Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Caracterización de la variabilidad genética de germoplasma argentino de trigo (Triticum aestivum L) mediante marcadores moleculares

Manifesto, María Marcela

2000

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Manifesto, María Marcela. (2000). Caracterización de la variabilidad genética de germoplasma argentino de trigo (Triticum aestivum L) mediante marcadores moleculares. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3292_Manifesto.pdf

Cita tipo Chicago:
Manifesto, María Marcela. "Caracterización de la variabilidad genética de germoplasma argentino de trigo (Triticum aestivum L) mediante marcadores moleculares". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2000.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3292_Manifesto.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO (*Triticum aestivum* L) MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES

Trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas.

Lic. en Ciencias Biológicas María Marcela Manifesto

Director: **Dr. Horacio Esteban Hopp**

2000

Nº 3292

Lugar de trabajo: Instituto de Biotecnología, CICV-CNIA, INTA Castelar

Instituto de Recursos Biológicos, CIRN,INTA Castelar

RESUMEN

105 cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.), liberados comercialmente en Argentina entre 1932 y 1995, fueron caracterizados utilizando marcadores genéticos de tipo morfológico y molecular (microsatélites y AFLP) para obtener una estimación cuantitativa de la diversidad genética y su evolución a lo largo del tiempo, programas de mejoramiento. Un subgrupo de 10 diez SSR (microsatélites) altamente informativos fue seleccionado y utilizado para la construcción de la Matriz de Identificación, que permitió la discriminación de todos los cultivares estudiados aquí. Los datos moleculares fueron comparados con los datos morfológicos. Se observaron valores de correlación significativos, aunque bajos, para las distintas técnicas comparadas con los datos fenotípicos, presentando valores de correlación mayores losAFLP y SSR (r = 0.1334) siguiéndole el de coeficientes de parentesco (r = 0.12239).

Los datos obtenidos mediante los marcadores SSR se complementaron con la información de datos de AFLP a fin de evaluar las relaciones genéticas entre cultivares. La correlación entre las matrices de similitud de datos combinados de SSR con AFLP y la matriz de coeficientes de parentesco fue estadísticamente significativa (test de Mantel, P<0 01), aunque baja (r= 0.34). Los datos moleculares fueron usados para cuantificar la diversidad genética a través de los criaderos y para evaluar la erosión genética. No se hallaron diferencias significativas en la diversidad genética entre los principales programas de mejoramiento privados y públicos. Sólo se hallaron diferencias significativas entre los principales criaderos y los menores, tanto con SSR como con AFLP. Un resultado interesante es que no se hallaron diferencias significativas en los valores de diversidad genética de los grupos de cultivares liberados antes de 1960 y aquellos liberados en las siguientes tres décadas. Los valores de diversidad promedio basados en marcadores SSR fueron casi idénticos para los cuatro períodos analizados. La diversidad genética estimada basada en datos de AFLP fue similar, pero diferencias levemente significativas fueron halladas entre cultivares liberados en los '70 (PIC= 0.28) y en los 80's (PIC= 0.34). Estos resultados contradicen la visión generalizada de la erosión genética de los cultivares modernos y muestran que el germoplasma Argentino de trigo pan ha mantenido relativamente constante el nivel de diversidad genética durante la última mitad del siglo

Se corroboró la factibilidad de la aplicación de microsatélites en dos aspectos: a) el estudio de caracteres cuantitativos de interés agronómico, como es la calidad panadera, en poblaciones segregantes y b) su aplicación en la caracterización de germoplasma.

a) El microsatélite *Xgwm3000* ubicado dentro del locus del gen de las γ-gliadinas (*Xps2(Gli-1)*) se halló completamente ligado al locus de RFLP *XGli-B1* y estrechamente ligado (1 6 cM) a *XGlu-B3* en la poblacion segregante Chinese Spring-Klein 32. La presencia del alelo 252 pb detectado en Klein 32 se correlacionó con los aumentos detectados en los parámetros de calidad.

Los microsatélites *Xgwm2999* y *Xgwm3000* ubicados dentro de los loci de γ-gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular, respectivamente fueron útiles en la caracterización de la variación alélica de los loci de proteínas de reserva en 105 cultivares de Argentina y 90 de California

ABSTRACT

In this study, 105 Argentine cultivars of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) released between 1932 and 1995 were characterized using SSR, AFLP markers and morphological characters to obtain a quantitative genetic diversity estimation, its evolution along time and different breeding programs. A selected subset of ten highly informative microsatellites was used to construct an Identification Matrix that allowed the discrimination of all the cultivars included in this study. Molecular data was compared with morphological data. Significant correlation values, although low, were obtained for morphological data matrix and molecular data matrix. AFLP and SSR showing highest values of correlation (r = 0.1334), followed by kinship data (r = 0.1224)

Data obtained from SSR markers was complemented by information derived from AFLPs, to evaluate genetic relationships among cultivars. The correlation between a combined SSR and AFLP similarity matrix and a kinship coefficients matrix was highly significant (Mantel test, P<0.01), but low (r= 0.34) Molecular data were used to quantify genetic diversity across the wheat breeding programs and to evaluate genetic erosion. No significant differences in genetic diversity were found between the largest private and public breeding programs. Significant differences were found only between the large and smallest breeding programs for both SSR and AFLP An interesting result from this study was that no significant differences in genetic diversity were found between the group of cultivars released before 1960 and those released in each of the following three decades. Average diversity values based on SSR markers were almost identical for the four analyzed periods. Genetic diversity estimates based on AFLP data were also very similar but slightly significant differences were found between bread wheat cultivars released in the 70's (PIC= 0.28) and those released in the 80's (PIC= 0.34). These results contradict the general vision of significant genetic erosion in modern cultivars and showed the Argentine bread wheat germplasm has maintained a relatively constant level of genetic diversity during the last half century.

Microsatellite application was corroborated in both aspects: a) studies of qualitative characters of agronomic interest, as bread making quality, in segregating populations and b) germplasm characterisation.

a) SSR located within the γ-gliadin gene (*Xps2(Gli-1)*) was completely linked to RFLP locus *XGli-B1* and closely linked (1.6 cM) to *XGlu-B3* in Chinese Spring-Klein 32 segregating population. Allele 252 pb at this loci detected in Klein 32 variety, was associated with significant increment in bread making quality parameters.

b) SSR loci *Xpsp2999* and *Xpsp3000* located within a low molecular weight glutenin gene and gamma-gliadin gene, respectively are useful to characterize allelic variation at these two storage protein loci in 105 bread wheat cultivars from Argentina and 90 from California.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El nombre de trigo lo recibe un número de especies dentro del género *Triticum* (familia *Poaceae,* sin. *Gramineae*). Este género es clasificado dentro de la tribu *Triticeae* Dumort (sin. *Hordeae* Benth.) la cual incluye, entre otros géneros, al centeno (*Secale*) y la cebada (*Hordeum*). Esta tribu está divida en sub-tribus y *Triticum*, *Secale*, *Aegilops*, *Agropyron*, *Emmeropyron* y *Haynaldia* que constituyen la sub-tribu *Triticinae.*

Las especies cultivadas se agrupan según el nivel de ploidía en: diploides, con 14 cromosomas, tetraploides, con 28 cromosomas y hexaploides, con 42 cromosomas. Existen cuatro grupos de 14 cromosomas que pueden presentar estas especies, que se designan A; B, D y G. (Miller1987).

Los trigos cultivados diploides, tetraploides y hexaploides contienen los genomas AA, AABB y AABBDD respectivamente. Las excepciones son *T.timopheevi* Zhuk. (AAGG) y *T.zhukovskyi* Men y Er (AAAAGG).

La evolución del trigo cultivado se supone que comenzó con la selección de un diploide salvaje *T.boeticum* ssp.*aegilopoides*, que generó la forma cultivada de *T.monococcum*, L., (comúnmente llamado "einkorn wheat", en inglés) y el tetraploide salvaje *T.dicoccoides*, que dio origen a la forma cultivada de *T.dicoccum*, Shulb., (llamado vulgarmente "emmer wheat"). Se acepta que esto ocurrió en los valles de las cadenas montañosas que rodean las planicies de la Mesopotamia y del desierto de Siria, como así también en la zona de Anatolia en los Balcanes. Las formas cultivadas más antiguas de estos trigos datan de hace 9500 años en la zona de Ali Kosh, Irán (Evans, 1993).

El grupo AABB está presente en las especies cultivadas de trigo duro, *T.durum* Desf. El origen del genoma B ha recibido un trato especial en la investigación científica sin tener actualmente una conclusión definitiva. Evidencias morfológicas, geográficas y citológicas proponen a *Aegilops speltoides* Tausch como el candidato más probable como especie originaria de este genoma.

El origen del genoma D es, seguramente, *Aegilops squarrosa* L. y su adición al tetraploide AABB para formar el hexaploide AABBDD ha tenido el mayor impacto sobre la utilización y la distribución geográfica del trigo. *Aegilops*

squarrosa parece tener un rango mayor de adaptabilidad ambiental en comparación con el resto de las especies propuestas como donantes de los genomas A y B, lo cual se evidencia por su amplia distribución. Su rol en el origen filogenético de los trigos hexaploides junto con el esfuerzo de los mejoradores contribuyó a la amplia distribución de los trigos hexaploides cultivados.

El hexaploide cultivado más antiguo se cree que es *T.spelta* L. Su cultivo aun se practica en algunas regiones de España. Otro hexaploide que se cultiva en algunas regiones de Estados Unidos es *T.compactum* Host. Hexaploides cultivados en Oriente Medio y Asia incluyen *T.vavilovi* (Tum.) Jacobz. (Armenia), *T.macha* Dek and Men. y *T.sphaerococcum* Perc.

Pero sin duda, el hexaploide de mayor importancia (por su vasta difusión) es el trigo común o trigo pan, *T.aestivum* L. syn *T.vulgare* Host. La magnitud de su difusión es debida a la gran plasticidad de requerimientos agroecológicas y a la importancia de su utilización industrial.

El trigo en nuestro país se siembra en otoño-invierno, utilizándose variedades de hábito primaveral. El ciclo del mismo oscila entre 130 y 210 días, según la variedad y época de siembra.

El trigo con las características señaladas se siembra en una extensa región, subdividida en las siguientes siete subregiones ecológicas, que se muestran en la figura N°1. Cada una de estas subregiones comprende áreas de condiciones de suelo y clima similares. Estas son:

Subregión ecológica I

Subregión ecológica II- Norte

Subregión ecológica II- Sud

Subregión ecológica III

Subregión ecológica IV

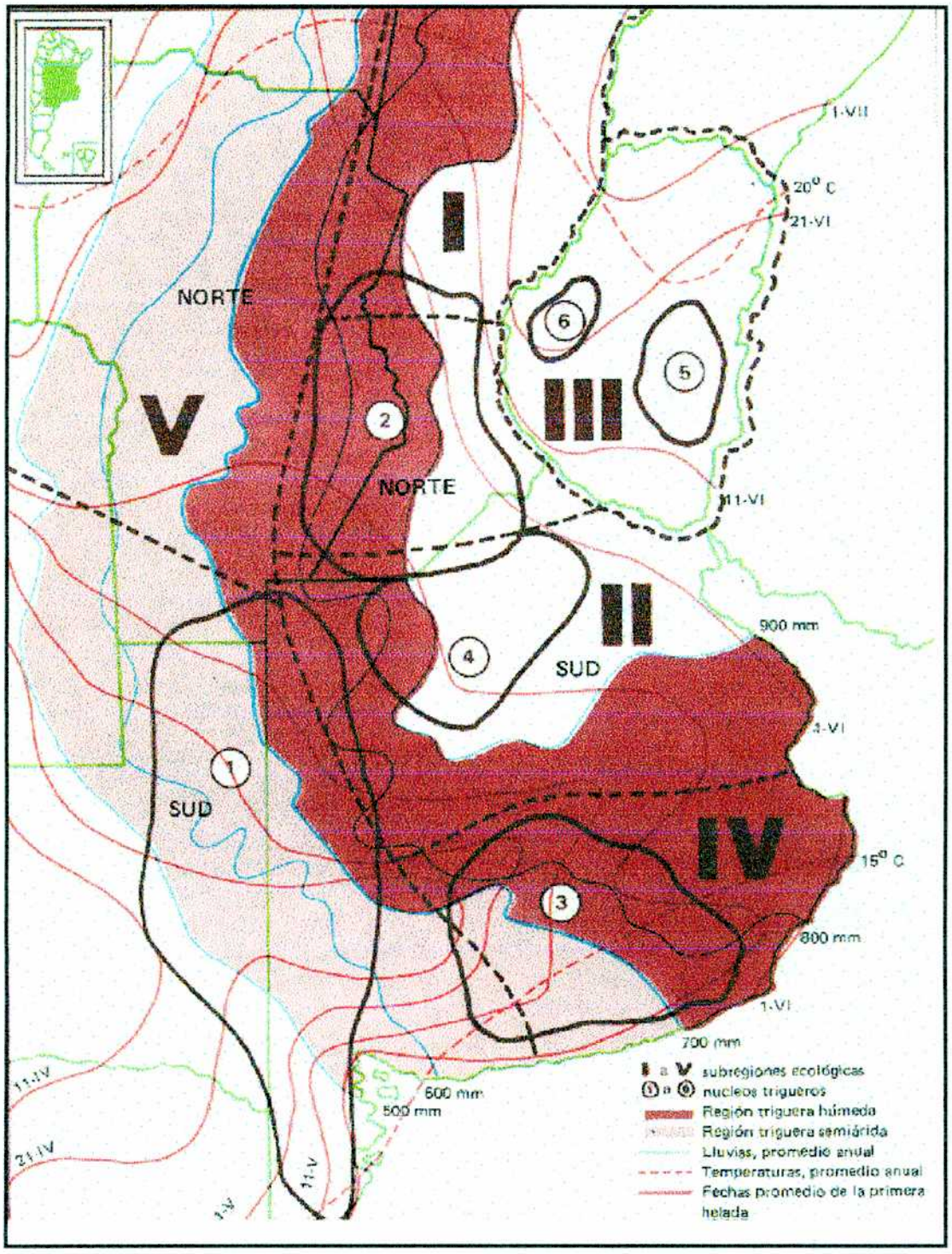
Subregión ecológica V- Norte

Subregión ecológica V- Sud

Además de estas subregiones establecidas por el Ministerio de Agricultura de la Nación hay zonas marginales pequeñas en las Provincias del Noroeste (NOA) y Provincias del Noreste (NEA)

Cabe destacar que la distribución del cultivo no es uniforme en toda la Región Triguera. La siembra se concentra en las subregiones V- Sud, II- Norte, IV y en la II- Sud. Estas zonas abarcan las zonas Central Norte (que comprenden centro-sud de la provincia de Santa Fe, este de Córdoba y norte de Buenos Aires), la zona Oeste (que comprenden sud de Córdoba, este de La Pampa, oeste de Buenos Aires y sud de Buenos Aires), la zona Sudeste (queda incluida aquí la región atlántica del sudeste de la provincia de Buenos Aires) y la zona Mesopotámica (correspondiente a un pequeño núcleo aislado en la provincia de Entre Ríos).

Figura Nº1. Mapa de las Regiones Trigueras de Argentina



Nota: extraído de "El cultivo del Trigo", INTA, Colección principales cultivos de la Argentina

Historia del trigo en la Argentina

La primera siembra documentada de trigo en la Argentina se realiza en 1527, hace casi quinientos años atrás. En ese entonces, cuando Sebastián Gaboto construye el fuerte de *Sancti Spiritu* en la desembocadura del río Carcarañá, se siembran los primeros cincuenta granos de trigo traídos desde España por los conquistadores.

Luego, aunque en forma incipiente, el cultivo del trigo comienza en el país desde el mismo momento que comienza la conquista. En esa época, en las costas de los ríos, se construyen fuertes; alrededor de los cuales se acrecientan las parcelas sembradas con este cereal. Sin embargo, la evolución del cultivo es lenta y la carne constituye el principal alimento de la población.

Durante la época del Virreinato, el trigo se sembró en las zonas comprendidas desde Quilmes hasta Luján. Era, en consecuencia, un cultivo suburbano y no difundido a pleno campo. Los sembradíos de trigo tropiezan con muchos inconvenientes ocasionados por incendios intencionales y la depredación del ganado. Debido a estas circunstancias, Argentina importa harina durante mucho tiempo.

Desde 1810 hasta 1852, las autoridades se preocupan por fomentar la agricultura. Ceden tierras, traen agricultores, crean una Escuela de Agricultura y destinan fondos a la colonización, pero ninguna de estas iniciativas tiene éxito.Recién a partir de 1880 se inicia el verdadero incremento del cultivo, cuando las colonias agrícolas comienzan a difundirse por las provincias de Santa Fe, La Pampa, Córdoba y Entre Ríos, y las áreas trigueras se desplazan a lo largo de las líneas férreas.

La información sobre producción y rendimiento en el siglo pasado es esporádica, comenzando recién hacia fines del siglo XIX, los relevamientos y estadísticas en forma regular. La superficie en 1888 alcanza a 800.000 hectáreas, en 1895 a 2.000.000 hectáreas y en 1912 a 7.000.000 de hectáreas. Para esta época se consolida la producción nacional, circunstancia que coincide con el auge de la inmigración y la más intensa colonización. Hacia 1940 continúa la expansión constituyendo en ese momento a nuestro país en un gran exportador. Desde los comienzos de siglo hasta nuestros días los avances en rendi-

miento y producción fueron graduales. A principios de siglo la producción era de 2 millones de toneladas, con un rendimiento por hectárea de 850 kg. En la campaña 98/99 la producción se ubicó en 10,75 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 2530 kg/ha alcanzando, la producción mundial, valores de 586,2 millones de toneladas (Tombetta y Nisi, 1997).

El impulso dado por el mejoramiento genético fue responsable, en gran medida, de los niveles de rendimiento y calidad alcanzados;, asistido por la mecanización, la evolución de métodos de labranza y aplicación de tecnología de herbicidas, insecticidas y fertilizantes.

El mejoramiento vegetal y la identificación varietal han sido llevados a cabo por el hombre desde hace ya mucho tiempo atrás. A través de cruzamientos de plantas individuales que presentaban mayor rendimiento o bien mejor calidad, el hombre trató de obtener variedades que fueran más atractivas para el consumo.

En nuestro país el mejoramiento genético de trigo ha sido llevado a cabo desde hace mucho tiempo atrás. Criaderos privados como José Buck SA y Klein (entre otros) e instituciones estatales como INTA han dedicado su esfuerzo a mejorar las características de adaptabilidad, calidad industrial y calidad fitosanataria del cultivo.

El aprovechamiento de la variabilidad genética presente en el germoplasma argentino y la evaluación de fuentes exógenas de germoplasma, como así también el fortalecimiento del sistema de protección de obtenciones vegetales son indispensables para el progreso dinámico del mejoramiento del trigo.

Identificación

La identificación y el registro de las variedades de trigo *(Triticum aestivum)* se basa, actualmente, en características morfológicas y fisiológicas. Aunque estos descriptores son útiles, son limitados en número y se ven afectados por factores ambientales. Los marcadores moleculares se presentan como herramienta promisoria para tal fin. La gran ventaja de los polimorfismos ADN, además de su alta frecuencia, es que son estrictamente genéticos, esto significa que son neutros al efecto ambiental. Otra de sus ventajas es que no se requiere de la expresión y por lo tanto su análisis

puede realizarse a partir de cualquier órgano y estadio de desarrollo de la planta. La identificación de los cultivares en etapas tempranas del desarrollo de la planta.

Smith (1992) cita algunos requisitos previos necesarios para un sistema de referencia. Para generar un sistema práctico, confiable y con validez legal para la identificación varietal, las técnicas de marcadores seleccionados deben satisfacer ciertos criterios:

1) Los descriptores deben mostrar alto poder de discriminación

2) Deben presentar mínima o ninguna interacción con el ambiente.

3) Deben posibilitar el desarrollo de criterios objetivos para el registro preciso y repetible de los perfiles de cada variedad y para traducir éstos en información de un banco de datos, de manera de poder realizar comparaciones válidas entre distintos perfiles.

4) Los mismos descriptores deben ser capaces de generar resultados equivalentes entre distintos laboratorios.

5) Deben permitir la estimación de distancias entre genotipos consistentes con otros datos como los de pedigrí. Esto es importante pues la distancia entre cultivares es un componente integral para la evaluación de la novedad y el grado de esfuerzo necesario para la obtención de un nuevo genotipo.

6) La localización cromosómica es una característica deseable. Cuando la localización es conocida, los marcadores moleculares pueden seleccionarse de manera de proveer una mejor cobertura del genoma.

7) Las metodologías para la generación de perfiles de bandas en identificadores discretos deben ser de dominio público, no sólo empleadas en investigación sino también para su uso como rutina y de amplia difusión.

8) Se prefieren metodologías que puedan ser automatizadas.

9) Deben tener una relación costo/beneficio adecuado.

El organismo internacional encargado de armonizar y acordar nuevos criterios para la protección de la propiedad intelectual en lo referente a la ob-

tención de variedades es la Unión para la Protección de Obtenciones Vegetales (UPOV). Por la ley N°24736/94, la Argentina adhiere a dicha Convención Internacional y es, en Argentina, el Instituto Nacional de Semillas (INASE) el responsable de la aplicación de la ley de semillas (ley n° 20247) y del Registro Nacional de Variedades, donde se inscriben todas las variedades con título de propiedad. Así también, es este organismo el que brinda el marco legal para el registro y comercialización de variedades, cuenta con la Lista Nacional de Cultivares, donde figuran todos los cultivares comercializados en nuestro país.

La Unión Internacional para la protección de Obtenciones Vegetales (UPOV) define, en su Acta de 1991, Artículo 1.vi), el concepto de "variedad".

Variedad es un conjunto de plantas dentro de único taxón del rango más bajo conocido, el cual puede ser

- definido por la expresión de características resultantes de un genotipo dado o la combinación de genotipos,

- distinguible de otro grupo de plantas por la expresión de por lo menos una de dicha características y

- considerada como una unidad en referencia a su capacidad de propagación de modo invariable.

En resumen, puede definirse el término "variedad" como un conjunto vegetal distinto, homogéneo y estable.

El Acta de la UPOV de 1991 explicita las condiciones de protección de una variedad. Los derechos de propiedad del obtentor, sobre la variedad desarrollada, son garantizados cuando cumpla con los requisitos de:

(i) novedad,

(ii) distinguibilidad

(iii) uniformidad

(iv) estabilidad

(i) Se considera novedosa, si en el momento de ser registrada en el Registro de Propiedad el material de propagación o el material cosechado no ha sido vendido o disponible por terceros, con el consentimiento del obtentor para su explotación (artículo 6).

(ii) Se considera distinta si es claramente de otras variedades cuya existencia es de publico conocimiento en el momento de ser registrada (artículo 7).

(iii) Se considera uniforme cuando, sujeta a variaciones particulares de algún carácter que son esperables debido a su propagación, es lo suficientemente uniforme en cuanto a sus características relevantes (artículo 8).

(iv) Se considera estable cuando sus características relevantes se mantienen sin cambios a través de repetidos ciclos de multiplicación, en caso de ciclos de propagación particulares, al finalizar cada uno de estos ciclos. (Artículo 9)

La distinción, en la actualidad, se establece sobre la base de caracteres que tienen o no una relación con el valor agronómico o tecnológico de la variedad. Basta con una diferencia relativa a un carácter (calificado como de "importancia") para llegar a la conclusión que hay distinción de una variedad en relación con otras (UPOV/QUI/96/15, 1996).

Toda diferencia entre organismos vivientes, está determinada por diferencias en las secuencias nucleotídicas del genoma, por lo tanto con la aparición de técnicas moleculares que permiten detectar esas diferencias, surge el interrogante que las mismas sean utilizadas no sólo para identificar, sino también para diferenciar variedades. En este contexto, con frecuencia, los obtentores preguntan si las técnicas moleculares y sus resultados pueden ser utilizados para los exámenes DEH (distinguibilidad, estabilidad y homogeneidad).

En 1993 se creó un Grupo de trabajo para la evaluación técnicas bioquímicas y moleculares, formando parte de la UPOV. Este grupo menciona en sus documentos algunas de las ventajas y consecuencias para la protección de especies vegetales que presentan las técnicas moleculares con respecto a los

exámenes de distinguibilidad, estabilidad y homogeneidad conocidos como "DEH tests".

Algunas de las principales dificultades que los descriptores morfológicos y fenológicos presentan son:

a) Bajos niveles de variabilidad observada en algunas especies. Esta característica puede deberse a la estrecha base genética utilizada por el obtentor.

b) Efecto ambiental sobre la expresión de los caracteres. Debido a este efecto es necesario realizar sucesivas observaciones de la variedad a registrar con las variedades de la colección de referencia. La influencia ambiental dificulta la comparación descripciones establecidas en otros países.

c) Tamaño de la colección de referencia. El número cada vez mayor de variedades que deben incluirse en la colección de referencia a fin de evaluar la característica de distinguibilidad, requisito que debe cumplir una obtención vegetal para ser registrada como variedad. Las bases de datos son la única manera de contar con una cobertura mundial de las colecciones de referencia.

Con respecto a las consecuencias probables de la utilización de los marcadores moleculares en la protección de obtenciones vegetales, éstas son las siguientes:

a) Cada técnica molecular puede crear un gran número de caracteres. Cada sonda, SSR o "primer" puede revelar potencialmente una diferencia entre dos variedades y el número de estos instrumentos resulta, *a priori*, incontable. Una decisión arbitraria para introducir estas técnicas modificaría totalmente la capacidad de discriminar entre variedades y por lo tanto reduciría las distancias mínimas entre las mismas. En otras palabras, significa que la protección de obtenciones vegetales se debilitaría debido a la posibilidad de que una o más variedades estuvieran muy cercanas a una variedad inicial con ligeras diferencias entre ellas. Es muy frecuente, con las técnicas avanzadas de mejoramiento, encontrarse con variedades cuasi-isogénicas entre sí, cuya principal diferencia estriba en algún carácter morfológico. Un ejemplo extremo de esta ten-

dencia es el de variedades transgénicas que se obtienen por retrocruza asistida por marcadores moleculares que llevan a una introgresión casi totalmente precisa del transgén en el fondo genético de la variedad recurrente.

El resultado sería más drástico si se aceptara que se puede utilizar cualquier característica, sin perjuicio de la expresión fenotípica.

b) Otro punto de gran importancia es la posibilidad de obtención de nuevas variedades a partir de una variedad protegida mediante la utilización de técnicas moleculares, debido a una mayor sensibilidad de dichas técnicas.

En la reunión del grupo de Técnicas Biomoleculares (BMT/UPOV) realizada en marzo de 1997, se plantearon algunos interrogantes sobre la utilización de las técnicas moleculares en la diferenciación de variedades (BMT/4/21,1997). En esta reunión se planteó la importancia de las técnicas moleculares, explican la relación existente entre variedades, brindando información sobre el genoma de las variedades y enfatizando su utilidad en la identificación de variedades.

La postura de la Asociación Internacional de los Seleccionadores para la Protección de las Obtenciones Vegetales (ASSINSEL), considera que las reglas DHE fueron diseñadas para describir el fenotipo de la variedad y para verificar la mínima distancia con el fin de obtener la protección de variedades.

Además, en el marco de la convención de UPOV (1991), se introdujo un nuevo concepto de "variedades esencialmente derivadas", por los avances en la utilización de las técnicas de la ingeniería genética. Éstas nuevas variedades se caracterizan por tener un alto grado de semejanza entre una de las variedades parentales (la "variedad inicial") y la variedad derivada. De esta manera casi la totalidad de su genoma es semejante a un parental, modificando un solo carácter que la hace distinta de la que le dio origen. Por lo tanto, sugieren que la distinción se asocie con el fenotipo, mientras que el concepto de "esencialmente derivada" se asocie con el genotipo. Con la aparición de éste nuevo concepto surge el debate sobre la determinación de las distancias genéticas entre variedades.

Resumiendo, la posición actual trata no dañar el sistema de protección actual. El uso de marcadores moleculares podría considerarse como un sistema complementario del sistema basado en descriptores morfológicos, asistiendo a las dificultades que surgen de la utilización de este último. Caracteres moleculares bien distribuidos a lo largo del genoma, podrían complementar y compararse con algunas características fenotípicas en corriente uso e incrementar, más que disminuir, la tan discutida "distancia mínima", pasando a considerarse, entonces, como un sistema capaz de complementar y subsanar los problemas de la utilización de los datos morfológicos.

En la actualidad el sistema que se utiliza es el morfológico y como sistemas complementarios al mismo, la utilización de técnicas bioquímicas tradicionales (electroforesis en geles de poliacrilamida de proteínas de reserva e isoenzimas) ya estandarizadas por el Organismo Internacional de Testeo de Semillas (ISTA), en el cual la Argentina tiene representantes en el Comité Ejecutivo de la Organización mencionada. Este tipo de tecnologías presenta el inconveniente de no evidenciar un alto grado de polimorfismo, fundamentalmente en especies cuyas variedades mantiene una estrecha base genética.

Identificación y Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares constituyen un método de mayor sensibilidad para la identificación genética de los materiales directamente a nivel de ADN, y probablemente ayude a subsanar eventuales conflictos y limitaciones que se presentan con el empleo de descriptores vulnerables al efecto ambiental y dependientes del estadio de desarrollo de la planta.

Todos los métodos para la detección de variaciones ("polimorfismos") en el ámbito de ADN se basan en patrones de bandas electroforéticas diferenciales. Éstos son el resultado de diferencias en el tamaño visualizado de los fragmentos de ADN. Dichos fragmentos pueden generarse por (i) digestión del ADN con enzimas de restricción, (ii) amplificación vía técnica de Cadena de Polimerasa (PCR) o bien (iii) la combinación de ambos métodos.

Dentro del primer grupo mencionado (i) se encuentran los RFLP. La utilización de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción, RFLP,

(Botstein et al. 1980). Los RFLPs se basan en variantes de fragmentos de digestión con endonucleasas detectados por la hibridación con fragmentos de ADN marcado llamados sondas (Bostein 1980), figura N°2.

Estos marcadores son de naturaleza co-dominante, esto significa que las distintas variantes alélicas para un mismo locus pueden ser visualizadas. Las variantes alélicas que se detectan por esta técnica pueden tener su origen en una única mutación puntual, sustituciones, inserciones y deleciones.

Entre sus ventajas cabe mencionar la robustez en cuanto a su reproducibilidad, el alto numero de muestras que pueden ser analizadas simultáneamente y la interpretación de los resultados relativamente sencilla. Los pasos generales que involucra esta técnica son:

a) generación de las sondas

b) generación de población de mapeo.

c) identificación de polimorfismos entre los individuos parentales de la población de mapeo o individuos de interés.

d) Determinación de genotipos de los individuos en la población segregante, utilizando las sondas que detectaron variantes alélicas entre los padres.

e) Análisis de los datos segregantes para la confección de un mapa genético.

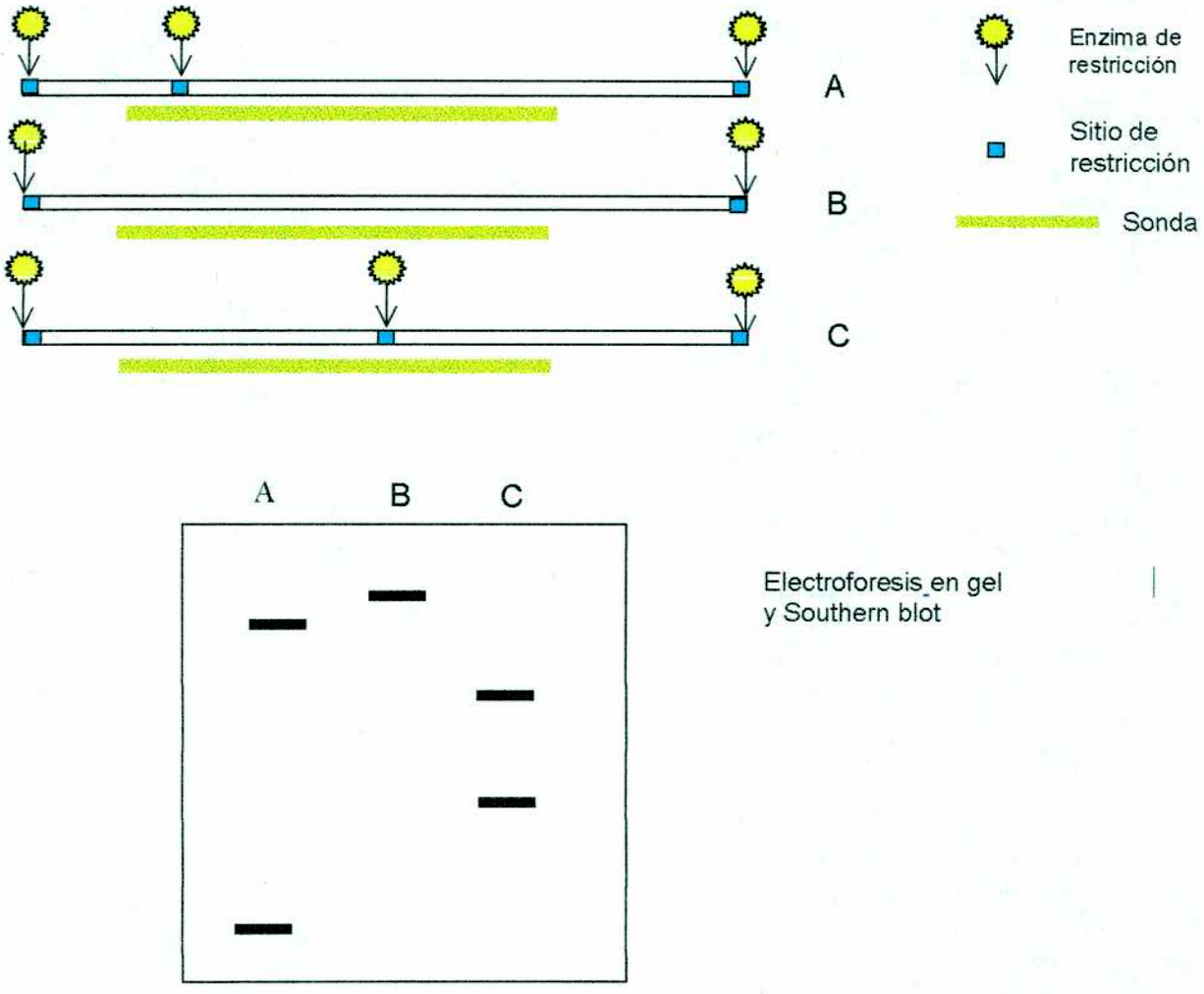
Algunos de estos pasos son eliminados (b, d y e) si el objetivo del trabajo no consiste en el mapeo, como por ejemplo el estudio de la diversidad genética en una población.

Su utilidad en el estudio de genomas vegetales es ampliamente reconocida y ha sido aplicada a un vasto numero de especies, entre ellas el trigo. Para el trigo el uso de sondas heterólogas ha permitido realizar estudios de sintenia entre genomas de especies relacionadas (Devos y Gale 1993; Van Dynze *et al.* 1995). Mapas detallados de ligamiento de RFLPs en trigo (Chao *et al.*1989; Devos y Gale 1993; Xie et al.1993; Nelson *et al.*1995[a], b, c; Van Dynze *et al.* 1995; Marino et al. 1996) y mapas físicos (Gill *et al.*1933; Kota *et al.*1993. Hohmann *et al.* 1994; Ogihara *et al.* 1994; Delaney *et al.* 1995 a,b; Michelson-Young *et al.* 1995; Gill *et*

al. 1996) han sido publicados para los siete grupos de cromosomas homólogos y se hallan disponibles en el sitio http://ars-genome.cornell.edu/. Sin embargo su empleo se ha visto limitado como en otras especies autógamas (Russell et al. 1997), también en el trigo (Chao et al. 1989; Cadalen 1997) por una estrecha base genética que determina niveles insuficientes de polimorfismo.

La técnica de RFLP fue la primer técnica de marcadores de ADN utilizada en la caracterización de cultivares de trigo (Vaccino et al., 1993) y en el análisis de su diversidad genética (Kim and Ward, 1997; Paull et al. 1998). Sin embargo, el empleo como técnica de rutina para la identificación de cultivares se ha visto limitada por el costo y complejidad de la técnica como así también por el bajo nivel relativo de polimorfismo observado con esta técnica entre cultivares *élite* (Bryan et al. 1999).

Figura Nº2. Representación esquemática de la detección de polimorfismo mediante la técnica de RFLP.



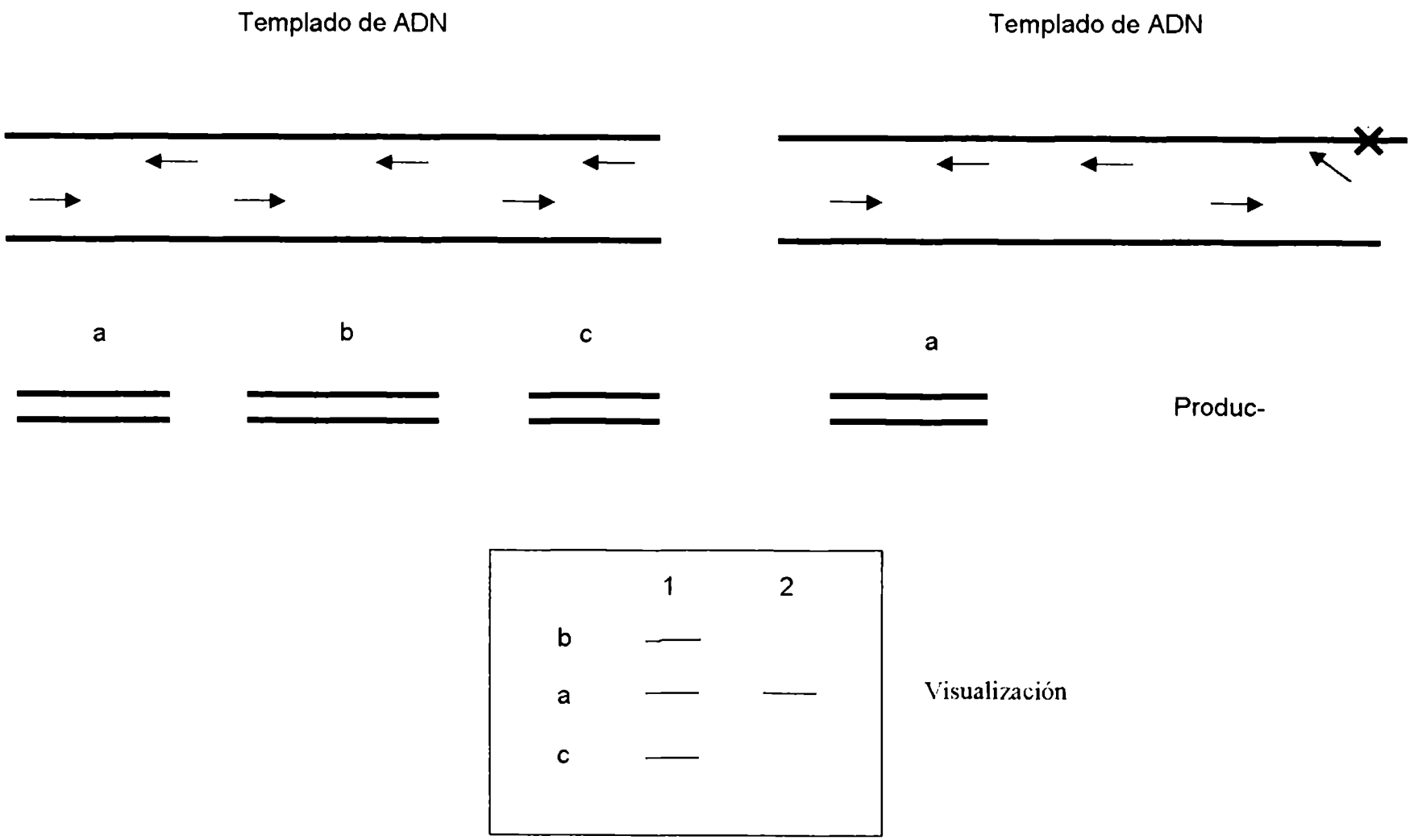
Dentro del segundo grupo mencionado (ii) se encuentran los RAPDs (Random Amplified Polymorphsm) y los microsatélites o SSR (secuencias repetidas simples).

Los primeros marcadores basados en la técnica de Reacción de Polimerasa fueron los RAPDs (Random Amplified Polymorphism Detection), (Williams et al. 1990). Esta técnica se basa en la amplificación de secuencias al azar utilizando como iniciadores de la cadena de polimerasa olinucleótidos de 10 pares de bases, figura Nº3.

La ventaja de la técnica reside en que los olinucleótidos iniciadores de la reacción pueden ser construidos sin el conocimiento previo de la secuencia blanco de ADN a amplificar. Estos "primers" se utilizan preferentemente uno a la vez. Otras ventajas adicionales son la posibilidad de automatización, poca cantidad de ADN templado requerido, su detección sin isótopos radiactivos, por lo cual los resultados pueden visualizarse en corto tiempo y los requiere de equipamiento costoso de laboratorio.

Sin embargo, su baja reproducibilidad limita su aplicación en la caracterización varietal. Esta técnica es sumamente sensible a variaciones técnicas como son: la utilización de diferentes termocicladores, diferentes fuentes de enzima polimerasa, grosor de la pared de los tubos de reacción, grado de pureza del ADN, etc. por lo que los resultados transferidos a otros laboratorios se presentan ambiguos. Estas características limitan la estandarización y su validez en cuestiones legales.Otra de sus desventajas es la localización cromosómica generalmente desconocida y su carácter de marcador "alélicamente dominante" (los individuos heterocigotas no pueden ser detectados).El empleo de marcadores RAPDs y sus limitaciones en trigo ha sido analizado por Devos y Gale (1992).

Figura Nº3. Representación esquemática de la detección de polimorfismo mediante la técnica de



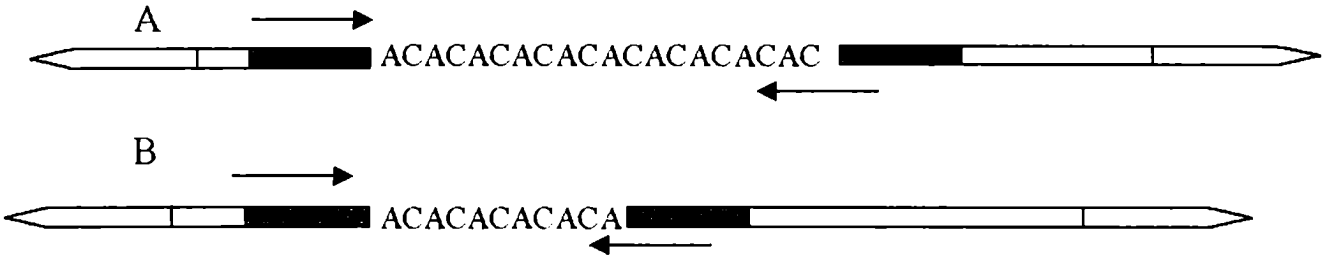
Dentro del segundo grupo mencionado se encuentran los microsatélites o SSR, secuencias repetidas simples (SSR, simple sequence repeats).

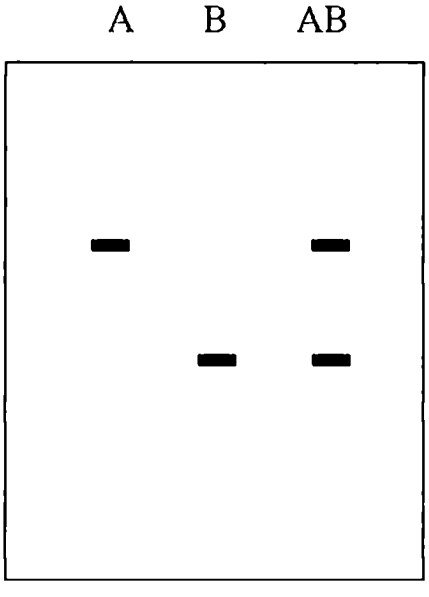
En los genomas de plantas y animales existen numerosas regiones hipervariables llamadas microsatélites o secuencias repetidas simples (SSR), las cuales se caracterizan por repeticiones de 2 a 4 pares de bases flanqueadas por regiones conservadas. Estos loci pueden ser amplificadas mediante la Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR, Polymerase Chain Reaction) utilizando primers específicos (de 18 a 20 pares de bases de longitud) los cuales reconocen la secuencias únicas flanqueantes de estas regiones hipervariables, figura N°4.

La alta variación en el número de repeticiones presente en cada locus, determina la gran capacidad de esta metodología en la discriminación de genotipos, siendo especialmente útil para especies autógamas donde el nivel de variabilidad genética es bajo.

La existencia de repeticiones de di nucleótidos fue documentada por primera vez hace aproximadamente 15 años atrás por Hamada (1982). Estudios posteriores de Tautz y Renz (1984) confirmaron su abundancia y su ubicuidad en eucariotas. Estas secuencias repetidas en "tandem" fueron clasificadas en minisatélites (Jeffrey 1985) y microsatélites (Litt y Luty 1989) dependiendo de la longitud de pares de bases que conforma el motivo, siendo los motivos de estos últimos menores a cuatro pares de bases. Se ha demostrado la alta variación del número de repeticiones y la forma de herencia codominante, (esto significa que para un individuo heterocigota es posible la visualización de los alelos paternos y de los alelos maternos) (Litt y Luty 1989). La detección de las distintas variantes alélicas de los microsatélites se basa en la diferencia en longitud de las repeticiones que es detectada mediante la reacción de PCR (Reacción de la cadena polimerasa) de la amplificación a partir de DNA genómico total, utilizando dos oligonucleótidos iniciadores ("primers"), que flanquean las repeticiones y definen el locus. Se ha demostrado el potencial de los microsatélites para el mapeo genómico (Dietrich et al. 1992; Hazan et al. 1992), diagnóstico de enfermedades (Fu et al.1991) y estudios evolutivos (Buchanan et al 1994; Schöetterer et al 1991).

Figura Nº 4. Representación esquemática de la detección de polimorfismos mediante la técnica de microsatélites.





Secuencia flanqueante

Oligonucleótidos específicos

Las secuencias de los microsatélites pueden obtenerse de dos maneras:

a) mediante la búsqueda en bases de datos como GenBank (Weber 1990, Roder 1995) o EMBL

b) mediante la búsqueda en genotecas hibridando con oligonucleótidos. Este último método involucra los siguientes pasos:

1) Creación de una genotecas de insertos pequeños.

2) Hibridación de la genotecas con oligonucleótidos.

3) Secuenciación de los clones positivos

4) Diseño de los oligonucleótidos a ser usados como iniciadores de la reccción de PCR

5) Identificación de las variantes alélicas.

6) Mapeo de en poblaciones segregantes.

En la figura Nº5 se muestra los pasos del aislamiento de los microsatélites.

Figura Nº5. Obtención de microsatélites.

Los primeros microsatélites en plantas fueron aislados en árboles tropicales (Condit y Hubbell 1991).

En plantas se han reportado microsatélites en *Arabidopsis thaliana* (Bell and Ecker 1994), cebada (Shagai-Marooff etal. 1994), *Brassica* (Lagerkrantz et al. 1993), maíz (*Zea mays* L., Senior and Heun 1993; Taramino y Tingey 1996), arroz (*Oryza sativa L.*, Wu and Tanskley 1993), soja (*Glycine max, (L.) Merr.;* Akkaya et al 1992 y 1995; Morgante and Olivieri 1994), arveja (Sharma *et al.* 1995), vid (Thomas *et al.* 1993), roble (Dow et al 1995), *Paspalum* (Liu et al 1995), rábano (Kresovich et al., 1995), papa (Provan 1996),. remolacha (*Beta vulgaris*, Mörchen et al., 1996), batata (*Ipomea sp*, Jarret y Bowen, 1994) entre otras.

Estas regiones hipervariables están distribuidas a lo largo del genoma y poseen características particulares que los hace valiosas herramientas moleculares. Ellas son:

- Naturaleza multialélica. Presentan altos valores de Contenido de información polimórfica. (PIC), lo cual señala un mayor poder de discriminación respecto a los RFLP (Röder 1995), especialmente dentro de cultivares de especies autógamas que presentan bajos niveles de variabilidad genética.
- Son altamente reproducibles, en base a la técnica de PCR.
- Visualización de naturaleza co-dominant.
- Permiten el análisis de un único locus entre loci homólogos de especies poliploides.
- Detección por métodos sencillos.
- Relativamente abundantes
- Extensa cobertura del genoma.
- Pequeña cantidad de ADN requerida como templado. Baja exigencia en cuanto a la calidad del mismo.
- Herencia mendeliana.

- Estabilidad somática.
- Información intercambiable entre laboratorios consistente en secuencias de ADN (no clones).

Los motivos poly(A-C) y poly(A-G) se han detectados con una frecuencia de 5×10^3 y 3×10^5 respectivamente. Ha sido estimada, en promedio, la presencia de una repetición de 20 pares de bases de longitud cada 33 kpb en los genomas nucleares de las plantas. Esta técnica ha sido particularmente útil en especies autógamas como la soja (Rongwen et al., 1995) y el arroz (Yang et al., 1994) con bajos niveles de variabilidad genética.

Röder et al. (1995) y Devos et al. (1995) fueron los primeros autores en describir este tipo de marcador molecular en trigo. Actualmente existen más de trescientos primers de microsatélites públicos disponibles que han sido aislados por diferentes grupos, Plaskncke & Devos (1995) Roder (1995), Sorrells (1995), Bryan et al (1997) Roder (1998), Stephenson (1998).

El genoma de trigo contiene en promedio un bloque (GT)n cada 704 Kb y un bloque (GA)n cada 440 Kb. La distancia promedio entre dos bloques es aproximadamente 271 Kb.

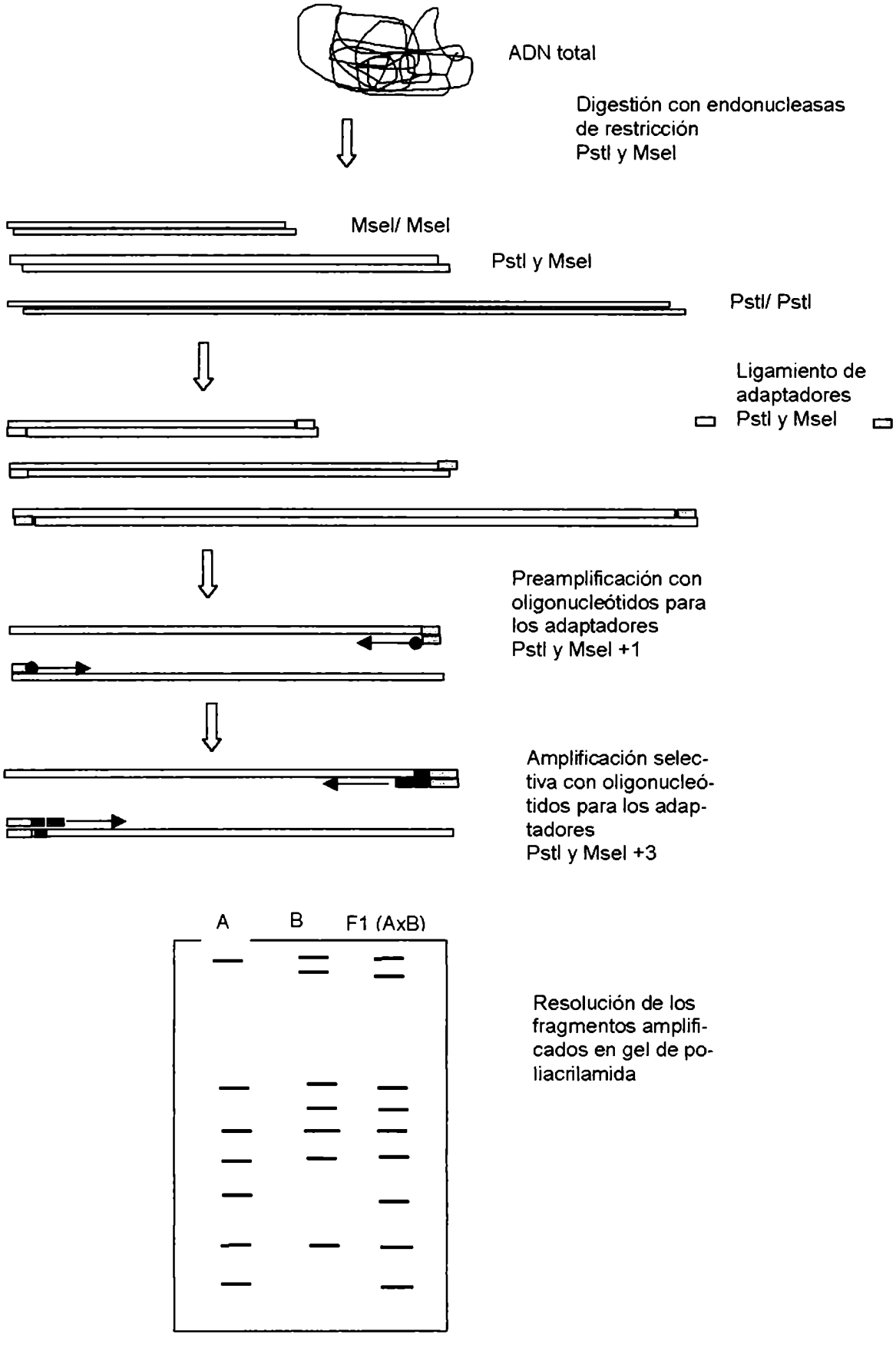
Con un genoma de tamaño de 16×10^9 pares de bases por genoma haploide de trigo (Bennett, 1976), el número total de loci de microsatélites es 3,6 x 10^4 (GA)n y 2,3 x 10^4 (GT)n (Roder 1995).

Los microsatélites del trigo hexaploide se encuentran distribuidos de manera bastante uniforme a lo largo del genoma, a excepción de algunas zonas centroméricas de los cromosomas 2A, 3A, 3B,4B,5B y 6B. (Röeder *et al.*1998a), siendo así útiles para una cobertura completa del genoma de trigo al igual que los RFLPs. Datos obtenidos a partir del mapeo físico de microsatélites utilizando líneas con deleciones del grupo 2 de cromosomas (Röeder *et al.*1998b) confirman que los microsatélites no se hallan agrupados en regiones específicas del genoma. Esta situación coincide con lo que se observa en otras gramíneas a diferencia de lo que ocurre en otras especies como remolacha y tomate, donde los microsatélites está, concentrados en la zona de los centrómeros (Schmit y Heslop-Harrison, 1996; Röder, 1998)

Dentro del último grupo la técnica que combina digestión del ADN con enzimas de restricción y la amplificación vía técnica de Cadena de Polimerasa (PCR) es la de AFLP (Amplified Fragment Lengh Polymorphism) (Vos et al 1995). Figura Nº6. Esta técnica detecta la presencia o ausencia de sitios de restricción en combinación con variantes en la secuencia adyacente a estos sitios. Se basa en la amplificación de fragmentos cortos de ADN genómico generados por la digestión con endonucleasas, a los cuales se les a agregado en cada extremos secuencias adaptadoras Los oligonucleótidos utilizados como iniciadores de la cadena de polimerasa que son complementarios a dichos adaptadores poseen en su extremo 3' uno a cuatro nucleótidos para que la reacción de amplificación sea selectiva. La presencia o ausencia de estos nucleótidos selectivos en los fragmentos de ADN genómico al ser amplificados revelan las distintas variantes o polimorfismo. Este tipo de marcador es de naturaleza co-dominante y reproducibles. Aunque la técnica de AFLPs es potencialmente muy informativa para el análisis del genoma, las relaciones alélicas entre bandas polimórficas no son obvias y no pueden inferirse directamente. Involucra numerosos pasos que demandan reactivos de alto costo y personal entrenado. Además requiere cantidad considerable de ADN que debe ser de alta calidad, libre de contaminantes, como inhibidores de enzimas.

Esta técnica ha resultado exitosa en la evaluación de diversidad y de las relaciones genéticas en trigo (Barrett and Kidwell, 1998), arveja (Tohme et al. 1996), arroz (Mackill et al. 1996), te (Paul et al. 1997), cebada (Qi and Lindhout, 1997), soja (Maughan et al., 1996).

FiguraNº 6. Representación esquemática de la detección polimorfismos con la técnica de AFLPs



En la tabla N°1 se muestran las distintos marcadores moleculares, con sus ventajas y desventajas:

Tabla N° 1.Comparación entre distintos sistemas de marcadores moleculares

	RFLP	RAPD	AFLP	SSR
Principio	Restricción con endonucleasas, Transferencia (Southern blotting), Hibridación	Amplificación con oligonucleótidos al azar (10 pb de longitud)	Restricción con endonucleasas ligación de adaptadores, amplificación selectiva con oligonucleótidos de secuencia conocida	Amplificación con oligonucleótidos de secuencia conocida específica (20 pb de longitud)
Tipo de polimorfismo	Cambio en una única base,insersiones, deleciones	Cambio en una única base,insersiones, deleciones	Cambio en una única base, insersiones, deleciones	Número de repeticiones
Nivel de polimorfismo	Medio	Medio	Medio/Alto	Alto
Visualización	Co-dominante	Dominante	Dominante	Co-dominante
Cantidad de ADN requerido	10 ug / calle del gel	10-25 ng/reacción	1 ug/ amplificación inicial	25-35 ng/ reacción
Calidad de ADN	Alta	Mediana	Alta	Mediana
Información de la secuencia	No se requiere	No se requiere	No se requiere	Se requiere
Detección con radioisótopos	si/no	No	si/no	Si/no
Desarrollo	complejo	simple	simple	Complejo
Costo de aplicación	Medio/alto	Bajo	Alto	Bajo
Complejidad	Medio/alto	Bajo	Bajo	Medio/alto
Costos iniciales	Alto	Bajo	Medio	Medio/alto
Tiempo de trabajo	Laborioso	Rápido	Laborioso	Rápido
Reproducción	Media/alta	Baja, extremadamente influenciada por condiciones experimentales	Media/alta	Alta

Por sus ventajosas características sobre los demás marcadores moleculares, los microsatélites han sido los marcadores elegidos para el análisis de identificación. El potencial de los microsatélites en la identificación de cultivares fue señalado por el grupo por el Working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA-Profiling in Particular (UPOV, 1995), aunque aun no son aceptados como criterio único para la determinación de la identidad varietal.

La primera aplicación de los microsatélites en plantas fue la identificación de cultivares de vid (*Vitis vinifera*, Thomas and Scott 1993). La utilidad de los microsatélites para la identificación genotípica en vegetales ha sido reportada para soja (*Glicine max L* ,Rongwen et al.1995), arroz (Yang et al.1994), y en la determinación de relaciones genéticas en cebada (Davila 1998) y maíz (Smith 1997).

Los microsatélites poseen un nivel intra específico de polimorfismo más alto comparado con los RFLP (Roder 1995, Plaschke 1995). Las características de los motivos de los microsatélites en el genoma de trigo ha sido investigada y su potencial relación entre la información que proporciona cada locus de acuerdo a las características de su secuencia fue analizada por Ma (1996).

Plaschke (1995) halló un número relativamente pequeño para la estimación de la diversidad genética y la identificación de cultivares elites y en líneas de trigos hexaploides.

Los microsatélites también han sido utilizados para la caracterización de ocho cultivares Europeos (Devos, 1995) y once Canadienses (Lee, 1995) de trigo pan.

La caracterización del germoplasma de trigo utilizando técnicas de "huellas dactilares de ADN", comúnmente llamados "fingerprinting" provee información para el uso racional de la diversidad genética en ambos aspectos de la investigación básica y de aspectos prácticos como el mejoramiento.

Uno de los usos más comunes del "fingerprinting" es en el plano legal para la protección de los mejoradores que desarrollan variedades o bien en litigios de comercialización de semillas. La identificación con técnicas molecula-

res de un gran número de variedades agilizaría el registro de propiedad de las variedades y brindaría mejor protección legal a los obtentores de nuevas variedades.

Si bien este aspecto legal es de gran importancia existen otros aspectos que son valiosos y que cabe destacar como lo es el estudio de al diversidad genética.

Marcadores moleculares y diversidad genética

El valor de la conservación de los recursos genéticos depende en gran medida de la fidelidad y exactitud con que se identifican y conservan los materiales en los bancos de germoplasma. A través del tiempo existe la posibilidad de acumular errores de documentación que llevarían a duplicaciones sin sentido e incluso la erosión de dentro de las accesiones. La utilización de caracteres morfológicos es una de las aproximaciones más simple para detectar errores de documentación y evaluar la diversidad. Esta estrategia si bien es útil se ve afectada por factores ambientales, la evaluación se torna dificultosa en colecciones de gran tamaño y muestras con una relación de parentesco muy cercana son difícilmente distinguibles.

La caracterización genotípica mediante marcadores moleculares o "fingerprinting" en bancos de germoplasma a modo de hacer más eficiente los criterios de conservación. La identificación adecuada y la caracterización genotípica permiten la detección de duplicaciones y la definición de una "core collection" o colección núcleo que maximice la diversidad genética de modo optimizar la conservación de los recursos.

Los marcadores moleculares pueden ser utilizados para la cuantificación de la diversidad genética, para el estudio de su variación a través del tiempo, de los cultivares modernos respecto de sus progenitores y la contribución de éstos a su descendencia.

También posibilitan el entendimiento del proceso de domesticación involucrado en la evolución de especies cultivadas y la determinación de la eficiencia del mejoramiento en el aprovechamiento de la variación pre-existente. La variabilidad genética debe ser conservada en especies domesticadas a fin

de disminuir la vulnerabilidad a adversidades causadas por agentes bióticos y abióticos.

El estudio de la variabilidad genética en poblaciones naturales y germoplasma muy antiguo sirve como fuente de caracteres de interés. Su caracterización posibilita el estudio de la distribución de un determinado carácter de interés, de hallarse ligado a alguno de los marcadores usados como descriptores.

La caracterización de germoplasma mediante "fingerprinting" permite la verificación de pedigrí y de las relaciones genéticas entre variedades facilitando la selección precisa de materiales para ser empleados en los programas de mejoramiento. La verificación de los criterios de uniformidad y estabilidad en líneas avanzadas luego de sucesivos ciclos de cruzamientos recurrentes por un progenitor ("retrocruzas") es de suma importancia dado que dicho proceso involucra gran inversión de tiempo y materiales. La disponibilidad de semilla uniforme y correctamente identificada es esencial tanto en los programas de mejoramiento como así también el manejo de distintas variedades para estudios de investigación básica.

Aplicación de los microsatélites en caracterización de genes de importancia agronómica y evaluación de germoplasma

Algunos microsatélites han sido utilizados para la caracterización de variantes alélicas, constituyendo marcadores útiles de genes de importancia agronómica y de caracteres de herencia cualitativa. Ejemplos de ello son el uso de microsatélites ligados al gen de enanismo *Rth8* (Korzun 1998 y Worland 1998). El microsatélite ligado a este gen se utiliza comercialmente como diagnóstico y su dispersión a través del mundo ha sido evaluada en 100 variedades provenientes de distintas regiones, (Worland 1998). También ha sido identificado un microsatélite asociado con la tolerancia al brotado precosecha (Roy 1999) y otro microsatélite asociado con un loci de herencia cuantitativa (QTL, *quantitative trait loci*) para el contenido de proteína (Prasad 1999).

La existencia de factores genéticos adicionales a las HMW-GS en la determinación de la calidad panadera queda también demostrada en la presencia de diferencias en el volumen de pan desde 685 cm^3 hasta 810 cm^3 en un conjunto de 18 cultivares argentinos con el índice máximo Glu-1= 10 (Tombetta, 1990).

Estudios recientes han demostrado que la variación alélica en las LMW-GS está correlacionada con las diferencias encontradas en la viscoelasticidad del gluten tanto en trigos pan como en trigos pasta (Pogna 1990), (Gupta 1991, b), (Pogna 1994). A pesar de que las LMW-GS son de 2 a 4 veces más abundantes que las HMW-GS son más difíciles de estudiar pues se solapan con las gliadinas en SDS-PAGE unidimensionales. Aún con la introducción de procedimientos secuenciales de extracción (Singh, 1991), (Gupta, 1991, a) que permiten estudiar las LMW-GS en un fondo libre de gliadinas la discriminación de los diferentes alelos es compleja por lo que no existe hasta el momento una nomenclatura internacional aceptada equivalente a la descripta para las HMW-GS.

El estrecho ligamiento genético que existe entre los loci de gliadinas *Gli-1* y LMW-GS *Glu-3* (Van Deynze, 1995) determina que los loci de gliadinas también se encuentren correlacionados con parámetros de calidad (Singh, 1988), (Dubcovsky,1995b), (Jackson, 1983). Sin embargo, los estudios en que se separaron por recombinación los efectos de gliadinas y LMW-GS demostraron que estas últimas son las responsables de la asociación con factores de calidad panadera (Pogna 1990; Metakovsky 1990). La variación alélica en los loci de las LMW-GS puede tener efectos similares a los de las HMW-GS sobre calidad (Gupta *et al.*1991; Khelifi y Branlard 1992; Gupta y MacRichtie 1994; Gupta *et al.*1994; Pogna *et al.*1994).

En este trabajo se investigó la correlación entre LMW-GS y los loci de gliadinas sobre los parámetros de calidad panadera en variedades con idénticas subunidades de HMW-GS y calidad contrastante. Muchas de las variedades argentinas de trigo pan, a las cuales se les ha asignado un índice HMW-GS óptimo presentan diferencias en cuanto a su calidad panadera. Se estudió además la posibilidad de utilizar marcadores SSR (secuencias repetidas simples) ubicados dentro de los loci de las proteínas de reserva a fin de evaluar la

Particularmente importantes son dos loci de microsatélites que han sido localizados dentro de la región codificante de las proteínas de reserva del grano, las gluteninas de bajo peso molecular (LMW) (*XGlu-A3*) y de las gamma gliadinas (*XGli-B1*) (Roder et al. 1995).

En este trabajo, se analiza la posibilidad de utilizar la técnica de microsatélites como marcadores asociados con características cuantitativas como parámetros de calidad panadera y evaluación de germoplasma relacionados con este carácter.

La producción de trigo y su utilización ha estado ligada íntimamente con el desarrollo de la agricultura y de la civilización desde hace por lo menos 12,000 años (Harlan 1981). Puede decirse que el impacto de su domesticación y explotación ha trascendido regiones y preferencias de grupos étnicos. El trigo provee la mayor fuente de energía, proteínas y fibras en la dieta humana. Se cree que los primitivos panes sin levar datan de la era Neolítica y que desde temprano los egipcios desarrollaron procesos fermentativos para realizar distintos tipos de panes (Dukes1995). Desde entonces estos productos continúan formando una parte importante de la dieta del hombre actual, aportando la mitad de los requerimientos calóricos de una dieta balanceada (Dukes 1995). El trigo es único entre los cultivos alimenticios en términos de la producción de granos por año, aventajando al Maíz y al Arroz (FAO, ¿??). Se ha estimado que del total de grano producido el 65% es utilizado para consumo humano directo, 21% como alimento para el ganado, 8% como semilla y el 6% destinado a uso industrial (Orth y Shellenberger, 1988).

El éxito del trigo como cultivo para alimento no solo deriva de su plasticidad en cuanto al amplio rango geográfico de climas y tolerancia de suelos, sino también de la versatilidad del grano y harina como fuente para la confección de diferentes productos alimenticios (Faridi y Faubion, 1995).

La cantidad y composición de las proteínas de reserva del grano; gliadinas y gluteninas, hacen al trigo único entre los cereales. Estas proteínas son las más importantes en la determinación de la calidad panadera debido a que son las responsables de las propiedades visco-elásticas de la masa. Las gliadinas son proteínas monoméricas mientras que las gluteninas son proteínas poliméricas de alto peso molecular cuyos componentes polipeptídicos se hallan

ligados entre sí mediante enlaces disulfuro. Esta estructura polimérica es responsable de la capacidad de retención de CO_2 de la masa y en consecuencia del marcado efecto de las gluteninas sobre la calidad panadera (Schofield, 1994).

Las gluteninas se han dividido de acuerdo a su movilidad en geles de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS *high-molecular-weight glutenin subunits*) y gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GS *low-molecular-weight glutenin subunits*). Las HMW-GS se hallan codificadas por los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, y *Glu-D1* localizados en el brazo largo de los cromosomas 1A, 1B y 1D (10 a 30 cM del centrómero) y las LMW-GS por los loci *Glu-A3*, *Glu-B3*, y *Glu-D3 localizados* en la región distal de los brazos cortos de los mismos cromosomas (Fig. 1) (Singh, 1988), (Dubcovsky, 1995)

Los primeros estudios realizados sobre las gluteninas con relación a su funcionalidad centraron su atención en la composición de subunidades de HMW. Numerosos son los estudios realizados en distintas colecciones de cultivares provenientes de diferentes regiones, en la progenie de cruzamientos entre cultivares y en líneas isogénicas (Schofield,1994) (Payne, 1987a), (Weegels,1996) acerca de la correlación entre HMW-GS específicas y donde se evidencia la importancia cuali y cuantitativa de las subunidades de HMW sobre la calidad panadera (Kolster et al., 1992; Kolster & Vereijken, 1993; Marchylo et al. 1992; Ng et al., 1989; Payne et al., 1979; Sutton et al. 1989)

La correlación de la composición subunidades de las gluteninas de alto peso molecular con el potencial sobre calidad panadera ha sido abordada estadísticamente de dos maneras. Payne (1987) asignó valores a cada uno de las subunidades basándose en los valores de los test de sedimentación con SDS. Construyó con la sumatoria de los valores individuales de cada uno de los alelos un indicador de calidad que denominó Indice Glu-1 y cuyo máximo valor posible 10. Ng & Bushuk (1988) desarrollaron una ecuación con el objeto de predecir la unidad de volumen de pan (volumen por 1% de contenido de proteína) en los cultivares de trigo pan. Varias colecciones de diversos lugares del mundo han sido analizadas en su composición alélica de los loci de HMW (Morgunov et al.1993).

En los cultivares europeos de trigo el índice de calidad Glu-1 pudo explicar el 55% de la variación observada en valores de sedimentación en SDS en cultivares ingleses (Payne 1987), el 54% de la variación observada en cultivares alemanes (Rogers, 1989) y el 43% de la variación de valores en la prueba de Zeleny en cultivares españoles (Payne, 1988).

En los cultivares argentinos analizados por nuestro grupo de trabajo (Premio Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria: Molinos Brüning edición 1995-1996) los porcentajes de variación en la sedimentación en SDS explicados por la variación en el índice GLU-1 fueron relativamente menores a los encontrados entre cultivares europeos. Los bajos valores de correlación entre el índice GLU-1 y el valor de sedimentación en SDS son similares a los encontrados entre el índice GLU-1 y otros parámetros de calidad. Estos resultados son similares a los hallados por Lúquez (1995) donde la correlación entre el índice GLU-1 y los parámetros alveográficos, fuerza total del gluten (W, r=0.32) y estabilidad de la masa (P/G, r=0.55) explican una proporción de la variación (10% y 28% respectivamente). Por el contrario la variación en HMW-GS en las líneas isogénicas con y sin la translocación 1BL/1RS de centeno explicó una proporción de la variación compatible con la que se encuentra en cultivares europeos debido a la mayor variabilidad en índices GLU-1 dentro de este conjunto de muestras.

Estos resultados no deben ser interpretados como una falta de importancia de las HMW-GS en la determinación de la calidad panadera. En todos los casos analizados las correlaciones fueron positivas indicando una correcta valoración del efecto de los diferentes alelos a través del índice GLU-1. Por otra parte, el efecto significativo de los diferentes alelos de HMW-GS sobre la calidad panadera se demostró en las líneas homocigotas de recombinación entre Chinese Spring y Cheyenne. La presencia de los alelos 1 y 2* en *Glu1-1A*, 7+8 ó 17+18 ó 13+16 en *Glu-B1* y 5+10 en *Glu-D1* (Blackman, 1987) sigue siendo un objetivo importante para la obtención de cultivares con una alta calidad panadera. Si bien las HMW-GS cumplen un rol importante en la determinación de la calidad panadera, la variación alélica en estos loci explica generalmente menos del 50% de la variación observada entre cultivares (Payne, 1987a), (Payne, 1988), (Rogers, 1989).

variación alélica de estos loci en variedades de Argentina de trigo y de California.

Para aprovechar la variabilidad genética en calidad panadera presente en el germoplasma tradicional es necesario una eficiente manipulación de los determinantes genéticos de calidad en los programas de mejoramiento.

Los nuevos conocimientos sobre el efecto de diferentes variantes genéticas de proteínas de reserva sobre la calidad panadera unidos a la disponibilidad de nuevas tecnologías de marcadores moleculares para manipular dichas variantes, tienen el potencial necesario para acelerar el mejoramiento de la calidad panadera de los cultivares argentinos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Dada la importancia del conocimiento de la variabilidad genética para su aplicación en el ámbito de investigación como así también como en su aspecto aplicado, como objetivo general se plantea la caracterización y cuantificación de la diversidad genética del germoplasma argentino trigo pan (*Triticum aestivum)* mediante el uso de marcadores moleculares en muestras representativas del mismo.

OBJETIVOS PARTICULARES

Como estrategia para alcanzar el objetivo general de este trabajo se plantearon los siguientes objetivos particulares:

a) Establecer la distancia genética entre cultivares y cuantificar la diversidad genética de los cultivares tradicionales y modernos, como así también el grado de "erosión" genética del germoplasma de trigo pan de Argentina.

b) Establecer un Documento Único de Identidad Genética para cada variedad de trigo pan de Argentina.

c) Corroborar la factibilidad de la aplicación de microsatélites en el estudio de caracteres cuantitativos de interés agronómico en poblaciones segregantes y la caracterización de germoplasma.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y METODOS

1. MATERIAL VEGETAL

1.1.Variedades de *Triticum aestivum* de Argentina

Para la caracterización del germoplasma argentino de trigo pan (*T.aestivum* L. syn *T.vulgare* Host) se utilizó un conjunto de 105 cultivares argentinos seleccionados a partir del Registro de Inscripción de Cultivares de trigo del Instituto Nacional de Semillas (INASE), perteneciente a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos.

Las variedades seleccionadas para este trabajo corresponden a variedades de amplia difusión en nuestro país, que han sido liberadas desde 1932 hasta 1995. Se incluyó la variedad Chinese Spring como referencia, ya que ésta ha sido la utilizada en el desarrollo de los microsatélites. En la tabla 2 se detallan las variedades de trigo utilizadas y el código de entrada en el Banco Base de Germoplasma de INTA Castelar.

Tabla 2 Variedades argentinas de trigo pan *(Triticum aestivum)*

Variedad	Abreviatura	Número de Entrada Banco Base Castelar	Año de liberación
38 MA (Ministerio de Agricultura)	38MA	BBC 836	1937
Bonaerense Pasuco	BPAS	93-861	1987
Bonaerense Pericón	BPER	93-860	1988
Bordenave Puán SAG	BDVP	BBC 772	1966
Buck Atlántico	BATL	BBC 773	1956
Buck Bagual	BBAG	Antonelli	1988
Buck Candil	BDIL	Chacra Barrow	1994
Buck Catriel	BCAT	94-465	1992

Buck Cencerro	BCEN	BBC 841	1973
Buck Cimarrón	BCIM	BBC 776	1970
Buck Charrúa	BCHA	BBC 777	1989
Buck Fogón	BFOG	93-865	1989
Buck Guaraní	BGUA	94-464	1993
Buck Manantial	BMAN	BBC 779	1965
Buck Mapuche	BMAP	BBC 886	1984
Buck Nambucurá	BNAM	BBC 780	1971
Buck Napostá	BNAP	93-898	1972
Buck Ñandú	BNDU	BBC 781	1975
Buck Ñapucá	BNPU	94-320	1987
Buck Ombú	BOMB	93-869	1984
Buck Palenque	BPAL	94-467	1990
Buck Pampero	BPAM	BBC 775	1955
Buck Pangaré	BPAN	BBC 783	1979
Buck Patacón	BPAT	93-870	1983
Buck Poncho	BPON	93-871	1987
Buck Pucará	BPUC	93-919	1980
Buck Yapeyú	BYAP	93-914	1992
Ciano 67	CNO	93-422	1974
Cochicó INTA	CCHI	BBC 788	1984
Cooperación Bahía	COBA	BBC 847	1983
Cooperación Cabildo	COCA	93-1053	1980
Cooperación Calquín	COCAL	93-876	1989
Cooperación Liquen	COLIQ	93-910	1988
Cooperación Maipún	COMN	BBC 848	1993
Cooperación Millán	CMIL	BBC 849	1972
Cooperación Nanihue	CNAN	93-907	1987
Cruz Alta INTA	CZI	94-313	1986
Chaqueño INTA	CHQ	93-873	1974
Chasicó INTA	CHAS	93-874	1980
Dekalb Chañar	DKBCH	BBC 850	1978
Dekalb Lapacho	DKBL	BBC 790	1973
Dekalb Quebracho	DKBQ	BBC 791	1978
Dekalb Tala	DKBT	BBC 851	1973
Diamante INTA	DTI	93-921	1973
Don Ernesto INTA	DERN	94-317	1987
Granero INTA	GRAI	93-877	1987
Klein 32	KL032	BBC 811	1932
Klein Atalaya	KLATY	93-923	1982
Klein Atlas	KLAT	BBC 796	1967
Klein Cacique	KLCQ	94-50	1991
Klein Cartucho	KLCAR	93-879	1983
Klein Centauro	KLCEN	BBC 797	1989
Klein Cobre	KLCOB	93-885	1987
Klein Criollo	KCRI	BBC 852	1984
Klein Chamaco	KCHA	BBC 800	1978
Klein Dorado	KLDOR	93-881	1987

Klein Dragón	KLDR	94-325	1992
Klein Fortín	KLFT	BBC 801	1974
Klein Granador	KLGR	BBC 853	1976
Klein Impacto	KLIM	BBC 802	1966
Klein Orión	KLOR	BBC 883	1988
Klein Petiso	KLPE	94-461	1953
Klein Rendidor	KLRE	BBC 808	1954
Klein Salado	KLSL	93-926	1985
Klein Sendero	KLSEN	BBC 809	1971
Klein Toledo	KLTO	BBC 810	1972
La Paz INTA	LPI	BBC 855	1982
Labrador INTA	LAB	BBC 854	1979
Las Rosas INTA	LRI	94-460	1983
Leones INTA	LNI	94-489	1973
Marcos Juarez INTA	MJI	94-484	1971
Norkin Caburé	NKC	BBC 856	1984
Norkin Churinche	NKCH	BBC 857	1984
Norkin Irupé	NKI	BBC 858	1984
Norkin Lider	NKL	93-890	1984
Norkin T-82	NKN82	BBC 859	1982
Norkin pan 70	NKP	BBC 860	1978
Olaeta Artillero	OA	BBC 822	1959
Oncativo INTA	ONC	BBC 861	1964
Pampa INTA	PPA	BBC 823	1984
Pergamino Gaboto MAG	PGTO	BBC 824	1960
Pionero INTA	PION	93-892	1986
Precoz Paraná INTA	PPI	93-929	1971
Prointa Bonaerense Redomón	PBRD	BBC 826	1993
Prointa Don Alberto	PIDA	93-916	1988
Prointa Guazú	PIGU	93-930	1991
Prointa Imperial	PIIP	93-911	1992
Prointa Isla Verde	PIIV	93-893	1988
Prointa Oasis	PIOS	BBC 869	1989
Prointa Pigue	PIPG	93-895	1988
Prointa Pincén	PIIC	93-915	1992
Prointa Puntal	PIPT	BBC 862	1994
Prointa Querandí	PIQR	BBC 831	1989
Prointa Quintal	PIQN	94-331	1993
Prointa Súper	PISR	93-662	1993
Retacón INTA	RTNI	BBC 863	1984
Saira INTA	SAIR	93-931	1979
San Agustín INTA	SAUI	BBC 864	1979
Sinvalocho MA	SCHOMA	94-291	1939
Surgentes INTA	SGE	BBC 865	1975
Thomas Aconcagua	TACO	BBC-866	1984
Thomas Catedral	TCAT	BBC 867	1984
Thomas Tronador	TTRO	93-9537	1989
Victoria INTA	VTI	BBC 868	1978

Se sembraron cinco semillas de cada una de las variedades de trigo pan *(T. aestivum)* a analizar. Las plantas fueron crecidas en el invernáculo del Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA Castelar. Bajo condiciones de cultivo controladas en macetas plásticas (medidas 30 cm x 25 cm diámetro) en una mezcla de 3/4 tierra 1/4 arena, autoclavada y tamizada).

1.2. Variedades de *T. aestivum* de California (Estados Unidos de América)

Con el objeto de comparar la variabilidad genética del germoplasma nacional analizado en esta tesis con una referencia del exterior, se analizaron 105 variedades de trigo pan de California de amplia difusión, para los *loci* de proteínas de reserva gamma-gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular mediante dos microsatélites, *Xpsp2999 y Xpsp3000,* ubicados dentro de la región codificante de los respectivos genes *Xglu-A1* y *Xgli-B1.* En la tabla 3 se detallan las variedades analizadas.

Tabla 3. Variedades de California de trigo pan *(Triticum aestivum)*

Variedad	Variedad	Variedad
ACCORD	LAMBERT	SHASTA
ALPOWA	LEN	SIETE CERROS 66
ANDREWS	LERMA ROJO 64	SONORA 64
ANZA	MAC VICAR	SPILLMAN
BAKER	MADSEN	STEPHENS
BARBEE	MALCOLM	STOA
BIG CLUB 60	MARQUIS	SUNSTAR II
BLANCA	MARSHALL	SUNSTAR PROMISE
BONNEVILLE	MERIDIAN	TADINIA
BROOKS	NAINARI 60	TAMMY
CAJEME 71	NEWTON	TANORI 71
CALORWA	NUGAINES	TANORI 87W
CANTHACH	OWENS	TASCOSA
CAVALLIER	PACIFIC PRIDE	TREASURE
CENTENIAL	PENAWAWA	TRES

CHALLENGER	PHOENIX	TRIUMPH 64
COLT	PITIC 62	TURKEY
COPPER	POCO RED	TWIN
CUYAMA	POMERELLE	VANNA
DELANO	PORTOLA	WADUEL 94
DIRKWIN	POSO 48	WAWAWAI
ELTAN	PROBAND 755	WESTBRED 911
EXPRESS	PROBRED	WESTBRED 926
FIELDWIN	PROMONTORY	WESTBRED 936
GARLAND	RAMONA 50	WHITEBIRD
GENE	RED CHIEF	YAMHILL
HILL 81	RICH	YAQUI 54
HOFF	ROD	YECORA BLANCO 87W
HYAK	ROHDE	YECORA BLANCO 90W
INIA 66R	RSI 5	YECORA ROJO
KLASIC	RULO	YECORA ROJO 87W
KMOR	SERRA	

1.3. Material Vegetal de Poblaciones segregantes del cruzamiento de Chinese Spring y Klein32

Se utilizaron las poblaciones F3,2 homogéneas para las HMW-GS (Feingold, 1990). Estas poblaciones permiten medir con mayor precisión el efecto de *loci* diferentes a los de las HMW-GS sobre la calidad. Se seleccionaron los cultivares Klein32 y Chinese Spring que presentan idénticas HMW-GS (*Glu-A1*= nulo, *Glu-B1*= 7+8, *Glu-D1*= 2+12) y difieren significativamente en su calidad panadera (Feingold,1990). Se compararon 96 familias F3,2 en un diseño de bloques al azar con dos repeticiones.

2. MICROSATÉLITES

A fin de seleccionar un grupo de microsatélites cuyas características facilitaran la descripción de cada variedad se hizo una primer evaluación de aquellos que se detallan en la tabla 4. Fueron seleccionados aquellos microsatélites que mostraron un alto contenido polimórfico o bien un patrón de bandas sencillo y fácilmente identificable.

Para la construcción de la Matriz de Identificacion se utilizaron secuencias de pares de primers de los microsatélites localizados en los brazos cromosómicos 1AS: *XGlu3*, 1BS: *XGli1* (Devos *et al.*, 1995), 1AL: *Xcnl5*, *Xcnll3*. (Sorrells, GrainGenes Database, Internet Gopher, host greengenes.cit.cornell.edu, port 70), 7BS: *Xwms46, 7DS: Xwms44,* 3AS: *Xwms5* , *Xwms2, Xwms18, Xwms33* (Röder *et al.*, 1995).

Tabla 4. Microsatélites de trigo

Microsatélite	Localización	Motivo	Tamaño en Chinese	Condiciones de reacción
Xcnl1	7BS	(TG)n	157 pb (en Geneva)	52°C 2.5 mM
Xcnl2	3DL	(TG)n (T)n	376 pb (en Geneva)	56°C 3 mM
Xcnl3	6BS	(TC)n (AC)n	139 pb (en Geneva)	50°C 3 mM
Xcnl4	7AS/4BS	(TG)n (GA)n	350 pb (en Geneva)	60°C
Xcnl5	1AL			60°C
Xpsp3000	1AS	(CAA)	285 pb	55°C
Xpsp2999	1BS	(CAG)n(CAA)	133/142 pb	55°C
Xwmc42	desconocido	(GT)n		50°C
Xwmc47	4B	(CA)n		50°C
Xwms5	3AS	(TC)n (GT)n	172 pb	50°C
Xwms6	4BL/4DL/4	(GA)	205 (en Cheyene)	50°C
Xwms11	1BL	(TA)n (CA)n	196 pb	60°C
Xwms18	4BS	(CA)n (TA)n	186 pb	60°C
Xwms2	2AS	(CA)n	132 pb	50°C
Xwms24	1BL	(AC)n	172 pb	60°C
Xwms3	3DL	(CA)n	84pb (en Cheyene)	50°C
Xwms30	2DL	(AT)n (GT)n	206 pb	60°C
Xwms33	1A, 1B, 1D	(GA)n	123 pb	60°C
Xwms37	7DL	(AG)n	193 pb	60°C
Xwms43	7BL	(CA)n	180 pb	60°C
Xwms44	7DS	(GA)n	182 pb	60°C
Xwms46	7BS	(GA)n	187 pb	60°C
Xwms47	2B	(CT)n	166 pb	60°C
Xwms122	2A	(CT)n(CA)n	147 pb (en Opata)	60°C
Xwms132	6B	(GA)n(GAA)n	118 pb (en Opata)	60°C
Xwms494	6A	(CA)n	194 pb (en Opata)	60°C
Xwms595	5A	(GA)n(imp)	-	60°C
Xwms617	5A/6A	(GA)n	133 pb (en Opata)	60°C
Xwms635	7A/7D	(CA)n(GA)n	99 pb (en Opata)	60°C
Xwms261	2D	(CT)n	164 pb (en Opata)	55°C
Xwms356	2A	(GA)n	216 pb (en Opata)	55°C
Xwms304	5A	(CT)n	202 pb (en Opata)	55°C
Xwms518	6B	(CA)n	166 pb (en Opata)	55°C

3. MÉTODOS

3.1. Extracción de ADN total

Se utilizaron 400 mg de hojas liofilizadas y molidas provenientes de grupos de cinco plantas. La liofilización se realizó con tejido congelado secado en vacío en un liofilizador Labconco (EUA), durante 72 horas. El material liofilizado fue molido en un molinillo ciclónico tipo Udy (Tecator Ciclotech, Suecia)

La extracción se llevó a cabo según Shangai-Maroof *et al.* (1984).

3.1.1. Protocolo de extracción de ADN total

Se incubaron 300-400 mg de tejido liofilizado y molido, con 9 ml de *Buffer de extracción CTAB* (100mM Tris-HCl, pH7,5; 10mM EDTA, pH8; 700mM NaCl; 140mM 2-mecaptoetanol; 2% p/v bromuro de bromuro? de cetiltrimetil amonio) en un tubo de 15 ml. Se mezcló invirtiendo suavemente el tubo hasta lograr completa homogeneización. La incubación se realizó durante 90 min a 65 °C con agitación suave y continua.

Luego del agregado de 4,5 ml de cloroformo:octanol (24:1), agitando suavemente para mezclar las fases, se centrifugó 10 min a 1300-1500 xg a temperatura ambiente. Se trasvasó la fase acuosa (superior) a un nuevo tubo de 15 ml. Este paso se repitió una vez más.

Se incubaron por 30 min a temperatura ambiente o durante 15 min a 37°C con 50 μl de RNAasa A (10 mg/ ml). El DNA precipitado se recogió con el gancho de una varilla de vidrio. Luego fue lavado en una solución de etanol al 76%, NaOAc 0,2 M durante 20 min. El segundo lavado se realizó en una solución de Etanol 76% y NH_4OAc 10mM. Se resuspendió en TE 10:1 (Tris-HCl 10mM pH=8, EDTA 1mM pH=8). Las muestras de ADN así obtenidas fueron almacenadas a 4°C hasta su posterior utilización

3.1.2. Micrométodo de extracción de ADN

Para hacer el seguimiento de la incorporación del alelo de interés durante las retrocruzas se empleó el micrométodo de extracción de DNA con SDS. Este método consiste en el macerado de 1cm^2 de tejido en 70 μl de buffer de extracción compuesto por SDS 10% (dodecil sulfato de sodio), EDTA (pH 8) 10mM, Tris-HCl 50mM pH 8 y β-mercaptoetanol 10mM (agregado fresco). Incubar por 10 min a 65°C. Se agrega 200 μl de solución de acetato de potasio pH 4,8. Dejar en hielo 20 min. Centrifugar 20 min a 13000 xg a 4°C. Pasar el sobrenadante a un microtubo limpio. Agregar 1 volumen (aprox 450 μl de 2-propanol . Incubar 10 min a –20°C. Centrifugar 2min a 13.000 xg. Descartar cuidadosamente el sobrenadante y lavar el precipitado con etanol 70%.

Centrifugar 2 min Repetir el lavado. Dejar secar el precipitado y resuspender en 50 μl de TE.

3.1.3. Cuantificación del ADN

El ADN fue cuantificado por fluorometría de luz ultravioleta (260 nm) en un fluorómetro Hoefer modelo TKO100 (Hoeffer Scientific Instruments, San Francisco, EUA).

3.1.4. Protocolo de cuantificación del ADN

Para la cuantificación fluorimétrica se utilizaron 2 μl de la muestra de DNA en 2 ml de la *Solución de tinción* (TNE 1X [10 mM Tris pH 7,4, 1 mM EDTA pH=8, 100mM NaCl], colorante de Hoechst 33258 0,1 μg/ml de solución). La estructura del colorante se intercala en el surco mayor de la doble hélice del ADN y le confiere fluorescencia.

3.1.5. Control de calidad y cantidad del ADN

Para el control de la integridad del ADN extraído se sembraron 2 μl de cada una de las muestras en geles de agarosa 0,8 % con bromuro de etidio (0,1μg/μl), TAE 1X. La electroforesis se llevó a cabo a 4,5 V/cm (corriente constante) durante 1 h. Se visualizaron en un transiluminador de luz UV y fotografiaron. Para control de la cantidad de ADN se incluyó, en el gel, el estándar de masa de DNA High DNA Mass™ Ladder (Life Technologies -Gibco BRL-, EUA).

3.2. Microsatélites

Las reacciones de amplificación (PCR) se llevaron a cabo en una termocicladora Perkin Elmer (modelo 480, EUA), con las siguientes temperaturas de apareamiento ("*annealing*"): para los microsatelites *XGlu3* y *XGli1* a 55°C 2 min, *Xwms46*, *Xwms44* y *Xcnl5* : 60°C 2 min, *Xwms2, Xwms5 Xwms18 y Xcnl3*:* 50°C 2 min y *Xwms33:* 60°C disminuyendo la temperatura 1

grado por ciclo ("*touch down*") hasta 46°C finales.Volumen de reacción de 12 µl, 200 µM de dNTPs, 1,5 mM Mg^{++} (3 mM), 100 nM de cada primer, 0,5 U Taq-polimerasa, y 25 ng de ADN como templado.

3.2.1. Análisis en geles de poliacrilamida

Los productos de amplificación obtenidos mediante la técnica de microsatélites, se separaron en geles desnaturalizantes de policrialamida 6% (19:1 acrilamida: bis-acrilamida) con separadores de 0,4 mm, a 40 Watts constantes hasta que el xilen cianol alcanza los 7 cm del borde inferior del gel. La detección se llevo acabo mediante tinción con nitrato de plata. De acuerdo al protocolo de Tinción con Plata para Secuenciación de Promega Biotech (EUA)

3.3. AFLP

3.3.1. Digestión con endonucleasas de restricción y ligación

Se utilizó el protocolo de Milbourne *et al.* (1997) (Keygene N.V., Wageningen, Holanda), con algunas modificaciones (Marcucci, 1998)

Se realizó la digestión y la ligación en forma simultánea de 500 µg de ADN genómico en un volumen final de reacción de 30 µl. Las muestras se incubaron a 37°C durante 5 hs. La digestión se llevó a cabo con las enzimas de restricción *MseI* (con alta frecuencia de corte) y *PstI* (de corte poco frecuente), en reemplazo de *EcoRI* (que se usa habitualmente para otras especies de plantas).

El volumen final de reacción fue de 30 µl, con un buffer RL (restricción-ligación) 1X, 5 pmol adaptadores *PstI* y 50 pmol de adaptadores *MseI* , ATPasa 10mM, 1 U T4 DNA ligasa (Life Technologies -Gibco-BRL-, EUA), *PstI* y *MseI* 2,5 u y 12 pmol ATP.

(Buffer RL 1x [10 mM Tris-HAc pH 7.5, 10 mM MgOAc, 50 mM K_2OAc, 5mM DTT, 50 ng/µl BSA]). Se controlaron las digestiones sembrando 5 µl de las reacciones en geles de agarosa al 0,8%.

Adaptador para los sitios *MseI*:

5´ GACGATGAGTCCTTGAG

5´ TACTCAGGAACTCAT

Adaptador para los sitios *PstI*:

5´ CTC GTA GAC TGCBGTA CAT GCA

5´ TGT ACG CAG TCT AC

3.3.2. Reacciones de preamplificación

Las reacciones de preamplificación se llevaron a cabo en un volumen de reacción de 25 µl, Buffer LD 1X, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTPs, 75 ng de iniciadores ("*primers*") con un nucleótido selectivo P01 y M01 (*PstI* (+1)= , P01= '5GACTGCGTACATGCAGA'3 y *MseI* (+1)=, M01= 5´GATGAGTCCTTGAGTAAA 3´), 1 u de Ampli Taq LD DNA Polimerasa (Perkin Elmer, EUA), producto de restricción ligación 5 µl como templado.

El programa de preamplificación usado fue: 30 ciclos con 94°C 30 seg, 60°C 30 seg, 72°C 60 seg. La reacción se llevó a cabo en un ciclador térmico Perkin Elmer 480 (EUA). Los productos de amplificación fueron controlados en electroforesis analítica de agarosa al 0,8% (Sambrook, 1989).

3.3.3. Reacciones de amplificación final

Las reacciones de amplicación final con 3 nucleótidos selectivos se llevaron a cabo en un volumen final de 20 µl, buffer Taq Polimerasa 1X, $MgCl_2$ 1,5 mM, 0,2 mM dNTPs, 30 ng de cada primer con tres nucleótidos selectivos (*PstI* (+3) y *MseI* (+3), 0,5 u Taq DNA polimerasa (Perkin Elmer, EUA), como templado producto de preamplificación 1,2 µl.

Se utilizaron 4 combinaciones de primers con la siguiente secuencia:

5'GAC TGC GTA CAT GCA GA...		5´GATGAGTCCTTGAGTAAA...	
P36:	ACC'3	M44:	ATC'3
P40:	AGC'3	M39:	AGA'3
P31:	AAA'3	M41:	AGG'3
P41:	AGG'3	M40:	AGC'3

Las condiciones de amplificación fueron las mismas que en Vos *et al.* (1995).

El programa de amplificación usado fue:

94°C 30 seg, 65°C 30 seg, 72°C 60 seg,1 ciclo, reduciendo la temperatura de hibridación un grado por ciclo ("*touch down*") hasta una temperatura de 56°C

Finalizada la reacción se añadieron 10 µl de buffer de siembra (98% formamida, 10mM EDTA pH 8, 0,05 % azul de bromo fenol y 0,05 % xilen cianol) para su desnaturalización a 95°C 4 min. Para su análisis se sembraron 7 µl en geles de poliacrilamida 6%. La electroforesis fue llevada cabo a 45 Watt durante 5 hs, utilizando buffer TBE 0.5X en el ánodo y buffer NaAcO 1M en el cátodo a fin de mejorar la definición de los fragmentos amplificados.

3.3.4. Protocolo de tinción con nitrato de plata

Los vidrios se lavaron y se enjuagaron meticulosamente a fin de eliminar todo resto posible de detergentes e impurezas las cuales resultan en geles con fondos amarillentos que dificultan la lectura de los resultados. Luego del enjuague final con agua deionizada se los enjuagó con etanol al 96%.

Con el fin de mantener el gel adherido al vidrio durante la tinción se trató al vidrio de menor longitud con 3μl de la solución de pegado (*solución de binding)* Bind Silane® -Sigma-Aldrich, EUA- en 1 ml de etanol al 95%, ácido acético glacial al 0,5%) preparada fresca, a fin de retener al gel adherido al vidrio durante la tinción. Luego de 5 min se retiró el exceso de esta solución con 2 ml de etanol 95%, tres veces empleando papel tisú muy suave.

El vidrio de mayor longitud puede tratarse con solucion de siliconas (Repel Silane® -Sigma-Aldrich, EUA- a fin de facilitar la separación de los vidrios, pero debe retirarse el exceso con etanol 95%, ya que la tinción puede inhibirse.

Finalizada la corrida electroforética se fijó el gel en solución fijadora (ácido acético glacial 10%), durante 30 min o hasta que el xilen cianol haya desaparecido. Luego se realizaron 3 lavados de 2 min en agua deionizada. Se tiñó con la solución de nitrato de plata (2 g de $AgNO_3$, 3ml de formaldehído al 37% en 2l de agua deionizada) durante 30 min. Luego de un breve(no mayor que 7 seg) lavado con agua deionizada fría se procedió al revelado. Se enjuagaron dos veces durante 2 min con solución reveladora fría (60 g Na_2C0_3 en 2l de agua deionizada a la que se le agregan inmediatamente antes de usar 3 ml de formaldehído al 37% y 400 ul de tiosulfato de sodio (10 mg/ml). Terminado el revelado se fijó durante 2 min con agitación en solución fijadora (ácido acético glacial 10%). Luego se enjuagaron 2 veces por 2 min en agua bidestilada. Se dejó secar a temperatura ambiente. Se utilizó transiluminador de luz blanca o un fondo blanco brillante contrastante para la visualización de los resultados.

3.4. Evaluación de los microsatélites y AFLPs

La evaluación de los resultados se llevó a cabo manualmente, colocando los vidrios sobre un transiluminador de luz blanca. Para la determinación del tamaño de los fragmentos amplificados se utilizaron como estándares el marcador de tamaño molecular 25 pb DNA Ladder (Life Technologies -Gibco BRL- EUA) y la secuencia nucleotídica de M13ssDNA obtenida mediante la Secuenciación GATC con el sistema Silver Sequence™ DNA Sequencing Reagents Kit de Promega Biotech (EUA) adaptado para revelado con nitrato de plata. El cálculo del tamaño molecular de las bandas se realizó mediante comparación de la migración relativa con los marcadores por medio del método de los recíprocos (Elder y Southern, 1987), empleado el programa de computación *ad hoc* creado en el laboratorio por el Dr. Jorge Dubcovsky.

3.5. RFLPs

3.5.1. Digestión con endonucleasas de restriccón

Chinese Spring y Klein 32 fueron analizados en la búsqueda de variantes alélicas de los fragmentos de restricción ("polimorfismos") utilizando las siguientes enzimas de restricción: *BamHI, BglII, DraI, EcoRI; EcoRV, HindIII, SstI, y XbaI,* con sus correspondientes "buffers" de reacción. Se digirieron 16 μg de ADN de cada una de las muestras con endonucleasas de restricción (3 u de enzima por μg de ADN) durante 3-4 hs. Las digestiones se llevaron a cabo en un volumen final de 70 μl con el agregado de 0,01 mg/ml de BSA (Seroalbúmina bovina) acetilada para asegurar una digestión completa.

Los productos de digestión fueron sometidos a electroforesis en geles de agarosa 1% durante 18 hs a 1,25 volts/cm constantes en TAE 2X.

3.5.2. Transferencia a membranas de nylon

La transferencia de los productos de digestión fue realizada por capilaridad a membranas de nylon (Hybond N+) mediante la técnica de "Southern blot" (Sambrook *et al.*, 1989) utilizando como buffer de transferencia SSC10X (Solución de citrato de sodio: 300mM NaCl; 30mM citrato de sodio; pH 7,4) previo tratamiento de los geles con HCl 0,5N durante no más de 15 min.

Finalizada la transferencia (aprox. 17 hs) el ADN fue fijado mediante radiación UV utilizando un *UV crosslinker* (Stratagene, EUA) a 120.000 µjoules/cm^2 (5 min) y/o posterior horneado a 80°C, durante 2 horas, según los protocolos de los fabricantes de membranas (Hybond -Amersham, Inglaterra-, Nytran -Schleicher & Schuell, Alemania-, Magna Charge -Micron Separations, Inc, EUA).

3.5.3. Marcado de sondas

Las sondas utilizadas fueron marcadas con [α^{32}P] dCTP (New England Nuclear, EUA) por el método de hexámeros iniciadores al azar ("random hexamer primer method)" según las especificaciones de los fabricantes (Gibco-BRL, EUA; Pharmacia, Suecia y New England Biolabs, EUA). Los clones utilizados se muestran en la tabla Nº 5.

Tabla Nº5. *Loci* de RFLP evaluados y sus respectivas sondas

Loci de RFLP	Referencia	Clones
XGli1	Forde (1985)	pcP387
XGli2	D'Ovidio (1992)	pTu1
XGlu1	Anderson (1989)	pDY10A/Ks$^-$
XGlu3	Cassidy (1991)	pTdUCD1
Xbdc	Anderson (1992)	BCD (cebada cDNAs)
Xcdo	Anderson (1992)	CDO (avena cDNAs)
Xwg	Anderson (1992)	WG (trigo genómico)
Xksu	Gill (1991)	KSU (*T.tauschii* genómico)
Xmsu433 (Lec)	Reikel (1987)	pNVR20
Xpsr (Cpx)	Baulcombe (1987)	2473
XcslH	Lagudah (1991)	CSIH (*T.tauschii* genómico)

3.5.4. Hibridación

Las membranas fueron pre-hibridadas en solución PAES (SSPE 2,5X, SDS 1%, PAES 0,1%, pirofosfato de sodio 0,01%). La hibridación con las sondas se realizó en la misma solución en un horno de hibridación rotatorio a 65°C. Luego de la hibridación las membranas se enjuagaron a 65°C durante 30 min en 2X SSC, 30 min en 1X SSC y 30 min en 0.5X SSC.

Las membranas se reutilizaron despegando las sondas de las mismas incubando con agitación en una solución de SSC 0,1X; SDS 0,1% a 100°C. Promedio de reuso: 3 veces.

Las membranas expusieron a -80°C con películas autoradiográficas Kodak X-Omat (EUA) o similares y pantallas intensificadoras.

3.6. Análisis de características morfológicas

Se utilizaron los descriptores estipulados por la Unión Internacional para la Protección de Obtenciones Vegetales (UPOV), en su documento de referencia (TG/80/3, Guidelines fo the Conduct of tests for Distinctness, Homogeneity and Stability, 1983) y que han sido adoptados en Argentina y utilizados por el Registro de Propiedad de Cultivares del Instituto Nacional de Semillas (INASE).

Los datos de los mismos fueron cedidos gentilmente por el Director del Registro de Cultivares de INASE, Ing Raimundo Lavignole.

Estos datos fueron obtenidos siguiendo protocolos internacionales donde se analizan 200 plantas con dos o más repeticiones. El tamaño de las parcelas utilizado en tales ensayos, es tal que cada planta o partes de la misma puedan ser removidas para su caracterización sin perjudicar la observación de las restantes, aun en estadios avanzados de crecimiento.

El Registro de cultivares utiliza, para la inscripción, los mismos caracteres morfológicos, los cuales están relacionados con el ciclo, comportamiento sanitario y comportamiento frente a factores estresantes bióticos o abióticos. Se consideran caracteres principales y otros adicionales

los cuales se indican con un asterisco, en caso de ser los primeros insuficientes para la diferenciación del cultivar.

A fin de realizar la comparación entre los distintos materiales se utilizaron las siguientes características como descriptores:

1. Descripción botánica

1.2 Plántula

a. Color del coleoptilo

b. Pigmentación antociánica

1.3 Planta

a. Porte vegetativo juvenil

b. Color (en espigazón)

c. Altura a la madurez

d. Macollaje

1.4 Tallo

a. Color a la madurez.

b. Pubescencia en el nudo superior.

c. Forma del nudo

d. Número de nudos

e. Cerosidad

f. Pigmentación antociánica

g. Entrenudos

1.5 Hoja

a. *Vaina basal de la primera hoja color

b. Pubescencia

c. *Aurículas coloración antociánica

d. Pubescencia

e. *Lámina de la hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera.

Ancho

Largo

f. Color

g. *Hoja bandera

Posición

Cerosidad en la lámina

1.6 Espiga

a. Posición a la madurez

b. Color

c. Longitud

d. Forma

e. Número de artejos por raquis

f. Densidad

g. Número de granos

h. Cerosidad

1.7 Espiguilla

a. *Glumas

b. Color

c. Largo

d. Ancho

e. Hombro

f. Diente

g. Quilla

h. *Glumela inferior (lemma)

i. Color de las aristas

j. *Flor

k. Color de las anteras

1.8 Cariópside

a. Largo

b. Peso de mil

c. Forma

d. Textura

e. Color

f. Surco Ancho

g. Surco Profundidad

h. Reacción al fenol (Método Repnikov).

i. Dimensión del escudete.

j. Forma del escudete.

k. Bordes del escudete.

l. Posición del escudete (ángulo con l).

m. Relieve dorsal del escudete.

n. Vista lateral del escudete.

o. Tamaño del cepillo.

p. Largo de los pelos.

2. Ciclo

2.1 Época de siembra

a. Mes

b. Período

2.2 Días de emergencia a espigazón plena

2.3 Días desde emergencia a madurez de cosecha

2.4 Respuesta al fotoperíodo

2.5 Requerimientos de frío

3. Comportamiento fitosanitario

4.1 Enfermedades

a. **Puccinia recondita*

b. **Puccinia graminis*

c. **Puccinia striiformis*

d. *Erisiphe graminis*

e. *Fusarium spp.*

f. *Ustilago tritici*

g. *Septoria tritici*

h. *Septoria nodorum*

i. *Tilletia spp.*

3.2 Plagas

a. *Schizaphis graminum*

b. *Metopolophium dirhodum*

c. *Sitobium avenae*

d. *Pseudaletia adultera*

e. *Faronta albilinea*

4. Adversidades

5.1 Vuelco

4.2 Heladas

*período juvenil

*período adulto

4.3 Sequía

4.4 Desgrane

4.5 Arrebatamiento

1.2.b Pigmetación antociánica del coleoptile

Se describieron tres genes que determinan la presencia de pigmentación antociánica del coleoptilo *Rc1*, en el cromosoma 7A, *Rc2* en el cromosoma 7BS y *Rc3* en el cromosoma 7DS. Tahir y Tsunewaki (1969) en *T.spelta* var *duhamelianum* (hexaploide) publicaron la presencia de genes que promueven la pigmentación, localizados en los cromosomas 7A y 7D, y genes supresores de la coloración en los cromosomas 2A, 2B, 2D, 3B y 6A. Sutka (1977) describió un cuarto factor en el cromosoma 6B y supresores en los cromosomas 2A, 2B, 2D, 4B y 6B.

Las variedades analizadas en este trabajo no presentan coloración antociánica del coleoptilo.

1.3.a Porte vegetativo juvenil

Esta característica presenta cuatro variantes:

1. Rastrero

2. Semirrastrero
3. Semierecto
4. Erecto

1.3.b. Color en espigazón espigazón

Esta característica presenta cuatro variantes:

1 Verde claro

2 Verde gris

3 Verde amarillo

4.Verde oscuro

1.3.c Altura a la madurez

Se define como la altura de la planta de trigo desde el suelo hasta la punta de la espiga en la madurez, medida en centímetros (sin incluir las aristas).

La altura de planta es un carácter complejo en cuanto a su control génico y está determinado por varios genes localizados en diferentes cromosomas. Hasta el momento se hallan descriptos 21 genes de efecto mayor sobre la altura de planta a los cuales se les ha asignado el símbolo *Rht* Los genes de efecto mayor que determinan la altura de planta se clasifican en dos grandes grupos según la reacción que presentan al agregado de ácido giberélico (GA_3) exógeno (Börner, 1996). Los genes de enanismo que confieren insensibilidad de respuesta al agregado de ácido giberélico se presentan en dos series alélicas homólogas localizadas en los brazos cortos de los cromosomas 4B y 4D (McVittie, 1978). Los genes identificados como participantes en la codificación de enzimas involucradas en la biosíntesis de giberelinas cuya mutación produce un enanismo en plantas reversible por

agregado de ácido giberélico se hallan localizados en el cromosoma 2A y 7BS (Worland *et al.*, 1980), 2DS (Worland y Law, 1986), y 5A (Sutka y Kovacs, 1987). La reducción de la altura determinada por los genes de enanismo, a su vez, puede estar modulada, incrementando la potencia de los alelos de supresión de altura (cromosoma 4B y 4D, genes GA insensibles *Rth12*), reduciendo la potencia de alelos promotores de altura (*Rht7, Rht8*) o bien acortando el ciclo de vida (efectos pleiotrópicos de los genes *Pp1, Pp2* y *Pp3*, involucrados en la respuesta al fotoperíodo).

Rango de altura puede variar entre 65 a 120 cm.

1.3.d Macollaje

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Escaso (entre 1 y 3)

2. Regular (entre 4 y 6)

3. Abundante (entre 7 y 10)

La inhibición del macollaje está controlada por un gen recesivo *tin* localizado en el brazo corto del cromosoma 1A. (Richards 1988)

1.4.a. Color del tallo a la madurez

Esta característica presenta cuatro variantes y se evalúa en plantas sanas a la madurez:

1.Blanco

2.Blanco-amarillento

3 Amarillo

4.Rojo

3.6. 1.4.b. Pubescencia de nudo superior

Esta característica es evaluada al comienzo de la espigazón.

La herencia de nudo superior pubescente versus nudo superior sin pubescencia ha sido atribuida a una única diferencia en un gen dominante (Love, 1924; Gaines, 1926) y el locus Hn/hn está ligado a *B1 own*; own inhibidor. Esta localización fue confirmada con estudios en material trisómico para el cromosoma 5A y en pruebas utilizando telosómicos de Chinese Spring.

La presencia de Hn en el brazo 5AL se describió en las variedades Aurore (Koppinen, 1941), Extra-Kolben II, Marquis (Matsumra, 1936), mientras que el alelo recesivo hn en las variedades Garnet, Kimmo, Pika yTimantii (Koppinen, 1941).

1.4.c Forma del nudo

Esta característica presenta tres variantes de acuerdo a la proporción que guarde su eje transversal respecto al longitudinal:

1. Ancho mayor, altura menor
2. Ancho igual que altura
3. Ancho menor, altura mayor

1.4.d Numero de nudos

Se presentan variedades con: 3, 4 o 5 nudos

1.4. e., 1.5.h., 1.6. h. Cerosidad

Se trata de un carácter complejo. La expresión de la cerosidad depende del arreglo de los depósitos de cera y no de la cantidad de cera.(Jonhson, 1983) En un principio se consideró que este fenotipo estaba controlado por una serie de genes de "producción de cera" (Matsmura, 1951; Tsunewaki, 1966) y otra serie de genes independientes de inhibidores (Stuckey). Trabajos posteriores indicaron que los genes de producción de cera

y los genes inhibidores son alélicos. Por lo tanto alelos recesivos y dominantes determinan la ausencia de cerosidad. Se describieron *loci* ortólogos en el cromosoma 2H de cebada (gs1, gs6, gs8) (Graner 1991), en el cromosoma 7RL de centeno (wa1) (Korzun 1997) y en maíz (gl2) (Coe 1993).

En trigo se han descripto:

W1.2BS (Driscoll, 1966) en la variedad Chinese Spring (Tsunewaki, 1966) y en las líneas cuasi-isogénicas LD222*/*T.turgidum var. pyramidale* recognitum (Watanabe, 1994).

w1.2BS Alelo recesivo para cerosidad reducida, en las variedades Mentana (Stucky), Salmón (Tsunewaki, 1966).

W2 con sus variantes alélicas W2a en genotipos ("*stocks*") diploides de *T.tauschii* que no presentan cerosidad y W2b en la variedad de trigo Chinese Spring. (Stucky).

A su vez se han descripto como inhibidores epistáticos de la cerosidad los *loci* $W1^I$ (Tsunewaki, 1966)en el cromosoma 2BS (Driscoll, 1966; Driscoll, 1964) del trigo hexaploide Cornell Selection 5075 (Jensen, 1962) como así también en trigos tetraploides y diploides (Driscoll, 1965). Los genes $W2^I$ y $W3^I$ sólo se encontraron en trigos diploides. Cada inhibidor anularía el efecto de ambos genes que determinan cerosidad.

El carácter de cerosidad se evalúa como presencia o ausencia en distintas partes de la planta:

1.Cerosidad en el tallo.

2.Cerosidad en la hoja bandera

3.Cerosidad de la espiga

1.4.f. Pigmentación en el tallo

La coloración presente en el tallo está controla por Pc1 y Pc2, y estaría muy influencia da por el ambiente y el fondo genético. Existirían

posibles relaciones pleiotrópicas entre genes que afectan la pigmentación pero no se conocen en detalle. Las variantes que se presentan son:

1 Presencia

2.Ausencia

1.4.g Entrenudos

Para este descriptor sólo se presentó (en los materiales analizados) la característica de entrenudos huecos.

1.5.b. Pubescencia en la primer hoja

Se presentan dos variantes:

1.Presencia.

2.Ausencia.

La presencia de pubescencia en la primer hoja está determinada por el gen *Hl.*

Hl fue descripto por primera vez por (Maistrenko, 1976) y localizado en el cromosoma 4BL en el cultivar ruso Saratovskaya. El alelo recesivo correspondiente *hl* fue descripto en Chinese Spring.

1.5.a Color de vaina basal de la primera hoja en macollaje

Esta característica presenta dos variantes:

1 Verde Claro

2 Verde Oscuro

1.5.b Pigmentación antociánica de las aurículas

Las variantes son:

1.Ausencia

2.Presencia

Melz y Thiele (1990) describieron el fenotipo de base de la hoja coloreado donde la pigmentación antociánica se extiende desde la base de la hoja hacia las aurículas. La presencia de coloración es debida a los genes *Ra1* en el cromosoma 1D, descripto en el cultivar Gulyeeva (Melz, 1990) localizado en el cromosoma 2D en la variedad Kenya58. Otros genes relacionados, como el *Ra2* se encuentran localizados en el cromosoma 4B, *Ra3* en el cromosoma 6B, *An5* en el cromosoma 5R (Melz, 1990).

1.5.c. Pubescencia en las aurículas

Esta característica fue descripta y localizada en el cromosoma 4BS (Arbuzova, 1996) mediante líneas de sustitución cromosómicas de Saratovskaya29*9/Yanetzkis Probat y confirmada su presencia en las variedades Magali, Pirotrix, Shabati Sonora, Siete Cerros, Ulyanvka7.

Las variantes observadas son presencia o ausencia de pubescencia en las aurículas.

1.5.e Lámina de la hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera- Largo

Rango en cm

11 16
16,1 21
21,1 26
26,1 31
31,1 35

1.5.e Lámina de la hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera- Ancho

Rango en cm

5 10
10,1 15
15.1 20

1.5.f. Color de la hoja en espigazón

Esta característica presenta cuatro variantes:

1.Verde Claro

2.Verde Amarillo

3.Verde Gris

4.Verde Oscuro

1.5.g Posición de la hoja bandera

Esta característica presenta dos alternativas

1 Erecta

2 Curvada

1.6.e Número de artejos por raquis

Este descriptor equivale al número de espiguillas por espigas basada en el promedio de cien espigas.

Rango: puede variar entre 12 a 26 artejos

1.6.g Número promedio de granos de 100 espigas

Puede variar entre 21 a 82 artejos

1.6.a Posición de la espiga

Esta característica presenta tres alternativas

1. Erguida

2. Inclinada

3. Muy inclinada

1.6.b. Color de la espiga a la madurez

Esta característica presenta cuatro variantes:

1. Blanca

2. Amarilla

4. Roja

5. Castaña

1.6.c Longitud de la espiga a la madurez

Se presentan cuatro tipos de espiga según su longitud

1. Corta (74 mm)

2. Semicorta (75-84 mm)

3. Semi-larga (85-94 mm)

4. Larga (más 95 mm)

1.6.d Forma de la espiga a la madurez

La espiga puede presentar dos formas:

1. Fusiforme

2. Oblonga

La diferencia entre ambas variantes está dada por la longitud del eje longitudinal con respecto al eje transversal.

1.6.f Densidad de la espiga a la madurez

Se presentaron tres tipos de espiga con respecto a su densidad en estadios de madurez.

1. Laxa (artejos mayores de 3,2 mm)
2. Densa (artejos entre 2,5 y 3,2 mm)
3. Compacta (artejos menores de 2,5 mm)

1.7.a. Color de la espiguilla

Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Blanca
2. Coloreada

La evaluación se realizó a la madurez en la 7ª espiguilla fértil partiendo de la base de la espiga).

Para la presencia de coloración rojiza, la mayoría de los trabajos señalan un solo gen dominante que determina el color de las glumas, y algunos señalan la presencia de dos factores (Miczynski, 1938). Los genes involucrados llamados *Rg son: Rg1* en el brazo corto del cromosoma 1B, *Rg2* localizado en brazo largo y en el brazo corto del cromosoma 1D, respectivamente y *Rg3*, localizado en el brazo corto del cromosoma 1A. Otros genes que confieren coloración negra a castaña se describieron como *Bga* y *Bgb.* Los mismos están localizados en el cromosoma 1A. También se describió el gen *Pbc* ubicado en en el cromosoma 3B. Además,se ha reportado un inhibidor de la coloración de las glumas localizado en el cromosoma 3A (Bhowal, 1969)

Otro gen que determina glumas color castaño es *cc* localizado en el brazo corto del cromosoma 7BS. El fenotipo determinado por este gen es suprimido por uno o varios genes localizados en el cromosoma 7D.

1.7.a. Color de aristas

La literatura sobre el color de aristas no es demasiado clara. En general, el color de las aristas está asociado con el color de las glumas. De acuerdo con Panin y Netsvataev (1986) la característica de aristas castañas está determinada por tres genes complementarios que se designan *Bla1*, *Bla2*, *Bla3*, los cuales han sido ubicados en el cromosoma 1A ligados con *Gld 1A* y *Hg.*

Las variantes que presentan para las variedades estudiadas son:

1. Blanca
2. Amarilla
3. Castaña

1.7.b Largo de la espiguilla

Las espiguillas pueden ser, de acuerdo a su longitud:

1. Cortas (7mm)
2. Medias (8 mm)
3. Largas (9 mm)

1.7.c Ancho de la espiguilla

Las espiguillas pueden ser, de acuerdo a su ancho:

1. Angostas (3 mm)

2. Medianas (3.5 mm)

3. Anchas (4 mm)

1.7.i Color de las anteras

El carácter puede tener dos variantes. Sin embargo,las variedades analizadas en este trabajo presentaron anteras amarillas, por lo cual este carácter no fue utilizado en los análisis.

1.7.e Hombro

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Faltante

2. Inclinado

3. Redondeado

4. Recto

5. Elevado

6. Escalonado

1.7.f Diente

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Corto

2. Semicorto

3. Semilargo

4. Largo

1.7.g Quilla

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Recta

2. Curvada

3. Inflexiona

4. Aserrada

Sólo se presentan las tres primeras

1.7.h Lemma (Glumela inferior)

Solo se presenta la variante aristada para las variedades de este trabajo, por lo cual este carácter no fue considerado en el análisis de los datos.

1.8.a Largo del cariopse

Rango en cm: 3.3 hasta 8

1.8 a Ancho del cariopse

Rango en cm: 2 hasta 4

1.8 b Peso de 1000 granos

El peso de mil granos se basa en el peso del grano de cinco espigas expresado como el peso de mil granos. Recientemente se ha identificado un marcador en ocho cromosomas y un microsatélite sobre el cromosoma 1AS asociado con un QTL de peso de grano en trigo pan (Varshney, 2000).

Rango en gramos: puede variar entre 36 y 47.

1.8.c Forma del cariopse

Las variantes que presenta esta carácterística son:

1. Ovalado

2. Ovoide

3. Elíptico

1.8.d Textura del cariopse

El cariopse puede tener característica de vítreo o no vítreo.

1.Vítreo

2. No Vítreo

1.8.e Color del cariopse

Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Ámbar

2. Rojo

El color rojo es dominante sobre color blanco.

El color del grano está determinado por tres *loci R-A1* localizado en el brazo largo del cromosoma 3A, *R-B1* localizado en el brazo largo del cromosoma 3B y *R-D1* (Heyne, 1953) localizado en el brazo largo del cromosoma 3D; para cada locus se le asigna la letra *a* al alelo blanco y *b* al alelo rojo. Los trigos *T. aestivum* con granos color blanco son portadores de los alelos recesivos en cada uno de estos *loci*.

1.8.f Surco ancho

Se evalúa en corte transversal de la cariópside

Puede presentar tres variantes:

1. Angosto (2/3 del ancho de la cariópside)

2. Mediano (4/5 del ancho de la cariópside)

3. Ancho (coincide con el ancho de la cariópside)

1.8.g Surco profundidad

Puede presentar tres variantes:

1. Playo (menos del 20% del espesor del cariopside)
2. Medianamente profundo (del 20 al 35%)
3. Profundo (más del 35%)

1.8.h Reacción al fenol (Método Repnikov).

La reacción al fenol de los granos ha sido utilizada como importante carácter diagnóstico por diverso autores extranjeros y también del país (Belmonte,1936; Frasser, 1935; Hirschonn, 1934; Voss, 1933). Los métodos propuestos son varios difiriendo uno de otro en detalles, pero todos conducen a resultados prácticos.

El método consiste en sumergir 100 granos en una solución de fenol 0.5% durante una hora; luego la solución se descarta y los granos se colocan sobre papel de filtro en cajas de Petri de 10 cm de diámetro, agregándoles 3 cm3 de la misma solución. Dos horas más tarde se realiza la observación, cuando se ha trabajo entre 25 y 30 °C; con temperaturas mayores de 40°C, el proceso se reduce a menos de una hora. Todos los autores que han utilizado la reacción al fenol para diferenciar variedades están de acuerdo en que es un carácter constante, no variando con el clima, calidad del suelo, etc. Repnikov (1936) comprobó que variedades cultivadas en distintas partes de Asia Central, y aún en zonas de regadío mantienen constante el resultado de la reacción. Kugle (1945) observa en un ensayo geográfico morfológico en la República Argentina, la misma reacción característica de cada

variedad en Rafaela, Pergamino y Guatraché durante los cinco años que duró el ensayo.

Se presentan las siguientes variantes

1. Granos pardos claros
2. Granos pardos
3. Granos pardos oscuros
4. No coloreados

1.8.i Dimensión del escudete.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Chico
2. Mediano
3. Grande

1.8.j Forma del escudete.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Elíptico
2. Oval
3. Redondo
4. Cuadrangular

1.8.k Bordes del escudete.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Poco pronunciado

2. Medio Pronunciado
3. Muy pronunciado

1.8.l Posición del escudete (ángulo con l).

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Menos agudo.
2. Agudo
3. Más agudo

1.8.m Relieve dorsal del escudete.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Punta lanza
2. Estrangulado
3. Escalonado
4. Oval-Elíptico

1.8.n Vista lateral del escudete.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Recto
2. Quebrada
3. Cóncava
4. Convexo

1.8.o Tamaño del cepillo.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Pequeño
2. Mediano
3. Grande
4. Collar

1.8.p Largo de los pelos.

Las variantes que presenta este carácter en el grupo de variedades estudiadas son:

1. Cortos
2. Medianos
3. Largos

2.1.a. Época de siembra

1. Mayo
2. Junio
3. Julio
4. Agosto

2.1.b Ciclo del período

1. Principios (del 1 al 10)
2. Mediados (del 11 al 20)
3. Final (del 21 en adelante)

2.2 Días de emergencia a espigazón plena

Se define como el número de días desde que es sembrado, hasta 50% de emergencia de las espigas fuera de la vaina.

Rango en días

70 – 91
92 – 111
112 – 140

2.3 Días de emergencia a madurez de cosecha

Rango en días

105 – 126
127 – 148
149 – 170
171 – 186

2.4 Respuesta al fotoperíodo

Se diferencian dos tipos de comportamiento:

1. Sensibilidad al fotoperíodo

2. Insensibilidad

Las variedades que presentan sensibilidad al fotoperíodo son aquellas que, para desencadenar la etapa de desarrollo de espigas, requieren superar un umbral de horas de luz. El carácter de insensibilidad es dominante.

Se han descripto uno (Pugsley, 1965) y dos genes (Pugsley, 1966; Piech, 1969; Knott 1989) en estudios de heredabilidad que determinan este carácter. En líneas de sustitución Chinese/Hope se ha encontrado mayor sensibilidad a fotoperíodos cortos para los cromosomas 1A, 4B y 6B mientras que líneas de sustitución de los cromosomas 3B y 7D son menos sensibles. Los genes descriptos son *ppd1,* localizado en el brazo largo del cromosoma

2D, *ppd2* localizado en el brazo corto del cromosoma 2B (Scarth, 1983) y *ppd3* localizado en el brazo largo del cromosoma 2A (Pirateh, 1975).

2.5 Requerimiento de frío

Entre las variedades analizadas algunas presentan requerimiento de frío, mientras que otras no lo presentan. Este requerimiento hace referencia al periodo de frío necesario (temperaturas debajo de10°C) previo al inicio del desarrollo de los primordios florales. Los genes de vernalización determinan la sensibilidad a bajas temperaturas. Este es un carácter complejo determinado por varios genes. Exiten varios grupos de genes involucrados en este carácter de vernalización (ver McIntosh 1998). *Vrn-1* series ortólogas en los brazos largos del grupo 5 de cromosomas homeólogos, e involucran a los genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* y *Vnr-D1* localizados en los cromosomas 5A, 5B y 5D, respectivamente. (citado en McIntosh 1998). Los cultivares que poseen *Vrn-A1* son insensibles a vernalizacion. *Vrn-A1* es epistático sobre otros genes, aunque según Roberts (1985) no siempre es totalmente dominante y epistático.

Vrn-2 series ortólogas en el grupo 4 de cromosomas homólogos.

Vrn-3 series ortólogas en el grupo 1 de cromosomas homólogos, ortología con *Vrn-H3* (*Sh3*) en el cromosoma 1H de cebada.

Vrn-4 Hasta el momento sólo se ha descripto un solo gen, *Vrn-B4*, situado en la región distal del cromosoma 7BS.

Los cultivares invernales llevan alelos recesivos para todos los *loci* de vernalización *Vrn*. Las diferencias presentes entre cultivares invernales rspecto a los requerimientos de vernalización parecería ser debida a múlitples alelos recesivos (Pugsley, 1973). Dos genes pueden determinar diferencias entre dos trigos invernales con requerimientos de 20 días y 60-65 días de vernalización (Gotoh, 1980)

3.1.a Resistencia a *Puccinia recondita*

El patógeno *Puccinia recondita* vulgarmente conocida como roya de la hoja o roya anaranjada es causante de grandes pérdidas en el rendimiento de

la planta. Se hallan descriptos alrededor de 50 genes de resistencia raza - específica a este patógeno los cuales se denominan con las letras *Lr* (McIntosh, 1998).

3.1.b Resistencia a *Puccinia graminis*

Se han descripto alrededor de 50 genes de resistencia al patógeno *Puccinia graminis*, conocida como rayo negra a roya del tallo. Los mismos se denominan con las letras *Sr* (McIntosh, 1998).

3.1.c Resistencia a *Puccinia striiformis*

Se han descripto alrededor de 45 genes de resistencia a *Puccinia striiformis*, conocida vulgarmente como roya estriada o roya amarilla. Se denominan con las letras *Yr* (McIntosh, 1998).

3.1.d Resistencia a *Erisiphe graminis*

Se describieron 8 genes que confieren resistencia al patógeno *Erisiphe graminis*, conocido como oídio. Se denominan con las letras *Pm*. También se hallan descriptos supresores (McIntosh, 1998).

3.1.e Resistencia a *Fusarium spp.*

Este patógeno causa severas pérdidas en el rendimiento y daños en la calidad del grano. Los granos infectados contienen altos niveles de micotoxinas, volviéndolos no aptos para el consumo.

Se describieron dos genes que confieren resistencia a *Fusarium* denominados *Fhs1* y *Fhs2*. (McIntosh, 1998).

3.1.f Resistencia a *Ustilago tritici*

Se hallan descriptos cinco genes que confieren resistencia a *Ustilago tritici*, denominados *Ut1*, *Ut2*, *Ut3*, *Ut4* y *Ut-x* (McIntosh, 1998).

3.1.g Resistencia a *Septoria tritici*

Llamada mancha de la hoja, esta enfermadad es causada por el hongo *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schoeter, también llamdo *Septoria tritici* . Se caracteriza por la presencia de manchas alargadas de color verde claro o amarillo entre las nervaduras. Las manchas adquieren luego color castaño claro y el tejido muere. Las manchas alargadas pueden hacerse confluentes.. Por último, aparece el signo de la enfermedad constituido por puntos negros visibles a ojo desnudo.

Se hallan descriptos cuatro genes *Stb1*, *Stb2*, *Stb3* (Wilson 1985) y *Stb4* (Somasco 1990). Stb4 segrega en forma independiente de Stb1 pero su relación con Stb2 y Stb3 se desconoce.

3.1.h Resistencia a *Septoria nodorum*

Esta enfermedad causada por el hongo *Phaeosphaeria nodorum* también denominado *Septoria nodorum* es conocida como mancha del nudo y de la gluma. Afecta la parte aérea de la planta. Las lesiones sobre las hojas son al comienzo pequeñas amarillentas y más tarde se tornan castaño dorado. La forma de las manchas puede ser muy variada. Predominan las elípticas rodeadas por un margen más oscuro que puede llegar a ser púrpura. Estas manchas destruyen gran parte de los tejidos y sobre ellas se producen las fructificaciones del hongo que se visualizan como puntuaciones castaño oscuro. Las espigas afectadas se caracterizan por presentar, en la parte superior de la gluma, manchas castaño violáceas. Una sintomatología similar puede observarse sobre los nudos que sufren el estrangulamiento de los tejidos tomando el aspecto de nudo carretel.

Se han descripto los genes *Snb1* en el cromosoma 3AL, *Snb2* en el cromosoma 2AL, *Snb3* en el cromosoma 5DL. Otro gen descripto es el

temporariamente designado como *SnbTM*, localizado en el cromosoma 3AL, derivado de *T.timopheevii* (Ma 1995).

3.1.i Resistencia a *Tilletia spp.*

Se hallan descriptos diez genes que confieren resistencia a *Tilletia spp*, denominados con las letras *Bt*. Se localizan en los cromosomas 2B, 2D y 1B (McIntosh, 1998).

3.1.j Resistencia a *Schizaphis graminum* Rond. (*Toxoptera graminum*) (pulgón verde de los cereales)

En nuestro país fue identificado por primera vez en 1914. Ataca a los cultivos en los primeros estadíos de desarrollo, desde el estado de plántula hasta antes de la encañazón. Intoxica los tejidos vegetales, al extremo de causar la muerte de los mismos. Las plantas comienzan por presentar un marcado amarillamiento y terminan con la muerte.

Se han descripto seis genes que confieren resistencia al pulgón verde. Se denominan con letras *Gb* y se hallan localizados en los cromosomas 1A y 7D. (McIntosh 1998).

3.2.a Resistencia a *Metopolophium dirhodum*

La presencia de *Metopolophium dirhodum*, conocido como pulgón amarillo de los cereales, se generalizó en el país en el cultivo de trigo y cebada a partir del ano 1968. Ataca al trigo en los estadíos de macollaje avanzado a encañazón hasta la espigazón. También se encuentra en espigas. Su importancia radica en afectar el rendimiento de trigo y ser el vector de transmisión del virus del enanismo amarillento de la cebada (BYDV).

3.2.b Resistencia a *Sitobium avenae*

Sitobium avenae, conocido como pulgón de la espiga o de los granos fue identificado en el país en 1971. Tiene preferencia por las espigas, provocando

el llenado incompleto de los granos vulgarmente conocido como "achuzamiento". Ataca al grano indirectamente, posicionándose en las raquillas dificultando la llegada de la savia.

3.2.c Resistencia a *Pseudoaletia adultera*

Pseudoaletia adultera u oruga militar, ataca las hojas de los cultivos provocando intensa defoliación. Cortan los tallos debajo de las espigas, provocando importantes daños.

3.2.d Resistencia a *Faronta albilinea*

Faronta albilinea u oruga desgranadora, se alimenta de granos lechosos y pastosos.

4.1 Vuelco

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia.

.2 Resistencia a heladas

El carácter de resistencia a heladas se halla determinado por el gen *Fr1* (Sutka, 1989). Este ha sido mapeado en la mitad de la región del cromosoma 5AL, a 2,1 cM en dirección distal desde los marcadores *Xcdo 504-5A* y *Xwg644-5A* y proximal a *Xpsr-5A* (Galiba, 1995).

Heladas en estado juvenil y Heladas adulto

Ambos estados presentan dos alternativas: susceptibilidad y resistencia.

4.3 Sequía

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

4.4 Desgrane

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

4.5 Arrebatamiento

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

3.7. Análisis de Datos

3.7.1. Cuantificación del polimorfismo

Para calcular el contenido de información polimórfica (PIC) se utilizó la formula de Anderson (1993):

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2$$

donde *p* es la frecuencia del alelo *j* para el marcador *i*.

3.7.2. Estimación de la diversidad genética

Una medida de la variación genética es la llamada diversidad genética. Ésta está formada por la suma de cuadrados de las frecuencias de los alelos.

La misma fue estimada utilizando la fórmula de Weir (1996):

$$D = 1 - \frac{1}{L}\sum_{l}\sum_{i} p_{i}$$

en promedio para *L loci*, donde *p* es la frecuencia del alelo *i* en el locus *l*

3.7.3. Análisis estadísticos

El programa informático Statistica/w™ versión X para Windows (Stat Soft, 1993) fue utilizado para la realización de los análisis estadísticos de ANOVA y los contrastes en la evaluación de la fluctuación de la diversidad genética a través de las décadas, los *loci* y los criaderos.

Los análisis de varianza y de correlación entre alelos y parámetros de calidad fueron realizados mediante el programa STATISTICA/w™ (Stat Soft 1993). Las distancias genéticas se calcularon utilizando la función de Kosambi y el programa de computación Mapmaker/EXP 3.0 y MAPMAKER-QTL (Lander, 1987; Lincoln, 1992).

3.7.4. Matriz básica de datos (MBD)

Pasos elementales para la construcción de la matriz básica de datos

a) Elección de las unidades: se eligen los organismos a estudiar se definen las unidades a clasificar denominadas "Unidades Taxonómicas Operativas" (OTUs). En este trabajo se definieron como un OTU a cada una de las variedades de trigo.

b) Elección de los caracteres. Carácter: puede definirse como cualquier propiedad que varía entre las OTUs. Los posibles valores que ese carácter pueda presentarse los considera sus estados

(Sneath y Sokal, 1973) describirán las OTUs y se registran los estados. En este caso los caracteres son los *loci* de microsatélites, AFLPs o descriptores morfológicos y los estados posibles son los alelos. Por regla general todos los estados de un mismo carácter deben ser homólogos. Sneath y Sokal (1973) proponen la "homología operativa". Dos estados son homólogos cuando se corresponden en su composición y estructura. Por correspondencia se entiende la similitud cualitativa, desde el punto de vista biológico y/o químico de sus constituyentes. Por correspondencia estructural se entiende la similitud, en cuanto a orden de sus partes u orden espacio-temporales, o en la estructura de sus fenómenos bioquímicos, o en el orden secuencial de sus estructuras organizadas.

c) A partir del registro de los datos del paso anterior se construye la matriz básica de datos. Los datos utilizados en este trabajo son considerados doble estado o binarios. Pueden indicar presencia ausencia y estados excluyentes. Se expresan numéricamente como 1 (presencia) y 0 (ausencia).

d) Obtención de un coeficiente de similitud para cada par posible de OTU. Este coeficiente es una forma de cuantificar el parecido o similitud. Coeficientes de asociación. Miden las diferencias y coincidencias entre la s OTUs. Esta medición exige datos del tipo doble estado. Si se comparan dos OTUs, *j* y *k*, para un carácter doble estado (presencia/ ausencia) se tienen cuatro posibilidades: A, que ambas OTU tengan presente el carácter comparado (1,1) B, que ambas OTU tengan ausente el carácter comparado (0,0) C, que la primera de ellas tenga presente el carácter y la segunda tenga ausente el carácter comparado (1,0) D, que la primera de ellas tenga ausente el carácter y la segunda tenga presente el carácter comparado (0,1). El resultado de la suma de *a*, *b*, *c*, y *d* es el número total de caracteres utilizado. Sobre la base de estas posibilidades se calcula el coeficiente adecuado (similitud, distancia, etc).

Se utilizó el coeficiente de Dice que confiere mayor peso a las coincidencias. Los valores de este coeficiente varían entre 0 y 1, que equivalen a los valores de mínima y máxima similitud respectivamente.

$$Dice = \frac{2a}{2a + b +}$$

Los índices de similitud se calcularon usando el índice de Dice, mediante el programa NTSyS pc, v 2.0 (módulo SimQual)

e) Conformación de grupos. Se dispone de una gran variedad de técnicas de análisis de matrices de similitud (Sneath y Sokal, 1973), cuyo objeto es sintetizar la información de la matriz de similitud a fin de permitir el reconocimiento de las relaciones de la totalidad de las OTUs. En este trabajo se utilizó para el análisis de agrupamientos la técnica de ligamiento promedio que utiliza la media aritmética no ponderada también llamada UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages). En este caso se considera que el valor de similitud entre la OTU candidato a incorporarse y el grupo núcleo es igual a una similitud promedio resultante de los valores de similitud entre el candidato y cada uno de los integrantes del grupo o núcleo.

f) La estructura obtenida a través del análisis de agrupamiento puede representarse gráficamente mediante un dibujo arborescente o dendrograma que muestra la relación de similitud entre las OTUs.

La figura N°7 muestra los pasos para el análisis de agrupamientos.

3.7.5. Coeficientes de parentesco

El coeficiente de parentesco (*f*) también llamado de co-ancestralidad es calculado de la información de los datos de pedigrí a fin de estimar la relación genética. El primero en referirse a este coeficiente fue Malecòt (1948), r estima la probabilidad que dos alelos de un locus sea idéntico en la descendencia. Este estadístico puede calcularse asumiendo la herencia diploide de las gametas producidas por la segregación Mendeliana y asumiendo d que los ancestros de pedigrí desconocidos no están relacionados. Haciendo una extensión de esto St Martin (1982) describe el método para el cálculo de *f* líneas endocriadas de especies autógamas. Este método requiere asunciones adicionales como que todas las líneas del pedigrí son homocigotas y la frecuencia alélica de cada *locus* no es afectada por la selección durante las generaciones de autofecundación. Este método ha sido utilizado para la caracterización de germoplasma de colza (Lefort-Buson *et al.,* 1987), maní (Knauft y Gobet, 1989, arroz (Dilday, 1990), trigo (Cox y Murphy, 1990; Mercado *et al.*,1996), soja (Cox *et al.*, 1985a), avena (Souza y Sorrells, 1989; Bohn 1999) y cebada (Martin *et al.*, 1991; Tinker *et al.*, 1993; Davila, 1998).

Se incluyeron en el análisis sólo aquellas variedades con que se contaban con datos de pedigrí. Dichos datos se extrajeron de la Base de Datos de CIMMYT (México). Los coeficientes de parentesco se calcularon utilizando el programa IWIS (Fox, 1996) que emplea el algoritmo de Cox (1986).

Los coeficientes de parentesco (*f*) fueron calculados con las siguientes asunciones: 1) los ancestros, las líneas y los cultivares son homocigotas y homogéneos; 2) ancestros de pedigrí desconocido son considerados como no emparentados ($f = 0$); una línea derivada de un cruzamiento obtiene la misma muestra de alelos de cada uno de los padres. Se realizó una excepción a la primera regla al considerar múltiples líneas seleccionadas de un antecesor heterogéneo. Cox (1985b) asume para este caso que el coeficiente de parentesco entre la línea seleccionada y su ancestro es $f = 0.75$

3.7.6. Test de Mantel

Dada la distribución normal de los valores de las matrices de coeficientes de parentesco y de índices de similitud generada a partir de los datos de descriptores morfológicos, microsatélites y AFLP fueron correlacionadas mediante el momento producto de Pearson. La significancia de la correlación fue estimada mediante el test de Mantel.

La comparación de las matrices de similitud generada con los alelos de microsatélites y la matriz de coeficientes de parentescos fue comparada utilizando el programa NTSyS v. 2.0 pc, módulo MXCOMP.

El programa toma dos matrices simétricas de similitud o disimilitud y compara una contra otra, elemento a elemento (pero los elementos de la diagonal son ignorados). El programa computa la correlación momento - producto, *r* y el estadístico de Mantel (1967), *Z*, para medir el grado de relación entre las dos matrices.

El test de Mantel (Mantel 1967) es una regresión en la cual las variables son matrices de similitud o distancia.

El estadístico de Mantel se basa en un simple término de momento producto cruzado:

$$Z = \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=1}^{n} x_{ij} y_{ij}$$

Y es normalizado:

$$r = \frac{1}{(n-1)} \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=1}^{n} \frac{(x_{ij} - \bar{x})}{s_x} \frac{(y_{ij} - \bar{y})}{s_y}$$

donde x e y son variables (o un conjunto de variables) medidas para los dos métodos empleados o localidades a comparar y n es el número de elementos en la matriz de distancia, y s_x y s_y son las desviaciones estándar para las variables x e y. Esta estandarización permite considerar variables de distinta unidad de medida en el mismo marco.

El test de significancia para la prueba de Mantel se realiza comparando el valor observado de Z como una distribución permutacional. Esta es la permutación que uno obtiene si compara una matriz, llamada X' con todas las matrices posibles en las cuales el orden de los objetos (o variables) en la otra matriz, Y', ha sido permutado.

3.8. Análisis de poblaciones segregantes

Para cada una de las 96 familias F3,2 se determinó la constitución alélica de 12 *loci*: 9 mediante RFLP y 3 mediante microsatélites. Los *loci* de proteína de reserva que se analizaron fueron: *XGli1* con el clon pcP387 (Forde et al.1985), *XGli2* con el clon pTU1 (D'Ovidio 1992), *XGlu1* con el clon pDY10A/KS (Anderson et al.1989), y *XGlu3* con el clon ptdUCD1 (Cassidy y Dvorak 1991). Otros clones de RFLP ligados a los *loci* de las proteínas de reserva con funciones conocidas y desconocidas del grupo homoeólogo 1 fueron descriptos previamente por Dubcovsky et al. (1995a y b,1996). En el grupo homoeólogo 6 (*Gli-2*) fue estudiado mediante la sonda PSR10 (Baulcombe, 1987).

La digestión con endonucleasas de restricción, electroforesis en geles de agarosa y transferencia por Southern-blot, se realizó de acuerdo a Dubcovsky *et al.* (1996). Se describe anteriormente en el punto 3.5 de Materiales y Métodos.

Los microsatélites empleados en el análisis se hallan localizados dentro del locus de LMW *Xpsp 2999*, *Glu-A3* y del locus γ-gliadinas *Xpsp 3000, Gli*-B1 (Devos et al.1995) y un microsatélite localizado en el cromosoma 1AL, Xcnl5-1A, M.Sorrells, GrainGenes Databases, utilizando los protocolos de

amplificación y análisis descriptos anteriormente en el punto 3.2 de Materiales y Métodos.

3.9. Determinaciones de calidad

Para cada una de las familias F3,2 homogéneas para las HMW-GS se realizó el test de sedimentación en SDS y se determinó el contenido de proteína (micro-Kjeldahl) en cada repetición y se promediaron los valores. Los test de sedimentación en Ácido Acético y los mixogramas se realizaron en una mezcla de semillas de las dos repeticiones. Los valores de sedimentación y mixogramas se correlacionan significativamente con el contenido de proteína ($p < 0.05$), por lo cual el mismo fue utilizado como covariable en el análisis de covarianza para cada locus.

Contenido de proteína

El contenido de proteína se midió mediante el método de micro-Kjeldahl. Las determinaciones de sedimentación en dodecil sulfato de sodio (SDS) se realizaran de acuerdo al método de Axford (1979). .Los estudios de sedimentación en ácido acético, mixogramas y alveogramas se realizaron en el Laboratorio de Calidad Industrial de Trigo y Soja E.E.A. INTA Marcos Juárez utilizando procedimientos estandarizados AACC (1983).

3.9.1. Sedimentación en dodecil sulfato de sodio (SDSS)

En este test, la harina integral es mezclada con una solución de ácido láctico y SDS, y luego de un período de reposo, se mide el volumen de sedimentación resultante, el cual se correlaciona con el volumen de pan. En este trabajo se utilizó una modificación del protocolo original (Pena, 1990). Esta modificación consiste en el empleo de 1g de harina (en lugar de 6g) y un

cilindro graduado de 25 ml (en reemplazo de 100ml). El test de sedimentación con SDS fue seleccionado como método de medición indirecta en la evaluación de calidad panadera pues muestra una correlación positiva y significativa con el volumen de pan Axford (1979).

3.9.3.Sedimentación en ácido acético

Esta determinación fue realizada en el Laboratorio de Calidad de Trigo y Soja de la Estación Experimental de Marcos Juárez, del INTA, siguiendo el método propuesto por Pumpiasky del Instituto Vavilov de Rusia. La misma consiste en el agregado de 10 ml de solución de ácido acético (2%) a 0,5 g de harina en una probeta de 10 ml, seguido de una agitación manual vigorosa durante 5 a 8 segundos para asegurar una correcta suspensión. Posteriormente, se somete a la mezcla a una agitación mecánica utilizando un agitador tipo Zeleny, durante 22 a 25 segundos, de tal manera que el tiempo total de agitación sea de 30 segundos. Luego de 5 minutos de reposo se toma la lectura del sedimento en ml y se multiplica este valor por 10.

3.9.2. Mixografía

Esta determinación de calidad fue realizada utilizando el mixógrafo de Swanson (Swanson y Working, 1933) siguiendo la metodología aprobada por la AACC (1983) y evaluada por Tombetta y Cuniberti (1994) en el INTA Marcos Juárez.

El mixógrafo mide y grafica en forma automática el desarrollo y la resistencia de la masa a la acción mecánica en función del tiempo. La amasadora posee un conjunto de vástagos ("*planetary pins*") fijos y otros móviles que giran accionados por un motor. La resistencia al amasado produce un par sobre el recipiente que posee vástagos fijos que se transmite a un brazo oscilante conectado a una aguja graficadora que imprime su registro sobre una cinta de papel que se mueve accionada por un mecanismo de relojería En los mixogramas pueden identificarse tres áreas definidas a) un período inicial de resistencias crecientes (desarrollo de la masa) b) un período de resistencia

máxima al amasado (desarrollo pleno) y c) un período de resistencia decreciente al amasado (ruptura de la masa).

La forma de la curva refleja la calidad panadera. Parámetros asociados positivamente son: el tiempo de desarrollo o "mixing time" (el tiempo en minutos hasta alcanzar la máxima altura de la curva), también llamado punto de movilidad mínima; lenta ruptura de la masa (baja pendiente de caída); el ángulo entre las porciones ascendentes y descendentes de la curva en la proximidad del máximo y el área total debajo de la curva. Basándose en los parámetros mencionados, personal entrenado deriva los valores de clase mixográfica. Este es un índice creciente que generalmente varía entre 2 y 7. A mayor índice, mejor calidad. Las clases 2 y 3 son típicas de curvas con tiempo de desarrollo menores a 2 min., pendientes iniciales altas, desarrollo pleno corto (baja estabilidad) y rápida ruptura de la masa. Las clases 6 y 7 por el contrario corresponden a curvas con lento tiempo de desarrollo (mayores a 3 min. 30"), alta estabilidad y lenta ruptura de masa. Consecuentemente, clases intermedias presentan valores intermedios.

Las clases 2 y 3 corresponden a trigos blandos, no panificables. La clase 4 a trigos semiduros y las clases 5 y 6 a trigos duros, panificables. La clase 7 o mayor corresponden a trigos de alta tenacidad llamados correctores.

Se determinaron los siguientes parámetros:

1.- tiempo de desarrollo

2.- clase de desarrollo

3.- integral de la curva (área debajo de la curva)

El tiempo de desarrollo se tomó como el tiempo en minutos hasta la altura máxima de la curva. La clase mixográfica fue determinada a partir de las curvas, por la Ing. M. Cuniberti del laboratorio de calidad de Trigo y Soja de la EEA Marcos Juárez del INTA. La integral de la curva mixográfica fue estimada como el área en cm^2 debajo de una curva de ajuste promedio dibujada sobre el mixograma.

APENDICE

SOLUCIONES

Solución de extracción de DNA (CTAB)

Tris- HCl pH 7,5 0,1 M

NaCl 0,7 M

EDTA (pH 8,0) 0,01 M

CTAB 1 % (p/v)

β-mercaptoetanol 1 % (v/v)

Nota: Utilizar soluciones frescas

CTAB = mezcla de bromuros de alquiltrimetilamonio

Agregar el β-mercaptoetanol al buffer CTAB de extracción previamente calentada a 65°C en el momento de uso).

Solución 1 de lavado para la extracción de ADN

Etanol 76%

NaOAc 0,2 M

Solución 2 de lavado para la extracción de ADN

Etanol 76%

NH_4OAc 10mM

TE 10:1

Tris-HCl 10mM pH=8

EDTA 1mM pH=8

Solución de tinción para cuantificación fluorimétrica de ADN

TNE 1X (10 mM Tris pH 7,4, 1 mM EDTA pH=8, 100mM NaCl).

Hoechst 33258 0,1 μg/ml de solución.

Buffer TAE1X

Tris-Acetato 48,4g

Acido Acético Glacial 1,4 ml

EDTA 0,5 mM pH=8 20 ml

Completar 1 lt.

Buffer para micrométodo de extracción de ADN

	Stock	Final	100ml
Tris-HCl (pH 8)	1M	50mM	5ml
EDTA (pH8)	0,5 M	10mM	2 ml
NaCl	5 M	100mM	2ml
SDS		10 %	10 g
§β-mercaptoetanol	10mM	0,07ml	

§ Agregar antes de usar

Solución de Acetato de Potasio pH 4.8

	Stock	Para 100 ml
KOAc	5M	60 ml
Ácido Acético Glacial		11,5 ml
H_2O		28,5

Ajustar a pH 4,8 con ácido acético glacial.

Buffer de siembra para geles de agarosa

Azul de Bromofenol 2 mg/ml

Glicerol 40% (v/v)

Solución de Acrilamida (19:1)

para 1l de solución al 6%

Acrilamida 60 g

NN-Metil bisacrilamida 3 g

Urea 450g

Filtrar y mantener a 4ºC en botella protegida de la luz

Gel de Acrilamida 6%

Para la preparación de un gel de dimensiones 40 cm x 35 cm x 0.05 cm utilizar 60ml de solución de acrilamida 19:1, agregando 330 μl de APS 10% y 33μl de TEMED.

APS 10% 10 g Persulfato de Amonio en 100ml de dd H_2O

TEMED

N, N, N', N',- Tetrametil etilen diamina

Buffer de siembra para geles de poliacrilamida

98% formamida

EDTA pH 8,0 10 mM

Azul de Bromofenol 0,05%

Xilen Cianol 0,05%

Glicerol 40% (v/v)

TBE 5X

Tris-borato 0,45 M

EDTA 10 mM pH=8

Llevar a pH 8,0 con ácido acético glacial.

AcONa 3M

Disolver xx g de Acetato de Sodio en 1 lt de agua destilada

Solución Fijadora y de Detención de Reacción ("Stop") para Tinción con Plata

10% Ácido Acético glacial

Solución de Tinción con Plata

1 g/l nitrato de plata (AgNO3)

0,056% formaldehído (1,5ml de 37% HCOH /l)

Solución Reveladora

30 g/l carbonato de sodio (Na_2CO_3)

0,056% Formaldehído (1,5ml de 37% HCOH/l)

2 mg/L tiosulfato de sodio

Buffer de transferencia SSC20X

NaCl 174g

Citrato de Sodio pH 7 88,2g

Completar volumen 1 lt

SDS20%

Solución de hibridación PAES

SSPE 2,5X
SDS 1%
PAES 0,1%
pirofosfato de sodio 0,01%

RESULTADOS

1. CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO MEDIANTE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Tradicionalmente, las variedades se describen en base a caracteres fenotípicos (morfológicos, fenológicos, fisiológicos, resistencia a enfermedades, etc.). Con el objeto de establecer una comparación con los datos moleculares y ajuste a la genealogía, se analizaron estos datos y se construyeron matrices de datos. Los caracteres morfológicos que sirven para caracterizar, en el Registro Nacional de Semillas del INASE, cada uno de los materiales estudiados se muestran en la tabla N°5, sin embargo, para el análisis de datos sólo se incluyeron aquellos caracteres que presentaron variabilidad. Los datos de los mismos fueron cedidos gentilmente por el Director del Registro de Cultivares de INASE. Se incluye el listado completo de descriptores.

1.1.a Color coleoptile

Código: 1= blanco

Las variedades analizadas en este trabajo no presentan variaci´on para este carácter, por lo cual no fue incluido en el análisis

1.2.b Pigmetación antociánica del coleoptile

Código: 1= ausente

Las variedades analizadas en este trabajo no presentan coloración antociánica del coleoptile, por lo cual no fue incluido en el análisis.

1.3.a Porte vegetativo juvenil

Código: PORTEJUV.

Esta característica presenta cuatro variantes:

1. Rastrero
2. Semirrastrero
3. Semierecto
4. Erecto

Tabla N°5. Listado de variedades analizadas y sus descriptores fenotípicos. Se utilizaron los descriptores estipulados por la Unión Internacional para la Protección de Obtenciones Vegetales (UPOV)

	colorcoleop	antocoleop	poretjuv	coloresp	altmadurez cm	macollaje	tallocolor	pubnudosup	nudoforma	nudonumero	cerztallo	talloantoc	entrenudos	colorthoja
BATL	sd	sd	4	sd	sd	3	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
BBAG	1	2	2	2	105	3	2	2	1	4	1	2	1	2
BCAT	1	2	1	4	92	3	2	2	3	4	1	2	1	2
BCEN	1	2	2	3	110	2	3	2	2	4	1	2	1	2
BCIM	1	2	2	3	120	3	2	2	2	4	1	2	1	1
BCHA	1	2	2	4	115	3	2	2	3	4	2	2	1	2
BDIL	1	2	2	4	101	3	2	2	2	4	1	2	1	1
BFOG	1	2	2	2	107	3	2	2	1	4	2	2	1	1
BGUA	1	2	4	2	98	2	1	2	1	4	1	2	1	2
BMAN	sd	sd	sd	sd	sd	3	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
BMAP	1	2	3	1	99	3	3	2	2	4	1	2	1	1
BNAM	1	2	1	2	120	3	2	2		4	1	2	1	2
BNDU	1	2	3	1	83	2	2	2		4	1	2	1	2
BNPU	1	2	2	2	96	3	2	2		4	2	2	1	1
BOMB	1	2		2	84	2	2	2		4	1	2	1	1
BPAL	1	2		2	93	3	3	2		4	2		1	1
BPAN	1	2		3	90	3	2	2		4	1		1	1
BPAS	1	2		4	99	2	2	2		4	1		1	1
BPAT	1	2		4	84		2	2		4	1		1	1
BPER	1	2		4	98		3	2		5	2		1	1
BPON	1	2		4	90		3	2		4	2		1	1
BPUC	1	2		2	99		2	2		4	2		1	2
BRDM	1	2		4	100		2			5	1		1	1
BVPU	1	2		4	110		2			4	2		1	1
BYAP	1	2		4	85		2			3			1	2
CCHI	1	2		1	90		2			4			1	1
CMIL	1	2		2	73		2			4			1	1
COBA	1	2		2	110		2			4			1	2
COCAL	1	2		2	91		2			5			1	1
COLI	1	2		2	68		3			4			1	1
COMN	1	2		2	79		3			sd			1	1
CON	1	2		4	92		1			4			1	2
CONA	1	2		1	88		3			4			1	1
CZI	1	2		2	75		2			4			1	1
CHQ	1	2		4	90		3			5			1	1
DKBC	1	2		1	82		3			4			1	2
DKBQ	1	2		2	73		1			4			1	1
DKBT	1	2		2	84		2			3			1	2
DTI	1	2		4	82		2			4			1	1
GRAI	1	2		2	77		1			4			1	2
KLAT	1	2		4	105		2			4			1	1
KLCAO	1	2		1	102		2			5			1	sd
KLCAR	1	2		4	80		2			4			1	1
KLCOB	1	2		1	91		3			4			1	1
KLCRI	1	2		1	100		3			4			1	2
KLCHA	1	2		2	83		2			4			1	1
KLDOR	1	2		3	89		3			4			1	1
KLDR	sd	2		2	98		2			4			1	sd
KLFT	1	2		4	90		2			4			1	1
KLOR	1	2		4	104		2			4			1	1
KLIM	1	2		4	103		2			5			1	1
KLOR	1	2		4	97		2			4			1	sd
KLSAL	1	2		1	99		2			4			1	1
KLSEN	1	2		4	111		2			5			1	1
KLTO	1	2		4	91		2			4			1	1
LAB	1			3	85		2			4			1	1
LNI	1			1	65		2			4			1	1
LPI	1			2	80		2			4			1	1
LRI	1			1	76		2			5			1	2
MJI	1			1	65		2			4			1	2
NKC	1			2	81		2			4			1	1
NKCH	1			2	85		2			4			1	1
NKI	1			2	80		2			4			1	1
NKL	1			4	95		2			4			1	1
NKP70	1			3	75		1			4			1	1
NKT82	1			2	82		2			4			1	1
OA	sd				sd		sd			sd			sd	sd
PGTO	1				110		4			4			1	2
PIDA	1				83		2			4			1	1
PIGU	1				85		3			4			1	1
PIIP	1				75		2			4			1	1
PIIV	sd				sd		sd			sd			sd	sd
PION	1				79		3			3			1	1
PIOS	1				75		2			4			1	1
PIPG	1				90		2			4			1	1
PIPT	1				85		1			3			1	2
PIQN	1				95		2			4			1	1
PISP	1				83		3			3			1	2
PPA	1				79		3			4			1	1
PPI	1				81		2			4			1	1
RTNI	1				75		2			4			1	2
SAIR	1				70		3			4			1	1
SAUI	1				90		3			3			1	2
SGTE	sd				0		sd			sd			sd	sd
TACO	1				88		2			4			1	1
TCAT	1				75		1			4			1	1
TTRO	1				101		2			5			1	1
TUCGR	1				95		3			4			1	2
VTI	1				81		2			4			1	1

	pubthoja	antauricu	pubauricul	largehoja	anchohoja	coloespig	hbandposic	hbandcera	posiespiga	colorespia	espilongui	espiforma	artejonume	densiespig
BATL	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	sd	sd
BBAG	2	2	1	35	18	1	2	2	2	1	3	2	20	1
BCAT	2	1	2	26	12	4	2	1	1	2	1	1	17	1
BCEN	2	2	2	22	15	2	2	2	1	5	2	1	16	1
BCIM	2	2	2	22	11	2	2	2	2	5	3	2	18	1
BCHA	2	2	1	27	15	4	2	2	2	1	4	1	22	1
BDIL	2	2	1	22	17	2	2	1	2	2	3	2	17	2
BFOG	2	2	1	31	15	3	2	2	2	2	3	1	17	1
BGUA	2	2	1	22	15	2	2	1	1	1	2	2	20	2
BMAN	sd	sd		sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
BMAP	2	2		31	14	1	2	2	1	4	3	2	20	1
BNAM	2	2		21	12	3	2	1	2	1	1	1	15	1
BNDU	2	2		21	13	1	2	2	1	2	2	2	16	2
BNPU	2	2		30	14	3	2	2	2	1	4	1	18	1
BOMB	2	2		27	15	3	2	2	1	1	3	2	20	1
BPAL	2	2		25	15	3	2	2	2	2	2	2	19	1
BPAN	2	2		23	10	2	2	1	2	5	2	2	16	1
BPAS	2	2		24	10	4	2	2	1	2	3	2	19	1
BPAT	1	2		24	14	1	2	1	1	1	3	2	21	2
BPER	2	2		25	17	4	1	1	1	2	4	2	19	1
BPON	2	2		25	15	4	2	2	1	2	2	2	20	1
BPUC	2	2		23	11	3	2	2	3	2	3	2	17	1
BRDM	2	2		26	17	4	1	2	1	2	4	1	25	1
BVPU	2	2		16	14	4	2	2	3	1	3	1	18	1
BYAP	2	1		24	12	4	1	2	2	1	3	1	20	1
CCHI	2	2		21	14	1	2	2	1	1	3	2	22	2
CMIL	1	1		31	17	1	2	1	2	2	4	1	17	1
COBA	1	2		26	14	3	2	1	1	2	1	1	14	1
COCAL	1	2		28	18	3	2	1	2	2	2	1	15	1
COLI	1	2		29	18	3	2	1	3	1	4	1	20	1
COMN	1	2		21	13	4	2	1	2	2	4	1	16	1
CON	2	2		23	11	3	1	2	1	2	2	1	19	1
CONA	1	2		24	18	1	1	1	3	1	3	1	21	1
CZI	2	2		14	11	3	2	1	2	1	4	1	19	1
CHQ	1	2		26	12	4	2	1	2	2	4	0	21	1
DKBC	2	2		20	5	4	1	2	1	1	4	1	18	2
DKBQ	2	2		26	13	1	1	1	2	1	4	1	21	1
DKBT	2	2		23	8	4	1	2	1	2	3	1	20	1
DTI	2	2		26	19	4	2	2	2	1	2	2	20	1
GRAI	2	2		23	12	3	1	1	2	1	3	2	19	2
KLAT	2	2		19	12	4	2	2	2	1	2	1	14	1
KLCAQ	sd	2		25	13	1	2	2	2	1	3	1	22	1
KLCAR	2	2		20	12	4	1	1	2	1	4	1	15	1
KLCGB	2	2		22	11	1	2	2	3	1	3	1	17	1
KLCRI	2	2		18	11	4	1	2	3	1	3	1	20	1
KLCHA	2	2		19	11	3	2	1	3	1	3	1	16	1
KLDOR	2	2		23	11	1	2	2	2	1	2	1	18	1
KLDR	sd	2		28	13	3	1	1	2	1	4	1	22	1
KLFT	2	2		19	12	4	2	2	1	1	1	1	12	1
KLGR	2	2		21	10	4	2	1	1	1	3	1	14	1
KLIM	1	2		20	12	3	2	1	3	1	3	1	17	1
KLOR	sd	2		28	13	1	2	2	3	1	2	1	14	1
KLSAL	2	2		23	14	1	2	2	3	1	4	2	22	1
KLSEN	2	2		20	12	4	1	2	3	1	3	1	17	1
KLTO	2	2		19	10	4	2	2	2	1	2	1	14	1
LAB	1	2		15	10	2	2	2	2	1	2	1	19	1
LNI	2	2		11	10	1	1	1	2	2	4	2	19	1
LPI	2	2		24	17	3	1	2	2	1	1	1	18	1
LRI	2	2		20	10	4	1	1	1	5	4	2	19	1
MJI	2	2		13	10	1	1	1	2	2	4	2	17	1
NKC	2	2		21	10	3	1	1	1	0	4	1	21	1
NKCH	2	2		21	10	3	1	2	1	0	4	1	20	1
NKI	2	1		23	13	3	1	1	1	1	3	1	16	1
NKL	sd	2		22	10	4	1	2	2	1	3	1	sd	1
NKP70	1	1		22	12	1	1	2	2	1	2	1	12	1
NKT82	1	2		22	10	3	1	1	1	2	4	1	15	1
OA	sd	sd		sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	19	sd
PGTO	1	2		29	12	4	2	2	1	5	3	1	12	1
PIDA	2	1		26	15	3	2	2	2	1	2	1	18	1
PIGU	2	2		17	12	3	2	1	3	2	4	1	21	1
PIIP	2	2		16	13	3	2	1	2	1	4	1	20	1
PIIV	sd	sd		sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	sd	1
PION	2	2		18	14	2	2	2	1	2	3	1	19	1
PIOS	2	2		25	11	3	2	1	2	2	4	1	26	1
PIPG	1	1		20	17	3	1	1		1	3	2	24	3
PIPT	2	2		16	7	4	1	1		2	3	1	17	1
PIQN	2	1		sd	sd	2	2	2		2	2	2	sd	2
PISP	2	2		15	8	3	1	1		2	2	1	16	1
PPA	2	2		21	12	1	1	2		2	2	1	17	1
PPI	2	2		28	16	3	2	2		1	2	2	20	1
RTNI	2	2		31	13	4	2	2		1	2	1	18	2
SAIR	2	2		15	10	1	1	1		1	3	2	19	1
SAUI	2	2		15	9 5	3	2	1		2	3		17	3
SGTE	sd	sd		sd	sd	sd	sd	sd		sd	sd		sd	1
TACO	2	2		20	13	3	1	1		2	4		21	1
TCAT	1	2		24	15	2	1	1		2	4		23	1
TTRO	1	2		22	18	1	1	1		2	4		21	1
TUCGR	2	1		32	18	3	1	1		2	4		21	1
VTI	2	2		30	17	3	2	2		1	2		19	1

	numgranos	espicera	coloresila	largeila	anchelia	hombro	diente	quilla	lemma	colorarist	coloranter	carlolarg cm	anchecario cm	p1000 gr	formcario	textcario	colorcario
BATL	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	sd	sd	sd	sd	sd	1	1	sd
BBAG	27	2	1	3	3	3	3	1	1	2	1	7	3.5	36	3	1	2
BCAT	30	2	1	3	3	3	2	2	1	1	1	7	3	33	3	1	2
BCEN	33	2	2	2	2	4	2	1	1	5	1	6	3.5	37	2	1	2
BCIM	29	2	2	2	3	4	1	1	1	5	1	7.5	3	36	3	1	2
BCHA	40	2	1	2	2	5	4	3	1	2	1	7	3	37	1	1	2
BDIL	39	2	1	2	3	4	4	1	1	2	1	7	3	37	2	1	2
BFOG	29	2	1	3	2	2	2	2	1	2	1	7	3	36	3	1	2
BGUA	45	2	1	3	3	2	2	1	1	1	1	6	2	37	1	1	2
BMAN	sd	sd	2	sd	sd	4	1	2	1	sd	sd	sd	sd	36	1	1	sd
BMAP	38	2	2	3	3	5	3	3	1	5	1	7	3.5	38	1	1	2
BNAM	21	1	1	1	2	2	3	3	1	1	1	6.5	3.5	36	3	1	2
BNDU	32	2	1	2	3	2	2	3	1	2	sd	6.5	3.5	37	1	1	2
BNPU	29	1	1	3	3	5	4	1	1	1	1	7	3	38	1	1	2
BOMB	41	2	1	3	2	1	2	3	1	1	1	8	3.5	42	2	1	2
BPAL	31	2	1	2	2	5	3	3	1	2	1	6	3	42	2	1	2
BPAN	28	1	2	3	2	5	4	3	1	2	1	6.5	3.5	34	2	1	2
BPAS	38	2	1	2	1	5	2	1	1	2	1	7	3	31	3	1	2
BPAT	45	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	6	2	34	1	1	2
BPER	44	2	1		2	5	3	2	1	2	1	6	3	30	1	1	2
BPON	49	2	1		3	5	3	3	1	2	1	6.5	3.5	39	1	1	2
BPUC	30	2	1		1	4	4	1	1	1	1	7	3	36	3	1	2
BRDM	53	2	1		2	2	2	1	1	2	1	6.3	3	34	3	1	2
BVPU	29	2	1		2	4	2	1	1	1	1	6	3	32	3	1	2
BYAP	46	2	1		3	4	2	1	1	1	1	7	4	34	2	1	2
CCHI	59	2	1		3	5	2	3	1	1	1	6	3.5	36	1	1	2
CMIL	40	sd	2		3	5	3	1	1	2	1	6	3	30	3	1	2
COBA	26	1	1		2	3	2	1	1	2	1	6	3	35	2	1	2
COCAL	31	1	1		2	4	4	1	1	2	1	6.3	2.8	35	3	1	2
COLI	49	1	1		1	4	4	3	1	1	1	7	3	40	3	1	2
COMN	43	sd	2		2	4	2	1	1	2	1	8	3	0	3	1	2
CON	58	1	1		3	4	3	3	1	2	1	5	3	39	3	1	2
CONA	54	1	1		3	2	2	1	1	1	1	6	4	38	1	1	2
CZI	48	1	1		3	4	1	2	1	1	1	7	3	36	2	1	2
CHQ	42	2	2		1	2	3	3	1	2	1	6	3	31	2	1	2
DKBC	44	2	1		3	3	4	2	1	1	sd	6.1	3	33	1	2	1
DKBQ	51	1	1		2	3	3	2	1	1	1	6.2	3	37	2	2	1
DKBT	46	1	2		3	3	3	1	1	1	1	5.8	2.8	32	2	2	1
DTI	40	1	1		2	4	2	1	1	1	1	6	3	32	3	1	2
GRAI	51	1	1		2	5	4	1	1	1	1	6	3.5	36	1	1	2
KLAT	29	2	1		2	6	2	2	1	1	1	6.3	3.3	39	2	1	2
KLCAQ	41	2	1		2	1	4	1	1	1	1	6.3	3.2	37	2	1	2
KLCAR	43	1	1		3	4	1	1	1	1	1	6	3	41	1	1	2
KLCOB	38	2	1		2	6	2	2	1	1	1	6	3.1	35	2	1	2
KLCRI	33	2	1		2	2	2	3	1	1	1	6	3	40	1	1	2
KLCHA	44	1	1		3	2	3	1	1	1	1	5.8	3.3	38	1	1	2
KLDOR	33	2	1		3	3	2	2	1	1	1	3.3	6	35	2	1	2
KLDR	52	1	1		3	2	2	1	1	1	1	6	3	37	1	1	1
KLFT	25	2	1		2	6	3	1	1	1	1	5.8	3.4	37	2	1	2
KLGR	31	1	1		3	3	1	2	1	1	1	6.1	3.3	42	1	1	2
KLIM	28	1	1		2	3	2	3	1	1	1	6	2.9	31	1	1	2
KLOR	28	2	1		2	5	4	1	1	1	1	6.9	3.4	47	3	1	2
KLSAL	38	1	1		3	1	4	1	1	1	1	6	3	43	2	1	2
KLSEN	28	2	1		2	3	2	3	1	1	1	5.8	3.2	40	1	1	2
KLTO	28	2	1		3	5	4	3	1	1	1	6.6	3.3	45	3	1	2
LAB	36	2	1		2	4	2	1	1	1	1	6.2	0	30	1	1	2
LNI	30	1	2		2	4	2	1	1	1	1	6	3	31	3	1	2
LPI	37	1	1		1	4	3	1	1	1	1	7	3	36	2	1	2
LRI	51	1	2		3	3	2	2	1	2	1	7	3	36	3	2	1
MJI	29	1	1		2	5	4	1	1	1	1	8	3	41	3	1	1
NKC	40	2	1		3	4	3	1	1	1	1	6.5	4	38	2	1	2
NKCH	43	2	1		3	2	2	2	1	1	1	6	3	36	1	1	2
NKI	45	2	1		3	2	2	2	1	1	1	6	3.5	36	1	1	2
NKL	38	2	1		2	2	2	1	1	1	1	7	3.5	42	1	1	2
NKP70	31	2	1		2	4	3	1	1	1	1	7	3	40	1	1	2
NKT82	40	2	1		3	5	4	1	1	sd	1	5	3	39	1	1	2
OA		2	sd		sd	sd	1	2	1	sd	sd	sd	sd	35	3	1	1
PGTO	28	2	2		1	5	3	2	1	4	1	6.9	2.1	30	1	1	2
PIDA	39	2	1		2	3	4	3	1	1	1	6	3	30	3	1	2
PIGU	47	1	1		3	5	3	1	1	2	1	7	3	39	2	1	1
PIIP	41	1	1		3	4	3	1	1	1	1	7	3	36	2	1	2
PIIV	sd	1	sd		sd	3	3	2	1	1	sd	0	0	38	1	1	2
PION	52	2	1		3	3	3	3	1	2	1	7	3	38	3	2	1
PIOS	62	1	1		3	4	3	2	1	1	1	8	4	32	1	1	2
PIPG	55	1	1		3	4	3	3	1	1	1	7	3	40	2	1	2
PIPT	40	2	2		3	4	3	1	1	2	1	6	3	34	1	1	1
PIQN	sd	2	1		3	3	2	1	1	2	1	6.2	3.5	36	2	1	2
PISP	34	1	1		3	4	2	1	1	2	1	6	3.5	31	2	1	2
PPA	46	2	2		3	3	4	1	1	2	1	7	3.5	35	1	1	2
PPI	35	1	1		3	5	3	1	1	1	1	6	3	35	2	1	2
RTNI	47	2	1		3	5	2	1	1	1	1	6.5	3	30	1	1	2
SAIR	30	2	1		1	2	2	2	1	1	1	6	3.5	32	1	1	1
SAUI	45	1	2		2	4	3	2	1	2	1	6.5	3.35	36	2	2	1
SGTE	sd	sd	sd		sd	4	2	1	1	0	0	0	0	30	2	1	2
TACO	58	2	1		2	5	3	2	1	2	1	6	2	36	3	1	2
TCAT	65	1	2		3	5	2	2	1	2	1	6	3	34	1	1	2
TTRO	61	1	2		3	1	2	2	1	2	1	7	3	44	3	1	2
TUCGR	37	1	1		3	2	3	1	1	2	1	7	4	38	2	1	2
VTI	38	1	1		2	2	2	1	1	1	1	6	3	31	1	1	2

Rifenol	dimesc	formaes	bordees	posesc	reidorei	viatesc	tamcepi	pelosiar	surcoancho	surcoprof	ciclomes	cicloperio	diasemespi	diasemomad	respfoto
BATL	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	160	sd
BBAG	sd	2	1	2	2	1	3	3	3	2	3	2	1	124	183	3
BCAT	3	2	2	1	2	3	1	1	2	2	1	2	1	126	sd	2
BCEN	2	3	2	1	2	4	1	2	2	1	2	2	2	121	170	2
BCIM	2	1	2	2	2	3	1	2	1	2	2	2	1	125	171	2
BCHA	sd	2	2	2	2	4	2	2	1	2	3	2	1	126	186	2
BDIL	3	3	3	1	2	2	3	1	1	2	3	2	2	123	180	2
BFOG	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	126	184	3
BGUA	1	1	3	1	2	3	3	1	2	2	2	3	3	82	133	3
BMAN	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	133	177	sd
BMAP	3	2	3	3	3	4	3	2	2	2	3	2	3	107	153	2
BNAM	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	125	172	2
BNDU	2	2	2	1	1	4	3	3	2	2	3	3	2	100	148	2
BNPU	1	2	1	2	2	3	3	2	2	1	3	2	1	124	171	2
BOMB	2	3	2	2	2	1	1	2	2	2	3	3	3	81	128	3
BPAL	4	2	2	3	2	4	3	2	1	1	3	3	1	105	149	3
BPAN	3	2	4	3	2	4	1	2	1	1	1	3	2	98	147	2
BPAS	3	2	1	2	2	2	1	2	1	2	1	2	3	117	163	2
BPAT	2	2	2	1	2	1	3	2	2	1	2	3	2	93	142	2
BPER	4	2	1	2	2	4	3	2	1	2	1	2	1	131	172	2
BPON	3	2	2	2	2	2	3	3	2	1	3	2	2	117	174	2
BPUC	2	1	2	1	3	1	3	2	1	1	3	2	1	126	172	2
BRDM	1	2	2	2	2	4	3	2	2	1	1	2	1	130	165	2
BVPU	2	2	2	2	2	4	4	3	2	2	1	2	1	130	175	3
BYAP	3	1	3	1	3	2	1	2	2	3	2	3	2	86	139	2
CCHI	4	3	2	2	2	4	2	3	1	1	3	2	3	93	135	sd
CMIL	3	1	2	2	3	2	3	2	2	3	1	3	1	87	129	2
COBA	1	2	1	2	3	4	1	2	2	3	1	2	1	118	164	sd
COCAL	1	2	2	2	3	1	2	2	1	3	1	2	1	139	184	sd
COLI	3	1	1	2	3	2	2	3	2	3	1	2	1	123	165	sd
COMN	3	2	2	2	3	4	3	3	2	2	2	2	1	120	164	3
CON	2	2	2	2	2	2	4	2	1	2	2	2	2	74	133	sd
CONA	3	2	1	2	3	2	2	3	2	1	2	2	1	133	175	3
CZI	2	3	2	2	2	4	4	2	1	1		2	2	99	138	sd
CHQ	3	2	sd	2	2	2	2	2	2	2		sd	sd	103	145	sd
DKBC	3	2	1	2	2	1	1	2	2	2		1	3	118	170	3
DKBQ	3	2	2	2	2	1	4	2	1	3		3	3	81	131	3
DKBT	3	2	2	3	2	1	1	2	1	1		3	3	87	140	3
DTI	3	2	2	2	3	2	2	4	2	1		2	3	71	122	3
GRAI	sd	2	2	2	2	1	3	2	2	1		3	1	70	120	sd
KLAT	sd	2	2	1	3	3	1	3	1	1		3	1	79	124	2
KLCAQ	sd	1	3	1	2	2	1	2	1	1		2	2	106	149	sd
KLCAR	sd	2	2	2	3	2	3	2	1	2		3	2	76	123	3
KLCOB	sd	2	2	2	3	2	1	2	2	1		3	2	81	128	sd
KLCRI	sd	2	2	2	3	1	3	2	2	1		2	2	105	151	sd
KLCHA	sd	2	2	2	2	2	3	4	2	1		3	2	74	122	sd
KLDOR	sd	2	3	2	3	1	1	3	2	1		3	2	81	126	sd
KLDR	sd	2	2	2	3	2	1	2	1	1		3	2	82	130	sd
KLFT	sd	2	2	1	3	2	3	2	2	1		3	1	75	122	3
KLGR	sd	2	3	2	3	3	3	3	1	1		3	1	78	124	sd
KLIM	sd	2	3	2	3	2	3	2	1	2		2	2	118	158	2
KLOR	sd	2	3	2	2	2	1	2	2	1		3	2	80	129	3
KLSAL	sd	2	1	1	3	1	1	2	2	1		2	2	103	150	sd
KLSEN	sd	2	3	3	2	3	1	3	2	1		2	2	114	156	2
KLTO	sd	1	2	1	3	2	3	2	2	1		3	2	75	122	3
LAB	sd	2	2	2	sd	sd	1	2	3	1		3	2	82	124	3
LNI	3	2	2	1	1	4	1	3	2	2		3	2	76	112	3
LPI	3	2	2	3	3	1	2	4	3	1		3	1	78	128	2
LRI	1	2	3	3	2	2	3	2	2	1		2	1	113	156	sd
MJI	3	2	2	1	2	4	3	2	2	2		3	2	78	110	3
NKC	3	1	2	2	2	3	1	2	1	1		3	2	77	119	3
NKCH	3	2	2	2	3	3	1	2	1	1		3	1	85	140	sd
NKI	3	3	2	2	3	3	1	2	1	1		3	2	77	125	3
NKL	3	1	2	2	2	3	3	1	1	1		3	1	95	139	sd
NKP70	3	2	2	3	1	4	3	2	1	1		3	3	70	105	3
NKTB2	4	1	2	3	2	3	3	4	1	1		3	3	72	117	3
OA	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd		1	3	134	166	sd
PGTO	2	2	2	sd	sd	sd	sd	3	3	1		3	2	102	138	3
PIDA	3	2	1	1	3	4	1	2	1	1		3	1	75	130	3
PIGU	2	3	2	2	1	1	2	3	3	1		2	1	94	132	sd
PIIP	1	3	1	2	1	2	1	3	3	1		3	1	75	112	3
PIIV	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd		2	3	sd	134	sd
PION	1	2	1	1	3	2	2	2	1	1		3	3	72	112	sd
PIOS	1	1	2	2	2	4	3	2	2	1		2	2	76	126	sd
PIPG	3	2	4	2	1	sd	4	2	1	1		2	1	115	163	3
PIPT	3	3	2	3	1	1	1	3	3	1		2	1	121	157	2
PIQN	sd	2	2	2	2	1	2	2	2	2		3	2	76	117	sd
PISP	3	2	2	3	1	1	2	1	1	1		2	1	113	149	2
PPA	sd	1	2	1	2	1	4	1	2	1		3	2	79	128	3
PPI	2	3	2	1	3	1	2	4	2	1		3	1	70	121	3
RTNI	sd	2	2	2	2	4	1	3	1	1		3	2	82	127	3
SAIR	3	2	3	2	1	2	4	1	1	3		3	2	78	117	3
SAUI	3	3	1	2	2	4	1	3	2	1		8	1	110	150	3
SGTE	3	sd		sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd		2	sd	101	147	sd
TACO	sd	3		1	2	2	3	4	2	1		2	2	140	180	2
TCAT	sd	2		1	2	2	3	3	2	2		3	2	108	147	2
TTRO	sd	2		2	3	4	2	3	1	1		3	3	90	125	3
TUCGR	2	2		2	3	2	2	2	1	1		2	1	93	145	3
VTI	3	2		2	3	1	2	4	2	1		2	3	75	127	3

	reqfrio	enfPrecond	enfPstrlif	enfErisiph	enfFus	enfUstila	enfSeptri	enfSepnod	enfTill	Schgram	Metodir	Sitave	Farabi	vueico	hel juv	hel adu	sequia	desgr	arreb
BATL	sd	sd	1	sd	sd	2	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2
BBAG	1	1	2	sd	1	2	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
BCAT	1	1	2	2	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BCEN	1	2	1	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BCIM	1	2	1	1	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	1	2	sd	sd	2	1
BCHA	2	2	2	sd	1	1	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BDIL	1	2	2	sd	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BFOG	2	2	1	2	1	1	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BGUA	1	2	2	2	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BMAN	sd	sd	2	sd	sd	2	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	sd
BMAP	2	2	1	1	sd	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	2	sd	sd	2	2
BNAM	1	2	2	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BNDU	2	1	2	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BNPU	1	2	2	sd	1	1	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BOMB	2	2	2	sd	sd	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	1	sd	sd	2	sd
BPAL	2	2	2	2	1	2	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BPAN	2	1	2	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BPAS	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BPAT	2	2	2	1	sd	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	1	sd	sd	2	2
BPER	2	2	2	sd	1	1	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	sd
BPON	2	1	1	1	1	2	1	1	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BPUC	1	1	2	1	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
BRDM	1	2	2	sd	sd	2	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
BVPU	2	2	1	1	1	2	1	sd	1	1	1	1	sd	1	2	1	2	1	2
BYAP	1	2	2	2	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
CCHI	sd	2	2	sd	sd	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
CMIL	2	2	2	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
COBA	sd	2	2	1	sd	1	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
COCAL	sd	1	1	sd	2	2	2	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
COLI	2	2	1	sd	sd	sd	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
COMN	1	2	2	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
CON	sd	2	1	sd	sd	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	2	2	sd
CONA	sd	2	2	sd	sd	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
CZI	sd	2	2	sd	2	sd	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	2	2	2
CHQ	sd	2	1	1	1	1	1	1	1	1	sd	sd	1	2	2	1	2	2	2
DKBC	1	1	2	1	2	sd	1	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	1	2	2	2
DKBQ	sd	2	2	sd	1	2	1	sd	sd	1	1	sd	sd	sd	2	1	2	2	2
DKBT	2	1	2	sd	2	sd	1	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	1	2	2	2
DTI	1	1	2	sd	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
GRAI	sd	1	2	sd	1	1	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	2	2
KLAT	1	1	2	1	2	1	1	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	sd	2	2	2
KLCAQ	1	2	2	sd	2	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	2	sd
KLCAR	2	2	2	1	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
KLCOB	2	2	2	sd	2	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
KLCRI	sd	2	2	sd	sd	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
KLCHA	2	1	2	1	1	2	1	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	sd	2	2	2
KLDOR	2	2	2	sd	2	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	sd
KLDR	2	2	2	sd	2	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	2	2	sd
KLFT	2	1	1	1	2	1	sd	sd	sd	1	1	1	sd	2	1	sd	2	2	2
KLGR	1	1	1	1	2	1	2	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	sd	2	2	2
KLIM	1	1	1	1	2	1	2	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	2	2	2	2
KLOR	2	2	2	sd	2	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
KLSAL	1	2	2	sd	sd	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
KLSEN	1	1	1	1	2	2	2	sd	sd	1	1	1	sd	2	2	sd	2	2	2
KLTO	2	1	2	1	2	1	1	sd	sd	1	1	1	sd	1	2	sd	2	2	2
LAB	1	2	2	1	1	1	1	sd	2	1	1	1	sd	2	2	1	sd	2	2
LNI	2	2	2	1	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
LPI	1	2	1	sd	1	2	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
LRI	sd	2	2	sd	2	1	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
MJI	1	2	2	sd	sd	sd	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	2
NKC	2	sd	sd	2	1	1	1	sd	sd	1	sd	sd	sd	2	1	1	sd	2	sd
NKCH	2	1	2	2	sd	2	sd	sd	sd	1	sd	sd	sd	2	1	1	sd	2	2
NKI	2	1	2	2	1	2	1	sd	sd	1	sd	sd	sd	2	1	1	sd	2	2
NKL	2	2	2	sd	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	1	sd	2	2
NKP70	2	2	2	1	1	1	1	sd	sd	1	1	sd	sd	2	1	1	sd	1	sd
NKTB2	2	1	1	1	1	1	1	sd	sd	1	sd	sd	sd	2	1	1	sd	2	2
OA	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	sd
PGTO	1	2	1	1	1	2	1	1	sd	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2
PIDA	1	2	2	sd	2	2	1	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
PIGU	sd	2	2	sd	1	sd	sd	sd	1	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	2	2	2
PIIP	2	2	2	sd	1	2	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
PIIV	sd	2	2	sd	sd	2	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd
PION	sd	2	2	sd	2	2	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	2	sd
PIOS	sd	2	2	sd	1	1	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	sd
PIPG	sd	2	2	sd	1	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
PIPT	1	2	2	sd	1	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
PION	sd	1	2	sd	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	1	sd	2	2
PISP	1	2	2	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	2	2	2
PPA	1	1	2	sd	1	2	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	2	2
PPI	1	2	1	sd	1	2	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	1	2	1	2	2	2
RTNI	1	1	2	sd	1	1	1	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	2	2
SAIR	2	2	2	1	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	2	2
SAUI	2	2	2	2	1	1	1	sd	1	sd	1	sd	sd	2	2	1	sd	2	sd
SGTE	sd	2	sd	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	sd	sd	2	sd
TACO	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
TCAT	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
TTRO	1	2	2	sd	2	2	2	2	2	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2
TUCGR	2	2	2	2	sd	2	sd	sd	2	sd	sd	sd	sd	2	2	1	2	2	sd
VTI	1	1	2	sd	1	1	1	sd	sd	sd	sd	sd	sd	2	2	2	2	2	2

1.3.b. Color en espigazón

Código: COLOESP

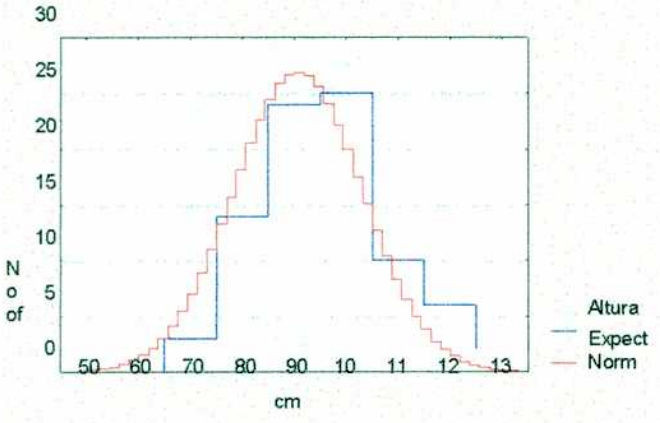
Esta característica presenta cuatro variantes:

1 Verde claro
2 Verde gris
3 Verde amarillo
4.Verde oscuro

1.3.c Altura a la madurez

La altura de la planta de trigo medida desde el suelo hasta la punta de la espiga en la madurez, medida en centímetros (sin incluir las aristas) presenta el siguiente rango en las variedades estudiadas:

altura		Rango en cm	código
promedio	desvest	65 - 89,5	Alt1
89,75	12,42	89,6 114,1	Alt2
		114,1 120	Alt3



1.3.d Macollaje

Código: MACOLLA

Las variantes que presenta esta característica son:
1. Escaso (entre 1 y 3).
2. Regular (entre 4 y 6).
3. Abundante (entre 7 y 10)

1.4.a. Color del tallo a la madurez

Código: TALLOCO
Esta característica presenta cuatro variantes y se evalúa en plantas sanas a la madurez:

1. Blanco
2. Blancoamarillento
3. Amarillo
4. Rojo

1.4.b. Pubescencia de nudo superior

Código: PUBNUDSP

Esta característica es evaluada al comienzo de la espigazón. Las alternativas a esta características son presencia o ausencia.

1. Presencia
2. Ausencia

1.4.c Forma del nudo

Código: NUDFORM

Esta característica presenta tres variantes de acuerdo a la proporción que guarde su eje transversal respecto al longitudinal:

1. Ancho mayor, altura menor
2. Ancho igual que altura
3. Ancho menor, altura mayor

1.4.d Número de nudos

Código: NUDONUM

Se presentan variedades con: 3, 4 o 5 nudos

1.4. e., 1.5.h., 1.6. h. Cerosidad

El carácter de cerosidad se evalúa como presencia o ausencia en distintas partes de la planta:

a.Cerosidad en el tallo: tallocera
b.Cerosidad en la hoja bandera: hbandcera
c.Cerosidad de la espiga: espicera

1. Presencia
2. Ausencia

1.4.f. Pigmentación en el tallo

Código: TALLOANTO

Las variantes que se presentan son:

1. Presencia
2. Ausencia

1.4.g Entrenudos

Para este descriptor sólo se presentó la característica de entrenudos huecos.
Código: 1= HUECOS

1.5.b. Pubescencia en la primera hoja

Código: PUB1HOJ

Se presentan dos variantes:
1. Presencia.
2. Ausencia.

1.5.a Color de vaina basal de la primera hoja en macollaje

Código: COLOR1HOJA.

Esta característica presenta dos variantes:

1. Verde Claro
2. Verde Oscuro

1.5.b Pigmentación antociánica de las aurículas

Código: ANTIAURI

Las variantes son:
1. Ausencia
2. Presencia

1.5.c. Pubescencia en las aurículas

Código: PUBAURICUL

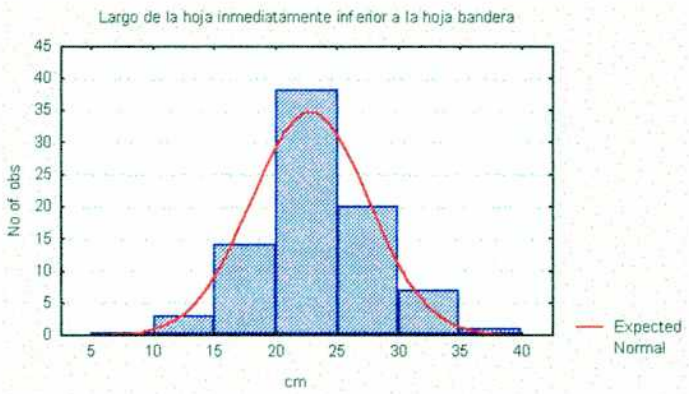
Las variantes observadas son presencia o ausencia de pubescencia en las aurículas.

1. Presencia
2. Ausencia

1.5.e Lámina de la hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera- Largo

Código: LARGOHOJ

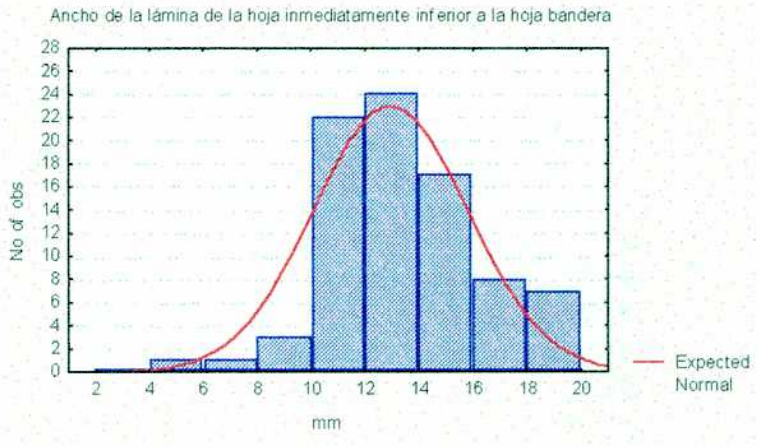
largohoja		Rango en cm		código
promedio	desvest	11,0	16	1
22,78	4,75	16,1	21	2
		21,1	26	3
		26,1	31	4
		31,1	35	5



1.5.e Lámina de la hoja inmediatamente inferior a la hoja bandera- Ancho

Código: ANCHOHOJ

Ancho de la hoja		Rango en mm		código
promedio	desvest	5	10	1
12,93373	2.879460	10.1	15	2
		15,1	20	3



1.5.f. Color de la hoja en espigazón

Código: CESPIG

Esta característica presenta cuatro variantes:
1.Verde Claro
2.Verde Amarillo
3.Verde Gris
4.Verde Oscuro

1.5.g Posición de la hoja bandera

Código: HBANPOS

Esta característica presenta dos alternativas
1 Erecta
2 Curvada

1.6.e Número de artejos por raquis

Código: ARTJNUM.

Rango: puede variar entre 12 a 26 artejos

1.6.g Número de granos promedio de 100 ep

Código: NUMGRA

Puede variar entre 21 a 82 artejos

1.6.a Posición de la espiga

Código: POSESP.

Esta característica presenta tres alternativas
1. Erguida
2. Inclinada
3. Muy inclinada

1.6.b. Color de la espiga a la madurez

Código: COLESP.

Esta característica presenta cuatro variantes:

1.Blanca
2 Amarilla
4.Roja
5.Castaña

1.6.c Longitud de la espiga a la madurez

Código: ESPLONG

Se presentan cuatro tipos de espiga según su longitud
1. Corta (74 mm)
2. Semicorta (75-84 mm)
3. Semilarga (85-94 mm)
4. Larga (más 95 mm)

1.6.d Forma de la espiga a la madurez

Código: ESPFORM

La espiga puede presentar dos formas:
1. Fusiforme
2. Oblonga

1.6.f Densidad de la espiga a la madurez

Código: DENESPS.

Se presentaron tres tipos de espiga con respecto a su densidad en estadios de madurez:

1. Laxa (artejos mayores de 3,2 mm)
2. Densa (artejos entre 2,5 y 3,2 mm)
3. Compacta (artejos menores de 2,5 mm)

1.7.a. Color de la espiguilla

Código: COLESP.

Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Blanca
2. Coloreada

La evaluación se realiza a la madurez en la 7ª espiguilla fértil partiendo de la base de la espiga).

1.7.a. Color de aristas

Código: COLARIS.

Las variantes que presentan para las variedades estudiadas son:

1. Blanca
2. Amarilla
3. Castaña

1.7.b Largo de la espiguilla

Código: ESPLONG.

Las espiguillas pueden ser de acuerdo a su longitud:

1. Cortas (7mm)
2. Medias (8 mm)
3. Largas (9 mm)

1.7.c Ancho de la espiguilla

Código: ANCHELL.

Las espiguillas pueden ser de acuerdo a su ancho:

1. Angostas (3 mm)
2. Medianas (3,5 mm)
3. Anchas (4 mm)

1.7.i Color de las anteras

Código: COLORANTER.

El carácter puede tener dos variantes

Las variedades analizadas en este trabajo presentaron anteras amarillas, por lo cual este carácter no fue utilizado en los análisis.

1.7.e Hombro

Código: HOMBRO.

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Faltante
2. Inclinado
3. Redondeado
4. Recto
5. Elevado
6. Escalonado

1.7.f Diente

Código: DIENTE.

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Corto
2. Semi-corto
3. Semi-largo
4. Largo

1.7.g Quilla

Código: QUILLA.

Las variantes que presenta esta característica son:

Recta
Curvada
Inflexiona
Serrada

Sólo se presentan las tres primeras

1.7.h Lemma (Glumela inferior)

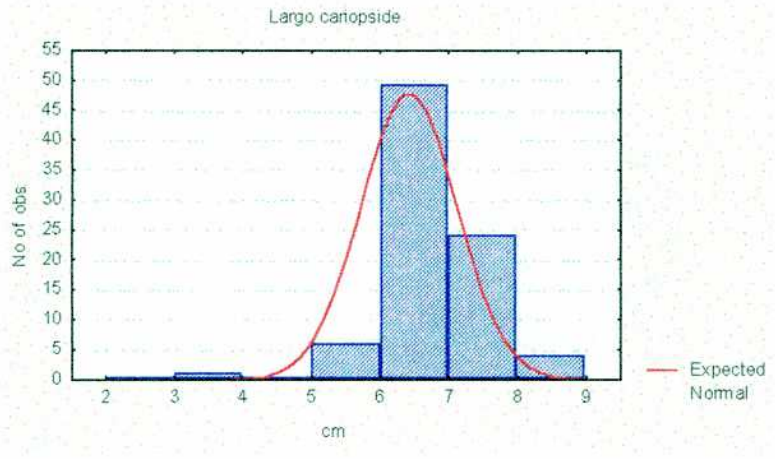
Código: LEMMA.

Solo se presenta la variante aristada para las variedades de este trabajo, por lo cual este carácter no fue considerado en el análisis de los datos.

1.8.a Largo del cariopse

Código: CARIOLARG.
Rango en cm: 3,3 hasta 8

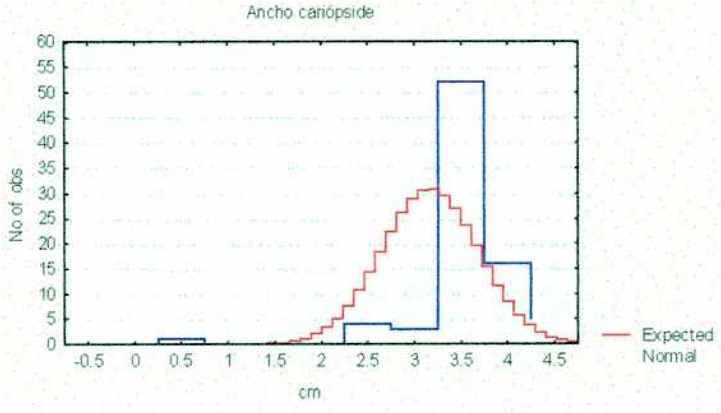
altura		Rango en cm	código
promedio	desvest	3-5	1
6,41	0,69	5,1-7,1	2
Máx.	8	7,1-9,1	3
Mín.	3,.3		



1.8 a Ancho del cariopse

Código: ANCHOCARIO
Rango en mm: 2 hasta 4

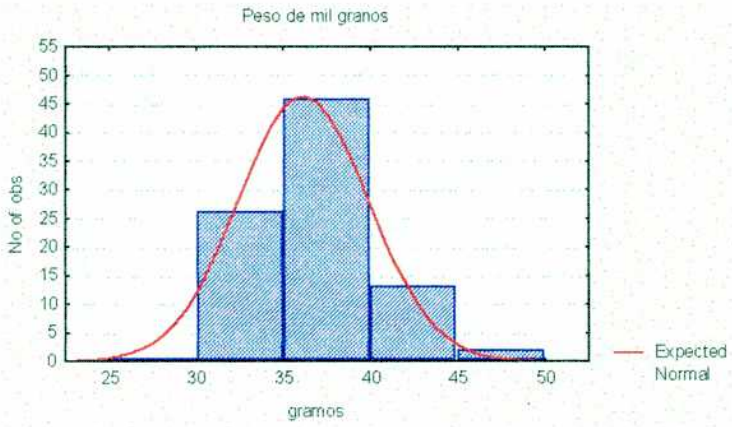
ancho cariopside		Rango en mm	código
promedio	3,10	2-3	1
desvest	0,52	3,1-4,1	2
max	5	4,1-5,1	3
min	2		



1.8 b Peso de 1000 granos

Código: P1000.
Rango en gramos: variaron entre 36 y 47.

peso de mil				Rango en cm	código
min	30	promedio	desvest	30 - 33	1
max	47	36,14	3,7	33,1 -35	2
				35,1- 38	3
				38,1- 41	4
				41,1 - 43	5
				43,1 - 47	



1.8.c Forma del cariopse

Código: FORMCARIO.

Las variantes que presenta esta característica son:

1. Ovalado
2. Ovoide
3. Elíptico

1.8.d Textura del cariopse

Código: TEXTCARIO.

El cariopse puede tener característica de vitreo o no vitreo.

1. Vítreo
2. No Vítreo

1.8.e Color del cariopse

Código: COLORCARIO.
Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Ámbar
2. Rojo

1.8.f Reacción fenol (Método Repnikov)

Código: R!fenol
Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Pardo claro
2. Pardo Claro
3. Pardo Oscuro
4. No colorea

1.8.g Dimensión escudete

Código: dimesc
Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Chico
2. Mediano
3. Grande

1.8.h Forma escudete

Código: formaesc
Las variantes que se presentan para esta característica son

1. Elíptico
2. Oval
3. Redondo
4. Cuadrangular

1.8.i Bordes escudete

Código: bordeesc
Las variantes que se presentan para esta característica son

1. <Pronunciado
2. Medio Pronunciado
3. >Pronunciado

1.8.j Posición escudete

Código: posesc

Las variantes que se presentan para esta característica son

1. < Agudo
2. Agudo
3. >Agudo

1.8.k Relieve dorsal escudete

Código: reldoresc

Las variantes que se presentan para esta característica son:

1. Punta lanza
2. Estrangulado
3. Escalonado
4. Oval-Ellíptico

1.8.l Vista lateral escudete

Código: vlatesc

Las variantes que se presentan para esta característica son

1. Recta
2. Quebrada
3. Cóncava
4. Convexa

1.8.m Tamaño cepillo

Código: tamcepillo

Las variantes que se presentan para esta característica son

1:Pequeño
2:Mediano
3:Grande
4:Collar

1.8.n **Largo pelos**

Código: peloslargo

Las variantes que se presentan para esta característica son

1. Cortos
2. Medianos
3. Largos

1.8.f Surco ancho

Código: SURCOANCHO.

1. Angosto (2/3 del ancho del cariopside)
2. Mediano (4/5 del ancho del cariopside)
3. Ancho (coincide con el ancho del cariopside)

1.8.g Surco profundidad

Código: SURCOPROF.

Puede presentar tres variantes:

1. Playo (menos del 20% del espesor del cariopside)
2. Medianamente profundo (del 20 al 35%)
4. Profundo (más del 35%)

2.1.a Época de siembra

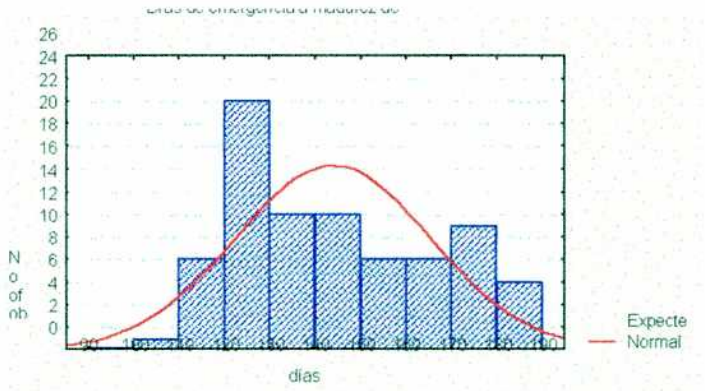
Código: CICLOMES.

1. Mayo
2. Junio
3. Julio
4. Agosto

2.1.b Ciclo período

Código: CICLOPERIO.

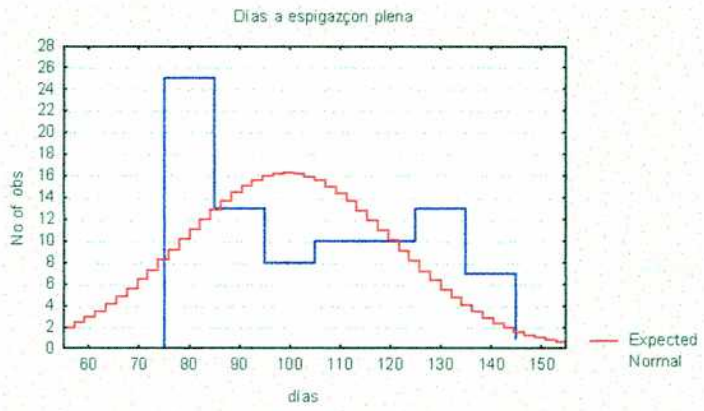
1. Principios (del 1 al 10)
2. Mediados (del 11 al 20)
3. Final (del 21 en adelante)



2.2 Días de emergencia a espigazón plena

Código: DIASEMESP.

altura		Rango en dias	código
promedio	desvest	70 - 91	1
98,63218	21,32479	92 - 111	2
		112 - 140	3



2.3 Días de emergencia a madurez de cosecha

Código: DIASEMEMAD

Rango en días

altura		Rango en dias	código
promedio	desvest	105 - 126	1
143,9545	21,50109	127 - 148	2
		149 - 170	3
		171 - 186	4

2.4 Respuesta al fotoperíodo

Código: RESPFOTO.

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad al fotoperíodo
2. Insensibilidad

2.5 Requerimiento de frío

Código: REQFRIO.

Entre las variedades analizadas algunas presentan requerimiento de mientras que otros no lo presentan.

3.1.a Resistencia a *Puccinia recondita*

Código: PRECOND

Dos tipos de comportamiento:
1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.b Resistencia a *Puccinia graminis*

Código: PGRAMIS

Dos tipos de comportamiento:
1. Susceptibilidad a la enfermedad
3. Resistencia

3.1.c Resistencia a *Puccinia striiformis*

Código: PSTRIIF

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.d Resistencia a *Erisiphe graminis*

Código: ERISIPH

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.e Resistencia a *Fusarium spp*

Código: FUSARIUM

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.f Resistencia a *Ustilago tritici*

Código: USTILA

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.g Resistencia a *Septoria tritici*

Código: SEPTORT

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.h Resistencia a *Septoria nodorum*

Código: SEPTNOD

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.i Resistencia a *Tilletia spp*

Código: TILLETIA

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.1.j Resistencia a *Schizaphis graminum* (*Toxoptera graminum)*

Código: PLASCHIZ

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.2.a Resistencia a *Metopolophium dirhodum*

Código: PLAMETOL

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.2.b Resistencia a *Sitobium avenae*

Código: SITAVE

Dos tipos de comportamiento:
1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.2.c Resistencia a *Pseudoaletia adultera*

Código: PATELIA

Dos tipos de comportamiento:

1. Susceptibilidad a la enfermedad
2. Resistencia

3.2.d Resistencia a *Faronta albilinea*

Código: FARABI

Dos tipos de comportamiento:
1.Susceptibilidad a la enfermedad
2.Resistencia

4.1 Vuelco

Código: VUELCO.

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia.

4.2 Resistencia a heladas

Código: HELJUV y HELADU.

Heladas en estado juvenil y Heladas adulto
Ambos estados presentan dos alternativas: Susceptibilidad y resistencia.

4.3 Sequía

Código: SEQUÍA.

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

4.4 Desgrane

Código: DESGR.

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

4.5 Arrebatamiento

Código: ARREB.

El carácter presenta dos alternativas

1. Susceptibilidad
2. Resistencia

La Tabla Nº6 muestra la Matriz de similitud construida a partir de los descriptores morfológicos correspondientes a las variedades de *T.aestivum* analizadas en el presente trabajo.

El promedio de similitud basado en descriptores morfológicos presenta un amplio rango, variando desde 0,323 para los pares de cultivares Olaeta Artillero / Buck Ñandú y Olaeta Artillero / Norkinpan70, hasta 0.889 para los pares de cultivares Buck Atlántico y Cooperación Maipún. El promedio es de 0,669 ± 0,063.

La figura Nº 8 muestra el dendrograma de los cultivares de *T.aestivum* utilizando los descriptores morfológicos.

La correlación entre variables morfológicas fue analizada resultando un valor promedio de 0.001 ± 0.136. Presenta valor máximo 1 para los caracteres morfológicos: color castaño de aristas y color rojo de tallo. El valor mínimo observado es de –1. La figura Nº9 muestra el dendrograma de las variables morfológicas.

2. CARACTERIZACION DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO MEDIANTE MICROSATÉLITES

Se realizó una evaluación preliminar de iniciadores ("primers") de microsatélites a fin de seleccionar aquellos de alto contenido polimórfico y/o claridad en el patrón de sus bandas. Los índices de polimorfismo obtenidos para los microsatélites evaluados figuran en la tabla Nº7.

Tabla N° 6 Matriz de similitud basada en descriptores fenotípicos construida utilizando el coeficiente de Dice, mediante el programa NTSyS v2.0 pc.

	BATL	BBAG	BCAT	BCEN	BCIM	BCHA	BDIL	BFOO	BGUA	BMAN	BMAP	BNAM	BNDU	BNPU	BOMB	BPAL	BPAN	BPAS	BPAT	BPER	BPON	BPUC	BRDM	BVPU	BYAP	CCHI	CMIL	COBA	COCAL	COLI	COMN	CON	CONA	CZI	CHQ	DKBC	DKBQ	DKBT	DTI	GRAI	KLAT	KLCAQ	KLCAR	KLCOB
BATL	1.000																																											
BBAG	0.694	1.000																																										
BCAT	0.788	0.658	1.000																																									
BCEN	0.846	0.628	0.725	1.000																																								
BCIM	0.545	0.680	0.676	0.740	1.000																																							
BCHA	0.740	0.718	0.724	0.875	0.703	1.000																																						
BDIL	0.667	0.761	0.719	0.750	0.704	0.745	1.000																																					
BFOO	0.629	0.779	0.703	0.700	0.698	0.789	0.708	1.000																																				
BGUA	0.757	0.697	0.654	0.816	0.614	0.814	0.687	0.642	1.000																																			
BMAN	0.867	0.750	0.743	0.806	0.765	0.684	0.718	0.722	0.611	1.000																																		
BMAP	0.766	0.675	0.630	0.704	0.629	0.684	0.706	0.679	0.669	0.671	1.000																																	
BNAM	0.867	0.724	0.766	0.879	0.693	0.780	0.671	0.769	0.594	0.722	0.608	1.000																																
BNDU	0.706	0.667	0.641	0.879	0.600	0.707	0.666	0.718	0.723	0.686	0.709	0.711	1.000																															
BNPU	0.778	0.707	0.679	0.650	0.671	0.621	0.738	0.763	0.666	0.718	0.681	0.718	0.641	1.000																														
BOMB	0.552	0.671	0.658	0.698	0.640	0.694	0.634	0.697	0.702	0.483	0.679	0.698	0.726	0.667	1.000																													
BPAL	0.703	0.719	0.650	0.675	0.636	0.795	0.720	0.739	0.667	0.664	0.717	0.654	0.719	0.762	0.668	1.000																												
BPAN	0.686	0.656	0.663	0.725	0.649	0.667	0.738	0.675	0.591	0.632	0.704	0.654	0.718	0.639	0.641	0.726	1.000																											
BPAS	0.789	0.712	0.766	0.708	0.695	0.722	0.759	0.728	0.635	0.652	0.706	0.629	0.698	0.680	0.658	0.695	0.724	1.000																										
BPAT	0.706	0.662	0.671	0.671	0.658	0.671	0.711	0.684	0.764	0.647	0.650	0.662	0.766	0.671	0.755	0.667	0.671	0.689	1.000																									
BPER	0.727	0.710	0.676	0.596	0.601	0.771	0.699	0.676	0.615	0.722	0.639	0.594	0.594	0.717	0.671	0.727	0.633	0.773	0.654	1.000																								
BPON	0.647	0.727	0.730	0.730	0.641	0.789	0.766	0.780	0.668	0.687	0.768	0.671	0.723	0.713	0.697	0.756	0.692	0.763	0.713	0.704	1.000																							
BPUC	0.629	0.758	0.713	0.699	0.755	0.729	0.752	0.764	0.641	0.767	0.616	0.745	0.667	0.704	0.653	0.714	0.660	0.671	0.697	0.619	0.679	1.000																						
BRDM	0.769	0.717	0.760	0.708	0.679	0.738	0.722	0.745	0.667	0.719	0.626	0.698	0.624	0.724	0.610	0.709	0.646	0.756	0.742	0.775	0.720	0.722	1.000																					
BVPU	0.649	0.711	0.740	0.675	0.716	0.784	0.679	0.766	0.614	0.611	0.616	0.733	0.627	0.710	0.649	0.675	0.671	0.726	0.671	0.697	0.710	0.716	0.744	1.000																				
BYAP	0.686	0.636	0.663	0.625	0.697	0.618	0.671	0.638	0.730	0.657	0.590	0.615	0.641	0.618	0.645	0.573	0.600	0.604	0.671	0.591	0.642	0.637	0.638	0.623	1.000																			
CCHI	0.757	0.697	0.618	0.658	0.595	0.720	0.638	0.662	0.607	0.703	0.722	0.627	0.728	0.586	0.752	0.729	0.646	0.639	0.745	0.689	0.735	0.638	0.654	0.658	0.610	1.000																		
CMIL	0.824	0.704	0.709	0.622	0.660	0.705	0.718	0.765	0.639	0.611	0.667	0.684	0.692	0.691	0.656	0.671	0.691	0.607	0.688	0.697	0.667	0.675	0.697	0.679	0.658	0.596	1.000																	
COBA	0.769	0.731	0.742	0.726	0.618	0.688	0.675	0.717	0.629	0.700	0.613	0.745	0.635	0.730	0.627	0.692	0.671	0.739	0.654	0.701	0.633	0.675	0.733	0.684	0.608	0.824	0.704	1.000																
COCAL	0.629	0.730	0.679	0.642	0.641	0.723	0.707	0.759	0.551	0.684	0.696	0.723	0.615	0.700	0.592	0.671	0.638	0.675	0.624	0.671	0.654	0.744	0.713	0.723	0.657	0.611	0.773	0.798	1.000															
COLI	0.722	0.662	0.620	0.600	0.601	0.711	0.671	0.694	0.561	0.632	0.646	0.697	0.542	0.725	0.601	0.623	0.591	0.663	0.615	0.645	0.646	0.679	0.646	0.694	0.608	0.553	0.752	0.704	0.760	1.000														
COMN	0.689	0.712	0.727	0.695	0.693	0.725	0.701	0.783	0.634	0.767	0.655	0.704	0.675	0.699	0.650	0.679	0.638	0.701	0.671	0.695	0.691	0.695	0.771	0.763	0.651	0.621	0.802	0.744	0.746	0.736	1.000													
CON	0.688	0.627	0.693	0.680	0.636	0.703	0.666	0.724	0.680	0.629	0.641	0.644	0.640	0.654	0.671	0.686	0.636	0.703	0.660	0.649	0.768	0.640	0.714	0.671	0.658	0.662	0.650	0.636	0.646	0.636	0.667	1.000												
CONA	0.821	0.725	0.646	0.650	0.611	0.675	0.709	0.671	0.630	0.800	0.676	0.692	0.613	0.738	0.611	0.621	0.610	0.660	0.716	0.679	0.712	0.625	0.703	0.671	0.650	0.654	0.695	0.703	0.671	0.812	0.718	0.654	1.000											
CZI	0.727	0.680	0.654	0.659	0.649	0.711	0.663	0.744	0.654	0.760	0.616	0.693	0.701	0.722	0.760	0.694	0.668	0.000	0.761	0.637	0.662	0.675	0.686	0.719	0.671	0.761	0.667	0.656	0.663	0.663	0.749	0.701	0.658	1.000										
CHQ	0.686	0.685	0.714	0.667	0.626	0.749	0.733	0.768	0.675	0.613	0.705	0.658	0.660	0.675	0.667	0.707	0.746	0.769	0.724	0.776	0.784	0.627	0.735	0.725	0.660	0.667	0.763	0.670	0.679	0.730	0.800	0.720	0.698	0.735	1.000									
DKBC	0.662	0.687	0.649	0.595	0.634	0.663	0.621	0.623	0.630	0.667	0.631	0.601	0.663	0.658	0.652	0.675	0.700	0.626	0.675	0.651	0.695	0.651	0.613	0.627	0.638	0.601	0.606	0.651	0.661	0.697	0.664	0.660	0.699	0.691	1.000									
DKBQ	0.757	0.664	0.642	0.663	0.698	0.667	0.635	0.667	0.689	0.671	0.598	0.632	0.615	0.667	0.735	0.667	0.613	0.579	0.666	0.694	0.613	0.603	0.625	0.630	0.671	0.639	0.691	0.600	0.635	0.642	0.675	0.710	0.699	0.775	0.705	0.748	1.000							
DKBT	0.600	0.594	0.676	0.613	0.575	0.618	0.590	0.595	0.641	0.656	0.553	0.569	0.598	0.604	0.660	0.636	0.654	0.694	0.671	0.620	0.633	0.615	0.659	0.619	0.668	0.603	0.671	0.608	0.588	0.571	0.647	0.694	0.634	0.663	0.671	0.765	0.790	1.000						
DTI	0.667	0.675	0.700	0.663	0.640	0.693	0.666	0.688	0.629	0.695	0.630	0.679	0.641	0.650	0.701	0.637	0.638	0.756	0.694	0.620	0.704	0.698	0.667	0.713	0.650	0.648	0.715	0.638	0.700	0.699	0.738	0.675	0.707	0.679	0.723	0.655	0.683	0.675	1.000					
GRAI	0.740	0.718	0.638	0.619	0.631	0.692	0.654	0.687	0.719	0.649	0.637	0.702	0.684	0.739	0.725	0.724	0.710	0.628	0.800	0.671	0.698	0.737	0.698	0.617	0.667	0.697	0.701	0.641	0.650	0.649	0.704	0.694	0.722	0.705	0.671	0.863	0.753	0.732	0.719	1.000					
KLAT	0.698	0.605	0.735	0.689	0.608	0.689	0.645	0.653	0.609	0.694	0.591	0.708	0.681	0.685	0.643	0.699	0.680	0.623	0.621	0.695	0.644	0.676	0.658	0.681	0.611	0.636	0.653	0.653	0.595	0.671	0.592	0.609	0.639	0.648	0.677	0.608	0.649	0.689	0.671	1.000				
KLCAQ	0.759	0.656	0.629	0.712	0.638	0.662	0.745	0.657	0.657	0.571	0.707	0.638	0.586	0.721	0.634	0.704	0.660	0.667	0.671	0.695	0.648	0.690	0.667	0.643	0.699	0.662	0.639	0.652	0.644	0.657	0.626	0.638	0.703	0.658	0.698	0.693	0.607	0.601	0.621	0.662	0.700	1.000		
KLCAR	0.642	0.601	0.671	0.629	0.614	0.662	0.699	0.684	0.679	0.767	0.613	0.658	0.684	0.688	0.658	0.650	0.633	0.649	0.739	0.658	0.662	0.641	0.720	0.697	0.722	0.654	0.733	0.642	0.671	0.688	0.776	0.740	0.720	0.739	0.706	0.651	0.738	0.709	0.760	0.776	0.735	0.640	1.000	
KLCOB	0.722	0.632	0.671	0.715	0.607	0.638	0.658	0.730	0.631	0.722	0.649	0.694	0.707	0.658	0.704	0.707	0.720	0.647	0.730	0.687	0.658	0.676	0.658	0.667	0.711	0.699	0.702	0.686	0.689	0.626	0.662	0.663	0.697	0.703	0.694	0.681	0.671	0.653	0.695	0.693	0.814	0.765	0.735	1.000
KLCRI	0.833	0.654	0.688	0.697	0.617	0.756	0.667	0.732	0.641	0.703	0.726	0.702	0.711	0.731	0.649	0.763	0.602	0.687	0.727	0.671	0.727	0.711	0.752	0.752	0.654	0.697	0.660	0.658	0.667	0.693	0.730	0.690	0.747	0.671	0.711	0.671	0.636	0.662	0.693	0.709	0.743	0.769	0.776	0.776
KLCHA	0.769	0.679	0.684	0.654	0.673	0.667	0.676	0.727	0.697	0.667	0.637	0.750	0.750	0.728	0.730	0.699	0.684	0.616	0.708	0.606	0.714	0.667	0.684	0.675	0.671	0.701	0.759	0.662	0.679	0.684	0.746	0.684	0.760	0.735	0.702	0.642	0.731	0.688	0.731	0.823	0.724	0.689	0.684	0.771
KLDOR	0.727	0.662	0.676	0.699	0.662	0.627	0.676	0.667	0.649	0.767	0.653	0.644	0.630	0.662	0.699	0.660	0.668	0.623	0.721	0.693	0.635	0.612	0.636	0.629	0.703	0.621	0.667	0.676	0.609	0.616	0.627	0.634	0.680	0.694	0.657	0.623	0.676	0.671	0.662	0.667	0.722	0.730	0.688	0.693
KLDR	0.759	0.695	0.615	0.612	0.677	0.658	0.614	0.661	0.685	0.625	0.628	0.648	0.646	0.730	0.699	0.646	0.630	0.628	0.741	0.617	0.621	0.615	0.660	0.620	0.695	0.662	0.733	0.648	0.685	0.680	0.702	0.722	0.730	0.756	0.718	0.645	0.767	0.735	0.676	0.747	0.699	0.699	0.642	0.769
KLFT	0.647	0.601	0.699	0.699	0.545	0.658	0.641	0.662	0.617	0.620	0.635	0.660	0.652	0.653	0.691	0.660	0.635	0.657	0.665	0.695	0.694	0.658	0.667	0.703	0.622	0.621	0.676	0.699	0.667	0.612	0.671	0.663	0.649	0.691	0.657	0.561	0.573	0.658	0.720	0.702	0.666	0.685	0.760	0.788
KLOR	0.706	0.645	0.702	0.632	0.575	0.632	0.657	0.627	0.649	0.686	0.594	0.635	0.622	0.708	0.611	0.604	0.662	0.657	0.617	0.636	0.653	0.617	0.667	0.639	0.623	0.617	0.658	0.636	0.649	0.606	0.662	0.686	0.662	0.645	0.658	0.650	0.605	0.645	0.659	0.667	0.611	0.662	0.769	0.695
KLUM	0.811	0.663	0.705	0.641	0.613	0.679	0.732	0.705	0.599	0.718	0.679	0.711	0.645	0.728	0.668	0.632	0.645	0.699	0.664	0.645	0.662	0.667	0.671	0.693	0.603	0.623	0.696	0.728	0.722	0.713	0.746	0.646	0.708	0.671	0.728	0.630	0.688	0.686	0.667	0.637	0.724	0.735	0.738	0.708
KLOR	0.722	0.694	0.689	0.653	0.698	0.667	0.698	0.711	0.649	0.679	0.662	0.685	0.671	0.724	0.699	0.662	0.720	0.682	0.680	0.573	0.666	0.639	0.632	0.676	0.716	0.676	0.733	0.644	0.653	0.607	0.636	0.676	0.646	0.663	0.660	0.606	0.640	0.626	0.667	0.675	0.703	0.764	0.705	0.616
KLSAL	0.722	0.734	0.671	0.701	0.662	0.662	0.744	0.662	0.694	0.611	0.734	0.654	0.667	0.785	0.662	0.719	0.731	0.745	0.748	0.654	0.645	0.740	0.692	0.667	0.671	0.697	0.675	0.723	0.679	0.701	0.675	0.653	0.734	0.711	0.725	0.675	0.662	0.645	0.710	0.709	0.667	0.624	0.709	0.771
KLSEN	0.811	0.654	0.714	0.710	0.617	0.697	0.704	0.675	0.619	0.737	0.697	0.689	0.649	0.708	0.612	0.654	0.675	0.684	0.632	0.626	0.705	0.632	0.731	0.715	0.662	0.636	0.599	0.675	0.662	0.664	0.689	0.631	0.709	0.614	0.665	0.664	0.581	0.623	0.641	0.654	0.781	0.716	0.724
KLTO	0.757	0.633	0.680	0.638	0.595	0.675	0.671	0.690	0.610	0.664	0.638	0.663	0.660	0.659	0.630	0.671	0.719	0.667	0.649	0.689	0.697	0.689	0.658	0.680	0.641	0.627	0.739	0.601	0.667	0.668	0.671	0.635	0.620	0.614	0.662	0.606	0.677	0.649	0.735	0.710	0.800	0.690	0.770	0.760
LAB	0.611	0.653	0.671	0.752	0.591	0.685	0.662	0.661	0.661	0.684	0.606	0.606	0.710	0.684	0.745	0.671	0.700	0.667	0.703	0.698	0.643	0.652	0.662	0.706	0.700	0.676	0.732	0.657	0.652	0.614	0.728	0.632	0.686	0.710	0.677	0.667	0.662	0.705	0.809	0.732	0.728	0.672	0.767	0.769
LIN	0.705	0.641	0.671	0.629	0.618	0.638	0.663	0.659	0.650	0.606	0.621	0.648	0.714	0.620	0.693	0.643	0.671	0.693	0.718	0.624	0.695	0.619	0.654	0.693	0.684	0.610	0.720	0.619	0.646	0.637	0.699	0.649	0.654	0.705	0.671	0.661	0.738	0.709	0.755	0.711	0.634	0.611	0.769	0.707
LPI	0.694	0.671	0.637	0.650	0.606	0.649	0.651	0.658	0.603	0.663	0.616	0.663	0.614	0.667	0.699	0.671	0.637	0.617	0.684	0.651	0.624	0.698	0.658	0.645	0.668	0.600	0.720	0.675	0.730	0.708	0.671	0.658	0.707	0.688	0.676	0.611	0.725	0.662	0.607	0.737	0.671	0.615	0.701	0.707
LRI	0.688	0.671	0.666	0.602	0.629	0.648	0.659	0.669	0.642	0.688	0.667	0.634	0.617	0.666	0.591	0.621	0.639	0.701	0.663	0.715	0.651	0.617	0.778	0.613	0.610	0.617	0.639	0.650	0.611	0.627	0.714	0.642	0.679	0.675	0.671	0.751	0.647	0.699	0.618	0.675	0.659	0.614	0.687	0.670
MJI	0.667	0.662	0.648	0.636	0.589	0.667	0.708	0.661	0.663	0.614	0.622	0.642	0.742	0.663	0.667	0.659	0.668	0.649	0.668	0.621	0.621	0.650	0.650	0.629	0.634	0.664	0.752	0.629	0.642	0.621	0.734	0.649	0.642	0.671	0.658	0.663	0.708	0.671	0.667	0.731	0.631	0.611	0.738	0.667
NKC	0.678	0.618	0.651	0.662	0.603	0.622	0.631	0.657	0.629	0.482	0.679	0.643	0.609	0.648	0.754	0.619	0.657	0.642	0.667	0.667	0.639	0.600	0.620	0.619	0.671	0.664	0.703	0.668	0.601	0.639	0.639	0.576	0.653	0.695	0.632	0.658	0.704	0.709	0.687	0.721	0.667	0.672	0.748	0.648
NKCH	0.727	0.618	0.724	0.583	0.583	0.648	0.579	0.669	0.675	0.667	0.614	0.659	0.649	0.659	0.726	0.622	0.640	0.667	0.742	0.640	0.645	0.617	0.711	0.626	0.660	0.660	0.714	0.600	0.640	0.641	0.684	0.685	0.667	0.742	0.667	0.730	0.732	0.738	0.660	0.730	0.676	0.680	0.760	0.709
NIG	0.778	0.603	0.741	0.642	0.651	0.697	0.627	0.704	0.671	0.686	0.698	0.671	0.656	0.699	0.740	0.604	0.654	0.618	0.739	0.591	0.658	0.618	0.667	0.577	0.704	0.679	0.675	0.625	0.613	0.591	0.656	0.684	0.669	0.734	0.632	0.655	0.720	0.662	0.667	0.709	0.665	0.603	0.788	0.747
NKL	0.765	0.648	0.707	0.684	0.648	0.735	0.704	0.711	0.669	0.686	0.649	0.639	0.694	0.716	0.600	0.726	0.669	0.713	0.757	0.653	0.729	0.703	0.737	0.703	0.707	0.665	0.701	0.591	0.609	0.609	0.656	0.676	0.714	0.653	0.703	0.633	0.671	0.693	0.697	0.712	0.725	0.690	0.743	0.723
NKP70	0.688	0.666	0.640	0.667	0.593	0.643	0.646	0.653	0.659	0.529	0.618	0.603	0.671	0.640	0.676	0.667	0.667	0.610	0.703	0.660	0.691	0.653	0.636	0.625	0.627	0.693	0.693	0.695	0.604	0.591	0.662	0.665	0.646	0.636	0.615	0.588	0.707	0.671	0.669	0.745	0.657	0.618	0.784	0.676
NKT62	0.667	0.588	0.583	0.570	0.552	0.630	0.591	0.609	0.667	0.412	0.682	0.531	0.612	0.649	0.634	0.662	0.588	0.621	0.644	0.638	0.613	0.695	0.618	0.562	0.630	0.599	0.723	0.617	0.653	0.570	0.620	0.649	0.577	0.690	0.597	0.579	0.645	0.675	0.592	0.739	0.586	0.656	0.715	0.677
OA	0.778	0.588	0.800	0.616	0.652	0.471	0.353	0.606	0.439	0.633	0.436	0.545	0.323	0.457	0.387	0.424	0.353	0.645	0.400	0.600	0.438	0.485	0.625	0.500	0.500	0.571	0.457	0.611	0.541	0.615	0.606	0.495	0.556	0.581	0.493	0.743	0.545	0.514	0.556	0.375	0.495	0.452	0.424	0.516
POTO	0.743	0.587	0.699	0.711	0.603	0.695	0.604	0.697	0.632	0.671	0.692	0.631	0.693	0.641	0.653	0.667	0.667	0.662	0.698	0.636	0.694	0.636	0.654	0.699	0.698	0.631	0.679	0.631	0.645	0.576	0.679	0.634	0.577	0.638	0.735	0.630	0.603	0.638	0.645	0.616	0.678	0.632	0.671	0.755
PIDA	0.776	0.701	0.704	0.646	0.610	0.719	0.679	0.692	0.658	0.529	0.654	0.692	0.667	0.733	0.714	0.744	0.669	0.715	0.701	0.629	0.650	0.713	0.634	0.688	0.692	0.654	0.727	0.665	0.671	0.725	0.695	0.693	0.695	0.704	0.697	0.694	0.712	0.704	0.749	0.693	0.711	0.699	0.675	0.739
PIOU	0.667	0.694	0.621	0.675	0.629	0.739	0.686	0.683	0.620	0.495	0.659	0.695	0.704	0.736	0.734	0.739	0.639	0.641	0.746	0.642	0.691	0.692	0.667	0.684	0.600	0.709	0.728	0.671	0.707	0.723	0.750	0.686	0.723	0.602	0.736	0.651	0.739	0.691	0.695	0.733	0.632	0.640	0.726	0.680
PIUP	0.757	0.741	0.634	0.628	0.589	0.684	0.682	0.704	0.663	0.684	0.610	0.708	0.646	0.760	0.739	0.704	0.638	0.649	0.698	0.642	0.626	0.697	0.642	0.700	0.709	0.710	0.723	0.736	0.685	0.695	0.702	0.660	0.695	0.795	0.662	0.663	0.711	0.659	0.716	0.730	0.667	0.671	0.768	0.719
PIPV	0.639	0.640	0.706	0.589	0.600	0.602	0.621	0.562	0.727	0.733	0.702	0.667	0.604	0.793	0.662	0.618	0.588	0.571	0.665	0.691	0.618	0.593	0.656	0.604	0.630	0.741	0.655	0.704	0.618	0.667	0.642	0.601	0.750	0.741	0.640	0.691	0.793	0.691	0.804	0.630	0.652	0.746	0.720	0.735
PION	0.706	0.631	0.619	0.619	0.591	0.663	0.638	0.614	0.658	0.514	0.640	0.544	0.604	0.671	0.653	0.671	0.601	0.676	0.667	0.638	0.654	0.691	0.649	0.636	0.636	0.660	0.632	0.632	0.581	0.632	0.637	0.703	0.671	0.609	0.662	0.701	0.699	0.720	0.623	0.609	0.610	0.624	0.684	0.646
PIOS	0.649	0.662	0.662	0.646	0.641	0.688	0.655	0.726	0.649	0.722	0.634	0.660	0.668	0.742	0.701	0.675	0.633	0.663	0.679	0.675	0.662	0.698	0.668	0.654	0.641	0.694	0.728	0.671	0.660	0.650	0.765	0.662	0.696	0.780	0.675	0.618	0.692	0.620	0.701	0.798	0.630	0.662	0.739	0.680
PIPQQ	0.706	0.722	0.658	0.617	0.681	0.671	0.746	0.666	0.642	0.667	0.667	0.675	0.630	0.708	0.650	0.666	0.654	0.654	0.660	0.658	0.661	0.671	0.691	0.679	0.636	0.658	0.663	0.663	0.720	0.748	0.738	0.669	0.780	0.728	0.704	0.667	0.699	0.610	0.695	0.692	0.613	0.658	0.716	0.609
PIPUA	0.667	0.658	0.730	0.704	0.616	0.684

Cont. Tabla N° 6 Matriz de similitud basada en descriptores fenotípicos construida utilizando el coeficiente de Dice, mediante el programa NTSyS v2.0 pc.

	KLCRI	KLCHA	KLDOR	KLDR	KLFT	KLOR	KLIM	KLOR	KLSAL	KLSEN	KLTO	LAB	LNI	LPI	LRI	MJI	NKC	NKCN	NKI	NKL	NKP70	NKT62	OA	POTO	PIDA	PIOU	PHP	PIIV	PION	PIOS	PIPO	PIPT	PIQN	PISP	PPA	PPI	RTNI	SAIR	SAUI	SOTE	TACO	TCAT	TTRO	TUCOR	VTI
BATL																																													
BBAO																																													
BCAT																																													
BCEN																																													
BCIM																																													
BCHA																																													
BDIL																																													
BFOO																																													
BGUA																																													
BMAN																																													
BMAP																																													
BNAM																																													
BNOU																																													
BNPU																																													
BOMB																																													
BPAL																																													
BPAN																																													
BPAS																																													
BPAT																																													
BPER																																													
BPON																																													
BPUC																																													
BRDM																																													
BVPU																																													
BYAP																																													
CCHI																																													
CMIL																																													
COBA																																													
COCAL																																													
COLI																																													
COMN																																													
CON																																													
CONA																																													
CZI																																													
CNO																																													
DKBC																																													
DKBO																																													
DKBT																																													
DTI																																													
GRAI																																													
KLAT																																													
KLCAO																																													
KLCAR																																													
KLCOB																																													
KLCRI	1.000																																												
KLCHA	0.747	1.000																																											
KLDOR	0.715	0.711	1.000																																										
KLDR	0.767	0.813	0.861	1.000																																									
KLFT	0.730	0.776	0.667	0.699	1.000																																								
KLOR	0.697	0.731	0.703	0.703	0.776	1.000																																							
KLIM	0.769	0.738	0.697	0.720	0.694	0.795	1.000																																						
KLOR	0.697	0.769	0.753	0.738	0.726	0.688	0.711	1.000																																					
KLSAL	0.785	0.717	0.760	0.743	0.671	0.649	0.722	0.760	1.000																																				
KLSEN	0.828	0.730	0.715	0.686	0.715	0.787	0.855	0.724	0.713	1.000																																			
KLTO	0.740	0.777	0.666	0.689	0.634	0.758	0.722	0.769	0.684	0.728	1.000																																		
LAB	0.723	0.775	0.785	0.727	0.721	0.681	0.657	0.746	0.727	0.676	0.762	1.000																																	
LNI	0.671	0.724	0.671	0.722	0.616	0.604	0.601	0.699	0.732	0.605	0.662	0.620	1.000																																
LPI	0.669	0.714	0.669	0.700	0.680	0.613	0.603	0.639	0.693	0.627	0.632	0.743	0.718	1.000																															
LRI	0.667	0.626	0.624	0.658	0.671	0.692	0.679	0.677	0.664	0.683	0.600	0.589	0.642	0.584	1.000																														
MJI	0.689	0.731	0.631	0.699	0.649	0.618	0.611	0.693	0.701	0.608	0.697	0.741	0.683	0.667	0.683	1.000																													
NKC	0.632	0.788	0.667	0.720	0.667	0.691	0.677	0.672	0.647	0.633	0.661	0.754	0.757	0.704	0.692	0.713	1.000																												
NKCN	0.699	0.770	0.638	0.812	0.662	0.713	0.599	0.657	0.687	0.634	0.653	0.727	0.728	0.742	0.694	0.658	0.836	1.000																											
NKI	0.671	0.821	0.711	0.767	0.680	0.697	0.608	0.689	0.654	0.654	0.671	0.718	0.713	0.679	0.590	0.683	0.819	0.683	1.000																										
NKL	0.767	0.726	0.829	0.710	0.725	0.713	0.616	0.686	0.653	0.717	0.727	0.760	0.667	0.707	0.591	0.671	0.737	0.746	0.716	1.000																									
NKP70	0.667	0.738	0.671	0.701	0.666	0.614	0.589	0.662	0.649	0.611	0.657	0.794	0.730	0.689	0.529	0.732	0.722	0.699	0.750	0.734	1.000																								
NKT62	0.686	0.721	0.698	0.682	0.652	0.657	0.577	0.698	0.691	0.595	0.671	0.677	0.667	0.604	0.573	0.727	0.776	0.699	0.706	0.661	0.738	1.000																							
OA	0.516	0.400	0.581	0.485	0.364	0.495	0.656	0.412	0.412	0.546	0.412	0.409	0.438	0.541	0.710	0.412	0.376	0.516	0.452	0.400	0.323	0.364	1.000																						
POTO	0.763	0.699	0.614	0.662	0.685	0.644	0.640	0.718	0.667	0.658	0.695	0.705	0.662	0.667	0.604	0.658	0.597	0.657	0.649	0.671	0.611	0.621	0.353	1.000																					
PIDA	0.694	0.679	0.740	0.703	0.692	0.654	0.662	0.733	0.768	0.654	0.710	0.752	0.713	0.758	0.690	0.683	0.667	0.737	0.708	0.724	0.720	0.692	0.514	0.649	1.000																				
PIOU	0.728	0.783	0.646	0.761	0.662	0.603	0.642	0.632	0.739	0.624	0.633	0.667	0.669	0.741	0.694	0.671	0.676	0.705	0.683	0.671	0.627	0.632	0.495	0.679	0.695	1.000																			
PHP	0.692	0.768	0.724	0.742	0.701	0.657	0.639	0.727	0.772	0.616	0.667	0.762	0.728	0.756	0.656	0.671	0.746	0.735	0.724	0.662	0.671	0.662	0.614	0.620	0.770	0.798	1.000																		
PIIV	0.776	0.760	0.735	0.735	0.638	0.730	0.668	0.692	0.720	0.786	0.640	0.680	0.668	0.667	0.642	0.607	0.579	0.704	0.656	0.727	0.591	0.667	0.460	0.691	0.660	0.691	0.737	1.000																	
PION	0.631	0.680	0.669	0.671	0.649	0.621	0.591	0.649	0.671	0.691	0.649	0.687	0.600	0.570	0.692	0.618	0.597	0.643	0.627	0.607	0.639	0.587	0.552	0.601	0.737	0.679	0.718	0.727	1.000																
PIOS	0.689	0.600	0.689	0.693	0.626	0.649	0.662	0.644	0.671	0.627	0.697	0.743	0.688	0.662	0.627	0.704	0.723	0.662	0.709	0.675	0.671	0.711	0.424	0.627	0.667	0.707	0.761	0.842	0.819	1.000															
PIPO	0.705	0.708	0.687	0.711	0.699	0.649	0.666	0.699	0.719	0.688	0.611	0.625	0.654	0.720	0.663	0.650	0.685	0.701	0.675	0.690	0.658	0.584	0.457	0.589	0.703	0.722	0.743	0.655	0.694	0.683	1.000														
PIPT	0.719	0.662	0.677	0.644	0.636	0.682	0.637	0.691	0.632	0.697	0.626	0.661	0.639	0.704	0.707	0.671	0.667	0.693	0.671	0.667	0.649	0.627	0.647	0.662	0.694	0.714	0.702	0.643	0.697	0.630	0.683	1.000													
PIQN	0.653	0.750	0.710	0.643	0.686	0.643	0.611	0.705	0.722	0.634	0.695	0.787	0.714	0.676	0.636	0.704	0.804	0.667	0.704	0.691	0.672	0.637	0.367	0.622	0.652	0.711	0.712	0.642	0.667	0.713	0.661	0.629	1.000												
PISP	0.658	0.640	0.588	0.586	0.629	0.644	0.658	0.567	0.608	0.653	0.609	0.701	0.667	0.723	0.654	0.652	0.691	0.644	0.636	0.671	0.625	0.603	0.529	0.600	0.611	0.698	0.634	0.618	0.575	0.658	0.701	0.620	0.676	1.000											
PPA	0.653	0.742	0.662	0.667	0.671	0.612	0.679	0.707	0.658	0.636	0.660	0.705	0.667	0.649	0.619	0.676	0.692	0.700	0.728	0.676	0.689	0.695	0.387	0.685	0.653	0.667	0.645	0.717	0.684	0.658	0.573	0.675	0.754	0.653	1.000										
PPI	0.667	0.763	0.701	0.693	0.692	0.646	0.610	0.692	0.746	0.693	0.708	0.740	0.720	0.636	0.000	0.695	0.703	0.728	0.711	0.654	0.658	0.615	0.389	0.671	0.750	0.798	0.800	0.632	0.633	0.691	0.722	0.667	0.762	0.671	0.632	1.000									
RTNI	0.680	0.742	0.662	0.746	0.671	0.635	0.632	0.740	0.669	0.636	0.680	0.820	0.668	0.671	0.569	0.671	0.692	0.741	0.728	0.738	0.714	0.667	0.400	0.708	0.750	0.692	0.739	0.654	0.662	0.728	0.645	0.662	0.766	0.639	0.720	0.718	1.000								
SAIR	0.639	0.694	0.695	0.704	0.620	0.681	0.622	0.643	0.622	0.612	0.630	0.761	0.746	0.636	0.663	0.718	0.726	0.730	0.744	0.690	0.667	0.616	0.483	0.608	0.684	0.629	0.662	0.593	0.634	0.645	0.650	0.699	0.657	0.644	0.626	0.642	0.630	1.000							
SAUI	0.661	0.624	0.566	0.595	0.556	0.588	0.528	0.566	0.660	0.535	0.639	0.611	0.621	0.569	0.671	0.667	0.630	0.636	0.667	0.605	0.555	0.519	0.485	0.560	0.617	0.663	0.691	0.517	0.607	0.630	0.707	0.685	0.676	0.698	0.692	0.623	0.592	0.654	1.000						
SOTE	0.687	0.622	0.622	0.619	0.605	0.476	0.671	0.667	0.644	0.591	0.489	0.727	0.615	0.755	0.560	0.642	0.636	0.627	0.677	0.765	0.615	0.471	0.370	0.679	0.691	0.735	0.692	0.638	0.490	0.654	0.727	0.654	0.667	0.760	0.622	0.687	0.636	0.640	0.667	1.000					
TACO	0.725	0.699	0.654	0.688	0.608	0.617	0.714	0.675	0.716	0.715	0.646	0.605	0.669	0.642	0.769	0.676	0.597	0.658	0.649	0.608	0.679	0.669	0.722	0.609	0.691	0.748	0.747	0.731	0.710	0.688	0.679	0.716	0.609	0.649	0.684	0.687	0.646	0.599	0.630	0.609	1.000				
TCAT	0.748	0.734	0.692	0.769	0.634	0.655	0.702	0.667	0.739	0.667	0.683	0.705	0.708	0.691	0.722	0.712	0.603	0.710	0.605	0.683	0.671	0.648	0.556	0.700	0.667	0.735	0.698	0.792	0.871	0.761	0.667	0.691	0.702	0.650	0.720	0.678	0.683	0.641	0.671	0.606	0.798	1.000			
TTRO	0.669	0.679	0.688	0.739	0.634	0.707	0.690	0.658	0.735	0.695	0.659	0.675	0.679	0.683	0.718	0.655	0.634	0.765	0.687	0.649	0.645	0.648	0.667	0.616	0.719	0.683	0.713	0.755	0.767	0.695	0.707	0.623	0.671	0.654	0.650	0.682	0.663	0.650	0.631	0.608	0.760	0.769	1.000		
TUCOR	0.705	0.713	0.646	0.757	0.641	0.636	0.638	0.669	0.713	0.633	0.620	0.648	0.669	0.695	0.667	0.671	0.599	0.668	0.667	0.724	0.666	0.623	0.444	0.641	0.663	0.793	0.738	0.760	0.662	0.675	0.764	0.627	0.699	0.717	0.636	0.669	0.638	0.654	0.666	0.792	0.693	0.692	0.718	1.000	
VTI	0.738	0.724	0.661	0.760	0.685	0.676	0.710	0.671	0.702	0.658	0.699	0.788	0.710	0.815	0.571	0.667	0.652	0.725	0.671	0.730	0.694	0.595	0.641	0.658	0.767	0.750	0.696	0.704	0.595	0.693	0.688	0.683	0.695	0.719	0.648	0.793	0.781	0.680	0.653	0.706	0.654	0.667	0.695	0.666	1.000

Tabla Nº 7 Grado de polimorfismo observado para los microsatélites evaluados. Se indican: *locus*, localización cromosómica, tamaño en pares de bases del fragmento amplificado en la variedad donde han sido desarrollados, variedad donde han sido desarrollados entre paréntesis, contenido de información polimórfica (PIC).

Microsatélite	Loc. cromosómica	Tamaño en Chinese Spring	PIC	Observaciones
Xcnl1	7BS	157 pb (en Geneva)	0.33	-
Xcnl2	3DL	376 pb (en Geneva)	-	
Xcnl3	6BS	139 pb (en Geneva)	0.69	
Xcnl4	7AS/4BS	350 pb (en Geneva)		
Xcnl5	1AL			
XGli-B1	1BS	133/142 pb	0.70	-
Xglu-A3	1AS	285 pb	0.70	1 *locus*, 2 fragmentos
Xwmc42	desconocido		0.24	-
Xwmc47	4B		0.21	
Xwms5	3AS	172 pb	0.70	-
Xwms6	4BL/4DL/4DL	205 (en Cheyenne)	0.50	3 *loci*
Xwms11	1BL	196 pb		-
Xwms18	4BS	186 pb	0.63	-
Xwms2	2AS	132 pb	0.70	Polimórfico
Xwms24	1BL	172 pb	-	Monomófico
Xwms3	3DL	84 (en Cheyenne)		Monomófico
Xwms30	2DL	206 pb		Polimórfico
Xwms33	1A, 1B, 1D	123 pb	0.70	3 *loci*
Xwms37	7DL	193 pb	-	Muchas bandas
Xwms43	7BL	180 pb	0.625	-
Xwms44	7DS	182 pb	0.8459	
Xwms46	7BS	187 pb	0.33	-
Xwms47	2B	166 pb	-	Baja reproducibilidad
Xwms122	2A	147 pb	-	Sin amplificación
Xwms132	6B	118 (en Opata)	0.375	Patrón complejo
Xwms494	6A	194 pb	0.5	Muchas bandas
Xwms595	5A	146 (en Opata)	0.5	-
Xwms617	5A/6A	133 (en Opata)	0.77375	2 *loci*
Xwms635	7A/7D	99 (en Opata)	0.469	-
Xwms261	2D	164 (en Opata)	0.49	
Xwms356	2A	216 (en Opata)	0.8	
Xwms304	5A	202 (en Opata)	0.6914	
Xwms518	6B	166 (en Opata)	0.5715	-

2.1. Matriz de Identidad

Para la construcción de la Matriz de Identidad de los cultivares de trigo pan registrados, de una forma tal que permita una identificación inequívoca de cada variedad, se seleccionó un subgrupo de diez (10) microsatélites. Estos microsatélites presentan un alto contenido polimórfico y patrones de bandas bien definidos.

Las características de cada microsatélite utilizado para la construcción de la Matriz de Identidad y los resultados obtenidos con cada iniciador ("primer"), incluyendo el número de alelos y su índice de contenido polimórfico, se muestran en la tabla Nº 8.

Tabla Nº 8. **Microsatélites utilizados para la construcción de la Matriz de Identidad.**
Se indica el *locus*, localización cromosómica, rango de tamaño y número de alelos presente en las variedades analizadas y contenido de información polimórfico (PIC).

Locus	Localización cromosómica	Rango de tamaño	Nº de alelos	PIC
Xpsp2900	1AS	133 a 157	10 + 1 nulo	0.84
Xpsp3000	1BS	213 a 285	12 + 1 nulo	0.84
Xcnl5	1AL	115 a 129	5	0.40
Xcnl3	6BS	117 a 151	9 +1 nulo	0.63
Xgwm46	7BS	159 a 187	11	0.76
Xgwm44	7DS	160 a 180	9 +1 nulo	0.85
Xgwm2	2AS	140 a 164	7 + 1 nulo	0.73
Xgwm18	4BS	184 a 196	5	0.67
Xgwm33	1A, 1B, 1D	138 a 206	12 + 1 nulo	0.81
Xgwm5	3AS	167 a 173	8	0.70

Las figuras N° 10, 11,12, 13 y 14 muestran los patrones de bandas de cada microsatélite en distintas variedades de trigo pan argentinas. Cada alelo está representado por una banda principal y bandas adicionales, las cuales caracterizan cada microsatélite.

El número de alelos correspondiente a cada *locus* SSR del subgrupo seleccionado se encuentra comprendido en un rango entre 5 a 13. En promedio se detectaron 8.7 alelos por *locus*.

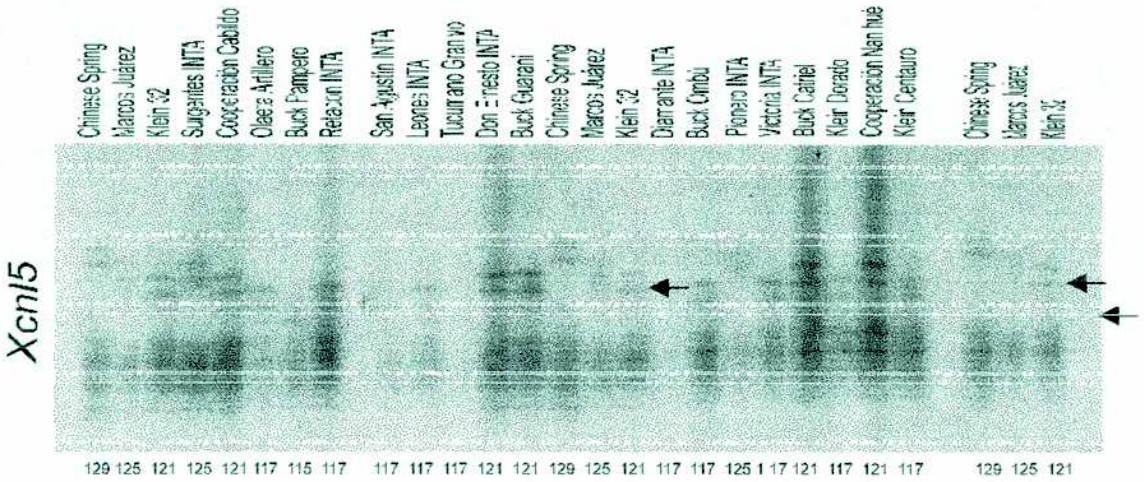
Tabla Nº 8. Matriz de Identificación basada en microsatélites de 105 cultivares de trigo pan de Argentina. Los alelos de cada *locus* se indican en pb (pares de bases). Referencias: / indica dos fragmentos dentro de un *locus* (Devos et al., 1995); + indica multiples alelos de un *locus* dentro de un cultivar cultivar; & indica fragmentos de diferentes *loci* amplificados con un único primer.

		locus	*Xpsp2999*	*Xpsp3000*	*Xgwm46*	*Xcnl5*	*Xgwm5*	*Xgwm44*	*Xgwm18*	*Xgwm2*	*Xcnl3*	*Xgwm33*
Cultivar	Abrev	Año	pb	pb	pb	pb	pb	pb	pb	pb	pb	pb
Chinese Spring	CHSP		133/142	285	187	129	172	182	186	154	121	150&160&204
Ministerio de Agricultura 38	38MA	1938	133/142	285	159	117	172	182	186	154	117	146&204
Buck Atlántico	BATL	1956	148/157	252	159 + 177	117	171	182	186	160	121	null
Buck Bagual	BBAG	1988	139/142	270	177	117	169	178	188	160	151	150
Buck Catriel	BCAT	1992	139/142	270	177	121	169	178	188	140	121	146&204
Buck Cencerro	BCEN	1973	142/145	252	159	121	170	176	186	164	143	138&150&160&202
Buck Cimarrón	BCIM	1970	133/142	252	159	121	169	174	184	140	121+139	138
Buck Charrúa	BCHA	1989	148/157	null	159 + 177	121	158	174	186	140	139	164&204
Buck Candil	BDIL	1994	145/148	213	159	117	169	186	186	160	121	138
Buck Fogón	BFOG	1989	142/145	237 + 270	159 + 179	121	172	168	186	140	121	150&202
Buck Guarani	BGUA	1993	136/142	270	177	121	172	178	186	140	121	138
Buck Manantial	BMAN	1965	142/145	252	159	117	171	182	186	144	139	164&204&278
Buck Mapuche	BMAP	1984	139/142	246	159	117	170	168	184	164	139	138&150&160
Buck Nambucurá	BNAM	1971	145/154	261	177	117	169	178	184	140	139	164&202
Buck Napostá	BNAP	1972	133/142	252	159	121	170	168	184	164	139	164&202
Buck Ñandú	BNDU	1975	142/148	273	159	117	172	168+184	186	148	121	null
Buck Ñapucá	BNPU	1987	142/148	213	159	117	172	186	186	148	121	138
Buck Ombú	BOMB	1984	133/142	270	159	117	172	174	188	148	121	150
Buck Palenque	BPAL	1990	139/142	261	159	117	172	184	188	140	121+117	138&150
Buck Pampero	BPAM	1955	148/157	237	183	115	169	168	186	140	139	146
Buck Pangaré	BPAN	1979	139/142	252	159	117	169	168	186	140	121	138&150
		locus	*Xpsp2999*	*Xpsp3000*	*Xgwm46*	*Xcnl5*	*Xgwm5*	*Xgwm44*	*Xgwm18*	*Xgwm2*	*Xcnl3*	*Xgwm33*
Bonaerense Pasuco	BPAS	1987	133/142	213	159	117	170	184	186	164	143	138&150

		locus	Xpsp2999	Xpsp3000	Xgwm46	Xcnl5	Xgwm5	Xgwm44	Xgwm18	Xgwm2	Xcnl3	Xgwm33
Bonaerense Pasuco	BPAS	1987	133/142	213	159	117	170	184	186	164	143	138&150
Buck Patacón	BPAT	1983	145/148	273	159	117	171	184	190	164	121	138
Bonaerense Pericón	BPER	1988	139/142	270	159	117	172	178	186	148	121	138&156&176
Buck Poncho	BPON	1987	145/148	213	159	117	158	174+ 184	186	140	139	138
Buck Pucará	BPUC	1980	133/142	270	185	117	170	174	186	164	121	160&204&278
Bonaerense Redomón	BRDM	1993	133/142	270	179	117	172	174	186	148	121	138
Boerdenave Puan SAG	BVPU	1966	145/151	213	159 + 177	117	170	178	184	160	139	150&160&186
Buck Yapeyú	BYAP	1992	142/148	219	159	117	8	184	188	144	121	138
Cochicó INTA	CCHI	1984	142/145	237	159	117	172	178	186	140	121+151	160&204
Cooperación Bahía	COBA	1983	145/154	213	159 + 179	117	169	182	186	140	139	150&160&186
Cooperación Cabildo	COCA	1980	145/154	246	159	121	169	176	186	140	121+117	150&160&186
Cooperación Calquín	COCAL	1989	133/142	null	159	121	168	178	190	160	121	150
Cooperación Liquen	COLI	1988	133142 +	219 + 246	177	117	169	180	190	144	147	150&160&186
Cooperación Millán	COMIL	1993	133142 + 139/142	285	187	121	170	178	186	160	121	150&156&176
Cooperación Maipún	COMN	1987	136/142	null	159	117	170	178	186	164	143	160&204&278
Ciano	CON	1974	139/142	270	179	117	172	184	188	148	121+117	138
Cooperación Nanihué	CONA	1987	136/142	246	159	121	169	176	186	140	121	150&160&186
Chasicó INTA	CSI	1980	133142 + 145/151	213 + 246	177	117	172	186	186	144	139	138&150
Cruz Alta INTA	CZI	1986	139/142	null	177	117	172	176	186	148	121	146
Chaqueño INTA	CHC	1974	145/148	270	167	117	170	180	188	156	121	138&146
Don Ernesto INTA	DERN	1987	133/142	null	159	121	171	174	186	164	121	150
Dekalb Chañar	DKBC	1978	142/148	213 + 246	159 + 179	117	172	188	184	148	121+143	138&150
Dekalb Lapacho	DKBL	1973	139/142	270	185	117	172	178	184	148	125	150&160
Dekalb Quebracho	DKBQ	1978	133/142	270	177	117	172	178	188	140	147	138
Dekalb Tala	DKBT	1973	133/142	270	179	117	172	178	184	140	143	138
Diamante INTA	DTI	1973	133/142	213	159	117	172	188	186	144	121	138
Granero INTA	GRAI	1987	136/142	246	179	117	171	178	190	140	121	164&206
Klein 32	KL032	1932	133/142	252	159	121	169	188	186	140	121	160

		locus	*Xpsp2999*	*Xpsp3000*	*Xgwm46*	*Xcnl5*	*Xgwm5*	*Xgwm44*	*Xgwm18*	*Xgwm2*	*Xcnl3*	*Xgwm33*
Klein Atlas	KLAT	1967	133142 + 142/148	237	159 + 177	117	169+ 158	174	188	140	117	138&150
Klein Atalaya	KLATY	1982	133/142	213	187	117	172	174	188	148	117	138
Klein Cartucho	KLCAR	1983	139/142	264	159	117	172	178	188	140	121	138&150
Klein Centauro	KLCEN	1989	139/142	270	177	117	171	174	188	140	121	138&150
Klein Cobre	KLCOB	1987	148/157	243	177	117	172	174	188	148	121+117	138&150
Klein Cacique	KLCQ	1991	133/142	null	159	121	169	174	188	140	151	150
Klein Criollo	KLCRI	1984	133/142	213	177	117	169	174	186	140	121	138
Klein Chamaco	KLCHA	1978	148/151	237	159	117	172	178	188	148	121	138
Klein Dorado	KLDOR	1987	133/142	270	179	117	172	174	186	148	121	150
Klein Dragón	KLDR	1992	133/142	null	159	121	172	186	186	140+144	139	138
Klein Fortín	KLFT	1974	148/157	237	159	125	172 +158	178	186	140	121	146
Klein Granador	KLGR	1976	145/151	252	159	117	158	174	196	140	121	146
Klein Impacto	KLIM	1966	148/157	237	159	121	172	null	186	140	121	150
Klein Orión	KLOR	1988	139/142	270	177	117	171	174	186	140	121	150
Klein Petiso	KLPE	1953	133/142	246	177	125	172	174	186	160	121	150
Klein Rendidor	KLRE	1954	145/151	246	177	125	172	168+178	186	140	121	138
Klein Sendero	KLSEN	1971	148/157	237	159	117	158	174	186	140	121	146
Klein Salado	KLSL	1985	142/154	270	177	117	173	184	188	144	121	138
Klein Toledo	KLTO	1972	148/151	237	177	125	172	174	190	140	121	138
Labrador INTA	LAB	1979	133/142	270	179	117	172	188	186	160	121	138&150
Leones INTA	LNI	1973	133/142	213	159	119	172	188	186	140	121	138
La Paz INTA	LPI	1982	133142 + 145/151	270	179	117	172	184	184	140	121	164&186
Las Rosas INTA	LRI	1983	145/151	246	185	117	172	184	186	140	121	138
Marcos Juarez INTA	MJI	1971	145/151	270	177	125	172	174	188	148	121	138
Norkin T-82	NKT82	1982	139/142	270	179	117	172	184	188	148	121	138
Norkin Caburé	NKC	1984	133142 + 139/142	216 + 246	159 + 179	117	172	188	188	148+160	121	138&150
Norkin Churinche	NKCH	1984	148/157	243	159 + 171	117	172	174	188	148	121	138&146
Norkin Irupé	NKI	1984	145/151	270	159	117	172	174	186	148	121	138&146
Norkin Lider	NKL	1984	148/157	237	159	125	172	184	186	140	121	138

		locus	*Xpsp2999*	*Xpsp3000*	*Xgwm46*	*Xcnl5*	*Xgwm5*	*Xgwm44*	*Xgwm18*	*Xgwm2*	*Xcnl3*	*Xgwm33*
Norkin pan 70	NKP	1978	145/154	246	159	117	172	184	190	148	143	150
Olaeta Artillero	OA	1959	142/154	213	159 + 177	117	158	178	184	144	121	138
Oncativo INTA	ONC	1964	145/154	252	163	121	171	186	196	144	121	138&150
Pergamino Gaboto MAG	PGTO	1960	133/142	216	177	121	172	174	190	140	117	138
Prointa Don Alberto	PIDA	1988	133/142	246	159	117	172	184	186	148	147	138
Prointa Guazú	PIGU	1991	133/142	null	177	117	169	184	190	160	147	138&150
Prointa Imperial	PIIP	1992	133/142	270	187	117	170	174	186	148	121	138
Prointa Isla Verde	PIIV	1988	136/142	213	167	117	172	182	188	140	121	138&150
Pionero INTA	PION	1986	133/142	270	177	125	172	178	186	148	121	138
Prointa Oasis	PIOS	1989	136/142	null	171	117	172	182	188	148	151	138
Prointa Picén	PIPC	1992	145/148	null	175	117	169	184	186	160	143	138
Prointa Pigue	PIPG	1988	139/142	null	159	117	169	178	190	160	151	138
Prointa Puntal	PIPT	1994	null	219	177	121	169	186	186	160	151	138&150
Prointa Quintal	PIQN	1993	136/142	null	179	117	172	180	186	148	null	138
Prointa Querandi	PIQR	1989	142/145	237	177	121	169	178	196	156	143	138
Prointa Súper	PISP	1993	null	237	177	121	169	178	184	156	null	138
Pampa INTA	PPA	1984	139/142	213	159	117	170	186	186	160	121+117	138
Precoz Paraná INTA	PPI	1971	142/145 + 145/154	216 + 273	159 + 179	117	172	184	186	148	147	138
Retacón INTA	RTNI	1984	145/151	213	159	117	172	186	188	140	143	160&186
Saira INTA	SAIR	1979	133/142	270	179	117	172	184	190	148	121+117	150&160
San Agustín INTA	SAUI	1979	133/142	213	179	117	172	186	190	140	121+117	150&160&176
Sinvalocho	SCHOMA	1939	145/151	246	177	121	172	174	188	160	117	150
Surgentes INTA	SGE	1975	133/142	270	159 + 177	125	172	180	188	140+148	null	138
Thomas Aconcagua	TACO	1984	145/154	246	179	121	172	176	188	140	117	150&160&186
Thomas Catedral	TCAT	1984	145/148	null	159	117	null	184	188	148	123	138
Thomas Tronador	TTRO	1989	145/151 + 136/142	270	179	117	null	184	186	140	null	138&150
Tucumano Granivo	TUCGI	1994	133/142	null	179	117	172	184	188	140	121	164&202
Victoria INTA	VTI	1978	133/142	270	179	117	172	null	190	null	null	138&150&156



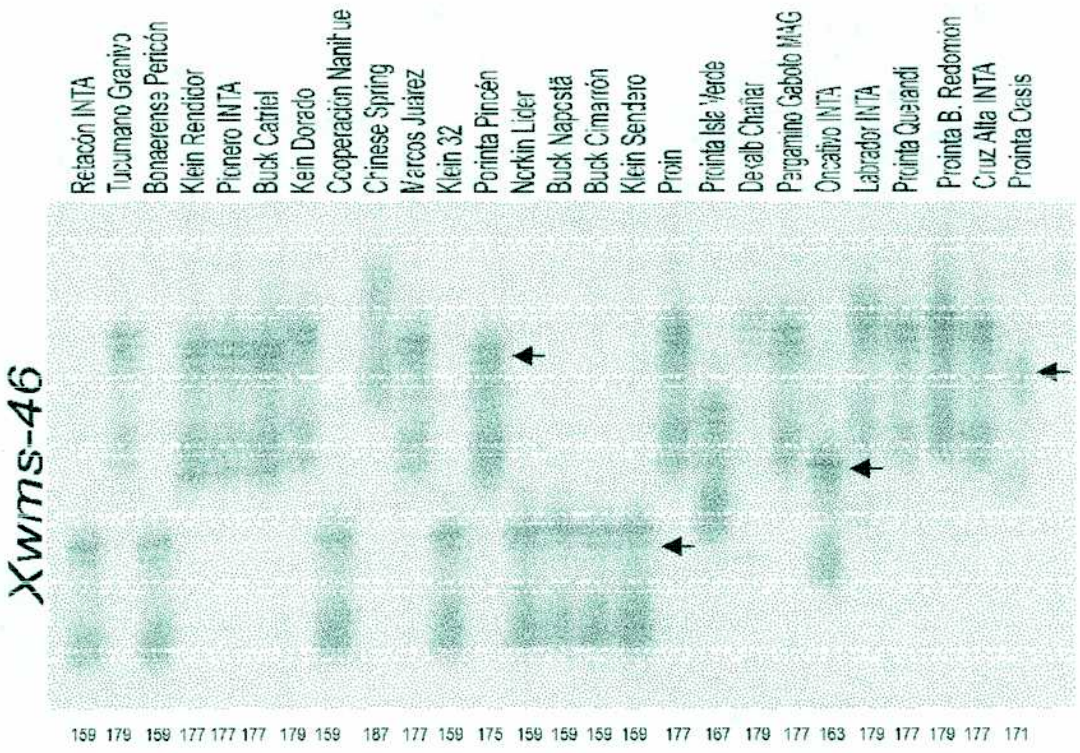


Figura Nº 11. **Electroforesis en gel de poliacrilamida de microsatélites de trigo.** Se realizó la amplificación de los SSR, *Xcnl5* y *Xgwm46,* en ADN extraído de variedades de trigo. Los productos de la PCR se sometieron a electroforesis seguida de fijación y visualización del gel con nitrato de plata. La banda de referencia de cada microsatélite se señala con una flecha o asterisco, su tamaño (en pares de bases) se encuentra detallada al pie cada figura.

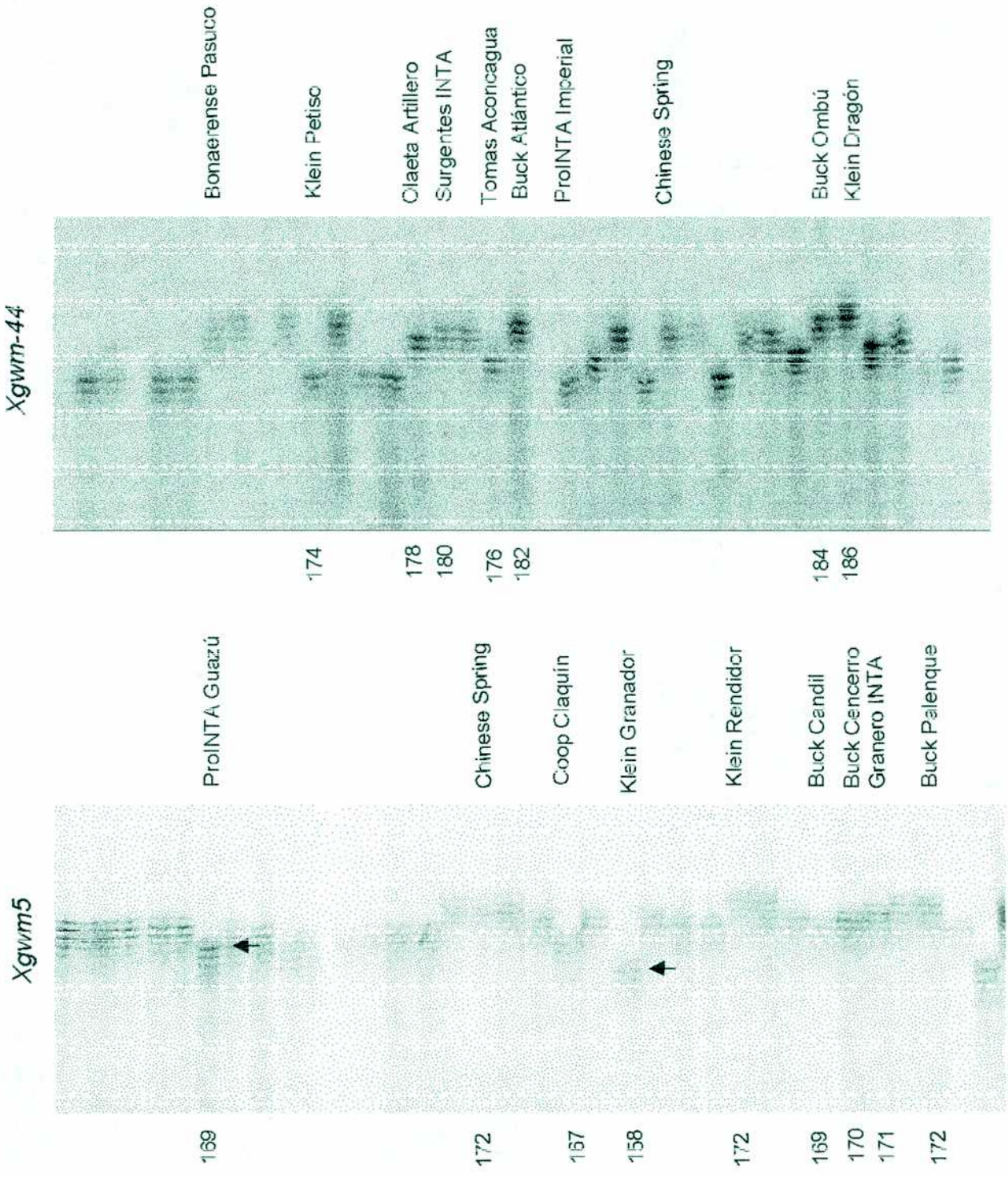


Figura Nº12. **Electroforesis en gel de poliacrilamida de microsatélites de trigo.** Se realizó la amplificación de los SSR, *Xgwm44* y *Xgwm5*, en ADN extraído de variedades de trigo. Los productos de la PCR se sometieron a electroforesis seguida de fijación y visualización del gel con nitrato de plata. La banda de referencia de cada microsatélite se señala con una flecha o asterisco, su tamaño (en pares de bases) se encuentra detallada al pie cada figura.

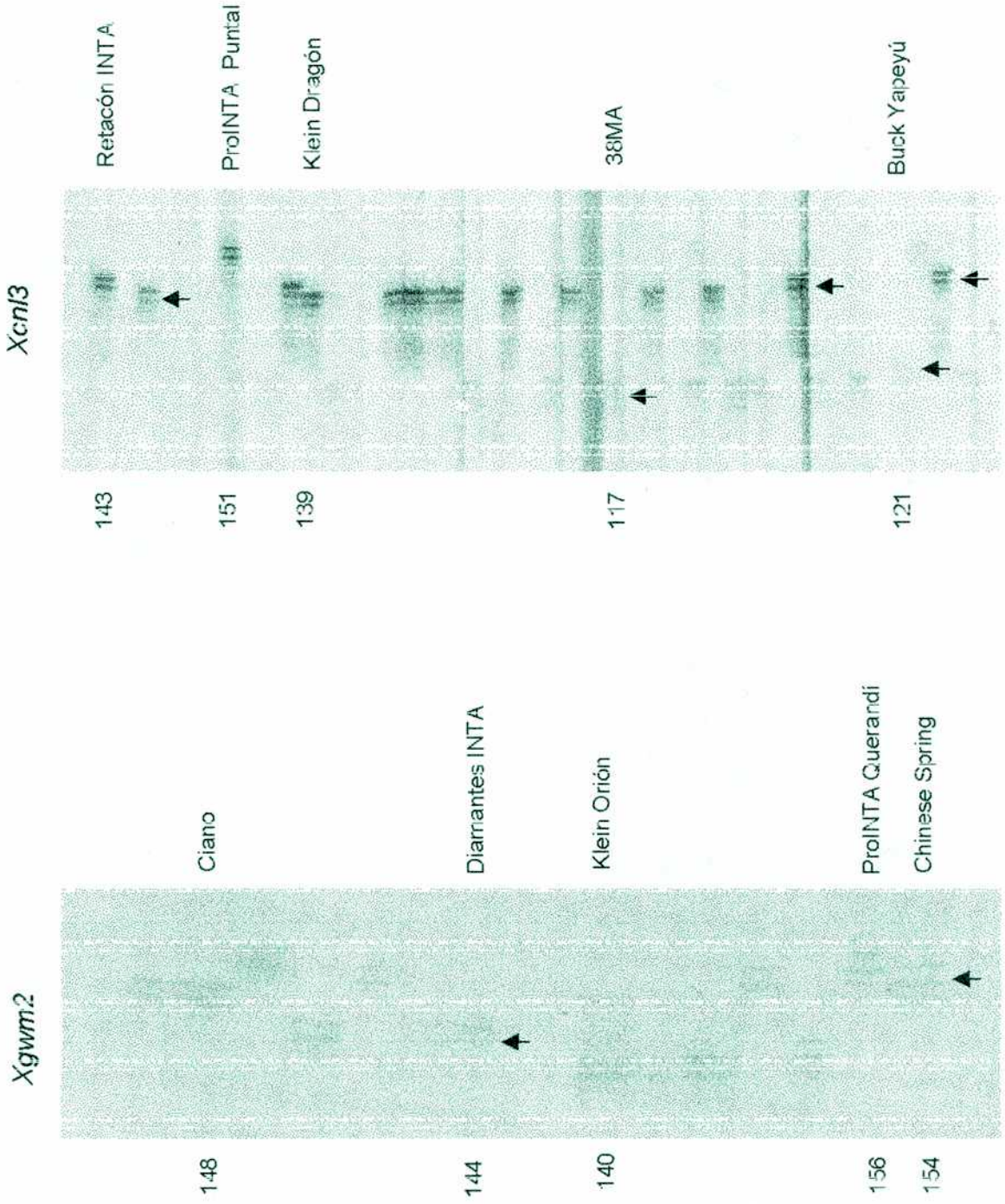


Figura Nº13. **Electroforesis en gel de poliacrilamida de microsatélites de trigo.** Se realizó la amplificación de los SSR, *Xcnl3* y *Xgwm2*, en ADN extraído de variedades de trigo. Los productos de la PCR se sometieron a electroforesis seguida de fijación y visualización del gel con nitrato de plata. La banda de referencia de cada microsatélite se señala con una flecha o asterisco, su tamaño (en pares de bases) se encuentra detallada al pie cada figura.

Los valores del contenido polimórfico (PIC) varían entre 0.84 (para los microsatélites *Xpsp2999* (*locus XGlu-A3*) y *Xpsp3000* (*locus XGli-B1*) a 0.40 (para el microsatélite *Xcnl5*; este último seleccionado por su localización en el brazo largo del cromosoma 1A y posterior aplicación en la búsqueda de marcadores asociados a buena calidad panadera). El valor promedio fue de 0.723 ± 0.1369 (de desvío estándar). Dicho valor fue comparado con el obtenido para el mismo grupo de variedades en los *loci* de gluteninas de alto peso molecular HMW-GS mediante la técnica de RFLP (Dubcovsky *et al.*, 1997). El valor promedio de PIC obtenido con RFLP fue de 0.46. La tabla Nº9 muestra la matriz de los alelos de RFLP del *locus Xglu* correspondiente a las gluteninas de alto peso molecular HMW-GS.

La matriz de índices de similitud obtenidos empleando los alelos de RFLP se muestra en la tabla Nº 10. El dendrograma correspondiente se muestra en la figura Nº15.

Los microsatélites *Xpsp2900 y Xpsp3000* se hallan ubicados dentro de las regiones codificantes de los *loci* de proteínas de reserva del grano, gluteninas de bajo peso molecular *XGlu-A3* (LMW-GS) y *XGli-B1* (γ-gliadinas), respectivamente. El alelo nulo para *XGlu-A3* se corresponde con la translocación de centeno 1AL/1RS, dato confirmado por electroforesis de γ-gliadinas. Los cultivares que presentan esta translocación son ProINTA Puntal y ProINTA Súper.

El alelo nulo en *XGli-B1* corresponde a la translocación de centeno 1BL/1RS, confirmado por citología (Bullrich, 1996) mediante la técnica citológica basada en Zeller (1973). Esta técnica permite detectar la presencia del brazo 1RS de centeno en trigo mediante estudios citogenéticos. En preparados citológicos se observa la desaparición del organizador nucleolar del cromosoma 1B y del satélite característico del brazo corto 1BS. A nivel de proteínas la translocación de centeno se detecta por la presencia de bandas de secalinas características en geles de gliadinas (A-PAGE).

Los cultivares que presentan esta translocación son Cooperación Calquín, Don Ernesto INTA, Klein Cacique, Klein Dragón, ProINTA Guazú, Tucumano Granivo, Cooperación Milán, ProINTA Oasis, ProINTA Querandí,

Cruz Alta INTA, ProINTA Pigüé, ProINTA Pincén, Tomas Catedral, Buck Charrúa.

A fin de evaluar la interrelación entre los distintos alelos de microsatélites se analizó la correlación de dichos caracteres utilizando la denominada técnica Q (Crisci, 1982). La figura Nº16 muestra el dendrograma de los alelos de los *loci* utilizados para la construcción de la Matriz de identidad. Los valores de correlación oscilan entre -0,7782 y uno. Este último valor corresponde al par de alelos "183 pb" del *locus Xgmw46* y "115 pb" del *locus Xcnl5*, los cuales son específicos de la variedad Buck Pampero. Los bajos valores de correlación observados (valor promedio -0,0058) y la completa ramificación del árbol indica que los marcadores utilizados son independientes y brindan una información no redundante.

A su vez las matrices de similitud generadas por cada microsatélite fueron correlacionadas y la significancia de dicha correlación fue testada con el test de Mantel. Los valores de los coeficientes de correlación entre *loci* se muestran en la tabla Nº 11. Todos ellos fueron no significativos (P>0,05).

Tabla N°11 Valores de coeficientes de correlación (*r*) entre matrices de similitud correspondientes a cada *locus*. La significancia de cada correalción fue testada empleando el test de Mantel.

localización		1BS	1AS	4BS	1A/1B/1D	2AS	7DS	7BS	3AS	6BS	1AL
	locus	*Xpsp3000*	*Xpsp2900*	*Xwgm18*	*Xwgm33*	*Xwgm2*	*Xwgm44*	*Xwgm46*	*Xgwm5*	*Xcnl3*	*Xcnl5*
1BS	*Xpsp3000*										
1AS	*Xpsp2900*	0.08800									
4BS	*Xwgm18*	0.00383	0.00279								
1A/1B/1D	*Xwgm33*	0.02812	0.01599	-0.02540							
2AS	*Xwgm2*	0.03791	-0.01479	0.01521	0.03716						
7DS	*Xwgm44*	-0.01166	0.02731	-0.01520	0.07635	0.09643					
7BS	*Xwgm46*	0.01740	-0.03002	0.03786	-0.03570	0.02192	0.01632				
3AS	*Xgwm5*	0.02115	0.05691	-0.00069	0.07635	0.16742	0.04577	-0.02533			
6BS	*Xcnl3*	0.02115	-0.01385	0.09314	0.09513	0.08083	0.10692	0.00105	0.06031		
1AL	*Xcnl5*	0.07487	0.01222	-0.02962	0.05541	0.02815	0.07105	0.00305	0.04578	-0.00791	
promedio de cada *loci*		0.03120	0.01606	0.00910	0.03594	0.05225	0.04592	0.00073	0.04974	0.04853	0.03408
promedio gral		0.03176									
N= 5565		*Correlaciones no significativas P> 0.05*									

El valor promedio del coeficiente de similitud entre las variedades, basado en datos de microsatélites, es de 0,292 ± 0,14. El coeficiente de similitud calculado a partir de 91 alelos muestra un amplio rango, desde 0,9 para las variedades Diamante INTA/Leones INTA y ProINTA Bonaerense Redomón/ Klein Dorado, hasta 0 para 116 pares de variedades. La tabla Nº12 muestra la matriz de similitud obtenida a partir de los datos de microsatélites.

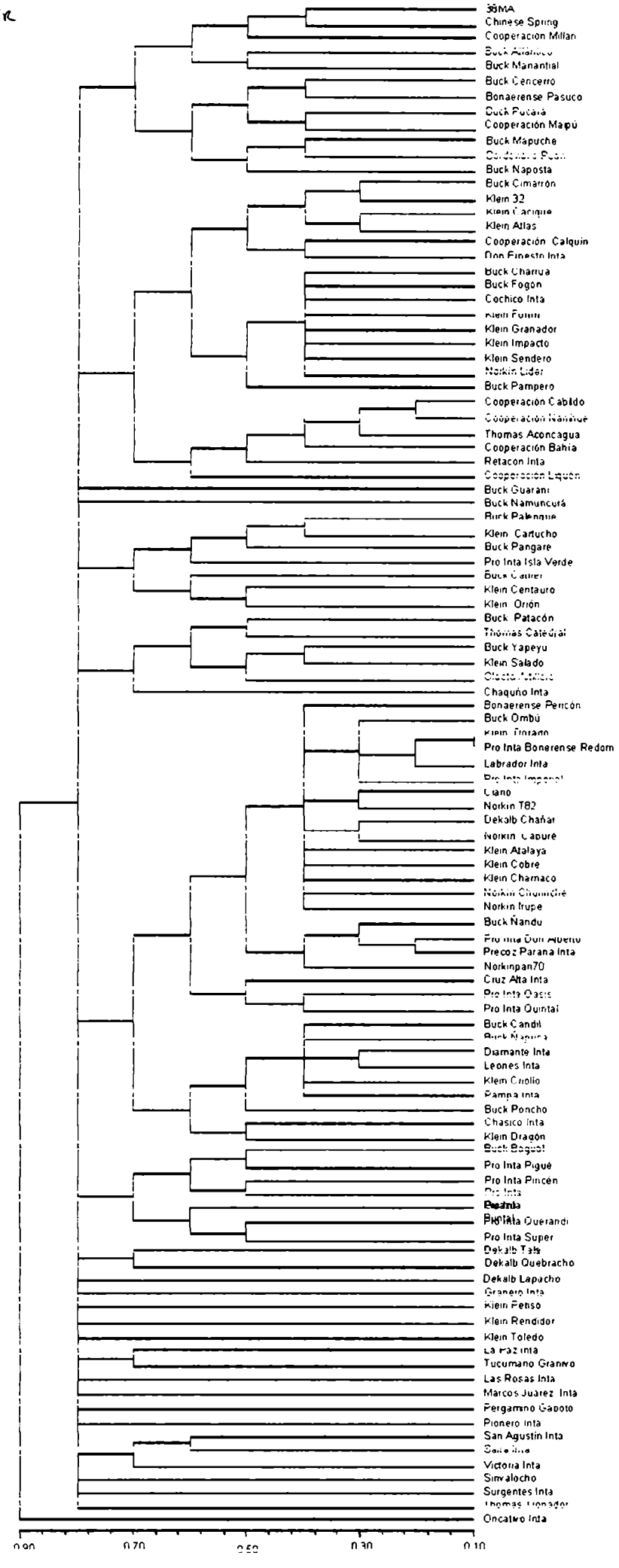
La figura Nº 17 muestra un dendrograma consenso de los 105 cultivares de trigo pan de Argentina analizados en este trabajo. Como resultado del análisis de agrupamiento no se observan agrupamientos particulares en cuanto año de liberación cada variedad como tal. Se observa una tendencia a agruparse por criadero, pero ésta división no es neta. Los cultivares pertenecientes al mismo grupo comparten ascendientes comunes.

El árbol consenso obtenido por el método de UPGMA se muestra totalmente bifurcado, lo cual indica una efectiva discriminación de las OTUs (variedades de trigo) con los caracteres (en este caso los microsatélites) seleccionados.

Las variedades con un alto grado de parentesco pudieron ser discriminadas utilizando el grupo de microsatélites elegidos. Tal es el caso de líneas hermanas para las que el coeficiente de parentesco no se pudo calcular con el programa de computación empleado en este trabajo. Por ejemplo las variedades Don Ernesto INTA y Cooperación Calquín tienen los mismos alelos en los *loci XGlu3 (*alelo "133/142 pb"*), XGli1* (alelo nulo), *Xwms 46 (*alelo "159 pb"*), Xcnl5 (*alelo "121 pb"*) Xcnl3-6BS* (alelo "121 pb") y, *Xgwm33*-1AS/BL/DL (alelo "150 pb"); difieren en los *loci Xgwm5*-3A (alelos "171pb" y "168 pb"), *Xgwm44*-7DS (alelos "186 pb" y "178 pb"), *Xgwm18*-4BS (alelos "186 pb" y "190 pb"), *Xgwm2*-AS (alelos "164 pb" y "160 pb"). Su coeficiente de similitud calculado sobre la base de estos datos es 0,3.

Otro par de líneas hermanas que puede ser discriminado utilizando microsatélites está formado por las variedades ProINTA Pigüé y ProINTA Querandí. Ambas comparten los mismos alelos para los *loci Xgwm5*-3A (alelo "169 pb"), *Xgwm44*-7DS (alelo "178 pb") y *Xgwm33*-1AS/BL/DL (alelo "138 pb"). Difieren en los *loci Xglu3* (alelos "139/142 y 142/145 pb"), *XGli1* (alelo nulo y

Fig 12 SSR


38MA
Chinese Spring
Cooperación Millan
Buck Manantial
Buck Cencerro
Bonaerense Pasuco
Cooperación Mapú
Buck Mapuche
Buck Naposta
Buck Cimarrón
Klein 32
Klein Atlas
Cooperación Calquin
Buck Charrua
Buck Fogón
Cochico Inta
Klein Granador
Klein Impacto
Klein Sendero
Buck Pampero
Cooperación Cabildo
Thomas Aconcagua
Cooperación Bahía
Retacón Inta
Buck Guarani
Buck Namuncurá
Klein Cartucho
Buck Pangare
Pro Inta Isla Verde
Klein Centauro
Klein Orión
Buck Patacón
Buck Yapeyu
Klein Salado
Chaqueño Inta
Bonaerense Pericón
Buck Ombú
Pro Inta Bonerense Redom
Labrador Inta
Criano
Norkin T82
Dekalb Chañar
Klein Atalaya
Klein Cobre
Klein Charnaco
Norkin Irupé
Buck Ñandu
Precoz Parana Inta
Norkinpan70
Cruz Alta Inta
Pro Inta Quintal
Buck Candil
Diamante Inta
Leones Inta
Klein Criollo
Pampa Inta
Buck Poncho
Chasico Inta
Klein Dragón
Pro Inta Pigué
Pro Inta Pincén
Pro Inta Querandi
Pro Inta Super
Dekalb Quebracho
Dekalb Lapacho
Klein Fenso
Klein Rendidor
Klein Toledo
Tucumano Granivo
Las Rosas Inta
Marcos Juarez Inta
Pergamino Gaboto
Pionero Inta
San Agustín Inta
Victoria Inta
Simvalocho
Surgentes Inta
Oncativo Inta
0.90
0.70
0.30
0.10

alelo "237 pb"), *Xwms 46* (alelo "159 pb"y "177 pb"), *Xcnl5* (alelo "117 pb" y "121 pb"), *Xgwm18*-4BS (alelo "190 pb"y "196 pb"), *Xgwm2*-AS (alelo "160 pb" y "156 pb") y *Xcnl3*-6BS (alelo "151 pb" y "143 pb"). El valor de su coeficiente de similitud es de 0,6.

El subgrupo de microsatélites seleccionados posibilitó la construcción de la Matriz de Identificación y la diferenciación de cada una de las variedades, que a continuación se presenta.

La tabla N°13 corresponde a la Matriz de Identificación confeccionada a partir de alelos e microsatélites, de las 105 variedades de trigo de Argentina analizadas en este trabajo. Los tamaños se indican en pares de bases, en la parte superior, así como el correspondiente *locus* analizado.

3. CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO MEDIANTE AFLPs.

Se emplearon cuatro combinaciones de iniciadores ("primers") para la generación de los patrones de bandas de AFLP. Como es habitual para esta técnica, se asumió que cada banda corresponde a un *locus* independiente y se computó las variaciones alélicas exclusivamente como presencia/ausencia de bandas. El número de bandas y el Índice de Contenido Polimórfico se muestran en la tabla N° 14.

Tabla N° 14 Combinación de iniciadores, nùmero de bandas polimòrficas detectadas y Indice de Contenido Polimórfico correspondiente a cada combinación de iniciadores de AFLP

Combinación de iniciadores	N° bandas polimórficas	PIC
P36/M44	15	0.382998
P40/M39	27	0.315234
P31/M41	20	0.263106
P41/M40	9	0.309687
Promedio	17,75	0,314± 0,15

El número de *loci* polimórficos promedio fue de 17,75 por combinación de iniciadores ("primers"), siendo el número total de bandas polimórficas 71. El número de bandas totales promedio por cada combinación de par de iniciadores fue de 97 bandas.

Los valores del Índice de Contenido Polimórfico variaron entre 0.383 para la combinación de iniciadores P36/M44 y 0.263106 para la combinación P31/M41, siendo su promedio de 0,314 ± 0,15. La tabla Nº 15 muestra los valores de los índices de similitud de AFLPs.

Las figuras Nº18, 19, 20 y 21 muestran una representación de los patrones de bandas obtenidas mediante la técnica de AFLPs.

Se analizó la correlación entre los distintos alelos de AFLPs a fin de evaluar la interrelación de dichos caracteres. La figura Nº 22 muestra el dendrograma de los alelos de *loci* de AFLP. Los valores de correlación entre dichos alelos oscilan entre 0,812 y -0,845. El iniciador ("primer") valor corresponde al par de alelos "270 pb" y "452 pb" obtenidos mediante amplificación con la combinación de los "primers" P36/M44, estos dos alelos son poco frecuentes y se hallan presentes conjuntamente. El segundo valor corresponde a la mínima correlación existente entre los alelos "350 pb" y "336 pb" obtenidos también mediante amplificación con la combinación de "primers" mencionada. Estos alelos son 'complementarios', cuando uno está presente no se halla presente el otro y viceversa, para la mayoría de los cultivares excepto dos, Klein Rendidor y Prointa Pigüé, donde están ambas presentes. Los bajos valores de correlación observados (valor promedio 0,005 ± 0,129) y la completa ramificación del árbol indica que, salvo excepciones como las mencionadas, los marcadores utilizados son independientes y brindan una información no redundante.

El valor promedio del coeficiente de similitud entre las variedades, basado en datos de AFLPs, es de 0,55 ± 0,095 desv est. El coeficiente de similitud calculado a partir de 71 alelos muestra un amplio rango, desde 0,91 para las variedades Victoria INTA/Saira INTA hasta 0,24 para Prointa Bonaerense Redomón/ Prointa Pincén.

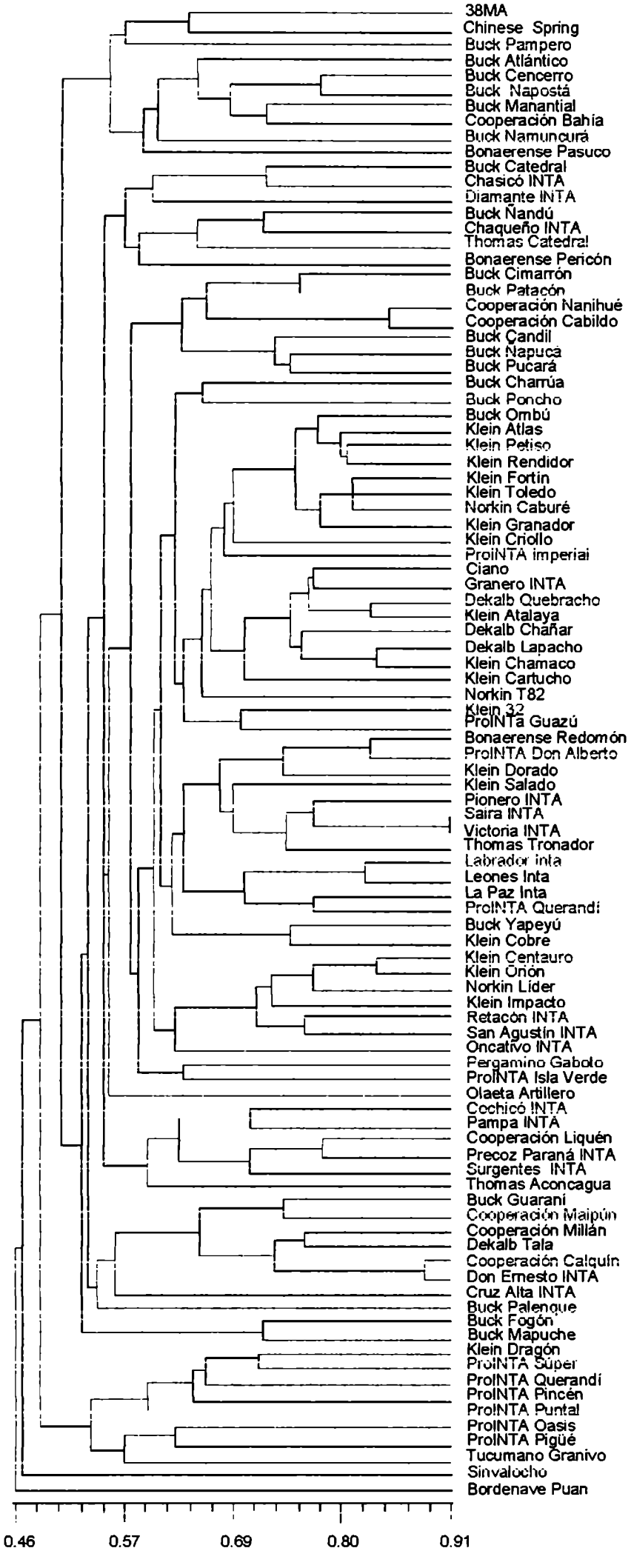
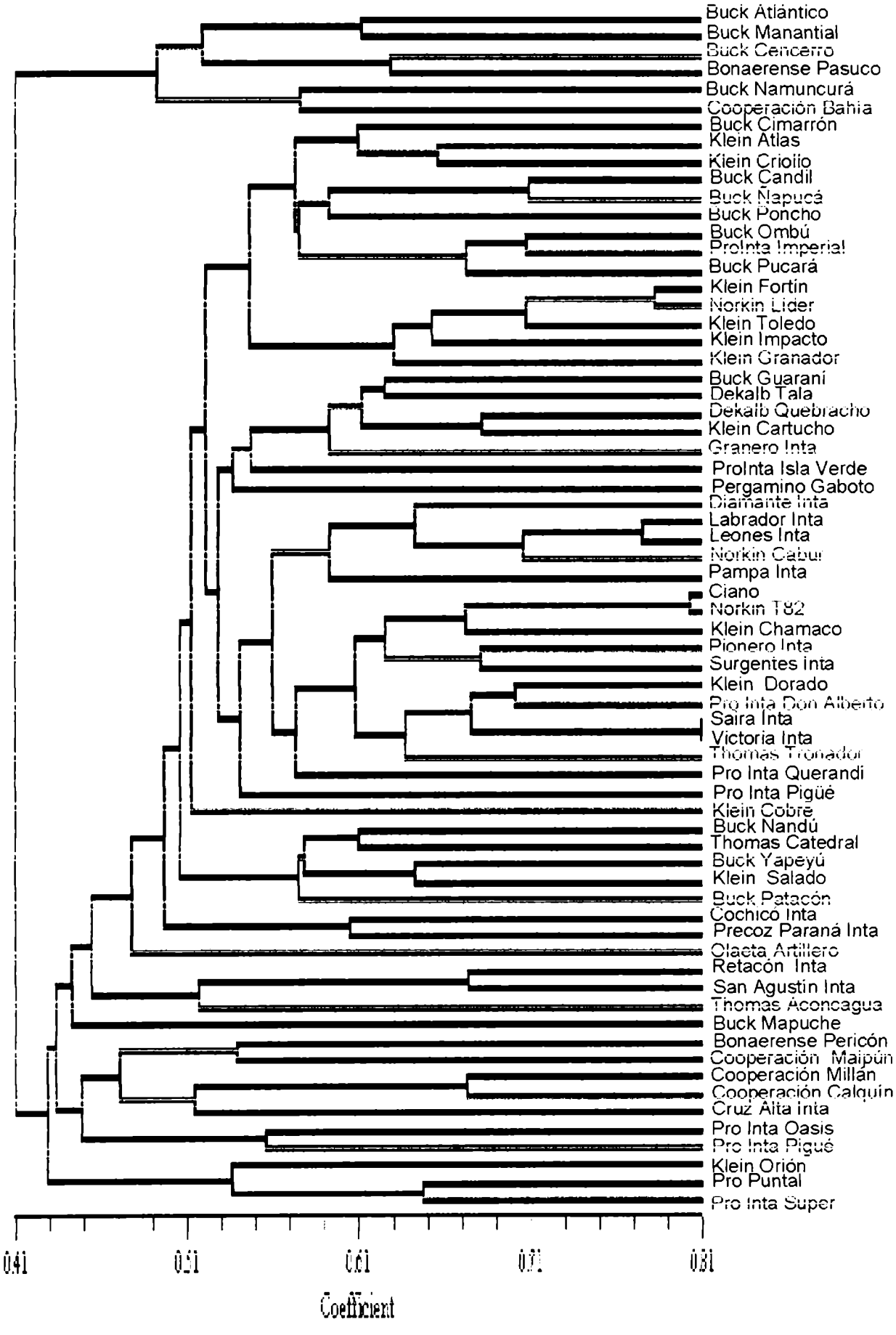

38MA
Chinese Spring
Buck Pampero
Buck Atlántico
Buck Cencerro
Buck Napostá
Buck Manantial
Cooperación Bahía
Buck Namuncurá
Bonaerense Pasuco
Buck Catedral
Chasicó INTA
Diamante INTA
Buck Ñandú
Chaqueño INTA
Thomas Catedral
Bonaerense Pericón
Buck Cimarrón
Buck Patacón
Cooperación Nanihué
Cooperación Cabildo
Buck Candil
Buck Napuca
Buck Pucará
Buck Charrúa
Buck Poncho
Buck Ombú
Klein Atlas
Klein Petiso
Klein Rendidor
Klein Fortín
Klein Toledo
Norkin Caburé
Klein Granador
Klein Criollo
ProINTA imperial
Ciano
Granero INTA
Dekalb Quebracho
Klein Atalaya
Dekalb Chañar
Dekalb Lapacho
Klein Chamaco
Klein Cartucho
Norkin T82
Klein 32
ProINTA Guazú
Bonaerense Redomón
ProINTA Don Alberto
Klein Dorado
Klein Salado
Pionero INTA
Saira INTA
Victoria INTA
Thomas Tronador
Labrador inta
Leones Inta
La Paz Inta
ProINTA Querandí
Buck Yapeyú
Klein Cobre
Klein Centauro
Klein Orión
Norkin Líder
Klein Impacto
Retacón INTA
San Agustín INTA
Oncativo INTA
Pergamino Gabolo
ProINTA Isla Verde
Olaeta Artillero
Cochicó INTA
Pampa INTA
Cooperación Liquén
Precoz Paraná INTA
Surgentes INTA
Thomas Aconcagua
Buck Guaraní
Cooperación Maipún
Cooperación Millán
Dekalb Tala
Cooperación Calquín
Don Ernesto INTA
Cruz Alta INTA
Buck Palenque
Buck Fogón
Buck Mapuche
Klein Dragón
ProINTA Súper
ProINTA Querandí
ProINTA Pincén
ProINTA Puntal
ProINTA Oasis
ProINTA Pigüé
Tucumano Granivo
Sinvalocho
Bordenave Puan
0.46
0.57
0.69
0.80
0.91

Tabla Nº15. Matriz de similitud basada en alelos de AFLP de 91 variedades Argentinas de trigo pan

	38MA	BATL	BCAT	BCEN	BCIS	BCHA	BDIL	BDVP	BFOS	BOUA	BMAN	BMAP	BNAM	BNAP	BNIU	BNPU	BOMB	BPAL	EPAM	BPAT	BPAT	BPER	BPON	BPFD	BPUC	T	DTI	GRAI	KL32	KLAT	KLAT	KLCAR	KL2
38MA	1.000																																
BATL	0.549	1.000																															
BCAT	0.500	0.408	1.000																														
BCEN	0.615	0.737	0.560	1.000																													
BCIM	0.565	0.649	0.500	0.654	1.000																												
BCHA	0.491	0.621	0.511	0.712	0.679	1.000																											
BDIL	0.588	0.607	0.500	0.640	0.640	0.466	1.000																										
BDVP	0.478	0.431	0.410	0.401	0.464	0.600	0.362	1.000																									
BFOS	0.478	0.348	0.511	0.383	0.483	0.563	0.444	0.488	1.000																								
BOUA	0.542	0.423	0.573	0.491	0.663	0.630	0.542	0.511	0.653	1.000																							
BMAN	0.640	0.655	0.483	0.714	0.553	0.661	0.653	0.488	0.444	0.510	1.000																						
BMAP	0.636	0.409	0.613	0.520	0.653	0.688	0.500	0.419	0.719	0.822	0.542	1.000																					
BNAM	0.435	0.549	0.545	0.654	0.473	0.642	0.483	0.444	0.483	0.426	0.503	0.500	1.000																				
BNAP	0.708	0.604	0.565	0.778	0.703	0.630	0.664	0.622	0.485	0.480	0.662	0.609	0.653	1.000																			
BNIU	0.488	0.400	0.613	0.480	0.561	0.510	0.563	0.533	0.513	0.578	0.483	0.524	0.503	0.489	1.000																		
BNPU	0.867	0.586	0.573	0.642	0.653	0.556	0.717	0.488	0.524	0.583	0.583	0.672	0.253	0.653	0.638	1.000																	
BOMB	0.539	0.597	0.800	0.621	0.654	0.655	0.673	0.620	0.511	0.604	0.571	0.580	0.471	0.630	0.612	0.679	1.000																
BPAL	0.391	0.471	0.403	0.423	0.565	0.600	0.643	0.318	0.537	0.638	0.463	0.500	0.553	0.417	0.598	0.426	0.677	1.000															
BPAM	0.571	0.653	0.400	0.642	0.613	0.542	0.563	0.480	0.487	0.668	0.522	0.560	0.537	0.636	0.467	0.568	0.542	0.571	1.000														
BPAS	0.609	0.610	0.643	0.654	0.522	0.528	0.513	0.405	0.342	0.426	0.503	0.465	0.565	0.681	0.533	0.542	0.510	0.444	0.489	1.000													
BPAT	0.622	0.480	0.563	0.510	0.743	0.588	0.663	0.485	0.563	0.600	0.531	0.651	0.643	0.638	0.519	0.566	0.667	0.622	0.488	0.609	1.000												
BPER	0.417	0.415	0.622	0.453	0.483	0.444	0.583	0.417	0.423	0.500	0.362	0.480	0.563	0.480	0.590	0.440	0.604	0.653	0.485	0.411	0.522	1.000											
BPON	0.539	0.561	0.523	0.598	0.615	0.665	0.671	0.620	0.563	0.642	0.673	0.640	0.451	0.630	0.643	0.679	0.750	0.616	0.600	0.510	0.628	0.415	1.000										
BPFD	0.342	0.478	0.482	0.511	0.483	0.417	0.565	0.342	0.363	0.476	0.311	0.359	0.483	0.465	0.490	0.419	0.611	0.637	0.378	0.390	0.450	0.425	0.383	1.000									
BPUC	0.680	0.582	0.560	0.643	0.723	0.571	0.741	0.417	0.463	0.667	0.653	0.542	0.443	0.664	0.638	0.745	0.750	0.640	0.565	0.53	0.694	0.471	0.679	0.533	1.000								
BYAS	0.651	0.488	0.634	0.571	0.653	0.553	0.639	0.533	0.548	0.511	0.634	0.571	0.622	0.640	0.591	0.604	0.612	0.564	0.57	0.714	0.561	0.612	0.573	0.638	1.000								
CFHI	0.586	0.562	0.623	0.644	0.461	0.610	0.523	0.510	0.653	0.593	0.561	0.649	0.533	0.618	0.600	0.630	0.644	0.453	0.449	0.573	0.492	0.563	0.576	0.642	0.597	1.000							
CMAP	0.356	0.280	0.653	0.353	0.444	0.549	0.387	0.419	0.653	0.730	0.387	0.612	0.463	0.383	0.514	0.436	0.510	0.533	0.342	0.384	0.546	0.652	0.471	0.462	0.490	0.473	1.000						
CINL	0.375	0.491	0.435	0.519	0.542	0.593	0.403	0.391	0.512	0.571	0.422	0.565	0.423	0.480	0.499	0.460	0.630	0.626	0.648	0.384	0.598	0.453	0.593	0.372	0.577	0.483	0.473	0.563	1.000				
CNAN	0.546	0.612	0.423	0.560	0.773	0.680	0.542	0.478	0.684	0.687	0.653	0.619	0.485	0.508	0.546	0.667	0.600	0.546	0.600	0.410	0.651	0.365	0.660	0.613	0.667	0.537	0.588	0.612	0.652	1.000			
CIKO	0.588	0.517	0.543	0.576	0.523	0.610	0.567	0.510	0.653	0.667	0.561	0.607	0.523	0.662	0.600	0.560	0.644	0.679	0.612	0.483	0.615	0.667	0.644	0.563	0.632	0.600	0.600	0.664	0.691	0.563	1.000		
COBA	0.665	0.588	0.403	0.692	0.622	0.654	0.563	0.364	0.517	0.653	0.733	0.485	0.667	0.626	0.486	0.611	0.492	0.622	0.476	0.578	0.533	0.363	0.500	0.403	0.600	0.512	0.588	0.444	0.458	0.561	0.528	1.000	
COCA	0.524	0.611	0.403	0.583	0.667	0.583	0.563	0.450	0.541	0.658	0.473	0.600	0.463	0.636	0.613	0.606	0.542	0.476	0.526	0.342	0.537	0.323	0.642	0.563	0.600	0.513	0.671	0.453	0.546	0.563	0.571	0.571	1.000
COCAL	0.488	0.482	0.653	0.529	0.653	0.588	0.642	0.400	0.473	0.667	0.491	0.578	0.543	0.631	0.591	0.626	0.642	0.488	0.419	0.340	0.652	0.563	0.566	0.493	0.628	0.485	0.556	0.662	0.778	0.667	0.630	0.485	0.606	1.000
COJO	0.650	0.356	0.523	0.478	0.653	0.478	0.543	0.421	0.653	0.586	0.425	0.579	0.564	0.571	0.541	0.488	0.406	0.600	0.444	0.416	0.616	0.483	0.478	0.653	0.546	0.563	0.588	0.513	0.476	0.673	0.588	0.563	0.667	0.577	1.000
CZI	0.380	0.478	0.353	0.428	0.483	0.488	0.463	0.410	0.444	0.524	0.463	0.462	0.503	0.372	0.579	0.429	0.428	0.637	0.541	0.353	0.650	0.429	0.426	0.363	0.578	0.503	0.417	0.503	0.688	0.615	0.683	0.453	0.487	0.611	0.457	1.000
CIC	0.429	0.340	0.653	0.500	0.473	0.542	0.473	0.450	0.541	0.556	0.361	0.560	0.537	0.466	0.517	0.465	0.542	0.424	0.421	0.473	0.537	0.365	0.500	0.453	0.622	0.615	0.652	0.483	0.500	0.453	0.571	0.624	0.474	0.6 2	0.667	0.467
CIS	0.577	0.491	0.723	0.621	0.503	0.588	0.571	0.440	0.483	0.604	0.643	0.520	0.563	0.556	0.571	0.604	0.656	0.639	0.600	0.549	0.588	0.565	0.621	0.611	0.643	0.664	0.576	0.549	0.519	0.443	0.678	0.615	0.375	0.491	0.665	0.426
CHS	0.639	0.639	0.485	0.539	0.478	0.453	0.664	0.488	0.363	0.488	0.603	0.500	0.435	0.667	0.436	0.663	0.492	0.436	0.571	0.51	0.533	0.571	0.539	0.453	0.620	0.612	0.604	0.483	0.600	0.543	0.604	0.473	0.524	0.6 1	0.450	0.300
DERV	0.400	0.400	0.485	0.610	0.652	0.539	0.453	0.456	0.463	0.652	0.463	0.612	0.311	0.478	0.598	0.665	0.640	0.466	0.450	0.400	0.568	0.465	0.520	0.652	0.683	0.483	0.510	0.651	0.666	0.667	0.628	0.364	0.600	0.600	0.474	0.533
DHBC	0.888	0.464	0.631	0.597	0.667	0.632	0.665	0.531	0.565	0.692	0.653	0.653	0.653	0.642	0.626	0.654	0.572	0.708	0.638	0.480	0.640	0.653	0.702	0.522	0.727	0.667	0.656	0.585	0.528	0.663	0.750	0.643	0.636	0.577	0.533	0.652
DHBL	0.580	0.628	0.663	0.630	0.663	0.630	0.615	0.622	0.663	0.776	0.654	0.652	0.563	0.560	0.627	0.653	0.667	0.663	0.546	0.61	0.696	0.671	0.630	0.653	0.654	0.622	0.691	0.653	0.600	0.663	0.764	0.563	0.600	0.653	0.619	0.605
DHBD	0.531	0.482	0.631	0.682	0.443	0.500	0.604	0.500	0.543	0.600	0.653	0.588	0.571	0.628	0.543	0.560	0.618	0.612	0.533	0.400	0.500	0.653	0.619	0.561	0.528	0.653	0.679	0.653	0.610	0.611	0.750	0.453	0.533	0.500	0.651	0.465
DHBT	0.449	0.482	0.611	0.548	0.611	0.679	0.461	0.417	0.563	0.660	0.533	0.606	0.443	0.520	0.543	0.600	0.741	0.542	0.600	0.443	0.563	0.563	0.563	0.563	0.602	0.653	0.656	0.753	0.760	0.653	0.764	0.543	0.646	0.735	0.624	0.568
DTI	0.410	0.600	0.653	0.571	0.410	0.480	0.611	0.400	0.363	0.691	0.463	0.429	0.512	0.444	0.596	0.600	0.612	0.512	0.559	0.611	0.476	0.463	0.531	0.653	0.606	0.563	0.640	0.473	0.400	0.463	0.620	0.425	0.482	0.540	0.487	0.474
GRAI	0.500	0.546	0.563	0.571	0.653	0.607	0.653	0.612	0.667	0.667	0.653	0.625	0.653	0.677	0.563	0.628	0.643	0.680	0.522	0.441	0.612	0.653	0.643	0.463	0.630	0.563	0.632	0.653	0.577	0.542	0.772	0.653	0.478	0.648	0.600	0.578
KL32	0.488	0.395	0.443	0.588	0.653	0.656	0.610	0.478	0.453	0.642	0.491	0.533	0.483	0.642	0.578	0.542	0.642	0.622	0.429	0.426	0.489	0.563	0.577	0.524	0.600	0.512	0.528	0.573	0.642	0.543	0.642	0.361	0.571	0.618	0.600	0.342
KLAT	0.652	0.640	0.643	0.656	0.724	0.708	0.677	0.632	0.653	0.610	0.581	0.607	0.653	0.746	0.607	0.600	0.644	0.782	0.626	0.642	0.652	0.607	0.573	0.667	0.663	0.653	0.625	0.484	0.642	0.653	0.656	0.461	0.604	0.648	0.471	0.453
KLATY	0.800	0.509	0.653	0.571	0.653	0.528	0.653	0.612	0.653	0.746	0.565	0.583	0.563	0.664	0.626	0.588	0.679	0.800	0.622	0.480	0.571	0.667	0.607	0.652	0.667	0.563	0.737	0.667	0.462	0.663	0.772	0.653	0.566	0.598	0.601	0.489
KLCAR	0.571	0.619	0.891	0.655	0.663	0.679	0.563	0.456	0.561	0.660	0.604	0.638	0.612	0.706	0.638	0.640	0.527	0.631	0.578	0.400	0.625	0.563	0.666	0.563	0.717	0.667	0.679	0.563	0.628	0.653	0.643	0.571	0.622	0.710	0.651	0.600
KLEN	0.400	0.449	0.611	0.480	0.653	0.510	0.667	0.556	0.613	0.578	0.463	0.476	0.485	0.478	0.619	0.622	0.480	0.456	0.500	0.400	0.651	0.563	0.520	0.513	0.625	0.654	0.431	0.512	0.391	0.571	0.549	0.364	0.500	0.449	0.421	0.513
KLCO	0.478	0.471	0.543	0.492	0.625	0.491	0.643	0.444	0.453	0.488	0.563	0.548	0.473	0.542	0.456	0.563	0.692	0.522	0.624	0.39	0.622	0.563	0.577	0.557	0.600	0.744	0.528	0.444	0.417	0.563	0.642	0.415	0.624	0.563	0.600	0.480
KLCRI	0.500	0.628	0.653	0.652	0.577	0.609	0.667	0.471	0.453	0.628	0.563	0.480	0.563	0.630	0.560	0.666	0.666	0.500	0.642	0.480	0.471	0.653	0.621	0.653	0.607	0.651	0.642	0.471	0.444	0.653	0.678	0.365	0.583	0.546	0.478	0.340
KLCHA	0.604	0.617	0.589	0.576	0.653	0.633	0.567	0.539	0.563	0.704	0.561	0.588	0.461	0.682	0.598	0.593	0.678	0.604	0.571	0.40	0.692	0.653	0.610	0.563	0.607	0.653	0.633	0.615	0.661	0.653	0.767	0.453	0.448	0.714	0.653	0.667
KLHOR	0.471	0.600	0.631	0.561	0.653	0.652	0.651	0.440	0.522	0.654	0.563	0.449	0.471	0.528	0.571	0.677	0.667	0.698	0.488	0.390	0.720	0.677	0.507	0.653	0.691	0.667	0.652	0.653	0.586	0.571	0.769	0.543	0.511	0.654	0.578	0.365
KLDR	0.600	0.491	0.503	0.519	0.653	0.548	0.577	0.428	0.413	0.531	0.553	0.478	0.542	0.531	0.600	0.449	0.642	0.611	0.772	0.376	0.600	0.612	0.528	0.563	0.649	0.653	0.630	0.565	0.480	0.463	0.566	0.425	0.566	0.563	0.537	0.524
KLFI	0.548	0.487	0.653	0.557	0.653	0.548	0.667	0.609	0.653	0.571	0.573	0.586	0.543	0.561	0.600	0.561	0.680	0.548	0.510	0.473	0.663	0.612	0.623	0.653	0.578	0.654	0.548	0.482	0.421	0.463	0.710	0.453	0.471	0.444	0.480	0.480
KLSR	0.488	0.540	0.631	0.625	0.652	0.708	0.571	0.588	0.653	0.610	0.563	0.600	0.651	0.610	0.626	0.567	0.730	0.488	0.481	0.441	0.607	0.563	0.635	0.461	0.656	0.563	0.594	0.563	0.508	0.543	0.594	0.561	0.580	0.592	0.471	0.462
KLIM	0.356	0.520	0.524	0.660	0.561	0.549	0.653	0.633	0.413	0.533	0.463	0.288	0.543	0.565	0.591	0.511	0.640	0.600	0.450	0.480	0.658	0.563	0.470	0.563	0.583	0.563	0.471	0.425	0.348	0.614	0.549	0.563	0.450	0.444	0.474	0.410
KLJR	0.495	0.431	0.563	0.431	0.673	0.482	0.653	0.622	0.563	0.622	0.453	0.495	0.463	0.511	0.622	0.626	0.588	0.489	0.488	0.39	0.638	0.542	0.510	0.565	0.612	0.619	0.423	0.563	0.340	0.512	0.577	0.453	0.488	0.435	0.513	0.450
KLPI	0.482	0.681	0.531	0.561	0.703	0.621	0.702	0.577	0.563	0.539	0.662	0.531	0.613	0.642	0.667	0.667	0.572	0.510	0.553	0.482	0.690	0.519	0.702	0.611	0.666	0.625	0.517	0.441	0.528	0.663	0.686	0.471	0.553	0.517	0.444	0.463
KLRE	0.536	0.657	0.563	0.623	0.665	0.613	0.714	0.536	0.563	0.571	0.542	0.600	0.563	0.702	0.642	0.600	0.587	0.582	0.628	0.481	0.603	0.565	0.600	0.563	0.644	0.624	0.648	0.444	0.491	0.663	0.677	0.473	0.588	0.536	0.400	0.340
KLS	0.458	0.340	0.473	0.492	0.563	0.436	0.563	0.458	0.465	0.571	0.453	0.505	0.375	0.480	0.618	0.620	0.563	0.563	0.548	0.376	0.563	0.463	0.630	0.465	0.615	0.667	0.473	0.611	0.600	0.563	0.764	0.417	0.636	0.571	0.571	0.512
KLTO	0.666	0.633	0.643	0.623	0.665	0.646	0.667	0.500	0.563	0.670	0.673	0.642	0.563	0.702	0.642	0.602	0.697	0.546	0.588	0.473	0.704	0.652	0.656	0.653	0.712	0.731	0.613	0.653	0.526	0.663	0.710	0.653	0.549	0.607	0.400	0.460
LHE	0.549	0.464	0.493	0.561	0.441	0.652	0.535	0.510	0.563	0.500	0.435	0.612	0.471	0.528	0.670	0.642	0.632	0.510	0.429	0.47	0.560	0.463	0.632	0.563	0.646	0.653	0.621	0.463	0.528	0.571	0.724	0.453	0.638	0.539	0.533	0.435
LHI	0.522	0.431	0.591	0.500	0.463	0.463	0.613	0.405	0.463	0.611	0.363	0.500	0.653	0.600	0.489	0.542	0.677	0.478	0.429	0.622	0.578	0.463	0.500	0.563	0.620	0.744	0.604	0.444	0.456	0.653	0.604	0.473	0.524	0.478	0.650	0.409
LPI	0.478	0.392	0.503	0.492	0.522	0.629	0.513	0.478	0.653	0.653	0.330	0.636	0.473	0.542	0.400	0.500	0.577	0.478	0.524	0.346	0.578	0.542	0.482	0.537	0.480	0.653	0.586	0.463	0.503	0.653	0.642	0.361	0.571	0.596	0.650	0.409
NIC	0.882	0.600	0.563	0.689	0.613	0.613	0.667	0.500	0.653	0.636	0.673	0.604	0.545	0.702	0.656	0.667	0.721	0.473	0.471	0.582	0.630	0.463	0.656	0.653	0.678	0.654	0.645	0.444	0.491	0.653	0.677	0.453	0.628	0.654	0.480	0.400
NIQ	0.531	0.619	0.653	0.500	0.571	0.600	0.653	0.480	0.653	0.660	0.481	0.488	0.463	0.471	0.542	0.586	0.618	0.400	0.444	0.387	0.563	0.653	0.509	0.653	0.528	0.653	0.500	0.563	0.314	0.463	0.607	0.463	0.444	0.440	0.612	0.400
NIB2	0.480	0.473	0.373	0.500	0.463	0.597	0.653	0.480	0.463	0.510	0.463	0.500	0.553	0.600	0.531	0.492	0.607	0.640	0.522	0.440	0.531	0.577	0.607	0.573	0.556	0.611	0.526	0.463	0.492	0.463	0.772	0.463	0.522	0.411	0.500	0.444
OIA	0.611	0.386	0.441	0.453	0.611	0.444	0.563	0.298	0.463	0.642	0.513	0.444	0.463	0.631	0.476	0.571	0.491	0.489	0.419	0.484	0.522	0.367	0.528	0.571	0.667	0.563	0.656	0.473	0.367	0.579	0.519	0.611	0.556	0.417	0.537	0.429
OHL	0.509	0.667	0.491	0.590	0.653	0.581	0.667	0.648	0.463	0.640	0.613	0.453	0.643	0.626	0.516	0.491	0.600	0.609	0.588	0.473	0.444	0.461	0.623	0.653	0.642	0.653	0.548	0.482	0.421	0.461	0.613	0.473	0.471	0.303	0.387	0.480
POTO	0.612	0.609	0.481	0.631	0.653	0.480	0.653	0.612	0.463	0.636	0.463	0.488	0.463	0.578	0.429	0.533	0.571	0.608	0.604	0.326	0.524	0.653	0.531	0.653	0.608	0.653	0.480	0.571	0.480	0.653	0.640	0.453	0.616	0.548	0.606	0.454
PIDA	0.522	0.471	0.591	0.577	0.653	0.628	0.653	0.405	0.463	0.639	0.463	0.500	0.553	0.583	0.578	0.583	0.615	0.622	0.476	0.479	0.622	0.653	0.539	0.653	0.640	0.653	0.604	0.653	0.450	0.653	0.679	0.473	0.619	0.653	0.600	0.480
PIDU	0.456	0.453	0.523	0.519	0.542	0.691	0.461	0.456	0.563	0.612	0.422	0.566	0.653	0.449	0.600	0.642	0.600	0.466	0.411	0.522	0.560	0.653	0.560	0.653	0.628	0.561	0.563	0.653	0.671	0.653	0.741	0.453	0.485	0.653	0.565	0.654
PIK	0.383	0.482	0.441	0.453	0.363	0.619	0.453	0.340	0.361	0.376	0.362	0.356	0.453	0.375	0.416	0.387	0.577	0.304	0.239	0.480	0.400	0.463	0.395	0.453	0.440	0.425	0.528	0.453	0.417	0.364	0.415	0.361	0.381	0.5 1	0.400	0.340
PIF	0.440	0.682	0.417	0.536	0.653	0.581	0.613	0.440	0.444	0.510	0.482	0.417	0.563	0.639	0.490	0.538	0.750	0.600	0.622	0.480	0.671	0.653	0.671	0.573	0.704	0.563	0.491	0.453	0.600	0.563	0.528	0.563	0.622	0.411	0.456	0.444
PIN	0.466	0.420	0.381	0.440	0.392	0.453	0.456	0.422	0.480	0.463	0.476	0.463	0.478	0.612	0.622	0.640	0.500	0.480	0.331	0.512	0.453	0.640	0.664	0.560	0.557	0.640	0.612	0.665	0.571	0.589	0.453	0.600	0.578	0.526	0.482	0.400
PIOM	0.542	0.491	0.523	0.482	0.503	0.435	0.642	0.417	0.463	0.531	0.503	0.609	0.417	0.600	0.611	0.560	0.667	0.583	0.648	0.331	0.636	0.563	0.630	0.563	0.616	0.622	0.509	0.463	0.640	0.522	0.764	0.373	0.591	0.653	0.571	0.568
PIOS	0.410	0.375	0.483	0.327	0.419	0.560	0.353	0.372	0.564	0.578	0.363	0.489	0.419	0.409	0.419	0.444	0.458	0.429	0.388	0.486	0.488	0.444	0.458	0.363	0.435	0.482	0.449	0.565	0.500	0.563	0.480	0.463	0.421	0.495	0.500	0.422
PIPO	0.363	0.571	0.443	0.456	0.411	0.566	0.423	0.431	0.343	0.539	0.543	0.387	0.413	0.386	0.400	0.377	0.571	0.440	0.348	0.43	0.480	0.411	0.571	0.361	0.407	0.463	0.421	0.571	0.577	0.463	0.456	0.463	0.348	0.548	0.364	0.453
PIPT	0.314	0.484	0.401	0.386	0.314	0.448	0.363	0.392	0.511	0.491	0.401	0.387	0.513	0.348	0.400	0.240	0.500	0.400	0.304	0.276	0.367	0.481	0.429	0.361	0.407	0.363	0.481	0.551	0.500	0.417	0.481	0.463	0.435	0.411	0.408	0.348
PIQN	0.456	0.419	0.473	0.540	0.561	0.625	0.615	0.528	0.482	0.517	0.425	0.509	0.461	0.552	0.536	0.600	0.613	0.404	0.482	0.42	0.582	0.653	0.540	0.653	0.533	0.571	0.533	0.571	0.656	0.512	0.636	0.563	0.571	0.742	0.480	0.577
PIQR	0.456	0.408	0.423	0.400	0.425	0.392	0.511	0.456	0.363	0.444	0.503	0.429	0.563	0.489	0.466	0.348	0.671	0.419	0.410	0.400	0.571	0.652	0.480	0.482	0.426	0.563	0.400	0.475	0.480	0.342	0.480	0.363	0.410	0.616	0.541	0.434
PISP	0.482	0.609	0.673	0.567	0.482	0.667	0.563	0.444	0.463	0.473	0.517	0.509	0.513	0.582	0.453	0.429	0.644	0.377	0.408	0.331	0.482	0.571	0.476	0.463	0.491	0.463	0.600	0.563	0.473	0.401	0.567	0.415	0.531	0.578	0.511	0.417
PIA	0.428	0.482	0.623	0.666	0.463

BMAN
BMAP
BNAM
BLAP
BADJ
BAPJ
BCMB
BFAL
BPAM
BFAS
BFAT
BFER
BFON
BFRO
BFUC
BYAP
CCHI
CMAP
CIUL
CHAN
CIIO
COBA
COCA
COCAL
COJO
CZI
CIK
CIS
CHSP
DERN
DHBC
DHBL
DHBD
DHBT
DTI
OIPJ
KL32
KLAT
KLATY
KLCAR
KLCEN
KLCOB
KLCRI	1.000
KLCPA	0.610	1.000
KLFOR	0.667	0.724	1.000
KLDR	0.593	0.666	0.642	1.000
KLFT	0.689	0.710	0.667	0.697	1.000
KLGR	0.626	0.646	0.635	0.600	0.775	1.000
KLIM	0.640	0.688	0.653	0.478	0.667	0.667	1.000
KLOR	0.667	0.677	0.683	0.611	0.764	0.666	0.765	1.000
KLPS	0.702	0.621	0.643	0.628	0.764	0.688	0.745	0.769	1.000
KLRE	0.764	0.677	0.667	0.697	0.600	0.736	0.727	0.760	0.807	1.000
KLSL	0.630	0.582	0.642	0.520	0.657	0.600	0.611	0.542	0.563	0.666	1.000
KLTO	0.689	0.742	0.703	0.632	0.813	0.806	0.667	0.691	0.764	0.800	0.567	1.000
LAE	0.632	0.666	0.643	0.588	0.700	0.636	0.453	0.589	0.567	0.689	0.717	0.700	1.000
LIB	0.539	0.604	0.667	0.642	0.613	0.688	0.653	0.509	0.653	0.607	0.625	0.656	0.624	1.000
LPI	0.600	0.679	0.543	0.600	0.613	0.666	0.403	0.622	0.653	0.643	0.683	0.727	0.745	0.739	1.000
NIC	0.689	0.646	0.667	0.661	0.813	0.748	0.653	0.691	0.764	0.769	0.652	0.813	0.603	0.691	0.661	1.000
NOL	0.582	0.643	0.667	0.688	0.753	0.668	0.703	0.818	0.661	0.748	0.549	0.724	0.563	0.612	0.671	0.690	1.000
NTBI	0.679	0.667	0.613	0.600	0.743	0.645	0.671	0.600	0.607	0.607	0.654	0.678	0.727	0.560	0.643	0.748	0.604	1.000
OA	0.604	0.619	0.654	0.531	0.671	0.600	0.622	0.639	0.653	0.561	0.631	0.607	0.615	0.638	0.463	0.607	0.583	0.471	1.000
OIK	0.623	0.691	0.667	0.526	0.713	0.627	0.667	0.618	0.665	0.648	0.567	0.656	0.653	0.473	0.403	0.626	0.663	0.676	0.633	1.000
POTD	0.612	0.640	0.583	0.633	0.615	0.618	0.613	0.606	0.571	0.642	0.622	0.692	0.642	0.668	0.621	0.677	0.662	0.638	0.603	0.677	1.000
PIDA	0.692	0.642	0.784	0.625	0.651	0.686	0.711	0.739	0.654	0.679	0.667	0.691	0.703	0.730	0.565	0.691	0.664	0.600	0.765	0.656	0.661	1.000
PIDU	0.593	0.691	0.604	0.640	0.567	0.600	0.563	0.583	0.653	0.621	0.643	0.632	0.642	0.542	0.642	0.697	0.663	0.692	0.453	0.661	0.673	0.687	1.000
PK	0.491	0.619	0.482	0.653	0.603	0.642	0.453	0.428	0.461	0.466	0.367	0.536	0.603	0.511	0.483	0.671	0.653	0.510	0.417	0.393	0.403	0.489	0.612	1.000
PIF	0.643	0.661	0.613	0.539	0.644	0.710	0.604	0.600	0.673	0.733	0.553	0.678	0.645	0.620	0.443	0.644	0.642	0.630	0.643	0.610	0.665	0.600	0.615	0.649	1.000
PN	0.560	0.649	0.671	0.565	0.653	0.538	0.465	0.500	0.603	0.593	0.622	0.604	0.654	0.591	0.503	0.604	0.611	0.683	0.673	0.491	0.634	0.636	0.665	0.480	0.625	1.000
PION	0.636	0.727	0.642	0.600	0.652	0.600	0.423	0.642	0.653	0.666	0.723	0.687	0.673	0.625	0.703	0.687	0.643	0.731	0.443	0.456	0.711	0.683	0.603	0.490	0.653	0.698	1.000
PIOS	0.408	0.620	0.417	0.444	0.603	0.609	0.473	0.512	0.453	0.453	0.403	0.482	0.417	0.419	0.363	0.423	0.473	0.383	0.603	0.482	0.463	0.512	0.652	0.648	0.663	0.409	0.403	1.000
PIPO	0.388	0.686	0.484	0.666	0.487	0.671	0.653	0.392	0.653	0.459	0.413	0.600	0.363	0.392	0.362	0.387	0.462	0.480	0.303	0.667	0.642	0.431	0.623	0.615	0.645	0.480	0.451	0.625	1.000
PIPT	0.386	0.414	0.423	0.566	0.487	0.671	0.403	0.431	0.451	0.428	0.377	0.433	0.367	0.363	0.363	0.480	0.613	0.480	0.463	0.633	0.417	0.431	0.623	0.677	0.645	0.490	0.463	0.583	0.607	1.000
PIQN	0.671	0.688	0.681	0.644	0.653	0.726	0.464	0.526	0.603	0.667	0.613	0.697	0.713	0.697	0.772	0.697	0.653	0.656	0.414	0.486	0.565	0.561	0.644	0.621	0.452	0.648	0.673	0.407	0.643	0.462	1.000
PIQR	0.660	0.688	0.631	0.698	0.604	0.636	0.465	0.691	0.583	0.603	0.622	0.589	0.453	0.648	0.643	0.528	0.653	0.600	0.444	0.491	0.565	0.648	0.525	0.622	0.642	0.671	0.603	0.408	0.663	0.531	0.613	1.000
PHIP	0.667	0.690	0.475	0.714	0.603	0.636	0.483	0.444	0.653	0.594	0.503	0.635	0.503	0.482	0.663	0.671	0.661	0.662	0.453	0.508	0.653	0.519	0.643	0.666	0.617	0.539	0.643	0.431	0.642	0.712	0.565	0.615	1.000
PPA	0.528	0.519	0.615	0.671	0.673	0.678	0.603	0.638	0.565	0.687	0.551	0.607	0.654	0.723	0.563	0.679	0.663	0.628	0.603	0.536	0.603	0.681	0.612	0.600	0.563	0.633	0.551	0.409	0.543	0.482	0.665	0.633	0.645	1.000
PPI	0.491	0.519	0.603	0.449	0.653	0.642	0.473	0.563	0.523	0.661	0.612	0.571	0.677	0.681	0.653	0.607	0.683	0.649	0.642	0.484	0.645	0.563	0.453	0.408	0.471	0.480	0.612	0.648	0.365	0.600	0.662	0.633	0.645	0.708	1.000
RTNI	0.612	0.600	0.625	0.489	0.662	0.618	0.714	0.791	0.571	0.642	0.653	0.615	0.667	0.744	0.605	0.654	0.753	0.681	0.651	0.615	0.603	0.744	0.653	0.456	0.665	0.537	0.633	0.400	0.375	0.417	0.563	0.695	0.362	0.727	0.561	1.000
SAIR	0.628	0.692	0.723	0.563	0.667	0.626	0.561	0.711	0.667	0.666	0.653	0.630	0.643	0.711	0.667	0.630	0.703	0.663	0.603	0.558	0.671	0.800	0.661	0.478	0.531	0.569	0.723	0.524	0.443	0.480	0.607	0.605	0.451	0.698	0.662	0.782	1.000
SAUI	0.649	0.577	0.683	0.511	0.653	0.561	0.653	0.756	0.623	0.666	0.563	0.667	0.643	0.667	0.573	0.630	0.667	0.490	0.662	0.566	0.654	0.711	0.483	0.391	0.671	0.612	0.663	0.476	0.363	0.440	0.671	0.512	0.415	0.585	0.603	0.782	0.727	1.000
SCHOMA	0.631	0.440	0.503	0.400	0.677	0.473	0.654	0.651	0.612	0.642	0.444	0.539	0.417	0.466	0.463	0.600	0.565	0.428	0.403	0.423	0.463	0.569	0.463	0.409	0.483	0.409	0.653	0.460	0.333	0.333	0.482	0.439	0.431	0.600	0.643	0.500	0.613	0.671	1.000
SHI	0.617	0.678	0.667	0.444	0.667	0.500	0.471	0.577	0.483	0.548	0.667	0.536	0.661	0.677	0.653	0.657	0.662	0.607	0.461	0.492	0.612	0.577	0.663	0.415	0.553	0.620	0.704	0.571	0.461	0.651	0.571	0.620	0.603	0.642	0.765	0.571	0.705	0.628	0.531	1.000
TACO	0.458	0.449	0.511	0.548	0.653	0.668	0.657	0.624	0.603	0.539	0.643	0.610	0.663	0.618	0.613	0.610	0.673	0.622	0.413	0.610	0.613	0.619	0.643	0.612	0.465	0.460	0.465	0.410	0.363	0.468	0.665	0.600	0.553	0.688	0.651	0.815	0.565	0.637	0.534	0.500	1.000
TCAT	0.468	0.683	0.665	0.468	0.603	0.528	0.563	0.595	0.665	0.649	0.605	0.600	0.603	0.634	0.483	0.600	0.561	0.678	0.473	0.539	0.653	0.686	0.605	0.429	0.653	0.616	0.663	0.474	0.473	0.348	0.603	0.584	0.367	0.671	0.624	0.684	0.663	0.600	0.421	0.653	0.432	1.000
TCOV	0.490	0.600	0.625	0.672	0.603	0.509	0.524	0.605	0.443	0.628	0.622	0.600	0.603	0.669	0.612	0.482	0.665	0.426	0.603	0.482	0.563	0.605	0.579	0.500	0.511	0.390	0.653	0.600	0.642	0.417	0.663	0.586	0.471	0.466	0.603	0.600	0.671	0.624	0.630	0.671	0.482	0.474	1.000
TTRD	0.642	0.704	0.692	0.612	0.714	0.576	0.552	0.638	0.565	0.687	0.725	0.679	0.662	0.661	0.563	0.679	0.643	0.628	0.667	0.636	0.543	0.723	0.663	0.468	0.543	0.578	0.654	0.591	0.463	0.423	0.653	0.622	0.473	0.683	0.667	0.638	0.733	0.682	0.630	0.679	0.598	0.714	0.536	1.000
VTI	0.642	0.741	0.731	0.612	0.673	0.610	0.603	0.723	0.642	0.687	0.663	0.679	0.615	0.723	0.653	0.643	0.723	0.667	0.665	0.636	0.653	0.786	0.654	0.542	0.563	0.678	0.815	0.546	0.603	0.639	0.585	0.667	0.662	0.687	0.703	0.727	0.913	0.698	0.531	0.717	0.598	0.687	0.591	0.792	1.000

Figura Nº Dendrograma de SSR+AFLP de 71 variedades Argentinas de trigo pan
Construido mediante método UPGMA a partir de coeficientes de similitud de Dice.



3.1.Matriz de Identidad de AFLPs

En la tabla Nº16 se presenta la matriz de identidad confeccionada a partir de los "alelos" de AFLP. Los tamaños se indican en pares de bases, en la parte superior, así como el correspondiente par de oligonucleótidos utilizados en la amplificación final.

4. EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LOS DATOS MOLECULARES, FENOTÍPICOS Y DE GENEALOGÍA

4.1. COMPARACIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE MICROSATÉLITES, AFLPs, RFLPs, COEFICIENTES DE PARENTESCO Y DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS.

Para la comparación de las correlaciones entre los distintos marcadores moleculares, coeficientes de parentesco y los descriptores morfológicos, se utilizaron datos de 67 cultivares, para los cuales se disponía de información comparativa completa entre las distintas técnicas evaluadas.

Las matrices de índices de similitud calculadas sobre la base de los datos de microsatélites, AFLPs, RFLPs, de coeficientes de parentesco fueron correlacionadas con la matriz de similitud generada a partir de los datos fenotípicos, y su significancia fue evaluada utilizando el test de Mantel (Mantel, 1967). Los datos de coeficientes de parentesco y de índices de similitud presentaron un buen ajuste a la distribución normal.

Se observan valores de correlación muy bajos, aunque significativos para las distintas técnicas comparadas con los datos fenotípicos, presentando valores de correlación entre 0,1334 para AFLP+SSR y – 0,0127 para RFLP, (este último no significativo).

La técnica de AFLP y microsatélites (SSR) utilizada en conjunto (AFLP+SSR) muestra la correlación más alta con los descriptores morfológicos en comparación a las demás técnicas. La diferencia de los valores de *r* de AFLP+SSR y las demás técnicas no son significativas, excepto para RFLP.

Luego de las técnicas de AFLP+SSR, los coeficientes de parentesco muestran valores de correlación mayores que ambas técnicas consideradas separadamente y las diferencias entre sus coeficientes de correlación *r* no son significativas.

La técnica de RFLP muestra el valor menor de correlación, siendo éste muy bajo (*r* = -0,013) y significativamente distinto a los provenientes de la correlación de descriptores morfológicos y las demás técnicas moleculares.

La tabla N°17 muestra los coeficientes de correlación de las matrices de similitud generadas a partir de cada una de las técnicas moleculares y matriz de coeficientes de parentesco y la matriz de similitud originada en los datos fenotípicos.

Tabla N° 17. Valores de coeficientes de correlación entre matrices de similitud de SSR (Microsatélites), AFLP, RFLP, matriz de coeficientes de parentesco (*f*) con matriz de similitud de datos fenotípicos.

(m1)	r (m1 vs fenotípicos)		ts/ AFLP	RFLP	SSR	AFLP+SSR
AFLP	**0.10559**	AFLP	---			
RFLP	**-0.01271**	RFLP	**S***	—		
SSR	**0.10628**	SSR	**NS**	**S**	—	
AFLP+SSR	**0.13340**	AFLP+SSR	**NS**	**S**	**NS**	—
f	**0.12239**	KS	**NS**	**S**	**NS**	**NS**

N = 2211 *significativo (*P<0.05*)

4.2. COMPARACIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE MICROSATÉLITES, AFLPs, RFLPs Y DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS CON COEFICIENTES DE PARENTESCO.

Al igual que para el punto 4.1, para la comparación de las correlaciones entre los distintos marcadores moleculares, coeficientes de parentesco y los descriptores morfológicos, se utilizaron datos de 67 cultivares, para los cuales se disponía de información comparativa completa entre las distintas técnicas evaluadas.

Se calcularon los coeficientes de parentesco (*f*) utilizando el programa IWIS (Fox, 1996) según se detalla en la sección Materiales y Métodos de este

trabajo. Se incluyeron en el análisis sólo aquellas variedades con que se contaban con datos de pedigrí. Dichos datos se extrajeron de la Base de Datos de CIMMYT (México).

Los valores hallados para los coeficientes de parentesco tienen un máximo de 0,64 y un mínimo de 0, siendo el valor promedio 0,082 ± 0,13 (desvío estandar). Los pares de cultivares con bajos valores de coeficientes de parentesco (f< 0,1) representan un 63% del total de los pares comparados.

Se computaron las correlaciones entre las matrices de similitud generadas a partir de datos de microsatélites, de AFLPs, RFLPs y datos fenotípicos.

La tabla Nº 18 Muestra los valores de los coeficientes de correlación entre matrices de similitud basadas en 2211 pares de cultivares y generadas con datos moleculares y fenotípicos y la matriz de coeficientes de parentesco.

Tabla Nº 18 Valores de coeficientes de correlación entre matrices de similitud de SSR (Microsatélites), AFLP, RFLP, datos fenotípicos con matriz de coeficientes de parentesco (f). Los valores de correlación son significativos y fueron testados mediante test de Mantel ($P<0.05$). Columnas 2, 3 y 4: significancia de la correlación entre matriz de coeficientes de parentesco con matrices de similitud de las distintas técnicas.

(m1)	r (m1 vs f)		Ts/ AFLP	RFLP	SSR	AFLP+SSR
AFLP	0.30301*	AFLP	-----			
RFLP	-0.0576	RFLP	S	-----		
SSR	0.25659*	SSR	NS	S	-----	
AFLP+SSR	0.3369*	AFLP+SSR	NS	S	NS	----
Fenotípicos	0.12239*	Fenotípicos	S	S	S	S

N = 2211 *significativo P<0.05

Los valores correspondientes a la correlación (r) de los índices de similitud generados a partir de cada una de las técnicas moleculares con los coeficientes de parentesco oscilan entre 0,3369 y 0,12239. El coeficiente de correlación de la matriz de coeficientes de parentesco y la matriz de similitud de RFLP es no significativo. Los valores más altos de correlación corresponden, en primer lugar, a las dos técnicas (AFLP + SSR) analizadas conjuntamente, luego a la técnica de AFLP, seguida por los SSR y finalmente por los datos

fenotípicos, es decir, los descriptores morfológicos. Las diferencias halladas entre los valores de índices de correlación con marcadores moleculares índices no son significativas. La diferencia es significativa entre estos índices y el correspondiente a la correlación con la matriz de coeficientes de parentesco.

Siguiendo la recomendación de Plaschke (1995), de sólo considerar los pares de cultivares emparentados, se calcularon las correlaciones de matrices de similitud generadas a partir de datos moleculares y de datos fenotípicos con los pares de cultivares con $f \geq 0.1$. Los valores de correlación (r) se muestran en la tabla Nº 19

Tabla Nº 19. Valores de coeficientes de correlación entre matrices de similitud de microsatélites, AFLP, RFLP y de datos fenotípicos con matriz de coeficientes de parentesco(f) ($f \geq 0.1$). Los valores de correlación resultan significativos al ser testeados mediante test de Mantel ($P<0.05$). La significancia de las diferencias entre coeficientes de correlación se indica en la tabla.

(m1)	r (m1 vs f con $f \geq 0.1$)		ts/ AFLP	RFLP	SSR	AFLP+SSR
AFLP	0.34290	AFLP	---			
RFLP	0.15	RFLP	S*	---		
SSR	0.18207	SSR	*(z=3.3896)	NS	---	
AFLP+SSR	0.3347	AFLP+SSR	NS	S*	S*	---
Fenotípicos	0.00987(NS)	Fenotípicos	S*	NS	Ns(z=0.6745)	S*

N = 690 *significativo P<0.05

La tabla Nº 20 muestra los coeficientes de correlación resultante de la comparación de las matrices de similitud obtenidas con las distintas técnicas moleculares y datos fenotípicos y las matrices de coeficientes de parentesco utilizando todos los pares de datos (f) y sólo considerando los pares de cultivares emparentados ($f \geq 0.1$).

Tabla Nº 20. Coeficientes de correlación provenientes de la comparación de los distintos sistemas y la matriz de coeficientes de parentesco (*f*) considerando todos los pares de cultivares y sólo los emparentados ($f \geq 0.1$).

(m1)	r (m1 vs *f*)	r (m1 vs *f* con $f \geq 0.1$)	Significancia entre *r*
AFLP	0.30301	0.34290	Ns (p = 0.1540) z=1.0194
RFLP	-0.0576	0.15	Signif (p = 0.0005) z=2.1084
SSR	0.25659	0.18207	Ns (p = 0.0365) z=1.7928
AFLP+SSR	0.3369	0.3347	NS
Fenotípicos	0.11239	0.00987	Signif (p = 0.0175) z= 2.1084
	N = 2211	N = 690	$P<0.05$

Distancias mínimas

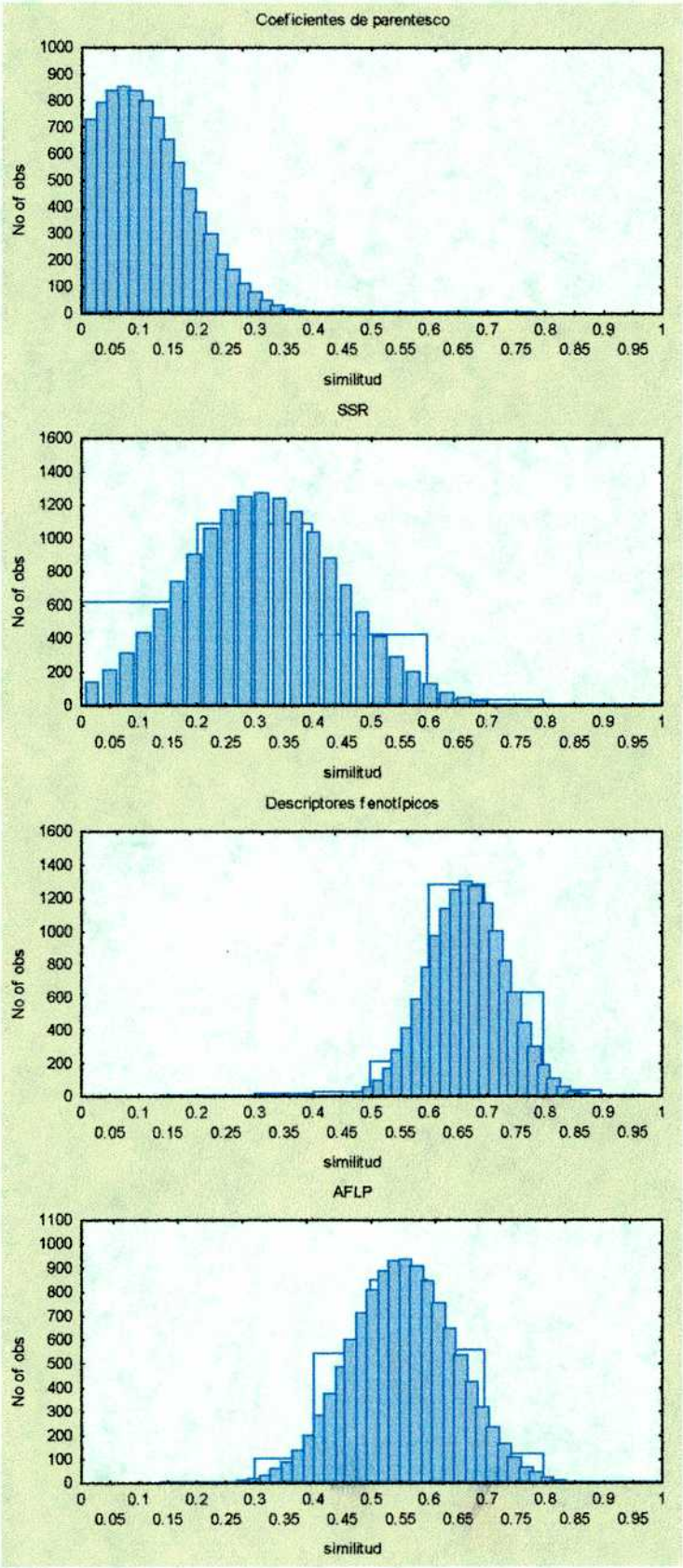
Se calcularon las distancias máximas y mínimas correspondientes a los descriptores fenotípicos, coeficientes de parentesco, AFLP y microsatélites (SSR). Los valores de las distancias mínimas se encuentran en un rango de 0.36 (para los coeficientes de parentesco) y de 0.09 (para las AFLP), siendo el valor promedio 0.20675. La tabla Nº21 muestra las distancias mínimas correspondientes a los distintos descriptores evaluados.

Tabla Nº21. Distancias mínimas correspondientes a los distintos descriptores evaluados.

Distancia (1 - coef similitud)	Fenotípicos	Parentesco	AFLP	SSR
Máxima	0,677	1	0,76	1
Mínima	0,111	0,36	0,09	0,1

La distancia mínima determinada con descriptores fenotípicos presentó un valor de 0.111 para el par de variedades Buck Atlántico y Coooperación Maipún. Para el mismo par de cultivares se observó un valor de distancia mínima de 0,74 para microsatélites, 0,72 para AFLP y 1 para coeficientes de parentesco.

Figura Nº Distribución de la similitud estimada por medio de marcadores moleculatres SSR y AFLP, coeficientes de parentesco y descriptores morfológicos utilizando el coeficiente de Dice.



4.3. COMPARACIÓN DE MICROSATÉLITES, AFLPs, RFLPs, COEFICIENTES DE PARENTESCO y DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS CON SUS RESPECTIVAS MATRICES COFENÉTICAS

A fin de evaluar la distorsión existente en la representación de la matriz de similitud por medio del dendrograma, se correlacionó cada matriz de similitud que dio origen a cada dendrograma con su respectiva matriz cofenética (generada a partir del dendrograma). Una alta correlación entre ellas es señal de escasa distorsión de la representación bidimensional de la matriz de similitud

Los valores de correlación entre cada una de las matrices de similitud basadas en datos moleculares, fenotípicos y la matriz de coeficientes de parentesco con su respectiva matriz cofenética, oscilan entre 0,60 para datos fenotípicos y 0,79788 para SSRs, siendo todas las correlaciones significativas (Mantel, $P<0,05$), se muestran en la tabla Nº22

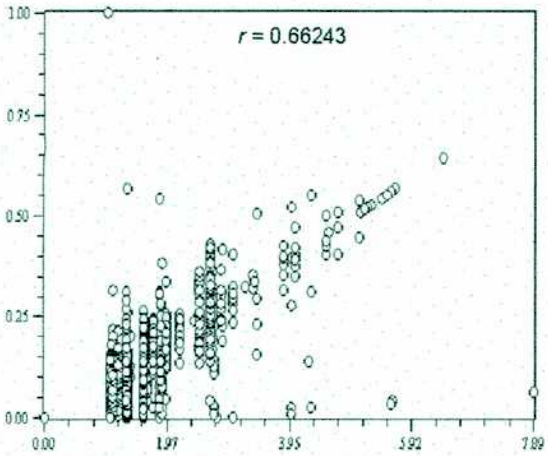
Tabla Nº 22 Coeficientes de correlación entre cada una de las matrices de similitud originada con cada técnica y su respectiva matriz cofenética.

	r	AFLP	RFLP	SSR	KS
AFLP	0.64708				
RFLP	0.66162	NS (Z=0.9971 p=0.3187)			
SSR	0.79788	NS (Z=0.5.6121 P=0.0000)	Sig (Z=5.6121 P=0.000)		
KS	0.66243	NS (Z=0.497 P=0.3095)	NS (Z=0.0268 P=0.4893)	NS (Z=5.6121 p=0.3187)	
Fenotipicos	0.60002	NS (Z=0.4973 P=0.3095)	Sig (Z=3.5401 P=0.0002)	S (Z=1.9827 P=0.0237)	Sig Z=3.5401 P=0.0002)

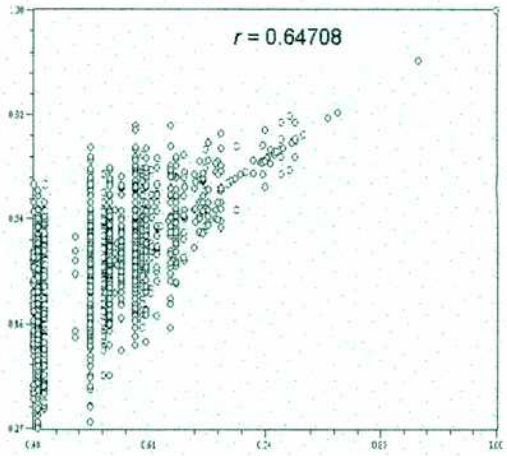
*significativo P<0.05

La figura Nº23 muestra la correlación entre matrices de similtud obtenida a partir de microsatélites, AFLP, descriptores fenotípicos y coeficienes de parentesco con su respectiva matriz cofenética.

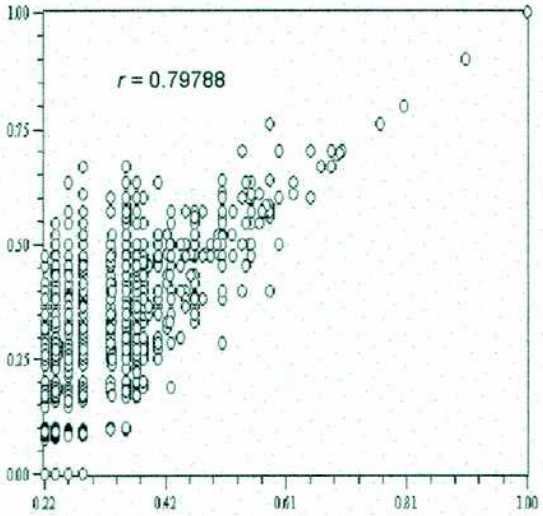
Figura Nº 23 . Correlaciones entre matrices de similitud de microsatélites, AFLP, descriptores fenotípicos y coeficentes de parentesco y sus respectivas matrices cofenéticas. (Test de Mantel, p< 0.05)



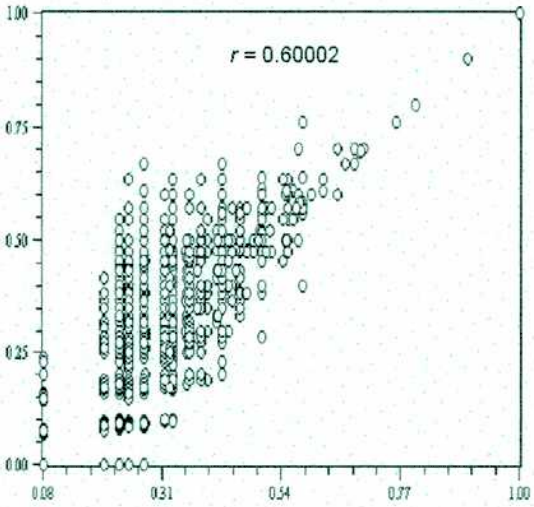
Matriz de coeficientes de parentesco *vs* su matriz cofenética



Matriz de similitud de AFLP *vs* su matriz cofenética



Matriz de similitud de SSR *vs* su matriz cofenética



Matriz de similitud de descriptores fenotípicos *vs* su matriz cofenética

4.4. CORRELACIÓN ENTRE LA MATRIZ DE SIMILITUD DE AFLP Y LA MATRIZ DE SIMILITUD DE MICROSATÉLITES (SSR)

Las matrices de índices de similitud calculadas sobre la base de los datos de microsatélites (SSR) y de AFLP fueron correlacionadas y su significación fue evaluada utilizando el test de Mantel (Mantel, 1967). Las matrices de similitud fueron calculadas para 97 cultivares (cultivares de los que se disponía información sobre ambos tipos de marcadores). El coeficiente de similitud resultó bajo (r = 0,27), pero altamente significativo (Test de Mantel, $P<0,01$)

4.5. CORRELACIÓN ENTRE COEFICIENTES DE PARENTESCO E ÍNDICES DE SIMILITUD BASADOS EN DATOS DE MICROSATÉLITES

El coeficiente de parentesco se calculó para 91 variedades. Sólo se incluyeron aquellas variedades para las cuales los datos respectivos están disponibles en la Base de Datos IWIS (IWIS version 1, Fox *et al.*, 1996).

El valor promedio del coeficiente de parentesco calculado para el grupo de variedades analizadas fue de 0,075 (± 0,10).

Las matrices de índices de similitud calculadas sobre la base de los datos de microsatélites y de coeficientes de parentesco fueron correlacionadas y su significación fue evaluada utilizando el test de Mantel (Mantel, 1967). El estadístico estandarizado de Mantel r_M entre ambas matrices fue estimado en 0.20559. Esta correlación estimada entre los valores de similitud generados a partir de los datos de microsatélites y los datos de pedigríes es baja, pero estadísticamente significativa. (Test de Mantel, $P<0,01$)

La tabla Nº 23 presenta los valores de índices de coeficientes de parentesco (sobre la diagonal en color verde) y los valores de similitud basados en microsatélites (por debajo de la diagonal, en color rojo) correspondientes a los pares de variedades analizadas.

Tabla Nº 23. Matriz de similitud basada en datos de microsatélites calculada utilizando índice de Dice (rojo) y matriz de coeficientes de parentesco (verde).

	38MA	BATL	BBAG	BMAN	BCEN	BCIM	BDIL	BGUA	BMAP	BNAM	BNAP	BNAN	BNAP	BOMB	BPAM	BPAS	BPAT	BPER	BPON	BPAN	BPUC	BYAP	CCHI	CMAP	CMIL	CIANO	COBA	COCA	COCAL	CSI	CZI	CHSP	DERN	DKBL	DKBQ	DKBT	DTI	GRAI	KLAT	KLATY	KLCAR	KLCOB	KLCQ	KCRI	KCHA	KLDOR	KLDR	KLFT	KLGR
38MA	1.00	0.25	0.02	0.18	0.17	0.13	0.03	0.04	0.12	0.10	0.19	0.02	0.07	0.05	0.25	0.03	0.06	0.00	0.02	0.05	0.12	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	0.03	0.09	0.07	0.01	0.02	0.00	0.03	0.10	0.02	0.04	0.13	0.04	0.02	0.06	0.05	0.15	0.15	0.06	0.07	0.04	0.06	0.14
BATL	0.36	1.00	0.01	0.05	0.32	0.31	0.09	0.02	0.07	0.04	0.17	0.01	0.02	0.64	0.08	0.01	0.03	0.00	0.02	0.05	0.17	0.09	0.05	0.00	0.00	0.01	0.15	0.29	0.02	0.18	0.02	0.09	0.02	0.01	0.01	0.05	0.01	0.15	0.02	0.01	0.02	0.01	0.10	0.17	0.06	0.02	0.01	0.03	0.06	0.10
BBAG	0.10	0.29	1.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.15	0.03	0.02	0.01	0.19	0.14	0.17	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.04	0.48	0.00	0.09	0.00	0.00	0.15	0.01	0.09	0.18	0.08	0.10	0.06	0.16	0.16	0.15	0.10	0.12	0.11	0.06	0.19	0.10	0.05	0.10	0.05	0.11	0.06	0.19	0.03	0.03	0.50
BMAN	0.43	0.52	0.09	1.00	0.06	0.34	0.00	0.02	0.15	0.15	0.37	0.03	0.07	0.05	0.15	0.05	0.05	0.00	0.02	0.10	0.18	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.38	0.16	0.02	0.60	0.01	0.06	0.02	0.00	0.01	0.04	0.00	0.02	0.07	0.07	0.01	0.05	0.13	0.10	0.03	0.02	0.02	0.04	0.06
BCEN	0.17	0.25	0.09	0.32	1.00	0.33	0.00	0.02	0.08	0.03	0.33	0.03	0.06	0.04	0.04	0.03	0.04	0.00	0.01	0.05	0.17	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.19	0.10	0.01	0.23	0.01	0.00	0.01	0.00	0.04	0.03	0.00	0.02	0.07	0.01	0.00	0.02	0.07	0.07	0.02	0.02	0.02	0.05	0.06
BCIM	0.18	0.27	0.10	0.26	0.33	1.00	0.06	0.02	0.18	0.09	0.29	0.01	0.28	0.04	0.06	0.00	0.05	0.00	0.04	0.12	0.51	0.00	0.05	0.00	0.00	0.01	0.14	0.11	0.02	0.17	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00	0.05	0.01	0.02	0.11	0.00	0.01	0.07	0.51	0.06	0.03	0.04	0.02	0.08	0.08
BDIL	0.29	0.48	0.30	0.27	0.26	0.38	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.03	0.02	0.09	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BGUA	0.19	0.29	0.30	0.09	0.26	0.38	0.30	1.00	0.03	0.02	0.02	0.17	0.14	0.16	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01	0.04	0.11	0.00	0.12	0.00	0.00	0.19	0.02	0.06	0.23	0.18	0.17	0.00	0.23	0.24	0.17	0.12	0.10	0.20	0.05	0.23	0.15	0.00	0.22	0.03	0.14	0.15	0.32	0.02	0.05
BMAP	0.17	0.17	0.27	0.25	0.48	0.35	0.27	0.09	1.00	0.20	0.27	0.03	0.07	0.04	0.22	0.00	0.11	0.00	0.05	0.02	0.11	0.00	0.04	0.00	0.00	0.02	0.05	0.04	0.02	0.09	0.02	0.00	0.02	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.09	0.03	0.02	0.06	0.11	0.13	0.04	0.06	0.03	0.02	0.05
BNAM	0.09	0.18	0.38	0.26	0.08	0.36	0.19	0.29	0.26	1.00	0.33	0.01	0.04	0.05	0.25	0.00	0.15	0.00	0.09	0.13	0.07	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	0.03	0.09	0.02	0.00	0.03	0.03	0.06	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.02	0.06	0.05	0.51	0.06	0.02	0.02	0.02	0.01
BNAP	0.18	0.18	0.00	0.25	0.50	0.55	0.10	0.10	0.52	0.36	1.00	0.01	0.08	0.04	0.26	0.00	0.17	0.00	0.01	0.16	0.15	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.15	0.05	0.01	0.16	0.01	0.06	0.01	0.00	0.02	0.05	0.01	0.01	0.07	0.01	0.01	0.05	0.15	0.20	0.03	0.02	0.01	0.04	0.06
BNAN	0.36	0.45	0.10	0.26	0.17	0.27	0.38	0.29	0.17	0.09	0.09	1.00	0.37	0.28	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.08	0.13	0.00	0.11	0.00	0.00	0.01	0.07	0.17	0.17	0.23	0.00	0.17	0.24	0.36	0.17	0.17	0.17	0.02	0.22	0.22	0.16	0.03	0.03	0.10	0.11	0.17	0.02	0.02	0.02
BNAP	0.38	0.36	0.10	0.27	0.26	0.29	0.70	0.40	0.27	0.10	0.10	0.67	1.00	0.05	0.02	0.05	0.02	0.00	0.02	0.07	0.57	0.00	0.19	0.00	0.00	0.03	0.04	0.06	0.14	0.16	0.16	0.06	0.14	0.24	0.35	0.14	0.12	0.14	0.05	0.16	0.17	0.13	0.20	0.04	0.09	0.10	0.14	0.04	0.04
BOMB	0.38	0.29	0.40	0.18	0.17	0.38	0.30	0.30	0.27	0.10	0.19	0.57	0.50	1.00	0.05	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.21	0.00	0.15	0.12	0.00	0.00	0.27	0.04	0.06	0.18	0.14	0.18	0.60	0.18	0.34	0.05	0.15	0.17	0.22	0.05	0.19	0.17	0.12	0.17	0.05	0.12	0.12	0.12	0.03
BPAM	0.19	0.19	0.10	0.18	0.09	0.29	0.20	0.20	0.18	0.29	0.19	0.10	0.10	0.00	1.00	0.00	0.18	0.00	0.01	0.16	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.02	0.02	0.01	0.00	0.02	0.02	0.00	0.03	0.11	0.01	0.02	0.11	0.02	0.01	0.07	0.04	0.20	0.00	0.02	0.02	0.06
BPAS	0.36	0.27	0.19	0.26	0.58	0.27	0.48	0.19	0.52	0.09	0.36	0.36	0.48	0.38	0.10	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BPAT	0.19	0.38	0.10	0.27	0.26	0.29	0.50	0.20	0.36	0.10	0.19	0.48	0.40	0.30	0.00	0.48	1.00	0.00	0.01	0.07	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	0.01	0.04	0.01	0.05	0.01	0.00	0.01	0.04	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	0.03	0.13	0.02	0.01	0.01	0.02	0.03
BPER	0.35	0.35	0.36	0.25	0.24	0.26	0.45	0.55	0.33	0.17	0.09	0.52	0.64	0.55	0.09	0.35	0.36	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BPON	0.27	0.27	0.10	0.35	0.25	0.45	0.57	0.29	0.35	0.27	0.18	0.45	0.48	0.29	0.29	0.55	0.46	0.35	1.00	0.03	0.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
BPAN	0.27	0.45	0.38	0.35	0.42	0.55	0.57	0.38	0.52	0.27	0.27	0.36	0.48	0.38	0.38	0.45	0.38	0.52	0.45	1.00	0.00	0.06	0.04	0.00	0.00	0.04	0.02	0.03	0.07	0.02	0.00	0.03	0.01	0.05	0.05	0.05	0.03	0.01	0.05	0.04	0.03	0.05	0.09	0.03	0.04	0.05	0.03	0.06	0.04
BPUC	0.35	0.26	0.16	0.33	0.32	0.26	0.27	0.27	0.33	0.09	0.26	0.35	0.27	0.45	0.09	0.43	0.27	0.33	0.26	0.26	1.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.20	0.12	0.09	0.09	0.11	0.15	0.10	0.09	0.11	0.14	0.14	0.10	0.09	0.10	0.09	0.14	0.11	0.09	0.31	0.08	0.09	0.09	0.11	0.08
BYAP	0.19	0.29	0.20	0.27	0.17	0.29	0.40	0.20	0.27	0.10	0.10	0.48	0.50	0.40	0.00	0.38	0.50	0.36	0.38	0.38	0.18	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CCHI	0.43	0.35	0.27	0.42	0.32	0.26	0.36	0.45	0.25	0.26	0.09	0.43	0.45	0.36	0.27	0.26	0.27	0.50	0.35	0.43	0.42	0.27	1.00	0.00	0.00	0.11	0.05	0.06	0.11	0.12	0.10	0.03	0.11	0.11	0.10	0.06	0.13	0.15	0.11	0.10	0.10	0.02	0.05	0.05	0.08	0.07	0.11	0.02	0.02
CMAP	0.35	0.26	0.18	0.42	0.48	0.09	0.27	0.27	0.42	0.17	0.26	0.26	0.27	0.18	0.09	0.52	0.27	0.33	0.26	0.26	0.58	0.18	0.50	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CMIL	0.35	0.35	0.45	0.17	0.24	0.17	0.36	0.27	0.33	0.17	0.17	0.26	0.27	0.36	0.09	0.43	0.18	0.50	0.17	0.43	0.42	0.18	0.33	0.33	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CIANO	0.19	0.10	0.40	0.09	0.09	0.10	0.20	0.30	0.27	0.10	0.00	0.38	0.40	0.50	0.00	0.29	0.39	0.55	0.29	0.29	0.18	0.40	0.18	0.09	0.18	1.00	0.00	0.08	0.03	0.27	0.03	0.20	0.55	0.42	0.17	0.16	0.21	0.02	0.23	0.18	0.16	0.09	0.05	0.10	0.14	0.16	0.01	0.01	0.01
COBA	0.33	0.33	0.26	0.40	0.31	0.33	0.43	0.17	0.40	0.42	0.17	0.25	0.35	0.26	0.35	0.42	0.17	0.24	0.50	0.50	0.24	0.17	0.40	0.32	0.24	0.17	1.00	0.08	0.02	0.11	0.01	0.00	0.02	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	0.04	0.02	0.01	0.04	0.08	0.07	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02
COCA	0.17	0.17	0.18	0.17	0.49	0.35	0.27	0.27	0.33	0.26	0.17	0.17	0.18	0.16	0.27	0.26	0.09	0.17	0.29	0.43	0.17	0.09	0.33	0.25	0.17	0.09	0.64	1.00	0.05	0.19	0.05	0.10	0.25	0.18	0.35	0.09	0.15	0.10	0.25	0.16	0.15	0.03	0.09	0.09	0.09	0.09	0.05	0.05	0.05
COCAL	0.19	0.29	0.30	0.09	0.26	0.38	0.30	0.30	0.18	0.10	0.29	0.19	0.20	0.40	0.00	0.29	0.30	0.27	0.10	0.29	0.18	0.29	0.27	0.27	0.45	0.00	0.17	0.27	1.00	0.00	0.15	0.00	[illegible]	0.25	0.17	0.10	0.11	0.04	0.16	0.18	0.17	0.08	0.12	0.02	0.11	0.12	0.40	0.03	0.03
CSI	0.33	0.25	0.26	0.32	0.23	0.25	0.43	0.35	0.32	0.25	0.17	0.25	0.52	0.35	0.26	0.50	0.17	0.32	0.42	0.33	0.24	0.26	0.32	0.16	0.32	0.26	0.38	0.16	0.17	1.00	0.00	0.00	0.14	0.16	0.08	0.07	0.04	0.08	0.09	0.09	0.09	0.06	0.12	0.05	0.06	0.05	0.07	0.03	0.03
CZI	0.38	0.38	0.30	0.18	0.17	0.10	0.30	0.40	0.18	0.19	0.00	0.48	0.50	0.40	0.20	0.19	0.20	0.55	0.19	0.38	0.27	0.20	0.36	0.27	0.36	0.40	0.17	0.18	0.20	0.35	1.00	0.00	0.18	0.30	0.23	0.15	0.18	0.03	0.45	0.17	0.14	0.16	0.09	0.03	0.16	0.17	0.16	0.03	0.02
CHSP	0.61	0.26	0.09	0.25	0.24	0.17	0.16	0.27	0.17	0.00	0.09	0.26	0.27	0.36	0.09	0.26	0.09	0.25	0.09	0.26	0.42	0.09	0.42	0.25	0.50	0.09	0.32	0.25	0.27	0.32	0.27	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DERN	0.29	0.38	0.10	0.27	0.43	0.48	0.30	0.30	0.27	0.00	0.38	0.38	0.30	0.50	0.10	0.48	0.40	0.27	0.29	0.38	0.45	0.20	0.27	0.36	0.36	0.00	0.26	0.36	0.60	0.26	0.30	0.36	1.00	0.38	0.37	0.10	0.11	0.04	0.18	0.18	0.17	0.08	0.12	0.04	0.11	0.12	0.40	0.02	0.03
DKBL	0.18	0.09	0.48	0.09	0.17	0.09	0.10	0.29	0.43	0.27	0.09	0.27	0.29	0.48	0.00	0.18	0.10	0.52	0.09	0.27	0.35	0.10	0.35	0.26	0.35	0.40	0.25	0.17	0.19	0.25	0.38	0.26	0.10	1.00	0.53	0.17	0.16	0.31	0.27	0.29	0.18	0.16	0.11	0.03	0.12	0.20	0.24	0.01	0.01
DKBQ	0.29	0.19	0.50	0.09	0.09	0.29	0.20	0.50	0.18	0.38	0.10	0.19	0.30	0.50	0.10	0.29	0.20	0.45	0.29	0.29	0.27	0.30	0.36	0.18	0.27	0.50	0.17	0.09	0.20	0.43	0.30	0.18	0.10	0.38	1.00	0.19	0.15	0.05	0.17	0.23	0.16	0.20	0.10	0.03	0.10	0.14	0.16	0.03	0.03
DKBT	0.29	0.10	0.30	0.09	0.17	0.38	0.20	0.50	0.27	0.38	0.19	0.19	0.30	0.40	0.10	0.38	0.20	0.45	0.29	0.29	0.27	0.20	0.36	0.27	0.27	0.50	0.26	0.09	0.20	0.35	0.20	0.18	0.10	0.48	0.70	1.00	0.15	0.13	0.14	0.09	0.19	0.09	0.07	0.12	0.12	0.11	0.11	0.14
DTI	0.48	0.38	0.10	0.36	0.26	0.38	0.60	0.40	0.27	0.10	0.19	0.48	0.70	0.50	0.10	0.57	0.40	0.55	0.48	0.48	0.36	0.50	0.45	0.27	0.36	0.30	0.35	0.18	0.30	0.61	0.40	0.36	0.40	0.19	0.40	0.40	1.00	0.02	0.16	0.11	0.12	0.07	0.04	0.03	0.07	0.06	0.09	0.02	0.02
GRAI	0.09	0.27	0.19	0.26	0.00	0.16	0.19	0.38	0.17	0.36	0.09	0.18	0.19	0.19	0.10	0.09	0.38	0.26	0.18	0.27	0.17	0.19	0.35	0.26	0.26	0.19	0.25	0.17	0.29	0.08	0.19	0.09	0.19	0.18	0.29	0.36	0.19	1.00	0.04	0.04	0.03	0.22	0.08	0.02	0.11	0.12	0.18	0.03	0.03
KLAT	0.32	0.24	0.42	0.15	0.22	0.46	0.33	0.25	0.31	0.32	0.16	0.32	0.33	0.50	0.25	0.40	0.25	0.23	0.48	0.48	0.23	0.42	0.31	0.15	0.23	0.25	0.37	0.31	0.25	0.44	0.17	0.15	0.33	0.16	0.50	0.33	0.33	0.16	1.00	0.16	0.16	0.03	0.10	0.11	0.07	0.09	0.05	0.04	0.05
KLATY	0.38	0.10	0.20	0.09	0.09	0.29	0.30	0.20	0.16	0.10	0.10	0.38	0.50	0.60	0.00	0.38	0.20	0.36	0.38	0.19	0.27	0.30	0.18	0.09	0.27	0.50	0.17	0.00	0.10	0.43	0.30	0.27	0.20	0.29	0.50	0.40	0.50	0.10	0.50	1.00	0.16	0.11	0.13	0.04	0.13	0.14	0.21	0.02	0.03
KLCAR	0.27	0.27	0.48	0.17	0.25	0.36	0.38	0.48	0.43	0.27	0.09	0.36	0.48	0.57	0.10	0.36	0.38	0.61	0.36	0.64	0.17	0.48	0.52	0.26	0.43	0.48	0.33	0.26	0.38	0.33	0.38	0.26	0.29	0.45	0.57	0.48	0.48	0.36	0.46	0.38	1.00	0.06	0.05	0.01	0.09	0.05	0.15	0.02	0.02
KLCOB	0.18	0.27	0.38	0.09	0.17	0.18	0.19	0.29	0.26	0.18	0.00	0.36	0.36	0.57	0.10	0.27	0.19	0.35	0.27	0.27	0.17	0.29	0.17	0.09	0.17	0.57	0.17	0.17	0.10	0.42	0.38	0.17	0.19	0.36	0.48	0.29	0.29	0.09	0.48	0.57	0.45	1.00	0.09	0.06	0.03	0.09	0.08	0.11	0.15
KLCQ	0.19	0.10	0.40	0.09	0.26	0.57	0.20	0.20	0.19	0.19	0.29	0.19	0.10	0.50	0.20	0.29	0.10	0.09	0.29	0.38	0.18	0.20	0.27	0.18	0.18	0.10	0.35	0.45	0.50	0.17	0.10	0.18	0.60	0.10	0.30	0.20	0.20	0.10	0.58	0.30	0.38	0.29	1.00	0.06	0.09	0.10	0.22	0.02	0.03
KCRI	0.29	0.38	0.30	0.18	0.17	0.51	0.60	0.50	0.18	0.38	0.10	0.39	0.50	0.40	0.30	0.48	0.30	0.36	0.57	0.57	0.45	0.30	0.36	0.16	0.36	0.20	0.43	0.27	0.20	0.52	0.40	0.27	0.40	0.10	0.50	0.40	0.60	0.29	0.58	0.50	0.38	0.38	0.40	1.00	0.12	0.03	0.03	0.08	0.10
KCHA	0.29	0.29	0.30	0.18	0.17	0.29	0.40	0.40	0.27	0.19	0.10	0.48	0.60	0.60	0.10	0.29	0.40	0.64	0.29	0.38	0.18	0.50	0.55	0.27	0.27	0.50	0.17	0.09	0.30	0.35	0.40	0.18	0.20	0.38	0.50	0.40	0.50	0.29	0.42	0.50	0.67	0.48	0.20	0.30	1.00	0.10	0.12	0.04	0.06
KLDOR	0.38	0.29	0.30	0.18	0.17	0.29	0.30	0.40	0.18	0.10	0.10	0.57	0.50	0.60	0.10	0.38	0.20	0.55	0.29	0.38	0.55	0.20	0.36	0.18	0.45	0.50	0.35	0.18	0.30	0.43	0.50	0.45	0.50	0.40	0.50	0.50	0.29	0.33	0.50	0.38	0.48	0.30	0.50	0.40	1.00	0.14	0.29	0.02	0.03
KLDR	0.36	0.18	0.00	0.35	0.33	0.55	0.38	0.48	0.26	0.18	0.36	0.27	0.48	0.29	0.29	0.36	0.19	0.35	0.45	0.36	0.17	0.29	0.35	0.26	0.17	0.19	0.33	0.35	0.38	0.58	0.29	0.26	0.48	0.09	0.36	0.38	0.57	0.09	0.32	0.29	0.36	0.18	0.48	0.38	0.29	0.29	1.00	0.02	0.04
KLFT	0.36	0.36	0.10	0.17	0.17	0.27	0.29	0.48	0.09	0.18	0.09	0.36	0.38	0.29	0.48	0.18	0.19	0.43	0.36	0.36	0.17	0.19	0.61	0.26	0.26	0.10	0.25	0.26	0.29	0.25	0.38	0.26	0.29	0.18	0.29	0.29	0.38	0.27	0.32	0.10	0.45	0.18	0.19	0.29	0.48	0.29	0.36	1.00	0.31
KLGR	0.29	0.38	0.10	0.27	0.17	0.48	0.30	0.20	0.18	0.19	0.19	0.38	0.30	0.40	0.20	0.19	0.30	0.27	0.48	0.48	0.27	0.30	0.36	0.18	0.18	0.10	0.26	0.18	0.20	0.17	0.30	0.09	0.30	0.10	0.20	0.20	0.30	0.29	0.42	0.20	0.38	0.19	0.30	0.40	0.30	0.30	0.19	0.48	1.00
KLIM	0.29	0.38	0.10	0.18	0.35	0.38	0.30	0.50	0.18	0.10	0.19	0.38	0.40	0.40	0.40	0.29	0.20	0.36	0.29	0.48	0.18	0.20	0.55	0.18	0.27	0.10	0.35	0.45	0.40	0.35	0.30	0.36	0.50	0.19	0.20	0.20	0.40	0.19	0.33	0.10	0.48	0.29	0.40	0.30	0.40	0.40	0.48	0.67	0.30
KLEIN32	0.29	0.38	0.10	0.27	0.43	0.67	0.40	0.40	0.18	0.19	0.38	0.29	0.30	0.30	0.30	0.29	0.20	0.27	0.29	0.57	0.36	0.20	0.45	0.27	0.27	0.00	0.43	0.55	0.40	0.17	0.20	0.36	0.50	0.10	0.20	0.20	0.50	0.19	0.33	0.10	0.29	0.00	0.50	0.50	0.20	0.30	0.48	0.38	0.40
KLPE	0.29	0.38	0.30	0.09	0.17	0.29	0.30	0.40	0.18	0.10	0.10	0.38	0.30	0.50	0.10	0.29	0.10	0.27	0.19	0.29	0.36	0.10	0.27	0.09	0.45	0.10	0.17	0.27	0.40	0.43	0.40	0.45	0.59

Continuación, Tabla Nº 23. Matriz de similitud basada en datos de microsatélites calculada utilizando índice de Dice (rojo) y matriz de coeficientes de parentesco (verde).

	KLIM	KLEIN32	KLPE	KLRE	KLSEN	KLSL	KLTO	LAB	LNI	LPI	LRI	MJI	NKC	NKCH	NKI	NKL	NKN82	OA	PGTO	PIDA	PIGU	PIP	PIIV	PION	PIOS	PIC	PIPG	PIPT	PIQN	PIQR	PISR	PPA	PPI	RTNI	SAIR	SAUI	SCHOMA	SGE	TACO	TCAT	TTRO	VTI
38MA	0.00	0.00	0.15	0.25	0.00	0.05	0.00	0.03	0.00	0.01	0.05	0.17	0.01	0.03	0.04	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.04	0.03	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.02	0.04	0.50	0.03	0.04	0.02	0.03	0.02
BATL	0.07	0.00	0.03	0.00	0.03	0.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03	0.01	0.02	0.01	0.05	0.03	0.03	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.03	0.13	0.00	0.14	0.01	0.02	0.02
BBAG	0.01	0.00	0.05	0.07	0.01	0.10	0.00	0.13	0.30	0.20	0.04	0.15	0.11	0.14	0.16	0.07	0.13	0.03	0.00	0.00	0.11	0.00	0.12	0.11	0.05	0.00	0.23	0.05	0.00	0.33	0.00	0.30	0.14	0.23	0.33	0.37	0.03	0.20	0.09	0.15	0.10	0.12
BMAN	0.02	0.00	0.02	0.05	0.03	0.01	0.05	0.00	0.01	0.00	0.02	0.10	0.01	0.01	0.15	0.02	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.05	0.10	0.01	0.00	0.09	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01
BCEN	0.02	0.00	0.03	0.04	0.02	0.02	0.04	0.01	0.01	0.00	0.03	0.02	0.01	0.01	0.09	0.02	0.02	0.03	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01
BCIM	0.06	0.00	0.04	0.06	0.06	0.05	0.09	0.01	0.01	0.01	0.04	0.10	0.01	0.01	0.10	0.03	0.03	0.06	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.11	0.01	0.05	0.01	0.02	0.01
BDIL	0.03	0.03	0.03	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BGUA	0.01	0.00	0.05	0.07	0.01	0.11	0.05	0.20	0.15	0.13	0.23	0.14	0.26	0.11	0.13	0.14	0.13	0.14	0.00	0.00	0.14	0.00	0.17	0.20	0.15	0.00	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.13	0.09	0.19	0.20	0.13	0.04	0.13	0.08	0.19	0.14	0.24
BMAP	0.07	0.00	0.05	0.07	0.07	0.03	0.07	0.03	0.04	0.02	0.04	0.05	0.02	0.02	0.01	0.08	0.04	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.03	0.04	0.02	0.03	0.07	0.00	0.00	0.02	0.00	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.15	0.05	0.03	0.03	0.02	0.04
BNAM	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	0.00	0.03	0.01	0.01	0.04	0.01	0.05	0.02	0.04	0.03	0.01	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	0.01	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.05	0.03	0.01	0.04	0.02	0.15	0.00	0.02	0.03	0.04	0.03
BNAP	0.01	0.00	0.06	0.00	0.01	0.02	0.05	0.01	0.01	0.00	0.03	0.04	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.15	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01
BNAN	0.01	0.00	0.02	0.03	0.01	0.19	0.02	0.35	0.26	0.22	0.21	0.23	0.21	0.12	0.26	0.14	0.25	0.12	0.26	0.14	0.25	0.14	0.25	0.29	0.23	0.03	0.15	0.03	0.05	0.15	0.00	0.25	0.38	0.29	0.35	0.38	0.02	0.26	0.10	0.31	0.21	0.32
BNAP	0.02	0.00	0.04	0.04	0.03	0.14	0.04	0.24	0.25	0.15	0.17	0.20	0.16	0.12	0.15	0.12	0.15	0.04	0.00	0.00	0.16	0.00	0.19	0.21	0.15	0.00	0.12	0.00	0.00	0.14	0.00	0.19	0.19	0.15	0.21	0.24	0.05	0.18	0.09	0.17	0.16	0.29
BOMB	0.01	0.00	0.05	0.08	0.01	0.16	0.03	0.32	0.28	0.19	0.16	0.19	0.23	0.25	0.12	0.21	0.21	0.05	0.00	0.00	0.19	0.00	0.22	0.27	0.12	0.00	0.13	0.00	0.00	0.15	0.00	0.32	0.24	0.14	0.35	0.32	0.41	0.06	0.24	0.11	0.20	0.26
BPAM	0.02	0.00	0.17	0.20	0.02	0.04	0.07	0.01	0.02	0.00	0.04	0.10	0.00	0.16	0.02	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.02	0.30	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02
BPAS	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BPAT	0.01	0.00	0.15	0.07	0.01	0.03	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.04	0.00	0.01	0.13	0.03	0.02	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.11	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
BPER	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BPON	0.02	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.15	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
BPAN	0.03	0.00	0.05	0.05	0.05	0.04	0.06	0.07	0.07	0.07	0.04	0.08	0.05	0.03	0.04	0.08	0.05	0.02	0.00	0.00	0.09	0.00	0.03	0.06	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.05	0.03	0.04	0.08	0.03	0.16	0.06	0.08	0.05	0.04	0.06
BPUC	0.04	0.00	0.04	0.05	0.04	0.08	0.06	0.14	0.14	0.09	0.14	0.11	0.11	0.14	0.10	0.13	0.11	0.04	0.00	0.00	0.09	0.00	0.12	0.12	0.03	0.00	0.08	0.00	0.00	0.08	0.00	0.14	0.08	0.12	0.14	0.15	0.09	0.11	0.07	0.10	0.11	0.15
BYAP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CCHI	0.01	0.00	0.02	0.02	0.01	0.07	0.02	0.14	0.14	0.10	0.10	0.06	0.15	0.09	0.09	0.09	0.10	0.02	0.00	0.00	0.08	0.00	0.16	0.15	0.06	0.00	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	0.12	0.08	0.11	0.13	0.13	0.02	0.11	0.08	0.12	0.10	0.14
CMAP	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CMIL	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CIANO	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.38	0.25	0.15	0.29	0.38	0.20	0.34	0.11	0.31	0.06	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.31	0.15	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.15	0.00	0.27	0.22	0.42	0.49	0.38	0.00	0.24	0.10	0.24	0.20	0.35
COBA	0.01	0.00	0.03	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.00	0.30	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.03	0.01	0.02	0.02	0.01	0.04	0.01	0.02	0.01
COCA	0.00	0.00	0.05	0.04	0.02	0.09	0.06	0.12	0.11	0.08	0.08	0.09	0.07	0.00	0.09	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.02	0.11	0.03	0.00	0.05	0.01	0.00	0.05	0.00	0.13	0.05	0.12	0.12	0.11	0.05	0.08	0.07	0.11	0.10	0.12
COCAL	0.00	0.00	0.05	0.06	0.01	0.12	0.02	0.21	0.15	0.13	0.13	0.14	0.24	0.11	0.14	0.11	0.16	0.12	0.00	0.00	0.14	0.00	0.13	0.27	0.11	0.00	0.13	0.00	0.00	0.19	0.00	0.13	0.10	0.21	0.21	0.30	0.03	0.13	0.07	0.18	0.12	0.22
CSI	0.01	0.00	0.02	0.03	0.01	0.08	0.03	0.15	0.17	0.10	0.06	0.12	0.09	0.10	0.09	0.12	0.11	0.09	0.00	0.00	0.10	0.00	0.09	0.13	0.08	0.00	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.12	0.14	0.12	0.15	0.14	0.07	0.10	0.09	0.10	0.09	0.14
CZI	0.01	0.00	0.03	0.04	0.01	0.15	0.02	0.24	0.16	0.15	0.18	0.19	0.24	0.12	0.14	0.10	0.20	0.24	0.00	0.00	0.15	0.00	0.15	0.21	0.11	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.16	0.08	0.23	0.24	0.22	0.02	0.15	0.06	0.17	0.13	0.23
CHSP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DERN	0.01	0.00	0.05	0.06	0.01	0.12	0.02	0.21	0.16	0.13	0.15	0.14	0.24	0.13	0.14	0.11	0.19	0.22	0.00	0.00	0.14	0.00	0.16	0.27	0.11	0.00	0.13	0.00	0.00	0.15	0.00	0.13	0.10	0.21	0.21	0.23	0.03	0.13	0.07	0.18	0.13	0.22
DKBL	0.01	0.00	0.03	0.01	0.01	0.30	0.01	0.54	0.28	0.25	0.25	0.29	0.39	0.20	0.25	0.14	0.42	0.36	0.00	0.00	0.29	0.00	0.25	0.14	0.18	0.00	0.24	0.00	0.00	0.24	0.00	0.27	0.22	0.13	0.24	0.20	0.00	0.24	0.10	0.27	0.18	0.45
DKBQ	0.02	0.00	0.06	0.03	0.02	0.23	0.03	0.41	0.24	0.22	0.18	0.24	0.31	0.17	0.21	0.12	0.32	0.24	0.00	0.00	0.21	0.00	0.19	0.30	0.15	0.00	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.25	0.24	0.27	0.04	0.28	0.08	0.24	0.00	0.23	0.20	0.35
DKBT	0.03	0.03	0.17	0.32	0.03	0.15	0.11	0.17	0.18	0.10	0.17	0.39	0.12	0.12	0.13	0.23	0.23	0.09	0.00	0.00	0.11	0.00	0.14	0.09	0.09	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.23	0.11	0.15	0.17	0.15	0.22	0.14	0.07	0.11	0.16	0.17
DTI	0.01	0.00	0.03	0.03	0.01	0.01	0.02	0.19	0.22	0.13	0.09	0.12	0.12	0.14	0.13	0.09	0.12	0.13	0.00	0.00	0.13	0.00	0.20	0.17	0.07	0.00	0.09	0.00	0.00	0.08	0.00	0.16	0.09	0.17	0.19	0.20	0.02	0.32	0.52	0.14	0.11	0.18
GRAI	0.01	0.00	0.01	0.04	0.01	0.12	0.00	0.23	0.18	0.17	0.07	0.12	0.34	0.15	0.21	0.11	0.17	0.23	0.00	0.00	0.15	0.00	0.18	0.11	0.11	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.16	0.09	0.22	0.28	0.22	0.02	0.15	0.10	0.18	0.13	0.29
KLAT	0.08	0.00	0.19	0.52	0.08	0.08	0.05	0.02	0.01	0.02	0.03	0.02	0.05	0.04	0.01	0.14	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.03	0.00	0.05	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.02	0.04	0.06
KLATY	0.01	0.00	0.01	0.05	0.01	0.13	0.02	0.21	0.17	0.14	0.22	0.18	0.24	0.12	0.13	0.17	0.20	0.25	0.00	0.00	0.17	0.00	0.16	0.28	0.16	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.20	0.13	0.25	0.24	0.21	0.02	0.11	0.02	0.18	0.14	0.25
KLCAR	0.01	0.00	0.03	0.03	0.01	0.11	0.02	0.15	0.17	0.14	0.16	0.15	0.19	0.14	0.13	0.08	0.14	0.17	0.00	0.00	0.24	0.00	0.20	0.17	0.10	0.00	0.12	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.14	0.11	0.17	0.16	0.19	0.02	0.15	0.07	0.16	0.14	0.18
KLCOB	0.04	0.00	0.21	0.28	0.04	0.13	0.16	0.15	0.13	0.09	0.14	0.52	0.10	0.09	0.06	0.12	0.34	0.12	0.00	0.00	0.10	0.00	0.08	0.12	0.07	0.00	0.05	0.00	0.00	0.09	0.00	0.11	0.10	0.13	0.15	0.18	0.15	0.11	0.05	0.10	0.13	0.14
KLCQ	0.04	0.00	0.04	0.08	0.04	0.07	0.05	0.09	0.07	0.05	0.14	0.09	0.13	0.05	0.06	0.12	0.10	0.03	0.00	0.00	0.07	0.00	0.09	0.10	0.08	0.00	0.12	0.00	0.00	0.12	0.00	0.05	0.06	0.04	0.00	0.09	0.08	0.08	0.05	0.10	0.11	0.12
KCRI	0.02	0.00	0.12	0.17	0.02	0.16	0.02	0.03	0.03	0.02	0.05	0.10	0.02	0.05	0.04	0.09	0.08	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	0.02	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.01	0.04	0.03	0.01	0.04	0.21	0.01	0.04	0.02	0.04	0.03
KCHA	0.01	0.00	0.12	0.11	0.01	0.10	0.04	0.15	0.13	0.09	0.14	0.12	0.12	0.08	0.09	0.10	0.12	0.05	0.00	0.00	0.09	0.00	0.10	0.15	0.08	0.00	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.13	0.07	0.12	0.15	0.13	0.11	0.10	0.05	0.11	0.12	0.19
KLDOR	0.00	0.00	0.05	0.00	0.02	0.06	0.15	0.10	0.08	0.16	0.12	0.16	0.07	0.09	0.25	0.14	0.07	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.10	0.14	0.09	0.00	0.06	0.00	0.00	0.05	0.00	0.09	0.07	0.14	0.15	0.13	0.05	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01
KLDR	0.01	0.00	0.05	0.00	0.01	0.11	0.01	0.19	0.14	0.13	0.16	0.14	0.24	0.11	0.12	0.13	0.18	0.08	0.00	0.00	0.13	0.00	0.17	0.22	0.14	0.00	0.21	0.00	0.00	0.21	0.00	0.05	0.12	0.09	0.15	0.19	0.15	0.04	0.09	0.04	0.11	0.15	0.17
KLFT	0.04	0.00	0.11	0.27	0.36	0.04	0.31	0.12	0.02	0.01	0.16	0.14	0.01	0.02	0.03	0.52	0.08	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.11	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.13	0.12	0.05	0.15	0.19	0.22
KLGR	0.00	0.00	0.18	0.26	0.05	0.05	0.31	0.02	0.02	0.02	0.17	0.15	0.01	0.02	0.02	0.15	0.18	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.01	0.02	0.02	0.17	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02
KLIM	1.00	0.00	0.05	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.05	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01
KLEIN32	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KLPE	0.40	0.00	1.00	0.32	0.03	0.17	0.12	0.02	0.04	0.02	0.05	0.17	0.02	0.04	0.04	0.09	0.09	0.04	0.00	0.00	0.03	0.00	0.03	0.14	0.02	0.00	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	0.04	0.01	0.03	0.03	0.03	0.24	0.04	0.05	0.02	0.04	0.04
KLRE	0.35	0.29	0.67	1.00	0.00	0.08	0.38	0.02	0.03	0.02	0.19	0.50	0.01	0.00	0.05	0.16	0.25	0.01	0.00	0.00	0.03	0.00	0.04	0.02	0.04	0.00	0.08	0.00	0.00	0.08	0.00	0.02	0.02	0.12	0.02	0.04	0.35	0.02	0.07	0.02	0.08	0.05
KLSEN	0.60	0.40	0.30	0.28	1.00	0.02	0.07	0.01	0.01	0.01	0.05	0.03	0.01	0.01	0.15	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
KLSL	0.10	0.10	0.20	0.29	0.20	1.00	0.04	0.23	0.18	0.14	0.12	0.19	0.28	0.12	0.14	0.06	0.19	0.29	0.00	0.00	0.14	0.00	0.12	0.19	0.08	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.15	0.12	0.24	0.27	0.22	0.07	0.14	0.07	0.14	0.17	0.20
KLTO	0.40	0.20	0.50	0.67	0.40	0.30	1.00	0.01	0.07	0.06	0.16	0.15	0.01	0.02	0.02	0.16	0.02	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.03	0.03	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.16	0.02	0.03	0.01	0.01	0.02
LAB	0.38	0.38	0.57	0.36	0.29	0.38	0.29	1.00	0.43	0.31	0.19	0.26	0.39	0.25	0.32	0.13	0.32	0.56	0.00	0.00	0.24	0.00	0.22	0.34	0.14	0.00	0.19	0.00	0.00	0.19	0.00	0.42	0.25	0.54	0.84	0.50	0.02	0.32	0.11	0.25	0.32	0.55
LNI	0.50	0.60	0.40	0.40	0.50	0.30	0.40	0.67	1.00	0.56	0.35	0.24	0.19	0.30	0.24	0.11	0.22	0.04	0.00	0.00	0.10	0.00	0.14	0.10	0.11	0.00	0.14	0.00	0.00	0.14	0.00	0.35	0.28	0.13	0.42	0.49	0.02	0.37	0.15	0.23	0.19	0.29
LPI	0.27	0.27	0.27	0.35	0.27	0.36	0.27	0.52	0.45	1.00	0.15	0.16	0.21	0.18	0.18	0.08	0.17	0.10	0.00	0.00	0.14	0.00	0.16	0.28	0.09	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.33	0.15	0.04	0.21	0.27	0.01	0.16	0.09	0.14	0.15	0.23
LRI	0.40	0.30	0.40	0.67	0.40	0.40	0.40	0.48	0.60	0.55	1.00	0.21	0.21	0.11	0.12	0.22	0.28	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	0.08	0.13	0.07	0.00	0.13	0.00	0.00	0.13	0.00	0.12	0.10	0.12	0.19	0.18	0.02	0.13	0.06	0.15	0.15	0.25
MJI	0.20	0.10	0.50	0.67	0.20	0.50	0.60	0.38	0.30	0.36	0.40	1.00	0.

4.5. VALIDACIÓN DE PEDIGRÍES MEDIANTE MICROSATÉLITES

En la mayoría de los casos, la relación entre las variedades, basadas en los datos de los microsatélites, refleja las relaciones de parentesco entre las mismas basadas en datos de pedigrí. Como ejemplo cabe citar el pedigrí del cultivar Norkin T82. Este cultivar heredó el alelo "139/142 pb" del *locus Xpsp2999* de su antecesor Ciano67. Marcos Juárez presenta el alelo "145/151 pb" para este mismo *locus*, el cual proviene de Sinvalocho MA a través de Klein Rendidor.

Para el *locus Xpsp3000 (XGli B1)* Sinvalocho MA donó el alelo "246 pb" a Klein Rendidor. El alelo de "270 pb" para este mismo *locus* en el cultivar (NorkinT82) proviene, en cambio, de Sonora 64 a través de Ciano67 o el cultivar Marcos Juárez, ambos portadores de este alelo. NorkinT82 recibió el alelo de "117 pb" del *locus* X*gwm 46* de su antecesor Ciano 67 y Marcos Juárez el alelo "125 pb" de Klein Rendidor para dicho *locus*.

Otro ejemplo donde puede seguirse la genealogía a través de los alelos es en el cultivar San Agustín INTA. Éste recibió el alelo "133/142 pb" del *locus Xpsp 2999* del cultivar Sonora 64 y el alelo "213 pb" del *locus Xpsp 3000* del cultivar Nainari60.

El alelo 252 de *Xpsp3000* presente en Klein 32 y responsable del incremento en los parámetros de calidad observados en el cruzamiento con Chinese Spring (ver más adelante sección mapeo de QTLs) se halla presente también en otros cultivares de reconocida calidad panadera como Buck Manantial, Buck Cencerro (Lúquez, 1995) y Buck Pangaré (Tombetta, 1990). El seguimiento de este alelo puede seguirse en la genealogía común a todas las variedades portadoras de este alelo.

En la figura Nº 24 se ilustran los árboles genealógicos de las variedades arriba citadas y los alelos de microsatélites para los distintos *loci*.

5. ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES

5.1.EVALUACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA USANDO MICROSATÉLITES

5.1.1. CUANTIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LOS DISTINTOS *LOCI* DE MICROSATÉLITES

Los valores de diversidad obtenidos para cada uno de los *loci* de microsatélites tienen un valor máximo de 0,797, correspondiente al *locus Xpsp3000* y un valor mínimo de 0,473, correspondiente al *locus Xcnl5*, siendo el valor promedio de 0,699.

Con el fin de evaluar la variabilidad genética de los distintos *loci* de microsatélites se realizó el análisis ANOVA. Del resultado de este análisis se desprende que las diferencias que presentan cada uno de los *loci* de microsatélites, en cuanto a valores de diversidad, son significativas. Las comparaciones *a posteriori* (Tabla Nº 24) indican que estas diferencias están dadas entre el *locus Xcnl5* y el resto del conjunto (este *locus* que presenta menor variabilidad genética comparado con los demás *loci* analizados y fue elegido para su utilización -más tarde- en la caracterización alélica de la población segregante por pertenecer al grupo 1 de cromosomas homeólogos). Los *loci* restantes no presentan diferencias significativas entre sí y presentan alta diversidad.

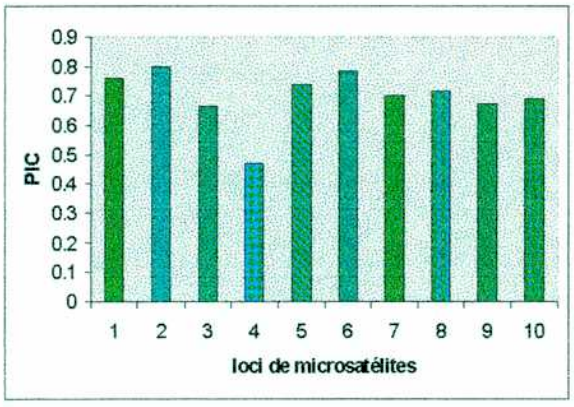


Figura Nº 25 *Loci* de microstélites y sus correspondientes Índices de Contenido Polimórfico (PIC). Loci de microsatélites: 1. *Xpsp2999*, 2. *Xpsp3000*, 3. *Xwgm46*, 4. *Xcnl5*, 5. *Xgwm18*, 6. *Xwgm2*, 7. *Xwgm44*, 8. *Xwgm5*, 9. *Xcnl3* y 10. *Xwgm33*.

Tabla Nº24 Comparación *a posteriori* de los *loci*. Test de Tukey. Los resutos de color rojo indican diferencias significativas

	LOCI									
	Xpsp2999	*Xpsp3000*	*Xwgm46*	*Xcnl5*	*Xgwm18*	*Xwgm2*	*Xwgm44*	*Xwgm5*	*Xcnl3*	*Xwgm33*
promedio	,7560000	,7970000	,6675000	,4732	,7360000	,78225	,6215000	,71650	,6717	,689750
Xpsp2999		,999151	,857257	*.0010*	,999998	,99997	,378643	,99936	,8884	,972186
Xpsp3000	,999151		,429674	*.0002*	,983796	1,0000	,101775	,91221	,4752	,676552
Xwgm46	,857257	,429674		*.0491*	,965693	,59266	,997902	,99659	1,000	.999995
Xcnl5	.001011	.000265	.049143		.002435	.00038	.256541	.00586	.0412	.019276
Xgwm18	.999998	.983796	.965693	*.0024*		.99781	.595488	.99999	.9771	.997814
Xwgm2	.999978	1.000000	.592662	*.0003*	.997814		.171764	.97350	.6405	.824126
Xwgm44	.378643	.101775	.997902	*.2565*	.595488	.17176		.80167	.9958	.966464
Xwgm5	.999367	.912216	.996595	*.0058*	.999998	.97350	.801678		.9983	.999975
Xcnl3	.888401	.475274	1.000000	*.0412*	.977161	.64053	.995884	.99830		.999999
Xwgm33	.972186	.676552	.999995	*.0192*	.997814	.82412	.966464	.99997	.9999	
Significant P<0.05										

5.1.2.EVOLUCIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA A TRAVÉS DEL TIEMPO, ANÁLISIS MEDIANTE MICROSATÉLITES

A fin de evaluar una posible erosión genética en el germoplasma de los trigos de Argentina, las variedades fueron agrupadas por décadas según el año de liberación de las mismas como tal. Las variedades liberadas antes de 1969 fueron agrupadas en una única clase, a fin de compensar el bajo número de variedades disponibles para ese período. Dadas las diferencias en los valores de diversidad que presentan los diferentes *loci* de microsatélites, los *loci* fueron utilizados como bloques en el análisis de ANOVA para aumentar la sensibilidad.

Los valores de diversidad promedio calculado con microsatélites para los cuatro períodos considerados (década del '60, década del '70, década del '80 y década del '90) pueden considerarse casi idénticos dado que las diferencias son no significativas (P = 0,95). Se observó un valor mínimo de 0,681 en la década del '90 y un valor máximo en la década del '60 y '80, siendo el valor promedio de 0,691.

La figura Nº 26 muestra la diversidad genética en las distintas décadas evaluadas mediante microsatélites.

Figura Nº 26. Diversidad a través del tiempo evaluada mediante microsatélites

Puede observarse existe un pequeño incremento la diversidad genética en la década del 80 y decremento en la década del '90. Sin embargo, estas diferencias que se observan en la diversidad genética de las distintas décadas no son significativas como lo muestra el ANOVA en la tabla Nº 25.

Tabla N°25. Diversidad genética evaluada por medio de microsatélites. ANOVA entre décadas utilizando *loci* como bloques. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Tukey p>0.05). (Test de Tukey p>0.05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

Periodo	Diversidad promedio	N	Desvio estándar	Varianza
<1969	0,699 A	14	0,085206	0,00726006
1970-1979	0,685 A	27	0,13434152	0,01804764
1980-1989	0,699 A	48	0,14732815	0,02170558
1990-1995	0,681 A	16	0,09821746	0,00964667

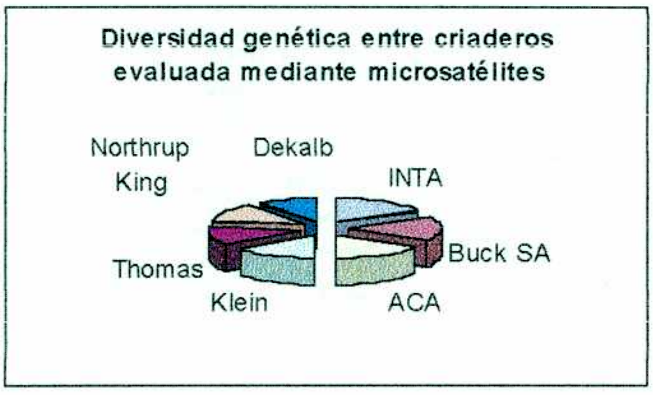
5.1.3.COMPARACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS, ANALISIS MEDIANTE MICROSATÉLITES.

Un estudio adicional fue realizado para cuantificar y luego comparar la diversidad genética entre criaderos. Los *loci* de microsatélites fueron utilizados (al igual como en el punto anterior "*Evolución de diversidad en el tiempo...*") como bloques. El ANOVA de dos vías muestra la existencia de diferencias significativas entre los criaderos (*P= 0,0002*) utilizando microsatélites. La

comparación entre los valores medios de diversidad de correspondientes a los distintos criaderos muestra una variación continua entre 0,716 para INTA hasta 0,44 para Dekalb. La diversidad promedio de los distintos criaderos fue de 0,595.

La figura Nº27 ilustra la variabilidad genética de los distintos criaderos evaluada mediante microsatélites.

Figura Nº27. Diversidad entre criaderos evaluada mediante microsatélites.



Las diferencias significativas fueron encontradas entre los criaderos que presentan mayores valores de diversidad, INTA y Buck, y los dos criaderos con valores de diversidad más bajos, Dekalb y Northrup King (Tabla Nº26). Todas las variedades de Dekalb presentan el mismo alelo en el *locus Xcni5* mientras que las variedades de Northrup King para el *locus Xwgm18.* INTA y Buck se destacan por presentar una amplia diversidad genética, estando representados todos los alelos de todos los *loci* de microsatélites.

Tabla N°26. Diversidad genética entre criaderos evaluada por medio de microsatélites. ANOVA utilizando *loci* como bloques. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Tukey p>0.05). (Test de Tukey p>0.05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

Criadero	Diversidad promedio SSR	N	Desvío estándar
Inta	0,71600 A	37	0,15123
Buck	0,70543 A	24	0,13036
Aca	0,66018 AB	7	0,14167
Klein	0,61017 ABC	19	0,2612
Thomas	0.52849 ABC	3	0.11867
Nothrup King	0,50265 BC	6	0,26269
Dekalb	0.44211 BC	4	0.12930

. 5.2.EVALUACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA USANDO AFLPs

5.2.1. CUANTIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LOS DISTINTOS *LOCI* DE AFLP

Los valores de diversidad obtenidos para cada uno de los iniciadores ("primers") de AFLP tienen un valor máximo de 0,383, correspondiente a la combinación de iniciadores P36/M44 y un valor mínimo de 0,256, correspondiente a la combinación de iniciadores P31/M41, siendo el valor promedio de 0,312.

Con el fin de evaluar la variabilidad genética de los distintos *loci* de AFLP se realizó el análisis ANOVA. Del resultado de este análisis se desprende que las diferencias que cada uno de las combinaciones de iniciadores de AFLPs que presentan en cuanto a valores de diversidad no son significativas (*P*>0,05). La tabla N°27 muestra la variabilidad genética de los *loci* de AFLP y el resultado de la comparación entre los mismos.

Tabla N°27. Variabilidad genética (ANOVA) entre *loci* de AFLPs. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Tukey's p>0,05). N indica el número de bandas incluidas en cada categoría

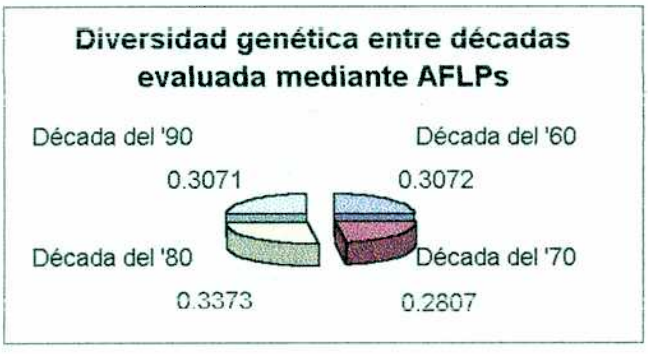
Combinación de iniciadores	Diversidad promedio	N	Desvío estándar.
P36/M44	0,38299842 A	15	0,12860981
P40/M39	0,31523442 A	27	0,1645522
P31/M41	0,25560389 A	20	0,13642486
P41/M40	0,30968655 A	9	0,10846684
Promedio gral	0,31205017 A	71	0,14749702

5.2.2. EVOLUCIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA A TRAVÉS DEL TIEMPO, ANÁLISIS MEDIANTE AFLPs.

A fin de evaluar una posible erosión genética en el germoplasma de los trigos de Argentina, las variedades fueron agrupadas por décadas según el año de liberación de las mismas como tal. Las variedades liberadas antes de 1969 fueron agrupadas en una única clase a fin de compensar el bajo número de variedades disponibles para ese período. Dadas las diferencias en los valores de diversidad que presentan los diferentes *loci* de microsatélites los *loci* fueron utilizados como bloques en el análisis de ANOVA para aumentar la sensibilidad.

La figura N°28 muestra la diversidad genética en las distintas décadas evaluadas mediante AFLPs.

Figura N°28 Diversidad genética a través del tiempo evaluada mediante AFLPs.



Los valores de diversidad promedio, calculados con AFLPs en los cuatro períodos considerados (década del '60, década del '70, década del '80 y década del '90), presentan una variación continua; desde un valor máximo de 0.3373 para la década del '80 hasta un valor mínimo de 0.2807 para la década del '70, con un valor promedio de 0.308. Las diferencias entre estos valores son significativas ($P< 0.05$ como lo muestra el ANOVA en la tabla N°28)

Tabla N°28. Diversidad genética a través del tiempo evaluada por medio de AFLPs ANOVA entre décadas utilizando *loci* como bloques. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Test de Tukey p>0.05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

Periodo	Diversidad promedio AFLP	N	Desvío estandar.
<1969	0.3072 AB	14	0,16354054
1970-1979	0,2807 B	23	0,18246012
1980-1989	0,3373 A	44	0,15133048
1990-1995	0,3071 AB	15	0,17916563

5.2.3. COMPARACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS, ANALISIS MEDIANTE AFLPs.

Un estudio adicional fue realizado para cuantificar y luego comparar la diversidad genética entre criaderos. Los *loci* de AFLPs fueron utilizados (al igual como en el punto anterior *Evolución de diversidad en el tiempo*) como bloques. El ANOVA de dos vías muestra la existencia de diferencias significativas entre los criaderos ($P<0,05$) utilizando AFLPs. La comparación entre los valores medios de diversidad de correspondientes a los distintos criaderos muestra una variación continua entre 0,29911para INTA hasta 0,16901 para Thomas y Northrup King. La diversidad promedio de los distintos criaderos fue de 0,308.

La figura N°29 ilustra la variabilidad genética de los distintos criaderos evaluada mediante AFLPs.

Figura Nº 29 Diversidad genética entre criaderos evaluada mediante AFLPs.

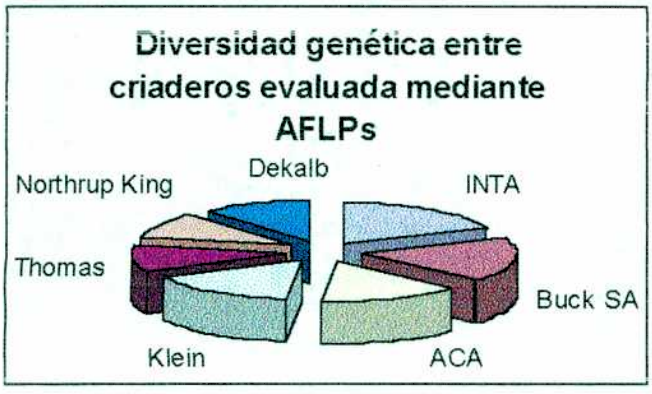


Tabla Nº29. Diversidad genética entre criaderos evaluada por medio de AFLPs. ANOVA utilizando *loci* como bloques. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Tukey's p>0,05). (Test de Tukey p>0,05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

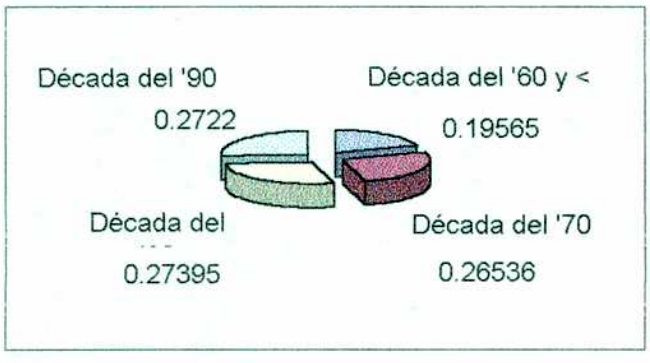
Criadero	Diversidad promedio	N	Desvío estándar
INTA A	0,299 A	30	0,169
Buck A	0,298 A	24	0,182
ACA ABC	0,239 ABC	8	0,201
Klein AB	0,259 AB	18	0,180
Thomas C	0,169 C	3	0,215
Nothrup King C	0,169 C	3	0,217
Dekalb BC	0,184 BC	4	0,211

6. EVALUACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA USANDO DESCRIPTORES FENOTÍPICOS

6.1.1. EVOLUCIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA A TRAVÉS DEL TIEMPO, ANÁLISIS MEDIANTE DESCRIPTORES FENOTÍPICOS.

Se realizó el análisis de ANOVA de la misma como se mencionó en los puntos 5.1 y 5.2 (*Evolución de diversidad en el tiempo, análisis mediante microsatélites* y *Evolución...análisis mediante AFLP, respectivamente*) mediante descriptores fenotípicos.

La figura Nº30 muestra la diversidad genética en las distintas décadas evaluadas mediante descriptores fenotípicos.



Los valores de diversidad promedio calculado con descriptores fenotípicos para los períodos, década del '70, década del '80 y década del '90 pueden considerarse casi idénticos dado que las diferencias son no significativas (P>0.05). Las diferencias significativas se observaron entre estas décadas y la década del '60, presentando ésta última el mínimo valor de 0.19565 (Tabla Nº30)

Se observó un valor mínimo de 0,19565 en la década del '60 y un valor máximo de 0,27395 en la década del '80, siendo el valor promedio de 0,25179.

Tabla N°30. Diversidad genética a través del tiempo evaluada por medio de descriptores fenotípicos. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Tukey p>0.05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

Periodo	N	Fenotípicos	Desvio estandar
<1969	7	0,19565 B	**0,20220**
1970-1979	26	0,26536 A	**0,18453**
1980-1989	41	0,27395 A	**0,19041**
1990-1995	15	0,2722 A	**0,19835**

6.1.2. COMPARACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS, ANALISIS MEDIANTE AF DESCRIPTORES FENOTÍPICOS

La diversidad genética entre criaderos fue analizada mediante descriptores fenotípicos, al igual como en los puntos anteriores (*Evolución de diversidad en el tiempo*).

La figura N°31 ilustra la variabilidad genética de los distintos criaderos evaluada mediante descriptores fenotípicos.

El ANOVA de dos vías muestra la existencia de diferencias significativas entre los criaderos (*P<0.05*) utilizando descriptores fenotípicos (TablaN°31). La comparación entre los valores medios de diversidad de correspondientes a los distintos criaderos muestra una variación continua entre 0,2622 para Buck hasta 0,1293 para Dekalb. La diversidad promedio de los distintos criaderos fue de 0,19363.

Tabla N°31 Diversidad genética entre criaderos evaluada por medio de descriptores fenotípicos. Las medias seguidas de la misma letra indican diferencias son no significativas (Test de Tukey p>0.05). N indica el número de variedades incluidas en cada categoría.

Criadero	N	Fenotípicos	Desvio estandar
Inta	27	0,2589 A	0,1900
Buck	23	0,622 A	0,1898
Aca	6	0,1878 B	0,2035
Klein	15	0,1993 B	0,1948
Thomas	3	0,1384 C	0,2064
Northrup King	6	0,1704 B	0,2014
Dekalb	3	0,1384 C	0,2028

7. COMPARACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS Y A TRAVÉS DEL TIEMPO, COMPARACION DEL ANÁLISIS MEDIANTE MICROSATÉLITES (SSR), AFLPs, DESCRIPTORES FENOTÍPICOS Y COEFICIENTES DE PARENTESCO (*f*).

7.1. VARIACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS

Los análisis de varianza muestran la existencia de diferencias significativas en la diversidad genética entre los criaderos analizándola tanto con microsatélites (SSR) como con AFLP. Para ambos análisis dichas diferencias se observaron entre los criaderos INTA y Buck, cuyos programas de mejoramiento de trigo son extensos contra los criaderos Dekalb, Northrup King y Thomas, cuyos programas son menores. La fuerte correlación observada entre la diversidad genética y el número de cultivares para SSR (r= 0,80, P=0,03) y AFLP (r= 0,95, P=0,0009) sugiere que el número de cultivares liberados por cada criadero es una de las causas principales de las diferencias observadas en la diversidad genética entre los distintos programas de mejoramiento. Las diferencias de diversidad entre criaderos asi como la alta correlación entre diversidad y número de cultivares (r = 0,96, P = 0,0009) se observa en el análisis mediante descriptores morfológicos (Tabla N°32).

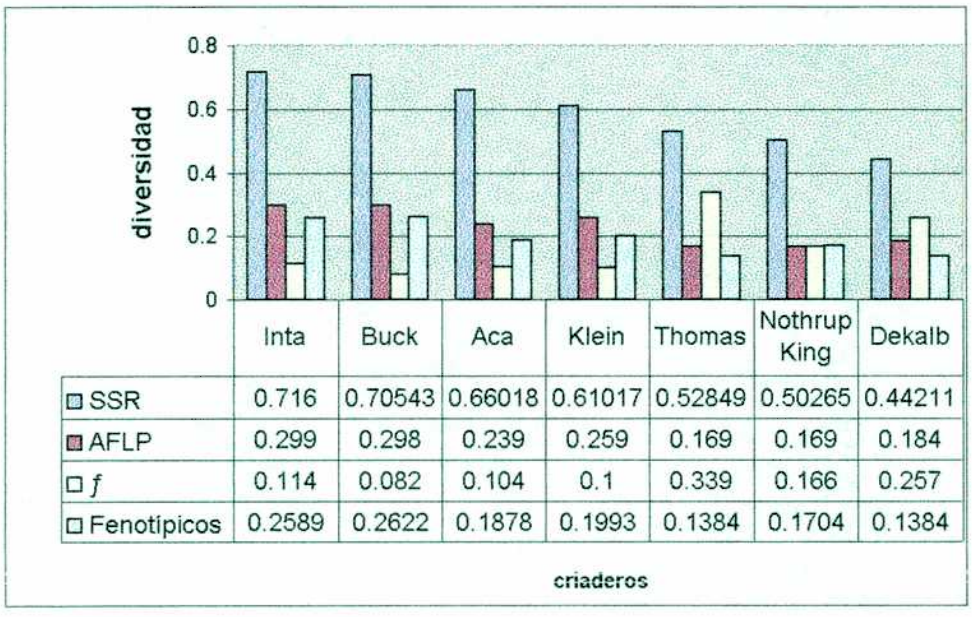
A su vez se observó una alta y significativa correlación de la diversidad genética entre distintos criaderos determinada con microsatélites (SSR) y AFLP (r= 0.92, P=0.004). Más aún, se observó una correlación significativamente alta entre coeficientes de parentesco entre criaderos y la diversidad genética estimada con SSR (r= -0,75) y AFLP (r= -0,79), (Tabla N°32). Estas

correlaciones significativas indican que estos tres grupos de datos reflejan el mismo patrón de variación de la diversidad entre los distintos programas de mejoramiento.

Tabla Nº32 Comparación de la diversidad genética promedio analizada mediante SSR (microsatélites), AFLP, descriptores fenotípicos y los coeficientes de parentesco (*f*) entre los distintos criaderos. Las medias seguidas de la misma letra no presentan diferencias significativas (Tukey, p> 0.05)

	Diversidad Genética promedio						Parentesco promedio	
Criadero	N	SSR	N	AFLP	N	Fenotípicos	N	*f*
Inta	37	0.71600 A	30	0.299 A	27	0.2589 A	28	0.114
Buck	24	0.70543 A	24	0.298 A	23	0.2622 A	18	0.082
Aca	7	0.66018 AB	8	0.239 ABC	6	0.1878 B	5	0.104
Klein	19	0.61017 ABC	18	0.259 AB	15	0.1993 B	18	0.100
Thomas	3	0.52849 ABC	3	0.169 C	3	0.1384 C	3	0.339
Nothrup King	6	0.50265 BC	3	0.169 C	6	0.1704 B	5	0.166
Dekalb	4	0.44211 BC	4	0.184 BC	3	0.1384 C	4	0.257
Diversidad total		0.723		0.300		0.268		0.122

Figura Nº32. Comparación de la diversidad genética promedio entre distintos criaderos analizada mediante SSR (microsatélites), AFLP, coeficientes de parentesco (*f*) y descriptores fenotípicos.



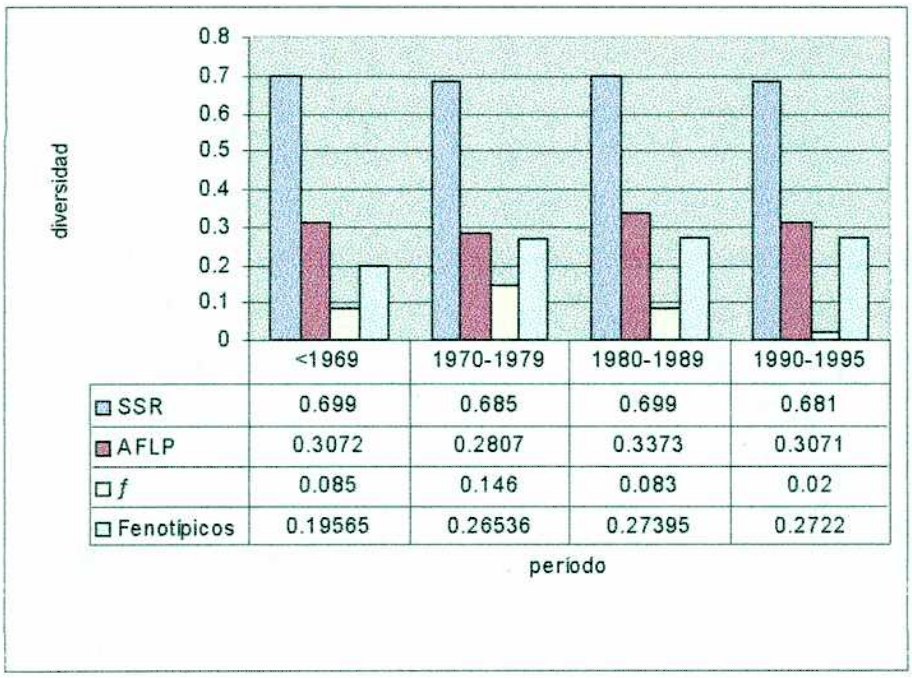
7.2. VARIACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA A TRAVÉS DEL TIEMPO

En los análisis de varianza (ANOVA), no se hallaron diferencias significativas entre los valores de diversidad basados en microsatélites (SSR). Los valores de diversidad son casi idénticos para los cuatro períodos considerados distintas décadas y muy similar a la diversidad total obtenida considerando los 105 cultivares. Las estimaciones de la diversidad genética basada en datos de AFLP, son similares entre sí, aunque presentaron una pequeña pero significativa diferencia entre los cultivares de trigo liberados en los años '70 (diversidad genética = 0,28) y aquellos liberados en los años '80 (diversidad genética = 0,34, ver tabla Nº33). Las correlaciones entre los valores de diversidad genética entre décadas usando SSR, AFLP y coeficientes de parentesco fueron no significativos, como era de esperar de acuerdo a la ausencia de variaciones altas y significativas entre décadas y el número reducido de clases comparadas (r = 0,62, p = 0,38). Lo mismo se observó en el análisis con descriptores fenotípicos. Los resultados de los análisis de diversidad genética mediante distintas técnicas sugieren el mantenimiento de la misma a través del tiempo.

Tabla Nº33. Comparación de la diversidad genética promedio analizada mediante SSR (microsatélites), AFLP, descriptores fenotípicos y los coeficientes de parentesco (f) a través del tiempo. Las medias seguidas de la misma letra no presentan diferencias significativas (Tukey, p> 0.05)

	Diversidad Genética promedio						Parentesco promedio	
Periodo	N	SSR	N	AFLP	N	Fenotípicos	N	f
<1969	14	0.699 A	14	0.3072 AB	7	0.19565 B	13	0.085
1970-1979	27	0.685 A	23	0.2607 B	26	0.26536 A	21	0.146
1980-1989	48	0.699 A	44	0.3373 A	41	0.27395 A	37	0.083
1990-1995	16	0.681 A	15	0.3071 AB	15	0.2722 A	11	0.020
Diversidad total	0.723		0.300		0.268		0.122	

Figura Nº33. Comparación de la diversidad genética promedio a través del tiempo analizada mediante SSR (microsatélites), AFLP, coeficientes de parentesco (*f*) y descriptores fenotípicos.



	<1969	1970-1979	1980-1989	1990-1995
SSR	0.699	0.685	0.699	0.681
AFLP	0.3072	0.2807	0.3373	0.3071
f	0.085	0.146	0.083	0.02
Fenotípicos	0.19565	0.26536	0.27395	0.2722

8. ASOCIACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES Y CARACTERES MORFOLÓGICOS Y SU APLICACIÓN EN LA CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA Y MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD PANADERA

8.1 ASOCIACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES Y CALIDAD PANADERA

Como un ejemplo de que los marcadores moleculares podrían reemplazar ventajosamente algunas características fenotípicas complejas (QTLs) para la descripción (y caracterización) de la variabilidad genética agronómicamente útil, se estudió la asociación de marcadores moleculares y calidad panadera usando como modelo una variedad de 1932 (Klein 32) de buena calidad panadera.

A partir de un trabajo anterior, se generó una población segregante mediante cruzamiento entre padres contrastantes para el carácter mencionado (Feingold, 1990).

En el presente trabajo las variedades Klein32 y Chinese Spring se analizaron mediante trece marcadores RFLP ligados a los *loci* de proteínas de reserva ubicados en los cromosomas homeólogos del grupo 1 y 6 y nueve enzimas de restricción. Diez *loci* del genoma B, cuatro *loci* del genoma A y un *locus* del genoma D, resultaron polimórficos para al menos una de las enzimas (ver Tabla Nº 3). Se analizaron a su vez mediante tres *loci* de microsatélites: *Xsps2999, Xpsp3000, Xcnl5*. Los dos primeros correspondientes a los *loci* de Gltueninas de Bajo Peso Molecular y gamma-gliadinas respectivamente. De los *loci* de microsatélites analizados muestran variabilidad entre las dos variedades *Xpsp3000* y *Xcnl5.*

Tabla Nº34. *Loci* de RFLP analizados y enzimas de restricción que evidencian polimorfismos entre Klein 32 y Chinese Spring.

Locus	1AS	1BS	1DS
XGli1	NP	Xba I	NP
XGlu3	NP	Xba I	NP
XksuE18	NP	Hind III	Hind III
XksuD14	NP	Eco RI	NP
XcslH69	NP	NP	NP
Xpsr540	NP	NP	NP
Xbcd1434	NP	Dra I *	NP
Xmwg920	NP	Dra I *	NP
Locus	1AL	1BL	1DL
XGlu1	NP	Xba I	NP
Xwg983	Hind III	NP	NP
Xmsu433(Lec)	NP	Dra I *	NP
Xcdo572	NP	*Eco* RV *	NP
Locus	6AS	6BS	6DS
Xpsr10(Gli2)	*Dra* I	NP	NP
Xpsr8(Cxp3)	Eco RI	Xba I	NP
XksuG48	*Bam* HI *	NP	NP

NP: No polimorfico. *Indican que la banda polimórfica para este *locus* no se mapeo dado a su estrecho ligamiento con otros *loci* presentes en el mapa.

En el brazo largo de los cromosomas homeólogos del grupo 1 no se observaron diferencias significativas entre los alelos de Chinese Spring y Klein 32 en los *loci XGlu-B1* (1BL) and *Xwg983* (1AL) o *Xcnl5* (1AL) para los parámetros de calidad panadera. El *locus Xwg983* se analizó por hallarse estrechamente ligado (13 cM) con *XGlu-A1* (Dubcovsky *et al.*, 1995). El *locus* del microsatélite *Xcnel5* se ubicó en el brazo largo del cromosoma 1AL mediante el análisis de telocéntricos y se encuentra a una distancia 8,5 cM de *Xwg983*. Sin embargo, la orientación relativa de estos dos *loci* con respecto al centrómero, no se conoce. No se encontraron polimorfismos para el *locus XGlu-D1* o los marcadores moleculares ligados *Xwg983*, *Xmsu433*(Lec), o *Xcdo572*.

En el brazo corto de los cromosomas homeólogos del grupo 1, se detectaron diferencias significativas ($p < 0.01$, en el brazo cromosómico 1BS).

Se detectaron polimorfismos en *Glu-B3* y *Gli-B1* tanto con RFLP como con microsatélites. Estos *loci* estrechamente ligados (1-2 cM) mostraron una correlación altamente significativa ($p<0.01$) con todos los parámetros de calidad analizados.

La presencia del alelo 252 del *locus Gli-B1* proveniente de Klein 32 se correlacionó con los aumentos detectados en todos los parámetros. Las diferencias alélicas en estos dos *loci* permitieron explicar en promedio el 10% de la variación observada en los parámetros de calidad. Las diferencias significativas que se observan en los *loci XGli-B1* and *XGlu-B3* explican entre un 7 y 12% de la variación en los parámetros de calidad de la población segregante.

Los alelos de Klein 32 están asociados con efectos positivos. En el mismo brazo cromosómico (1BS) se detectaron diferencias significativas para el *locus Xksu18* y los parámetros de calidad exceptuando el tiempo de desarrollo.

No se detectaron polimorfismos en la región distal de los brazos cromosomicos 1AS y 1DS para los marcadores *XGlu3*, *XGli1* o para los marcadores moleculares analizados muy ligados (*Xpsr540*, *Xbcd1434*, y *Xmwg920*). No se encontraron polimorfismos a nivel de RFLP para los alelos *Gli-A1 / Glu-A3* ni para *Gli-D1 / Glu-D3* por lo que no pudo analizarse el efecto de estos *loci* en esta población.

Sin embargo, el *locus* de microsatélite, *Xcnl5-A1* y el *locus* de RFLP, *XksuE18-D1*, localizados en los brazos 1AS y 1DS respectivamente no mostraron correlaciones significativas con ninguno de los parámetros de calidad analizados en esta población.

En los cromosomas homeólogos del grupo 6 se estudió el efecto del *locus XGli2* en los cromosomas 6A y 6B, correspondiente a las α/β gliadinas presentes en el brazo corto de los cromosomas 6AS y 6BS respectivamente.

Estos *loci* de α/β gliadinas presentes en el brazo corto de los cromosomas 6AS y 6BS no mostraron correlaciones significativas con los parámetros de calidad panadera analizados.

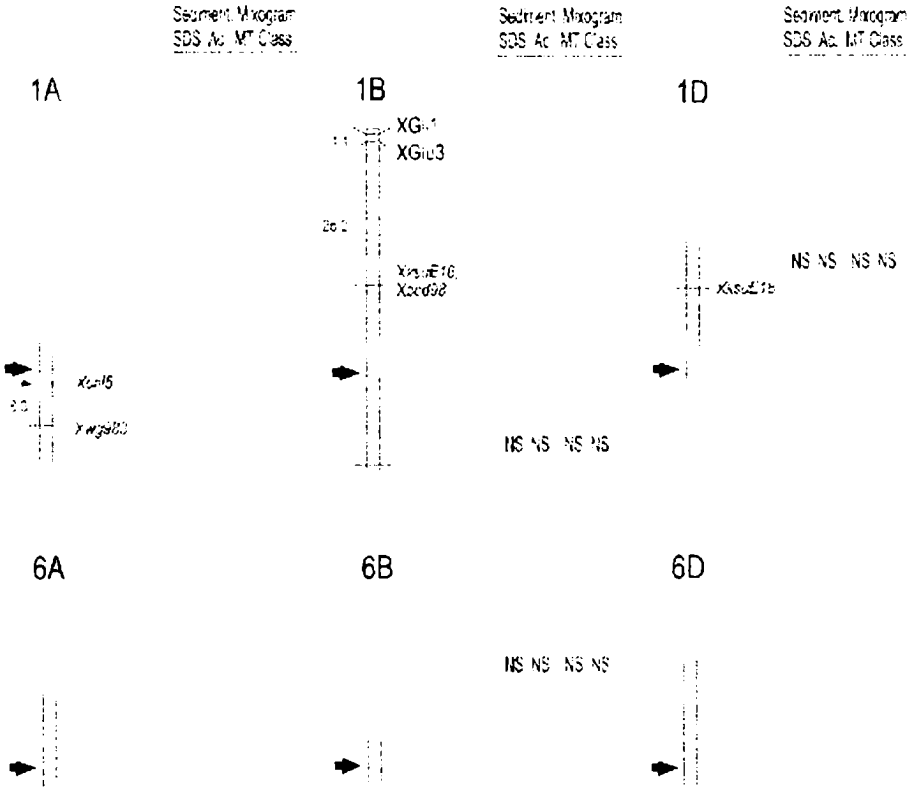
El efecto de las α/β gliadinas presentes en los cromosomas 6DS no pudo analizarse debido a la falta de polimorfismos para este *locus*. No se detectaron polimorfismos para los marcadores moleculares en el cromosoma 6D. No se detectaron diferencias significativas para los parámetros de calidad en el *locus XGli-A2* o marcadores estrechamente ligados al *locus Xpsr8(Cxp3)-*

6A. El *locus Xpsr8(Cxp3)-6B* no muestra efectos significativos para calidad, excepto para sedimentación con Ácido Acético con valores de significación marginales ($p = 0,044$).

Si bien los cultivares analizados, Klein 32 y Chinese Spring, presentan idénticos patrones de SDS-PAGE para las HMW-GS, el *locus Glu-B1* pudo diferenciarse mediante RFLPs. También se pudo analizar el efecto de *Glu-A1* mediante el *locus Xwg983* ligado a 13 cM de *Glu-A1*. Ninguno de los dos *loci* mostró una correlación positiva con los parámetros de calidad Figura Nº 34 La utilización de RFLP permitió verificar que las diferencias de calidad en este cruzamiento no se deben a variaciones cuantitativas en el nivel de expresión de HMW-GS con igual movilidad electroforética.

El marcador de microsatélites ubicado dentro del gen de γ-gliadinas se encuentra completamente ligado al marcador RFLP del *locus XGli-B1* en la población segregante del cruzamiento entre Chinese Spring y Klein 32 (Fig.34). Esto indica que los marcadores del tipo microsatélites ubicados dentro de los *loci* de proteínas de reserva (o estrechamente ligados) son útiles para el estudio de estos genes en poblaciones segregantes.

Figura Nº34 Localización cromosómica de los *loci* analizados y su efecto sobre parámetros de calidad panadera.



8.2. APLICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A CALIDAD PANADERA EN LA EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE TRIGO PAN

8.2.1. VARIABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN DOS GRUPOS DE CULTIVARES PROVENIENTES DE ARGENTINA Y DE CALIFORNIA.

Con el objeto de evaluar la variabilidad de los *loci* de microsatélites de gamma-gliadinas y Gluteninas de bajo peso molecular (LMW) se analizaron dos grupos de variedades de trigo, uno proveniente de Argentina y otro de California.

El *locus* de gluteninas de bajo peso molecular, XGlu-A3 (LMW) se analizó mediante el microsatélite *Xwgm2999* (Devos et *al.*, 1995). Dentro este *locus* de las variedades argentinas se detectaron diez combinaciones de pares de fragmentos que varían entre 133 y 157 pb de longitud, que corresponden a series de 8 hasta 18 repeticiones de tripletes (CAG)n(CAA)n y un alelo nulo, correspondiente a la translocación 1RS/1AL de centeno (Bullrich, 1996). El alelo nulo que caracteriza a la variedad ProINTA Súper, la cual es portadora de la translocación 1RS/1AL, indica que los oligonucleótidos amplifican secuencias específicas de trigo y no las secuencias homólogas de centeno.

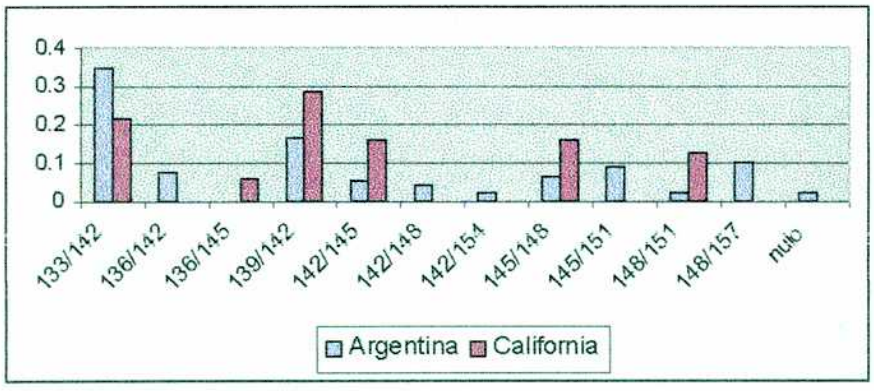
Las variedades de California presentan seis alelos, para dicho *locus* siendo su contenido de información polimórfico PIC = 0,80. Las combinaciones de pares de fragmentos varían entre 133 y 151 pares de bases, para este segundo grupo, hallándose ausentes algunas de las variantes presentes en los cultivares argentinos (Tabla Nº35).

Las variantes 136/142 pb, 142/148 pb, 142/154 pb, 145/151 pb, 148/157 pb y alelo nulo no se hallan presente en el grupo de variedades de California. La variante alélica 136/145 pb no se encuentra presente en las variedades argentinas.

El alelo 133/142 pb presente en Chinese Spring y Klein 32 es el más frecuente, detectándose en un 35% de las variedades argentinas analizadas. Este microsatélite posee un alto contenido de información polimórfica, PIC=0,82. Tabla Nº35.

Tabla Nº35. Alelos, frecuencias y Contenido polimórfico del *locus Xpsp 2999* (*XGlu-A3*), de las variedades de *T.aestivum*, provenientes de California y de Argentina

California		Argentina	
Alelo (en pb)	frecuencia	Alelo (en pb)	frecuencia
133/142	0,21590909	133/142	0,34782609
136/142	---	136/142	0,07608696
136/145	0,05681818	136/145	---
139/142	0,28409091	139/142	0,16304348
142/145	0,15909091	142/145	0,05434783
142/148	---	142/148	0,04347826
142/154	---	142/154	0,02173913
145/148	0,15909091	145/148	0,06521739
145/151	---	145/151	0,08695652
148/151	0,125	148/151	0,02173913
148/157	---	148/157	0,09782609
nulo	---	nulo	0,02173913
PIC	0,80320248		0,81899811



Los oligonucleótidos para SSRs dentro del *locus* de γ-gliadinas *Xpsp3000* (*XGli-B1*) amplifican un único fragmento (Devos et *al.*, 1995). Este microsatélite presenta un alto valor de contenido de polimorfismo (PIC = 0,84) aun mayor que las SSR del *locus XGlu-A3*.

En las variedades argentinas se detectaron doce alelos y uno nulo, cuyo tamaño varía entre 213 pb y 285 pb correspondiente a la variación de 7 a 31 repeticiones del triplete CAA y un alelo nulo (Tabla Nº36). El alelo nulo se

detectó en 14 variedades que llevan la translocación 1BL/1RS (dato corroborado citológicamente por Bullrich, 1996). Estas variedades son: Precoz Parana INTA, Buck Charrúa, Cooperación Calquín, Cooperación Maipúm, Cruz Alta INTA, Don Ernesto INTA, Klein Cacique, Klein Dragón, Prointa Guazú, Prointa Oasis, Prointa Pigue, Prointa Pincén, Prointa Quintal, Thomas Catedral, Tucumano Granivo

El alelo 225 pb y el 249 pb se halla ausente en el grupo de variedades de Argentina siendo exclusivos de las variedades del grupo de California:

El alelo 285 presente en Chinese Spring es poco frecuente en las variedades argentinas analizadas. El alelo 252 de Klein 32, que presenta asociación positiva con parámetros de calidad, se encontró en 8 variedades pertenecientes a criaderos privados. Esta s variedades son: Buck Atlántico, Buck Cencerro, Buck Cimarrón, Buck Manantial, Buck Napostá, Buck Pangaré, Klein Granador, Oncativo INTA

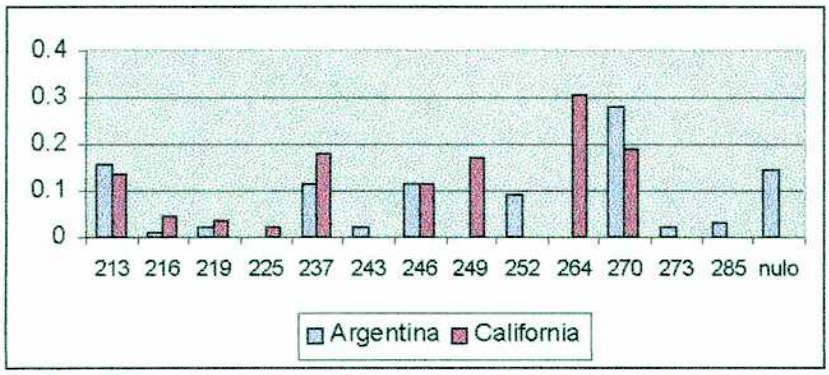
Estas variedades presentan antecesores comunes y el empleo de estos microsatélites permite hacer el seguimiento en los árboles genealógicos como se detallara anteriormente. (Ver sección: *Verificación de pedigrees*)

En las variedades californianas sólo se hallaron nueve alelos para este *locus* y ningún alelo nulo. No obstante el contenido de información polimórfica puede considerarse alto, PIC= 0.78. Los alelos 243 pb, 273 pb, 285 pb, nulo y 252 pb. Cabe señalar que entre los alelos que están ausentes en este conjunto de cultivares se halla el de 252 pb, asociado con buena calidad panadera (ver *sección 8.1*).

Resulta de interés destacar que el alelo 252 de *Gli-B1* presente en Klein 32 y responsable del incremento en los parámetros de calidad observados en el cruzamiento con Chinese Spring se halla presente también en otros cultivares de reconocida calidad panadera como Buck Manantial, Buck Cencerro (Lúquez, 1995) y Buck Pangaré (Tombetta, 1990). Cabe destacar que este alelo no se encuentra en ningún cultivar proveniente de California por lo que resulta interesante el estudio de su efecto en genotipos de esa "población".

Tabla Nº36. Alelos, frecuencias y Contenido polimórfico del *locus Xpsp3000*, *XGli-B1*, de las variedades de *T.aestivum*, provenientes de California y de Argentina.

California		Argentina	
Alelo (en pb)	frecuencia	Alelo (en pb)	frecuencia
213	0,134831461	213	0,15463918
216	0,04494382	216	0,01030928
219	0,033707865	219	0,02061856
225	0,02247191	225	----
237	0,179775281	237	0,11340206
243	---	243	0,02061856
246	0,112359551	246	0,11340206
249	0,168539326	249	---
252	---	252	0,09278351
264	0,303370787	264	---
270	0,187223835	270	0,27835052
273	---	273	0,02061856
285	---	285	0,03092784
nulo	---	nulo	0,1443299
PIC	0,7777234		0,84110958



6.3. PROYECCIÓN: APLICACIÓN DE LOS MICROSATELITES EN SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES

La introgresión de alelos del *locus* de Gluteninas LMW-GS con un alto valor potencial sobre la calidad panadera manteniendo una composición óptima de HMW-GS se presenta como una alternativa alentadora en la manipulación genética de la calidad panadera. Si bien este estudio ha caracterizado sólo una pequeña porción de la diversidad alélica en las LMW-GS, es importante conocer, además, el valor específico sobre la calidad y su interacción con distintos fondos genéticos. Los nuevos conocimientos sobre el efecto de diferentes variantes genéticas de proteínas de reserva sobre la calidad panadera, unidos a la disponibilidad de nuevas tecnologías de marcadores moleculares para manipular dichas variantes, tienen el potencial necesario para comprender las bases bioquímicas y moleculares de la calidad panadera y contribuir al mejoramiento del trigo.

Como hipótesis se plantea que la presencia del alelo "252 pb" provocará un efecto favorable sobre la calidad panadera en las variedades introgresadas.

Los objetivos del trabajo en marcha son:

1. Introgresión del alelo "252 pb" para el *locus XGli-B1* en cultivares con distinto fondo genético,
2. Evaluación del efecto del alelo "252 pb" sobre la calidad panadera y su interacción con otros genes involucrados en calidad y,
3. Evaluar el uso de marcadores moleculares en un programa de mejoramiento (en este caso retrocruzamiento) asistido por marcadores (MAS)

A través de este trabajo se logrará la caracterización acabada del alelo de glutenina LMW-GS, proveniente del cultivar con alta calidad panadera Buck Manantial y su evaluación del efecto del mismo en distintos fondos genéticos.

Con el propósito de introgresar el alelo "252 pb" del *locus XGli-B1*, realizaron cruzamientos entre los cultivares Yecora Rojo, Anza, RSI5 y la línea UC1037, por el padre donante Buck Manantial (Tabla N°36). Los individuos

resultantes de dicho cruzamiento y portadores del alelo de interés son retrocruzados por el padre recurrente (Buck Manantial). Se realizarán 6 retrocruzas de estos individuos por el padre receptor. Actualmente el material se halla en retrocruza 5 (BC5: "backcross" 5).

Tabla Nº 37- Cultivares seleccionados, subunidades de Gluteninas HMW-GS y calidad panadera

Cultivar	Alelos de HMW-GS			Contenido de proteína total*	Calidad panadera
	A	B	D		
RSI5	0	17+18	5+10	Bajo	Mala
Yecorá Rojo	1	17+18	5+10	Alto	Alta
ANZA	0	7+8	2+12	Bajo	
UC1037	2*	17+18	2+12	Alto	Regular
Buck Manantial	2*	7+8	5+10	Alto	Alta

Para la selección asistida por marcadores se utilizan secuencias de pares de "primers" del microsatélite localizado en el brazo cromosómico 1BS: *XGli1* (Devos et. al., 1995). La extracción del DNA se realiza a partir de hojas en estadio de plántula utilizando el micrométodo de extracción con SDS.

Finalizadas las seis ciclos de retrocruzas se llevará a cabo un ciclo de autofecundación para la evaluación de los parámetros relacionados con calidad panadera.

DISCUSIÓN

DISCUSION

CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA ARGENTINO DE TRIGO MEDIANTE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Con el fin de obtener "la huella digital fenotípica" de las variedades por medio de los datos de las características morfológicas, se analizaron 81 características utilizadas en el Registro de Propiedad de Semillas. Sólo se tuvieron en cuenta para el análisis los datos que presentaron más de una variante fenotípica (datos considerados como "polimórficos"). Utilizando dichos caracteres fue posible separar cada una de las variedades de trigo del conjunto de 105 variedades. El promedio de similitud basado en descriptores morfológicos presentó un amplio rango, variando desde 0,323 para los pares de cultivares Olaeta Artillero y Buck Ñandú y Olaeta Artillero y Norkinpan70, hasta 0,889 para los pares de cultivares Buck Atlántico y Cooperación Maipún. El promedio es de 0,669 (± 0,06 de desvío estándar).

Al realizar el cálculo de coeficientes de similitud basados en características morfológicas, y posterior análisis de agrupamientos se observó que las variedades tienden a agruparse de acuerdo al criadero al que pertenecen. Sin embargo las agrupaciones, en muchos casos, son compartidas por variedades pertenecientes a más de un criadero. Esto es debido al intercambio de germoplasma entre programas de mejoramiento o a ancestros comunes que han tenido amplia difusión, como lo son variedades pertenecientes al CIMMyT. Cultivares dentro de un mismo grupo comparten ancestros comunes.

De acuerdo a los resultados obtenidos, no existió una alta correlación entre las matrices de datos resultantes del análisis de polimorfismos generados por distintos tipos de marcadores (AFLP y SSR) y coeficientes de parentesco con descriptores fenotípicos. Los índices de correlación resultaron ser relativamente bajos, indicando que las informaciones que se obtienen de cada sistema resultan ser distintas. En otras palabras, no hay una clara correlación entre la expresión morfológica y la molecular e incluso entre distintas variantes de marcadores moleculares. Esto in-

dica que cada sistema por sí mismo, estaría explicando la "historia evolutiva de las plantas" de manera distinta. Se podría decir entonces que las características morfológicas sólo reflejan el sistema creado para la diferenciación.

La correlación entre variables morfológicas fue analizada resultando un valor promedio de 0.001 ± 0.136. Presenta valor máximo de 1 para los caracteres morfológicos: color castaño de aristas y color rojo de tallo a la madurez. La literatura sobre el color de aristas no es demasiado clara. En general, el color de las aristas está asociado con el color de las glumas. De acuerdo con Panin y Netsvataev (1986), la característica de aristas castañas está determinada por tres genes complementarios que se designan *Bla1, Bla2, Bla3*, los cuales han sido ubicados en el cromosoma 1A ligados con *Gld 1A* y *Hg*.

La coloración presente en el tallo está controla por *Pc1* y *Pc2*, y estaría muy influenciada por el ambiente y el fondo genético. Existirían posibles relaciones pleiotrópicas entre genes que afectan la pigmentación, pero aún no se conocen en detalle

Excepto para estos dos descriptores que mostraron estrecha asociación de algún tipo, la información provista por el conjunto de morfológicos seleccionados sería no redundante.

IDENTIFICACIÓN CON MARCADORES MOLECULARES

Los cultivares incluidos en este trabajo representan un amplio espectro de los cultivares de trigo pan liberados comercialmente en Argentina durante los últimos 60 años. El subgrupo de diez *loci* de microsatélite seleccionados permitió la construcción de una Matriz de Identificación que sirvió para la discriminación de las 105 variedades aquí analizadas. El alto poder de discriminación es esperable a partir del alto valor de Contenido Polimórfico (0.723) de los microsatélites seleccionados y el bajo nivel de redundancia de la información que sugirieren los bajos valores de correlación entre los *loci*.

La identificación unívoca de todos estos cultivares, realizada en esta tesis, con tan sólo un número relativamente pequeño de marcadores concuerda con lo descripto por Brown (1996). En su trabajo la estimación del número de alelos para la caracterización de colecciones de germoplasma que provee la identificación de cultivares se basa en el poder de discriminación combinado que proveen múltiples marcadores. Esta capacidad de discriminación y los supuestos estadísticos para su utilización resultan dependientes de asumir que los alelos de un marcador no están ligados a los alelos de otro; esto es, desequilibrio de ligamiento. Dado que no existe dicho desequilibrio, el poder de discriminación del ensayo aumenta exponencialmente con cada marcador adicional. Por ejemplo, si cada marcador muestra una diversidad de 0.5 (la cual corresponde a una chance del 50% de discriminar dos plantas no relacionadas), entonces el poder de discriminación total puede ser calculado con la fórmula $X = [1/(1-D)]^n$, donde X es el número de genotipos únicos que pueden ser generados (equivalente a poder de discriminación), D es la diversidad promedio de los marcadores, y n es el número de *loci* marcadores evaluados. Por lo tanto, un solo marcador dará $(1/0.5)^1 = 2$ genotipos, diez marcadores darán $(2)^{10} = 1024$ genotipos, y 20 marcadores $(2)^{20} > 1$ millón de genotipos. Es decir, con un número relativamente bajo de marcadores se proveería de un poder de discriminación para categorizar todas las entradas de una colección de germoplasma. Dado que los SSRs frecuentemente poseen valores de diversidad mayores que 0.5, se requieren de menos de 20 marcadores para la caracterización genotípica de una colección (con tan sólo 10 marcadores con una diversidad promedio de 0.7, se pueden generar más de un millón de "fingerprints" distintos). En nuestro caso, un número de 376.000 genotipos distintos podrían, potencialmente, ser discriminados utilizando este subgrupo de microsatélites.

El valor promedio de Contenido Polimórfico (PIC) de los microsatélites analizados fue notablemente mayor comparado que el obtenido, para el mismo grupo de variedades, con los *loci* de Gluteninas de alto peso molecular HMW-GS mediante la técnica de RFLP (Dubcovsky et al. 1997). El valor promedio obtenido con RFLP fue de 0.46. El alto valor de Contenido Polimórfico podría atribuirse a la se-

lección de los *loci* de microsatélite que mostraron mayor polimorfismo durante el proceso de selección. Sin embargo, aún considerando el total de *loci* no seleccionados, éste presenta un valor promedio de Contenido Polimórfico 50% mayor que el estimado por RFLPs. Estos resultados son similares a los obtenidos por Röder *et al* (1995) quien confirma la ventaja de los microsatélites sobre los RFLPs para la identificación varietal.

Los altos niveles de polimorfismo asociados con los SSR se deberían principalmente a la diversidad genética generada principalmente por el proceso de replicación – deslizamiento de la ADN polimerasa "slippage" (Tautz *et al.*, 1984; Tautz *et al.*, 1986) más que por simples mutaciones puntuales de nucleótidos y/o transposiciones.

Los altos niveles de contenido polimórfico y bajos niveles de redundancia indican que este grupo de microsatélites resultó adecuado para el desarrollo de una Matriz de Identificación. (Wu, 1993; Bell, 1994, Provan 1996) y demuestran una gran ventaja de los microsatelites sobre otros marcadores moleculares (Powell et al. 1996) para la identificación varietal.

Las cuatro combinaciones de iniciadores de AFLP permitieron la discriminación de las variedades aquí estudiadas. La capacidad de generar numerosas bandas ("multiplex") por ensayo concuerdan con estudios previos (Powell *et al.*, 1996; Zabeau *et al.*,1993), sin embargo como es de esperar para los marcadores de naturaleza "dominante", los marcadores de AFLP mostraron valores de Contenido Polimórfico más bajos que los microsatélites (SSR).

Una de las desventajas de la técnica de AFLP, además de ser una técnica más laboriosa y más costosa, su naturaleza "dominante" muchas veces dificulta la determinación de alelismo entre bandas. Powell (1996) advierte de la distorción en la estimación de similitudes utilizando marcadores "dominantes" La frecuencia de la asignación errónea de bandas no homólogas de movilidad similar, lleva a una sobrestimación de la similitud. A pesar de ello la técnica de AFLP es una herramienta alternativa muy útil para la discriminación de genotipos o estudios de diversidad (en caso de no contar con microsatélites).

CORRELACION ENTRE MATRICES GENERADAS CON MARCADORES MORFOLOGICOS CON LAS DE MARCADORES MOLECULARES Y COEFICENTES DE PARENTESCO

A fin de comparar la capacidad, ventajas y desventajas de marcadores morfológicos y moleculares para la caracterización y diferenciación genotípica se compararon las matrices de similitud generadas a partir de los datos morfológicos con los datos de distintos sistemas: AFLP, Microsatélites, RFLP, como así también con la matriz de coeficientes de parentesco. Los resultados mostraron valores de correlación muy bajos, aunque significativos para las distintas técnicas comparadas con los datos fenotípicos. Las técnicas de AFLP + SSR (usadas en conjunto) presentaron el mayor valor de correlación. Luego, los coeficientes de parentesco muestran valores de correlación mayores que ambas técnicas consideradas separadamente.

Estos datos son congruentes con el concepto de que las características morfológicas utilizadas para la diferenciación e identificación, no están seleccionadas de acuerdo a la cobertura de la variabilidad en el genoma, ni tampoco tienen la función de explicar las distancias genéticas entre las variedades, sólo buscan lograr la diferenciación de una variedad nueva, con respecto a las ya existentes.

Bohn *et al.* (1999) remarca la probabilidad de estimar la varianza genotípica con marcadores moleculares es baja en cruzamientos de padres no relacionados, a menos que la posición del QTL ("quantitative trait loci") que afecta al carácter considerado sea conocida y que se puedan seleccionar marcadores estrechamente ligados para la estimación de la similtud del carácter específico entre los padres. En cuanto a esto, Hayes *et al.* (1997) usó 322 AFLPs para el análisis de 42 genotipos de cebada e identificó 12 como discriminantes de los genotipos evaluados. Estos AFLPs se habían determinado asociados a los caracteres de herencia cuantitativa (QTLs) mediante 11 poblaciones de mapeo diferentes. El análisis de agrupamiento concordaba con esta asociación.

En la actualidad, se considera que la caracterización por características morfológicas no puede ser reemplazada por técnicas moleculares. Se considera que el resultado de estudios moleculares y/o bioquímicos pueden ser un complemento a la caracterización. Una de las razones es que en la definición de "variedad" está claramente indicando que la distinción entre variedades debe establecerse mediante la expresión de caracteres resultantes del genotipo. A menos que el descriptor molecular sea un marcador para un carácter fenotípico, no hay forma de saber si el descriptor molecular se refiere a una parte del genoma que se expresa o no. Una solución podría ser no modificar la definición de variedad que es acorde con el enfoque del obtentor (la selección se realiza sobre el fenotipo para mejorar las características agronómicas o tecnológicas), sino desarrollar un nuevo enfoque a la distinción basándose en distancias genéticas (UPOV/QUI/96/13).

DISTANCIAS MINIMAS

En este trabajo se observa la existencia de diferencias entre distancias calculadas a partir de las distintas técnicas. Pueden hallarse variedades bastante similares en sus características morfológicas, pero ello no implica que su grado de parentesco sea alto, como uno esperaría. Esto podría explicarse por la selección realizada durante el proceso de mejoramiento sobre determinadas características morfológicas o de adaptabilidad a adversidades bióticas o abióticas en un proceso de retrocruza que lleva a la obtención de variedades esencialmente derivadas. Otra explicación posible es que podría deberse a errores en la documentación del pedigrí o en los ciclos de multiplicación y conservación. Los marcadores moleculares estarían considerando distancias mayores en variedades que se consideran muy próximas, bien morfológicamente o bien en cuanto al coeficiente de parentesco. Por ejemplo para el par de cultivares Buck Atlántico/ Cooperación Maipún para el cual presenta la mayor similitud calculada en base a descriptores fenotípicos (0.889), la distancia es de 0.111. Para este mismo par las distancia correspondientes calculadas fueron: en base a la similitud con microsatélites (SSR) 0.74; AFLP 0.72 y coeficiente de parentesco 1. De esta manera los marcadores mole-

culares estarían discriminando cultivares muy semejantes en sus aspectos fenotípicos y considerando una distancia mayor que estos últimos. No hay que olvidar también que el coeficiente de parentesco es calculado como una probabilidad y ello implica un sesgo en cuanto a lo que realmente es heredado.

COMPARACION ENTRE MATRICES DE SIMILITUD GENERADAS A PARTIR DE DISTINTOS DESCRIPTORES Y SU CORRESPONDIENTE MATRIZ COFENÉTICA.

Una alta correlación entre la matriz de similitud que dio origen al fenograma y la matriz cofenética (generada a partir de él), es señal de escasa distorsión. Generalmente los valores oscilan entre 0.6 y 0.95. En nuestro estudio los valores oscilaron entre 0.60 (para los datos fenotípicos) y 0.80 (para los microsatélites), con un promedio de 0.67 La técnica de microsatélites o SSR fue la que presentó el mayor valor (r = 0.79788) de correlación con su respectiva matriz cofenética. Por lo tanto, esta técnica sería la que menor distorsión interna presenta. Se ha demostrado empíricamente (Sneath y Sokal, 1973) que valores superiores a 0.8 indican una buena representación de los valores de similitud por parte del dendrograma y que la técnica del ligamiento promedio es la que origina menor distorsión. Cabe recordar que el coeficiente de correlación cofenética es una medida de la distorsión interna de la técnica, pero no una evaluación de la clasificación que se construirá a partir del fenograma. (Farris, 1969; Rohlf, 1970).

CORRELACIÓN ENTRE MATRIZ DE SIMILITUD DE AFLP Y MATRIZ DE SIMILITUD DE MICROSATÉLITES

En este estudio, la correlación obtenida de la comparación con los datos de microsatélites y los datos de AFLPs fue baja pero estadísticamente significativa (r = 0.27 , Test de Mantel, $P<0.01$). El valor de correlación está de acuerdo con el encontrado por Bohn (1999). En su estudio cita dos razones que explicarían la falta de correlación entre los estimadores de similitud genética determinada por distintos sistemas de marcadores. La primera condición para que haya correlación

es que debe existir desequilibrio por ligamiento entre los *loci* de los distintos marcadores en el germoplasma examinado y, por último, la posibilidad de que este desequilibrio ocurra es muy baja si los marcadores se localizan en diferentes partes del genoma

Nagahoka y Ogihara (1997) hallaron una buena correspondencia entre los agrupamientos resultantes de los análisis con ISSRS ("repeticiones entre secuencias simples"), RFLPs y RAPDs entre seis especies diploides, tetraploides y hexaploides de trigo. Burkhamer et al. (1998) halló una alta correlación ($r = 0.73$) analizando una muestra de diez cultivares *élite* de trigo duro primaveral mediante STS ("sequence tagged sites") y AFLPs.

Bohn *et al.* (1999) no hallaron asociación significativa entre la similitud estimada utilizando RFLPs, AFLPs y microsatélites, Sin embargo, ésta mejoraba para cultivares o líneas emparentadas ($f \geq 0.1$). En este caso la exclusión de cultivares con $f < 0.1$, no mejoró significativamente esta correlación.

COMPARACIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE MICROSATÉLITES Y AFLP CON COEFICIENTES DE PARENTESCO.

Del análisis de correlación entre las matrices de similitud obtenidas con los datos de microsatélites y de AFLP se obtuvieron valores bajos para los coeficientes de correlación (r) pero estadísticamente significativos. La baja correlación hallada entre los coeficientes de similitud entre cultivares derivados de la matriz de identificación y los coeficientes de parentesco, es de esperar, dado el número reducido de *loci* de microsatélites y AFLP analizados. Aunque estos pocos *loci* no proveen una cobertura amplia del genoma, la correlación significativa indica que la información presente en este pequeño grupo de marcadores refleja, aunque parcialmente, la historia genealógica de las variedades.

Las correlaciones entre coeficientes de parentesco (f) y la similitud genética estimada con marcadores moleculares en trigo, cebada y avena (Graner *et al*,

1994; Plaschke *et al.*, 1995; Schut *et al.*,1997; Bohn 1999) muestran valores similares a los obtenidos en este trabajo.

Varias comparaciones previas de datos de pedigrí y datos moleculares indican que la correlación entre estos dos grupos de datos generados a partir de estos dos métodos distintos de estimación de diversidad, son altamente variables. Burkhamer *et al* (1998) detectaron una asociación moderada entre AFLP y datos de similitud basados en coeficientes de parentesco (r = 0.55), y entre STS ("sequence tagged sites") y datos de similitud basados en coeficientes de parentesco (r = 0.65). Barbosa-Neto et al. (1994) usaron 44 sondas de fragmentos de restricción (RFLP) distribuidas a lo largo de todo el genoma para evaluar las relaciones genéticas de 112 cultivares de trigo rojo invernal blando obteniendo una correlación negativa y no significativa (r = -0.33) entre datos moleculares y los coeficientes de parentesco. La relación entre RFLP y coeficientes de parentesco también fue estimada para 22 cultivares de trigo invernal blando adaptados al Este de Estados Unidos, encontrándose una correlación de (r = 0.73) (Kim y Ward, 1997). En cultivares europeos emparentados, esto es, cuyos coeficientes de parentesco son $f > 0.1$, Plaschke et al. (1995) hallaron una correlación $r = 0.55$ ($P < 0.001$) para la diversidad estimada calculada con datos de 23 microsatélites localizados en 15 cromosomas distintos y los datos de parentesco. Cox et al. 1995 hallaron en su estudio, en el cual se evaluaron 43 cultivares de trigo duro rojo a fin de ensayar la asociación entre proteínas de reserva del grano y diversidad estimada con los coeficientes de parentesco, una correlación $r = 0.27$, $P<0.01$ entre las dos estimaciones.

Melchinger (1998) ha reportado una fuerte asociación entre (f) y la similitud genética estimada con datos moleculares en líneas relacionadas de maíz (*Zea mays* L.), mientras que la dichas correlaciones en trigo, cebada (Graner et al, 1994; Plaschke et al.,1995; Schut et al.,1997) avena son mucho menores. Bohn *et al.* (1999) sugiere como posible explicación de estos resultados divergentes encontrados para especies autógamas y alógamas podría ser el resultado de los procesos de selección, los cuales conducen a un desvío sistemático en la contribución de cada parental resultando un f estimado sesgado.

El resultado de este sesgo podría ser substancial en especies como trigo o cebada donde el método de pedigrí es utilizado durante el mejoramiento, enfatizando la selección intensiva hacia la similitud fenotípica de los segregantes y su superior o padre preferido. Contrariamente, los mejoradores de maíz seleccionan usualmente líneas sobre la base de su habilidad combinatoria, sin importar demasiado la similitud fenotípica respecto de sus padres. Además, este sesgo seria más importante en trigo y cebada que en maíz, pues se va acumulando a través de las sucesivas generaciones y los pedigrís de cultivares de dichas especies son mucho mas complejos que los pedigrís de las líneas de maíz (Graner et al , 1994).

En general, la disparidad de niveles hallada en la estimación de la similitud genética basada en pedigrís y datos moleculares, y su correspondiente bajo valor de correlación entre ambas matrices se debe, en gran medida, a la violación de ciertas asunciones al realizar las estimaciones (Barret etal. ,1998) Una de las asunciones al calcular el coeficiente de parentesco es que individuos no relacionados no llevarían fragmentos de ADNs homólogos. Kim y Ward (1997) encuentran, en un grupo de 55 razas no emparentadas provenientes de Irán, Afganistán y Turquía, altos niveles de similitud (media = 0.91). Estos resultados sugieren la existencia de bajos niveles de variación alélica en el genoma de trigo previos a etapas de mejoramiento.

El cálculo de coeficientes de similitud también asume que la presión de selección y la deriva génica no causa impacto alguno sobre la progenie segregante, permitiendo a cada padre contribuir con un 50% de su material genético a la toda su descendencia. Por lo tanto, el coeficiente de parentesco es una medida indirecta basada en la probabilidad de que, para dos alelos de un locus tomados al azar, uno de ellos por cada padre sean "idénticos por descendencia." Se asume de esta manera que los ancestros originarios no están relacionados entre sí y que cada progenie recibe la mitad de sus genes de cada padre. En cambio, la estimación de similitud basada en marcadores moleculares se basa en que la proporción de bandas compartidas entre dos genotipos es indicadora de su parecido en sus secuencias de ADN a lo largo de todo el genoma (Nei, 1987). Es decir, se asume que aquellas bandas que migran conjuntamente serían idénticas. De ésta manera,

la similitud así calculada sería una medida directa que debería reflejar la proporción de genes o secuencias nucleotídicas similares entre sí o de "estado similar" ("alike in state") independientemente de si esta identidad es a causa de alelos idénticos por ascendencia común o bien son secuencias nucleotidicas similares entre sí ("alike in state"), lo cual puede ser resultado de un proceso distinto, incluyendo la convergencia evolutiva.

La técnica de AFLP por su naturaleza de marcador de tipo "dominante", introduce un error al momento de computar los datos de bandas. Las bandas de igual movilidad son consideradas homólogas y, dado que la probabilidad de que no lo sean es significativa, se produce una sobrestimación de las similitudes, pudiendo generarse así, agrupamientos erróneos de variedades.

La exactitud de la estimación de similitud dependerá del número y la ubicación de los marcadores empleados. Aunque diez *loci* no parecen ser suficientes como muestra representativa del genoma, la correlación significativa entre matrices indica que la información presente en el subgrupo de microsatélites seleccionados refleja bastante bien, aunque sea parcialmente, la historia genealógica de los cultivares analizados.

Resultados similares a los anteriores se obtuvieron con los datos basados en análisis de AFLPs. De hecho, se encontró una mayor correlación entre la matriz de similitud basada en datos de AFLPs y la matriz de coeficientes de parentesco, que en la comparación de ésta última con la matriz de similitud generada a partir de datos de microsatélites. Sin embargo, esta diferencia entre los coeficientes de correlación correspondientes a los dos tipos de marcadores moleculares no fue significativa. Este resultado puede atribuirse a una cobertura más amplia del genoma por parte de los AFLPs, aunque la localización cromosómica de las bandas computadas se desconoce. Bohn et al (1999) sugiere que los marcadores de AFLP generados con *Pst*I, enzima de restricción sensible a metilación, reflejan mejor la diversidad entre secuencias hipometiladas y, por lo tanto, de la eucromatina conteniendo los genes funcionales.

En algunos casos, se halló una mejor correlación (r = 0.55) entre coeficientes de parentesco excluyendo de la comparación a los pares de individuos no em-

parentados (f<0.10) como es el caso de la matriz de similitud basada en 23 SSR de 41 cultivares de trigo descripta por Plaschke *et al.* (1995). En este trabajo, el análisis de correlación teniendo en cuenta sólo las variedades relacionadas ($f \geq$ 0.1) -como sugiere Plaschke et al. (1995), no modifica significativamente los resultados. Los valores bajos de los coeficientes de correlación entre la matriz de coeficientes de parentesco y las matrices de similitud basadas en datos moleculares se debe, en gran medida, al análisis molecular parcial de los árboles genealógicos, ya que no todos los integrantes de los árboles fueron analizados mediante marcadores. Los pedigrís son complejos e involucran numerosas variedades y líneas.

Aunque los datos moleculares no son lo suficientemente extensos para la caracterización exhaustiva de las relaciones genéticas entre el grupo de cultivares aquí analizados, podría utilizarse como una primera aproximación de ellas. Si bien los dendogramas muestran una tendencia al agrupamiento de los cultivares según los criaderos, este agrupamiento no es excluyente y los grupos están constituidos por variedades pertenecientes a más de un criadero. Esta característica del agrupamiento puede deberse, en parte, al intercambio de germoplasma entre los distintos criaderos y a la gran difusión de los materiales del CIMMyT en los diversos programas de mejoramiento. Puede observarse que cultivares agrupados dentro de un mismo grupo o "cluster" comparten ancestros comunes.

Dos *loci* de microsatelites particularmente interesantes son *Xpsp2999* y *Xpsp3000* localizados dentro de las regiones codificantes de las Gluteninas de bajo peso molecular (*XGlu-A3*) y las gamma gliadinas (*XGli-B1*) respectivamente (Devos et al.1995). El alelo nulo del *locus Xpsp2999* de microsatélites fue hallado en las variedades portadoras de la translocación de centeno 1AL/1RS para el loci *Xglu –A3* y el alelo nulo del *locus Xpsp3000* corresponde a la translocación de centeno 1BL/1RS en el *locus XGli-B*, comprobado mediante estudios citológicos (Bullrich 1996). Esta translocación alcanzó un amplia difusión a partir de la introducción de germoplasma . Se utilizó en el mejoramiento dado a que este segmento se caracteriza por la presencia de genes que conferían resistencia a enfermadades como: roya de la hoja (*Puccinia recondita*) (actualmente superada), roya

estriadad (*P.striiformis*) y oídio (*Erisyphe graminis*); como así también mejor respuesta del cultivo en condiciones de sequía. Estos resultados sugieren que los primers utilizados son específicos de la especie, y no amplifican regiones homólogas de otra especie (aunque esta esté emparentada), en este caso, el centeno.

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA ENTRE CRIADEROS

Las diferencias de diversidad hallada entre los distintos criaderos de diferente tamaño eran de esperar de acuerdo con el número de variedades que incluía cada uno. Como resultado de este análisis, caben resaltar dos aspectos importantes. Uno de ellos, es que no se hallaron diferencias significativas entre el grupo de variedades pertenecientes al INTA y a dos de los más importantes criaderos privados, Klein y Buck. El otro, es que la diversidad promedio total es similar a la diversidad promedio de cada uno de los criaderos principales, de acuerdo a sus programas de mejoramiento y difusión comercial. De ésta manera se observa una muestra representativa de la diversidad en los principales programas de mejoramiento y homogeneidad, que estaría de acuerdo con el frecuente intercambio de materiales entre criaderos y el difundido uso de germoplasma de CIMMyT.

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA A TRAVÉS DEL TIEMPO.

Existe la creencia generalizada acerca de la ocurrencia de erosión genética a través del tiempo, resultando en una variabilidad genética limitada presente en los cultivares modernos. En el caso del trigo, se asume como cierta y responsable de ella a la introducción de germoplasma mejicano, proveniente de CIMMyT ocurrida en al década de los años '60.

Un resultado interesante que surge de este análisis, y que contradice esta creencia tan generalizada, es que los valores de diversidad genética hallados fueron similares durante la ultima mitad del siglo. Más aún, si consideramos, por ejemplo la variabilidad disponible, hoy es, en realidad, aun mayor que la variabili-

dad liberada en la década del '90. Si los cultivares liberados en la década anterior son incluidos en los cálculos, los valores de diversidad para la década de los '90 aumenta de 0.681 a 0.722 para los microsatélites y 0.307 a 0.378 para los AFLPs.

Resultados similares a los hallados para el germoplasma de trigo de Argentina fueron publicados para los cultivares de trigo invernal de mayor difusión del Reino Unido liberados entre 1934 y 1994 (Domini et al. 2000). El análisis de marcadores de microsatélites y AFLP para 55 variedades del Reino Unido resultó en una variación cualitativa, más que cuantitativa de la diversidad a través del tiempo. Souza *et al.* (1994) halló resultados similares examinando la diversidad genética en cultivares primaverales cultivados en dos diferentes áreas. El Valle de Yaqui, situado en México y la región de Punjab de Pakistán. Ambas regiones han sido beneficiarias de los cultivares semi-enanos liberados durante la llamada "Revolución Verde" que comenzó en los años '60. En estas regiones no se observó disminución significativa en la diversidad genética.

Haciendo un análisis detallado de los pedigrís de las variedades Argentinas se observa que la variabilidad es mantenida a lo largo del tiempo por el uso de variedades "viejas" o bien descendientes de ellas y también por la incorporación de germoplasma proveniente de otras regiones. Los alelos presentes en variedades antiguas como 38MA, Buck Quequén, Buck Atlántico, Lin Calel, Ardito, Mentana, Sinvalocho MA, Sonora64, General Roca MAG entre otras, se hallan presentes en el germoplasma moderno. En gran medida los programas de mejoramiento, tanto públicos a través de INTA o bien privados, han contribuido a mantener esta alta diversidad.

ASOCIACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES Y CARACTERES MORFOLÓGICOS. APLICACIÓN EN LA CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA Y MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD PANADERA

Utilizando poblaciones segregantes F3 homogéneas para las HMW-GS derivadas del cruzamiento Chinese Spring x Klein32, se observó una correlación altamente significativa de los alelos de LMW del cromosoma 1B presentes en

Klein32 con los parámetros de calidad. Las diferencias alélicas halladas entre los *loci Glu-B3* (que codifican para LMW-GS) *Gli-B1* (codificantes para gliadinas) que presentan un estrecho ligamiento (1-2 cM), explicarían, en promedio, un 10% de la variación observada en los parámetros de calidad. (Manifesto et al.1998)

El marcador de SSR dentro del gen de gamma-gliadinas se halla completamente ligado al marcador RFLP del locus *XGli-B1* en la población segregante del cruzamiento Chinese Spring y Klein 32 . Esto indica que los marcadores del tipo SSR ubicados dentro de los *loci* de proteínas de reserva (o estrechamente ligados) son útiles para el estudio de estos genes en poblaciones segregantes.

La posibilidad de una identificación inequívoca de las diferentes variantes alélicas en los loci de proteínas de reserva mediante microsatélites representa un paso importante en la capacidad de manipulación de los factores genéticos determinantes de la calidad panadera.

Estos marcadores permiten identificar un *locus* por vez facilitando su discriminación y seguimiento durante el mejoramiento. La descripción alélica a partir del número de pares de bases del fragmento amplificado es precisa, fácil de comunicar y sencilla de estandarizar entre diferentes laboratorios.

Nuestro grupo de trabajo realizó el primer catálogo de alelos de microsatélites de trigo de variedades de trigo pan *(Triticum aestivum)* de Argentina y de California, USA (trabajo aún no publicado, en preparación), localizados dentro de genes de proteínas de reserva. Previamente, se habían caracterizado sólo 8 cultivares europeos (Devos, 1995) y 11 cultivares canadienses (Lee, 1995) mediante estos microsatélites.

Existe una amplia diversidad alélica que puede ser eficientemente caracterizada mediante el uso de microsatélites localizados dentro de los *loci* codificantes para proteínas de reserva.

Resulta de interés destacar que el alelo 252 de *Gli-B1* presente en Klein 32 y responsable del incremento en los parámetros de calidad observados en el cruzamiento con Chinese Spring se halla presente también en otros cultivares de reconocida calidad panadera como Buck Manantial, Buck Cencerro (Lúquez, 1995) y

Buck Pangaré (Tombetta, 1990). Cabe destacar que este alelo no se encuentra en ningún cultivar proveniente de California por lo que resulta interesante el estudio de su efecto en genotipos de esa "población".

La introgresión de alelos del locus de LMW con un alto valor potencial sobre la calidad panadera manteniendo una composición óptima de HMW-GS se presenta como una alternativa alentadora en la manipulación genética de la calidad panadera. Si bien este estudio ha caracterizado sólo una pequeña porción de la diversidad alélica en las LMW-GS es importante conocer además el valor específico sobre la calidad y su interacción con distintos fondos genéticos. Los nuevos conocimientos sobre el efecto de diferentes variantes genéticas de proteínas de reserva sobre la calidad panadera unidos a la disponibilidad de nuevas tecnologías de marcadores moleculares para manipular dichas variantes, tienen el potencial necesario para comprender las bases bioquímicas y moleculares de la calidad panadera y contribuir al mejoramiento del trigo.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- En este estudio, 105 cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) liberados comercialmente en Argentina entre 1932 y 1995 fueron caracterizados utilizando marcadores genéticos de tipo morfológico y molecular (microsatélites y AFLP) para obtener una estimación cuantitativa de la diversidad genética y su evolución a lo largo del tiempo, con los distintos programas de mejoramiento utilizando marcadores fenotípicos y moleculares. Este grupo de cultivares es ampliamente representativo del amplio espectro de los cultivares liberados en Argentina en los últimos 60 años.
- Entre los marcadores genéticos analizados, los microsatélites (SSR) revelaron los índices más altos de polimorfismo. Como lo esperado para marcadores dominantes el Índice de Contenido Polimórfico para los AFLPs y descriptores morfológicos fue menor que para los microsatélites.
- Un subgrupo de 10 diez microsatélites altamente informativos fue seleccionado y utilizado para la construcción de la Matriz de Identificación permitiendo establecer un documento de identidad genotípica (o genómica) para cada uno de los cultivares ("fingerprint" o "huella digital" genómica). Esta Matriz de Identificación puede aplicarse como una herramienta útil para diferenciación precisa de los cultivares de trigo, que puede ser utilizada para acelerar el registro de nuevas variedades y brindar una mejor protección de la propiedad intelectual a obtentores, acopiadores y productores. También esta herramienta podría ser utilizada para el control de la pureza a través de sucesivos ciclos de multiplicación del material, de manera de controlar la homogeneidad y estabilidad.
- Los altos índices de contenido polimórfico y bajos niveles de redundancia indican que este grupo de microsatélites resultó adecuado para el desarrollo de dicha Matriz de Identificación (esta tesis; Wu, 1993; Bell, 1994, Provan 1996) y confirman la gran ventaja de los microsatelites en trigo (y en otras especies)

sobre otros marcadores moleculares para la identificación varietal (esta tesis y Powell et al. 1996).

- Los datos descriptores fenotípicos fueron comparados con los datos moleculares y los coeficientes de parentesco. Se observaron valores de correlación significativos, aunque bajos, presentando el mayor valor de correlación (r = 0.1334) con los AFLP y SSR, siguiéndole el de coeficientes de parentesco (r = 0.12239).
- Los datos moleculares fueron comparados con los coeficientes de parentesco. La correlación entre las matrices de similitud de datos combinados (SSR con AFLP) y la matriz de coeficientes de parentesco fue estadísticamente significativa (Mantel test, P<0.01), aunque baja (r= 0.34). De hecho, observando los fenogramas, los cultivares que se agruparon en un mismo conjunto, comparten ancestros comunes.
- Los datos moleculares fueron usados para cuantificar la diversidad genética a través de los criaderos y para evaluar la erosión genética en el germoplasma de trigo de Argentina. No se observaron agrupamientos definidos en cuanto a criaderos por medio de las técnicas moleculares. En parte esto puede atribuirse al intercambio de materiales entre los programas de mejoramiento y utilización de materiales provenientes del CIMMyT.
- No se hallaron diferencias significativas en la diversidad genética entre los principales programas de mejoramiento privados y públicos.
- Sólo se hallaron diferencias significativas entre los principales criaderos y los menores tanto con SSR como con AFLP, resultado que sugiere que las diferencias están dadas por el número de variedades liberadas por cada criadero. Lo mismo fue observado en el análisis con descriptores fenotipicos.
- No se hallaron diferencias significativas en la diversidad genética, analizada mediante microsatélites, entre los grupos de cultivares liberados antes de 1960 y aquellos liberados en las siguientes tres décadas. Los valores de diversidad promedio basados en marcadores SSR fueron casi idénticos para los cuatro

períodos analizados. La diversidad genética estimada basada en datos de AFLP fue similar, pero se hallaron diferencias levemente significativamente entre cultivares liberados en los '70 (PIC= 0.28) y en los 80's (PIC= 0.34). En el análisis de diversidad basado descriptores fenotípicos se obtuvo un valor promedio menor y significativo que las restantes décadas.

- Los resultados de los análisis de diversidad genética mediante distintas técnicas sugieren el mantenimiento de la misma a través del tiempo. Estos resultados contradicen la visión generalizada de la erosión genética de los cultivares modernos y muestran que el germoplasma Argentino de trigo pan ha mantenido relativamente constante el nivel de diversidad genética durante la última mitad del siglo.

- Se corroboró la factibilidad de la aplicación de microsatélites en el estudio de caracteres cuantitativos de interés agronómico, como es la calidad panadera, en poblaciones segregantes y su aplicación en la caracterización de germoplasma:

  - El microsatélite *Xgwm3000* ubicado dentro del locus del gen de las γ-gliadinas (*Xps2(Gli-1)*) se halló completamente ligado al locus de RFLP *XGli-B1* y estrechamente ligado (1.6 cM) a *XGlu-B3* en la población segregante Chinese Spring-Klein 32. Esto indica que los marcadores del tipo SSR ubicados dentro de los loci de proteínas de reserva (o estrechamente ligados) son útiles para el estudio de estos genes en poblaciones segregantes.

  - Se encontró una asociación de los parámetros de calidad con variantes alélicas del patrón de bandas SSR en los loci *XGli-B1* and *XGlu-B3*, del brazo corto del cromosoma 1B. Estos loci explican entre un 7 y 12% de la variación detectada en este cruzamiento.

  - La presencia del alelo 252 pb detectado en Klein 32 se correlacionó con los aumentos detectados en los parámetros de calidad.

- El alelo 252 de *Gli-B1* presente en Klein 32 y responsable del incremento en los parámetros de calidad observados en el cruzamiento con Chinese Spring se halla presente también en otros cultivares de reconocida calidad panadera como Buck Manantial, Buck Cencerro y Buck Pangaré.
- Los microsatélites *Xgwm2999* y *Xgwm3000* ubicados dentro de los loci de γ-gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular, respectivamente fueron útiles en la caracterización de de la variación alélica de los loci de proteínas de reserva en 105 cultivares de Argentina y 90 de California.
- El alelo 252 de *Gli-B1* no se encuentra en ningún cultivar proveniente de California

- Este trabajo plantea la posibilidad de que la introgresión de alelos del *locus* de Gluteninas LMW-GS con un alto valor potencial sobre la calidad panadera pueda representar una alternativa alentadora en la manipulación genética de la calidad panadera además de permitir estudiar su contribución específica sobre la calidad y su interacción con distintos fondos genéticos. Como hipótesis se plantea que la presencia del alelo "252 pb" provocará un efecto favorable sobre la calidad panadera en las variedades introgresadas. Con este propósito se realizaron cruzamientos entre los cultivares Yecora Rojo, Anza, RSI5 y la línea UC1037, por el padre donante Buck Manantial. Actualmente el material se halla en retrocruza 5 (BC5: "backcross" 5).

LIC. MARIA M. MANIFESTO

DR. H. E. HOPP

REFERENCIAS

REFERENCIAS

AACC.1983.Aproved methods of the AACC.; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, USA, Vol. 8th.

Akkaya MS; Bhagwat AA; Cregan PB. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA insoybean. Genetics 132: 1131-1139.

Akkaya MS; Shoemaker RC; Specht JE; Bhagwat AA., Cregan PB. 1995. Integration of simple sequence repeat (SSR) DNA markers into a soybean linkage map. Crop Sci. 35·1439-1445.

Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, Sorrells ME, 1993. Genome 36: 181-186.

Anderson JA, Ogihara Y, Sorrells ME, Tanksley SD. 1992. Development of a chromosomal arm map fpr wheat based on RFLP markers. Theor.Appl.Gnet. 83: 1035-1043.

Anderson OD, Greene FC, Yip RE, Halford NG, Shewry PR, Malpica-Romero JM. 1989. Nucleic Acid Research 17, 461.

ArbuzovaVS, Efremova TT,Laikova Li, Maystrenko OI, Popova OM, Pschnichnikova TA. 1996.The development of precise genetic stocks in two wheat cultivars and their use in genetic analysis. Euphytica 89· 11-15. *Citado en McIntosh, 1998.*

Axford DW; McDermott EE., Redman DG 1979. *Cereal Chemistry f 56*, 582

Barrett BA, Kidwell KK. 1998 AFLP-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. Crop Sci. 38: 1261-1271.

Baulcombe DC, Barker RF, Jarvis MG. 1987 A giberillin responsive wheat gene has homology to yeast carboxipeptidase Y. Journal of Biological Chemistry 262: 13726-13735

Belmonte J, Fisher GJ. 1936.n ensayo de reforma de los métodos empleados para para juzgar los trigos en las exposiciones, en Arch.Fit.Uruguay vol 1, entrega 3,400-416, La Estanzuela *Citado en Risso Patrón, 1939.*

Bell CJ, EckerJR 1994.Assigment of 30 microsatellite loci to the linkagemap of *Arabidopsis.* Genomics 19:137-1444.

Bennett MD, Smith JB.1976.Nuclear DNA amounts in angiosperms Phil.Trans.Soc.lond.B. 274: 227-274.

Bhowal JG, Jha MP 1969. An inhibitor of glume pigment in wheat. Canadian Journal of Genetics and Cytology 11: 226. *Citado en McIntosh, 1998.*

Bohn M, Utz F.H, Melchinger AE, 1999. Genetic similarities among winter wheat cultivars determned on the basis of RFLPs, AFLPs and SSR and their use for predicting progeny variance. Crop. Sci 39:228-237

Börner A, Plaschke J, Korzun V, Worland AJ. 1996. The relationship between the dwarfing genes of wheat and rye. Euphytica 89: 69-75. Citado en McIntosh, 1998.

Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. y Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.

Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P, Orry A, Smith, Gale MD. 1997 Isolation of microsatellites from hexaploid bread wheat. Theor. Appl. Genet. 94: 557-563.

Bryan GJ, Stephenson P, Collins A, Kirby J, Smith JB, Gale MD. 1999. Low levels of DNA sequence variation among adapted genotypes of hexaploid wheat. Theor Appl. Genet. 99: 192-198.

Buchanan FC, Adams LJ,Littlejohn RP, Madoxx JF, Crawford. 1994. Determination of evolutionary relationship among sheep breeds using microsatellites. Genomics 22: 397-403.

Cadalen T, Boeuf C, Bernard S, Bernard M. 1997 An intervarietal molecular marker map in *Triticum aestivum* L. em Thell and comparision with a map from a wide cross. Theor.Appl.Genet. 94:367-377

Cassidy BG, Dvorak J 1991 Theor.Appl.Genet. 81, 653.

Coe HE, Neuffre MG.1993. Gene loci and linkage map of corn (maize) (Zea mays) (2N=20). In genetics maps. (O'Brien SJ. ed.). Ed.6. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour 157· 189. *Citado en McIntosh, 1998.*

Condit R, Hubbell SP 1991[a] Abundance and DNA sequence of two –base repeat regions in tropical tree genomes. Genome 34: 66-71.

Cox et al. 1986.Changes in genetic diverisity in the red winter wheat regions of the United States. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 83:5583-5586.

Cox TS, Kiang YT, Gorman MB, Rodgers DM (1985a). Relationship betwen coefficient of parentage and genetic similarity indices in soybean. Crop Sci. 25: 529-532.

Cox TS, Lookhart GL, Walker DE, Harrell LG, Albers LD, Rodgers DM.1985b. Genetic relationship among hard red winter wheat cultivars as evaluated by pedigree analysisand gliadin polyacrilamide gels electrophoresic patterns. Crop Sci. 25: 1058-1063.

Cox TS, Murphy JP, Rodgers DM. 1986. Changes in genetic diversityin the red winter wheat three regions of the United State. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA).

Cox TS, Murphy JP 1990 The effect of parental divergence on F_2 heterosis in winter wheat crosses. Theor.Appl.Genet.79: 241-250.

Chao S, Sharp PJ, Worland AJ, Warham EJ, Koeber RMD, Gale MD. 1989. RFLP-based genetic maps of wheats¡ homoelogous group 7 chromosoms. Theor.Appl.Genet. 78: 739-746.

D'Ovidio R, Tanzarella OA, Porceddu E 1992.Isolation of alpha-type gliadin gene from *Triticum durum* Desf. And genetic polimorphism at the Gli-2 loci. Journal of Genetic Breeding 46: 41-48

Dávila JA, Sánchez de la Hoz MP, Loarce Y, Ferrer E 1998. The use of random amplified microsatellite and coefficients of parentage to determine genetic relationships in barley Genome. Vol 41, Nº4, pag 477-486.

Delaney DE, Nasuda S, Endo TR, Gill BS, Hubert SH. 1995 a.Cytollogical based physical maps of the group 2-chromosome of wheat. Theor.Appl.Genet. 91:568-573.

Delaney DE, Nasuda S, Endo TRGill BS, Hubert SH. 1995 b.Cytollogical based physical maps of the group 3-chromosome of wheat. Theor.Appl.Genet. 91:780-782

Devos K. and M.Gale 1992 The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. Theor Appl.Genet 84: 567-572.

Devos KM, Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P, Gale MD. 1995. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers Theor Appl Genet 90: 247-253.

Devos KM, Gale MD 1993. Extended genetic maps of the homoelogous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. Theor.Appl.Genet. 91:780-782.

Dietrich W, Katz H, Lincoln SE, Shin HS,Friedman J, Dracopoli NC, Lander ES. 1992. A genetic map of the mouse suitable for typing intraespecific crosses.Gnetics 131: 423-447

Dilday RH.1990 Contribution of ancestrallines in the development of new cultivars of rice. Crop. Sci. 30:905-911

Domini P, Law JR, Koebner RMD, Reeves JC, Cooke RJ. 2000. Temporal trends in the diversity of UK wheat. Theor. Appl. Genet. 100: 912-917

Dow BD, Ashley MV, Howe HF 1995. Characterization of highly variable GA/CT)n microsatellites in bur oak (*Querqus macrocarpa*). Theor. Appl. Genet. 91:137-141

Driscoll CJ, Jensen NF 1964. Chromosome association with waxlessness,awnedess and time of maturity of common wheat. Canadian Journal of Genetics and Cytology 6: 324-333. *Citado en McIntosh, 1998.*

Driscoll CJ, Sears ER. 1965. Mapping of a wheat-rye translocation. Genetics 51: 439-443. *Citado en McIntosh, 1998.*

Driscoll CJ. 1966.gene centromere distance in wheat aneuploid F2 Observations. Genetics 54: 131-135. *Citado en McIntosh, 1998.*

Dubcovsky J, Luo MC, Dvorak J. 1995. Proceedings of National Academy of Sciences 92, 6645.

Elder JK, Southern EM, 1987 Computer –aided analysis of one dimensional restricción fragment gels. Restriction Fragment Gels. Chapter 7. pag 165-172.

Evans LT, 1993. Crop Evolution, Adaptation and Yield. Cambridge University press, Cambridge.

Faridi H, Faubion JM .1995. Wheat end-uses around the world. American Association of Cereal Chemists. St Paul, Minnesota, USA.

Feingold SE. 1993. Calidad panadera en trigos argentinos: su relaci{on con las gluteninas de alto peso molecular y otras fracciones proteicas presentes en los granos. M.Sc Thesis Facultad de Agronomía.

Forde BG, Kreis M, Williamson MS, Fry R P, Powell J, Shewry PR, Bunce N, Mifflin BJ. 1985. EMBO Journal 4, 9.

Fox PN, López C, Skovmand B, Sánchez H, Herrera R, White JW, Duveiller,E , van Ginkel M. 1996. International Wheat Information System (IWIS), Version 1 Mexico, D.F · CIMMYT On compact disk.

Frasser JCG, Feller F 1935. Two new methods of distinguish certain Candian wheats, in Sc.Agr., XV, nº8, 564-572,illus. *Citado en Risso Patrón, 1939.*

Fu YH, Kuhl DPA, Pizzuti A, *et al.* 1991 Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic inestability: resolution of the Sherman paradox. Cell 67: 1047- 1058.

Gaines EF, Cartens A. 1926.The linkage of pubescent node and beard factorsas evidenced by a crossbetweeb two varieties of wheat. Journal of Agricultural Research 33: 753-755. *Citado en McIntosh, 1998.*

Galiba G, Quarrie SA, Sutka J, Morgunov A, Snape JW. 1995. RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat. Theor.Appl.Genet. 90: 1174-1179.

Gill KS, Gill BS, Endo TR, Boyko V.1996.Identification and high density mapping of gene-rich regions in chromosome group 5 of wheat. Genetics 143: 1001-1012.

Gill KS, Gill BS, Endo TR.1993. A chromosome region specific mapping strategy reveals gene-rich telomeric ends in wheat. Chromosoma 102: 374-381.

Gill KS, Lubbers EL, Gill BS, Raupp WJ, Cox TS. 1991A genetic linkage map of *Triticum tauschii* (DD) and its relationship to the D genome of bread wheat. Genome 34: 362-374.

GotohT 1980 Gene analysis of the degree of vernalisation requirement in winter wheat. Japanese Journal of Breeding 30:1-10. *Citado en McIntosh, 1998.*

Graner A, Jahoor A, Schondelmaier J, Seidler H, Pillen K, Fishbeck G, Wenzel G, Herrmann RG.1991.Constrution of RFLP map in barley. Theor.Appl.Genet 83: 250-256. *Citado en McIntosh, 1998.*

Hamada H, Petrino MC,TakuganaT 1982. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionary diverse eukaryotic genomes. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 79, 6465-6469.

Hazan J, *et al.*. 1992. Genomics 12: 183-189.

Heyne EG, Livers RW 1953 Monosomic analysisof leaf rust reaction, awnedness, winter injury and seed colour in Pawnee wheat. Agronomy Journal 45: 54-58. *Citado en McIntosh, 1998*

Hirschonn J 1934. Identificación colorimétrica de las variedades de trigo mediante el ácido fénico. Rev. Fac Agronomía de La Plata, t XX, nº1, 31 y sig. , ilust. *Citado en Risso Patrón, 1939*

Hohmann U, Endo TR, Gill KS, Gill BS. 1994. Comparision of genetic and physical maps of group 7 chromosomes from *Triticum aestivum* L. Mol.Gen.Genet 245: 644-653.

Jarret RL, Bowen N. 1994.Simple sequence repeats (SSRs) for sweet potatoe (*Ipomea sp*).germplasm characterization. Plant Genet. Res. Newslwt. 100:9-11

Jeffreys AJ, Wilson V,Thein SL. 1985 Hypervariable microsatellite regions i human DNA. Nature 314: 67-73.

Jensen NF, Driscoll CJ.1962 Inheritance of waxless character in wheat. Crop Science 2: 504-505. *Citado en McIntosh, 1998.*

Johnson DA, Richards RA, Turner NC. 1983. Yield, water relations, gas exchange and surface reflectance of near isogenic wheat lines differing in glaucosness. Crop Science 23: 318-325. *Citado en McIntosh, 1998*

Kim HS, Ward RW. 1997 Genetic diversity in Eastern U.S. soft winter wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) based on RFLPs and coefficient of parentage. Theor. Appl. Genet. 94: 472-479.

Knauft DA, Gobet DW. 1989. Genetic diversity among peanut cultivars. Crop Sci. 29:1417-1422.

Knott DR 1989. The mode of inheritance of a type of dwarfism in common wheat. Genome 32: 932-933. *Citado en McIntosh, 1998.*

Koppinen E.194. (Morphological characteres of spring wheats). Maataloust Aikaakausk 13:145-164. *Cited in* Plant Breeding Abstracts 19: 206, p 65. *Citado en McIntosh, 1998.*

Korzun V, Malyshev S,Voylokov A, Börner A.1977.RFLP-based mapping of the three mutant loci in rye (*Secale cereale* L.) and their relation to homologous loci within the Gramineae. Theor.Appl.Genet 95: 468-473. *Citado en McIntosh, 1998.*

Kota RS,Gill KS, Gill BS, Endo TR 1993. A cytogenetically based physical map of chromosome 1B in common wheat. Genome 36: 548-554.

Kresovich S, Szwec-McFadden Ak, Bliek SM, Mc Ferson JR. 1995. Abundance and characterization of simple sequence repeats (SSRs) isolated from size-fractionated genomic library of Brassica napus L.(Rapesed). Theor Appl. Genet. 91:206-211.

Lagerkrantz U, EllengrenH, Andersson L. 1993 The abundance of various polymorphic microsatellite motif differs between plants and vertebrates. Nucleic acids Res. 21: 1111-1115

Lagudah E, Appels R, Brown AHD *et al* 1991 The molecular genetic analysis of Triticum tauschii, teh D-genome donor to hexaploid wheat. Genome 34: 375-386.

Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly M, Lincoln SE, Newburg L. 1987. Genomics 1, 174.

Lefort-Buson M, Datté Y, Guilot-Lemoine B. 1987.Heterosis and genetic distance in rapeseed (Brassica napusL.): use of kinship coefficient. Genome 29:11-18.

Lewis P.O, Zaykin, D. 1999. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d12). Free program distributed by the authors over the internet from the GDA Home Page at http://chee.unm.edu/gda/.

Lincoln S, Daly M, Lander E. 1992 Whitehead Institute Technical Report., 3rd Edition

Litt M, Luty JA. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by an in vitro amplification of a dinucleotide repeat within de cardiac muscle actin gene.Am J.Hum Genet 44:397-401

Liu ZW,Jarret RL, Kresovich S, Duncan RR .1995. Characterization and analyses of simple sequence repeat (SSRs) loci in seashora paspalum (*Paspalum vaginatum* Swartz). Theor Appl. Genet. 91· 47-52.

Love HH, Craig WT 1924. The inheritance of pubescent nodes in a cross between two varieties of wheat, Journal of Agricultural Research 28:841-844. *Citado en McIntosh, 1998*

Ma H, Huges GR. 1995. Genetic control and chromosome location of Triticum timopheevii-derived resistance to Septoria nodorum blotch in durum wheat. Genome 38: 332-338.

Mackill DJ, Zhang Z, Redoña ED, Colowit PM 1996. Level of polymorphic and genetic mapping of AFLP markers in rice. Genome 39: 696-977.

Malecòt G.1948. Les mathématiques de l'e Hérédité. Masson & Cie, París.

Manifesto MM, Schlatter AR, Echaide M y Dubcovsky J. 1995. Utilización de microsatélites como marcadores en trigo. Congreso de Genética Bariloche.

Mantel NA.1967 The detection of desease clustering and generalized regression approach. Cancer Res. 27:209-220.

Marcucci Poltri, Caracetrización molecular y cariotípica de la variabilidad genética de gremoplasma de *Solanum v.*Tesis Doctoral, FCEyN, 1998.

Marino CL, Nelson JC, Lu YH, Sorrells ME, 1996. Molecular genetics maps of group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). Genome 39· 359-366.

Martin JM, Blake TK, Hockett EA. 1991 Diversity among North American spring barley cultivars based on coefficient of parentage. Crop. Sci.31:1131-1137

Matsumura S. 1936. Linkage studies in *Triticum* II Japanese Journal of Genetics 12:289-306, *Cited in* Plant Breeding Abstracts 23:171, p 44. . *Citado en McIntosh, 1998*

Matsumura S 1951 Other studies on wheats. Annual Report of National Institute of Genetics, Japan 1949-50 1:25-27, *Cited in* Plant Breeding Abstracts 23·171, p 44. *Citado en McIntosh, 1998.*

Maughan PJ, Saghai Maroof MA, Buss GR, Huestis GM. 1996. Amplified Length polymorphism in soybean (AFLP): species diversity, inheritance, and near-isogenic lines analysis. Theor Appl Genet. 93· 392-401.

Maystrenko OI. 1976. (Identification and location of genes controling hairness in youngplants of bread whaet). Genetika, U.S.R.R. 12: 5-15. *Cited in* Plant Breeding Abstracts 47· 9205, p.784. *Citado en McIntosh, 1998.*

McIntosh RA, Hart GE, Devos KM, Gale MD, Rogers WJ. Catalogue of gene symbols for wheat. Proceedings of the 9th International Wheat Genetica Symposium, University of Sakatchewan, Saskatoon, Sakatchewan, Canadá.

McVittie JA, Gale MD, Marshall GA, Westcott B. 1978. The intra chromosomal mapping of the Norin 10 and Tom Thumb genes. Heredity 40: 67-70. *Citado en McIntosh, 1998.*

Melz G, Thiele V. 1990. Chromosome location of gene controlling 'purple leaf base' in rye and wheat. Euphytica 49: 155-159. *Citado en McIntosh, 1998*

Mercado LA, Souza E, Kephart KD. 1996. Origin and diversity of North American hard spring wheats. TAG 93:593-599.

Mickelson-Young L, Endo TR, Gill BS. 1995. A cytogenetic ladder-map of the whaet homoeologous group-4 chromosomes. Theor.Appl.Genet. 90: 1007-1011

Miczynski K. 1938. (Genetic studies on the phenol colour reaction in wheat) Z.Zucht. A22: 564-587. *Cited in* Plant breeding Abstracts 8: 9697, p.195. *Citado en McIntosh, 1998.*

Milbourne D, Meyer R, Bradshow JE, Baird J, Bonar N, Provan J, Powell W, Waugh R: Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. Molecular Breeding 3: 127-136 (1997).

Miller TE. 1987. Systematics and Evolution. In Lupton, FGH (ed.) Wheat Breeding, its Scientific basis. Cahpman and Hall, pp 1-30.

Mörchen M,Cuguen J, Michaelis G, Hänni C, Saumitou-Laprade P. 1996.Abundance and length polymorphismof microsatellite repeats in *Beta vulgaris L.* Theor.Appl.Genet. 90: 1007-1011.

Morgante M, Rafalski A, Biddle P, Tingey S, Olivieri AM. 1993.Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci. Geneome 37: 763-769.

Nelson JC, Sorrells ME, Van Deynze AE, Lu YH, Atkinson M.1995c.Molecular mapping of wheat: major genes and rearregements in homoelogous groups 4,5 and 7. Genetics 141: 721-731

Nelson JC, Van Deynze AE, Autrique E,Sorrells ME, LU YH. *et al.*1995a.Molecular mapping of wheat: homoelogous group 2: Genome 38:516-524.

Nelson JC, Van Deynze AE, Autrique E,Sorrells ME, Lu YH. *et al.*1995b. Molecular mapping of wheat: homoelogous group 3: Genome 38:525-533.

Ogihara Y, Hasewa K, Tsujimoto H. 1994.High- resolution cytological mapping of the long arm of chromosome 5a in common wheat using a series of

deletion lines induced by gametocidal (Gc) genes of *Aegilops speltoides*. Mol.Gen.Genet. 244: 253-259.

Orth RA, Shellenberger JA. 1988.Origion, production and utilization of wheat. In: Pomeranz Y (ed.) *Wheat Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists. Minnesota. pp1-14.

Panin VM, Netsvataev VP. 1986. (Genetic control of gliadins and some morphological characters of the spikein durum winter wheats)[In Russian]. Nauchno-Teknicheski Bull. VSGI. Odessa 2: 31-36. *Citado en McIntosh, 1998.*

Paul S, Wachira FN, Powell W, Waugh R. 1997. Diversity and genetic differentiation among populations of Indian and Kenyan tea (*Camelia sinensis* (L.) O. Kuntze) revealed by AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 94: 255-263. cebada

Paull JG, Chalmers KJ, Karakoukis A, Krestchmer JM, Manninig S, Landridge P. 1998 Genetic diversity in Australian wheat varieties and breeding material based on RFLP data. Theor. Appl. Genet. 96: 453-446

Pena RJ, Amaya A, Rajaram,S, Mujeeb-Kazi A. 1990. Journal of Cereal Science 12, 105.

Piech J. 1969.Genetic analysis of phoyoperiodic insensitivity in wheat. Genetica Polonica 10: 99-100-.*Citado en McIntosh, 1998.*

Pirateh B, Welsh JR. 1975. Monosomic analysi of photoperiod response in wheat. Crop Science 15: 503-505. *Citado en McIntosh, 1998.*

Plaschke J., Ganal M.W., Roder M.S., 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. Theor. Appl.Genet 91: 1001-1007

Provan J, Powell W, Waugh R. 1996. Microsatellite analysis of relationships within cultivated potatoe (*Solanum tuberosum*). Theor. Appl. Genet. 92:1078-1084.

Pugsley AT, 1965. Inheritance of a correlated day-lengh response in spring wheat. Nature 207:108. *Citado en McIntosh, 1998.*

Pugsley AT. 1966. Te photoperiodicsensitivityof some spring wheats with special reference to the variety Tatcher. Australian Journal of Agricultural Research 17:591-599. *Citado en McIntosh, 1998.*

Pugsley AT. 1973. Control in developmental paterns in wheat hrough breeding. Proceedings of the 4th International Wheat Symposium, University of Missouri, Columbia (Sears ER & Sears LMS eds.): 857-859. *Citado en McIntosh, 1998.*

Qi X, Lindhout P. 1997. Development of AFLP markers in barley. Mol. Gen. Genet. 254: 330-336.

Reikhel NV, Wilkins TA. 1987 Isolation and characterization of a cDNA clone encoding wheat germ aglutinin. Proceedings of the National Aacademy of Science of the United States of America 84: 6745-6749.

Richards R. 1988. *Citado en McIntosh, 1998.*

Risso Patrón R 1939. Descripción de 35 variedades de trigo del país, Mnisterio de Agric de la Nación, Estación Experiemntal de Pergamino, publicación Nº1, BsAs, Argentina

Roberts DWA, Larson RI. 1984 Vernalization and photoperiod responses ofselected chromosome substitution lines derived from 'Rescue', 'Cadet' and 'Cypress' wheats. Canadian Journal of Genetics and Cytology 27: 586-591. *Citado en McIntosh, 1998*

Röder MS, Korzum V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M, Leroy P, Ganal MW. 1998a. A wheat microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007-2023.

Röder MS, Korzum V,Gill BS, Ganal MW. 1998b the physical mapping of microsatellitemarkers in wheat.. Genome

Röder, M. S.,J. Plaschke, S. U. Köning, A. Börner, M. E. Sorrells, S. D. Tanksley and M. W. Ganal. 1995. Molecular and General Genetics 246(3): 327-333

Röder, M. S.,V Korzum, K. Wendehake, J. Plaschke, M.Tixier, P Leroy and M. W. Ganal. 1998. A wheat microsatellite map of wheat. Genetics 149 (4): 2007-2023.

Rohlf, FJ, 1989 NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Vs 2.0 Exeter Publ.LTD, Setauket,NY.

Rongwen J, Akkaya MS, Bhagwat AA, Lavi U, Cregan PB. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. Theor. Appl. Genet. 90: 43-48

Russell JR, Fuller JD, Macaulay M, Hatz BG, Jahoor A, Powell W.,Waugh R. 1997 Direct comparisionof levels of genetic variation among barley accesions detected by RFLPs, SSRs and RAPDs. Theor. Appl.Genet. 95: 714-722.

Saghai-Maroof, M., Soliman, K., Jorgensen, R., Allard, R. (1984). Ribosomal DNA sapacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (81), 8014-8018.

Sambrook, J.; Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning. A laboratory manual. 2nd. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

Scarth R, Law CN. 1983. The location of photoperiod gene Ppd2 and an additional genetic fctor for ear-emergence time on chromosom 2B of wheat. Herdity 51: 607-619. *Citado en McIntosh, 1998.*

Schmidt T,Heslop-Harrison JS. 1996. The physical and genomic organization of microsatellites in sugar beet. Proc.Natl.Acad.Sci USA.93:8761-8765.

Senior ML, Heun M.1993. Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted reapets using a CT primer. Genome 36: 884-889.

Shangai-Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. 1984.Ribososmal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc.Natl.Acad.Sci. 81: 8014-8018.

Sharma PC, Winter P, Bunger T, Huttel B, Weigand F, Weising K, Kahl G. 1995.Abundance and polymorphism of di-, tri-, and tetra- nucleotide tandem repeats in cheakpea (*Cicer arientinum* L.). Theor. Appl. Genet 90:90-96.

Smith JSC, Chin ECL, Shu H, Smith OS, Wall SJ, Senior ML,MitchellSE, Kresovich S, Ziegle J. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisions with data from RFLPs and pedigree.

Smith S, Chin E.1992. The utility of random primer mediated profiles, RFLPs and other technologies to provide useful data for varietal protection. Applications of RAPD technology to Plant breeding, Joint Plant Breeding Symposia Series, 1 November 1992, Minneapolis, Minnesota, USA.

Sneath PHA, Sokal RR. 1973. Numerical Taxonomy, The Principles and Practice of Numeriacal Classification, Freeman, San Francisco, CA, XV, 573 p.

Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. (1973). Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Clasiffication, Freeman, San Francisco, CA., XV, 573 págs.

Somasco OC.1990. Inheritance of resitance to *Septoria tritici blotch* in wheat, M.Sc. Thesis, University of California, Davis, USA.

Sorrells, GrainGenes Database, Internet Gopher, host greengenes.cit.cornell.edu, port 70

Souza E, Sorrells ME. 1989. Pedigree analysis for North American oat cultivars realesed from 1951 to 1985. Crop. Sci 29:151-152.

St Martin SK.1982. Effective popylation size for soybean improvement program in matury groups 00 to IV. Crop. Sci. 22:151-152.

Stephenson, P., Glenn, B., Kirby, J., Collins, A., Devos, K., Busso, C., and Gale, M. 1998. Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. Theor. Appl. Genet. : In press.

Stuckey J, DrsicollCJ. *Citado en McIntosh, 1998.*

Sutka J, KovacsG. 1987 Chromosomal location of dwarfing gene Rht12 in wheat. Euphytica 36: 521-523. .*Citado en McIntosh, 1998.*

Sutka J, Snape JW. 1989 Location of a gene for frost resistance on chromosome 5A of wheat. Euphytica 42: 41-44. *Citado en McIntosh, 1998.*

Sutka J.1977.The association of genes for purple coleoptilewith chromosomes of the wheat variety Mironovsaya 808. Euphytica 26: 475-479.*Citado en McIntosh, 1998.*

Swanson C, Working E. 1933. Testing quality of flour by the recording dough mixer-citado en Tombetta y Cuniberti, 1994-. Cereal Chemestry (10), 1.

Tahir ChM, Tsunewaki K 1969. Monosomic analysis of *Triticum spelta* var *duhamelianum* a fertility restorer foe t.timopheevii cytoplasm. Japanase Journal of Genetics 44:19. *Citado en McIntosh, 1998.*

Taramino G, Tingey S. 1996 Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. Genome 39: 277-287.

Tauz D and Renz M. 1984. Simple sequence are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genome, Nucleic Acid Research 12, 4127-4138.

Thomas MR, Scott NS. 1993. Microsatellite repeats in grapevinw reveal DNA polymorphism when analysed as sequenced-tagged sites (STSs). Theor. Appl. Genet. 86, 985-990.

Tinker NA, Fortin MG, Mather DE (1993). Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley TAG 85: 976-984.

Tohme J, Gonzalez DO, Beebe S,Duque MC. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. Crop Sci. 36: 1375-1384.

Tombetta EE y Nisi JE, 1997 100 años del Trigo, Evolución del Mejoramiento, Calidad y Producción.

Tombetta EE, Bushusk W, Cuniberti M. 1990 Evaluación de la calidada de cultivares de trigos argentinos mediante electroforesis de gluteninas de alto peso molecular y de metología tradicional. Proc II Congreso Nacional de Trigo 43-52.

Tombetta EE, Cuniberti M. 1994. Utilización del mixógrafo de Swanson para la evaluación de la calidad en los programas de mejoramiento de trigo pan (Informe técnico No. 105). EEA Marcos Juárez-INTA-

Tsunewaki K 1966. Comparative gene analysis of common wheat and its ancestral species. II. Waxiness, growth habit and awndness. Japanese Journal of Botany 19: 175-254. *Citado en McIntosh, 1998.*

UPOV. 1991 The 1991 Act of the UPOV Convention *http://www.sib.it/engsib/novita/pat/240498.htm*

Vaccino P, Accerbi M, Corbellini M. 1993. Cultivar identification in *Triticum aestivum* using highly polymorphic RFLP probes. Theor. Appl. Genet. 86: 833-836.

Van Deynze, A. E.; Dubcovsky, J.; Gill, K. S.; Nelson, J. C.; Sorrells, M. E.; Dvorak, J.; Gill, B. S.; Lagudah, E. S.; McCouch, S. R.; Appels, R. 1995. *Genome 38*: 45.

Van Dynze AE, Dubcovsky J,Gill KS, Nelson JC, Sorrells ME *et al.* 1995.Molecular genetics maps for group 1 chromosomes of triticea species and their relation to chromosomes in rice and oats. Genome 38:45-59.

Varshney RK, Prasad M, Roy JK, Kumar N, Harjit-Singh, Dhaliwal HS, Balyan HS, Gupta PK. 2000. Identification of eight chromosomes and a microsatellite marker on 1AS associated with QTL for grain weight in bread wheat. Theor Appl Genet V100 I8, 1290-1294. *Citado en McIntosh, 1998.*

Vos P, Hogers R.,Bleeker M,Reijans R,van de Lee T, Hornes M,Frijters A,Pot j,Peleman J, Kulper M, Zabeau M., 1995. AFLP a new technique for DNA fingerprinting. Nucl Acid Research, Vol 23, N°21 1995. Nucleic Acid Research Vol23,Nº 21, 4407- 4414

Voss J. Mropholgie und Grupierung der deustchen Weizensorten. Mitt aus der Biol. Reichsanst. Für Land und Fortswirschaft. Berlin-Dalhem. *Citado en Risso Patrón, 1939*

Watanabe N. 1994. Near isogenic lines of durum wheat: their development and plant characteristics. Euphytica 72: 143-147. *Citado en McIntosh, 1998.*

Weir, B S.,1996. Genetic Data Analyisis II Chapter 4. Sinauer Publshers, Sunderland Massachusettes, USA.

Wilson RF. Inherintance of resistance to Septoria tritici in wheat. In: Septoria in Cereals, Proceedings of workshop, Montana State University, Bozeman,Montana USA, 1983.(Sharen Al ed.): 33-35.

Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalsky JA, Tingey SV 1990. DNA polimorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6331-6335

Working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA-Profiling in Particular. International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV). 1995, Wageningen, Netherlands.

Worland AJ, Law CN. 1980 The genetic of hybrid dwarfing wheat. Zeitchrift für Pflanzenzünchtung 85: 28-39. .*Citado en McIntosh, 1998.*

Worland AJ, Law CN. 1986. Genetic analysis of of chromosome 2D of wheat The location of genes affecting height, day length insensitivity, hybrid dwarfism and yellow rust resistance. Zeitchrift für Pflanzenzünchtung 96: 331-345. .*Citado en McIntosh, 1998.*

Wu KS, and Tanskley SD: 1993. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellite in rice. Mol.Gen.Genet 241: 225-235

Xie DX, Devos KM, Moore G, Gale MD. RFLP-based genetic maps of the homoelogous group 5-chromosomes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.).1993. Theor Appl Genet 87: 70-74.

Yang GP, Maroof MAS, Xu Cg, Zhang QF, Biyashev RM. 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Mol. Gen. Genet. 245: 187-194.

Zeller, F.J., 1973. 1B/1R wheat /rye chromosome substitutions and translocations. Proc 4th Wheat Genet. Symp., Columbia, 209-222.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T 1989. Molecular Cloning A laboratory manual. 2nd. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.