permitirá la selección adecuada de los genotipos superiores en los programas de cruzamientos con miras a maximizar el comportamiento de su progenie.

## **Objetivos**

### **General**

Estudiar la colección nacional de trigo en relación con caracteres de interés agronómico y marcadores moleculares, así como la posible asociación existente entre ambos.

### **Específicos**

- Agrupar los genotipos de trigo que posean en común características específicas de interés agronómico, como tolerancia a royas, tipo de gluteninas, altura de planta, vernalización, etc.
- Asociar la información fenotípica con los marcadores moleculares para su uso como caracteres indicadores (selección asistida).
- Detectar posibles efectos de pleiotropía en los marcadores que no poseen asociación específica con los caracteres fenotípicos.

## **Hipótesis**

- a) Existen grupos de genotipos en la colección nacional que poseen genes en común de interés agronómico.
- b) Los marcadores moleculares estudiados se asocian a algunas de las características agronómicas evaluadas.
- c) Existen efectos pleiotrópicos de marcadores moleculares específicos sobre algunos de los caracteres agronómicos estudiados.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### Importancia Mundial y Nacional del Trigo

El trigo, junto con el maíz (*Zea mays* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.), es uno de los tres cultivos alimentarios más importantes del mundo. Se cultiva en una variedad de ambientes, que van desde totalmente de riego (por ejemplo, el norte de la India y Egipto), de alta precipitación (por ejemplo, el noroeste de Europa, África del este, zona sur de América Latina), y en regiones propensas a la sequía (por ejemplo, Grandes Planicies de E.U.A., la mayoría de Australia, partes de Argentina). En estas áreas la producción de trigo experimenta una serie de factores bióticos y abióticos y la mejora de los cultivos requiere un enfoque preciso de las necesidades de los cultivos en cada zona, los productores, la industria de transformación y los consumidores (Lantican *et al.*, 2002).

En México, por ejemplo, el trigo se siembra en casi todos los estados, aunque el cultivo se limita por la temperatura, cuya óptima se encuentra entre 10 y 25°C (Aguilar, 1991).

En el año agrícola 2012, de acuerdo con datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la producción promedio de trigo a nivel mundial se ubicó en 670,875,110.22 toneladas. Los cinco principales países productores de trigo en orden de importancia fueron China con una producción de 120.58 millones de t (Mt), India con 94.88 Mt, Estados Unidos de América con 61.75 Mt, Francia con 40.30 Mt y Federación de Rusia con 37.72 Mt. México ocupó el 32° lugar con una producción de 3,274,337 toneladas (FAO, 2013).

En México aproximadamente el 90% de la producción se obtiene de siembras de invierno bajo condiciones de riego en las regiones Noroeste, Norte y El Bajío; el 10% restante se obtiene en primavera–verano, en áreas de temporal. Durante el año agrícola 2012, la producción se proyectó en 3,205,340 toneladas con un rendimiento promedio nacional de 5.62 t ha<sup>-1</sup>. Únicamente Sonora cosechó más de la mitad de la producción total, produciendo 1,759,378 toneladas con un rendimiento de 6.9 t ha<sup>-1</sup>; le siguieron los estados de Baja California (473,969 t), Guanajuato (330,663 t), Chihuahua (108,604 t) y Michoacán (108,036 t) con un rendimiento de 6.0, 5.5, 5.1 y 4.6 t ha<sup>-1</sup> respectivamente (SIAP, 2013).

México es un país excedentario en trigo cristalino, en cambio, en trigo harinero de grano fuerte y medio fuerte, México es un país deficitario; la producción promedio fue apenas de 209,666 t, mientras que la importación fue de 2,362,078 t con un consumo nacional aparente de 2,571,043 t (SIAP, 2013).

### **Origen Geográfico**

El origen del trigo no se conoce con precisión, pero se supone que el cultivo inició alrededor del curso bajo del Nilo, en donde esta especie y otros granos comenzaron a cultivarse hacia los años 8,000 a 6,000 a.C. El trigo es consumido por el hombre principalmente en forma de pan y otros productos horneados y es el cereal más importante en Europa, Cercano Oriente, América del Norte y Oceanía (Robles, 1990).

Robles (1990) menciona que los trigos de panificación resultaron de la hibridación del trigo Emmer con una especie del género *Aegilops*, especie que se encuentra en forma silvestre en el oeste de Asia y sureste de Europa. El mismo autor señala que estudios hechos por Mangelsdorf, sugieren que el trigo tuvo su origen en la región que abarca el Cáucaso–Turquía–Iraq.

Producto de las excavaciones hechas en el cercano Oriente, hubo dos clases de trigo silvestre en esa región hace aproximadamente 10,000 años, en primer lugar cosechadas de la formas silvestres y, posteriormente, cultivadas por las tribus nómadas de la región. Esto constituyó el comienzo de la civilización occidental, donde los trigos implicados fueron Einkorn y Emmer silvestres.

Los arqueólogos encontraron restos de trigo escanda y carraón en yacimientos del Cercano Oriente, fechado en el VII milenio a.C. El trigo escanda se cultivaba en Egipto en el periodo predinástico y en la Europa prehistórica se combinaba con cebada y trigos carraón y común. También se descubrió pan de trigo en el sur del Turkestán en un yacimiento del VI milenio a.C., y en Cnosos (Creta) se ha desarrollado un trigo hexaploide. En la península Ibérica el cultivo de trigo debió empezar hacia el año 4,000 a.C., mientras que bajo la dominación romana fue uno de los principales productos de exportación, junto con la vid y el olivo. Los colonos españoles introdujeron el cultivo del trigo en México y los ingleses en Estados Unidos.

### **Antecedentes Históricos del Mejoramiento del Trigo**

La práctica del fitomejoramiento data desde el tiempo neolítico donde el hombre mediante la domesticación y selección aplicó los principios elementales del mejoramiento con el fin de abastecerse de alimentos y satisfacer sus necesidades. El trigo fue un cultivo importante para el hombre nómada, ya que éste le permitió arraigarse en sitios específicos y tener alimento para sus comunidades. La aplicación del fitomejoramiento en trigo a nivel mundial ha sido de gran impacto, ya que este cereal se ha extendido a la mayoría de climas propicios para la agricultura, gracias al desarrollo de variedades que se han adaptado desde climas tropicales hasta los semidesérticos o en ambientes que se ubican desde el nivel del mar hasta poco mas de 3000 msnm (Villaseñor *et al.*, 2004).

Los programas de mejoramiento genético de trigo en México, desde sus inicios a mediados de los 40's a la fecha, han trabajado durante dos ciclos agrícolas por año en ambientes ampliamente contrastantes. La selección de líneas segregantes en el invierno y verano con diferentes fotoperiodos (Borlaug, 1969) permitió la expresión y la selección de los genes *Ppd1* y *Ppd2* (Rajaram, 1995) involucrados con la insensibilidad al fotoperiodo, dando como resultado la obtención de variedades con amplia adaptación en diversas partes del mundo. La roya del tallo se controló genéticamente en 1955 gracias al efecto del gen *Sr2* derivado de la variedad Hope (Borlaug, 1969), gen que incluso a la fecha sigue siendo efectivo. La fuente de enanismo de Norin 10 permitió incorporar en los trigos mexicanos los genes *Rht1* y *Rht2* que causaron reducción en la altura de planta, y que al combinarse positivamente con los genes responsables de la insensibilidad al fotoperiodo (Rajaram, 1995), permitieron durante la década de los 60s liberar cerca de 15 variedades semienanas y enanas que superaron la barrera de las 4.5 t ha<sup>-1</sup> en el Noroeste y llegaron en ocasiones hasta 8 t ha<sup>-1</sup> (Borlaug, 1969).

Durante los años 70s y 80s la introducción de germoplasma y la recombinación genética a través de retrocruzas entre trigos de hábito de primavera con los de hábito de invierno (I x P), así como las recombinaciones entre trigo y cebada, permitieron mejorar simultáneamente para adaptación, estabilidad, rendimiento y resistencia a enfermedades, gracias a la translocación del segmento cromosómico 1BL/1RS, que acarreo genes favorables como *Lr26*, *Sr31*, *Yr9* y *PM8* (Villarreal, 1995).

Durante los 80s, siguió utilizándose el método de pedigrí, se dio más énfasis a la evaluación de poblaciones segregantes en diferentes ambientes y se intensificó aún más la recombinación del trigo con especies compatibles como *Triticum tauschii*, *Thinopyrum* spp. y *Triticum dicoccoides* (Villarreal, 1995). También, durante esta década se trabajó fuertemente para obtener resistencia horizontal o durable a la roya de la hoja, para lo cual se identificaron genes

menores de efectos aditivos; uno de los primeros genes fue el complejo *Lr13* derivado de Frontana (Rajaram *et al.*, 1988), otro gen importante fue *Lr34* derivado de Jupateco (Singh, 1992) y posteriormente el gen *Lr46* derivado de Pavón que en su conjunto confieren resistencia durable (Huerta y Singh, 2000).

Durante la década de los 90s se empieza a dejar de utilizar el método de pedigrí, por ser laborioso y caro. Se empezaron a utilizar métodos más eficientes como el masal, masal modificado y familias masivas  $F_3$ . En esta misma década se incrementó la demanda de trigo para panificación, y para satisfacer esta demanda se liberaron variedades como Eneida F94 (Solís y Salazar, 2001), de excelentes características agronómicas y calidad. También se liberaron variedades de temporal como Batán F96, que superó el rendimiento promedio en esa época, con tendencias de producir mejor en condiciones de temporal medio lluvioso a seco (Villaseñor y Espitia, 2000).

Actualmente los enfoques del mejoramiento se han perfilado a precocidad, alto rendimiento, tolerancia al acame, resistencia a royas, carbón parcial y mejorar la calidad industrial, para ello es necesario hacer uso de mayor variabilidad genética (Villaseñor *et al.*, 2004).

### **Genética Molecular y el Cultivo de Trigo**

La cantidad de información genética útil para el estudio de genes de plantas está condicionada por la variabilidad a nivel de ADN. El trigo es un hexaploide ( $2n = 6x = 42$ ) con un gran genoma (16,000 Mb / genoma haploide). Las técnicas de la biología molecular han permitido evaluar la variación genética, en función de la mutación, la selección o la deriva genética y representan una muestra de la variación a nivel del ADN, con lo que se obvia el efecto ambiental (Ahn *et al.*, 1993).

El desarrollo de la genética molecular en el cultivo de trigo ha sido relativamente lenta, en comparación con otros cultivos como el maíz, el arroz o el tomate, debido principalmente al nivel de ploidía del trigo, y al tamaño y complejidad de su genoma, al alto porcentaje de secuencias repetitivas y bajo nivel de polimorfismo (Hoisington *et al.*, 2002).

Los análisis convencionales de RFLPs en trigo han sido limitados por la necesidad de una gran cantidad de ADN y la tecnología de hibridación. Estos factores hacen que el análisis de RFLPs sea relativamente lento y costoso, además en trigo se ha observado un bajo nivel de polimorfismo al utilizar este tipo de marcadores (Gill *et al.*, 1991).

Un segundo tipo de marcadores denominados polimorfismos en el ADN amplificado al azar (RAPDs) se basa en la amplificación de ADN genómico con iniciadores de secuencias arbitrarias de generalmente diez nucleótidos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la separación de los productos de amplificación mediante electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida. El procedimiento detecta polimorfismo en la secuencia de nucleótidos con base en la amplificación utilizando un solo iniciador de secuencia arbitraria. El polimorfismo es el resultado de un cambio de base nucleotídica que altera el sitio de unión del iniciador, o una inserción dentro de la región amplificada. El polimorfismo detectado con esta clase de marcadores es determinado por la presencia o la ausencia de un producto de amplificación de un locus; esto significa también que la técnica de RAPDs tiende a proporcionar sólo marcadores dominantes; es decir, los individuos conteniendo las dos copias no son distinguibles cuantitativamente de aquellos conteniendo una sola (Tingey y del Tufo, 1993).

Los marcadores denominados secuencias simples repetidas (SSRs, por sus siglas en inglés), también llamados microsatélites, consisten en la detección de secuencias repetidas del tipo (GT) $n$ , (CT) $n$ , u otras las cuales se encuentran

presentes de manera dispersa en genomas de eucariotes con un alto grado de variación en el número de repeticiones, en diferentes individuos. Este tipo de polimorfismo es fácilmente detectable con el uso de iniciadores específicos que flanquean la región que ocupan estos loci mediante la amplificación vía la síntesis de ADN por la PCR. Las ventajas de los microsátélites sobre otro tipo de marcadores basados en sistemas de PCR, resulta de su potencial de análisis automatizado, su naturaleza codominante, la detección de alto número de alelos y alto nivel de polimorfismo. Este tipo de marcadores ha facilitado la construcción de mapas genómicos en diferentes organismos (Weissenbach *et al.*, 1992).

Otro tipo de marcadores son los SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) que representan una nueva forma de marcador funcional, es decir que con frecuencia está asociado a alguna característica fenotípica, sobre todo cuando se derivan de marcadores de secuencias expresadas. La gran mayoría de los SNPs tienen dos alelos los cuales están representados por la sustitución de una base por otra. En las poblaciones, este tipo de alelos se clasifican en alelo principal o “silvestre” y alelo raro o mutante, clasificación basada en la frecuencia observada en las poblaciones (Checa, 2007).

Aunque el uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de germoplasma y diversidad genética es limitado por el costo de los reactivos, y en algunos casos por el elevado costo de los equipos, los avances técnicos que estas tecnologías han alcanzado en los últimos años, los hacen más accesibles a los genetistas y a los programas de mejoramiento. Estos análisis son complementarios de la caracterización morfológica y agronómica del germoplasma y muy eficientes en el entendimiento de la diversidad y estructura genética de las poblaciones, especies y taxas.

## Genes Importantes en Trigo

Existen un gran número de marcadores moleculares asociados a genes o regiones del ADN de interés en trigo, en este trabajo se mencionan sólo algunos de los más importantes, que confieren en conjunto características de calidad, resistencia a enfermedades, precocidad y tolerancia al acame, todo ello con la finalidad de incrementar el rendimiento. Los marcadores que a continuación se mencionan son los evaluados en este trabajo.

### De interés para resistencia a royas

La roya de la hoja o café del trigo, causada por *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f.sp. *tritici* es una enfermedad importante, difundida por todo el mundo. El uso de la resistencia genética a la roya de la hoja es el control más económico y ambientalmente seguro (Singh *et al.*, 1998). La selección se realiza para obtener resistencia máxima a las royas y lograr nivel cercano a la inmunidad; sin embargo, en la mayoría de los casos este tipo de resistencia es de herencia simple (Huerta *et al.*, 2002). Para este tipo de resistencia, también conocida como resistencia de plántula, vertical, específica o de raza-monogénica, la selección es relativamente fácil en generaciones tempranas, su naturaleza es de raza específica y se usa contra patógenos altamente especializados; sin embargo, la duración de los genes de efectos mayores ha sido muy corta en el caso de la roya amarilla y de la roya de la hoja. De los más de 67 genes detectados de resistencia a roya de la hoja, causada por *Puccinia triticina* *Lr34*, *Lr46*, *Lr67* y *Lr68* confieren resistencia parcial, de planta adulta, horizontal o poligénica y su efecto es durable (Singh *et al.*, 2001).

La roya del tallo (roya negra) del trigo es causada por *Puccinia graminis* Pers. f.sp. *tritici*. En general, la roya del tallo está bajo control en todo el mundo. El miedo de los agricultores a la roya del tallo es comprensible, ya que un cultivo aparentemente sano tres semanas antes de la cosecha puede quedar

reducido a una maraña negra de tallos rotos y granos arrugados cuando llega el momento de la cosecha. La roya del tallo difiere de la roya de la hoja porque requiere un período más prolongado de rocío (se necesitan de 6 a 8 horas) (Roelfs *et al.*, 1992).

La roya lineal o amarilla del trigo, causada por *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*, puede ser tan destructora como la roya del tallo. No obstante, para su desarrollo requiere una temperatura óptima más baja y esto limita su propagación como enfermedad importante en muchas zonas del mundo. La roya lineal es una enfermedad grave del trigo sobre todo durante el invierno o comienzos de la primavera, o en sitios de gran altitud. La roya lineal fue descrita por primera vez en 1777 por Gadd y Bjerkander (Roelfs *et al.*, 1992).

### **Lr34**

Es uno de los genes más relevantes del mejoramiento para la resistencia a enfermedades de trigo. Está situado en el cromosoma 7DS (Suenaga *et al.*, 2003). Este gen confiere resistencia a roya de la hoja de planta adulta, que en combinación con otros genes de resistencia a roya de la hoja, contribuye a un mayor efecto de resistencia. Derivado de Jupateco (Singh, 1992), *Lr34* cosegrega con *Yr18*, gen de resistencia a la roya lineal en planta adulta. Adicionalmente, se ha observado que el locus *Lr34/Yr18* también contribuye a la resistencia parcial contra cenicienta polvoriento (*Pm38*) y se destacó la naturaleza multipatógeno del locus *Lr34/Yr18/Pm38* en el brazo corto del cromosoma 7D de trigo (Lillemo *et al.*, 2008).

Una característica morfológica de *Lr34/Yr18* es su asociación con necrosis de la punta de la hoja en la etapa de planta adulta, que se puede utilizar para identificarlo en ciertos entornos (Singh, 1992).

### **Lr46**

Derivado de la variedad Pavón, confiere resistencia durable (Huerta y Singh, 2000). La cosegregación de *Lr46/Yr29* con *Ltn2* y *Pm39* (Lillemo *et al.*, 2008) tienen semejanza con los fenotipos correspondientes al gen *Lr34/Yr18* en planta adulta, pero en plántula su efecto es más débil. *Lr46/Yr29* se localiza en el cromosoma 1BL (William *et al.*, 2003). Temperaturas cálidas y fechas de siembras muy tardías son consideradas una causa probable de la falta de efectividad del gen, ya que las temperaturas relativamente frías se consideran más favorables para la expresión de la resistencia a roya de la hoja en líneas con *Lr46* (Lagudah, 2011).

### **Lr68**

Confiere resistencia horizontal o de planta adulta a roya de la hoja (Singh *et al.*, 2001). *Lr68* se encuentra en el cromosoma 7BL (Zhang *et al.*, 2008). Este gen, anteriormente designado *LRP*, fue descrito por primera vez en el trigo harinero de primavera Parula, que es una línea desarrollada en el CIMMYT en 1981, que combina también *Lr34* y *Lr46* (William *et al.*, 2007).

### **Sr2**

La roya del tallo se controló genéticamente en 1955 gracias al efecto del gen *Sr2* derivado de la variedad Hope (Borlaug, 1969), este gen otorga resistencia de planta adulta y da como resultado una ausencia de pústulas con uredinios en los tejidos de los entrenudos; y ha sido probablemente el gen *Sr* de resistencia a roya del tallo que se ha usado con mayor frecuencia en todo el mundo desde la década de los 40s.

*Sr2* muestra paralelismos con *Lr34* y *Lr46* en que se asocia con la resistencia a múltiples patógenos. Se ha observado vinculación estrecha entre *Sr2*, *Lr27* y *Yr30* (Singh *et al.*, 2000). Las plantas de trigo con alelos *Lr27*

inactivados con mutagénesis parecen haber perdido el alelo *Sr2*, posiblemente indicando pleiotropismo (Spielmeyer *et al.*, 2009). Además de los fenotipos morfológicos de las plantas con necrosis en el ápice foliar asociados con *Lr34* y *Lr46*, la morfología de las plantas con *Sr2* está asociada con la pigmentación oscura en el pedúnculo y las glumas a menudo referida como necrosis café del trigo (Kota *et al.*, 2006).

### **De interés para la respuesta al fotoperiodo**

La respuesta al fotoperiodo en trigo es descrita como sensible cuando la floración ocurre sólo en días largos, e insensible cuando la floración se produce en cualquiera de los entornos de día largo o corto. Estudios realizados por Ortiz *et al.* (1998), realzan la importancia de las variedades de trigo insensibles al fotoperiodo, ya que estas se adaptan a una gama más amplia de entornos o localidades.

#### ***Ppd-D1a***

*PPD-D1* es el gen principal en el control de la respuesta fotoperiódica en trigo. Este gen presenta las variantes alélicas *Ppd-D1a* (insensible al fotoperiodo) y *Ppd-D1b* (sensible) y se localiza en el cromosoma 2D (Snape *et al.*, 2001), derivado de la variedad japonesa Akakomugi. Este alelo de insensibilidad (*Ppd-D1a*) tiene un efecto potente en la promoción de la floración en la ausencia de días largos y se ha extendido ampliamente en todo el mundo a las áreas donde se requiere de que el trigo floree antes de las temperaturas de desecación cálidas de la primavera y el verano, y para las zonas donde se cultiva el trigo como cultivo de invierno (día corto).

## **De interés para la reducción de la altura de planta**

La reducción en el alargamiento del tallo en las variedades modernas es causada por una respuesta limitada a la fitohormona, giberelina (AG) (Gale *et al.*, 1981), resultando en una reducción de longitud del tallo y produciendo beneficios a través de un aumento en el número de granos, además de una buena respuesta a altas dosis de fertilización nitrogenada. Así mismo, la reducción de altura de la planta en el trigo permite simultáneamente, aumentar la resistencia al acame, y por lo tanto la estabilidad del rendimiento, y el índice de cosecha (Sourdille *et al.*, 1998).

### ***Rht-B1 y Rht-D1***

Los genes de enanismo *Rht-B1b (Rht1)* y *Rht-D1b (Rht2)* se introdujeron en los cultivares comerciales de trigo provenientes de la variedad japonesa Norin10 en la década de 1960 como parte de los programas de mejoramiento de trigo en los EE.UU. y en el CIMMYT, México. Una reducción en la altura de la planta mejora la resistencia al acame y la partición de asimilados para el grano en desarrollo.

## **De interés para el requerimiento de vernalización**

Vernalización se define como la exposición a una temperatura baja durante un cierto período, es especialmente importante para algunas plantas que se originaron en las regiones templadas con el fin de garantizar la floración en la primavera y no durante los meses de invierno. Genotipos de trigo de hábitos de invierno requieren vernalización para florecer, mientras que los tipos de primavera florecen sin vernalización.

En las especies de trigo el requisito de vernalización es un determinante crítico entre los tipos de siembra de invierno, y también uno de los principales

factores genéticos para el control de la floración. Aunque la mayoría de los parientes silvestres del trigo son del tipo de invierno, el advenimiento de los tipos de primavera ha permitido la siembra de trigo en áreas de menor latitud. Debido a esta capacidad de adaptación a una amplia gama de entornos, el trigo se ha convertido en uno de los principales cultivos. En el trigo común *Triticum aestivum* L. han sido identificados tres genes de vernalización, *Vrn-A1*, *B1* y *D1* en los cromosomas 5A, 5B y 5D, respectivamente (Leonova *et al.* 2003). Colectivamente, estos tres genes se conocen como loci *Vrn-1*, la presencia de un alelo dominante en cualquier genoma confiere hábito de crecimiento de primavera, mientras que la presencia de alelos recesivos en el estado homocigótico en todos los loci *Vrn-1* confiere hábito de crecimiento de invierno. La viabilidad económica de la producción de trigo de primavera se vería fortalecido si se incrementa el potencial de rendimiento de grano, lo que podría lograrse mediante la manipulación de la composición alélica en el loci *Vrn-1* (Santra *et al.*, 2009).

### ***Vrn-A1***

Los loci principales de vernalización en el trigo se encuentran en los cromosomas 5A (*VRN-A1*, antiguamente *VRN1*) y 5D (*VRN-D1*, anteriormente *Vrn3*) (Law *et al.*, 1993).

En *Vrn-A1* se informó de tres mutaciones diferentes para conferir el hábito de crecimiento de primavera: i) inserciones dentro de la región del promotor, ii) deleciones en la región del promotor, y iii) grandes deleciones en el intrón 1. Los alelos dominantes en este locus, que se asocian con inserciones, deleciones del promotor y la deleción en intron1, se designan como *Vrn-A1a*, *Vrn-A1b* y *Vrn-A1c* respectivamente. Grandes deleciones dentro del intrón 1 de los genes *Vrn-B1* y *Vrn-D1* también dieron lugar al hábito de crecimiento de primavera. Alelos dominantes en estos loci, que están asociados con tales mutaciones, se designan como *Vrn-B1* y *Vrn-D1* (McIntosh *et al.*, 2007).

## ***Vrn-B1***

Para *Vrn-B1*, sólo se han descrito dos alelos de primavera: *Vrn-B1a* (anteriormente *Vrn-B1*) y *Vrn-B1b*, identificado en la variedad de primavera “Alpowa” (Santra *et al.*, 2009).

## ***Vrn-D1a***

Tanto los genes *Vrn-B1* como los *Vrn-D1* dominantes tienen una delección de gran tamaño dentro de su primer intrón, que se asocia con el hábito de crecimiento de primavera, pero Yan *et al.* (2004) no encontraron diferencias en las secuencias del promotor en comparación con sus respectivos alelos recesivos. Con base en el polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs), es posible detectar en la región promotora *Vrn-D1* el alelo dominante *Vrn-D1a* para el hábito de crecimiento de primavera y *Vrn-D1b* para el hábito de crecimiento facultativo.

## **De interés para el contenido de amilosa**

El almidón es el hidrato de carbono más importante en todos los cereales, constituyendo aproximadamente el 64% de la materia seca del grano completo de trigo y un 70% de su endospermo. Los hidratos de carbono presentes en el endospermo del trigo, además del almidón (60-75%), son celulosas, hemicelulosas, pentosanas, dextrinas y azúcares. El almidón está formado por dos componentes principales: amilosa (alrededor del 25%), un polímero esencialmente lineal de  $\alpha$ -(1-4) glucosa, y amilopectina (75%), una estructura ramificada al azar por cadenas  $\alpha$ -(1-4) glucosa unidas por ramificaciones  $\alpha$ -(1-6). El almidón es insoluble en agua fría. Cuando se calienta con agua, la absorbe, se hincha y revienta, este fenómeno se llama gelificación.

El contenido en amilosa afecta a la gelificación del almidón. Un alto contenido en amilosa es de interés por retrasar la digestión de la pasta. La proteína *waxy*, que está ligada a los gránulos de almidón del endospermo, está relacionada con la síntesis de amilasa. La proteína *waxy* es la amilosintetasa ligada al gránulo (Granule-Bound Starch Synthase [almidón sintasa unida al granulo], *GBSS*).

La *GBSS* es esencial para la síntesis de la amilosa y puede ser un contribuidor para la síntesis de la amilopectina. La *GBSS* también es conocida como proteína *waxy*. En trigo hexaploide, los loci *waxy* están situados en los cromosomas 7AS (*Wx-A1*), 4AL (*Wx-B1*) y 7DS (*Wx-D1*). Estos codifican para isoproteínas *waxy* con un peso molecular de 60.1, 59.2 y 59.0 KDa, respectivamente (Rodríguez *et al.*, 2003).

Se han encontrado alelos nulos para cada uno de los loci *waxy*, estos alelos nulos dan lugar a la ausencia de la isoproteína *waxy* correspondiente, resultando en una disminución en el contenido de amilosa. Durante el proceso de la molienda, el almidón se daña mecánicamente y sus componentes (amilosa y amilopectina) interactúan con el resto de componentes del grano de trigo durante el cocido, influenciando enormemente la absorción de agua y los tiempos de fermentación requeridos por las masas, así como, el enranciamiento y las propiedades de textura de la miga del pan. Una pequeña cantidad de almidón dañado es deseable en harinas para la fabricación de pan, pero no es deseable en harinas para la fabricación de galletas y pasteles porque puede reducir considerablemente la capacidad de expansión de las masas durante el proceso (Rodríguez *et al.*, 2003).

### ***GBSS (Wx-B1)***

El locus 4A originalmente se localiza en el cromosoma 7B; sin embargo, durante la evolución de trigo, se produjo una translocación recíproca, dando

lugar a un intercambio de material genético entre los cromosomas 7B y 4A. Por lo tanto, este lugar sigue siendo denominado *wx-B1* a pesar de su existencia en el cromosoma (Yamamori and Quynh, 2000).

Algunos mutantes de trigo carecen de una o más proteínas GBSS, se les llama mutantes parciales *waxy*. En líneas de trigo con mutaciones en los tres genes que codifican para GBSS, el almidón sólo está compuesto por amilopectina. Cuando uno o dos genes están mutados la cantidad relativa de amilopectina presenta incrementos de almidón comparables con los de amilosa. Los mayores efectos sobre el contenido de amilosa y la calidad se observan en el mutante *Wx-B1*, seguido de los mutantes *Wx-D1* y *Wx-A1*. El alelo silvestre *Wz-B1* no reduce el contenido de amilosa (Yamamori and Quynh, 2000).

### **De interés para el contenido de gluteninas de alto peso molecular**

La cohesividad, viscosidad y elasticidad de la masa del trigo harinero son propiedades reológicas que le confieren la fuerza y extensibilidad a la masa y, consecuentemente, determinan la calidad del producto final a obtener: panes, galletas, tortillas y pasteles. Fuerza y extensibilidad del gluten son controladas parcialmente por diversos alelos que codifican subunidades de proteínas denominadas gluteninas y gliadinas (Martínez *et al.*, 2012). Después de la reducción de los enlaces disulfuro, las gluteninas se pueden dividir en dos grandes grupos: subunidades de gluteninas de alto peso molecular (GAPM) y subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (GBPM).

Existen tres loci diferentes que se encuentran en los brazos largos del grupo de cromosomas 1 (de los tres genomas), codifican para las GAPM *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1* y en conjunto son denominados loci *Glu-1*. Cada loci se compone de dos genes de gluteninas estrechamente ligados uno del tipo X y uno del tipo Y.

Las gluteninas de alto peso molecular son las que más contribuyen a la elasticidad y fuerza de gluten, estas características se encuentran relacionadas a su vez con una alta calidad de panificación; es decir, los trigos que presentan este tipo de gluteninas de alto peso molecular, son capaces de generar panes de alto volumen (Martínez *et al.*, 2012).

### ***Glu-A1b* (subunidad Ax2\*)**

Cada loci *Glu-1* contiene dos genes, uno que codifica para el tipo de subunidad de alto peso molecular, el otro para el tipo de subunidad de bajo peso molecular. La ausencia de subunidades en algunos casos se ha demostrado que es debido a silenciamiento génico. El locus *Glu-A1* puede tener una o ninguna subunidad activas.

Las subunidades de alto peso molecular Ax1 y Ax2\* son controladas por *Glu-A1a* para la subunidad Ax1 *Glu-A1b* para la subunidad Ax2\* y *Glu-A1c* para el alelo nulo (Nakamura, 2000). Tanto las subunidades Ax1 y Ax2\* tienen efectos positivos en la calidad de fabricación de pan, el alelo nulo tiene una calidad baja (Liu *et al.*, 2008).

### ***Glu-B1a1* (subunidad BxOE)**

El locus *Glu-B1* puede codificar para ambos tipos de subunidades (de alto y bajo peso molecular) o un solo tipo de subunidad. Tanto el alelo *Glu-B1d* (Bx6+By8) como el *Glu-B1e* (Bx20+By20) tienen efectos negativos sobre características de la masa y la calidad de fabricación de pan; sin embargo, la subunidad Bx7 sobre expresada (Bx7OE) codificada por *Glu-B1a1* se asocia con una mejor fuerza de la masa de harina de trigo (Liu *et al.*, 2008).

### ***Glu-D1* (subunidad 5 +10)**

Se ha establecido que la variación alélica en el locus *Glu-D1* tiene una mayor influencia en la calidad de panificación que la variación en los otros loci *Glu-1*. Por lo general, el locus *Glu-D1* codifica ambos tipos de subunidades (de alto y bajo peso molecular). La combinación de la subunidad 5+10 para el locus *Glu-D1* (*Glu-D1* 5+10) hace una masa más fuerte que la combinación *Glu-D1* 2+12. El efecto superior del par de subunidades 5+10 en comparación con 2+12 es debido en gran parte a la presencia de un residuo de cisteína extra en la subunidad *Dx-5* en comparación con la subunidad *Dx-2*, lo cual promueve la formación de polímeros con distribución de gran tamaño (Lui *et al.*, 2008).

### **De interés para determinar la dureza del grano**

Una característica importante del grano es la textura del endospermo. En las variedades de trigo harinero hay variación en la dureza, de tal manera que se pueden clasificar variedades con grano «duro», y variedades con grano «blando». En general, las variedades de grano blando tienen un menor contenido de proteína que las de grano duro. Hay un control genético sobre la dureza, aunque las condiciones de cultivo también suelen tener su importancia. En el proceso de molienda, los trigos con grano duro dan una harina con almidón más dañado que los de grano blando, lo cual tiene importancia para la posterior utilización de la harina y suele ser beneficioso en el proceso de panificación. Espitia *et al.* (2004) señalan que es importante hacer selección para obtener grano de endospermo duro a semiduro, ya que una mayor dureza da como resultado en niveles relativamente altos de almidón dañado durante la molienda, lo cual incrementa la absorción de agua de la harina.

Turnbull y Rahman (2002) indican que se prefieren las harinas de trigos duros para hornear pan con levadura, mientras que las harinas de trigos blandos se prefieren para la fabricación de galletas y pasteles.

### ***PinA-D1a y PinB-D1a***

Las proteínas de unión a lípidos puroindolinas "a" (PINA) y "b" (PINB) han sido identificados como responsables en la determinación de las diferencias entre los trigos de textura dura y blanda. Estas proteínas son codificadas por los genes *PinA-D1* y *PinB-D1*, estrechamente vinculados al locus *Ha* en el cromosoma 5DS (Turnbull y Rahman, 2002). Estos dos genes actúan juntos en la determinación de la textura de grano. La presencia de alelos de tipo silvestre en ambos loci (*PinA-1a* y *PinB-D1a*) determina la suavidad, mientras que una delección resulta en la ausencia completa de proteínas PINA, o mutaciones de un solo nucleótido resultan en una secuencia de aminoácidos modificada o expresión nula de la proteína PINB (Morris *et al.*, 2001). La ausencia ya sea de *PinA-D1a* o de *PinB-D1a* determina un endospermo de tipo duro.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Material Genético**

La colección nacional de trigo se estima en 236 genotipos aproximadamente, de los cuales 196 son trigos harineros (*Triticum aestivum*), 19 cristalinos (*Triticum durum*) y 4 Triticales (*Triticosecale*). La colección está compuesta por genotipos semienanos y altos. Para este estudio se consideraron 150 genotipos, todos del tipo harinero. En el Apéndice A se presentan las variedades evaluadas y en la mayoría de los casos el año en que fueron liberadas.

#### **Estructura del Estudio**

El estudio se dividió en dos fases, la primera de ellas en campo, donde se evaluaron los caracteres morfológicos y de interés agronómico (información fenotípica), mientras que la segunda fase se desarrolló a nivel de laboratorio, donde se obtuvo información genotípica, mediante marcadores moleculares.

#### **Fase de campo (información fenotípica)**

##### **Sitios experimentales**

Se establecieron ensayos en dos localidades, la primera en Roque, Guanajuato, en el Campo Experimental Bajío del INIFAP, cuya localización geográfica aproximadamente es 20° 32' latitud N y 100° 48' longitud O, a una altitud de 1,752 msnm, durante el ciclo de Otoño-Invierno de 2010-2011 y de 2011-2012. La segunda localidad fue Nanacamilpa, Tlaxcala, con una

localización geográfica aproximada de 19° 30' longitud O, y una altitud aproximada de 2,950 msnm durante el ciclo agrícola de Primavera-Verano de los años 2011 y 2012.

### **Diseño y unidad experimental**

El diseño experimental corresponde a un ensayo sin repeticiones, solo para incremento y evaluación de las variedades. La unidad experimental fue de dos surcos a doble hilera de 0.75 m de ancho y 1 m de largo. La distancia entre hilos fue de 20 cm.

### **Variables medidas**

Las variables medidas fueron: 1) Días a floración (DE), contados desde la siembra hasta la exposición de 50% de espigas por unidad experimental; 2) Días a madurez (DM), contabilizados desde la siembra hasta que el 50% de las plantas de la unidad experimental adquieren un color dorado, el grano ya no se amasa fácilmente con los dedos; 3) Altura de planta (AP), medida desde la base del suelo hasta el final de la espiga, cuando la planta ya alcanzó la madurez fisiológica; 4) Roya amarilla (Yr%), se mide en porcentajes de 0 a 100 y la reacción puede ser resistente (r), moderadamente resistente (mr), moderadamente susceptible (ms) y susceptible (s).

### **Fase de laboratorio (información genotípica)**

#### **Extracción y cuantificación de ADN**

Se extrajo ADN utilizando un kit comercial de extracción de ADN genómico (ChargeSwitch gDNA Plant Kit, Invitrogen) en un robot de extracción KingFisher Flex (Thermo Scientific), con el empleo de perlas magnéticas, siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN provino de 100 mg de tejido

de la plúmula y el mesocotilo de cinco plántulas de cinco días de edad por variedad de trigo. Para cuantificar la concentración del ADN extraído se realizaron lecturas de absorbancia 260 y 280 nm en un espectrofotómetro de ultra-bajo volumen (NanoDrop 2000, ThermoScientific, Waltham, MA), considerando como valores óptimos de la relación de absorbancia 260/280 aquellos entre 1.7 y 1.9. Las extracciones de ADN se llevaron a cabo en el Laboratorio de Huella Genética del Colegio de Postgraduados y las fases subsecuentes en el Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del CIMMYT.

### **Marcadores analizados**

Se analizaron 16 marcadores moleculares, asociados a diferentes características de interés en trigo. Para royas se emplearon *Lr68*, *Lr34*, *Lr46* y *Sr2*; para gluteninas *Glu-A1b*, *Glu-B1a1* y *Glu-D1*; para altura de planta *Rht-B1* y *Rht-D1*; para fotoperiodo *Ppd-D1a*; para vernalización *Vrn-A1*, *Vrn-B1* y *Vrn-D1a*; para durezade grano *PinA-D1a* y *PinB-D1a*; y para almidón *GBSS*. De los 16 marcadores empleados 6 son de naturaleza co-dominante (*Lr34*, *Lr46*, *Sr2*, *Ppd-D1a*, *Vrn-A1* y *Glu-D1*), es decir, además de la presencia o ausencia del alelo, también amplifica para alelos heterocigotos.

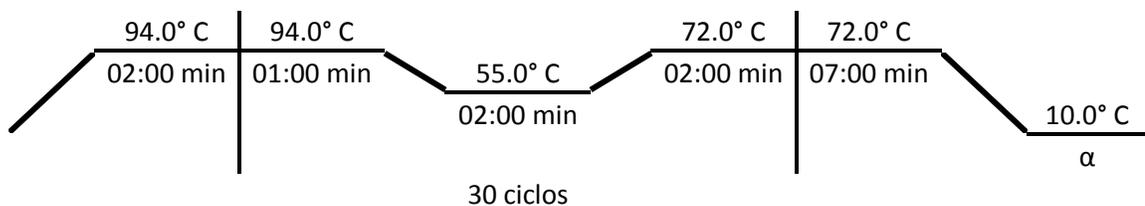
Se emplearon dos tipos de marcadores diferentes para *Glu-B1*, el TA\_BAC17 y TA\_BAC24, esto como confirmación, es decir, si hay presencia de banda con un marcador para alguna variedad también debe de haber con el otro.

### **Amplificación de fragmentos por PCR**

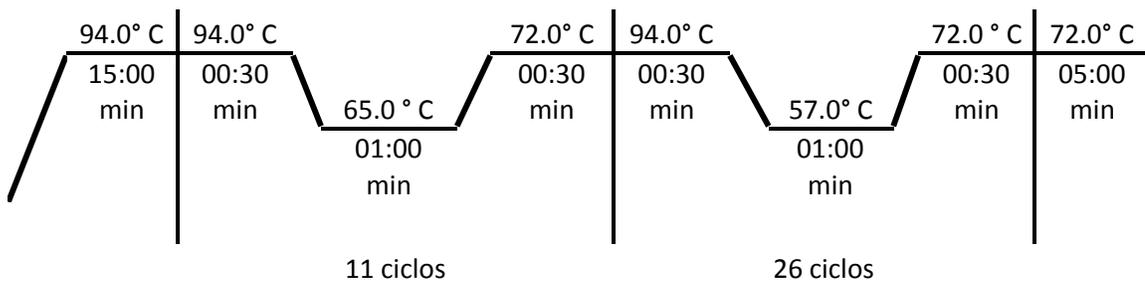
La amplificación de fragmentos se realizó por medio de PCR, la cual comprende las etapas siguientes: 1) desnaturalización inicial, 2) desnaturalización (1 ciclo), 3) °T alineamiento, 4) extensión, 6) extensión final y 7) Temperatura constante.

En las Figuras 1 y 2 se esquematizan las temperaturas y tiempos de cada uno de los pasos anteriores para SSRs y ANPs, respectivamente. Un ciclo comprende del paso 2 al 4 y en la figura se representa por las temperaturas y tiempos que están entre las líneas verticales. Se realizaron 30 ciclos para SSRs y 11 y 26 ciclos para SNPs.

Para *Glu-B1a1* se emplearon programas diferentes; con TA\_BAC17 la temperatura de alineamiento fue de 50°C y con TA\_BAC24 de 58°C.



**Figura 1.** Esquematización de ciclos para PCR de SSRs.



**Figura 2.** Esquematización de ciclos para PCR de SNPs.

La solución para PCR por reacción estuvo compuesta de:

- 0.35 µL de agua doble destilada
- 1 µL de 10xBuffer
- 0.3 µL de MgCl<sub>2</sub>

- 0.8  $\mu$ L de dNTPs
- 2.5  $\mu$ L de iniciadores
- 0.05  $\mu$ L de Taq. Polimerasa

Como particularidades, para las reacciones de los marcadores *Vrn-A1* y *Vrn-B1*, se usaron 2  $\mu$ L de Buffer de la marca Promega a una concentración de 5x; además, para el marcador *Lr68*, aparte de la amplificación de fragmentos por PCR también se realizó digestión con la enzima HAE-III.

Los reactivos empleados para SNPs consisten de tres componentes: la muestra de ADN, el Mix de iniciadores específicos y el Master Mix KASP (la mezcla KASP fue de un kit comercial de la misma marca). Es importante aclarar que para SNPs se requiere de 3 iniciadores, 2 “forward” y 1 “reverse” para cada SNP.

### **Lectura de fragmentos**

En el caso de los SSRs se utilizó electroforesis en geles de agarosa, mientras que para los SNPs se utilizó el equipo BMG de LABTECH por el método KASP y SNP line de “Kbioscience”.

En este estudio, para el análisis de datos, todos los marcadores fueron codificados como dominantes; es decir, la presencia o ausencia de la secuencia de la banda de ADN correspondiente a cada marcador se representó como 1 ó 0 respectivamente; esto debido a que sólo tres de los marcadores co-dominantes detectaron individuos heterocigotos; uno de estos marcadores detectó cuatro individuos heterocigotos de las 150 variedades, mientras que para los otros dos marcadores solo una variedad resultó heterocigota. Por lo anterior, las 5 variedades heterocigotas se consideraron como dominantes; es decir, con presencias de la banda de ADN buscada.

## Análisis Estadístico

### Análisis de componentes principales

Para este análisis se integro de manera conjunta la información fenotípica y genotípica y se realizó utilizando el programa Statistica ver. 4.5 (statSoft Inc., 1994), con el fin de reducir la dimensionalidad de las variables originales a unas cuantas variables transformadas (Manly, 1986) y establecer las relaciones entre las variables y agrupar individuos semejantes. Un primer componente principal es la combinación lineal de variables  $X_1, X_2, X_3, \dots, X_p$ , de la siguiente forma:

$$Z_i = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1p}X_p$$

donde:

$a^{ij}$  = Coeficiente o "carga" de la j-ésima variable del i-ésimo individuo.

Y están sujetas a la condición de:

$$\sum a_{ij}^2 = 1$$

Así la varianza de  $Z_i$ , es lo más grande posible dada la condición sobre las constantes  $a_{ij}$ . La condición sobre las constantes es impuesta para que la varianza de  $Z_i$  no sea aumentada solamente por elevar el valor de alguno de los  $a_{ij}$ . El segundo componente principal:

$$Z_j = a_{j1}X_1 + a_{j2}X_2 + a_{j3}X_3 + \dots + a_{jp}X_p$$

es tal que la varianza de  $Z_j$  sea lo más grande posible sujeta a la condición de:

$$\sum a_{ij}^2 = 1$$

debe además, cumplir la condición de que  $Z_i$  y  $Z_j$ ,  $i \neq j$ , no estén correlacionados.

### **Análisis de conglomerados**

Este análisis también se realizó sobre la información fenotípica y genotípica combinada con el fin de agrupar a las variedades de la colección nacional de trigo en grupos que son diferentes entre sí, utilizando el método de Ward (1963). Las distancias entre los individuos son calculadas mediante una generalización de la distancia euclidiana ( $d_{ij}$ ):

$$d_{ij} = \sqrt{\{(x_{i1} - x_{j1}) + (x_{i2} - x_{j2})\}}$$

la cual para  $p$  atributos quedará como:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

### **Comparación de medias multivariadas**

Para saber si los grupos formados son o no diferentes entre sí, se utilizó la prueba de  $T^2$ , la cual es una generalización de la prueba de  $t$  usada para comparar dos medias de una determinada variable, mientras que la  $T^2$  considera al mismo tiempo todas las variables utilizadas de la manera siguiente:

$$T^2 = n_1 n_2 (x_1 - x_2)' C^{-1} (x_1 - x_2) / (n_1 + n_2)$$

donde:

$n_1, n_2$  = Número de observaciones asociadas con los vectores de medias  $x_1$  y  $x_2$

$C$  = matriz con las estimaciones conjuntas de varianza covarianza de los  $n_1$  y  $n_2$  datos.

La significancia del valor calculado del parámetro  $T^2$  se comprobó mediante una prueba de  $F$  calculada como:

$$F = (n_1+n_2-p-1)T^2/\{(n_1+n_2-2)p\}$$

comparada con valores tabulados con  $p$  y  $(n_1+n_2-p-1)$  grados de libertad, donde “ $p$ ” representa el número de variables utilizadas en la comparación de los dos grupos de medias (Manly, 1986).

### **Análisis de Kruskal-Wallis**

La prueba de Kruskal-Wallis (también llamada la prueba  $H$ ) es una prueba no paramétrica que utiliza rangos de datos muestrales de varias poblaciones independientes. Se utiliza para probar la hipótesis nula de que las muestras independientes provienen de poblaciones iguales; la hipótesis alternativa es la aseveración de que las poblaciones no son iguales.

Intuitivamente, es idéntico al ANOVA con los datos reemplazados por categorías.

El estadístico está dado por:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \left( \frac{R_1^2}{n_1} + \frac{R_2^2}{n_2} + \dots + \frac{R_k^2}{n_k} \right) - 3(N+1)$$

donde:

$N$  = número de observaciones en todas las muestras combinadas

$K$  = número de muestras

$R_1$  = suma de los rangos de la muestra 1

$n_1$  = número de observaciones de la muestra 1

Para la muestra 2, la suma de los rangos es  $R_2$  y el número de observaciones es  $n_2$ , y se utiliza una notación similar para las otras muestras.

Puesto que el estadístico de prueba  $H$  puede aproximarse por medio de una distribución ji cuadrada, se utilizan las tablas de  $X^2$  con  $k - 1$  grados de libertad, donde  $k$  es el número de muestras diferentes.

Para este análisis se empleó la corrección de Bonferroni considerando los loci como independientes.

### **Corrección de Bonferroni**

Este procedimiento permite controlar la tasa de error por experimento cuando las comparaciones múltiples se plantean *a priori*. También se denomina prueba de Dunn, y consiste en utilizar como nivel de *alfa* para cada comparación ( $\alpha_{PC}$ ), el cociente entre el nivel de *alfa* que se quiere asumir en el experimento ( $\alpha_{PE}$ ) y la cantidad de operaciones que se realizan ( $C$ ):

$$\alpha_{PC} = \frac{\alpha_{PE}}{C}$$

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de Componentes Principales

Se retuvieron siete componentes del análisis para explicar aproximadamente el 65% de la varianza total (Cuadro 1). El primer componente explica un 16.43% de la varianza total, influenciado principalmente por tres variables agronómicas: días a floración y madurez (DF y DM) con la altura de planta (AP). En este mismo componente las variables *Sr2*, *Glu-D1*, *Ppd-D1a* y *Rht-D1* mostraron coeficientes de vector cercanos o superiores a 0.70, pero con valores positivos, asociándose positivamente entre ellas y con el componente, detectando que existe asociación negativa con las variables fenotípicas (DF, DM y AP); es decir, que los genotipos que poseen el gen para resistencia a roya del tallo (*Sr2*) presentan menor altura de planta y ciclos más precoces; así mismo, cuando se encuentran presentes los genes *Glu-D1* (subunidad 5+10), *Ppd-d1a* y *Rht-D1* (*Rht2*), se asocia con el ciclo corto y menor altura de la planta.

Lo anterior tiene sentido si se sabe que el alelo *Ppd-D1a* es el principal en el control de la respuesta al fotoperiodo en trigo (insensible al fotoperiodo), de tal forma que la presencia de este gen hace que las variedades muestren precocidad independientemente del ciclo en que son sembradas. Esto concuerda con Rajaram (1995), quien afirma que la estrategia de trabajar con dos ciclos agrícolas al año, permite seleccionar los genes *Ppd1* y *Ppd2*, obteniendo como resultado variedades de trigo con amplia adaptación.

El alelo *Ppd-D1a* se encuentra presente en 124 de las 150 variedades de trigo estudiadas en el presente trabajo. De manera similar, el menor porte de

planta de las variedades enanas o semienanas en la colección, es debido al efecto del gen *Rht-D1* (*Rht2*) más que el *Rht-B1* (*Rht1*) ya que la correlación es más fuerte entre la presencia de este gen y la altura de planta (AP). Este gen al igual que los alelos de *Glu-D1*, están presentes en el Genoma D propio de las variedades harineras; dada la asociación que hay entre *Glu-D1* y las variables con coeficientes negativos, se puede decir que las variedades de trigo que poseen el alelo 5+10 son también las variedades de ciclos más precoces y menor altura de planta.

El segundo componente, que explicó un 11.89% de la varianza total, se asoció negativamente con *Vrn-A1* y *Glu-B1a1*, lo cual indica que los genotipos que poseen estos marcadores se ubican a la izquierda de este componente. Las variables *PinB-D1a* y *Vrn-D1a* presentaron asociación positiva con el componente principal dos lo cual indica que los genotipos ubicados a la derecha del componente poseen estos genes. Shindo y Sasakuma (2002) Indican que los genotipos que poseen el gen *Vrn-A1* no requiere tratamiento de vernalización, mientras que aquellos con *Vrn-D1* requieren vernalización de 15 a 30 días. Los trigos de invierno con alelos recesivos para *Vrn-A1*, *B1* y *D1* requieren de 45 a 60 días de vernalización.

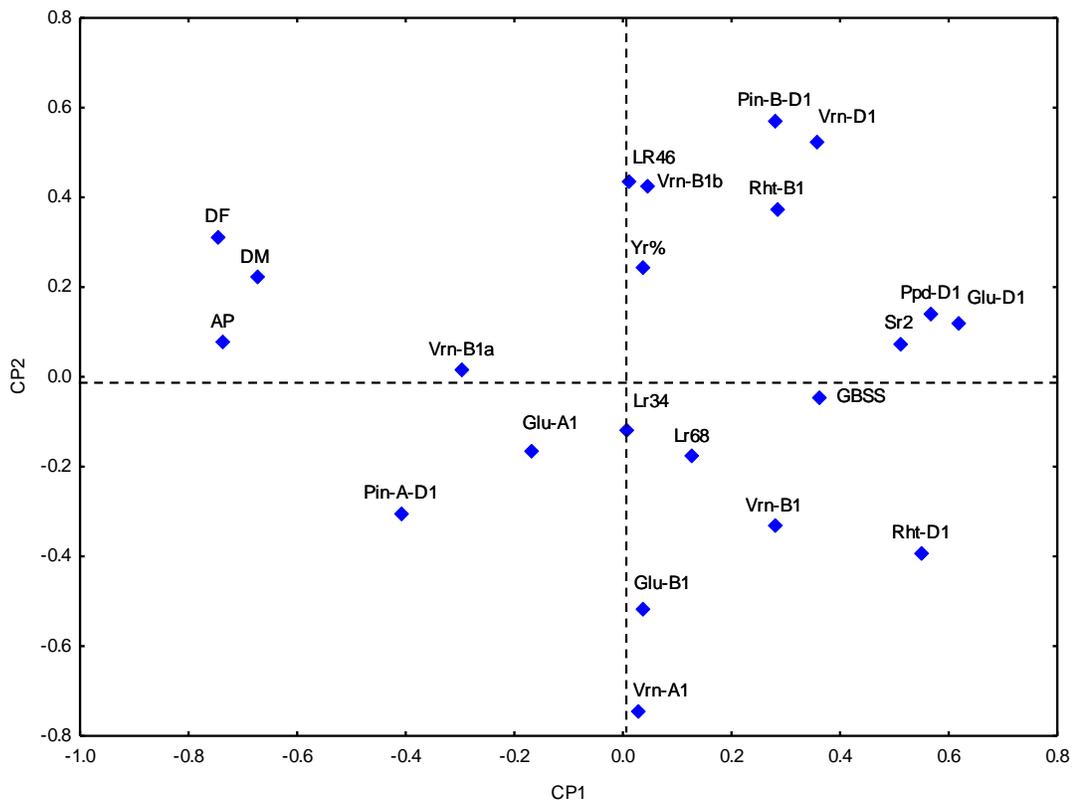
Se detectó asociación negativa entre los alelos *PinB-D1a* y *PinA-D1a*; es decir, a mayor presencia del alelo *PinB-D1a*, menor presencia de *PinA-D1a*. Lo anterior es favorable ya que la ausencia de uno de los dos genes determina la textura de grano duro y de acuerdo con Espitia *et al.* (2004), es importante la obtención de variedades con grano de endospermo duro a semiduro.

**Cuadro 1.** Vectores propios del análisis de componentes principales para las 22 variables de estudio (fenotípicas y genotípicas).

<b>Variables</b>	<b>CP 1</b>	<b>CP 2</b>	<b>CP 3</b>	<b>CP 4</b>	<b>CP 5</b>	<b>CP 6</b>	<b>CP 7</b>
<b>DF</b>	<b>-0.747</b>	0.314	0.247	-0.027	-0.040	0.054	0.360
<b>DM</b>	<b>-0.677</b>	0.224	0.250	-0.109	-0.180	0.187	0.393
<b>AP</b>	<b>-0.737</b>	0.079	0.203	-0.025	0.315	-0.201	-0.101
<b>Yr%</b>	0.034	0.245	-0.231	0.105	0.038	0.382	-0.324
<b>GBSS</b>	0.361	-0.044	0.347	0.152	0.298	-0.209	-0.031
<b>Glu-A1</b>	-0.172	-0.161	-0.336	-0.392	-0.021	-0.133	0.083
<b>Glu-B1</b>	0.033	<b>-0.512</b>	0.232	0.331	-0.250	0.256	0.189
<b>Lr68</b>	0.126	-0.175	-0.211	0.436	-0.185	-0.068	0.492
<b>Lr34</b>	0.004	-0.114	0.389	0.480	-0.327	-0.515	-0.180
<b>Lr46</b>	0.009	0.440	-0.259	0.116	0.479	-0.037	0.366
<b>Sr2</b>	<b>0.507</b>	0.077	0.103	-0.249	0.230	0.265	-0.024
<b>PinA-D1</b>	-0.409	-0.302	0.083	0.494	0.323	0.072	-0.073
<b>PinB-D1</b>	0.280	<b>0.574</b>	-0.287	0.013	0.127	-0.330	-0.123
<b>Glu-D1</b>	<b>0.615</b>	0.124	-0.061	-0.297	-0.045	0.063	0.381
<b>Ppd-D1</b>	<b>0.567</b>	0.143	0.189	0.482	-0.126	0.033	0.107
<b>Rht-B1</b>	0.283	0.376	0.194	-0.166	-0.674	0.215	-0.117
<b>Rht-D1</b>	<b>0.549</b>	-0.389	-0.367	0.242	0.254	0.080	0.207
<b>Vrn-D1</b>	0.354	<b>0.526</b>	0.172	-0.019	-0.035	-0.361	0.074
<b>Vrn-A1</b>	0.028	<b>-0.741</b>	-0.085	-0.286	0.030	0.031	-0.126
<b>Vrn-B1a</b>	-0.298	0.017	<b>-0.811</b>	0.154	-0.300	-0.147	-0.030
<b>Vrn-B1b</b>	0.042	0.428	0.286	0.345	0.226	0.453	-0.163
<b>Vrn-B1</b>	0.277	-0.330	<b>0.628</b>	-0.411	0.144	-0.180	0.151
<b>% Var</b>	16.432	11.891	10.231	8.417	6.960	5.700	5.257
<b>% VA</b>	16.432	28.323	38.554	46.971	53.932	59.632	64.889

Cargas en negritas = valores más altos en cada componente; CP = Componente Principal; DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; de GBSS a *Vrn-B1* = Gen o alelo con el nombre indicado; % Var = Porcentaje de la variación explicado por cada variable; % VA = Porcentaje de la variación acumulada.

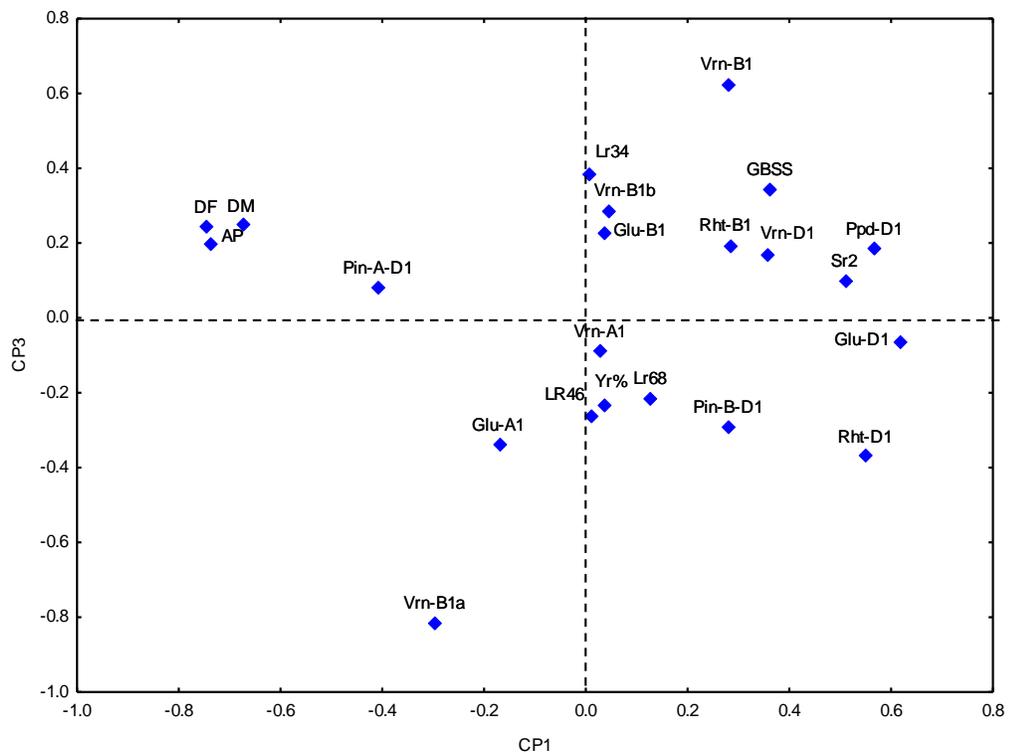
En la Figura 3 se muestran las asociaciones resaltadas en el plano cartesiano generado con los componentes principales (CP) 1 y 2. Se observa la asociación entre DF, DM y AP con valores altos negativos en el CP1 y valores positivos pero bajos en el CP2; este grupo se relacionó negativamente con las variables *Rht-D1*, *Sr2*, *Ppd-D1a* y *Glu-D1*, las cuales mostraron valores más altos y positivos en el CP1, lo que indica su asociación negativa. Las variables *Yr%*, *Glu-A1b*, *Lr68*, *Lr34* y *Vrn-B1a* tuvieron menos interacción con el resto de las variables ya que tuvieron valores bajos asociados con ambos ejes, incluso en algunos casos cercanos a cero, por lo que su contribución a los CP fue mínima.



**Figura 3.** Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP2 del análisis de componentes principales.

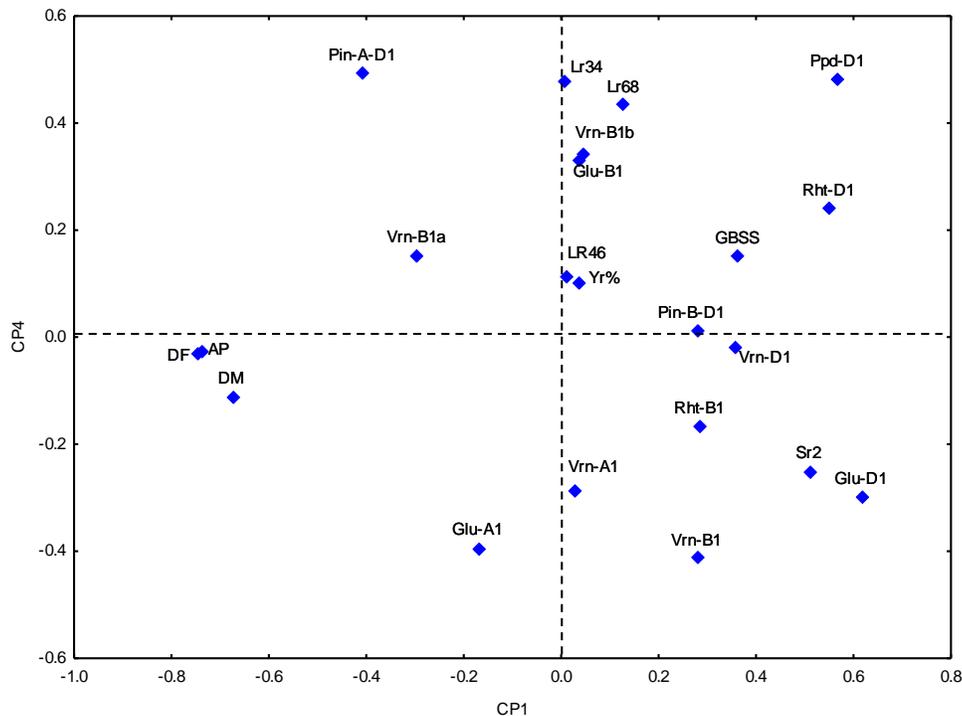
El tercer componente (Cuadro 1) detectó que las variantes alélicas *Vrn-B1a* y *Vrn-B1* tienen una relación negativa entre sí (la presencia de *Vrn-B1*, implica la ausencia de *Vrn-B1a*) lo cual pudiese asociarse con la presencia de trigos facultativos. Los resultados de SSRs para este marcador indicaron que las variedades tienen solo una de las tres variantes alélicas para este marcador (*Vrn-1* del cromosoma 5B), *Vrn-B1a* y *Vrn-B1b* son alelos encontrados en variedades de primavera, así que lógicamente las variedades que no porten estos alelos son variedades de invierno o facultativas.

En la Figura 4 se observa a *Vrn-B1* con valores altos y positivos del CP3, mientras que *Vrn-B1a* se encuentra opuestamente con valores también altos pero negativos. En este gráfico se mantiene al igual que en la Figura 3 la fuerte asociación de las variables DF, DM y AP lo que indica que de las variables evaluadas estas son las que se relacionan más estrechamente, caracterizando fuertemente al grupo de materiales evaluados.



**Figura 4.** Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP3 del análisis de componentes principales.

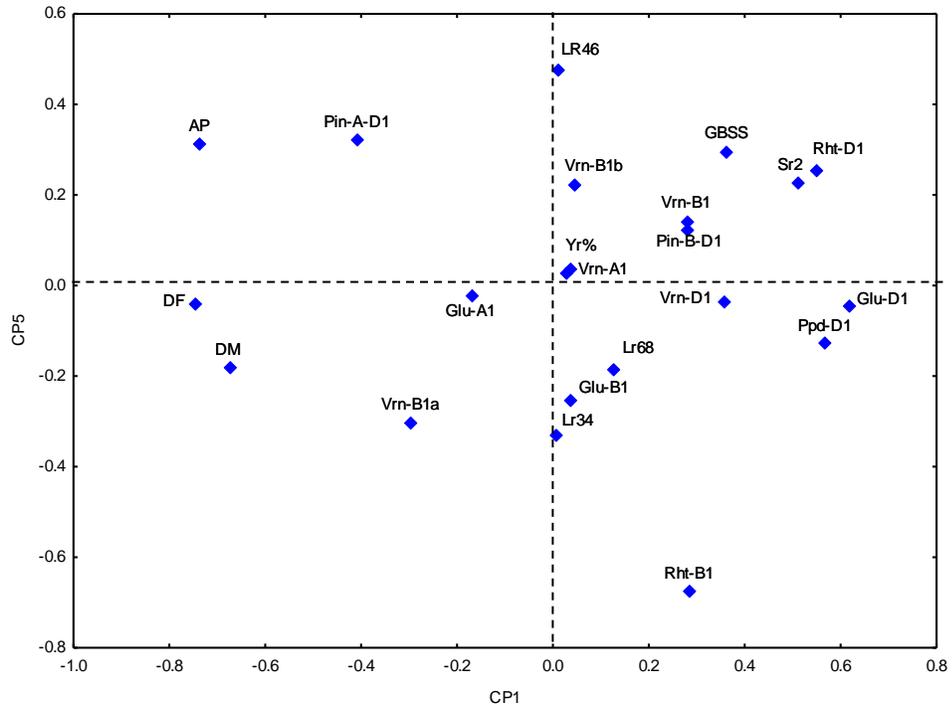
Básicamente los CP 4, 5, 6 y 7 reafirman lo detectado con los CP 1, 2 y 3. La asociación más importante detectada en el CP4 fue la de *Vrn-B1* y *Glu-A1b* que se encuentran al extremo negativo del eje de las Y, con *Lr68*, *Lr34*, *PinA-D1a* y *Ppd-D1a* que se encuentra en el extremo opuesto positivo (Figura 5). La distribución de las variables en los gráficos entre las CP1 y CP4, 5, 6 y 7 es muy similar, excepto en lo relativo a las variables DF, DM y AP, ya que al graficar el CP1 con CP5, 6 y 7 las variables correspondientes a la longitud de ciclo se separan de la de altura de planta (Figuras 6, 7, 8 y 9), acorde con lo que explican los CP 5, 6 y 7, respectivamente.



**Figura 5.** Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP4 del análisis de componentes principales.

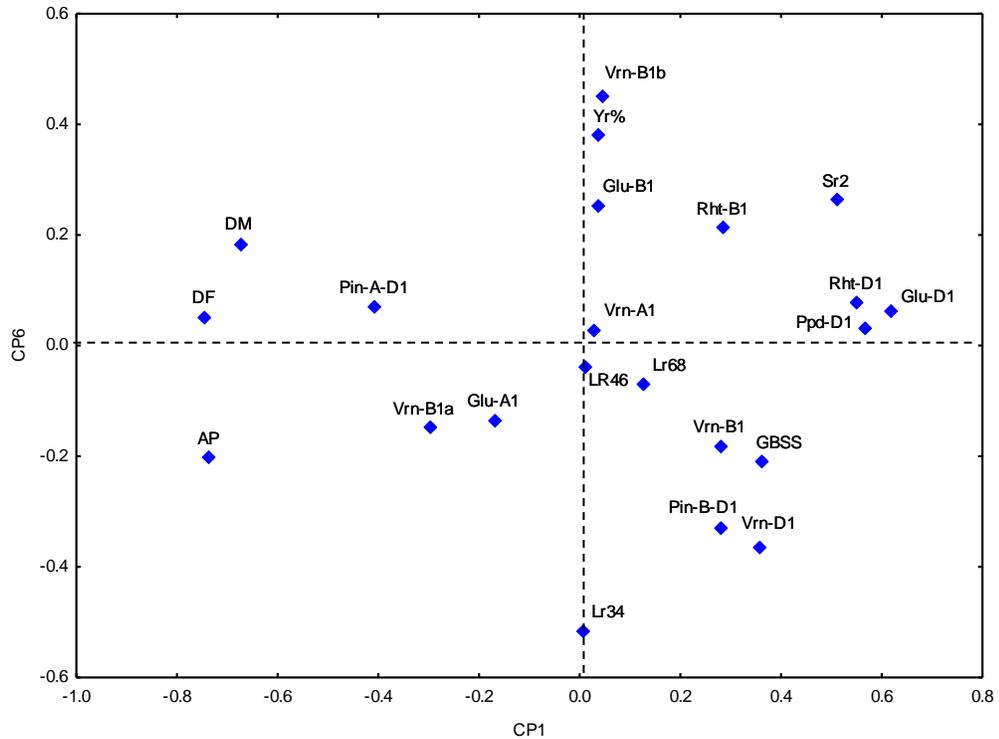
En la Figura 6 se resalta la asociación negativa entre *Lr46* y *Rht-B1*; es decir, las variedades de altura reducida no tienen resistencia a roya de hoja por medio de *Lr46* (adquieren la resistencia de otras fuentes). De hecho en esta figura se puede observar que *Rht-B1* se asocia negativamente con la mayoría de las variables, ya que se encuentra aislado en la parte negativa del CP5 (IV

Cuadrante). En esta figura se observa como la asociación entre DF, DM y AP ya no es tan fuerte.



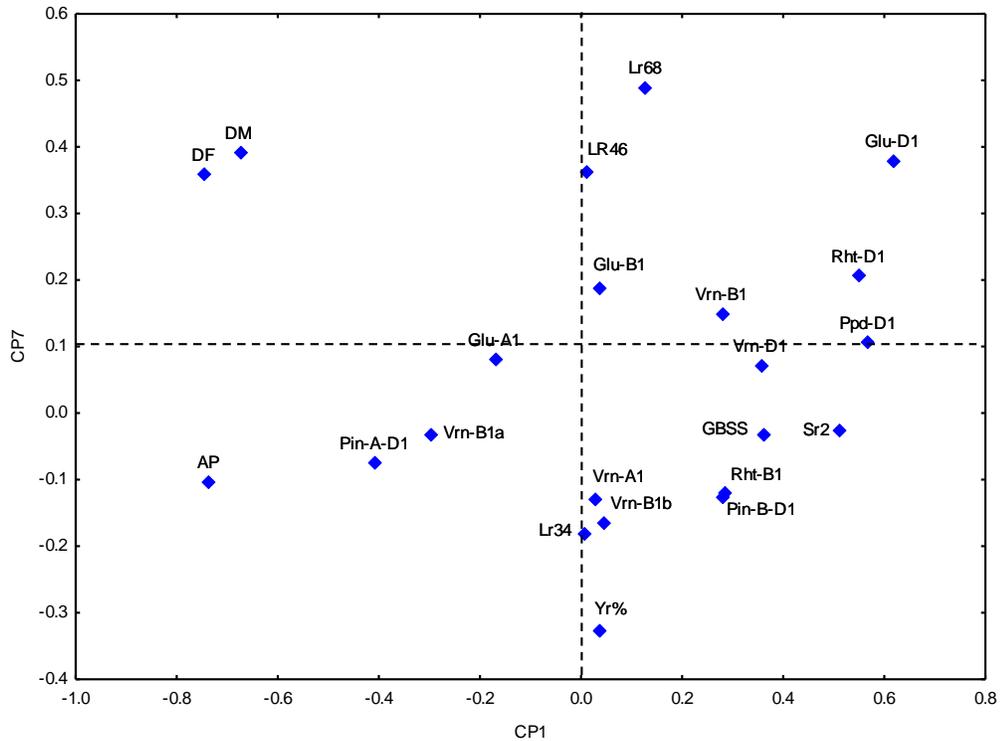
**Figura 6.** Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP5 del análisis de componentes principales

En la Figura 7 se observa el importante efecto del gen *Lr34*, ya que se encuentra en extremo opuesto a la variable Yr% (incidencia de roya lineal); es decir, los genotipos desprovistos del gen *Lr34* tienen mayor porcentaje de infección de roya; lo que resalta la importancia de incluir variedades con este gen en los programas de mejoramiento.



**Figura 7.** Relación entre variables y de éstas con el CP1 y CP6 del análisis de componentes principales

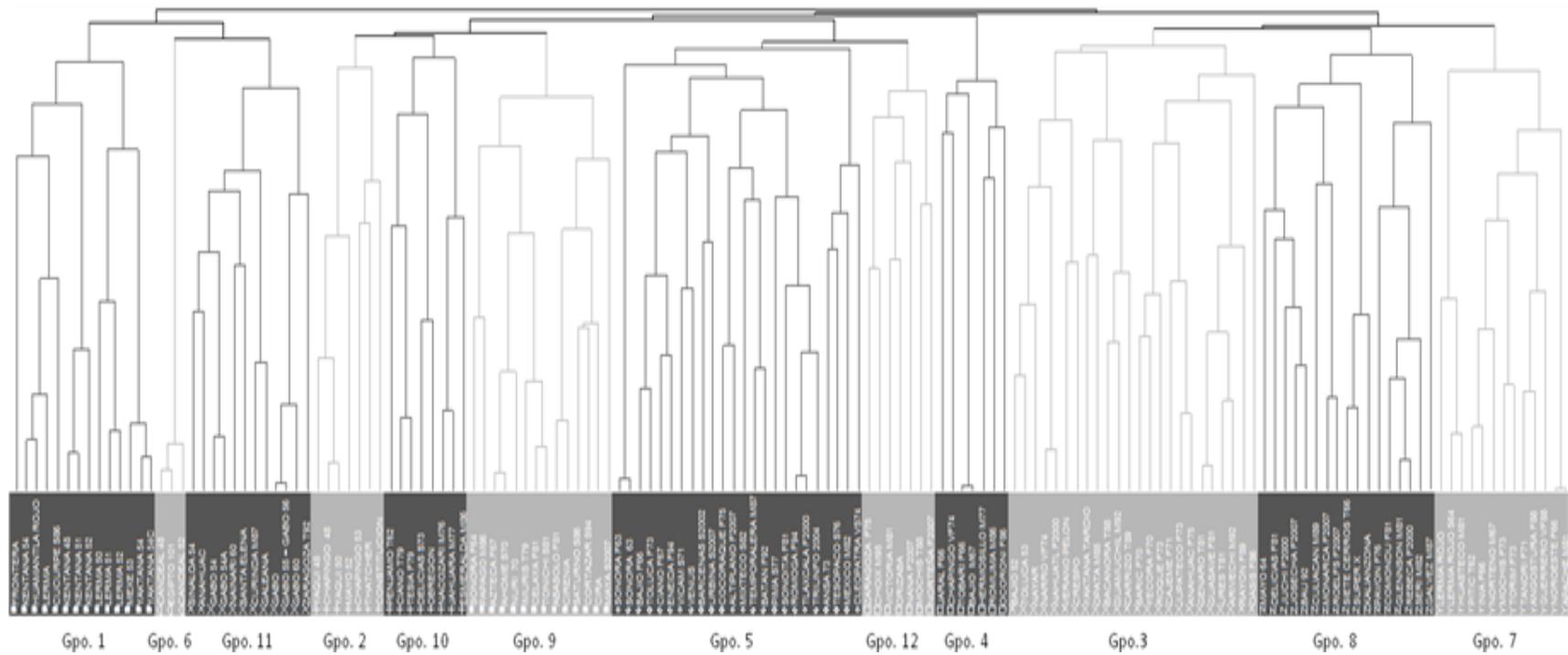
Otra asociación importante fue la detectada en el CP7, esta es de tipo positivo ya que a mayor DF y DM, mayor presencia del gen *Lr68*; es decir, las variedades que tienen un ciclo más tardío tienden a poseer con mayor frecuencia el gen *Lr68* (Figura 8).



**Figura 8.** Asociación entre variables y con el CP1 y CP7 del análisis de componentes principales

### Análisis de Conglomerados

Este análisis reveló la existencia de una gran diversidad de grupos, observándose que con 12 de ellos se discrimina de manera adecuada a las 150 variedades. Los Grupos 5 y 3 fueron los más grandes, ambos conformados por 24 variedades (Figura 9), mientras que el Grupo 6 fue el de menor tamaño, conformado solamente con tres variedades (las dos Candeales y Egipto 101). En la Figura 9 se observan los 12 agrupamientos.



**Figura 9.** Agrupamiento de las variedades estudiadas.

Las variedades que conforman cada uno de los 12 grupos de la Figura 9 se indican a continuación:

**Grupo 1:** Frontera, Kentana 48, Lerma 50, Lerma 51, Kentana 51, Kentana 52, Lerma 52, Mexe 53, Kentana 54, Yaktana 54, Yaktana 54C, Huamantla Rojo, Cucurpe S86 y Lerma.

**Grupo 2:** Yaqui 48, Chapingo 48, Yaqui 50, Mayo 52, Chapingo 53, Constitución y Thatcher.

**Grupo 3:** Bajío 52, Toluca 53, Yaktana Tardío, Saric F70, Yécora F70, Cajeme F71, Jupateco F73, Roque F73, Narro VF74, Anáhuac F75, Genaro T81, Guasave F81, Ures T81, Opata M85, Oasis F86, Bacanora T88, Carrizo T89, Rayón F89, Arivechi M92, Guamúchil M92, Náhuatl F2000, Verano Pelón, Nayar y Crespo.

**Grupo 4:** Jaral F66, Tobarí F66, Bajío M67, Chapingo VF74, Hermosillo M77, Romuma M86 y Ocoroni F86.

**Grupo 5:** Sonora F63, Sonora 63, Bajío F66, CIANO F67, Vícam S71, Ansa 73, Toluca F73, Cleopatra VS74, Cocoraque F75, Tesopaco S76, Pima S77, Sonoita F81, México M82, Mixteco S82, Temporalera M87, Eneida F94, Batán F92, Romoga F94, Tlaxcala F2000, Bárcenas S2002, Triunfo 2004, Urbina S2007, Altiplano F2007 y Venus.

**Grupo 6:** Candeal 48, Candeal 52 y Egipto 101.

**Grupo 7:** Lerma Rojo, Pitic T62, Lerma Rojo S64, INIA F66, Noroeste F66, Norteño M67, Tanori F71, Mochis F73, Torim F73, Apache M81, Huasteco M81, Guerrero VF88 y Angostura F88.

**Grupo 8:** Mayo 64, Siete Cerros T66, Super X, Pavon F76, Comondu F81, Delicias F81, Glennson M81, Seri M82, Gálvez M87, Culiacán M89, Juchi F2000, Rebeca F2000, Josecha F2007, Monarca F2007, Roelfs F2007, Kalianzona y Bau 92.

**Grupo 9:** Sonora F64, Azteca F67, Ahome S70, Nuri 70, Imuris T79, Abasolo F81, Celaya F81, Tonichi S81, Saturno S86, Pápago M86, Cortázar S94, Maya S2007, Cirenía y Cira.

**Grupo 10:** Pénjamo T62, Delicias S73, Nacozari M76, Jahuara M77, CIANO T79, Tesia F79, Esmeralda M86 y Obregón.

**Grupo 11:** Sinaloa 54, Gabo, Gabo 54, Gabos 54A, Gabo 55 = Gabo 56, Nainari 60, Gabo 60, Curinda M87, Zaragoza T92, Santa Elena, Galeana y Anahuac.

**Grupo 12:** Zaragoza F75, Victoria M81, Mochis T88, Choix M95, Norsteña F2007, Nana F2007 y Orizaba.

Dado que los valores de las variables genotípicas están representados por ceros y unos, el valor medio más alto será 1 (cuando esté presente la secuencia de ADN buscada en todas las variedades del grupo), el cual puede ser representado en porcentaje si este se multiplica por 100. En el Cuadro 2 aparecen los valores medios de cada grupo y se observa que las variedades del Grupo 5 fueron las más precoces, con un ciclo medio a floración y madurez de 74.8 y 118.6 dds respectivamente; así mismo, el gen que controla la respuesta al fotoperiodo *Ppd-D1a* se encuentra presente en 90% de las variedades de este grupo. Las variedades más tardías están ubicadas en el Grupo 6 (sin alelos *Ppd-D1a*) con una diferencia de hasta 14.3 días en el ciclo a madurez. Esto es de gran importancia ya que para algunos productores, sobre todo los que hacen uso de agua de presas, esas dos semanas pueden hacer la

diferencia entre sembrar 2 cultivos por ciclo agrícola o no hacerlo. Los Grupos 1, 3, 4, 7, 8, 9, 10 y 12 también tienen presente el alelo *Ppd-D1a* en una alta frecuencia, y sus ciclos también son considerados precoces, excepto el del Grupo 1, que contradictoriamente tiene un ciclo a floración y madurez ligeramente tardío, pero el gen *Ppd-Da1* se encuentra presente en un 100% de las variedades de ese grupo. Una posible respuesta a ese fenómeno podría ser que ese grupo tiene un alto porcentaje (70%) de variedades con el gen *Vrn-D1a*, el cual a pesar de estar asociado con variedades de hábito de primavera Zhang *et al.* (2012), también se asocia con el hábito de crecimiento facultativo (tanto de primavera como de invierno), ya que está presente en variedades que van desde hábitos de crecimiento de primavera (sin requerimiento de vernalización) hasta variedades con requerimientos de vernalización intermedia.

Otros Grupos que también tienen una frecuencia alta de alelos *Vrn-D1a* son el 3, 5, 7, 8 y 12 (100, 70, 100, 70 y 90% respectivamente). Los Grupos con alta frecuencia de alelos *Vrn-A1*, que no requieren vernalización son el 2, 4, 6, 9, 10 y 12. El 90% de las variedades del Grupo 12 presentan ambos tipos de alelos (*Vrn-D1a* y *Vrn-A1*).

En el Cuadro 2 también se observa que los grupos de mayor interés en cuanto a la altura de planta son nuevamente el 5 y 6, ya que al primer grupo corresponden las variedades de altura muy reducida, mientras que en Grupo 6 se encuentran las más altas. Así mismo, se observa que de las variedades del Grupo 6 ninguna cuenta con la presencia de los genes de enanismo, en cambio, las del Grupo 5 todas cuentan con el *Rht-D1*. Se confirman los resultados del análisis de componentes principales, que indican que el gen que influye mayormente en la altura de planta es *Rht-D1* (más que *Rht-B1*), ya que los grupos que tuvieron una alta frecuencia de este gen (4, 5, 9 y 12) fueron también los de porte más bajo, mientras que las variedades de los grupos que tuvieron presencia del gen *Rht-B1* (3, 7, 8 y 10) son ligeramente más altas.

En lo que respecta a royas, las variedades del Grupo 6 (tres variedades de las más antiguas) resultaron ser las más resistentes a la enfermedad, contando únicamente con la presencia del alelo *Lr46*, mientras que las del Grupo 8 fueron las más susceptibles. Lo anterior no concuerda con Lillemo *et al.* (2011), quienes confirman los efectos aditivos de *Lr68* con otros genes de resistencia a roya de la hoja, así como también confirman que *Lr68* muestra un efecto más fuerte que *Lr34* y *Lr46*. Otros de los grupos resistentes a la enfermedad fueron el 4 y 12, destacados por tener la presencia combinada de los alelos *Lr34*, *Lr46* y *Lr68*; sobre todo el Grupo 12, que mostró las frecuencias más altas de estos tres alelos (100% de *Lr68*, 90% de *Lr34* y 90% de *Lr46*), su porcentaje de infección fue apenas del 13.2%, el cual es muy aceptable. Los resultados concuerdan con los de Herrera-Foessel *et al.* (2012), quienes demostraron que el efecto combinado de *Lr34*, *Lr46* y *Lr68* en algunas variedades da resultados cerca de la inmunidad.

La gran mayoría de las variedades de la Colección Nacional de trigo tienen presente el gen *GBSS* (locus *Wx-B1* de tipo silvestre) que les confiere características de calidad para la industria panadera y de galletas al no reducir el contenido de amilosa, excepto las del Grupo 6; los Grupos 8, 9, 10, 11 y 12 tienen presente el gen en más del 60% de las variedades que los integran. Otro componente responsable de la calidad de harina son las gluteninas. Ninguna de las variedades del el Grupo 1 cuenta con el complejo *Glu-1* (*Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*) mientras que todas las del Grupo 4 todas tienen el gen *Glu-B1a1* (100%), el 40% de las variedades tienen presente el gen *Glu-A1b* (alelos Ax2\*) y el 60% *Glu-D1* (la subunidad 5+10 es favorable para gluteninas de alto peso molecular).

El gen *Glu-B1a1* se encontró únicamente en el Grupo 4. Los Grupos 6, 10 y 11 sólo tienen la presencia de *Glu-A1b*. En el resto de los grupos (2, 3, 5, 7, 8, 9 y 12) está presente tanto *Glu-A1b* como *Glu-D1*. En lo que se refiere a la textura o dureza del endospermo, las variedades del Grupo 1 se clasifican como

«blandas», ya que el 100% de estas tiene presente alelo *PinA-D1a* y *PinB-D1a*. También pueden considerarse «blandas» las de los Grupos 5, 9 y 11, ya que todas las variedades cuentan con *PinB-D1a* y 50, 40 y 70% respectivamente de *PinA-D1a*. El resto de los grupos (2, 3, 4, 6, 7, 8, 10 y 12) sólo tienen presente ya sea *PinA-D1a* ó *PinB-D1a*, por lo cual se les puede clasificar como variedades «duras».

**Cuadro 2.** Número de individuos y valores medios en las variables fenotípicas y genotípicas.

Variable	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	Grupo 8	Grupo 9	Grupo 10	Grupo 11	Grupo 12
<b>No. Obs.</b>	14	7	24	7	24	3	13	17	14	8	12	7
<b>DF</b>	82.5	77.9	77.9	76.4	<b>74.8</b>	85.3	76.2	78.7	75.3	75.6	80.2	77.7
<b>DM</b>	124.5	121.5	122.6	120.9	<b>118.6</b>	132.9	120.7	122.6	119.6	121.3	123.9	121.6
<b>Ppd-D1a</b>	<b>1.0</b>	0.0	<b>0.9</b>	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>	0.0	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	0.1	<b>1.0</b>
<b>AP</b>	116.7	114.3	92.4	90.6	<b>87.6</b>	<b>117.0</b>	91.1	93.5	87.9	94.3	112.7	90.0
<b>Rht-B1</b>	0.1	0.0	<b>0.8</b>	0.3	0.1	0.0	<b>0.8</b>	<b>0.9</b>	0.0	<b>0.8</b>	0.1	0.4
<b>Rht-D1</b>	0.0	0.0	0.2	<b>0.7</b>	<b>1.0</b>	0.0	0.3	0.1	<b>1.0</b>	0.1	0.0	<b>0.7</b>
<b>Yr%</b>	25.5	14.5	22.3	15.2	23.3	<b>6.8</b>	19.7	25.1	14.3	23.6	22.5	13.2
<b>Lr68</b>	0.1	0.0	0.0	<b>0.4</b>	0.3	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	<b>1.0</b>
<b>Lr34</b>	0.8	0.0	0.6	<b>0.9</b>	0.4	0.0	0.3	0.1	0.1	1.0	0.1	<b>0.9</b>
<b>LR46</b>	1.0	0.4	0.7	<b>0.4</b>	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	<b>0.9</b>
<b>Sr2</b>	0.0	0.7	0.6	0.1	0.5	0.0	0.8	0.2	0.4	0.4	0.0	0.0
<b>GBSS</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	0.0	<b>1.0</b>	0.6	<b>0.9</b>	0.6	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>
<b>Glu-A1b</b>	0.0	<b>1.0</b>	0.5	0.4	0.7	<b>1.0</b>	0.5	0.6	0.7	0.5	<b>0.9</b>	0.7
<b>Glu-B1a1</b>	0.0	0.0	0.0	<b>1.0</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>Glu-D1</b>	0.0	0.9	0.9	<b>0.6</b>	<b>0.8</b>	0.0	0.8	0.8	0.5	0.0	0.1	0.7
<b>PinA-D1a</b>	<b>1.0</b>	0.3	<b>0.1</b>	<b>0.7</b>	0.5	<b>1.0</b>	<b>0.2</b>	<b>0.1</b>	0.4	<b>0.4</b>	0.7	<b>0.3</b>
<b>PinB-D1a</b>	<b>1.0</b>	0.6	<b>0.9</b>	<b>0.3</b>	1.0	<b>0.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	1.0	<b>0.8</b>	1.0	<b>1.0</b>
<b>Vrn-D1a</b>	<b>0.7</b>	0.6	<b>1.0</b>	0.1	<b>0.7</b>	0.0	<b>1.0</b>	<b>0.7</b>	0.3	0.0	0.2	<b>0.9</b>
<b>Vrn-A1</b>	0.0	<b>1.0</b>	0.1	<b>0.7</b>	0.4	<b>1.0</b>	0.0	0.3	<b>0.9</b>	<b>1.0</b>	0.3	<b>0.9</b>
<b>Vrn-B1a</b>	0.4	0.1	0.1	0.3	1.0	1.0	0.0	0.9	0.0	0.4	1.0	0.6
<b>Vrn-B1b</b>	0.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	1.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1
<b>Vrn-B1</b>	0.2	0.9	0.9	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.6	0.0	0.3

DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; El resto de las variables = Presencia del gen o alelo con el nombre indicado.

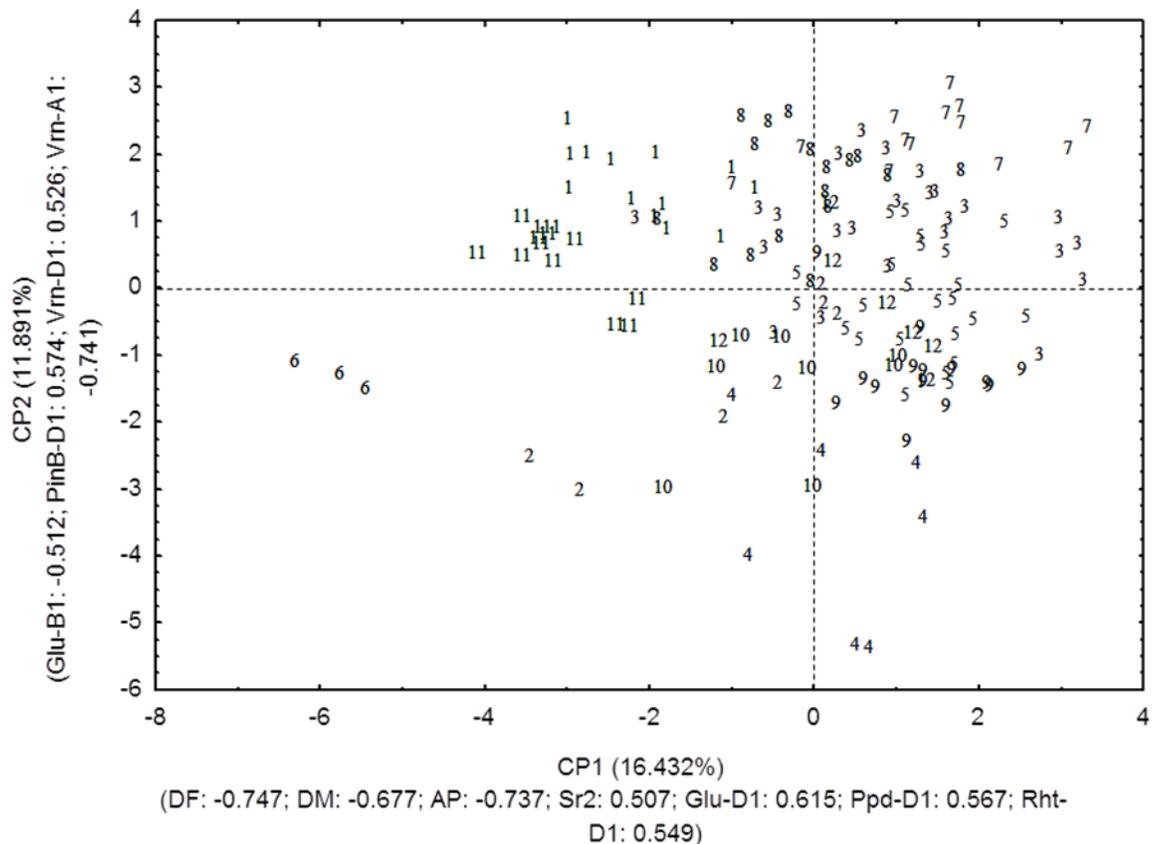
## Comparación de Medias Multivariadas

El valor de  $T^2$  y la probabilidad de F no pudieron ser calculados, ya que en los grupos generados por análisis de conglomerados, donde las variables genóticas todos los valores son ceros o unos, la desviación estándar será cero ya que los datos fueron estandarizados. Por lo anterior, se trabajó solamente con los valores medios y la prueba de t univariada. Mediante la prueba de t univariada fue posible hacer comparaciones de las medias de cada uno de los grupos generados por el análisis de conglomerados; así, se lograron identificar las variables responsables de que los grupos difieran o sean iguales.

En el Apéndice B se muestran los pares de comparaciones entre los 12 grupos y las variables tanto fenotípicas como genotípicas; en las cuales difieren. En dicho apéndice se observa que los grupos más distantes son el 1 y el 9, ya que existe diferencia entre ellos en 15 de las 22 variables de estudio. También son muy diferentes entre sí los grupos 1 con 5, 3 con 11, 4 con 11, y 7 con 11, difiriendo en 14 variables. De los grupos anteriores, el Grupo 11 fue el que apareció como grupo común diferenciado del resto en más ocasiones, se puede afirmar que es el de menor similitud con los demás. De manera contraria, los Grupos 3 y 7 son los que más se parecen, ya que difieren sólo en tres variables. Los Grupos 4 y 12 sólo difieren en cuatro variables entre sí, el Grupo 6 con el 11 difieren en cinco variables, al igual que el 10 con el 12. En general, las variables en común que diferencian a todos los grupos son días a floración (DF), días a madurez (DM) y altura de planta (AP), confirmando lo detectado por el análisis de componentes principales en su primer componente, que estuvo mayormente influenciado por los coeficientes del vector propio correspondientes a estas variables.

En la Figura 10 se observa la asociación de los grupos del análisis de conglomerados con los dos primeros componentes principales 1 y 2, que son los que aportan mayor porcentaje de la variación. Cada punto representa una

variedad y es simbolizada por el número de grupo al que pertenece. Se puede apreciar que los Grupos 1 y 9 son los más distintos entre sí; contrastan también la ubicación del Grupo 1 con respecto al Grupo 4 y del 6 con respecto al 7, pues aparecen en cuadrantes contrarios, confirmando lo aseverado anteriormente; se parecía también que los Grupos 2 y 4 quedaron muy dispersos, en tanto que el resto se encuentran relativamente cercanos. El Grupo 6 se encuentra bien definido y lejano al resto. La Figura 3, evidenció una fuerte asociación entre DF, DM y AP, e indicó que las variedades más precoces son también las de porte más bajo, en este caso se aprecia la separación marcada del Grupo 6, que son las variedades más tardías y también las más altas. Los Grupos 3, 4, 5, 7 y 9, se ubican en el lado positivo del CP1 y son también los más precoces.



**Figura 10.** Asociación entre grupos resultantes del análisis de conglomerados con el CP1 y CP2 del análisis de componentes principales.

## Análisis de Kruskal-Wallis

Se realizó un análisis de Kruskal-Wallis donde los marcadores se emplearon como factores, donde a cada marcador corresponden 2 tratamientos: uno y cero (1 y 0), que es la presencia o ausencia del alelo respectivamente. Cada uno de los marcadores (factores) se evaluó con las cuatro variables de campo (datos fenotípicos) DF, DM, AP y Yr%.

Para la descripción de los análisis se agruparon los marcadores en cuatro conjuntos; el primero (Cuadro 3) corresponde a los marcadores previamente asociados a la calidad de grano, como contenido de amilosa (*GBSS*), gluteninas (*Glu-A1b*, *Glu-B1a1* y *Glu-D1*) y dureza del endospermo (*PinA-D1a* y *PinB-D1a*).

En el Cuadro 3 no se detectaron diferencias significativas con corrección aproximada de Bonferroni para los marcadores *GBSS*, *Glu-A1b*, *Glu-B1a1*, y *PinA* y *PinB-D1a* en ninguna de las variables. Es decir, el ciclo a floración y madurez, así como la altura de planta y el porcentaje de infección de roya amarilla no se ven influenciados por la presencia de alelos *GBSS*, *Glu-A1a*, *Glu-B1a1*, *PinA-D1a* y *PinB-D1a*, los cuales están asociados a características como el contenido de almidón, de gluteninas de tipo Ax2\*, gluteninas del tipo Bx7 sobre expresado y dureza del endospermo, respectivamente. En cambio, para el marcador *Glu-D1* se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en las variables DF, DM y diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en la variable AP. Estas diferencias indican que las variedades con la presencia del alelo 5+10 (marcador *Glu-D1*), presentan ciclos a floración y madurez más cortos (76.62 y 120.77 dds respectivamente) y altura de planta reducida (92.72 cm). Estas características fenotípicas no están reportadas como relacionadas con este alelo; por lo tanto la significancia puede atribuirse a la posibilidad de pleiotropía; es decir, que el alelo responsable de conferir a los trigos de gluten fuerte características propias para la elaboración del pan de molde, también puede

influir en caracteres distintos como la reducción del ciclo a floración, madurez y la altura de planta.

**Cuadro 3.** Estadístico H y valores medios de los tratamientos para *GBSS*, *Glu-A1b*, *Glu-B1a*, *Glu-D1*, *PinA-D1a* y *PinB-D1a*.

Tratamiento (Marcador)	Variable	Estadístico H	p	p Ajustada <sup>§</sup>	Medias	
					0	1
<i>GBSS</i>	DF	6.1595	0.0131	0.2227	79.41	77.40
	DM	8.3941	0.0038	0.0646	124.29	121.37
	AP	1.2648	0.2607	1	99.29	96.14
	Yr%	0.18	0.6714	1	21.66	20.63
<i>Glu-A1b</i>	DF	0.8963	0.3438	1	77.58	77.70
	DM	0.2784	0.5978	1	121.62	121.83
	AP	0.0163	0.8985	1	96.46	96.59
	Yr%	2.2097	0.1371	1	22.27	19.67
<i>Glu-B1a</i>	DF	0.9616	0.3268	1	77.71	76.39
	DM	0.2149	0.643	1	121.78	120.86
	AP	1.9203	0.1658	1	96.83	90.64
	Yr%	1.8865	0.1696	1	21.04	15.18
<i>Glu-D1</i>	DF	<b>14.1607</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0034**</b>	79.11	76.62
	DM	<b>12.8823</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.0051**</b>	123.12	120.77
	AP	<b>8.8989</b>	<b>0.0029</b>	<b>0.0493*</b>	101.96	92.72
	Yr%	0.014	0.9057	1	20.86	20.69
					<b>Medias</b>	
					1	2
<i>PinA y B-D1a</i>	DF	0.5624	0.4533	1	77.41	78.19
	DM	0.0066	0.9354	1	121.76	121.70
	AP	6.58	0.0103	0.1751	94.20	101.66
	Yr%	0.1288	0.7197	1	20.41	21.53

\*\* = Diferencias Altamente Significativas; \* = Diferencias Significativas; DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; p = Probabilidad de  $X^2$ ; § = Corrección aproximada de Bonferroni.

El segundo conjunto (Cuadro 4) corresponde a los marcadores previamente asociados a los genes de resistencia a roya de la hoja (*Lr34*, *Lr46* y *Lr68*) y roya del tallo (*Sr2*).

No se detectaron influencias significativas en ninguna de las cuatro variables por parte de los genes asociados a roya de la hoja (*Lr34*, *Lr46* y *Lr68*), incluida entre las variables la correspondiente a roya lineal amarilla evaluada en campo (Yr%); es decir, que a pesar de que *Lr34* y *Lr46* cosegregan junto con los genes de resistencia de planta adulta a roya amarilla *Yr18* y *Yr29* respectivamente, la presencia de estos genes considerados separadamente no reducen significativamente el porcentaje de severidad en los genotipos.

De la misma manera, tampoco se detectaron diferencias significativas entre los alelos de la variable Yr% con el marcador *Sr2*, que también cosegrega con otro gen asociado a la resistencia de la roya amarilla (*Yr30*); en cambio, se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) entre los alelos de la variable DF. Estos resultados podrían indicar que los genotipos que poseen el gen *Sr2* (presencia del alelo) son más precoces en su ciclo a floración, lo que sugiere pleiotropía para el gen *Sr2*, que de ser cierto, este gen además de asociarse al control de roya del tallo, también acortaría el tiempo a floración.

**Cuadro 4.** Estadístico H y valores medios de los tratamientos para *Lr34*, *Lr46*, *Lr68* y *Sr2*.

Tratamiento (Marcador)	Variable	Estadístico H	p	p Ajustada <sup>§</sup>	Medias	
					0	1
<i>Lr34</i>	DF	0.6555	0.4182	1	77.75	77.50
	DM	0.0038	0.9512	1	121.87	121.55
	AP	0.0396	0.8423	1	95.96	97.39
	Yr%	3.3863	0.0657	1	22.76	17.86
<i>Lr46</i>	DF	2.2945	0.1298	1	76.79	77.84
	DM	0.0216	0.8833	1	121.76	121.74
	AP	0.1156	0.7338	1	95.39	96.79
	Yr%	0.3035	0.5817	1	19.91	20.95
<i>Lr68</i>	DF	0.3867	0.534	1	77.74	77.10
	DM	0.0125	0.9111	1	121.82	121.27
	AP	1.5723	0.2099	1	97.28	92.19
	Yr%	0.1612	0.6881	1	20.81	20.51
<i>Sr2</i>	DF	<b>17.4215</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	78.54	76.06
	DM	5.7471	0.0165	0.2805	122.32	120.71
	AP	8.2057	0.0042	0.0714	99.38	91.48
	Yr%	0.171	0.6793	1	20.97	20.39

\*\* = Diferencias Altamente Significativas; \* = Diferencias Significativas; DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; p = Probabilidad de  $X^2$ ; § = Corrección aproximada de Bonferroni.

El tercer conjunto (Cuadro 5) corresponde a los marcadores previamente asociados al fotoperiodo y la vernalización del trigo. Para el marcador *Ppd-D1a*, se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) entre los alelos para la variable AP, y diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) para DF; es decir, las variedades con presencia del alelo de respuesta al fotoperiodo podrían ser también más precoces y de menor altura.

Los genotipos que poseen el gen principal de vernalización (*Vrn-A1*) tienden a ser más precoces a espigamiento ( $P \leq 0.01$ ) que los genotipos que no poseen este gen. No se detectaron diferencias significativas en las variantes alelicas *Vrn-B1*, *Vrn-B1a* y *Vrn-B1b* (*Vrn-B1a* y *Vrn-B1b* son alelos de primavera) del loci *Vrn-B1*, lo cual confirma que el hábito de primavera de las

variedades de trigo mexicanas es conferido principalmente por efectos del gen *Vrn-A1*.

Para caso del marcador *Vrn-D1a*, tampoco se detectaron diferencias significativas sobre las variables fenotípicas. Este marcador identifica las variantes alelicas *Vrn-D1a* (habito de primavera) y *Vrn-D1b* (facultativo), por lo tanto, se asume que las variedades de la Colección Nacional de Trigo tanto de primavera como facultativas, presentan el mismo ciclo a floración y madurez; así mismo, tampoco se diferencian por la altura de planta y la infección de roya amarilla.

**Cuadro 5.** Estadístico H y valores medios de los tratamientos para *Ppd-D1a*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-B1a*, *Vrn-B1b* y *Vrn-D1a*.

Tratamiento (Marcador)	Variable	Estadístico H	p	p Ajustada <sup>§</sup>	Medias	
					0	1
<i>Ppd-D1a</i>	DF	<b>9.3022</b>	<b>0.0023</b>	<b>0.0391*</b>	79.49	77.26
	DM	4.446	0.035	0.595	123.86	121.30
	AP	<b>21.3037</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	110.24	93.66
	Yr%	0.5483	0.459	1	19.64	21.00
<i>Vrn-A1</i>	DF	<b>13.8463</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0034**</b>	78.46	76.50
	DM	7.621	0.0058	0.0986	122.32	120.92
	AP	2.7318	0.0984	1	97.49	95.19
	Yr%	7.141	0.0075	0.1275	22.43	18.40
<i>Vrn-B1</i>	DF	1.1429	0.285	1	77.83	77.34
	DM	0.2495	0.6174	1	121.90	121.48
	AP	1.8237	0.1769	1	97.20	95.42
	Yr%	4.6846	0.0304	0.5168	22.35	18.10
<i>Vrn-B1a</i>	DF	0.2525	0.6154	1	77.59	77.72
	DM	0.0941	0.7591	1	121.70	121.78
	AP	0.5003	0.4794	1	96.21	96.89
	Yr%	1.0184	0.3129	1	19.51	22.13
<i>Vrn-B1b</i>	DF	0.5656	0.452	1	77.55	78.20
	DM	1.2457	0.2644	1	121.65	122.26
	AP	0.7182	0.3967	1	96.24	98.24
	Yr%	2.3535	0.125	1	20.37	23.08
<i>Vrn-D1a</i>	DF	0.0239	0.8773	1	77.93	77.47
	DM	1.9481	0.1628	1	122.50	121.27
	AP	0.1416	0.7067	1	97.98	95.63
	Yr%	0.4596	0.4978	1	20.81	20.73

\*\* = Diferencias Altamente Significativas; \* = Diferencias Significativas; DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; p = Probabilidad de  $X^2$ ; § = Corrección aproximada de Bonferroni.

El cuarto conjunto está compuesto por los marcadores para identificar los genes de enanismo en trigo (Cuadro 6). En ambos genes (*Rht-B1* y *Rht-D1*) se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) entre los alelos y la variable AP, lo que indica que las variedades que portan alguno de estos genes (presencia de los alelos *Rht-B1* y *Rht-D1*) son de altura reducida (89.37 y 86.81 cm respectivamente). En promedio, las variedades que poseen el gen *Rht-D1*,

son aproximadamente 3 cm más bajas que las que poseen el gen *Rht-B1*. Para los alelos del marcador asociado gen *Rht-D1* también se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) sobre las variables DF y DM; estas diferencias indican que las variedades con altura reducida (presencia del alelo) son de igual manera las más precoces; por lo cual, se pueden atribuir efectos de pleiotropía al gen *Rht-D1*, que sugiere que al seleccionar para altura reducida a su vez se ve afectada la característica de precocidad.

**Cuadro 6.** Estadístico H y valores medios de los tratamientos para *Rht-B1* y *Rht-D1*.

Tratamiento (Marcador)	Variable	Estadístico H	p	p Ajustada	Medias	
					0	1
<i>Rht-B1</i>	DF	0.25	0.6171	1	77.86	77.32
	DM	0.9923	0.3192	1	121.60	121.96
	AP	<b>14.8982</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	101.05	89.37
	Yr%	2.0539	0.1518	1	19.91	22.12
<i>Rht-D1</i>	DF	<b>35.666</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	79.01	75.56
	DM	<b>25.4443</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	123.02	119.76
	AP	<b>48.911</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0017**</b>	102.85	86.81
	Yr%	0.0059	0.9386	1	20.35	21.39

\*\* = Diferencias Altamente Significativas; \* = Diferencias Significativas; DF = Días a Floración; DM = Días a Madurez; AP = Altura de Planta; Yr% = Roya Amarilla evaluada en campo; p = Probabilidad de  $X^2$ ; § = Corrección aproximada de Bonferroni.

## V. CONCLUSIONES

Con base en los resultados del presente estudio se concluye que:

Fue posible agrupar los genotipos de la Colección Nacional de trigo con base en características fenotípicas de interés agronómico. Las variables días a floración, días a madurez y altura de planta, fueron las que más influyeron en la agrupación, sugiriendo que fueron las variables sobre las cuales se han realizado mayores esfuerzos en el mejoramiento de esta especie en México.

De los 12 grupos formados, las variedades del Grupo 6 son las que poseen menor número de características favorables para un programa de mejoramiento, de los 13 genes favorables, sólo presenta cinco. Si se desea la obtención de variedades precoces, se deben considerar las variedades de los Grupos 5, 9 y 10 como fuentes de donación de alelos para esta característica. Las variedades de los Grupos 1, 3, 4, 5 y 12 son las indicadas para heredar el conjunto de genes *Lr68*, *Lr46*, *Lr34* y *Sr2*. Si se desea la obtención de variedades con características deseables de calidad para la industria, los Grupos 3, 4, 7, 8 y 12 son los más indicados.

Dada la falta de significancia de la relación con caracteres agronómico de los alelos previamente asociados a la calidad de trigo (*GBSS*, *Glu-A1*, *Glu-B1a1* y *PinA* y *B-D1a*), se asume que estos marcadores son específicos a ciertos caracteres propios de la calidad de harina y masa de trigo y no a las variables fenotípicas que se evaluaron en este estudio. Las diferencias significativas entre alelos del marcador *Glu-D1* con las variables DF, DM y AP pueden atribuirse a la posibilidad de pleiotropía ya que estos son marcadores específicos para otros caracteres. De la misma manera, en el caso del marcador *Sr2*, se detectaron

diferencias con la variable DF; con *Ppd-D1a* y la variable AP; y *Rht-D1* para la variable DF, por lo que se puede asumir la posibilidad de pleiotropía para estos cuatro marcadores, los cuales influyen en caracteres donde no se había reportado asociación para las variedades de la Colección Nacional.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar G., J. J. 1991. El trigo mexicano y el tratado de libre comercio. XI Seminario de Economía Agrícola del Tercer Mundo. UNAM. México, D.F. pp. 1-16.
- Ahn, S., J. A. Anderson, M. E. Sorrells and S. D. Tanksley. 1993. Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. *Molecular and General Genetics* 241: 483-490.
- Borlaug, N. E. 1969. Mejoramiento de Trigo. Su Impacto en el Abastecimiento Mundial de limentos. Vol. 2 de CIMMYT. Traducciones y Sobretiros. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. El Batán, Texcoco, Edo. de México. 40 p.
- Checa C., M. A. 2007. Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Segunda Época* 20: 213–221.
- Espitia R., E., H. E. Villaseñor M., R. J. Peña B., J. Huerta E. y A. Limón O. 2004. Calidad industrial de trigos harineros mexicanos para temporal. II. Variabilidad genética y criterios de selección. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27: 41-47.
- FAO. 2013. FAOSTAT: Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación. <http://faostat.fao.org> (consultado noviembre de 2013).

- Gale, M. D., G. A. Marshall, and M. V. Rao. 1981. A classification of the Norin 10 and Tom Thumb dwarfing genes in British, Mexican, Indian and other hexaploid bread wheat varieties. *Euphytica* 30:355–361.
- Gill, K. S., E. L. Lubbers, B. S. Gill, W. J. Raupp, and T. S. Cox. 1991. A genetic linkage map of *Triticum tauschii* (DD) and its relationship to the D genome of bread wheat (AABBDD). *Genome* 34: 362-374.
- Hanson, H. E., N. E. Borlaug y R. G. Anderson. 1982. Trigo en el Tercer Mundo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. El Batán, Texcoco, Edo. de México. 174 p.
- Herrera-Foessel., S. A., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, G. M. Rosewarne, S. K. Periyannan, L. Viccars, V. Calvo-Salazar, C. Lan, and E. S. Lagudah. 2012. Lr68: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 124: 1475-1486.
- Hoisington, D., N. Bohorova, S. Fennell, M. Khairallah, A. Pellegrineschi and J. M. Ribaut. 2002. The application of biotechnology to wheat improvement. In: Bread Wheat Improvement and Production. B. C. Curtis, S. Rajaram, and H. Gómez McPherson (eds). FAO Plant Production and Protection Series. Food And Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Available at <http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e0d.htm> (¿Fecha en que fue consultado?).
- Huerta E., J. y R. P. Singh. 2000. Las royas del trigo. In: El Trigo de Temporal en México. H. E. Villaseñor M. y E. Espitia R. (eds.). Libro Técnico Núm. 1. Campo Experimental Valle de México. INIFAP. SAGAR. Chapingo, Edo. de México. pp. 231-251.

- Huerta E., J., H. E. Villaseñor M., E. Espitia R., S. G. Leyva M., y R. P. Singh. 2002. Análisis de la resistencia a la roya de la hoja en trigos harineros para temporal. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25: 161-169.
- Kota, R., W. Spielmeier, R. A. McIntosh, and E. S. Lagudah. 2006. Fine genetic mapping fails to dissociate durable stem rust resistance gene Sr2 from pseudo black chaff in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 112: 492-499.
- Lagudah, E. S. 2011. Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. *Euphytica* 179: 81-91.
- Lantican, M. A., P. L. Pingali, and S. Rajaram. 2002. Are marginal wheat environments catching up? In: *CIMMYT World Wheat Overview and Outlook 2000–2001: Developing No-Till Packages for Small Scale Farmers*. J. Ekboir (ed.). CIMMYT, Mexico, D.F. pp. 39-44.
- Law, C. N., C. Dean, and G. Coupland. 1993. Genes controlling flowering and strategies for their isolation and characterization. In: *The Molecular Biology of Flowering*. Jordan, B. (ed). CAB International, Wallingford, UK. pp. 47-68.
- Leonova, I., E. Pestsova, E. Salina, T. Efremova, M. Roder, A. Borner and G. Fischbeck. 2003. Mapping of the Vrn-B1 gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers. *Plant Breeding* 122:209–212.
- Lillemo, M., B. Asalf, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, X. M. Chen, Z. H. He, and Å Bjørnstad. 2008. The adult plant rust resistance loci Lr34/Yr18 and Lr46/Yr29 are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 1155–1166.

- Lillemo M., R. P. Singh, M. William, S. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, S. German, P. Campos, M. Chaves, R. Madriaga, X. C. Xia, S. S. Liang, D. Liu, Z. F. Li, and E. S. Lagudah. 2011. Multiple rust resistance and gene additivity in wheat: lessons from multi-location case studies in cultivars Parula and Saar. In: Proceedings Borlaug Global Rust Initiative 2011 Technical Workshop. R. McIntosh (ed). BGRI. St. Paul, MN. pp. 111–120.
- Liu, S., S. Chao, and J. A. Anderson. 2008. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 118:177-183.
- Manly, B. F. J. 1986. *Multivariate Statistical Methods: A primer*. Ed. Chapman and Hall. London. 160 p.
- Martínez C., E., E. Espitia R., H. E. Villaseñor M. y R. J. Peña B. 2012. Contribución de los loci Glu-B1, Glu-D1 y Glu-B3 a la calidad de la masa del trigo harinero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35: 135–142.
- McIntosh, R. A., K. M. Devos, J. Dubcovsky, W. J. Rogers, C. F. Morris, R. Appels, D. J. Sommers, and O. A. Anderson. 2007. Catalogue of gene symbols for wheat: 2007 Supplement. GrainGenes: A Database for Triticeae and Avena. US Department of Agriculture. Available at: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/2007upd.html> (¿Fecha de consulta?)
- Morris, C. F., M. Lillemo, M. C. Simeone, M. J. Giroux, S. L. Babb and K. K. Kidwell. 2001. Prevalence of puroindoline grain hardness genotypes among historically significant North American spring and winter wheats. *Crop Science* 41: 218-228.

- Nakamura, H. 2000. Allelic variation at high-molecular-weight glutenin subunit Loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1, in Japanese and Chinese hexaploid wheats. *Euphytica* 112: 187-193.
- Ortiz F., G., M. G. Mosaad, V. Mahalakshmi and S. Rajaram. 1998. Photoperiod and vernalisation response of Mediterranean wheats, and implications for adaptation. *Euphytica* 100:377–384.
- Rajaram, S., R. P. Singh and E. Torres. 1988. Current CIMMYT approaches in breeding wheat for rust resistance. In: *Breeding Strategies for Resistance to the Rusts of Wheat*. N. W. Simmonds and S. Rajaram (eds.). CIMMYT. México, D. F. pp. 101-118.
- Rajaram, S. 1995. Wheat germplasm improvement: historical perspectives, philosophy, objectives, and missions. In: *Wheat Breeding at CIMMYT: Commemorating 50 Years of Research in México for Global Wheat Improvement*. S. Rajaram and J. P. Hettel (eds). Special Report No. 29. CIMMYT. México, D.F. pp. 1-10.
- Robles S., R. 1990. *Producción de Granos y Forrajes*. 5ª. ed. Ed. Limusa. México, D.F. 663 p.
- Roelfs, A. P., R. P. Singh y E. E. Saari. 1992. *Las Royas del Trigo: Conceptos y Métodos para el Manejo de esas Enfermedades*. CIMMYT. México, D.F. 81 p.
- Santra, D. K., M. Santra, R. E. Allen, K. G. Campbell, and K. K. Kidwell. 2009. Genetic and molecular characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from the Pacific Northwest region of the U.S.A. *Plant Breeding* 128:576–584.

- Shindo, C. and T. Sasakuma. 2002. Genes responding to vernalization in hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 104:1003–1010.
- SIAP, 2013. México. Agricultura, Producción anual, Cierre de la producción agrícola por estado, Trigo, Ciclo: Año agrícola 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> (Consultado noviembre de 2013).
- Singh, R. P. 1992. Genetic association of leaf rust resistance gene Lr34 with adult plant resistance and to stripe rust in bread wheat. *Phytopathology* 82: 835-838.
- Singh, R. P., A. Mujeeb-Kazi, and J. Huerta-Espino. 1998. Lr46: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88: 890-894.
- Singh, R. P., J. C. Nelson, and M. E. Sorrells. 2000. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat. *Crop Science* 40: 1148–1155.
- Singh, R. P., J. Huerta-Espino, and M. William. 2001. Slow rusting gene based resistance to leaf and yellow rusts in wheat: genetics and breeding at CIMMYT. In: *Proceedings of the 10th Assembly of the Wheat Breeding Society of Australia*. Eastwood R., G. Hollamby, T. Rathjen, and N. Gororo (eds). Wheat Breeding Society of Australia Inc. 16th-21st September, 2001. Mildura, Australia. Pp. 103-108.
- Snape, J. W., K. Butterworth, E. Whitechurch and A. J. Worland. 2001. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica* 119: 185–190.

- Solís M., E., y A. Salazar Z. 2001. Eneida F94: Nueva variedad de trigo harinero para el Bajío. *Revista Fitotecnia Mexicana* 24: 129-130.
- Sourdille, P., G. Charmet, M. Trottet, M. H. Tixier, C. Boeuf, S. Nègre, D. Barloy, D. and M. Bernard. 1998. Linkage between RFLP molecular markers and the dwarfing genes Rht-B1 and Rht-D1 in wheat. *Hereditas* 128: 41-46.
- Spielmeier, W., R. Mago, H. Simkova, J. Dolezel, S. Krattinger, B. Keller, E. Paux, C. Feuillet, J. Breen, R. Appels, R. McIntosh, R. Kota, C. Wellings, and E. Lagudah. 2009. Durable rust resistance in wheat is effective against multiple pathogens. *Plant and Animal Genomes XVII Conference*, San Diego, CA.
- StatSoft Inc. 1994. *Statistica for Windows ver. 4.5* StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma, U.S.A.
- Suenaga, K., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, and H. M. William. 2003. Microsatellite markers for genes Lr34/Yr18 and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat. *Phytopathology* 93: 881–890.
- Tingey, S. V. and J. P. del Tufo. 1993. Genetic analysis whit random amplified polymorphic DNA markers. *Plant Physiology* 101: 349-352.
- Turnbull, K.-M., and S. Rahman. 2002. Endosperm texture in wheat. *Journal of Cereal Science* 36: 327-337.
- Villarreal, R. L. 1995. Expanding the genetic base of CIMMYT bread wheat germplasm. In: *Wheat Breeding at CIMMYT. Commemorating 50 Years of Research in Mexico for Global Wheat Improvement*. S. Rajaram, and

G, P. Hettel (eds.). Wheat Special Report No. 29. CIMMYT. Mexico, D.F. pp. 16-21.

Villaseñor M., H. E. y E. Espitia R. 2000. Mejoramiento genético de trigo para temporal. In: El Trigo de Temporal en México. H. E. Villaseñor M. y E. Espitia R. (eds.). Libro Técnico Núm. 1. Campo Experimental Valle de México. INIFAP. SAGAR. Chapingo, Edo. de México. pp. 99-122.

Villaseñor M., H. E., J. Huerta E., E. Espitia R., M. Camacho C. y E. Solís M. 2004. Contribuciones de la genotecnia en el cultivo de trigo en México. Simposium Aportaciones de la Genotecnia a la Agricultura. XX Congreso Nacional Fitogenética. Toluca, Edo. de México. pp. 58-86.

Ward, J. H., Jr. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 58: 236-244.

Weissenbach, J., G. Gyapay, C. Dib, A. Vignal, J. Morissette, P. Millasseau, G. Vaysseix, and M. Lathrop. 1992. A second-generation linkage map of the human genome. *Nature* 359: 794-801.

William, M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, S. Ortiz I., and D. Hoisington. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene Lr46 and its association with stripe rust resistance gene Yr29 in wheat. *Phytopathology* 93: 153-159.

William, H. M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, and G. Rosewarne. 2007. Characterization of genes for durable resistance to leaf rust and yellow rust in CIMMYT spring wheats In: *Wheat Production in Stressed Environments*. Buck H. T., J. E. Nisi, and N. Salomón. (eds).. *Developments in Plant Breeding*. Vol 12. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 65-70.

Yan, L., M. Helguera, K. Kato, S. Fukuyama, J. Sherman and J. Dubcovsky. 2004. Allelic variation at the VRN-1 promoter region in polyploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 109:1677–1686.

Zhang, J. X., R. P. Singh, J. A. Kolmer, J. Huerta-Espino, J. Yue, and J. A. Anderson. 2008. Inheritance of leaf rust resistance in CIMMYT wheat Weebill1. *Crop Science* 48:1037–1047.

Zhang, J., Y. Wang, S. Wu, J. Yang, H. Liu and Y. Zhou. 2012. A single nucleotide polymorphism at the Vrn-D1 promoter region in common wheat is associated with vernalization response. *Theoretical and Applied Genetics* 125:1697-1704.

## VII. APÉNDICE

**Apéndice A.** Variedades de trigo harinero utilizadas en el presente estudio pertenecientes a la Colección Nacional de Trigo de INIFAP y año de liberación.

No.	Variedad	Año de Liberación
1	Frontera	1945
2	Yaqui 48	1948
3	Candeal 48	1948
4	Chapingo 48	1948
5	Kentana 48	1948
6	Lerma 50	1950
7	Yaqui 50	1950
8	Lerma 51	1951
9	Kentana 51	1951
10	Kentana 52	1952
11	Lerma 52	1952
12	Mayo 52	1952
13	Candeal 52	1952
14	Bajío 52	1952
15	Chapingo 53	1953
16	Mexe 53	1953
17	Toluca 53	1953
18	Lerma rojo	1954
19	Sinaloa 54	1954
20	Gabo	1954
21	Gabo 54	1954
22	Kentana 54	1954
23	Yaktana 54	1954

**Apéndice A. Continuación....**

<b>No.</b>	<b>Variedad</b>	<b>Año de Liberación</b>
24	Gabo 54a	1954
25	Yaktana 54c	1954
26	Yaktana Tardio	1954
27	Gabo 55 = Gabo 56	1955
28	Huamantla Rojo	1959
29	Nainari 60	1960
30	Gabo 60	1960
31	Pénjamo T62	1962
32	Pitic T62	1962
33	Sonora F63	1963
34	Lerma Rojo S64	1964
35	Mayo 64	1964
36	Sonora F64	1964
37	Sonora 63	1964
38	Bajío F66	1966
39	INIA F66	1966
40	Jaral F66	1966
41	Noroeste F66	1966
42	Siete Cerros T66	1966
43	Super X	1966
44	Tobari F66	1966
45	Azteca F67	1967
46	Bajío M67	1967
47	CIANO F67	1967
48	Norteño M67	1967
49	Ahome S70	1970
50	Nuri 70	1970
51	Saric F70	1970
52	Yécora F70	1970
53	Cajeme F71	1971
54	Tanori F71	1971
55	Vicam S71	1971
56	Ansa 73	1973
57	Delicias S73	1973
58	Jupateco F73	1973
59	Mochis F73	1973
60	Roque F73	1973
61	Toluca F73	1973

**Apéndice A. Continuación....**

<b>No.</b>	<b>Variedad</b>	<b>Año de Liberación</b>
62	Torim F73	1973
63	Chapingo VF74	1974
64	Cleopatra VS74	1974
65	Narro VF74	1974
66	Anáhuac F75	1975
67	Cocoraque F75	1975
68	Zaragoza F75	1975
69	Nacozari M76	1976
70	Pavón F76	1976
71	Tesopaco S76	1976
72	Hermosillo M77	1977
73	Jahuara M77	1977
74	Pima S77	1977
75	CIANO T79	1979
76	Imuris T79	1979
77	Tesia F79	1979
78	Abasolo F81	1981
79	Comondu F81	1981
80	Apache M81	1981
81	Celaya F81	1981
82	Delicias F81	1981
83	Genaro T81	1981
84	Glennson M81	1981
85	Guasave F81	1981
86	Huasteco M81	1981
87	Sonoita F81	1981
88	Tonichi S81	1981
89	Ures T81	1981
90	Victoria M81	1981
91	México M82	1982
92	Mixteco S82	1982
93	Seri M82	1982
94	Ópata M85	1985
95	Saturno S86	1986
96	Romuma M86	1986
97	Cucurpe S86	1986
98	Esmeralda M86	1986
99	Oasis F86	1986

**Apéndice A. Continuación....**

<b>No.</b>	<b>Variedad</b>	<b>Año de Liberación</b>
100	Ocoroni F86	1986
101	Pápago M86	1986
102	Curinda M87	1987
103	Gálvez M87	1987
104	Temporalera M87	1987
105	Guerrero Vf88	1988
106	Angostura F88	1988
107	Bacanora T88	1988
108	Mochis T88	1988
109	Carrizo T89	1989
110	Culiacan M89	1989
111	Rayón F89	1989
112	Arivechi M92	1992
113	Guamúchil M92	1992
114	Zaragoza T92	1992
115	Cortazar S94	1994
116	Eneida F94	1994
117	Choix M95	1995
118	Batán F92	1996
119	Romoga F94	1996
120	Juchi F2000	1999
121	Náhuatl F2000	1999
122	Rebeca F2000	1999
123	Tlaxcala F2000	1999
124	Bárcenas S2002	2002
125	Triunfo 2004	2004
126	Maya S2007	2007
127	Urbina S2007	2007
128	Josecha F2007	2007
129	Monarca F2007	2007
130	Norteña F2007	2007
131	Roelfs F2007	2007
132	Nana F2007	2007
133	Altiplano F2007	2007
134	Obregón	-
135	Egipto 101	-
136	Verano Pelón	-
137	Santa Elena	-

**Apéndice A. Continuación....**

<b>No.</b>	<b>Variedad</b>	<b>Año de Liberación</b>
138	Constitución	-
139	Nayar	-
140	Thatcher	-
141	Cirenia	-
142	Galeana	-
143	Anahuac	-
144	Orizaba	-
145	Kalianzona	-
146	Crespo	-
147	Lerma	-
148	Bau 92	-
149	Cira	-
150	Venus	-

"-"=No se conoce con exactitud el año de liberación (son las variedades más antiguas).

**Apéndice B.** Diferenciación de grupos y variables fenotípicas y genotípicas subyacentes.

	<b>Grupo2</b>	<b>Grupo3</b>	<b>Grupo4</b>	<b>Grupo5</b>	<b>Grupo6</b>	<b>Grupo7</b>	<b>Grupo8</b>	<b>Grupo9</b>	<b>Grupo10</b>	<b>Grupo11</b>	<b>Grupo12</b>
<b>Grupo 1</b>	DF, Yr%, Lr34, Lr46, Sr2, PinA-D1, PinB-D1, Glu-A1, Glu-D1, Vrn-A1, Vrn-B1b, Vrn-B1, Ppd-D1	DF, AP, Glu-A1, Lr46, Sr2, PinA-D1, Glu-D1, Rht-B1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-B1, Vrn-A1	FD, DM, AP, Yr%, Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Lr46, PinA-D1, PinB-D1, Rht-D1, Vrn-A1	DF, DM, AP, Glu-A1, Glu-D1, Lr34, Sr2, PinA-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-B1, Rht-D1, D1	DM, Yr%, Lr34, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Ppd-D1	DF, DM, AP, Glu-A1, Glu-D1, Lr34, Sr2, PinA-D1, Rht-B1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1b	DF, AP, GBSS, Glu-A1, Glu-D1, Lr34, Sr2, PinA-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-B1z, Vrn-B1b, Vrn-B1	DF, DM, AP, Yr%, Glu-A1, Glu-D1, Lr34, Sr2, PinA-D1, Rht-B1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-B1, Rht-D1	DF, DM, AP, GBSS, Glu-A1, Lr46, Sr2, PinA-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-B1b, Vrn-D1	GBSS, Glu-A1, Lr34, PinA-D1, Ppd-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-D1	DF, AP, Yr%, GBSS, Glu-A1, Lr68, PinA-d1, Glu-D1, Rht-D1, Vrn-A1
<b>Grupo 2</b>		AP, Glu-A1, Lr34, PinB-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-D1, Vrn-A1	AP, Glu-A1, Glu-B1, Lr34, Sr2, Rht-D1, Ppd-D1	DF, DM, AP, Lr46, PinB-D1, Ppd-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1, Rht-D1	DF, DM, Sr2, PinA-D1, Glu-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1, GBSS	AP, Glu-A1, Lr46, PinB-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-B1b, Vrn-D1, Ppd-D1	AP, Glu-A1, Lr46, Sr2, PinB-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, AP, Lr46, PinB-D1, Ppd-D1, Rht-D1	AP, Glu-A1, Lr46, Rht-B1, Ppd-D1, Vrn-D1	Lr46, Sr2, PinB-D1, Glu-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	AP, Lr34, Lr68, Sr2, Rht-D1, Ppd-D1, Vrn-B1

Apéndice B. Continuación....

	Grupo2	Grupo3	Grupo4	Grupo5	Grupo6	Grupo7	Grupo8	Grupo9	Grupo10	Grupo11	Grupo12
<b>Grupo 3</b>			Lr68, Sr2, PinA-D1, PinB-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1, Glu-D1	DF, DM, Lr68, PinA-D1, PinB-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, DM, AP, PinA-D1, PinB-D1, Glu-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-B1, GBSS, Vrn-D1	Lr46, Vrn-B1, Vrn-B1b	GBSS, Lr34, Lr46, Sr2, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrb-B1	DF, DM, Lr34, Lr46, PinA-D1, Glu-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-D1	DF, GBSS, Lr34, Lr46, Glu-D1, Vrn-A1, Vrn-D1	DF, AP, GBSS, Glu-A1, Glu-D1, Lr34, Lr46, Sr2, PinA-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	GBSS, Lr68, Sr2, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1
<b>Grupo 4</b>			Lr34, Lr46, PinB-D1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-B1, Vrn-V1a, Glu-B1	DF, DM, AP, Lr34, Rht-D1, Vrn-B1a, GBSS, Glu-B1, Ppd-D1	DF, DM, AP, Lr68, Lr34, Lr46, Sr2, PinA-d1, PinB-D1, Rht-B1, Glu-B1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrb-B1a, Vrn-B1b, Vrn-B1	Lr68, Lr34, Lr46, Sr2, PinA-d1, PinB-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, AP, Lr34, Lr46, Glu-B1, PinA-d1, PinB-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	Glu-B1, Lr68, Lr34, Lr46, PinB-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-B1	Lr68, Lr46, Glu-B1, Glu-D1, Rht-D1	DF, DM, AP, Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Lr68, Lr34, Lr46, PinB-D1, Ppd-D1, Rht-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	Lr68, Glu-B1, PinB-D1, Vrn-D1
<b>Grupo 5</b>				DF, DM, AP, Glu-D1, Ppd-D1, GBSS, PinB-D1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-D1	Lr68, Sr2, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-D1	Lr68, Sr2, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-D1	DF, DM, AP, GBSS, Lr34, PinA-D1, Rht-B1, Rht-D1	Yr%, Lr68, Lr34, Glu-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DM, GBSS, Lr34, Lr46, PinB-D1, Glu-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, DM, AP, GBSS, Lr68, Sr2, Glu-D1, Ppd-D1, Rht-D1, Vrn-D1	DF, DM, GBSS, Lr68, Lr34, Sr2, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1

Apéndice B. Continuación....

	Grupo2	Grupo3	Grupo4	Grupo5	Grupo6	Grupo7	Grupo8	Grupo9	Grupo10	Grupo11	Grupo12
<b>Grupo 6</b>						DF, DM, AP, Sr2, PinA-D1, Glu-D1, Rht-B1, GBSS, PinB-D1, Ppd-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b	DF, DM, AP, Yr%, GBSS, PinA-D1, PinB-D1, Glu-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-A1, Vrn-D1	DF, DM, AP, GBSS, PinB-D1, Ppd-D1, Rht-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, DM, AP, PinB-D1, Rht-B1, Ppd-D1, Lr34, Lr46	DF, DM, GBSS, Vrn-A1, PinB-D1	DF, DM, AP, GBSS, Lr34, Lr68, PinA-D1, PinB-D1, Glu-D1, Rht-D1, Vrn-D1, Ppd-D1
<b>Grupo 7</b>							DF, GBSS, Sr2, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b	Sr2, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-B1b	GBSS, Lr34, Lr46, Sr2, Glu-D1, Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-D1	DF, DM, AP, GBSS, Glu-A1, Sr2, PinA-Dq, Glu-D1, Ppd-D1, Rht.B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1b	GBSS, Lr34, Lr68, Sr2, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1b, Vrn-B1
<b>Grupo 8</b>								DF, DM, AP, Yr%, PinA-D1, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, Lr34, Lr46, PinA-D1, PinB-D1, Glu-D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1	AP, PinA-D1, Glu-D1, Ppd-D1, Rht-B1, Vrn-D1	Yr%, Lr68, Lr34, Rht-B1, Rht-D1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-B1

**Apéndice B. Continuación....**

	<b>Grupo2</b>	<b>Grupo 3</b>	<b>Grupo4</b>	<b>Grupo5</b>	<b>Grupo6</b>	<b>Grupo7</b>	<b>Grupo8</b>	<b>Grupo9</b>	<b>Grupo10</b>	<b>Grupo11</b>	<b>Grupo12</b>
<b>Grupo 9</b>									Lr34, Lr46, Glu-D1, Rht- B1, Rht-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	DF, DM, AP, Sr2, Glu-D1, Ppd-D1, Vrn- A1, Rht-D1, Vrn-B1a, Vrn-B1	Lr34, Lr68, Sr2, Rht-B1, Rht-D1, Vrn- D1, Vrb-B1a, Vrn-B1
<b>Grupo 10</b>										DF, DM, AP, Glu-A1, Lr34, Lr46, Sr2, Ppd-D1, Rht- B1, Vrn-A1, Vrn-B1a, Vrn-b1	Lr46, Lr68, Glu-D1, Rht- D1, Vrn-D1
<b>Grupo 11</b>											AP, Lr34, Lr68, Glu-D1, Ppd-D1, Rht- D1, Vrn-D1, Vrn-A1, Vrn- B1a