

Mapeo de QTL en línea Mutus#1 de trigo resistente a la mancha foliar

Mariel del Rosario Sánchez-Vidaña^{1,2}

Mateo Vargas-Hernández³

Xinyao He⁴

Carolina Paola Sansaloni⁴

Pawan Kumar-Singh⁴

Ana María Hernández-Anguiano^{1§}

¹Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP. 56230. ²División de Ciencias de la Vida-Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao km 9, Ex-Hacienda El Copal, Irapuato, Guanajuato. CP. 36500. (sanchez.mdr@ugto.mx). ³Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Texcoco, Estado de México. CP. 56230. (vargas-mateo@hotmail.com). ⁴Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Carretera México-Veracruz km 45, El Batán, Texcoco, Estado de México. CP. 56237. (x.he@cgiar.org; c.sansaloni@cgiar.org; pk.singh@cgiar.org).

§Autora para correspondencia: ahernandez@colpos.mx.

Resumen

La mancha foliar del trigo causada por *Zymoseptoria tritici* es una enfermedad devastadora en el cultivo de trigo a nivel internacional. El control químico y el uso de variedades resistentes son las principales estrategias de control. El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), cuenta con líneas de trigo con resistencia cuantitativa a la enfermedad por lo que el objetivo fue hacer un mapeo de loci para un carácter cuantitativo (QTL) asociados con la resistencia genética a la mancha foliar en la línea élite Mutus#1 (resistente), en una población de 275 líneas endogámicas recombinantes (LER) derivadas de la cruce de Mutus#1 con la línea élite Huirivis#1 (susceptible). En 2018 y 2019, en la estación del CIMMYT-Toluca se estableció un experimento en campo bajo un diseño experimental Alpha Lattice. Se generó una epidemia artificial con *Z. tritici* y se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Las 275 LER y los progenitores se secuenciaron utilizando la plataforma DArTSeq. Los mapas de ligamiento se construyeron con el programa IciMapping empleando la información del fenotipo y genotipo. Se identificaron cinco QTL de efecto menor, tres ubicados en los cromosomas 1B, 4A y 4B y dos en el cromosoma 5B, los cuales explicaron menos de síntomas y producción de picnidios en planta adulta portados por Mutus#1, pueden utilizarse con otros genes de resistencia o QTL para reducir la selección de nuevas cepas patogénicas de *Z. tritici*.

Palabras clave: *Mycosphaerella graminicola*, *Triticum aestivum*, *Zymoseptoria tritici*

Recibido: junio de 2022

Aceptado: septiembre de 2022

Introducción

La mancha foliar (septoriosis o tizón foliar) por *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous (sin. *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*) (Mirdita *et al.*, 2015) es una enfermedad que afecta negativamente el rendimiento y la calidad del grano del trigo (*Triticum aestivum* L.) (Castro *et al.*, 2015; Torriani *et al.*, 2015). Se considera una enfermedad foliar devastadora en las regiones trigueras con alta precipitación de África, Estados Unidos de América, Europa, el Mediterráneo y Sudamérica donde puede generar importantes pérdidas en rendimiento, dependiendo del año y la variedad de trigo (Mehta, 2014).

Entre las estrategias de control de la mancha foliar se encuentran las prácticas culturales, el control biológico y el control químico (Mehta, 2014; Ghaffary *et al.*, 2018; Sánchez-Vidaña *et al.*, 2020). Sin embargo, estas estrategias han resultado complicadas para el control de la enfermedad debido a la alta variabilidad genética y capacidad de adaptación biológica a la presión selectiva de fungicidas que presenta *Z. tritici* (Estep *et al.*, 2015; Ghaffary *et al.*, 2018) que le permiten superar las condiciones adversas durante el desarrollo del cultivo. Aunado a lo anterior, el control químico de la enfermedad es costoso.

Por ejemplo, en Europa se destinan aproximadamente 70% de los recursos del costo de producción solamente para su control (Torriani *et al.*, 2015). Por lo anterior, el uso de variedades de trigo con resistencia a la mancha foliar es considerada como la mejor alternativa viable de control de la enfermedad (Brown *et al.*, 2015; Sánchez-Vidaña *et al.*, 2020).

En el trigo se pueden encontrar dos tipos de resistencia a *Z. tritici*. La resistencia cualitativa (monogénica o vertical) y la resistencia cuantitativa (poligénica, horizontal o parcial) (Orton *et al.*, 2011; Dreisigacker *et al.*, 2015). En la última década se han identificado 21 genes (*Stb*) que confieren resistencia cualitativa y 167 loci para un carácter cuantitativo, por sus siglas en inglés (QTL) en 19 poblaciones biparentales de mapeo, que otorgan resistencia cuantitativa (Gurung *et al.*, 2014; Brown *et al.*, 2015).

Es por ello por lo que se está trabajando en la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia con características agronómicas deseables (Braun y Payne, 2013; Villaseñor-Mir, 2015; Piñera-Chávez *et al.*, 2017), mediante el uso de técnicas eficientes de mejoramiento, como la selección asistida por marcadores moleculares, el piramideo de genes de resistencia y la identificación de QTL menores (Chartrain *et al.*, 2004; Torriani *et al.*, 2015).

Actualmente, aunque existe una gama de líneas de trigo con rendimiento agronómico aceptable y con al menos un gen *Stb* o QTL que confiere resistencia a la mancha foliar (Simón *et al.*, 2016), se carece de líneas con resistencia durable, completa y de amplio espectro (Raman y Milgate, 2012). La línea élite Mutus#1 del CIMMYT presenta alta resistencia por lo que, el objetivo del estudio fue hacer un mapeo de QTL asociados con la resistencia genética a la mancha foliar en la línea élite Mutus#1 de trigo.

Materiales y métodos

Material genético y ensayos en campo

Se establecieron 275 LER $F_{2:7}$ durante el ciclo primavera-verano (mayo-septiembre) de 2018 y 2019, en la estación experimental del CIMMYT-Toluca, Estado de México (19° 23' latitud norte y 99° 54' longitud oeste a una altura de 2 600 msnm), con clima templado subhúmedo, lluvias en verano (Cwb), García (2004), temperatura promedio mínima de 11°C y máxima de 22 °C y 800 mm de precipitación anual promedio. Las LER, derivadas de la cruce entre las líneas elite Huirivis#1 (progenitor femenino susceptible) y Mutus#1 (progenitor masculino resistente) se generaron en 2008, mediante el método de descendencia de semilla única (Knott y Kumar, 1974).

Estos progenitores portan la siguiente información. Historial de selección: Huirivis#1, CMSS97M03642T-040Y-020Y-030M-020Y-040M-7Y-3M-0Y y Mutus#1, CMSS97M03689T-040Y-030M-020Y-030M-015Y-38M-1Y-1M-0Y. Genealogía: Huirivis#1, Hoopoe/Tanager//Veery/3/2*Papago-89M86/4/Milan/5/Super-Seri#1 y Mutus#1, MILAN/S87230/4/BOW/NAC//VEE/3/BJY/COC (Osman *et al.*, 2015). Las LER y sus progenitores se sembraron en surcos de 65 m de largo divididos en parcelas de 0.75 m (área de siembra), con espaciamiento entre parcelas de 0.5 m. La unidad experimental constó de dos surcos donde se sembraron 4 g de semilla a chorrillo a 6 cm de profundidad.

De acuerdo con Eyal *et al.* (1987) se preparó una mezcla con seis cepas patogénicas de *Z. tritici*: St1 (B1), St2 (P8), St5 (OT), St6 (KK), 64 (St 81.1) y 86 (St 133.4), aisladas de hojas de trigo con mancha foliar, para utilizarse como inóculo (1×10^7 esporas ml^{-1}) en la inoculación de plantas. A los 40 días después de la siembra se hizo una primera inoculación seguida por dos inoculaciones más (a los 7 y 14 días después de la primera inoculación). En cada inoculación se asperjaron 2.11 ml de suspensión de esporas por la línea de trigo con un pulverizador portátil para aplicación a bajo volumen Ulva+[®] Micron sprayers (Herefordshire, Reino Unido, Inglaterra).

Evaluación fenotípica

El desarrollo de la severidad de la mancha foliar se evaluó con las escalas de Saari-Prescott 0-9, y doble dígito 00-99 (Eyal *et al.*, 1987) a los 21 días después de la última inoculación (ddi) y posteriormente, cada semana durante 21 días. La severidad se estimó con la fórmula: severidad (%) = $(D1/9) \times (D2/9) \times 100$. Donde: el primer dígito (D1) representa la altura de la dispersión vertical de la enfermedad y el segundo dígito (D2), la severidad en función del área de la hoja sintomática.

Asimismo, se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) con la ecuación propuesta por Shaner y Finney (1977). $ABCPE = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(Y_i + Y_{(i+1)})}{2} \times (t_{(i+1)} - t_i) \right]$. Donde: Y_i = severidad de la enfermedad en el tiempo t_i ; $t_{(i+1)} - t_i$ = tiempo del intervalo en días entre dos evaluaciones de la enfermedad; n = número total de evaluaciones de la enfermedad; i = i -ésima observación. También se registraron las variables agronómicas días a espigamiento, cuando más de 50% de las plantas presentaron más de 50% de las espigas fuera de la hoja bandera, altura de planta, longitud en cm entre la base del suelo y la punta de la espiga, excluyendo las aristas y peso de mil granos (g), medido en una balanza granataria digital OHAUS[®], Modelo CT200 (Florham Park, Nueva Jersey, USA).

Diseño experimental y análisis estadístico

La siembra se realizó de acuerdo con un diseño Alpha Lattice (Bloques Incompletos) (Patterson y Williams, 1976) con dos repeticiones; cada bloque, constó de 20 unidades experimentales. A los datos obtenidos se les calcularon los mejores estimadores lineales e insesgados o medias ajustadas por mínimos cuadrados (BLUEs, Best Linear Unbiased Estimator), los componentes de varianza, el error estándar promedio de las diferencias, la gran media (GMedia), la diferencia mínima significativa y el coeficiente de variación (%).

Para esto se usó el modelo mixto correspondiente al diseño experimental y análisis espacial usando una estructura de covarianza autorregresiva de orden 1, en ambas direcciones, hileras y columnas. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre el ABCPE y las variables de días a espigamiento, altura y peso de mil granos con el procedimiento PROC CORR. Todos los análisis se hicieron con el software SAS® (Versión 9.4).

Extracción de ADN

La toma y preparación de muestras fue de acuerdo con la metodología propuesta por Dreisigacker *et al.* (2016). El ADN se extrajo de hojas de 10 días de edad crecidas en invernadero con el método de bromuro de cetiltrimetilamonio, Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Delobel *et al.*, 2012). El ADN se recuperó en 100 μ l de TE buffer (0.01 M de Tris-Base y 0.001 M EDTA, a pH 8) (Brunner *et al.*, 2009) y se ajustó a una concentración de 50 ng μ l⁻¹ para la secuenciación.

Genotipado para análisis de QTL

El genotipo de la población de mapeo se obtuvo con la plataforma de genotipado por secuenciación DArTSeq (Diversity Arrays Technology), con marcadores tipo GBS (Genotyping by sequencing) (Li *et al.*, 2015) generados en el laboratorio del Servicio de Análisis Genético para la Agricultura (SAGA) ubicado en CIMMYT-El Batán, Texcoco. Las secuencias de los marcadores no se editaron para el análisis. Mediante la función BIN de IciMapping versión 4.1 se eliminaron los marcadores redundantes y de baja calidad; es decir, marcadores con más de 30% de datos perdidos y con alta distorsión en la segregación. Los resultados obtenidos con los marcadores tipo GBS y los 21 genes *Stb* conocidos (Brown *et al.*, 2015) se combinaron para el análisis de QTL.

Construcción de mapas de ligamiento

Los mapas de ligamiento se construyeron con el programa IciMapping versión 4.1 (Meng *et al.*, 2015). Se detectaron y mapearon los QTL relacionados con resistencia a la mancha foliar (*Z. tritici*). Para esto se calculó la media del ABCPE registrada en los años de evaluación 2018 y 2019. Se incluyeron en el análisis las medias de días a espigamiento y altura de planta para determinar la relación entre los QTL que confieren resistencia y los que determinan esas variables.

Los grupos de ligamiento se asignaron de acuerdo con los logaritmos de verosimilitud del ligamiento (LOD) con valor de 15 y en todos ellos, los valores de recombinación se convirtieron a centimorgans (cM) con la función Kosambi. Se estimó el tamaño de los mapas con la función de mapeo de dos puntos (Valverde, 2007). Los porcentajes de varianza fenotípica y el efecto aditivo se obtuvieron mediante regresión gradual con el programa QTL IciMapping. Se utilizó el método de mapeo de intervalos compuestos inclusivos para QTL con efectos aditivos (ICIM-ADD) con umbral de LOD= 2 para declarar un QTL como significativo.

Proyección del QTL en el genoma de referencia IWGSC

Para comparar los QTL mapeados con los reportados en otros estudios, se obtuvieron las posiciones físicas de los marcadores que flanquearon cada QTL en mega pares de bases (Mb). Como referencia se utilizó el genoma de los trigos chinos de primavera RefSeq versión 1.0 del Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma del Trigo, International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) mediante la plataforma T3/Wheat (<https://triticeaetoolbox.org/wheat/>) con la función de búsqueda BLAST.

Los marcadores reportados en la literatura, que no se encontraron en la plataforma, se buscaron en la base de datos para *Triticeae* y avena GrainGenes del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (<https://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/GG3/browse.cgi?class=marker>) o en el navegador de genomas de próxima generación JBrowse. http://202.194.139.32/jbrowse-1.12.3-release/?data=Chinese_Spring&loc=chr5B%3a507727349.507728005&tracks=wheat-90K%2CPCR-markers%2CIWGSC-v1.1-HC-gene&highlight=.

Resultados y discusión

Evaluación fenotípica

La interpretación de los datos de las variables fenotípicas evaluadas en este estudio se hizo considerando las condiciones de temperatura y precipitación registradas durante el desarrollo del cultivo en campo (Cuadro 1). Los datos de las variables fenotípicas mostraron que solo las medias calculadas del ABCPE y las del peso de 1 000 granos tuvieron alguna diferencia importante entre los años 2018 y 2019 de evaluación (Cuadro 2). En 2018 las LER registraron valores altos de ABCPE, lo cual se reflejó en menor peso de 1 000 granos, con 3 g menos que lo registrado en 2019.

Cuadro 1. Condiciones ambientales registradas en la estación experimental del CIMMYT-Toluca de mayo a septiembre de 2018 y 2019.

Año	Temperatura (°C)			Precipitación promedio (mm)
	Mínima	Máxima	Promedio	
2018	6.8	22.8	14.8	163
2019	8.2	22.6	15.4	80

Cuadro 2. Medias y estadísticos de las variables fenotípicas de las LER derivadas de la cruza de Huirivis#1 × Mutus#1, inoculadas con *Z. tritici*, en el ciclo primavera-verano de 2018 y 2019, en Toluca, México.

	ABCPE		Espigamiento (días)		Altura (cm)		Peso 1 000 (g)	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019
GMedia	381.3	263.9	72.4	75.4	101.5	98.7	33.8	36.8
DMS	160.8	133.9	3.5	4.5	6	9.7	5.4	5
CV (%)	21.4	25.7	2.5	3	3	4.9	8.1	6.8

ABCPE= área bajo la curva del progreso de la enfermedad; GMedia= gran media; DMS= diferencia mínima significativa (Fisher, 0.05); CV= coeficiente de variación.

Estos resultados sugieren que las condiciones ambientales más cálidas y secas registradas en 2019 pudieron no haber sido favorables para el desarrollo de la mancha foliar, lo que resultó en menor ABCPE y por ende, mayor peso de mil granos. Las temperaturas moderadas, de 15 a 25 °C, con alternancia de períodos húmedos y secos, promueven la producción de picnidiosporas y ascosporas, en genotipos de trigo con diferentes grados de susceptibilidad a *Z. tritici*. La mayor producción de picnidiosporas se presenta durante el espigamiento y la madurez de las plantas, período en el que normalmente se tiene la mayor precipitación y las temperaturas son favorables para el desarrollo de la enfermedad (Cordo *et al.*, 2017).

En este estudio, en 2018 se presentaron periodos de dos a ocho días de lluvia consecutivos seguidos de uno o dos días sin lluvia y temperatura media promedio de 15 °C. Esto sugiere que las condiciones ambientales que se presentaron en 2018 favorecieron la producción, liberación y dispersión de las picnidiosporas en todo el dosel de las plantas y propiciaron el desarrollo de infecciones secundarias durante gran parte del ciclo de cultivo, así como lo reportan también (Morais *et al.*, 2015).

En contraste, en 2019 se presentaron periodos prolongados de sequía y lluvias erráticas después de las inoculaciones, con periodos de dos a 10 días sin lluvia en los meses de julio a septiembre, condiciones que pudieron afectar el desarrollo de infecciones secundarias severas y por ende el desarrollo de la mancha foliar en el cultivo. La variable ABCPE se evalúa para analizar el desarrollo de enfermedades foliares ocasionadas por patógenos policíclicos como *Z. tritici* (Jeger y Viljanen-Rollinson, 2001) y para estimar la relación que hay entre el progreso de la enfermedad y la pérdida del área fotosintéticamente activa (Waggoner, 1986).

Al disminuir el área foliar se reduce el número de espigas por m², el número de granos por espiga y el peso de 1 000 granos, afectándose de esta manera el rendimiento como lo mencionan (Castro *et al.*, 2015). En este estudio el coeficiente de correlación de Pearson indicó que hay una correlación negativa entre el ABCPE y las variables altura, espigamiento y peso de 1 000 granos registradas en las LER, en ambos años de evaluación (Cuadro 3). Es decir, a mayor valor del ABCPE, menor el valor de las variables agronómicas indicadas.

Cuadro 3. Coeficiente de correlación Pearson entre ABCPE y las variables espigamiento, altura y peso de mil granos, registrado en las LER derivadas de la cruza Huirivis#1 × Mutus#1 en dos años de evaluación.

Año	Espigamiento	Altura	Peso de mil granos
2018	-0.38***	-0.34***	-0.12***
2019	-0.23***	-0.3***	-0.28***

***= correlación altamente significativa $p < 0.0001$.

En 2018 el 26% de las LER presentaron valores de ABCPE menores o similares a los registrados por el progenitor resistente Mutus#1, mientras que, en 2019, fue 74% de estas líneas (Figura 1).

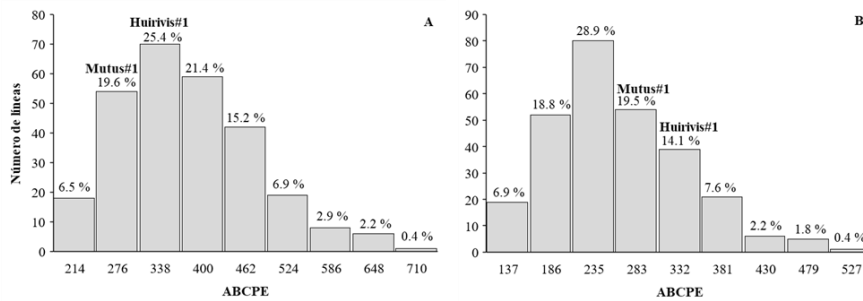


Figura 1. Distribución de frecuencias y frecuencia relativa (%) del ABCPE en las LER derivadas de la cruz Huirivis#1 × Mutus#1, inoculadas con *Z. tritici* durante el ciclo primavera - verano, 2018 (A) y 2019 (B), en Toluca, México. La barra donde se ubica Mutus#1 y las líneas con valor similar o menor de ABCPE a este progenitor; esas líneas son resistentes a la enfermedad.

Los resultados de la evaluación de la variable días a espigamiento indicaron que la mayoría de las LER se comportaron como precoces (Cuadro 2). La correlación entre el ABCPE y los días a espigamiento fue significativa y negativa, lo que indica que, líneas con ciclos largos corresponden a líneas con menor valor de ABCPE (Cuadro 3). Mientras que los de la variable altura indicaron que las LER se comportaron como líneas semi-enanas (con 70 y 120 cm de altura) (Torres y Pietragalla, 2013).

La correlación entre el ABCPE y la altura fue altamente significativa y negativa en las LER (Cuadro 3) lo que sugiere, de acuerdo con Rodríguez-Contreras *et al.* (2010), que las líneas altas tuvieron menor grado de enfermedad debido al menor número de infecciones secundarias asociadas con la proximidad y contacto de las hojas. En general, las características agronómicas de días a espigamiento, altura y peso de 1 000 granos, tanto del progenitor resistente Mutus#1, como de su progenie, fueron estables entre los años de evaluación y similares a las presentadas por variedades comerciales y otras líneas élite del CIMMYT y del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (Ramírez *et al.*, 2016).

Genotipado y construcción de mapas de ligamiento

El análisis genético elaborado con 839 marcadores polimórficos de calidad alta, con solo 11% de datos perdidos, permitió generar un total de 34 grupos de ligamiento con la función de mapeo ICIM-ADD. Estos grupos representaron los 21 cromosomas del genoma completo del trigo. En la población de las LER, el mapa obtenido tuvo una longitud de 2 169 cM con una distancia genética promedio entre marcadores de 2.6 cM.

En general, en esta población los cromosomas 4D, 5D y 2D tuvieron deficiente cobertura con tres (5 cM), cinco (28 cM) y seis (39 cM) marcadores, respectivamente; en contraste, el resto de los cromosomas tuvo mejor cobertura al presentar longitud mínima de 60 cM y longitud promedio de 145 cM. Aunque no hay un número de marcadores de ADN específico para hacer mapas de ligamiento, debido que los marcadores depende del número y longitud de los cromosomas de cada organismo, en estudios de mapeo genético preliminares es común utilizar de 100 a 200 marcadores (Collard *et al.*, 2005). Sin embargo, en estudios futuros con las líneas aquí estudiadas se sugiere probar con mayor número de marcadores para mejor cobertura de los cromosomas 2D, 4D y 5D.

Análisis de QTL

En la población de las LER se identificaron cinco QTL de efecto menor, tres ubicados en los cromosomas 1B, 4A, 4B y dos en el cromosoma 5B (Figura 2), los cuales explicaron menos de 8.5% de la varianza del fenotipo. Tres de estos QTL fueron donados por Mutus#1, progenitor resistente y dos por Huirivis#1, progenitor susceptible (Cuadro 4). Este resultado indica que Huirivis#1 tiene en su genealogía cierta resistencia a la mancha foliar en planta adulta y que representa también una fuente de resistencia a la enfermedad como lo indican (He *et al.*, 2021).

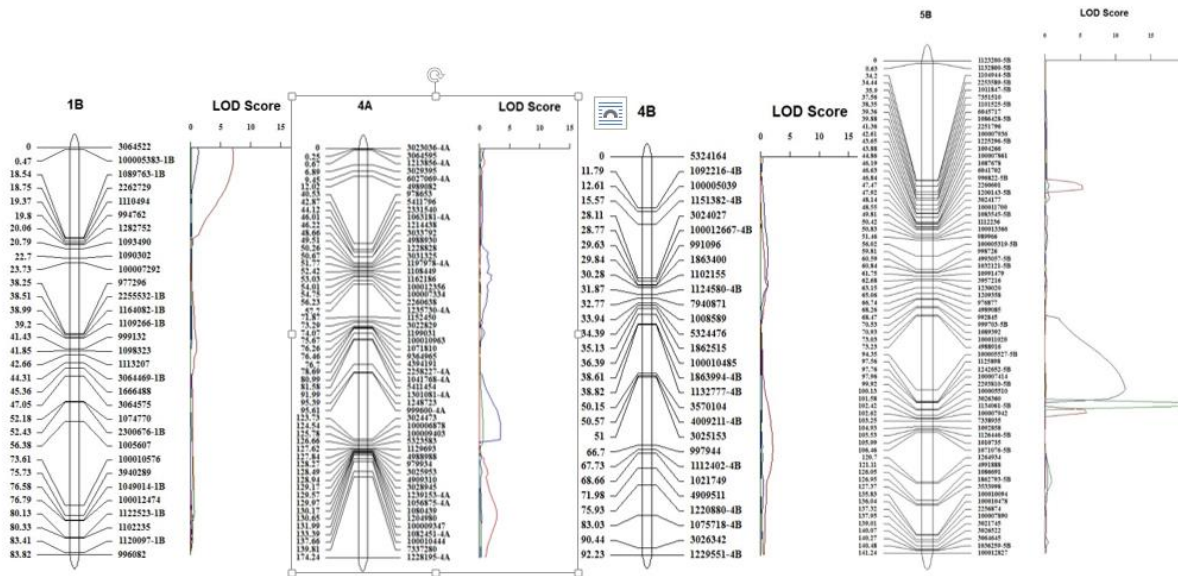


Figura 2. Curvas LOD de QTL en los cromosomas 1B, 4A, 4B y 5B en las LER (Huirivis#1 × Mutus#1) para resistencia a la mancha foliar por *Z. tritici* en planta adulta de trigo.

Cuadro 4. Resumen del análisis de QTL para resistencia a la mancha foliar, basado en el ABCPE media, registrado en las LER durante el ciclo primavera - verano de 2018 y 2019.

Cromosoma [†]	Posición [‡]	Marcador		LOD	PVE (%)	Add	Fuente resistencia
		Izquierdo	Derecho				
1B	1	100005383	1089763	7.1	6.4	24.8	Mutus#1
4A	156	7337280	1228195	2.8	8.4	28.4	Mutus#1
4B	68	1112402	1021749	2.1	1.7	-12.9	Huirivis#1
5B.1	37	1011847	7351510	5.3	4.6	21.2	Mutus#1
5B.2	101	100005510	3026360	5.8	5.1	-22.5	Huirivis#1

[†]= cromosoma donde se localiza el QTL. Los números 1 y 2 colocados junto al nombre del cromosoma se usaron para distinguir QTL mapeados en un mismo grupo de ligamiento; [‡]= posición máxima en cM al primer marcador ligado al grupo de ligamiento de interés. LOD= puntuación del logaritmo de probabilidades basado en 1 000 permutaciones; PVE= porcentaje de la varianza fenotípica explicada por el QTL; Add= efecto aditivo de la varianza fenotípica para cada QTL.

Los números a la izquierda del cromosoma indican la distancia genética en cM de los marcadores y los de la derecha, el nombre del marcador molecular. En la gráfica se representan los QTL significativos con valor de LOD > 2. Se indica con línea roja el ABCPE, con verde el espigamiento y con azul la altura. Es común que la estimación de QTL en trigo se base en suposiciones teóricas de herencia cuantitativa, por lo que el efecto de los QTL puede variar en el fenotipo y no necesariamente cada QTL estimado contribuye de igual manera al fenotipo (Lan *et al.*, 2015). Los cinco QTL mapeados en los cromosomas 1B, 4A, 4B y 5B en las LER estuvieron en una posición física cercana a algún QTL asociado con resistencia a la mancha foliar previamente reportado.

El meta QTL MQTL3 de efecto mayor, cercano a los marcadores wPt-6975 (632.9 Mb) y wPt-5281 (644.4 Mb), localizado en el cromosoma 1B y donado por la línea FD3/Robigus, explicó 11% de la varianza del fenotipo (Goudemand *et al.*, 2013). En este estudio, el QTL mapeado en el cromosoma 1B, se encontró en posición física de 40.8 a 563 Mb, cercano a esa meta QTL MQTL3. Mientras que, el QTL en el cromosoma 4A (39.5-378.5 Mb), se mapeó cercano al de efecto mayor QTL7 (662.7-662.7 Mb) y el QTL ubicado en el cromosoma 4B (96.2-652.9 Mb), a los de efecto mayor MQTL16 (544.6 Mb) y MQTL17 (549.1 Mb), asociados con el porcentaje de síntomas en planta adulta (Goudemand *et al.*, 2013).

En el cromosoma 5B se ubicaron dos QTL, uno de 47.4 a 604 Mb y otro de 489.8 a 583.6 Mb, donados por Mutus#1 (5B.1) y Huirivis#1 (5B.2), respectivamente (Cuadro 4). Ambos QTL se encontraron cercanos al QTL de efecto mayor 5BL (511.8 Mb) relacionado con la severidad de síntomas de la mancha foliar en plántula (Mergoum *et al.*, 2013) y a los de efecto menor QStb.lsa-af-5B (411 Mb) y QStb.lsa.fb-5B (474.2 Mb) asociados con el porcentaje de picnidios en planta adulta de trigo (Miedaner *et al.*, 2012; Risser *et al.*, 2011).

En la población de las LER se detectaron también algunos QTL asociados con altura de planta y días a espigamiento cercanos a algún QTL que confiere resistencia a la enfermedad. El QTL (39.5-378.5 Mb) en el cromosoma 4A se encontró cercano a un QTL (38.1-594.6 Mb) de efecto menor (3.4% de la varianza del fenotipo) que determinó altura (Figura 2) y el QTL (489.8-583.6 Mb) en el cromosoma 5B.2 a dos QTL: uno (537.7-562.9 Mb) de efecto menor relacionado con altura que explicó 9% de la varianza del fenotipo; y otro (571.7-577.2 Mb) de efecto mayor relacionado con espigamiento con 25.9% del fenotipo (Figura 2).

Estos resultados coinciden con el análisis de correlación de Pearson (Cuadro 3), donde la altura resultó tener correlación negativa con el ABCPE, lo cual puede estar relacionado con los QTL de efecto menor cercano a los QTL que confieren resistencia. Mientras que, la correlación entre espigamiento y ABCPE fue altamente significativa, lo cual coincide con la presencia del QTL de efecto mayor relacionado con los días a espigamiento en las LER.

En general, en este estudio, se encontró que los QTL asociados con la resistencia a la mancha foliar en planta adulta de trigo se localizan próximos a QTL reportados en poblaciones recombinantes donados por diversas fuentes de resistencia, tanto en estado de plántula como de planta adulta. Por lo que los resultados sugieren que la resistencia a la mancha foliar en la población de mapeo de LER, derivadas de la cruce de Huirivis#1×Mutus#1, está dada por la resistencia cuantitativa controlada por la suma de efectos de varios QTL de efecto menor distribuidos en el genoma del trigo (Arraiano y Brown, 2017).

Por los resultados obtenidos en este estudio se recomienda utilizar a Mutus#1 como una fuente de resistencia a la mancha foliar en los programas futuros de mejoramiento, con el objetivo de introgresar los QTL aquí reportados a materiales de trigo de interés y de utilizar el piramideo con otros genes de resistencia *Stb* para maximizar la efectividad y la duración de la resistencia a la enfermedad en los trigos mejorados como lo indica Dreisigacker *et al.* (2015).

Así mismo, se recomienda incluir a las LER que mostraron mayor nivel de resistencia a la mancha foliar que su progenitor resistente Mutus#1 como progenitores en dichos programas, en especial, las LER correspondientes al 26% del 2018. Collard *et al.* (2005) señalan que las LER son homogéneas y poseen combinaciones únicas de segmentos de cromosomas de los progenitores originales, resultado de la recombinación genética y Bonnett, (2013) indica que el uso de LER permite mantener rasgos poligénicos de baja heredabilidad y la identificación de QTL de interés en etapas tempranas del mejoramiento.

Conclusiones

Se identificaron cinco QTL de efecto menor, tres ubicados en los cromosomas 1B, 4A y 4B y dos en el cromosoma 5B, los cuales explicaron menos de 8.5% de la varianza del ABCPE. Específicamente, los QTL en los cromosomas 1B, 4A y 5B, relacionados con el desarrollo de síntomas y producción de picnidios en planta adulta, portados por la línea élite Mutus#1 de trigo, pueden utilizarse con otros genes de resistencia o QTL para reducir la selección de nuevas cepas patogénicas de *Z. tritici*. Algunas LER presentaron características agronómicas deseables y alta resistencia a la mancha foliar por lo que también deben considerarse en programas para el desarrollo de variedades resistentes.

Agradecimientos

Al CONACYT, por la beca 449618 otorgada para los estudios de doctorado de la primera autora en el Colegio de Postgraduados. A Javier Segura, Francisco López y Nériida Lozano por el valioso apoyo técnico brindado. Al Programa de Investigación CGIAR en trigo y al Colegio de Postgraduados por el financiamiento otorgado para llevar a cabo la investigación.

Literatura citada

- Arraiano, L. S. and Brown, J. K. M. 2017. Sources of resistance and susceptibility to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Mol. Plant Pathol.* 8(2):276-292.
- Bonnett, D. 2013. Capítulo XIV: estrategias para optimizar la selección asistida por marcadores (MAS) en el mejoramiento de cultivos. *Es: fitomejoramiento fisiológico I: enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo.* Reynolds, M. P.; Pask, A. J. D.; Mullan, D. M. and Chavez-Dulanto, P. N. (Ed.). Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de Mexico. 153-161 pp.
- Braun, H. J. y Payne, T. 2013. Capítulo I: fitomejoramiento en mega-ambientes. *Fitomejoramiento fisiológico I: enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo.* Reynolds, M. P.; Pask, A. J. D.; Mullan, D. M. and Chavez, D. P. N. (Ed.). Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de Mexico. 6-17 pp.

- Brown, J. K. M.; Chartrain, L.; Lasserre, Z. P. and Saintenac, C. 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genet Biol.* 79:33-41.
- Brunner, K.; Kovalsky, P. M. P.; Paolino, G.; Bürstmayr, H.; Lemmens, M.; Berthiller, F.; Schuhmacher, R. X.; Krska, R. and Mach, R. L. 2009. A reference-gene-based quantitative PCR method as a tool to determine *Fusarium* resistance in wheat. *Analyt. Bioanal. Chem.* 395(5):1385-1394.
- Castro, A. C.; Golik, S. I. y Simón, M. R. 2015. Efecto de la mancha de la hoja sobre la duración del área foliar verde, dinámica del N, rendimiento y calidad de trigo. *FAVE Sección Ciencias Agrarias.* 14(2):1-16.
- Chartrain, L.; Brading, P. A.; Makepeace, J. C. and Brown, J. K. M. 2004. Sources of resistance to *Septoria tritici* blotch and implications for wheat breeding. *Plant Pathol.* 53(4):454-460.
- Collard, B. C. Y.; Jahufer, M. Z. Z.; Brouwer, J. B. and Pang, E. C. K. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica.* 142(1):169-196
- Cordo, C. A.; Mónaco, C. I.; Altamirano, R.; Perelló, A. E.; Larrán, S.; Kripelz, N. I. and Simón, M. R. 2017. Weather conditions associated with the release and dispersal of *Zymoseptoria tritici* spores in the Argentine Pampas region. *Inter. J. Agron.* 1-13 pp.
- Delobel, C.; Moens, W.; Querci, M.; Mazzara, M.; Cordeil, S. and Van, E. G. 2012. Maize seeds sampling and DNA extraction; report on the validation of a DNA extraction method from maize seeds and grains. European commission, directorate general-joint research centre institute for health and consumer protection (IHCP). *Biotechnology and GMOs.* 10-19 pp.
- Dreisigacker, S.; Sehgal, D.; Reyes, J. A. E.; Luna, G. B.; Muñoz, Z. S.; Núñez, R. C.; Mollins, J. and Mall, S. (Ed.). 2016. CIMMYT wheat molecular genetics: laboratory protocols and applications to wheat breeding). Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de Mexico. 3-10 pp.
- Dreisigacker, S.; Wang, X.; Martinez, C. B. A.; Jing, R. and Singh, P. K. 2015. Adult-plant resistance to *Septoria tritici* blotch in hexaploid spring wheat. *Theor. Appl. Genet.* 128(11):2317-2329.
- Estep, L. K.; Torriani, S. F. F.; Zala, M. X.; Anderson, N. P.; Flowers, M. D.; McDonald, B. A.; Mundt, C. C. and Brunner, P. C. 2015. Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathol.* 64(4):961-971.
- Eyal, Z.; Scharen, A. L.; Prescott, J. M. and Van, G. M. 1987. The *Septoria* diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de Mexico. 10-28 pp.
- Ghaffary, T. M. S.; Chawade, A. and Singh, P. K. 2018. Practical breeding strategies to improve resistance to *Septoria Tritici* blotch of wheat. *Euphytica.* 214(7):1-18.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). 5ª (Ed.). México, DF. 42-46 pp.
- Goudemand, E.; Laurent, V.; Duchalais, L.; Ghaffary, S. M. T.; Kema, G. H. J.; Lonnet, P.; Margalé, E. and Robert, O. 2013. Association mapping and meta-analysis: two complementary approaches for the detection of reliable *Septoria tritici* blotch quantitative resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol. Breed.* 32(3):563-584.
- Gurung, S.; Mamidi, S.; Bonman, J. M.; Xiong, M.; Brown, G. G. and Adhikari, T. B. 2014. Genome-wide association study reveals novel quantitative trait loci associated with resistance to multiple leaf spot diseases of spring wheat. *Plos One.* 9:e108179.

- He, X.; Azzimonti, G.; Sánchez, V. M. R.; Pereyra, S. A.; Sansaloni, C.; Hernández, A. A. M.; Chawade, A. and Singh, P. K. 2021. Mapping for adult-plant resistance against *Septoria tritici* blotch in a common wheat line Murga. *Phytopathology*. 111(6):1001-1007.
- Jeger, M. J. and Viljanen, R. S. L. H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (ABCPE) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 102(1):32-40.
- Knott, D. R. and Kumar, J. 1974. Comparison of early generation yield testing and a single seed descent procedure in wheat breeding. *Crop Sci.* 15(3):295-299.
- Lan, C.; Zhang, Y.; Herrera, F. S. A.; Basnet, B. R.; Huerta, E. J.; Lagudah, E. S. and Singh, R. P. 2015. Identification and characterization of pleiotropic and co-located resistance loci to leaf rust and stripe rust in bread wheat cultivar Sujata. *Theor. Appl. Genet.* 128(3):549-561.
- Li, H.; Vikram, P.; Singh, R. P.; Kilian, A.; Carling, J.; Song, J.; Burgueno, F. J. A.; Bhavani, S.; Huerta, E. J.; Payne, T.; Sehgal, D.; Wenzl, P. and Singh, S. 2015. A high density GBS map of bread wheat and its application for dissecting complex disease resistance traits. *BMC Genomics*. 16(1):1-15.
- Meng, L.; Li, H.; Zhang, L. and Wang, J. 2015. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. *Crop J.* 3(3):269-283.
- Mergoum, M.; Harilal, V. E.; Singh, P. K.; Adhikari, T. B.; Kumar, A.; Ghavami, F.; Elias, E.; Alamri, M. S. and Kianian S. F. 2013. Genetic analysis and mapping of seedling resistance to *Septoria tritici* blotch in ‘Steele-ND’/‘ND 735’ bread wheat population. *Cereal Res. Commun.* 41(2):199-210.
- Mehta Y. R. 2014. Wheat diseases and their management. ©Springer International Publishing Switzerland. 162-168 pp.
- Miedaner, T. P.; Risser, S.; Paillard, T. Schnurbusch, B. Keller, L. Hartl, J. Holzappel, V. K.; Ebmeyer, E. and Utz, H. F. 2012. Broad-spectrum resistance loci for three quantitatively inherited diseases in two winter wheat populations. *Mol. Breed.* 29(3):731-742.
- Mirdita, V.; Liu, G.; Zhao, Y.; Miedaner, T.; Longin, C. F. H.; Gowda, M.; Mette, M. F. and Reif, J. C. 2015. Genetic architecture is more complex for resistance to *Septoria tritici* blotch than to Fusarium head blight in Central European winter wheat. *BMC Genomics*. 16(1):1-8.
- Morais, D.; Laval, V.; Satche, I. and Suffert, F. 2015. Comparative pathogenicity of sexual and asexual spores of *Zymoseptoria tritici* (*Septoria Tritici* Blotch) on wheat leaves. *Plant Pathol.* 64(6):1429-1439.
- Osman, M.; He, X.; Benedettelli, S.; Ali, S. and Singh, P. K. 2015. Identification of new sources of resistance to fungal leaf and head blight diseases of wheat. *Eur. J. Plant Pathol.* 145(2):305-320.
- Orton, E. S.; Deller, S. and Brown, J. K. M. 2011. *Mycosphaerella graminicola*: from genomics to disease control. *Mol. Plant Pathol.* 12(5):413-424.
- Patterson, H. D. and Williams, E. R. 1976. A new class of resolvable incomplete block designs. *Biometrika*. 63(1):83-92.
- Piñera, C. F. J.; Autrique, E.; Valenzuela, A. J. L.; Singh, P. K.; Guzman, C.; He, X.; Lan, C. X.; Randhawa, M. S.; Huerta, E. J.; Ortiz, M. I. S. and Singh, R. P. 2017. Strategic research for developing improved wheat germplasm for Mexico. *Es: proceedings of the 3rd international wheat yield potential workshop*. Reynolds, M.; Molero, G. and McNab, A. (Ed.). Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). Cd. Obregón, Sonora. 42-54. pp.

- Risser, P.; Ebmeyer, E.; Korzun, V.; Hartl, L. and Miedaner, T. 2011. Quantitative trait loci for adult-plant resistance to *Mycosphaerella graminicola* in two winter wheat populations. *Phytopathology*. 101(10):1209-1216.
- Rodríguez, C. M. E.; Leyva, M. S. G.; Villaseñor, M. H. E.; Huerta, E. J.; Sandoval, I. J. S. y Santos, P. H. M. 2010. Relación de altura y competencia de plantas con incidencia y dispersión de *Septoria tritici* en trigo de temporal. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 1(3):347-357.
- Sánchez, V. M. R. Hernández, A. A. M.; Yáñez, M. M. J.; He, X. y Singh P. K. 2020. Situación actual de la mancha foliar del trigo causada por *Zymoseptoria tritici* en México. *Rev. Fitotec. Mex.* 43(4-A):583-590
- Shaner, G. and Finney, R. E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*. 67(8):1051-1056.
- Simón, M. R.; Castillo, N. S. and Cordo, C. A. 2016. New sources of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat seedlings. *Eur. J. Plant Pathol.* 146(3):625-635.
- Torres, A. y Pietragalla, J. 2013. Capítulo 19: Características morfológicas del cultivo. *Fitomejoramiento fisiológico II: una guía de campo para la caracterización fenotípica de trigo*. Pask, A. J. D., Pietragalla, J.; Mullan, D. M.; Chávez-Dulanto, P. N. and Reynolds, M. P. (Ed.). Centro Internacional del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de Mexico. 106-112. pp.
- Torriani, S. F. F.; Melichar, J. P. E.; Mills, C.; Pain, N.; Sierotzki, H. and Courbot, M. 2015. *Zymoseptoria tritici*: A major threat to wheat production, integrated approaches to control. *Fungal Genet. Biol.* 79:8-12.
- Valverde, R. 2007. Mapeo genético y detección de QTL en especies de *Solanum*. *Agronomía Costarricense*. 31(2):31-47.
- Villaseñor, M. H. E. 2015. Sistema de mejoramiento genético de trigo en México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 11(esp.):2183-2189.
- Waggoner, P. E. 1986. Progress curves of foliar diseases: their interpretation and use. *Plant Dis. Epidemiol.* 1:3-37.