

Tesis Doctoral

Maapeo de genes de resistencia a roya de la hoja provenientes de variedades de trigo con resistencia durable e introgresión en variedades comerciales de trigo

López, Micaela Valeria

2016-02-26

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:

López, Micaela Valeria. (2016-02-26). Maapeo de genes de resistencia a roya de la hoja provenientes de variedades de trigo con resistencia durable e introgresión en variedades comerciales de trigo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

López, Micaela Valeria. "Maapeo de genes de resistencia a roya de la hoja provenientes de variedades de trigo con resistencia durable e introgresión en variedades comerciales de trigo". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016-02-26.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

Mapeo de genes de resistencia a roya de la hoja provenientes de variedades de trigo con resistencia durable e introgresión en variedades comerciales de trigo

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas.

Micaela Valeria López

Directores de Tesis: Dra. Norma Paniego

Ing. Agr. Francisco Sacco

Consejero de Estudios: Dr. Esteban Hopp

Lugar de trabajo: Instituto de Genética, CICVyA, INTA
Hurlingham, Pcia Buenos Aires, 2015

Lista de abreviaturas

%	Por ciento
%GR	Porcentajes de genoma recurrente
2n	Diploide
AFLP	Polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados
APR	Resistencia Planta Adulta
Avr	Avirulencia
BC	Retrocruza
BLAST	Herramienta para la búsqueda básica de alineamientos locales
BSA	Análisis masal de segregantes
°C	Grado Celsius
CIMMYT	Centro Internacional de mejoramiento de maíz y trigo
cm	Centímetro
cM	CentiMorgan
CS	Chinese Spring
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
dH ₂ O	Agua destilada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Deoxi ribonucleotidotrifosfato
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
ESTs	Etiquetas de secuencia expresada
EtBr	Bromuro de Etidio
f. sp.	<i>forma specialis</i>
g	Gramo
g/l	Gramos por litro
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
IGEAF	Instituto de Genética "Ewald A. Favret"
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
ISBPs	Polimorfismo basado en sitio de inserción
KAcO	Acetato de Potasio
KDE	Klein Don Enrique
L	Litro
Lr	Roya de la hoja
LRR	Repetición rica en leucinas
M	Molar
MAS	Selección asistida por marcadores
Mb	Mega bases
mg	Milígramo
Mg/ml	Miligramos por mililitro
MgCl ₂	Cloruro de Magnesio
min	Minutos
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Millimolar
MR	Moderadamente resistente
MS	Moderadamente susceptible
MTA	Acuerdo de transfencia de material
n	Haploide
Na ₂ EDTA	Ácido etildiaminotetraacético Disódico
NaCl	Cloruro de Sodio
NaOAc	Acetato de Sodio

NBS	Sitio de unión a Nucleótido
NEA	Noreste Argentino
ng	Nanogramo
ng/μl	Nanogramo por microlitro.
NH ₄ NO ₃	Nitrato Amonio
NOA	Noroeste Argentino
P	Purplestraw
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Pf	Forward Primer
pH	Porcentaje de hidrógeno
Pr	Reverse Primer
QTL	Loci de carácter cuantitativo
R	Resistente
RAPD	Polimorfismos de ADN amplificados al azar
RFLPs	Polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción
RILs	Líneas recombinantes homocigotas
Rpm	Revoluciones por minuto
SCAR	Regiones Amplificadas de Secuencias Caracterizadas
SDS	Dodecilsulfato sódico
SNP	Polimorfismo de nucleótido simple
spp.	Especies
SSD	Descendiente de semilla única
SSR	Microsatélite
STS	Sitio de secuencia de etiquetado
SV	Sinvalocho
Ta	<i>"Annealing temperature"</i>
TE	Tris-EDTA
Tm	Temperatura de fusión
Tris-HCl	Tris-Clorhídrico
U.S.A.	Estados Unidos de América
UPGMA	Método No ponderado de Pares con media aritmética
UV	Ultravioleta
V	Volt
v/v	Volumen en volumen
μg	Microgramo
μl	Microlitro
μM	Micromolar

Índice

Tabla de abreviaturas.....	i
RESUMEN	3
SUMMARY	4
Financiamiento	5
Agradecimientos.....	6
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1 Trigo.....	7
1.2 Roya del Trigo.....	7
1.3 Resistencia Genética	9
1.4 Análisis genético de la resistencia a roya en materiales argentinos	11
1.5 Mejoramiento genético.....	16
Hipótesis de trabajo.....	20
Objetivos	21
2. MATERIALES Y MÉTODOS	22
2.1. Desarrollo de mapas genéticos de mediana/alta resolución que incluyen a los genes de resistencia a roya de la hoja del trigo <i>LrSV1</i> y <i>LrG6</i>	22
2.1.a Material Vegetal	22
2.1.b Caracterización fenotípica de resistencia a roya en líneas endocriadas .	23
2.1.c Caracterización molecular de las poblaciones de RILs	25
i. Extracción y cuantificación de ADN	25
ii. Análisis de Marcadores Microsatélites (SSR)	26
iii. Resolución y visualización de los productos	27
2.1.d Mapeo Genético.....	28
i. Marcadores asociados al gen <i>LrG6</i>	28
ii. Marcadores asociados al gen <i>LrSv1</i>	29
2.1.e Búsqueda y desarrollo de marcadores moleculares ligados a genes de resistencia a roya de la hoja mediante la utilización de herramientas genómicas	29
2.1.f Análisis Genético	30
2.2 Piramidación de genes de resistencia en variedades comerciales de trigo	31
2.2.a Material vegetal.....	31
i. Variedades donadoras de resistencia a roya.....	31
ii. Variedades comerciales susceptibles o parentales recurrentes	31
2.2.b Caracterización fenotípica de resistencia a roya en líneas introgresadas	33
i. Infección con Roya	33
ii. Análisis de fenotipos.....	34
2.2.c Caracterización molecular de las líneas introgresadas	34
i. Extracción y cuantificación de ADN.....	34
ii. Selección de marcadores moleculares	34
iii. Análisis de Marcadores Microsatélites (SSR)	39

iv. Análisis de datos	39
2.2.d Introgresión de genes de resistencia y selección del fondo genético.....	39
i. Introgresión de los genes de resistencia <i>LrG6</i> , <i>LrSV1</i> y <i>LrSV2</i> del RIL46 ...	40
ii. Introgresión del brazo corto del cromosoma 2B de Buck Manantial.....	41
2.2.e. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	42
3. RESULTADOS	43
3.1 Mapeo de genes de resistencia.....	43
3.1.a . Mapeo mapeo genético del gen <i>LrG6</i>	43
i Desarrollo de marcadores moleculares ligados al gen <i>LrG6</i> mediante la utilización de herramientas genómicas	45
3.1.b Desarrollo de marcadores moleculares y mapeo genético del gen <i>LrSV1</i>	46
i Desarrollo de marcadores moleculares ligados al gen <i>LrSV1</i> mediante la utilización de herramientas genómicas	47
3.2 Introgresión de genes de resistencia y selección del fondo genético.....	50
3.2.1 Introgresión de los genes <i>LrSV1</i> , <i>LrSV2</i> y <i>LrG6</i> en la variedad comercial Onix	50
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	53
3.2.2 Introgresión de los genes <i>LrSV1</i> , <i>LrSV2</i> y <i>LrG6</i> en la variedad comercial Relmo Sirirí	54
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	57
3.2.3 Introgresión de los genes <i>LrSV1</i> , <i>LrSV2</i> y <i>LrG6</i> en la variedad comercial Klein Don Enrique	58
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	60
3.2.4 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Bio INTA 1001	60
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	64
3.2.5 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial ACA801	65
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	69
3.2.6 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Baguette9 ...	70
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	74
3.2.7 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Buck Biguá .	75
i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas	79
4. DISCUSIÓN	82
4.1 Desarrollo de mapas genéticos de mediana/alta resolución que incluyen a los genes de resistencia a roya de la hoja del trigo <i>LrSV1</i> y <i>LrG6</i>	82
4.1.a Mapeo mapeo genético del gen <i>LrG6</i>	83
4.1.b Mapeo mapeo genético del gen <i>LrSV1</i>	84
4.1.c Desarrollo de marcadores moleculares ligados a los genes <i>LrG6</i> y <i>LrSV1</i> mediante la utilización de herramientas genómicas.	84
4.2 Piramidación de genes de resistencia en variedades comerciales de trigo	85

4.2.a Introgresión de los genes de resistencia <i>LrG6</i> , <i>LrSV1</i> y <i>LrSV2</i> del RIL46.	87
4.2.b Introgresión del brazo corto del cromosoma 2B de Buck Manantial	88
5. CONCLUSIONES GENERALES.....	92
Bibliografía	93
Anexo	101
Mapeo y Genómica <i>LrG6</i> y <i>LrSV1</i>	101
Introgresiones.....	115

MAPEO DE GENES DE RESISTENCIA A ROYA DE LA HOJA PROVENIENTES DE VARIEDADES DE TRIGO CON RESISTENCIA DURABLE E INTROGRESIÓN EN VARIEDADES COMERCIALES DE TRIGO

Resumen

La roya de la hoja, causada por el hongo biótrofo *Puccinia triticina*, es una de las enfermedades de trigo de mayor impacto global, que en Argentina causa pérdidas de rendimiento de entre 5-10%. La mayoría de las variedades cultivadas se vuelven susceptibles cuando alcanzan gran difusión, sin embargo algunas muestran resistencia durable. La forma más eficaz, económica y ambientalmente sustentable para controlar la enfermedad es la utilización de cultivares de trigo resistentes a roya. No obstante, la creación de cultivares resistentes requiere del tiempo necesario para introgresar y fijar los genes de resistencia en el fondo genético adecuado para lograr líneas puras para el mejoramiento. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo, la implementación y la validación de una metodología de introgresión de genes de resistencia del germoplasma argentino, en variedades comerciales susceptibles mediante retrocruzadas y selección del fondo genético, asistidas por marcadores y razas específicas del patógeno.

Las fuentes de resistencia utilizadas son las variedades Sinvaloch MA y Buck Manantial que han evidenciado resistencia durable como consecuencia, probablemente, de la acumulación de genes de resistencia de expresión en plántula como en planta adulta y posiblemente de QTLs. En Sinvaloch MA fueron aislados y caracterizados varios genes de entre los cuales pueden mencionarse al *LrSV1*, *LrSV2*, *Lr12/31* y *LrG6*. Mientras que en Buck Manantial se reportó la presencia de genes en el cromosoma 2BS, que se correlacionaron con la resistencia a campo de esta variedad.

Con el propósito de acotar la localización genética de los genes de resistencia *LrG6* y *LrSV1*, se trabajó en la saturación de los mapas existentes para las regiones que los contienen, a partir de una población de líneas recombinantes endocriadas provenientes del cruzamiento de Sinvaloch x Gama6. Para el gen *LrG6*, de resistencia en plántula, proveniente de la línea experimental Gama6 localizado en el cromosoma 2DL, se trabajó con 8 marcadores SSR definiéndose un intervalo de 2 cM delimitado por los SSR Xgdm87 y Xbarc159. Este gen constituye una novedad como fuente de resistencia, ya que no existen reportes previos de genes de plántula en este cromosoma. Para el gen *LrSV1*, localizado en el cromosoma 2DS, se trabajó con 9 SSRs, definiéndose un intervalo de 3.1 cM delimitado por los SSR Xgwm296 y Xgwm261, lo que permitió lograr mapas de mediana resolución, y de gran confiabilidad para ser usados en la introgresión de genes.

A partir del uso de marcadores moleculares ligados se introgresaron los genes de resistencia *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* provenientes del cultivar Sinvaloch MA y el brazo corto del cromosoma 2BS del cultivar B. Manantial, en 3 y 4 variedades comerciales, respectivamente, lo que permitió la obtención de líneas con resistencia a roya de la hoja y alta similitud con el fondo genético de las variedades comerciales. A partir de este trabajo se obtuvieron 21 líneas mejoradas, con dos retrocruzadas y una autofecundación, con porcentajes del genoma recurrente de 86% a 97%, constituyendo un avance significativo para un programa de mejoramiento por introgresión de genes.

Palabras claves: roya de la hoja de trigo, genes de resistencia, marcadores moleculares, mapeo genético, mejoramiento asistido.

MAPPING OF LEAF RUST RESISTANCE GENES COMING FROM WHEAT VARIETIES WITH DURABLE RESISTANCE AND INTROGRESSION IN COMMERCIAL WHEAT VARIETIES.

Summary

Leaf rust, caused by the biotrophic fungus *Puccinia triticina*, is one of the most important diseases of wheat worldwide, causing in Argentina annual yield losses of about 5–10%. Most of the new wheat commercial varieties become susceptible when widely grown over the years, although some wheat varieties show durable resistance. The use of leaf rust resistant wheat cultivars is the most efficient, cost effective and environment-friendly method to control this disease. The development of resistant cultivars requires time to introgress the resistance genes into the genetic background in order to obtain inbred lines. The aim of the present work was to develop, implement and validate a methodology of introgression resistance genes into commercial wheat varieties, through backcrosses and genetic background selection, with the assistance of molecular markers and pathogen specific races.

The two wheat varieties used in this work, Sinvalochó MA and Buck Manantial, show durable resistance. This kind of resistance is thought to be determined by additive effects and interactions between adult plant and seedling resistance genes, and also by the presence of QTLs. Several resistance genes were isolated and characterized in Sinvalochó MA, such as the adult plant and seedling resistance genes, *LrSV1*, *LrSV2*, *Lr12/31* and *LrG6*. Several genes correlated with field resistance were reported in chromosome 2BS in the commercial wheat variety Buck Manantial. In order to develop a medium resolution genetic maps of the regions containing *LrSV1* and *LrG6* genes, a population of recombinant inbred lines coming from the cross Sinvalochó x Gama6 was used. The closest markers on both sides of the seedling resistance gene *LrG6* coming from Gama6, allocated on chromosome 2DL, were Xgdm87 and Xbarc159 at a distance of 2 cM. No seedling leaf rust resistance gene has been reported on this arm. The closest markers on both sides of the adult plant resistance gene, *LrSV1*, were Xgwm296 and Xgwm261 at a distance of 3.1 cM. It was possible to develop a medium resolution genetic map, increasing the availability of associated polymorphic markers that can facilitate the leaf rust resistance gene introgression in different wheat varieties.

Using molecular markers the resistance genes *LrSV1*, *LrSV2* and *LrG6* from Sinvalochó MA, and chromosome 2BS from B. Manantial were introgressed in 3 and 4 susceptible commercial varieties, respectively, allowing to obtain varieties showing low leaf rust infection and highly similar genetic background to the commercial variety. It was possible to obtain 21 lines with 86–97% of recurrent genome, after 2 backcrosses and one self-pollination, which can facilitate introgression of resistance genes in breeding programs.

Keywords: Wheat Leaf Rust, Resistance Genes, Molecular Markers, Genetic mapping, Marker Assisted Selection.

Financiamiento

Este trabajo fue realizado con financiación de los siguientes proyectos

- Proyecto Nacional de INTA AEBIO 241331 (2009-2011): Mapeo de Precisión: mapas saturados, mapeo fino y mapas físicos para su utilización rutinaria en el mejoramiento asistido con marcadores”.
- Proyecto Nacional de INTA PNCER 21311 (2009-2011): Desarrollo y evaluación de germoplasma de trigo pan adaptado a estrés abiótico y biótico en la región triguera Argentina.
- PAE 2007-PID 121 (2009-2011): Introgresión de genes de resistencia a roya de la hoja en cultivares de trigo, asistida por marcadores.
- PICT 2005-38150. "Mapeo fino de dos genes de resistencia a roya de la hoja del trigo provenientes de una variedad con resistencia durable”

Este trabajo de tesis doctoral dio lugar a las siguientes publicaciones:

- Fine mapping of *LrSV2*, a novel race-specific adult plant leaf rust resistance gene on wheat chromosome 3BS. María José Diéguez; María Fernanda Pergolesi; Silvia Melina Velásquez; Lorena Ingala; Micaela López; Martín Darino; Etienne Paux; Catherine Feuillet; Francisco Sacco. TAG-2014, 127:1133-1141 DOI 10.1007/s00122-014-2285-z
- Genetic analysis of leaf rust resistance genes and associated markers in the durable resistant wheat cultivar Sinvaloch MA. Ingala Lorena, Lopez Micaela, Darino Martin, Pergolesi Maria Fernanda, Dieguez Maria Jose, Sacco Francisco. TAG-2012, 124 (7):1305-1314, DOI 10.1007/s00122-012-1788-8

Este trabajo de tesis doctoral dará lugar a las siguientes publicaciones:

- Methodology model Development to introgress and tilling single leaf rust resistance genes and QTLs in commercial wheat varieties, using marker assisted selection and genetic background selection.
- Use of marker-assisted selection (MAS) for pyramiding leaf rust resistance genes and QTLs (*LrG6*, *LrSv1*, *LrSV2*, *Lr12/31* and *2BS*) in bread wheat.

AGRADECIMIENTOS

Al IGEAF, IGEAF “Ewald Favret” del INTA Castelar por brindarme un lugar para poder realizar este trabajo.

A Norma Paniego y Francisco Sacco por enseñarme, guiarme, apoyarme durante estos años para que este trabajo sea posible.

A ANPCYT y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas por hacer posible este trabajo mediante el otorgamiento de una beca de Doctorado y una beca de doctorado tipo II, respectivamente.

A mis compañeros de laboratorio, por compartir el día a día y a los que han sido un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación.

Al departamento de bioinformática del The Genome Analysis Centre (TGAC, Norwich Research Park, Reino Unido), especialmente al Dr. M Caccamo por permitirme la visita a su departamento. A Sarah Ayling y Jon Wright por ayudarme, enseñarme y guiarme para que pueda obtener resultados. Al grupo en general, pero particularmente a Dharanya Sampath, Bernardo Clavijo y flia., Rocio Enriquez-Gasca, Ricardo Ramirez-Gonzalez, Oscar Gonzalez por orientarme, ayudarme y aconsejarme dentro y fuera del centro y sobre todo por hacerme sentir parte.

A todas y cada una de las personas que han vivido conmigo la realización de esta tesis doctoral, con sus altos y bajos y que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos cuánto les agradezco el haberme brindado el apoyo, colaboración y ánimo.

Quiero agradecer y también dedicar este grato esfuerzo a mi familia por creer en mí y por su apoyo y por guiarme durante esta etapa y porque seguramente lo seguirán haciendo en lo que queda por venir.

A Feli que es la luz de mi vida y a Mati, por creer en mí, por su apoyo y consejos, estímulo, sabiduría y por muchas cosas más.

1. INTRODUCCION

1.1 Trigo

El trigo (*Triticum aestivum*) es uno de los cereales más cultivados en el mundo, con una producción anual de alrededor de 690 millones de toneladas, siendo el principal destino de esta producción la elaboración de productos panificables, con una creciente tendencia para su uso en alimentación animal.

En Argentina, es uno de los cultivos más importantes, con una superficie sembrada promedio que oscila alrededor de las 5 millones de hectáreas y una producción anual de aproximadamente 15 millones de toneladas, con un valor económico que supera los 1.500 millones de dólares (FAO, 2012). Sin embargo en los 2 últimos años disminuyó la superficie sembrada en casi 1 millón de hectáreas y fue reemplazada esa superficie por el cultivo de cebada.

El trigo pan, *Triticum aestivum*, es una especie alohexaploide constituida por tres genomas homeólogos A, B y D, derivados de las especies *Triticum monoccoccum*, *Aegilops speltoides* y *Triticum tauschii*, respectivamente. El contenido de nucleótidos del genoma de trigo es de aproximadamente 15×10^9 bp/1C, siendo más del 80% secuencias de ADN repetitivo (Bennett & Smith, 1976). La distribución de estas secuencias no es al azar, estudios de la organización del genoma de trigo sugieren que más del 85% de los genes de trigo están presentes en menos del 10% de las regiones cromosómicas (Deepak and Gill, 2004).

Entre los factores que más inciden sobre la estabilidad del cultivo se encuentran las enfermedades fúngicas y dentro de éstas, la roya de la hoja constituye una de las limitantes principales. Esta enfermedad es endémica en nuestro país y es causada por el hongo biótrofo *Puccinia triticina*. Los efectos perjudiciales sobre las plantas de trigo se traducen en pérdidas de rendimiento y en ataques muy severos, en una disminución de la calidad del grano.

1.2 Roya del Trigo

Puccinia triticina es un biótrofo obligado que solamente se multiplica sobre el tejido vivo de hojas de plantas de trigo. La infección y posterior propagación de la enfermedad se produce a través de esporos asexuales originados en plantas susceptibles y diseminados por el viento. Estos esporos, al depositarse sobre las láminas de las hojas y encontrar condiciones de temperatura y humedad adecuadas, germinan emitiendo un tubo germinativo que penetra a través de los estomas. Posteriormente, el micelio se propaga en el mesófilo de la hoja y esporula formando pústulas de uredosporos a los 12-15 días, reiniciando el proceso de infección y diseminación de la enfermedad (Annone *et al.* 2001) (Figura 1). Aunque en Argentina no ocurre el ciclo sexual del hongo, se han

encontrado numerosas variantes patogénicas sobre distintos genes de resistencia, lo que indica la existencia de mecanismos que producen variación genética, distintos de los originados por meiosis en la reproducción sexual, como las mutaciones espontáneas y la recombinación somática (Ingala *et al.* 2003).

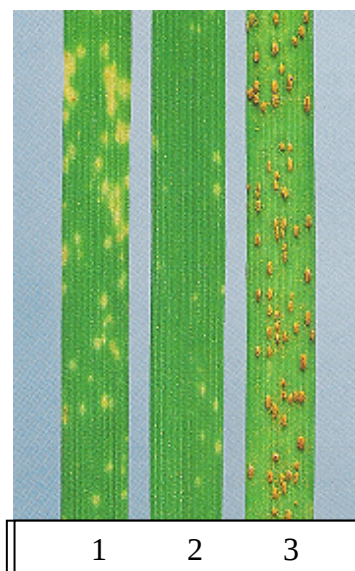


Figura 1: Infección de hojas de trigo con el hongo *Puccinia triticina*. Resistencia (1 y 2) y susceptibilidad (3).

La presencia de la roya de la hoja del trigo en Argentina, por diversas circunstancias se ha magnificado en los últimos años, determinando que la durabilidad promedio de la mayoría de los cultivares comerciales haya pasado de 5-8 años hace una década o más, a 2-3 años en la actualidad, provocando un recambio acelerado de cultivares. El control de esta enfermedad mediante el uso de genes de resistencia es una alternativa interesante ya que elimina la necesidad del uso de funguicidas, abaratando no sólo los costos de producción, sino también haciendo al cultivo de trigo más sustentable.

El IGEAF “Ewald A. Favret” (IGEAF) cuenta con una colección de distintas razas de *Puccinia triticina* provenientes de aislamientos recolectados sobre distintas variedades de trigo, en diferentes localidades de la zona triguera durante los últimos 15 años. Las razas de *P. triticina* Ca04-PG, Ma04-Bg11, Ma04-KDE, Ca04-KDE y Ca03-PIM permiten identificar al gen de resistencia provisoriamente denominado como *LrG6* de expresión en plántula y las razas 99-28 y Ca00-5 permiten identificar el gen provisoriamente denominado como *LrSV1* de expresión en planta adulta (**Tabla 1**) (Sacco, F datos no publicados, Ingala *et al.* 2012).

Tabla 1. Razas de roya que identifican a los genes de resistencia *LrG6* (Fila 2 a 5) y *LrSV1* (Filas 6 y 7)

Razas de roya (<i>Puccinia triticina</i>)	Nomenclatura*
Ca04-PG	MCPS
Ca03-PIM	MBBS
Ca04-KDE	MCTS
Ma04-KDE	MCPQ
Ma04-Bg11	MCNS
99-28	MCTD
Ca00-5	CCTP

*De acuerdo al Sistema Norteamericano (Long and Kolmer 1989)

1.3 Resistencia Genética

Las bases genéticas de la interacción hospedante-patógeno han sido bien caracterizadas a partir de los estudios realizados por Flor HH (1956) en roya del lino. Los experimentos realizados por este autor sobre herencia de la virulencia en el patógeno y de la resistencia en el hospedante, permitieron establecer el determinismo genético de este tipo de enfermedades, conduciendo a la teoría de la relación gen a gen. Esta teoría establece que la reacción de resistencia se dará únicamente cuando exista al menos un gen de resistencia en el huésped y el correspondiente alelo de avirulencia en el parásito; cualquier otra combinación resultará en una reacción de susceptibilidad. Favret EA (1971) propuso una modificación de la teoría de Flor, donde sugirió que la correspondencia entre el número de genes involucrados en la interacción es diferente en el huésped con respecto al patógeno. Propuso que por cada alelo para reacción existe un *locus* para patogenicidad, que puede estar en estado virulento o avirulento.

La relación gen a gen fue confirmada en la interacción trigo-roya de la hoja a partir de los estudios genéticos realizados por Samborski DJ y Dyck PL (1968). En trigo se han reportado más de 60 *loci* con genes de resistencia, tanto de expresión en plántula como en planta adulta, provenientes no solo del trigo hexaploide sino también de especies afines introgresados mediante distintas manipulaciones genéticas. Se conocen como genes de expresión en planta adulta a aquellos que comienzan a expresarse a medida que la planta completa el desarrollo de sus hojas, incluyendo la hoja bandera, a diferencia de los genes más comunes de expresión en plántula, que conservan dicha expresión en todos los estadios del desarrollo de la planta. Los genes de resistencia a roya de la hoja se conocen como *Lr*'s (del inglés leaf rust, roya

de la hoja) y se distribuyen en los distintos cromosomas de los 3 genomas que componen al trigo hexaploide (McIntosh *et al.* 1995). Se puede encontrar la Tabla de los genes de resistencia a roya de la hoja en <http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10342>.

Se ha observado una alta variación genética para patogenicidad en poblaciones de roya y una rápida adaptación a los genes de resistencia en cultivares de trigo (Ingala *et al.* 2003). En general la mayoría de las nuevas variedades comerciales son resistentes a las poblaciones del patógeno, pero se vuelven susceptibles a medida que alcanzan gran difusión, debido probablemente a la selección de alelos de virulencia en baja frecuencia en la población, a la migración desde otras regiones o a la ocurrencia y selección de nuevas formas virulentas. Esta situación es actualmente muy común en nuestro país, planteando a los mejoradores un desafío acerca de que genes de resistencia utilizar, como introgresarlos y recuperar de manera eficiente y rápida el fondo genético de las variedades en uso.

A pesar de esta situación, existen algunas variedades de trigo que muestran una resistencia duradera a esta enfermedad, aún luego de alcanzar gran difusión a lo largo del tiempo. Este tipo de resistencia fue operativamente definida como “durable” por Johnson (1981). Existen distintas hipótesis para explicar este tipo de resistencia, pero la más aceptada es la que considera que la misma es el resultado de los efectos aditivos e interacciones originadas por la acumulación de genes de resistencia con efectos mayores y menores (poligenes) de expresión tanto en plántula como en planta adulta.

La identificación de genes responsables de resistencia durable, el conocimiento de su modo de herencia, localización cromosómica, uso de marcadores de ADN para asistir la incorporación y selección de los mismos, caracterización del fondo genético de los progenitores usados en los distintos cruzamientos, así como la evaluación del comportamiento en distintos ambientes, conforman un conjunto de conocimientos y tecnologías útiles que pueden ser aprovechadas en mayor o menor medida por los mejoradores para hacer más eficientes los procesos de selección en las poblaciones segregantes.

En Argentina, entre las variedades con resistencia durable a roya de la hoja, pueden mencionarse variedades tradicionales como Sinvaloch MA, Pergamino Gaboto, El Gaucho FA, Buck Manantial, entre otras (Favret *et al.* 1983), y otras modernas más recientes como Buck Poncho. Las bases genéticas de la resistencia en alguna de las variedades, fundamentalmente Sinvaloch MA y Buck Manantial, han sido estudiadas no sólo en el IGEAF, del INTA Castelar, sino también en Canadá (Ingala *et al.* 2003, Altieri *et al.* 2008, Ingala *et al.* 2012, Dyck *et al.* 1989, Saione *et al.* 1993, Haggag *et al.* 1973)

1.4 Análisis genético de la resistencia a roya en materiales argentinos

En los últimos años los avances relacionados con la manipulación del ADN y el desarrollo de tecnologías relacionados con el mismo, han permitido desarrollar marcadores de distinta naturaleza AFLPs (Rodríguez *et al.* 2001), ESTs (Qi *et al.*, 2003), ISBPs (Paux *et al.* 2006, 2008), STSs (Liu *et al.* 2003, Liu *et al.* 2006, Xue *et al.* 2008), RFLPs (Delaney *et al.* 1995; Sacco *et al.* 1998), SSR (Roder *et al.* 1998; Spielmeyer *et al.* 2003, Paux *et al.* 2006, 2008, Somers & Isaac *et al.* 2004). Estos marcadores fueron utilizados para la construcción de mapas genéticos saturados de cromosomas, de regiones cromosómicas específicas, y también de genomas completos de numerosas especies, entre las que pueden mencionarse cereales de interés económico, como trigo (Song *et al.* 2005), cebada (Wenzl *et al.* 2006) y arroz (Wu *et al.* 2002).

Los marcadores moleculares permiten marcar genes de resistencia a roya y como parte de programas de mejoramiento permiten ser utilizados en mejorar la eficiencia de la selección en mejoramiento.

Se han reportado numerosos marcadores de ADN asociados a genes de resistencia a roya de la hoja en trigo, entre los que se incluyen genes de resistencia en plántula y planta adulta como el Lr1, Lr3, Lr9, Lr10, Lr13, Lr19, Lr21 Lr23, Lr24, Lr25, Lr27, Lr28, Lr29, Lr31, Lr34, Lr35, Lr37, Lr39, Lr46, Lr47, Lr50 and Lr51 (<http://maswheat.ucdavis.edu>). Además los genes *Lr1*, *Lr10* y *Lr21* de Resistencia en plántula y el gen *Lr34* de resistencia en planta adulta han sido caracterizados y clonados en los últimos años (Huang *et al.* 2003; Feuillet *et al.* 2003; Cloutier *et al.* 2007; Krattinger *et al.* 2009)

Entre los marcadores moleculares más utilizados en trigo por su bajo costo, pueden mencionarse los microsatélites o SSRs y AFLPs. La técnica de AFLPs está basada en la detección de fragmentos de restricción de ADN amplificados por PCR (Vos *et al.* 1995). La amplificación de los fragmentos de restricción se lleva a cabo mediante la ligación de adaptadores de doble cadena a los extremos de los fragmentos de restricción los cuales subsecuentemente sirven como sitios de unión para los “primers” en el proceso de amplificación de fragmentos por PCR. Sin embargo al generarse un número grande de fragmentos que no pueden resolverse en los sistemas de análisis, se realiza una amplificación selectiva utilizando un cebador o “primer” de AFLP con un número de bases selectivo, lo cual permite ajustar el número de fragmentos a generar, que usualmente está limitado a 50-100, para permitir su detección en geles de poliacrilamida.

La técnica de microsatélites o SSR (*simple sequence repeats*) ofrece buena reproducibilidad y genera un número importante de alelos aún en especies como el trigo con bajo nivel de polimorfismo. Se basa en la amplificación de fragmentos de ADN utilizando “primers” que flanquean arreglos de mono-di-tri-tetra o pentanucleótidos y muestran altos niveles de variación basados en

diferencias en el número de unidades repetidas en tándem en cada locus (Morgante & Olivieri 1993). Los marcadores basados en secuencias de microsatélites son codominantes y muestran alto número de polimorfismos por lo cual resultan más informativos. Esta característica permite identificar los individuos heterocigotos y homocigotos y realizar una selección precisa basada en la composición genotípica de cada individuo.

Los mapas saturados son aquellos que contienen marcadores a distancias pequeñas y tienen diversas aplicaciones entre las que pueden citarse la localización y clonado de genes, selección asistida por marcadores (MAS) y selección del fondo genético. El uso de marcadores moleculares para asistir la selección permitió en muchos casos mejorar la eficiencia de selección, no solo de caracteres simples sino también de caracteres cuantitativos (QTLs), ya que puede seguirse con precisión el destino de los mismos en las poblaciones. Los mapas desarrollados a partir de poblaciones de líneas recombinantes homocigotas (RILs) presentan la enorme ventaja de la homocigosis de sus líneas.

El análisis genético de Sinvaloch MA permitió determinar la presencia de 2 genes de resistencia en planta adulta denominados *LrSV1* y *LrSV2* y 2 genes de resistencia en plántula: *Lr3* y *LrG6*, este último presente en la línea Gama6, derivada de Sinvaloch por mutagénesis mediante rayos gama (Ingala *et al.* 2012). La línea Gama6 es una línea experimental derivada de Sinvaloch por tratamientos con rayos gama (Favret *et al.* 1969). Esta línea surgió de la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia a *Puccinia graminis* sobre germoplasma tradicional que tenía buen comportamiento a *P. triticina*. Según los autores, como consecuencia de los efectos de la radiación gama se produjeron roturas y translocaciones que determinaron la expresión de nuevos factores de resistencia debido a efectos de posición.

De esta manera, el gen *LrG6* de resistencia en plántula, proveniente de la línea experimental Gama6 localizado en el cromosoma 2DL, constituye una novedad como fuente de resistencia, ya que en la bibliografía no existen reportes de genes de plántula en este cromosoma. Asimismo, el cruzamiento de esta línea con Sinvaloch permitió identificar 2 genes de resistencia en planta adulta y marcadores asociados a los mismos

Se localizaron marcadores asociados a estos genes utilizando una población F8 de 91 RILs (líneas recombinantes homocigotas) provenientes del cruzamiento Sinvaloch X Gama 6, y se determinaron intervalos de 8.5 cM y 7.2 cM que incluían a los genes *LrSV1* y *LrSV2* respectivamente. El marcador más cercano al gen *LrSV1* fue establecido a 1.4 cM y para el gen *LrSV2* un marcador a 0,0 cM, mientras que en un trabajo de mapeo fino, ese mismo

marcador, fue establecido a 0.3 cM (Dieguez *et al.* 2014) Para el gen *LrG6* se determinó un marcador cercano a 0.6 cM. El gen *LrSV1* fue mapeado en el cromosoma 2DS, el gen *LrSV2* en el cromosoma 3BS y el gen *LrG6*, en el cromosoma 2BL (**Figura 2**), (Ingala *et al.* 2012). El gen *Lr3* fue mapeado en el cromosoma 6B con marcadores completamente ligados al mismo (Dieguez *et al.*, 2006).

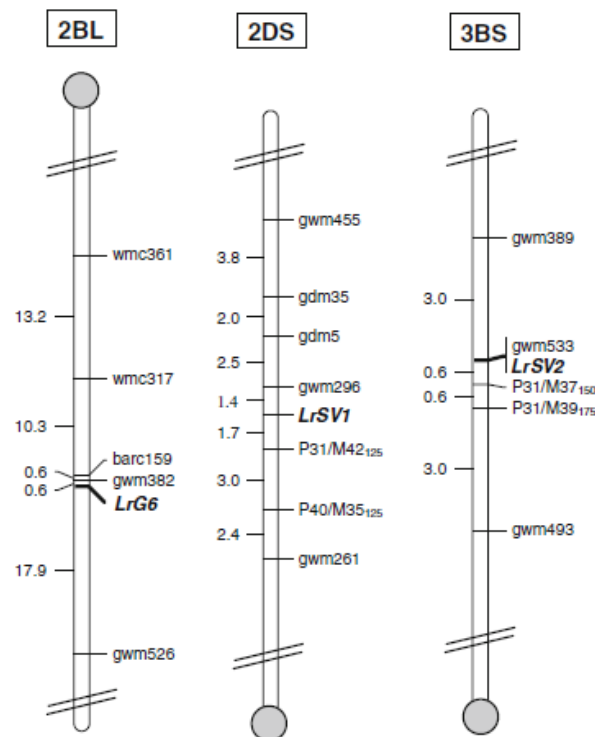


Figura 2. Localización de los genes de resistencia en planta adulta denominados provisoriamente *LrSV1* y *LrSV2* y del gen *LrG6* de resistencia en plántula sobre una población de 91 RILs provenientes del cruzamiento Sinvaloch MA x Gama 6. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde PXX/MXX son de AFLP y los XgwmX son microsatélites. El círculo indica la posición del centrómero.

Se observó que la expresión de la resistencia del gen específico *LrSV2* requería de la presencia de un gen en el cromosoma 4BL, presumiblemente alélico o idéntico al *Lr12/31* (Petignat, Tesis de Licenciatura 2010). El gen *Lr31* mapeó en el cromosoma 4BL completamente ligado o idéntico al gen *Lr12* (Singh *et al.* 1999). Este gen se encuentra flanqueado por los SSRs gwm251 y gwm149 (Singh & Bowden, 2010) mientras que en la población de mapeo utilizada por Ferella en su Tesis de licenciatura estos dos SSRs cosegregan (**Figura 3**, Ferella, Tesis de licenciatura 2013).

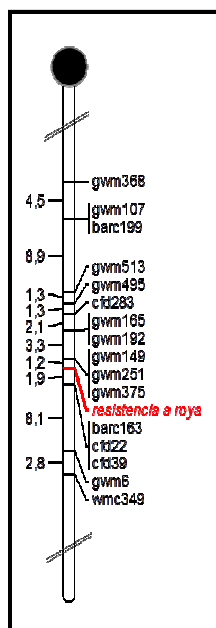


Figura 3: Localización del gen responsable de la resistencia a la raza Ca02-G1R en el cromosoma 4BL, construido a partir de una población de 100 RILs del cruzamiento Sinvalochó x Purplestraw. Se indica el centrómero con un círculo y a la izquierda la distancia en cM.

Para validar los efectos de los genes descritos en Sinvalochó, particularmente de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6*, Ingala *et al.* (2012) realizaron evaluaciones a campo en distintos ambientes, utilizando la población de RILs antes mencionada, bajo condiciones de infección natural. Las pruebas se llevaron a cabo en distintos ambientes incluyendo el campo experimental del IGEAF (34°36'45"S-58°39'31"W) durante 4 años, en parcelas de la empresa Relmó en Maciel (32°27'47"S-60°53'13"W) 3 años y en Reconquista (29°15' 33"S-59°44'38"W) dos años. Estas 2 últimas localidades están ubicadas en el sur y norte de Santa Fe, respectivamente, mientras que el IGEAF se encuentra en Castelar, Provincia de Buenos Aires. Cabe mencionar que en estas 3 localidades la roya de la hoja se presenta anualmente de manera endémica, por lo que constituyen lugares óptimos para este tipo de ensayos. En ese estudio se comprobó que las líneas que tuvieron mejor comportamiento correspondían a las portadoras de los 3 genes de resistencia mencionados (*LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6*) con un promedio de número de pústulas significativamente menor de la combinación de 2 o menos genes, confirmando la hipótesis que la acumulación de genes de expresión en planta adulta y plántula son los que brindan mayor protección frente al patógeno (Ingala *et al.* 2012).

En la población de mapeo utilizada por Gasperini *et al.* (2012), uno de los marcadores ligados al gen *LrSV1*, el SSR gwm261 se ubica a 0.6cM del gen de enanismo *Rht8*. En el estudio realizado por Gasperini *et al.* en el año 2012 se desarrollaron marcadores, denominados DGXXX, (**Figura 4**) y se establecieron

relaciones sinténicas entre trigo, *B. distachyon* y *O. sativa* que al encontrarse en la región donde se encuentra el gen *LrSV1*, pueden brindar robustez en el establecimiento de relaciones sinténicas para desarrollo de marcadores moleculares asociados al gen *LrSV1* (**Figura 5**).

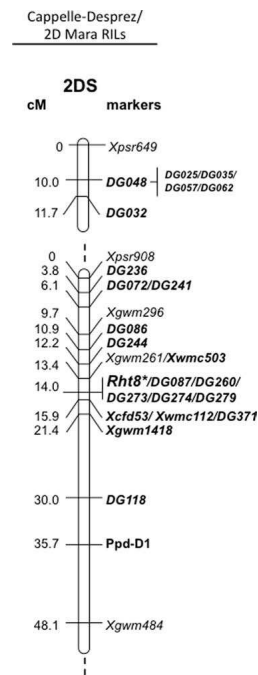


Figura 4 Grupo de ligamiento del cromosoma 2DS en la población de RIL Cappelle-Desprez (Mara 2D) (Gasperini *et al.* 2012). Las distancias genéticas se muestran en cM a la izquierda de cada grupo, mientras que los marcadores se muestran a la derecha.

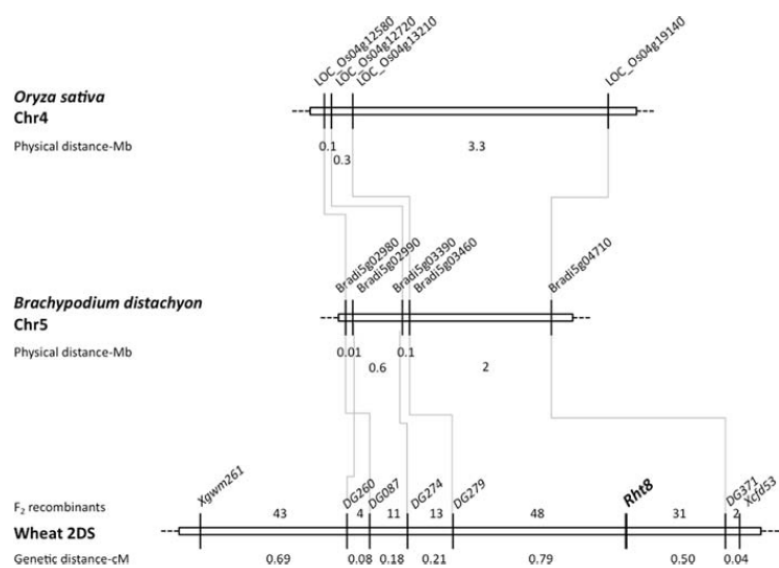


Figura 5 Mapeo fino del gen *Rht8*. Mapa genético del cromosoma 2DS y su comparación con *B.distachyon* y *O. sativa*. (Gasperini *et al.* 2012).

En la variedad Buck Manantial se han aislado y caracterizado varios genes de resistencia en plántula, como el *Lr3*, *Lr16* y *Lr17* (Dyck *et al.* 1989, Saione *et al.* 1993), un gen de resistencia en planta adulta *BMP1* asociado al gen de resistencia en plántula *Lr16*, y se ha sugerido la presencia del gen de resistencia en planta adulta *Lr13* (Dyck *et al.* 1989). En un estudio previo se observó una alta correlación entre la presencia del brazo corto del cromosoma 2B, donde se localizaron los genes *BMP1*, *Lr16* y *Lr13*, y resistencia a roya a campo. Asimismo se han localizado marcadores AFLPs y SSR asociados a los mismos (Figura 6, Altieri *et al.* 2008).

Brazo corto del cromosoma 2B

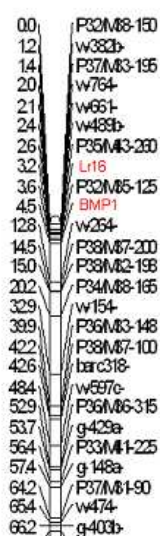


Figura 6. Localización del gen de resistencia en planta adulta *BMP1* y del gen *Lr16* de resistencia en plántula. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde PXX/MXX son de AFLP y los XgwmX son microsatélites.

1.5 Mejoramiento genético

El mejoramiento genético se basa en la selección de aquellos individuos que presentan el mayor número de características agronómicas deseables. Usualmente, se realizan cruzamientos entre distintas variedades o líneas, para combinar los caracteres favorables de ambas y posteriormente aplicar un criterio de selección, que dependerá de la especie en cuestión, su modo de reproducción, complejidad del carácter, etc. En el caso particular de especies autóгамas anuales como el trigo, la mayor parte de las variedades comerciales se obtienen a partir de cruzamientos convencionales para obtener híbridos F1, desarrollar poblaciones F2 donde se genera la mayor variabilidad, y luego iniciar el proceso de selección para fijar el mayor número de caracteres deseables en las generaciones avanzadas. (Jensen *et al.* 1988).

La retrocruza es otra metodología tradicional que puede ser usada en el mejoramiento de especies autóгамas como el trigo, especialmente para

incorporar caracteres de alta heredabilidad como los genes de efectos mayores para resistencia a royas. Las retrocruzas permiten incorporar rápidamente un carácter presente en uno de los padres y recuperar el fondo genético del otro padre. La metodología MAS (*Marker Assisted Selection*) consiste en identificar marcadores estrechamente ligados a caracteres de interés en poblaciones segregantes para facilitar la selección de los individuos portadores de las mejores combinaciones de esos caracteres (Tanksley *et al.* 1989). Asimismo, permite incorporar varios genes de resistencia simultáneamente. Cuando en un cultivar se introgressa un gen de efecto mayor contra una enfermedad específica como roya de la hoja, por lo general es difícil introgressar genes adicionales para la misma característica sino se dispone de razas que los identifiquen, debido los efectos epistáticos que ocultan la expresión de cada uno. Usando MAS, se pueden marcar genes y así desarrollar líneas con genes acumulados otorgándole al cultivar una protección mayor que aquella que se hubiera podido lograr usando solamente un gen de resistencia (Simons *et al.* 2011).

Los planes de retrocruzas para introgressar genes en variedades comerciales se pueden acelerar si además se utiliza MAS del fondo genético del padre recurrente (Tanksley *et al.* 1989, Ragot *et al.* 1995; Johnson and Mumm, 1996). Esta metodología se basa en seleccionar alelos de marcadores correspondientes a los cromosomas del padre recurrente en las progenies de las retrocruzas y /o autofecundaciones. La introgresión de genes mediante retrocruzas necesariamente requiere de varios ciclos. En cualquier ciclo de retrocruzas, en cada generación se reduce la heterocigosis en un 50%, y en 4 generaciones puede alcanzarse en promedio más del 95 % del fondo genético del padre recurrente (Allard *et al.* 1999). El uso de MAS en esta situación permite reducir esos ciclos dado que las retrocruzas se realizan de forma direccionada, teniendo en cuenta el genotipo de los individuos a retrocruzar por el padre recurrente. En Australia en los programas de introgresión de genes en trigo redujeron a la mitad el número de retrocruzas (Hospital *et al.* 1992, Visscher *et al.* 1996, Frisch *et al.* 1999).

La piramidalización de genes de resistencia, tanto de plántula como de planta adulta, puede ser la mejor solución para el control de la roya de la hoja del trigo. Los genes de resistencia en planta adulta pueden aportar un nivel basal de resistencia, y la adición de una combinación de genes de resistencia en plántula pueden mejorar aún más ese nivel (Ingala *et al.* 2012). También es importante conocer la dinámica poblacional de los genes de virulencia del patógeno para combinar en las variedades a mejorar, no sólo los genes de resistencia en planta adulta, sino también los de plántula que circunstancialmente sean más efectivos. (Ingala, Tesis doctoral 2008)

La introgresión asistida se basa en incorporar rápidamente características agronómicas utilizando marcadores moleculares ligados a un carácter de interés, en este caso genes de resistencia. Se seleccionan las plantas portadoras del carácter agronómico según presenten o no el marcador independizándose del fenotipo, del ambiente y además con la ventaja de poder seleccionarse en cualquier estadio de la planta (Ragot *et al.* 1995; Johnson and Mumm, 1996).

Los marcadores también permiten realizar estudios de la conservación del orden de los marcadores entre los grupos de ligamiento de especies cercanas (sinténia), lo que permite predecir las regiones genómicas donde pueden localizarse genes de interés. Los mapas de especies modelo como *Oryza sativa* (arroz), *Arabidopsis thaliana* y *Brachypodium distachyon* son de gran utilidad ya que facilitan la búsqueda y localización de genes en distintas especies. *B.distachyon* fue propuesta como organismo modelo para las gramíneas (Bossolini *et al.* 2007). El aislamiento y clonado de genes también puede realizarse a partir de la estrategia basada en el mapeo de alta resolución. Esta técnica consiste en identificar secuencias de marcadores situadas en las cercanías de un gen de interés, para ser utilizadas luego en la identificación de los fragmentos portadores del mismo en bibliotecas genómicas totales o parciales.

En los últimos años se han desarrollado numerosos recursos genómicos a partir de la disponibilidad de información de secuencias de ADN, de trigo hexaploide y de distintas especies modelo, emparentadas y progenitoras. En el caso particular del trigo hexaploide, en 2003 se planteó la necesidad de la secuenciación genómica completa. Desarrollos paralelos como la separación de los distintos cromosomas mediante técnicas de citometría de flujo permitieron el abordaje de secuenciación a nivel cromosómico construyendo bibliotecas genómicas a nivel de brazo cromosómico (Dolezel *et al.* 2005). Esta estrategia facilitó enormemente las tareas de secuenciación y ensamblado del genoma de trigo publicado en 2015 (Chapman *et al.* 2015). Distintos laboratorios a nivel mundial se sumaron a la iniciativa del Consorcio Internacional del Genoma de Trigo (IGWSC), siendo el cromosoma 3B el primero en ser descrito a nivel de secuencia completa (Choulet *et al.* 2014). El estudio de las secuencias de ADN de especies como el arroz (*Oryza sativa* L.) (Qi *et al.* 2004), *Brachypodium distachyon* (The International Brachypodium Initiative, 2010), sorgo (*Sorghum* sp) (Mace *et al.* 2013), cebada (*Hordeum* sp) (The International Barley Genome Sequencing Consortium, 2012), y distintas especies de *Triticum* y *Aegilops*, ofrece un nuevo campo de investigación para mapeo, aislamiento de genes y desarrollo de nuevos marcadores asociados a genes de interés en trigo, a partir del estudio de las relaciones sinténicas entre las mismas (Bossolini *et al.* 2007, Mohan *et al.* 2007, Gupta *et al.* 2008, The International *Brachypodium* Initiative, 2010; Luo *et al.* 2013, MASARU Iehisa *et*

al. 2014, Kumar et al. 2009, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html). Se dispone además de la secuencia parcial de otros brazos cromosómicos de trigo hexaploide (IWGSC, www.wheatgenome.org).

Se dispone también de información de muy alta calidad del genoma de especies relacionadas, como de *Oryza sativa* L. (Wang et al. 2014) y *B. distachyon* que han sido utilizados para mapeo y aislamiento de genes mediante análisis comparativo en trigo (Bossolini et al. 2007). Se han descrito las relaciones sinténicas entre el genoma de *B. distachyon* y el de arroz, sorgo, cebada, trigo hexaploide y *Aegilops tauschii* (The International *Brachypodium* Initiative, 2010, The International Barley Genome Sequencing Consortium, 2012). Recientemente se han publicado además una secuencia borrador con una cobertura de 90X (Jia et al. 2013) y de un mapa físico del genoma D proveniente del progenitor diploide, *A. tauschii* (Luo et al. 2013), y la secuencia borrador del genoma del progenitor del genoma A de trigo, *Triticum urartu* (Ling et al. 2013).

HIPOTESIS DE TRABAJO

El comportamiento de las variedades de trigo frente a la roya de la hoja causada por el hongo *P. triticina*, mejora debido a los efectos aditivos e interacciones originados por la acumulación de genes de resistencia a roya de la hoja tanto de expresión en plántula como en planta adulta, confiriendo una resistencia durable a la misma.

La gran cantidad de información de mapas genéticos y de secuencias de ADN de trigo y de especies afines, facilita la identificación y el desarrollo de marcadores asociados a los genes de resistencia, para asistir la introgresión de los mismos en variedades comerciales susceptibles, mejorando la eficiencia de selección y la recuperación del fondo genético de los padres recurrentes y reduciendo el número de generaciones para lograr la homocigosis en las plantas selectas portadoras de los genes de resistencia.

OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es desarrollar e implementar una metodología de introgresión y piramidalización de genes de resistencia a roya de la hoja basada en la selección asistida por marcadores moleculares, que resulte en un aumento en la eficiencia y un acortamiento en los tiempos del proceso de mejora genética respecto de los métodos convencionales, con el fin de contribuir a los programas de mejoramiento que hacen uso de las fuentes de resistencia durable a la enfermedad presente en materiales argentinos.

Objetivos específicos

-Desarrollar mapas genéticos de mediana resolución de las regiones que incluyan al gen *LrG6* de resistencia a roya de la hoja de trigo en plántula y al gen *LrSV1* de resistencia en planta adulta, utilizando una población de RILs obtenidas mediante el método de SSD (*Single Seed Descendant*) provenientes de un cruzamiento de Sinvalocho MA x Gama6.

-Desarrollar e Implementar metodologías basadas en selección asistida por marcadores moleculares para la introgresión y piramidalización de los genes de resistencia provenientes de los cultivares con resistencia durable Sinvalocho MA y Buck Manantial, en las variedades comerciales susceptibles Klein Don Enrique, Relmó Sirirí, Onix, BioINTA 1001, ACA 801, Buck Biguá y Baguette 9 y para la selección del fondo genético del padre recurrente. Así como también, evaluar visualmente el efecto de la piramidalización de genes de resistencia y el comportamiento a campo de las distintas variedades modificadas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Desarrollo de mapas genéticos de mediana/alta resolución que incluyen a los genes de resistencia a roya de la hoja del trigo LrSV1 y LrG6

2.1.a Material Vegetal

Para el desarrollo de un mapa genético de mediana resolución que incluyera a los genes *LrSV1* y *LrG6*, se utilizó una población original de 91 RILs (líneas homocigotas recombinantes del cruzamiento Sinvalocho X Gama 6 en la cual se habían mapeado los marcadores utilizados para la introgresión de genes en esta tesis), más 183 RILs adicionales provenientes de 2 poblaciones independientes del mismo cruzamiento Sinvalocho X Gama6. Las poblaciones de RILs fueron desarrolladas mediante el método SSD (*“single seed Descendant”*) hasta la generación F8 o más (**Figura 7**). Este método está basado en que cada individuo de la generación F2, y también de las sucesivas generaciones, aporta un solo descendiente a la progenie con lo cual se puede acelerar el intervalo entre generaciones creciendo las plantas en macetas pequeñas donde se acelera la floración. Una población F8 teóricamente sólo tiene un 0.8% de heterocigosis, por lo que la mayoría de los genes se encuentran en estado homocigota facilitando el mapeo, no solo de marcadores codominantes como los SSRs, sino también de marcadores dominantes como los AFLPs. Asimismo, como en este tipo de poblaciones las líneas son genéticamente homogéneas, se puede disponer de abundante semilla para evaluar distintos caracteres simultáneamente o de manera separada en cada línea. En el caso de los genes de resistencia a royas se realizan las infecciones de cada línea separadamente con distintas razas para identificar los mismos.

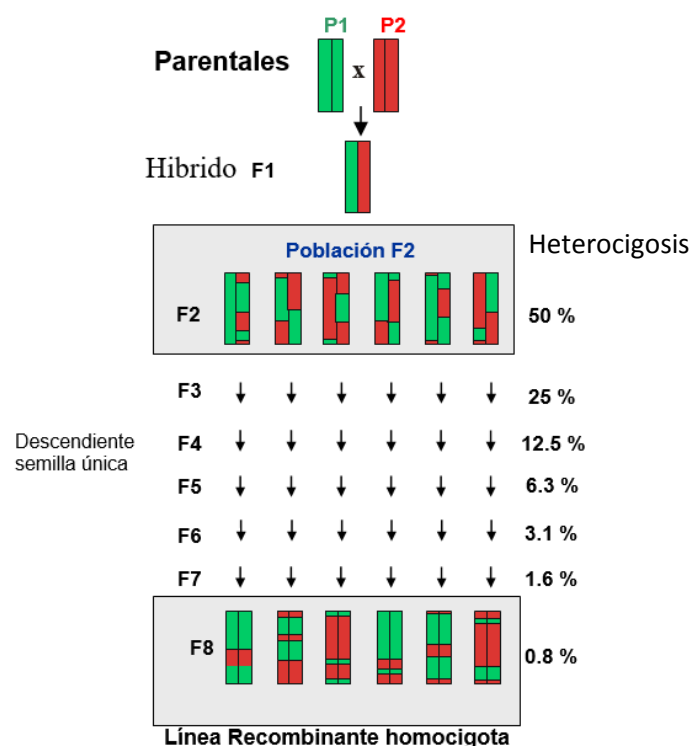


Figura 7: Esquema de formación de RILs (Líneas Recombinantes Homocigotas)

2.1.b Caracterización fenotípica de resistencia a roya en líneas endocriadas

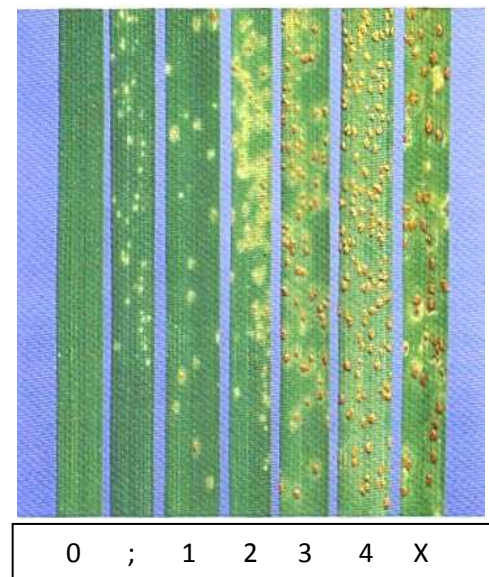
El protocolo de inoculación se basó en pulverizar plántulas con una suspensión de uredosporos de la raza que permitía identificar al gen de resistencia, en una cámara húmeda con el 100% de humedad relativa. Para preparar el inóculo se utilizan 10 miligramos de uredosporos de *P. tritici* en 50 ml de agua con una gota de Tween 20 para romper la tensión superficial de los esporos y que se mantengan en suspensión. La cámara húmeda consiste en una estructura metálica con un piso y una tapa del mismo material.

Las plantas se ubicaron en el interior de la cámara, primero se las rocía con agua y posteriormente con la suspensión del inóculo. La cámara húmeda se mantiene cerrada durante aproximadamente 16 horas. Posteriormente, las plantas se colocaron en las banquetas del invernáculo con una temperatura que en las condiciones del ensayo osciló entre 15 y 25°C. Al cabo de 12-15 días se realizó la evaluación visual de resistencia o susceptibilidad de acuerdo al tipo de infección.

Las razas de *P. tritici* Ca04-PG, Ma04-Bg11, Ma04-KDE, Ca04-KDE y Ca03-PIM fueron utilizadas para identificar al gen de resistencia en plántula *LrG6* en el estadio de plántula en el parental Gama6, mientras que el parental Sinvalochó resultó susceptible frente a estas razas (Sacco, F datos no publicados, Ingala *et al.* 2012).

El gen *LrSV1* de expresión en planta adulta fue identificado utilizando las razas 99-28 y Ca00-5 (Ingala *et al.* 2012). Frente a estas razas ambos parentales se comportaron como susceptibles al estadio de plántula, mientras que en planta adulta, Sinvalocho MA resultó resistente y Gama 6 susceptible. Después de la inoculación, para la evaluación en Planta Adulta, las plantas se mantuvieron en invernáculo a una temperatura entre 15 y 25°C y a los 14-21 días se realizó la evaluación visual de la infección.

La determinación del fenotipo de resistencia/susceptibilidad a roya se realizó por comparación con los parentales y aplicando como referencia la escala cualitativa de Mains y Jackson (**figura 8**), que va desde S (susceptible) a R (resistente) pasando por grados intermedios de resistencia como MS (moderadamente susceptible) y MR (moderadamente resistente) (extraído de McIntosh *et al.*, 1995).



Tipo de Infección	Respuesta del huésped	Síntomas
0	Inmune	No se observan uredios o pústulas
;	Muy Resistente	Flecks* hipersensibles
1	Resistente	Pequeños uredios con necrosis
2	Resistente a moderadamente resistente	Uredios pequeños a medianos con islas verdes rodeadas por necrosis y clorosis
3	Resistencia moderada/ susceptibilidad moderada	Uredios medianos con o sin clorosis
4	Susceptible	Uredios grandes sin clorosis
X	Resistente/ susceptible?	Heterogéneo, todo tipo de pústulas y flecks.

*se llaman flecks a pequeños puntos necróticos en el tejido de la planta en respuesta a la infección del hongo.

Figura 8. Clasificación de los tipos de infecciones según Mains y Jackson.

De acuerdo a los tipos de respuesta a la infección observados con las distintas razas mencionadas más arriba, finalmente las poblaciones de RILs fueron

evaluadas por la presencia del gen de expresión en plántula *LrG6* a través de infecciones realizadas en el estadio de plántula con la raza Ca04-KDE, y para el gen de expresión en planta adulta *LrSV1* en estadio de planta adulta con la raza 99-28.

2.1.c Caracterización molecular de las poblaciones de RILs

Los marcadores moleculares utilizados para el desarrollo de mapas de mayor resolución fueron microsatélites, ya que se dispone de abundante información pública sobre los mismos (Gupta *et al.* 2008).

Inicialmente se seleccionaron aquellos marcadores polimórficos entre Sinvalocho MA y Gama6, y luego se procedió a la búsqueda de asociación entre los mismos y los genes de resistencia *LrG6* y *LrSV1*.

El método utilizado para localizar marcadores de ADN asociados a los genes de resistencia fue el denominado análisis segregante en lotes (bulk segregant analysis o BSA, Michelmore *et al.* 1991). El método se basa en la identificación de marcadores de ADN en regiones específicas del genoma comparando dos grupos de mezclas de ADN de individuos provenientes de un cruzamiento simple, donde los individuos que componen cada *bulk* o mezcla son idénticos para el carácter o gen de interés.

En este trabajo se trabajó inicialmente con dos *bulks* conformados por ADNs de 5 familias resistentes y 5 susceptibles, y si se observaba asociación se confirmaba el ligamiento realizando el análisis sobre los 91 RILs y luego se extendía a los 183 RILs adicionales.

i. Extracción y cuantificación de ADN

Para la extracción de ADN se usaron muestras de tejido de 2^{da} o 3^{ra} hoja de plántulas cultivadas en invernáculo. El material vegetal fue deshidratado en desecador con vacío conteniendo Silica gel, pulverizado utilizando 2 bolillas de acero inoxidable en cada tubo y el equipo "Tissue Lyser" (Qiagen, frecuencia: 30 /s. Tiempo: 10 minutos) y conservado a -70°C hasta el momento de la extracción de ADN.

Método A de extracción de ADN (Sacco et al. 1998):

Se agregó al tejido molido 800 µl del buffer de extracción a 65°C (100mM Tris-HCl pH 7.5, 700mM NaCl, 50mM EDTA pH 8 y H₂O bidestilada), 100 µl de CTAB (Bromuro de Cetiltrimetilamonio) 10% con agitación y 100 µl de SDS 20% con inversión. Se incubó durante 60 minutos a 65°C en horno con agitación suave y continua. Se llevó a temperatura ambiente y luego se le agregó 1 volumen (900µl) de cloroformo:isoamílico (24:1), se agitó por inversión 5 minutos y se centrifugó 10 minutos a 14000 RPM. El sobrenadante

obtenido se incubó con 5 µl de RNasa (10 µg/µl) por al menos 60 minutos a 37°C. Se agregó 1 volumen (900 µl) de cloroformo:is oamílico (24:1), se agitó por inversión 5 minutos y se centrifugó 10 minutos a 14000 RPM. Se trasvasó la fase acuosa y se agregó un 60 % del volumen (510 µl) de isopropanol frío, se lo invirtió unos segundos y se centrifugó 10 minutos a 14000 RPM. Al *pellet* resultante, se le agregó 1 ml de alcohol 70% y se dejó reposar por unos minutos. Luego se centrifugó 10 minutos, 14000 RPM, se retiró el alcohol y se dejó secar y finalmente se resuspendió el ADN en 100 µl de H₂O de grado HPLC.

Cuantificación de ADN:

La cuantificación del ADN extraído se realizó mediante espectometría utilizando el equipo modelo ND-1000, NanoDrop®.

El ADN extraído se cuantificó por comparación con un estándar (ADN del fago λ digerido con HindIII) mediante electroforesis en gel de agarosa 0.8% en buffer TBE 1X (0.89mM Tris (base), 0.89mM Ácido Bórico y 0,2mM EDTA pH 8.0) con agregado de 150ng/ml de Bromuro de Etidio (10 mg/ml) a 3,5 Volts/cm constantes durante aproximadamente 120 minutos. Las muestras sembradas correspondieron a diluciones 1/10 del ADN resuspendido en H₂O y fueron visualizadas por fluorescencia del bromuro de etidio con luz UV en un equipo White/UV Transiluminator (Life Sciences).

Se empleó también un equipo NanoDrop® (NanoDrop Technologies, EUA) que permite medir sobre 2µl de muestra la absorbancia a 260nm (A₂₆₀) y 280nm (A₂₈₀) para evaluar el contenido de ácidos nucleídos y la contaminación con proteínas, respectivamente. Para esto se utilizó la medición de la absorbancia a 260nm, que corresponde a una solución de ADN doble hebra de 50 µg/ ml en una cubeta de 1cm de camino óptico. Se determinó el índice de pureza, obtenido a partir del cociente entre la absorbancia obtenida a 260nm respecto a aquella obtenida a 280nm, en donde valores de cociente entre 1,80 y 2,00 indican que el ADN obtenido es de alta pureza, mientras que valores más bajos podrían indicar contaminaciones por la presencia de proteínas, fenoles, etc.

ii. Análisis de Marcadores Microsatélites (SSR)

Se utilizaron 20ng de ADN. La reacción se realizó en un volumen de 20µl con 1.5mM de MgCl₂, 0.2mM dNTPs, 100nM de cada cebador y 0.8 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Invitrogen). El ciclado térmico se realizó con temperatura de “*annealing*” fija (50, 55 o 60 °C) o con una temperatura de “*annealing*” que descendía un grado en cada ciclo, dependiendo del microsatélite.

Programa con temperatura de “annealing” fija:

3 min 94°C

45 ciclos { 1 min a 94°C
1 min a 50-55-60°C
2 min a 72°C

10 min a 72°C

Programa con temperatura de “annealing” descendiente:

3 min 94°C

10 ciclos { 30 seg a 94°C
1 min a 65°C
2 min a 72°C
Descendiendo un grado en cada ciclo

35 ciclos { 30 seg a 94°C
1 min a 55°C
2 min a 72°C

10 min a 72°C

iii. Resolución y visualización de los productos

-Electroforesis en geles de poliacrilamida.

Los productos de amplificación se resolvieron en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes. Para ello se agregaron 15 µl de buffer de siembra (10mM NaOH, 0.05% Azul de Bromofenol, 0.05% Xylene Cyanol y 95%(v/v) Formamida desionizada) y se desnaturalizó a 95°C por 5 minutos., conservándolo en hielo para su posterior siembra en el gel de poliacrilamida.

Para la resolución de los productos de amplificación, se sembraron 7 µl de la muestra en un gel de poliacrilamida 5% (Acri:bis 19:1) desnaturalizante (7M urea). La electroforesis se realizó con buffer TBE 0.5X durante aproximadamente 90 minutos a 60 Watts constantes. Se incluyó un marcador de peso molecular (25bp, Invitrogen).

La visualización de la corrida electroforética se realizó mediante tinción con Nitrato de Plata (AgNO₃) e Hidróxido de Sodio (NaOH), de acuerdo al protocolo modificado de Benbouza *et al.* 2006:

Se fijó el gel por al menos 5 minutos en una solución de Acético-etanol (0.5% Acético y 10% etanol llevando a volumen final con agua bidestilada).

Esta solución de Acético-etanol se reservó para reutilizar al finalizar el revelado. Se incubó por 12 minutos en 200 ml de solución de AgNO₃ (15 mg/ml de agua bidestilada) con 300 ul de formaldehído 37% (1.5ml/L). Se lavó 15 segundos en agua bidestilada y se reveló en 400 ml de solución de NaOH (15 g/L de agua bidestilada) con 800 ul formaldehído 37%(2ml/L) hasta ver las bandas. La tinción se detuvo por agitación con la solución de Acético-etanol reutilizada del paso inicial de fijación del presente protocolo.

-Electroforesis en geles de agarosa.

Para la resolución de los productos de amplificación que presentaban un peso molecular mayor a 500 pb o para aquellos productos que presentaban un polimorfismo mayor a 10 pb de diferencia, se utilizaron geles de agarosa 1-2.5% en buffer TBE 0.5x teñidos con Bromuro de Etidio.

A los productos de amplificación se les agregó 5 µl de “loading buffer” (12% sacarosa y una punta de espátula de rojo Cresol). Se sembraron entre 20 y 35 µl de la muestra en cada calle y se incluyó un marcador de peso molecular (100 pb, Invitrogen).

La electroforesis se realizó a 4V/cm y la visualización se realizó empleando el equipo UVP (Syngene®).

2.1.d Mapeo Genético

i. Marcadores asociados al gen *LrG6*

En un trabajo previo el mapeo del gen *LrG6* fue reportado en el cromosoma 2BL (Ingala *et al.* 2012). Por tal motivo se ensayaron en este estudio 50 marcadores públicos (**Tabla 2**) previamente localizados en ese brazo cromosómico. Sin embargo no se encontraron nuevos marcadores asociados al gen *LrG6*. En el trabajo mencionado, el mapeo del *LrG6* se basó en un mapa de ligamiento de pocos marcadores, sin el complemento de un análisis de nulisómicos o ditelosómicos para confirmar su localización cromosómica. Se decidió entonces realizar un análisis de los marcadores gwm382 y barc159 en la línea nui2D-tetra2B de la variedad Chinese Spring, y progenitores de trigo diploides y tetraploides para determinar la ubicación cromosómica de estos marcadores, localizándose en el brazo largo del cromosoma 2D (2DL). A partir de la confirmación de la localización del gen *LrG6* en el cromosoma 2DL, se realizó una nueva búsqueda bibliográfica y se seleccionaron 78 marcadores SSR (**Tabla 2**, Paux *et al.* 2006, 2008, Röder *et al.* 1998, Stephenson *et al.* 1998, Pestsova *et al.* 2000, Gupta *et al.* 2002, Guyomarc'h *et al.* 2002, Somers & Isaac *et al.* 2004, Yu *et al.* 2004, Sourdille *et al.* 2004, Ganal & Roder *et al.* 2007).

Tabla 2. Marcadores microsatélites seleccionados. Los marcadores con * corresponden a marcadores del trabajo de Ganal & Roder *et al.* 2007 no disponibles públicamente. Las columnas 1 a 4 corresponden a los marcadores seleccionados del cromosoma 2BL y las columnas 5 a 10 a los del cromosoma 2DL.

Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador
wmc441	barc147	gwm133	gwm630	barc11	gpw354	wmc5163	gwm4888	wms4828	wms4685
gwm332	cfa2278	gwm410	gwm374	barc219	gwm1027*	wmc5239	barc1095	wmc361	barc122
wmc627	barc16	barc135	wmc272	cfid168	gwm1273*	wms1186*	gwm846	gpw2321	cfid267
wmc317	barc115	barc160	wmc245	cfid239	gwm1325*	cfid156	stm730	wmc817	gdm6
cfid73	barc210	gwm47	gwm55	cfid270	gwm1354*	cfid161	gwm349	gwm4820	gwm608
cfid267	cfid267	gwm16	gwm319	gpw308	gwm1399*	cfid44	gwm4262	gpw4474	mag2120
gwm388	gwm191	barc139	wmc265	gpw338	gwm1691*	cfid62	gpw5141	stm731	mag299
wmc361	wmc500	barc128	barc101	gwm991	gwm1730*	barc143	gwm4110	gpw5237	mag3080,2
gwm120	wmc51	barc7	gwm129	gwm157	gwm3038*	barc228	gwm311	cfid193	gwm320
gwm619	wmc602	barc13	gwm129	mag3616	wmc445	wmc5041	mag4059	gpw5244	wms4691

gwm526	wmc175	barc1064	cfid25	mag542	wms1235*	Ksum174	mag4089	stm36	gdm93
barc156	barc221	gwm501	barc91	mag633	Ksum44	cfid50	wmc181	stm9	gwm739
		barc167	barc18	wmc167	Ksum45	cfid73	wmc243	gdm87	wmc18

ii. Marcadores asociados al gen *LrSV1*

Se realizó una búsqueda bibliográfica de marcadores moleculares ubicados en el extremo distal del cromosoma 2DS, donde se había localizado el gen *LrSV1*, (Ingala, Tesis doctoral, 2008), y se ensayaron 87 marcadores (**Tabla 3**) (Paux *et al.* 2006, 2008, Röder *et al.* 1998, Stephenson *et al.* 1998, Pestsova *et al.* 2000, Gupta *et al.* 2002, Guyomarc'h *et al.* 2002, Somers and Isaac *et al.* 2004, Yu *et al.* 2004, Sourdille *et al.* 2004, Ganai & Roder *et al.* 2007, Gasperini *et al.* 2012).

Tabla 3. Marcadores microsatélites del cromosoma 2DS utilizados. Los marcadores con * corresponden a marcadores del trabajo de Ganai & Roder *et al.* 2007 no disponibles públicamente

Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador	Marcador
cfid51	barc168	Xib90	Xib91	gwm886*	gwm721*	cfid56
cfid53	barc230	Xib89	cfid160	gwm210	gwm249	wmc112
gdm35	barc297	Xib99	gwm4815*	gdm77	gwm515	wmc630
gdm5	barc95	barc124	gwm102	gwm614	gdm107	wmc149
gwm261	cfid11	barc90	gwm1418	gwm702*	mag277	wmc167
gwm296	cfid116	DG244	cfid36	mag3589	barc145	gwm4830*
gwm455	cfid02	gwm112	cfid43	wmc470	cfid17	wmc11
wmc25	cfid65	gwm157	cfid77	wmc111	gwm37	gwm484
wmc503	gdm19	gwm358	DG072	cfid48	cfid255	gwm539
Xib100	gpw332	gpw361	DG087	Xib87	gwm30	gwm4515*
Xib128	gpw4080	gwm 815*	DG086	gwm 1099*	gwm 4893*	gwm4739*
Xib66	gpw5176	gpw2088	DG236	gwm113	DG260	gwm4775*
wmc18	wmc431	Wmc453				

2.1. e. Búsqueda y desarrollo de marcadores moleculares ligados a genes de resistencia a roya de la hoja mediante la utilización de herramientas genómicas.

Para el estudio de las regiones genómicas correspondientes a los genes *LrG6* y *LrSV1* se realizó un alineamiento local de las secuencias de los *primers* de los marcadores barc159 y gwm382 asociados al gen de resistencia *LrG6* y wmc25, wmc503, gwm261, gwm296, gdm5, gdm35, gwm455 asociados al gen *LrSV1*, sobre ensamblados parciales ("*contigs*") del genoma de trigo disponibles en una base de datos desarrollada por el Consorcio Internacional de Secuenciación de Trigo disponible en el instituto The Genome Analysis Centre (Inglaterra). Los marcadores utilizados en el alineamiento son los que resultaron asociados a los genes de resistencia luego del análisis del apartado anterior (**2.1.d**). Los *contigs* seleccionados como resultado de este alineamiento fueron utilizados para realizar una búsqueda usando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), en bases de datos de secuencias de *Brachypodium distachyon* alojadas en los servidores de Gramene (gramene.org), Phytozome (phytozome.org) y Plant Ensembl

(plants.ensembl.org), siguiendo la estrategia utilizada por Burt *et al.* 2011 para poder identificar la región de *B. distachyon* que se corresponda con una región homóloga en los distintos cromosomas de interés en el genoma de trigo. Como resultado de esta búsqueda se obtuvieron secuencias correspondientes a transcritos de *B. distachyon* que delimitaron una región en el cromosoma 5 de esa especie, consistente con la sintenia encontrada con el cromosoma 2 de trigo (The International Brachypodium Initiative, 2010). Utilizando todas las secuencias de transcritos incluidas en esa región sinténica, se procedió a un nuevo alineamiento sobre los *contigs* anclados a los brazos del cromosoma 2 de trigo. Sobre esta última selección de *contigs* se realizó la identificación de regiones variables utilizando el software WEBSAT (Martins *et al.* 2009), para la identificación de motivos de microsatélites, con el objetivo de construir un catálogo de marcadores sobre la región de interés que ayuden a identificar nuevos marcadores asociados a los genes de resistencia en la población de RILs.

En el caso particular del gen *LrSV1*, dado que uno de los marcadores flanqueantes (gwm261) al gen no alineó con ningún “*contig*” de los ensamblados parciales del cromosoma 2D de trigo disponibles en TGAC, se realizó una selección indirecta. En un trabajo de mapeo fino en el cromosoma 2DS publicado por Gasperini *et al.* (2012), el marcador gwm261 fue reportado como ligado al gen de altura *Rht8* junto a otros marcadores diseñados por la autora. Uno de estos marcadores diseñados por la autora es el marcador DG087, que se encuentra muy próximo (0,6cM) al gwm261. Este marcador, DG087, fue diseñado a partir del transcritto de *B. distachyon* Bd5g02980 y se utilizó para delimitar la región. Este transcritto fue utilizado para realizar un alineamiento sobre ensamblados parciales del cromosoma 2DS y permitió identificar un *contig*.

Los transcritos de *B. distachyon* también se analizaron contra bases de datos de secuencias de especies cercanas como *Hordeum vulgare*, *Oryza sativa* y *Sorghum bicolor*. Se utilizaron transcritos de *O. sativa*, se procedió a un nuevo alineamiento sobre los *contigs* anclados a los brazos del cromosoma 2 de trigo. Sobre esta selección de *contigs* se realizó la identificación de regiones variables utilizando el software WEBSAT (Martins *et al.* 2009), para identificación de motivos de microsatélites.

2.1.f Análisis Genético

Los análisis de ligamiento y las distancias genéticas se calcularon con el software MAPMAKER versión 3.0 (Lander *et al.* 1987) y CarthaGene (S. de Givry *et al.* 2005).

Los grupos de ligamiento se determinaron con un LOD mínimo de 3.0 y una distancia máxima de 30 cM. Se confeccionó una tabla de datos en donde se le

asignó el número “1” a los alelos pertenecientes a Sinvalocho y “0” a aquellos correspondientes a Gama6.

Las frecuencias de recombinación fueron convertidas a cM con la función de Kosambi. El mapa se graficó con el software Map-Chart (Voorrips 2002).

2.2 Piramidación de genes de resistencia en variedades comerciales de trigo

2.2.1 Material Vegetal

i.Variedades donadoras de resistencia a roya

-Buck Manantial:

Donante del brazo corto del cromosoma 2B. Esta variedad tradicional de trigo, Buck Manantial, ha demostrado desde su inscripción como cultivar comercial en 1964, resistencia durable a roya de la hoja (Favret *et al.* 1983).

-RIL46:

Donante de los genes de resistencia *LrSV1*, *LrSV2* de expresión en planta adulta y el gen *LrG6* de expresión en plántula. Esta línea forma parte de una población de RILs obtenida del cruzamiento de la variedad tradicional de trigo Sinvalocho MA, portadora de los genes *LrSV1* y *LrSV2* y la línea experimental Gama6 portadora del gen *LrG6*, derivada del cultivar Sinvalocho MA mediante un tratamiento de mutagénesis con rayos gamma (Ingala *et al.* 2012).

El número de marcadores polimórficos entre esta línea y las variedades comerciales a mejorar es mayor que el número de marcadores polimórficos que presentaban otras RILs portadoras de los tres genes de resistencia.

ii.Variedades comerciales susceptibles o parentales recurrentes

-Buck Biguá:

Esta variedad fue inscrita en el año 2002 y ha sido ensayada en las subregiones II Norte y Sur, IV y V Sur mostrando un alto rendimiento con una excelente adaptación. Es un material semienano, que alcanza en promedio los 80 cm. Su ciclo es corto, similar al de Klein Don Enrique, con baja sensibilidad al fotoperiodo y sin requerimientos de vernalización. Es bueno su comportamiento frente a *Septoria Triticci*, una enfermedades fúngicas importancia económica que afecta los tejidos foliares conocida como "Mancha de la Hoja o Septoriosis" y tolerante a Fusariosis de la espiga, una enfermedad fúngica que afecta los granos, causada por *Fusarium graminearum*. Bajo condiciones de secano ha mostrado buena resistencia al vuelco aún en situaciones de alta fertilidad. Es resistente al desgrane. Es un cultivar de grano

mediano con alto peso hectolitrito, ubicado dentro del grupo de mejor calidad panadera, con altos niveles de proteína, excelentes valores reológicos generales, y particularmente destacado por su alta estabilidad farinográfica. (www.inase.gov.ar)

-Bio INTA1001:

Esta variedad fue inscripta en el año 2004, de porte vegetativo erecto. Su ciclo es corto, un alto potencial de rendimiento y excelente calidad panadera. Esta variedad se ha reportada como adaptada a todos los sistemas de producción, incluyendo NOA y NEA. Tiene muy buena capacidad de macollaje, es tolerante al desgrane y al vuelco. En cuanto al comportamiento frente a *Dreschlera*, una enfermedad de importancia económica que afectan los tejidos foliares conocida como la "Mancha Amarilla", fue reportado como moderadamente susceptible y el comportamiento frente a Fusariosis, moderadamente tolerante. (www.inase.gov.ar)

-ACA801:

Fue inscripta en el año 2004, de excelente comportamiento agronómico. Variedad de ciclo corto y buen comportamiento a roya de la hoja. Posteriormente se volvió muy susceptible a esta enfermedad. Presenta buena calidad panadera y molinera. (www.inase.gov.ar)

-Baguette 9:

Es una variedad comercial inscripta en 2006. Es de ciclo intermedio-corto y porte erecto que presenta un alto potencial de rendimiento en la Subregión IV, de las regiones trigueras argentinas, siendo indicado su cultivo en modelos de alta producción con aplicación de fungicidas y fertilizantes, por su buena caña y moderada altura. Esta variedad se mostró como susceptible a *Puccinia recondita* desde su inscripción en 2006 y con buen comportamiento a *Septoria Tritici*. Su calidad comercial es aceptable y se lo define como un trigo duro apto para la panificación tradicional. (Catálogo cultivo nidera semillas)

-Relmó Sirirí:

Esta variedad de ciclo corto fue inscripta en el año 2009 y su fecha de siembra se extiende desde mediados del mes de julio en las subregiones del norte hasta mediados de agosto-septiembre en las del sur. La densidad óptima lograda oscila entre 350 a 380 plantas por metro cuadrado. El porte vegetativo de Relmó Sirirí es erecto, alcanzando el estado de floración plena a los 82 días desde su implantación. En cuanto a su comportamiento sanitario se presentaba como moderadamente susceptible a roya de la hoja al año de la inscripción y presenta una excelente tolerancia al complejo de manchas foliares (catálogo cultivo criadero Relmó).

-Klein Don Enrique:

Es un cultivar de ciclo corto a intermedio que presenta un alto potencial de rendimiento con una producción promedio de 4682 kg/ha y una excelente calidad industrial y panadera superior a los testigos. Fue inscripta en 1998. Al año 2001 no se registraba presencia de *Puccinia Recondita*, *P. Graminis*, ni *P. Striformis*. Portadora de la translocación de centeno (*Lr26*), de uso generalizado en mejoramiento en Argentina en la década del 90, para resistencia a roya de la hoja y del tallo. Posteriormente se volvió muy susceptible a roya de la hoja, alcanzando un máximo de superficie sembrada superior a las 300.000 has. (régimen de fiscalización: informe técnico, Nuevo trigo Pan Klein Don Enrique).

-Onix:

Variedad de ciclo corto que alcanza en promedio una altura de 85 cm. Presenta un muy buen comportamiento frente al desgrane y al vuelco y al momento de la inscripción se mostraba susceptible a roya de la hoja. Moderadamente susceptible a *Dreschlera*, moderadamente tolerante a *Septoria* y buen comportamiento a *Fusarium*. De buena calidad panadera (www.inase.gov.ar).

2.2. b Caracterización fenotípica de resistencia a roya en líneas introgresadas

i. Infección con Roya

Se inocularon las plántulas según el protocolo de infección descrito en el apartado 2.1. Se utilizó una suspensión de uredosporos de la raza que permitía identificar al gen *Lr16* en el extremo distal del cromosoma 2BS o al gen *LrG6* del RIL 46, según el cruzamiento (**Tabla 4**).

Tabla 4: Raza de roya utilizada para la identificación del gen de resistencia en cada cruzamiento.

Cruzamiento	Raza	Gen
Klein Don Enrique x RIL46	Ca04 Klein Don Enrique	<i>LrG6</i>
Relmó Sirirí x RIL46	Ma07Bg9	<i>LrG6</i>
Onix x RIL46	Ma07Bg9	<i>LrG6</i>
Baguette 9 x Buck Manantial	Ma07B.Guapo	<i>Lr16</i>
ACA801 x Buck Manantial	Ma07B.Guapo	<i>Lr16</i>
Buck Biguá x Buck Manantial	Bg07Bg9	<i>Lr16</i>
BioINTA1001 x Buck Manantial	Bg07Bg9	<i>Lr16</i>

ii. Análisis de fenotipos

La resistencia o susceptibilidad a la infección se evaluó visualmente examinando la 1ra-2da hoja a los 14 días post-inoculación. La determinación del fenotipo de resistencia/susceptibilidad a roya se realizó por comparación con los testigos resistentes (RIL46 y Buck Manantial) y susceptibles (Onix, Relmó Sirirí, Klein Don Enrique, Buck Biguá, BioInta1001, ACA801 y

Baguette9), y aplicando una escala cualitativa que va desde S (susceptible) a R (resistente) pasando por grados intermedios de resistencia como MS (moderadamente susceptible) y MR (moderadamente resistente), tomando como referencia la escala de Mains y Jackson (**Figura 8**).

Para el análisis de los resultados fenotípicos de pruebas de progenie se agrupó dicotómicamente a los individuos categorizados como R o MR como resistentes y a los que presentaban fenotipos S o MS como susceptibles. Las segregaciones de genes fueron evaluadas mediante pruebas de Chi cuadrado de bondad de ajuste.

2.2.c Caracterización molecular de las líneas introgresadas

i. Extracción y cuantificación de ADN

Se utilizó el protocolo descrito en Materiales y Métodos en el apartado 2.1. para las retrocruzas, mientras que para las autofecundaciones se utilizó el Método B, (Dellaporta *et al.* 1994), que resultó más rápido, y aunque el ADN extraído resultó de menor calidad, fue adecuado para amplificar microsatélites.

Método B de extracción de ADN:

Se agregó al tejido molido 750 µl del buffer de extracción a 65°C (50mM Tris-HCl pH 8, 100mM NaCl, 10mM EDTA pH 8, 10% SDS y 20µl/ml β-mercaptoetanol). Se homogeneizó utilizando un vortex y se incubó a 65°C por 10 minutos. Se agregó 150 µl de KAcO 5M (24.5g/50 ml). Se agitó y se dejó en hielo por 20 minutos. Luego se centrifugó a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C. Se trasvasó el sobrenadante a otro tubo y se le agregó 750 µl de isopropanol frío se lo invirtió unos segundos y se centrifugó a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C. Al *pellet* resultante, se le agregó 1 ml de alcohol 70% y se dejó reposar por unos minutos luego se centrifugó a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C. Se resuspendió el ADN en 100 µl de H₂O de grado HPLC con 5 µl de RNasa (10mg/ml) y incubó a 37°C por 1 hora.

La cuantificación del ADN extraído por ambos métodos se realizó mediante espectometría utilizando el equipo modelo ND-1000, NanoDrop®.

-Cuantificación de ADN:

Se utilizó el protocolo descrito en Materiales y Métodos en el apartado 2.1.

ii. Selección de marcadores moleculares

Se seleccionaron dos grupos de marcadores moleculares, los marcadores ligados a los genes de resistencia LrSV2, LrSV1y LrG6 (Ingala *et al.* 2012).

(**Tabla 5**), al brazo corto del cromosoma 2B (Altieri *et al.* 2008) (**Tabla 6**) y los marcadores de selección de fondo genético (**Tablas 7 y 8**).

En ambos casos los marcadores se seleccionaron en base a la existencia de polimorfismo entre los parentales de cada cruzamiento y la distribución en los cromosomas, por presentar distinta movilidad en la corrida electroforética, por ser reproducibles y por ser codominantes, es decir no presentar alelos nulos.

Particularmente, en el caso de los SSRs o AFLPs ligados a los genes *LrSV1*, *LrSV2* o *LrG6* (**Tabla 5**), se seleccionaron los marcadores que presentaran las características antes descritas y que además fueran los más cercanos a dichos genes de resistencia. Estos marcadores fueron previamente reportados como ligados a los genes de resistencia *LrSV1*, *LrSV2* o *LrG6* (**Figura 2**) en la población de 91 RILs, de donde proviene el RIL46 utilizado en los cruzamientos (Ingala *et al.* 2012).

En la **Tabla 5** se detallan los distintos marcadores utilizados en las diferentes etapas de introgresión de los genes de resistencia provenientes del RIL46.

Tabla 5: Marcadores ligados a los genes *LrSV1*, *LrSV2* o *LrG6* utilizados en los distintos cruzamientos. La columna 1 corresponde a los cruzamientos, las columnas 2 y 4 a los SSRs utilizados en las distintas generaciones y las 3 y 5 corresponden al cromosoma al cromosoma donde fue reportado el marcador asociado.

Cruzamiento	SSRs/AFLPs en BC1 y BC2	gen	SSRs en Autofecundación	Gen
KDE x RIL46	P31/M42	<i>LrSV1</i>	gwm261	<i>LrSV1</i>
	P31/M37	<i>LrSV2</i>	gwm533	<i>LrSV2</i>
			barc159	<i>LrG6</i>
R.Siriri x RIL46	gwm261	<i>LrSV1</i>	gwm261	<i>LrSV1</i>
	gwm533	<i>LrSV2</i>	gwm533	<i>LrSV2</i>
			barc159	<i>LrG6</i>
Onix x RIL46	gwm261	<i>LrSV1</i>	gwm261	<i>LrSV1</i>
	gwm533	<i>LrSV2</i>	gwm533	<i>LrSV2</i>
			barc159	<i>LrG6</i>

Además, durante el desarrollo de esta tesis se encontró que la expresión del gen de resistencia en planta adulta *LrSV2*, previamente mapeado en el cromosoma 3BS por Ingala *et al.* (2012) dependía de la presencia del gen de resistencia *Lr12/31* localizado en el cromosoma 4BL (Tesis licenciatura, Camila Petignat 2010). Para identificar la presencia de este gen en las variedades donde fueron introgresados los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1* y *LrSV2* del RIL46, se utilizó el marcador asociado gwm149 (Singh & Bowden, 2010, Tesis licenciatura, Luciana Ferella, 2013) en las autofecundaciones del BC2.

En el caso de los SSRs utilizados en las introgresiones del brazo corto del cromosoma 2B (2BS) de Buck Manantial, se tuvo en cuenta para la selección

de los marcadores la distribución a lo largo del cromosoma de interés (**Tabla 6**).

Tabla 6: Marcadores localizados en el brazo cromosómico 2BS utilizados en los distintos cruzamientos. Bm corresponde a la variedad Buck Manantial. La columna 1 corresponde a los cruzamientos, las columnas 2 y 4 a los SSRs utilizados en las distintas generaciones y las 3 y 5 corresponden al cromosoma al cromosoma donde fue reportado el marcador asociado.

Cruzamiento	SSRs en BC1	Cromosoma	SSRs en BC2 y Autofecundación	cromosoma
Baguette9 x Bm	wmc597	2BS	wmc597	2BS
	barc18	2BS	barc18	2BS
	gwm374	2BS	gwm374	2BS
	gwm403	2BS	gwm403	2BS
ACA801 x Bm	wmc597	2BS	wmc597	2BS
	gwm148	2BS	gwm148	2BS
	gwm403	2BS	gwm403	2BS
	gwm374	2BS	gwm374	2BS
	gwm630	2BS	gwm630	2BS
	gwm257	2BS		
	barc124	2BS		
	gwm636	2BS		
B. Biguá x Bm	gwm257	2BS	gwm257	2BS
	gwm374	2BS	gwm374	2BS
	barc124	2BS	barc124	2BS
	gwm630	2BS	gwm630	2BS
BioINTA x Bm	wmc597	2BS	wmc597	2BS
	gwm148	2BS	gwm148	2BS
	gwm374	2BS	gwm374	2BS

Para la selección de fondo genético se utilizó un grupo de 380 marcadores SSRs que fue ensayado en las variedades R. Sirirí, Onix, ACA801, Baguette9, Buck Biguá, BioINTA, Buck Manantial y RIL46.

Se seleccionaron aquellos que presentaron polimorfismo entre la variedad comercial o recurrente y el donador con la intención de cubrir la mayor cantidad de brazos cromosómicos.

Para cada cruzamiento, en cada ciclo de retrocruza se utilizó un grupo de marcadores distintos. No se utilizaron los marcadores que no presentaban una buena diferencia entre los alelos parentales o sus productos de amplificación eran muy tenues y, en consecuencia, el análisis en una población con un alto número de individuos podría haber conllevado un alto error de clasificación (**Tablas 7 y 8**).

Tabla 7. SSRs utilizados por cromosoma en cada cruzamiento para marcar el fondo genético en las variedades donde fueron introgresados los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1* y *LrSV2* del RIL46.

	Onix		Relmó Sirirí x RIL46		KDE x RIL46		
	BC1	BC2	BC1	BC2	BC2 de la autofecundación del BC1		
Crom	Pr	Pr	Pr	Pr	Pr		
1AL		barc158	gwm135	gwm99	gwm99		
1AL		gwm99		barc158	barc158		
1AL		gwm135		barc213	gwm135		
1AS	gwm135	gwm357	gwm164		gwm164		
1AS	gwm164						
1BL	gwm259	gwm403		gwm153	gwm403		

1BS	gwm273		gwm273	psp3000	gwm273	gwm18	
1BS	gwm604			gwm18	gwm604		
1DL	wmc216		wmc216		gdm19		
1DS			wmc147		wmc147		
2AL		gwm47		gwm47	gwm328		
2AL		gwm382		gwm312	gwm554		
2AL		gwm312			gwm526		
2AS		gwm71	gwm558	barc212	barc212		
2AS		barc124	gwm636				
2BL	gwm120		gwm120	gwm388	gwm120		
2BS		barc18	gwm257	barc18	gwm429		
2BS		wmc597		wmc764	gwm299		
2BS		gwm374		wmc474	gwm319		
2DL	gwm382		gwm349		gwm349		
2DS		gwm296			gwm484		
3AL					gwm391		
3AS		gwm32			gwm133		
3AS		barc19			barc19		
3AS		gwm369			gwm369		
3BL	gwm247		gwm247		gwm247	barc206	barc292
3BL					gwm107	gwm383	
3BS	gwm389	gwm566	wmc69,1	wmc69	barc101		
3BS		wmc54	wmc78	wmc78	wmc54		
3BS		barc218		wmc54			
3DL		gwm52		gwm52	gwm114		
3DS	barc8			barc135			
3DS				barc8			
4AL	gwm350	gwm610	barc106	barc343	barc106	gwm350	
4AL					gwm610	gwm637	
4AS	barc106	gwm397			gwm397	gwm165	
4BL			gwm495	gwm513	gwm495	gwm314	
4BS					barc193		
4DL	barc334		wmc622				
4DL	gwm624						
4DS		barc308		barc308	gwm194	gwm192	
5AL	gwm293				gwm293	gwm126	
5AS					gwm304		
5BL			gwm604	gwm371	barc4		
5BL			gwm174				
5BL			gwm427				
5BL			gwm626				
5BL			gwm469		gwm469		
5BS					gwm544	gwm156	
5DL	gwm174			gwm174	gwm232		
5DS	barc130			barc130	gwm190	gwm540	
6AL		gwm427		gwm427			
6AL		gwm570		gwm570			
6AS	barc3	gwm334		barc3	gwm334		
6BL				gwm626	gwm626	gwm88	
6BL					barc178	gwm219	
6BS	gwm508			gwm508	gwm518		
6DL					barc21	gwm582	
6DS	gwm469				gwm55		
7AL	gwm332		gwm332		gwm332		
7AS		gwm573		gwm350	gwm276		
7BL	gwm146		gwm400				
7BS			gwm46		gwm46		
7DS					barc128		

Tabla 8. SSRs utilizados por cromosoma en cada cruzamiento para marcar el fondo genético en las variedades donde fue introgresado el brazo corto del cromosoma 2 (2BS)

	ACA801 x BM		Baguette9 x BM		B. Biguá x BM		Bio INTA x BM	
	BC1	BC2	BC1	BC2	BC1		BC1	BC2
	SSR	SSR	SSR	SSR	SSR	SSR	SSR	SSR
1AS	barc28	gwm357	barc28				barc28	gwm99
1AS	gwm357							
1AL			gwm135	barc213		gwm99		
1BS	gwm413	gwm413					psp3000	
1BS	gwm273	barc194					gwm273	
1BS	psp3000	psp3000		gwm264				
1BL			gwm403	gwm153		gwm259	gwm153	gwm259
1DS	wmc147	wmc147					wmc147	
1DL	barc169	wmc216	gwm642		gdm19			gwm642
1DL	gdm19	barc169	barc169	gdm19	wmc216		wmc216	barc169
1DL	gwm642				barc169			
1DL	wmc216							
2AS		barc5	barc212	gwm614	gwm636	gwm95		wmc630
2AS		gwm636		barc5		gwm614		
2AS							barc5	
2AL			gwm382	gwm312	barc309	gwm311	gwm312	gwm312
2AL						gwm312	gwm382	
2BS	barc160	gwm319		gwm382		barc160	gwm148	
2BS				barc18				
2BL	gwm120	gwm388	gwm388		gwm120	gwm120	gwm614	gwm614
2BL	gwm382	gwm130	gwm120			gwm388		gwm388
2BL	gwm388					gwm257		gwm120
2BL								gwm257
2DS		gwm296	gwm455		wmc25	gwm515	wmc630	gwm515
2DS		gwm261			gwm455	gwm296	gwm455	gwm296
2DS					barc124			
2DL	gwm349		gwm349	wmc18	gwm539	barc159	gwm349	barc159
2DL					gwm349	gwm382		
2DL						gwm157		
3AL	gwm247	gwm391	gwm155		gwm155	gwm674		
3AS		gwm369	barc19	gwm391	gwm674	gwm369	barc19	gwm369
3AS				gwm247				
3BL			gwm108				gwm299	gwm247
3BS	barc87	wmc78	gwm389	wmc54	barc218	wmc69	gwm285	wmc78
3B	gwm299				gwm69	gwm566		
3BS	gwm389							
3BS	wmc69							
3BL					gwm247			
3DS		barc8	barc135	barc135	barc8	barc8	barc8	gwm161
3DL		gwm645	gwm456	gwm314	gwm664		gwm645	
3DL				gwm52	gwm645			
3DL					gwm456			
4AL	gwm160	gwm160	gwm397	gwm160	gwm610		gwm160	gwm397
4AL		barc106	barc343	gwm601	barc106			
4AS	gwm165						gwm601	gwm165
4BL	gwm513	gwm495	gwm513		gwm165	gwm538	gwm107	gwm513
4BL					gwm513			gwm495
4BS			gwm368					
4DL		wmc622	gwm194		gwm624		gwm194	
4DL					wmc622			
4DS	gwm194	barc308	barc308	wmc622	barc308		barc308	gwm194
5AL	gwm126	gwm617	gwm617	gwm410	gwm126	gwm617	gwm617	
5AL					gwm617			
5AL					gwm291			
5AS			barc316		barc316	barc316	barc316	barc316
5BL	gwm604	wmc27	gwm604	gwm499	gwm604	gwm554	gwm499	gwm499
5BL			barc4	gwm371	gwm67	gwm544	gwm604	
5BL						gwm67	gwm371	
5BS	gwm540	gwm540			gwm540		gwm140	
5DL			gwm174	gwm272	gwm174		gwm174	

Para la introgresión de los genes de resistencia se realizaron cruzamientos de las variedades comerciales a mejorar con la línea donora correspondiente (RIL46 y la variedad Buck manantial). Se llevaron a cabo 2 retrocruzas. En cada ciclo se seleccionaron los genes de resistencia utilizando razas diferenciales de roya y marcadores asociados a los genes de resistencia o bien al brazo corto del cromosoma 2B.

Al final de cada ciclo se evaluó con marcadores el fondo genético de las plantas seleccionadas por parecido al padre recurrente, seleccionándose las progenies no solo por la evaluación del fondo genético sino que también se hizo una selección fenotípica. Al final de la última etapa se llevaron a homocigosis los genes de resistencia mediante autofecundación, se identificaron en las progenies con razas y marcadores y en la generación siguiente se evaluaron a campo en condiciones de infección natural.

i. Introgresión de los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1* y *LrSV2* del RIL46:

Se realizaron cruzamientos entre las variedades comerciales Klein Don Enrique, Onix y R. Sirirí, por la variedad donadora RIL46. Las F1 resultantes se retrocruzaron con las variedades comerciales respectivas, obteniéndose una población de individuos *BC1. La metodología de análisis consistió en evaluar los individuos BC1 de manera secuencial con una raza de roya que identificaba al gen de resistencia *LrG6* (**Tabla 3**), y luego con los marcadores gwm261 y gwm533, asociados a los genes de resistencia *LrSV1* y *LrSV2*, respectivamente, para identificar a los individuos heterocigotos para los mismos.

Una vez finalizada la selección de los individuos portadores de los genes de resistencia, se evaluó el fondo genético de las plantas BC1 seleccionadas utilizando marcadores para cada cromosoma y se seleccionaron los individuos con mayor parecido al padre recurrente o variedad comercial. Estos individuos fueron cruzados nuevamente con las variedades comerciales obteniéndose poblaciones BC2, sobre las cuales se repitió el proceso de selección anterior. Al final del proceso se autofecundaron las plantas selectas para llevar a estado de homocigosis los genes de resistencia, los cuales fueron identificados utilizando una raza diferencial de roya para el gen *LrG6* y luego los marcadores gwm261 y gwm533 ligados a los genes *LrSV1* y *LrSV2*, respectivamente.

Para confirmar el marcador barc159, recientemente descrito como asociado al gen *LrG6*, se evaluaron las plantas resistentes previamente seleccionadas con la raza de roya que lo identifica.

Las plantas homocigotas y más parecidas al padre recurrente (tanto por fondo genético como por parecido fenotípico) fueron seleccionadas y evaluadas en el campo experimental del IGEAF, bajo condiciones de infección natural. Se evaluaron en promedio 10 progenies de cada línea homocigota selecta.

En el caso particular de Klein Don Enrique, la selección de los genes de resistencia *LrSV1* y *LrSV2* en las poblaciones BC1 y BC2 se realizó mediante la utilización de dos AFLPs P31/M42 y P31/M37 respectivamente (López, Tesis de licenciatura 2007).

ii. Introgresión del brazo corto del cromosoma 2B de Buck Manantial

Se realizaron cruzamientos entre las variedades comerciales Baguette 9, Buck Biguá, ACA801 y BioINTA 1001, por la variedad donadora Buck Manantial. Las F1 resultantes se retrocruzaron con las variedades comerciales, obteniéndose individuos *BC1 que fueron evaluados de manera secuencial con una raza de roya que identificaba a uno de los genes de resistencia en plántula (*Lr16*) ubicado en el telómero del cromosoma 2BS. Las plantas seleccionadas se genotipificaron con un grupo de marcadores polimórficos codominantes localizados en distintas posiciones de acuerdo a los mapas disponibles del cromosoma 2BS, seleccionándose preferentemente marcadores telómicos, centroméricos y de la parte central del cromosoma para identificar a los individuos heterocigotos para los mismos.

Una vez finalizada la selección para el brazo 2BS de Buck Manantial, se evaluó el fondo genético de las plantas BC1 selectas utilizando marcadores para cada cromosoma y se seleccionaron los individuos con mayor parecido al padre recurrente o variedad comercial. Los individuos selectos fueron cruzados nuevamente con las variedades comerciales obteniéndose las poblaciones BC2 y se repitió de manera secuencial el proceso de selección anterior. Las plantas BC2 selectas fueron autofecundadas y sus progenies fueron analizadas con los marcadores polimórficos para cada cruzamiento que identificaban al 2BS, seleccionando aquellos individuos con la mayor cantidad de marcadores homocigotas para el tipo Buck Manantial. En estos cruzamientos el marcador wmc764, reportado como asociado al gen *Lr16* (Altieri *et al.* 2008), fue evaluado sobre las plantas portadoras del gen de resistencia seleccionadas con la raza de roya que lo identificaba para confirmar su asociación.

2.2.e. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Para validar los efectos de la acumulación de genes provenientes de variedades resistentes en variedades comerciales susceptibles se realizaron evaluaciones de campo bajo condiciones de infección natural, durante dos años.

Se evaluaron visualmente, en promedio 10 líneas de cada cruzamiento en el campo experimental del IGEAF. Se sembraron surcos de un metro, con 10-11 plantas de cada combinación por surco.

Para cada cruzamiento y sus progenitores se tomaron datos sobre el tipo de respuesta a la infección basado en la escala de Mains y Jackson (1926).

3. RESULTADOS

3.1 Desarrollo de mapas genéticos de mediana/alta resolución que incluyen a los genes de resistencia a roya de la hoja del trigo *LrSV1* y *LrG6*

3.1. a . Mapeo mapeo genético del gen *LrG6*

Para la búsqueda de nuevos marcadores asociados al gen *LrG6* se evaluaron inicialmente 50 SSRs públicos localizados en el cromosoma 2BL. Estos 50 marcadores fueron evaluados mediante BSA y 20 resultaron polimórficos no asociados, 23 no polimórficos y 7 no amplificaron (**Tabla 9**).

Tabla 9: Resultados obtenidos de las pruebas de BSA para el conjunto de marcadores anclados al cromosoma 2BL. NA: No amplifica.

Marcador	Condición	Marcador	Condición	Marcador	Condición	Marcador	Condición
wmc441	no asociado	barc147	no asociado	gwm133	no polimórfico	gwm630	no polimórfico
gwm332	no asociado	cfa2278	no asociado	gwm410	no polimórfico	gwm374	no polimórfico
wmc627	no asociado	barc16	no asociado	barc135	no polimórfico	wmc272	no polimórfico
wmc317	no asociado	barc115	no asociado	barc160	no polimórfico	wmc245	no polimórfico
cf73	no asociado	barc210	no asociado	gwm47	no polimórfico	gwm55	no polimórfico
cf267	no asociado	cf267	no asociado	gwm16	no polimórfico	gwm319	no polimórfico
gwm388	no asociado	gwm191	no asociado	barc139	no polimórfico	wmc265	no polimórfico
wmc361	no asociado	wmc500	NA	barc128	no polimórfico	barc101	no polimórfico
gwm120	no asociado	wmc51	NA	barc7	no polimórfico	gwm129	no polimórfico
gwm619	no asociado	wmc602	NA	barc13	no polimórfico	gwm129	no polimórfico
cf25	no asociado	wmc175	NA	barc91	no polimórfico	barc167	no polimórfico
barc1064	no asociado	barc221	NA	barc18	no polimórfico		
gwm526	no asociado	barc156	NA	gwm501	NA		

Debido a estos resultados, y que la ubicación cromosómica de los marcadores barc159 y gwm382 (Ingala *et al.* 2012), ligados al gen *LrG6*, no había sido confirmada en este ensayo se decidió reevaluar la ubicación del mismo mediante la utilización de la línea nuli2D-tetra2B de Chinese Spring. Esta evaluación sugirió que las bandas de los marcadores barc159 y gwm382, ligadas al gen *LrG6*, se localizaban en el cromosoma 2D y no en el 2B, dado que las bandas ligadas al gen *LrG6* se visualizaban en C. Spring, en los parentales de la población de mapeo pero no en la línea nuli2D-tetra2B de C. Spring. A partir de estos resultados se evaluaron entonces mediante BSA, 78 SSRs públicos reportados en ese cromosoma, de los cuales 61 resultaron no polimórficos, 12 polimórficos (7 no asociados y 5 asociados) y 5 no amplificaron (**Tabla 10**).

Tabla 10 Resultados obtenidos de las pruebas de BSA para el conjunto de marcadores anclados al cromosoma 2DL. NA: No amplifica.

Marcador	Condición	Marcador	Condición	Marcador	Condición	Marcador	Condición
barc11	no polimórfico	gpw354	no polimórfico	mag542	no polimórfico	wmc5163	no polimórfico
barc219	no polimórfico	gwm1027	no polimórfico	mag633	no polimórfico	wmc5239	no polimórfico
cfid168	no polimórfico	gwm1273	no polimórfico	wmc167	no polimórfico	wms1186	no polimórfico
cfid239	no polimórfico	gwm1325	no polimórfico	wms1235	no polimórfico	cfid156	no polimórfico
cfid270	no polimórfico	gwm1354	no polimórfico	Ksum44	no polimórfico	cfid161	no polimórfico
gpw308	no polimórfico	gwm1399	no polimórfico	Ksum45	no polimórfico	cfid44	no polimórfico
gpw338	no polimórfico	gwm1691	no polimórfico	Ksum174	no polimórfico	cfid62	no polimórfico
gwm991	no polimórfico	gwm1730	no polimórfico	cfid50	no polimórfico	barc143	no polimórfico
gwm157	no polimórfico	gwm3038	no polimórfico	cfid73	no polimórfico	barc228	no polimórfico
gwm311	no polimórfico	gwm4110	no polimórfico	gpw5237	no polimórfico	cfid193	no polimórfico
gwm320	no polimórfico	gwm4262	no polimórfico	gpw4474	no polimórfico	gpw2321	no polimórfico
gwm349	no polimórfico	gwm4820	no polimórfico	gpw5141	no polimórfico	stm731	no polimórfico
gwm608	no polimórfico	gwm739	no polimórfico	wms4685	no Asociado	stm36	no polimórfico
mag2120	no polimórfico	wmc18	no polimórfico	barc122	no asociado	gdm87	Asociado
mag299	no polimórfico	wmc181	no polimórfico	cfid267	no asociado	gdm93	Asociado
mag3080,2	no polimórfico	wmc243	no polimórfico	gdm6	no asociado	wms4828	Asociado
mag3616	no polimórfico	wmc445	no polimórfico	gwm4888	no asociado	wmc361	Asociado
mag4089	no polimórfico	wmc5041	no polimórfico	barc1095	no asociado	wmc817	Asociado
mag4059	NA	gpw5244	NA	gwm846	no Asociado		
wms4691	NA	stm9	NA	stm730	NA		

Los 7 marcadores asociados al gen *LrG6* fueron mapeados genéticamente en el cromosoma 2DL al evaluar la población de 274 RILs (**Figura 10**) (**Tabla Anexo 1**). Los marcadores asociados fueron gdm87, gdm93, wms4828, wmc361, y wmc817, que junto con barc159, y gwm382 fueron luego mapeados sobre 274 RILs del cruzamiento sinvaloch x gama 6 (**figura 10**). En este nuevo mapa, el gen *LrG6* quedó delimitado en un intervalo de 2 cM., con el marcador barc159 distal a 1 cM y el marcador gdm87 proximal a 1 cM. Mientras que para los marcadores gwm382 y wmc817 las distancias fueron 3,3 cM y 7,3cM proximal, respectivamente. En cuanto a los marcadores Wms4828, wmc361 y gdm93 las distancias fueron 2,2cM, 7.7cM y 13,4cM distal, respectivamente.

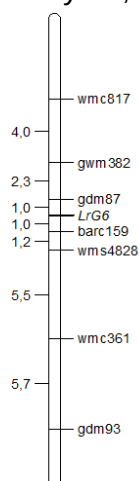


Figura 10: Localización del gen *LrG6* de resistencia en plántula en el cromosoma 2DL. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde XgdmX, XwmcX, Xbarc y los XgwmX son microsatélites.

i. Desarrollo de marcadores moleculares ligados al gen *LrG6* mediante la utilización de herramientas genómicas.

Para ampliar la búsqueda de marcadores asociados al gen *LrG6* se realizó un estudio sobre secuencias parciales de ADN del brazo cromosómico. Considerando los estudios de sintenia publicados, la región cromosómica donde se encontraría el gen *LrG6* sería sinténico con el cromosoma 5 de *B. distachyon* (*The International Brachypodium Initiative*). Teniendo en cuenta esta información se realizó un alineamiento local de las secuencias de los *primers* de los SSRs previamente asociados al gen de resistencia *LrG6* (barc159 y gwm382), sobre los ensamblados parciales del brazo 2DL en el repositorio de secuencias correspondientes al proyecto de secuenciación del genoma de trigo IWGSC. Como resultado de este alineamiento se identificaron 2 *contigs*, que fueron utilizados para realizar una búsqueda usando BLAST contra secuencias de *B. distachyon* alojadas en los servidores de *Gramene* (gramene.org), *Phytozome* (phytozome.org) y *Plants Ensembl* (plants.ensembl.org) identificándose 1 transcripto para el *contig* correspondiente al marcador gwm382 y una región no codificante para el marcador barc159, en el cromosoma 5 consistente con la sintenia encontrada con el cromosoma 2 de trigo (*International Brachypodium Initiative*, 2010). Se delimitó una región comprendida por el transcripto Bd5g26812 para gwm382 y el transcripto Bd5g27110, reportado como telomérico por Masaru Iwata y Shimizu *et al* (2012). Dentro de esta región se identificaron 51 secuencias de transcriptos, con las cuales se procedió a un nuevo alineamiento sobre los ensamblados parciales del brazo cromosómico de trigo 2DL identificando 81 *contigs* adicionales de trigo (**Tabla Anexo 2**). Finalmente con las secuencias de los *contigs* identificados en trigo, se realizó una búsqueda de regiones variables, fundamentalmente de microsatélites y mutaciones puntuales (SNPs), mediante el programa WEBSAT, diseñándose 42 *primers* para repeticiones de SSRs (**Tabla anexo 3**). Teniendo en cuenta las características de los primers y secuencias repetitivas sólo fueron ensayados 16 marcadores mediante BSA, de los cuales 1 no amplificó, 13 resultaron no polimórficos, y 2 asociados (FSs53, FSs30) a la resistencia que fueron posteriormente mapeados en la población de RILs.

Con los 7 marcadores asociados mencionados más arriba (gdm93, gwm382, gdm87, FSs53, barc159, FSs30, wmc817, wms4828*,*=MTA) y los 2 marcadores desarrollados con herramientas genómicas (FSs53, FSs30) se construyó un nuevo mapa genético mediante el programa Cartagene con un Lod de 3 y una distancia máxima de 30 cM, utilizando una población de 274 RILs derivados del cruzamiento Sinvaloch X Gama6. En este mapa, el gen *LrG6* quedó delimitado en un intervalo de 3,6 cM, con el marcador FSs30 completamente ligado (**Figura 11**). Mientras que para los marcadores barc159, gdm87, gwm382 y gdm93 las

distancias fueron 0,6 cM, 2,4cM, 6,1cM y 14,5cM proximal, respectivamente. En cuanto a los marcadores wmc817 y FSs53 las distancias fueron 3 cM y 6,6 cM distal, respectivamente.

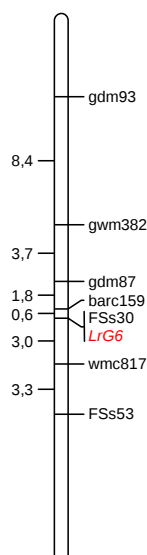


Figura 11: Localización del gen *LrG6* de resistencia en plántula en el cromosoma 2DL. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde XgdmX, XwmcX, Xbarc y los XgwmX son microsatélites y FSsX corresponde a los marcadores diseñados en esta Tesis.

3.1. b. Desarrollo de marcadores moleculares y mapeo genético del gen *LrSV1*

Para la búsqueda de nuevos marcadores asociados al gen de resistencia *LrSV1* se evaluaron 87 SSRs públicos localizados en el cromosoma 2DS (**Tabla 11**).

Cabe mencionar que la localización del gen *LrSV1* fue confirmada en base a evaluaciones usando líneas ditelo y nulitetrasómicos para el cromosoma 2DS (Ingala *et al.* 2012). Se evaluaron 87 marcadores de los cuales 36 resultaron no polimórficos, 41 polimórficos y 10 no amplificaron. De los 41 polimórficos 9 marcadores resultaron asociados a la resistencia en las pruebas de BSA.

Tabla 11: Resultados obtenidos de las pruebas de BSA para el conjunto de marcadores anclados al cromosoma 2DS. NA: No amplifica. * Confidencial/ MTA

Marcador	condición	Marcador	condición	Marcador	condición	Marcador	condición
Xib100	no polimórfico	Dg236	no polimórfico	barc168	no asociado	wmc112	no asociado
Xib128	no polimórfico	DG244	no polimórfico	barc230	no asociado	wmc149	no asociado
Xib66	no polimórfico	DG260	no polimórfico	barc297	no asociado	wmc167	no asociado
Xib87	no polimórfico	gpw2088	no polimórfico	barc95	no asociado	wmc18	no asociado
Xib89	no polimórfico	gwm815*	no polimórfico	cf11	no asociado	wmc431	no asociado
Xib90	no polimórfico	gwm886*	no polimórfico	cf116	no asociado	wmc453	no asociado
Xib91	no polimórfico	gwm102	no polimórfico	cf02	no asociado	wmc630	no asociado
Xib99	no polimórfico	gwm1418	no polimórfico	cf65	no asociado	gwm4830*	no asociado
barc124	no polimórfico	gwm157	no polimórfico	gdm19	no asociado	gwm4739*	no asociado

barc90	no polimórfico	gwm210	no polimórfico	gpw332	no asociado	gwm721*	no asociado
cf160	no polimórfico	gwm249	no polimórfico	gpw4080	no asociado	wmc11	no asociado
cf36	no polimórfico	gwm515	no polimórfico	gpw5176	no asociado	gwm539	no asociado
cf43	no polimórfico	gwm614	no polimórfico	gwm1099*	no asociado	gwm484	no asociado
cf77	no polimórfico	gwm702*	no polimórfico	gwm4893*	no asociado	gwm4515*	no asociado
DG072	no polimórfico	mag277	no polimórfico	gwm112	no asociado	gwm4775*	no asociado
DG086	no polimórfico	mag3589	no polimórfico	gwm113	no asociado	gwm358	no asociado
DG087	no polimórfico	wmc111	no polimórfico	cf255	NA	cf48	NA
gwm4815*	no polimórfico	wmc470	no polimórfico	gpw361	NA	cf56	NA
cf53	Asociado	gwm296	asociado	gwm30	NA	gwm37	NA
gdm35	Asociado	gwm455	asociado	gdm107	NA	barc145	NA
gdm5	Asociado	wmc25	asociado	gdm77	NA	cf17	NA
gwm261	Asociado	wmc 503	asociado	cf51	asociado		

Los marcadores asociados fueron cfd51, gdm35, gdm5, gwm455, gwm296, gwm261, wmc503, cfd53 y wmc25, que fueron luego mapeados sobre 274 RILs del cruzamiento Sinvaloch x Gama 6 (**Figura 12**) (**Tabla Anexo 4**). En este nuevo mapa, el gen *LrSV1* quedó delimitado en un intervalo de 3,1 cM, con el marcador gwm296 distal a 0,4cM y el marcador gwm261 proximal a 2,7 cM.

Mientras que para los marcadores gdm5, gwm455, gdm35 y cfd51 las distancias fueron 2,4cM, 4,5cM, 9,7cM y 15,5cM proximal, respectivamente. En cuanto a los marcadores cfd53, wmc503 y wmc25 las distancias fueron 6,4 cM, 10cM y 16,5 cM distal, respectivamente.

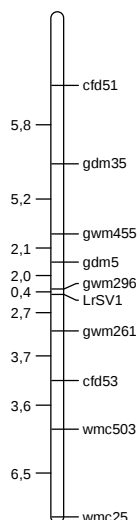


Figura 12: Localización del gen de resistencia en planta adulta denominado provisoriamente *LrSV1* en el cromosoma 2DS. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde XgdmX, XwmcX, Xbarc y los XgwmX son microsatélites.

i.Desarrollo de marcadores moleculares ligados al gen *LrSV1* mediante la utilización de herramientas genómicas.

Con las secuencias de los marcadores flanqueantes del gen *LrSV1* se realizó un alineamiento sobre ensamblados parciales del cromosoma 2D de trigo, lo que permitió identificar 1 *contig* con el marcador gdm5, 1 *contig* con el marcador gwm296 y ninguno para el marcador gwm261. Para este último, como se mencionó en Materiales y Métodos, se realizó una selección indirecta usando el marcador DG087 asociado al gen de enanismo Rht8, el cual se encuentra en un grupo de ligamiento estrechamente ligado (0,6cM) al marcador gwm261 (Gasperini *et al.* 2012), lo que permitió seleccionar un *contig* para este marcador. Con los 3 *contigs* identificados en los ensamblados parciales del cromosoma 2D de trigo se realizó un BLAST en distintas bases de datos de secuencias correspondientes al cromosoma 5 de *Brachypodium distachyon*. Se identificaron secuencias correspondientes a 3 transcritos de *B. distachyon* (B5g02480 para el marcador el marcador gdm5, Bd5g02830 para el marcador gwm296 y Bd5g02980 para el marcador DG087) que delimitaron una región en el cromosoma 5 de esa especie, consistente con la sintenia encontrada con el cromosoma 2D de trigo (International Brachypodium Initiative, 2010). En la región (delimitada por los transcritos Bd5g 02480 y Bd5g02980) se identificaron 35 transcritos con los cuales se procedió a un nuevo alineamiento sobre los ensamblados parciales correspondientes al cromosoma 2DS de trigo, identificándose finalmente 45 *contigs*. Paralelamente, los transcritos de *B. distachyon* se analizaron contra bases de datos de secuencias de especies cercanas como *Hordeum vulgare*, *Oryza sativa* y *Sorghum bicolor*. Se utilizaron 5 transcritos de *O. sativa*, se procedió a un nuevo alineamiento sobre los *contigs* anclados a los brazos del cromosoma 2 de trigo identificándose 7 *contigs*. Sobre esta selección de 52 *contigs* de trigo en total (**Tabla Anexo 5**) se realizó la identificación de regiones variables utilizando el software WEBSAT (Martins *et al.* 2009) para identificación de motivos de microsatélites, diseñándose finalmente 19 pares de *primers* de SSRs (**Tabla anexo 6**), que fueron evaluados por su asociación con la resistencia mediante BSA. De los 19 microsatélites 17 resultaron monomórficos y uno, el FSs70, resultó asociado en las pruebas de BSA y consiguientemente fue mapeado en la población de 274 RILs, formando un grupo de ligamiento con los 9 marcadores mencionados más arriba. El marcador FSs70 mapeó a 1,4 cM proximal al gen *LrSV1*, determinando un intervalo de 1,8 cM con el marcador distal gwm296 (**Figura 13**).

Mientras que para los marcadores gdm5, gwm455, gdm35 y cfd51 las distancias fueron 2,3cM, 4,4cM, 9,6cM y 15,4cM proximal, respectivamente. En cuanto a los marcadores gwm261, cfd53, wmc503 y wmc25 las distancias fueron 3,8 cM, 7,6 cM, 11,2 cM y 17,8 cM distal, respectivamente.

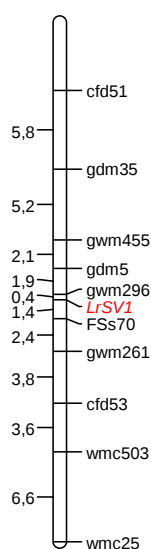


Figura 13: Localización del gen de resistencia en planta adulta denominado provisoriamente *LrSV1* en el cromosoma 2DS. A la izquierda se muestran las distancias genéticas (cM). A la derecha se muestra la posición de los marcadores, donde XgdmX, XwmcX, Xbarc y los XgwmX son microsatélites y FSsXX corresponde a los marcadores diseñados en esta Tesis.

3.2 Introgresión de genes de resistencia y selección del fondo genético

La introgresión de genes de resistencia y selección del fondo genético en las variedades comerciales se realizó según el esquema descrito en el apartado 2.2.d (Figura 9), a excepción del apartado 3.2.3, que allí se detalla.

En todos los casos, para la selección del fondo genético se tuvieron cuenta las evaluaciones con los marcadores moleculares así como también se consideró el parecido fenotípico con el padre recurrente, razón por la cual en los distintos cruzamientos se pueden observar individuos que no fueron seleccionados a pesar de presentar mayores porcentajes de genoma recurrente (GR%)

3.2.1 Introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* en la variedad comercial Onix

A partir de 10 plantas F1 del cruzamiento ONIX x RIL46 se obtuvieron 198 plantas BC1 de las cuales 94 resultaron resistentes a la infección con la raza de roya Ma07 Bg9 que identifica al gen *LrG6* (χ^2 1:1, $p=0.47$). Posteriormente las plantas portadoras del gen *LrG6* fueron evaluadas con los marcadores Xgwm261 y Xgwm533, asociados a los genes *LrSV1* y *LrSV2* de planta adulta, respectivamente, y se seleccionaron 19 plantas heterocigotas portadoras de los tres genes de resistencia (Tabla Anexo 7).

Se evaluó el fondo genético de las 19 plantas selectas con 31 marcadores SSRs (Tabla Anexo 8) lo que permitió seleccionar 4 plantas para el BC2 con porcentajes de genoma recurrente (Onix) de 79-87% (Tabla 12) (Figura 14), considerando asimismo el parecido fenotípico con el padre recurrente.

Tabla 12 Análisis de los 31 microsatélites polimórficos entre los parentales RIL 46 y Onix ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas BC1 portadoras de los tres genes de resistencia. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Onix) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H) / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0)] \times 100)$

	5	13	26	30	37	39	40	53	58	62	64	65	67	71	78	79	83	94	36
CANT. 1	13	12	11	12	11	11	7	14	14	6	12	11	12	10	8	7	10	7	14
CANT. H	9	11	11	9	5	6	15	7	8	12	7	7	9	11	12	13	10	13	5
GR%	80	76	75	79	84	82*	66	83*	82	67	82	81	79*	74	70	68	75	68	87*

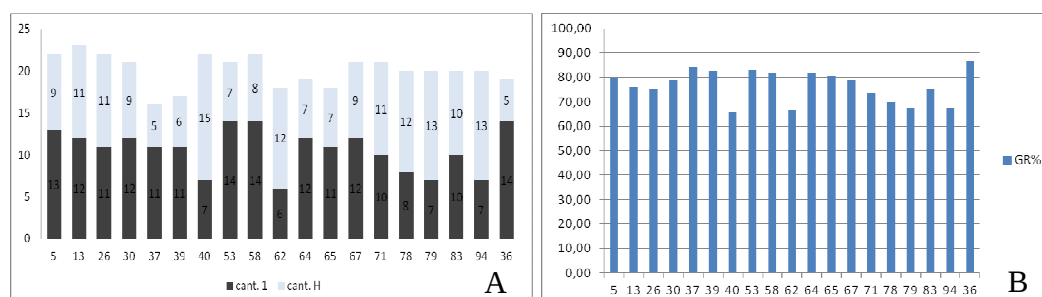


Figura 14. Gráfico de barras de la cantidad de marcadores en estado heterocigota y homocigota en los individuos seleccionados. A. "1" es homocigota para Onix, "H" es

heterocigota y "0" es homocigota para RIL46; B. porcentaje de genoma recurrente GR% de las plantas selectas.

Estas 4 plantas selectas en el BC1 se retrocruzaron con Onix obteniéndose 225 plantas BC2, de las cuales 124, resultaron portadoras del gen *LrG6* al ser evaluadas con la raza Ma07Bg9 (χ^2 1:1, $p=0.12$), y se evaluaron luego con los SSRs asociados genes a los genes *LrSV1* y *LrSV2* (Xgwm261 y Xgwm533, respectivamente), permitiendo seleccionar 22 plantas heterocigotas para los 3 genes de resistencia (**Tabla Anexo 9**).

Se analizó el fondo genético de las 22 plantas selectas con 29 SSRs (**Tabla Anexo 10**) seleccionandose finalmente 9 plantas con porcentajes de genoma recurrente que oscilaron entre el 85 y 96 % (**Tabla 13**) (**Figura 15**).

Tabla 13: Análisis de los 29 microsatélites polimórficos entre los parentales RIL 46 y Onix ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas BC2 portadoras de los tres genes de resistencia. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Onix) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR%= [cant 1+ (0.5 cant H)/(cant 1+cant H+cant 0)] x 100)

	7	8	14	15	16	17	20	26	46	54	56	62	73	75	81	85	87	118	124	136	138	141
CANT. 1	15	18	17	23	18	24	17	17	18	16	16	11	14	19	17	19	13	25	22	22	25	21
CANT. H	11	9	9	5	9	4	11	6	5	8	10	14	11	8	8	8	14	3	4	4	2	6
%GR	78,8	83,3	82,7	91,1*	83,3	92,9*	80,4	87*	89,1*	83,3	80,8	72	78	85,2	84	85,2*	74,1	94,6*	92,3	92,3*	96,3*	88,89*

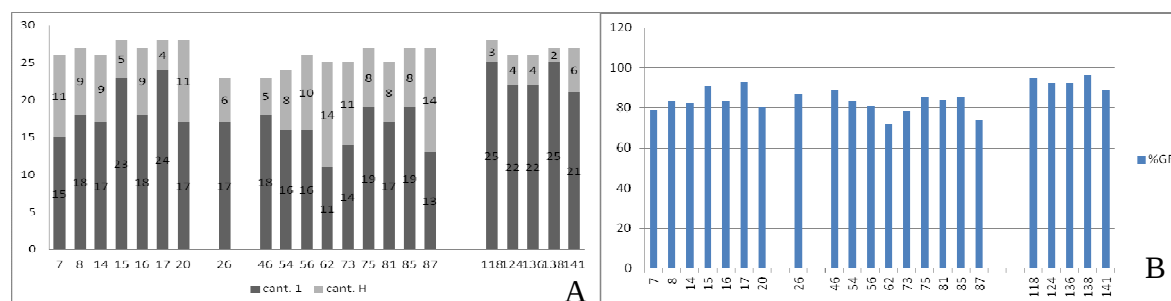


Figura 15. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para Onix, “H” es heterocigota y “0” es homocigota para RIL 46. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Estas 9 plantas fueron autofecundadas y se obtuvieron 1458 plantas de las cuales 387 resultaron resistentes a la infección con roya, por lo tanto portadoras del gen *LrG6* (χ^2 1:3, $p= 0.17$). A las plantas resistentes se las analizó con los SSRs asociados a los genes de resistencia *LrSV1* y *LrSV2* (Xgwm261 y Xgwm533, respectivamente). En este momento ya fue posible ensayar el marcador asociado al gen *LrG6*, *barc159*, ya que se encontraba disponible, sin que fuera necesario utilizar la raza de roya que lo identificaba. El análisis con los 3 marcadores, permitió seleccionar 19 plantas homocigotas para los marcadores asociados a los tres genes y 14 plantas homocigotas para dos genes y heterocigotas para uno de los genes (**Tabla Anexo 11**).

Las 34 plantas seleccionadas fueron evaluadas con el marcador *gwm149* asociado al gen de resistencia *Lr12/31* localizado en el cromosoma 4BL (**Tabla 14**), que ejerce un efecto complementario al gen *LrSV2* para la expresión de resistencia en planta adulta (Petignat, Tesis licenciatura, 2010; Ferella, Tesis licenciatura, 2013). En la **Figura 16** se muestran los marcadores asociados al gen *Lr12/31* y sus posiciones relativas en el mapa genético (Ferella, Tesis licenciatura 2013).

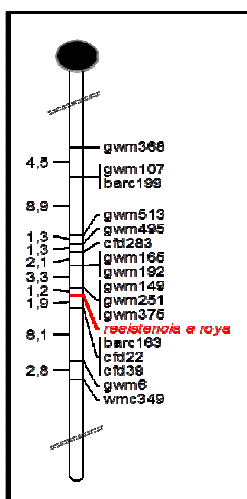


Tabla 14: Resultado del análisis de los 34 individuos selectos en la autofecundación del BC2 con el marcador *gwm149*, ligado al *Lr12/31*. Las columnas 1, 3, 5 y 7 indican número de individuo y la columna 2, 4, 6 y 8 el marcador analizado, donde 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, 0 tipo padre donante y H indica Heterocigota y 9 sin dato.

ind	Gwm149	ind	Gwm149	ind	Gwm149	ind	Gwm149
4	0	24	0	209	9	345	0
7	H	49	0	215	9	374	1
11	H	61	0	233	0	380	0
12	0	64	0	241	0	405	0
13	0	84	0	252	0	406	0
15	H	116	0	309	0	412	0
21	H	143	H	312	0	413	0
22	H	162	H	317	0	Onix	1
23	0	199	0	336	0	Ril46	0

Figura 16: Mapa genético del cromosoma 4BL donde mapeó el gen *Lr12/31*, construido a partir de una población de 100 RILs del cruzamiento Sinvaloch x Purplestraw. Se indica el centrómero con un círculo y a la izquierda la distancia en cM.

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 34 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original Onix (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 2 líneas resistentes y con fenotipo similar al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluadas

visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 17**):

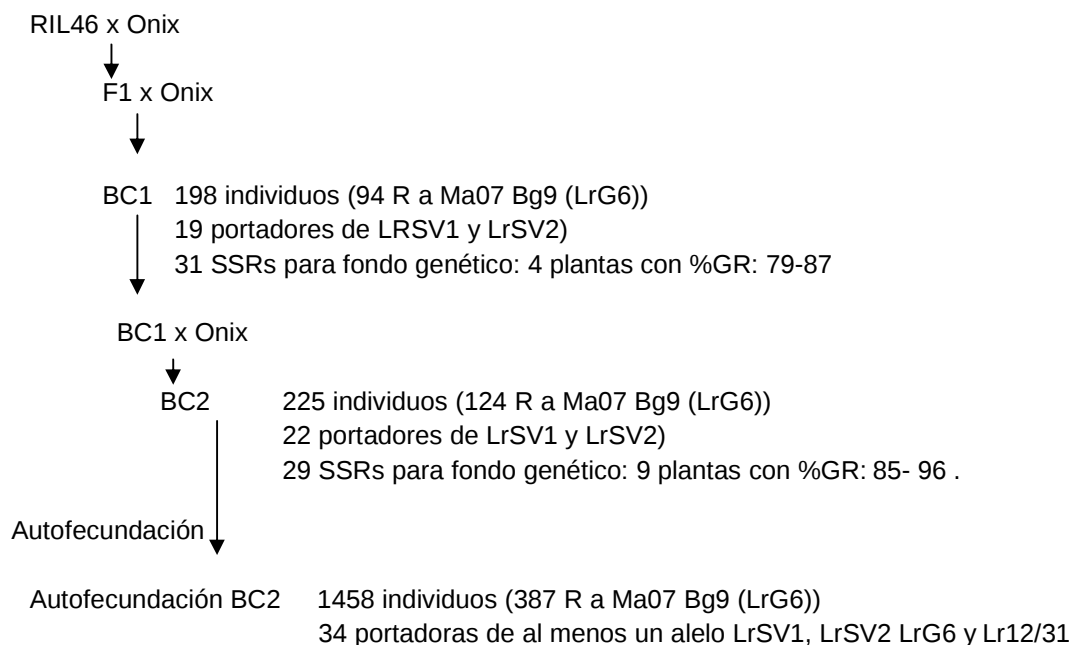


Figura 17. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión de los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1*, *LrSV2*. Se utilizó el donador RIL46I (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial Onix (susceptible)

En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores ligados a los genes de resistencia y los marcadores de selección de fondo genético.

En total, se realizaron dos retroruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Se confirmó además la presencia del gen *Lr12/31* en las 34 líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionaron 2 líneas.

3.2.2 Introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* en la variedad comercial Relmo Sirirí

A partir de 10 plantas F1 del cruzamiento Relmó Sirirí x RIL46 se obtuvieron 215 plantas BC1 de las cuales 106 resultaron resistentes a la infección con la raza Ma07 Bg9 (χ^2 1:1, $p= 0.84$) que identifica al gen *LrG6*. Estas plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores Xgwm261 y Xgwm533 ligados a los genes *LrSV1* y *LrSV2*, respectivamente y se seleccionaron 21 plantas portadoras de los 3 genes (**Tabla Anexo 12**).

A estas 21 plantas se les evaluó el fondo genético por parecido al padre recurrente R. Sirirí utilizando 23 marcadores microsatélites (**Tabla Anexo 13**), y se seleccionaron 2 plantas para el BC2 con porcentajes de genoma recurrente de 77-84% (**Tabla 15**) (**Figura 18**).

Tabla 15: Análisis de los 23 microsatélites polimórficos entre los parentales RIL 46 y R. Sirirí ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas BC1 portadoras de los tres genes de resistencia. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (R. Siriri) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = \frac{cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)}{cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0} \times 100$

	3	5	7	8	9	13	14	20	35	38	44	46	48	65	69	73	74	87	88	93	94
CANT. 1	12	7	9	5	5	11	14	12	15	12	13	12	12	15	10	13	7	12	13	8	10
CANT. H	10	14	15	15	18	13	11	12	7	10	8	8	11	9	11	12	16	8	9	15	13
GR%	77,27	66,67	68,75	62,5	60,9	72,92	78	75	84,09*	77,3	80,952*	80	76,1	81,25	73,8	76	65,217	80	79,55	67,4	72

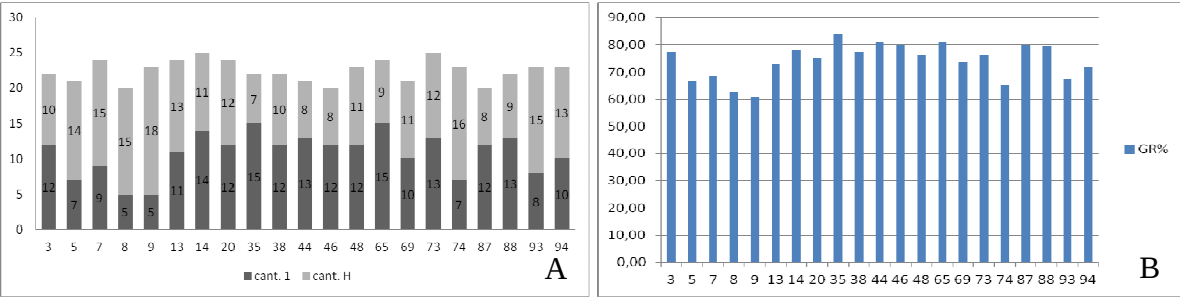


Figura 18. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para R. Sirirí, “H” es heterocigota y “0” es homocigota para RIL 46. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Estas dos plantas fueron cruzadas por Relmó Sirirí obteniéndose 143 plantas BC2 de las cuales 75 fueron resistentes a la infección con la raza Ma07Bg9 (χ^2 1:1, p= 0.56) y luego estas plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores Xgwm261 y Xgwm533 y se seleccionaron 16 plantas heterocigotas para los 3 genes de resistencia (**Tabla Anexo 14**).

Estas 16 plantas fueron evaluadas con 31 SSRs para evaluar el fondo genético (**Tabla Anexo 15**) y se seleccionaron finalmente 8 plantas con porcentajes de genoma recurrente de 84-97% que fueron autofecundadas (**Tabla 16**)(**Figura 19**).

Tabla 16: Análisis de los 31 microsatélites polimórficos entre los parentales RIL 46 y R. Sirirí ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas BC2 portadoras de los tres genes de resistencia Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (R. Sirirí) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR%= [cant 1+ (0.5 cant H)/(cant 1+cant H+cant 0)] x 100)

	12	18	24	26	28	37	45	56	65	69	71	72	74	75	76	77
cant. 1	25	24	21	22	18	19	19	26	22	25	23	26	24	24	28	22
cant. H	4	6	10	6	9	6	10	4	7	4	7	4	5	7	2	6
%GR	93	90*	84*	89*	83	88	83	93	88	93*	88	93*	91*	89	97*	89*

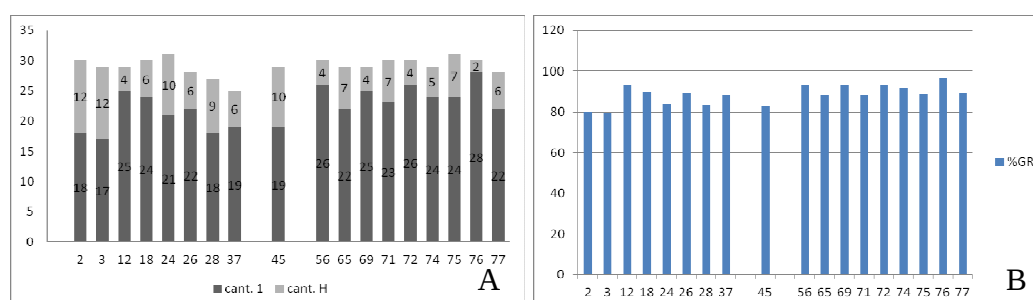


Figura 19. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para R. Sirirí, “H” es heterocigota y “0” es homocigota para RIL 46. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Se obtuvieron 997 plantas provenientes de la autofecundación de las 8 selectas, de las cuales 229 (χ^2 1:3, $p=0.14$) resultaron resistentes a la raza Ma07Bg9 y fueron evaluadas con los marcadores asociados a los genes *LrSV1* y *LrSV2*. También se confirmó la presencia del marcador *barc159* asociado al gen *LrG6* (**Tabla Anexo 16**). El análisis con los marcadores, permitió seleccionar 8 plantas homocigotas para los marcadores asociados a los tres genes y 8 plantas homocigotas para dos genes y heterocigotas para uno de los genes. Se identificó la presencia del gen *Lr12/31* en las 16 plantas selectas (**Tabla 17**).

Tabla 17: Resultados del análisis de los 16 individuos selectos en la autofecundación del BC2 con el marcador *gwm149*, ligado al *Lr12/31* del cromosoma 4BL (ver mapa en cruzamiento Onix x RIL46). Las columnas 1, 3, 5, 7 y 9 corresponden al número de individuo y las columnas 2, 4, 6, 8 y 10 corresponden al marcador, donde 1 indica homocigota tipo padre recurrente, 0 tipo padre donante y H indica heterocigota.

Ind	Gwm149	Ind	Gwm149	Ind	Gwm149	Ind	Gwm149	Ind	Gwm149
10	0	67	H	124	0	176	0	Relmo Sirirí	1
14	0	95	H	133	H	208	H	RIL46	0
47	H	100	0	144	0	226	H		
65	H	111	0	172	0	238	H		

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 16 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original R. Siriri (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 2 líneas resistentes y con fenotipo similar al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluadas visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 20**):

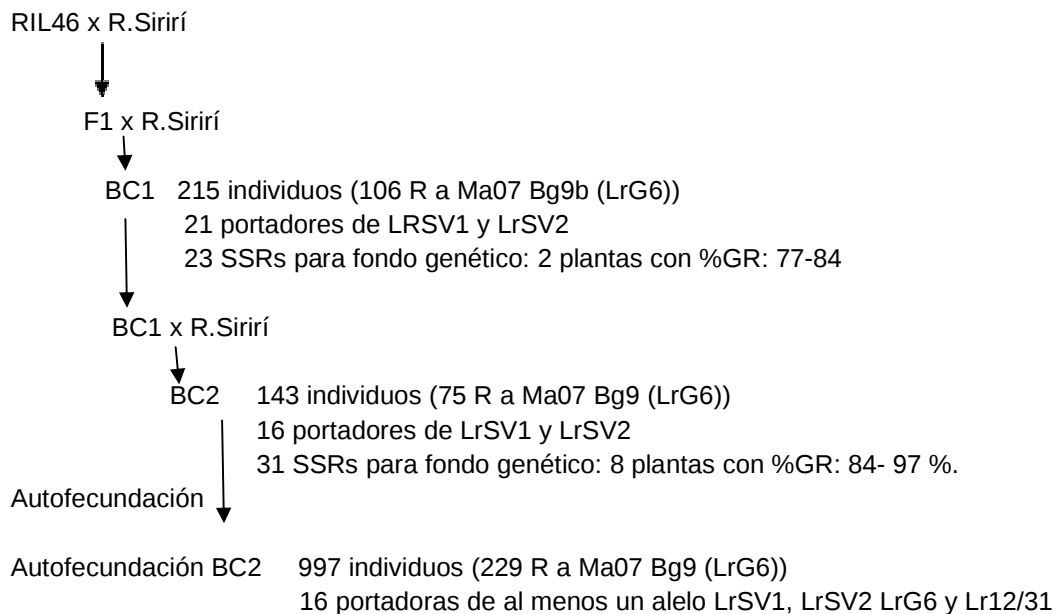


Figura 20. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión de los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1*, *LrSV2*. Se utilizó el donador RIL46 (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial R.Sirirí (susceptible)

En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores ligados a los genes de resistencia y los marcadores de selección de fondo genético. En total, se realizaron dos retrocruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Se confirmó además la presencia del gen *Lr12/31* en las 16 líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionaron 2 líneas.

3.2.3 Introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* en la variedad comercial Klein Don Enrique (KDE)

En este caso particular, se contaba con dos plantas portadoras de los genes de resistencia *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* que habían sido seleccionadas durante la tesis de Licenciatura de López (FCEN UBA, 2007).

Estas dos plantas provenientes de la autofecundación del BC1 de KDE X RIL 46, con parecidos del 71% y 65 % a KDE (Lopez, Tesis Licenciatura 2007), fueron retrocruzadas con KDE (BC2) y se obtuvieron 66 progenies. Al evaluar estas progenies con la raza Ca 04 KDE, que identifica al gen de resistencia *LrG6*, todas las plantas fueron resistentes. Las 66 progenies también fueron evaluadas con los marcadores *gwm533* y *gwm261*, ligados a los genes *LrSV2* y *LrSV1*, respectivamente, permitiendo seleccionar 21 plantas heterocigotas para los 3 genes de resistencia (13 provenientes de un BC2 y 8 del otro). Estos resultados indican que las 2 plantas usadas para el BC2 eran homocigotas para el gen de resistencia *LrG6* y heterocigotas para los genes *LrSV1* y *LrSV2* (χ^2 3: 1 p: 0,20).

Estas 21 plantas fueron evaluadas a campo frente a las poblaciones naturales de *P. triticina* en el IGEAF y también el fondo genético por su parecido a KDE con un mínimo 55 marcadores polimórficos (**Tabla Anexo 17**), seleccionándose 4 plantas con porcentajes de genoma recurrente de 93 al 96 (**Tabla 18**) (**Figura 21**) y un rango de respuesta de resistencia (R) a moderada resistencia (MR).

Tabla 18: Análisis de los 55 microsatélites polimórficos entre los parentales RIL 46 y KDE ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC2 de la autofecundación del BC1 portadoras de los tres genes de resistencia. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (KDE) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)] / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0)) \times 100$

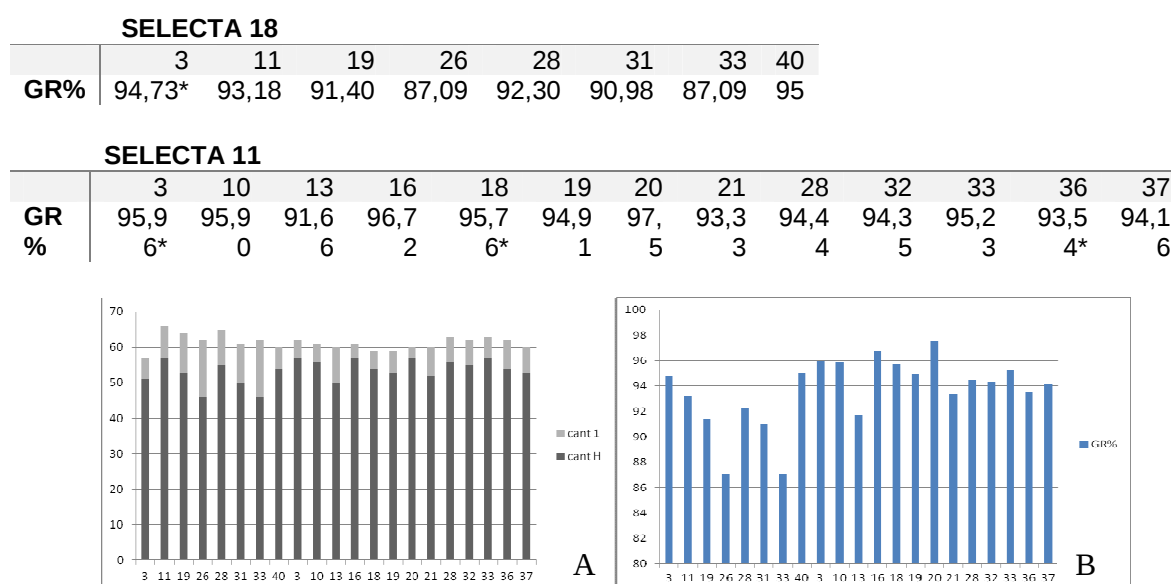


Figura 21. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: "1" es homocigota para KDE, "H" es heterocigota y "0" es homocigota para RIL 46. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Las 4 selectas fueron autofecundadas por dos generaciones y evaluadas con la raza Ca04KDE y los marcadores gwm533 y gwm261. Las pruebas de progenie de 55 plantas con la raza de roya permitieron identificar 16 familias homocigotas (tamaño promedio de las familias 12-13 plantas) resistentes para el gen *LrG6* (χ^2 1:2:1 $p=0,5-0,3$) de las cuales se seleccionaron 83 plantas que fueron evaluadas con los marcadores ligados a los genes de resistencia *LrSV1* y *LrSV2*, llegando a una selección final de 8 plantas homocigotas para los 3 genes de resistencia introgresados (χ^2 1:15 $p= 0,20$).

La variedad de trigo KDE es portadora del gen de resistencia *Lr26*, derivado de la translocación de centeno 1B/1R (Zeller *et al*, 1973). Se han reportado marcadores asociados para este gen de resistencia, como el SCAR dominante SCSS30.2

(Das, *et al* 2006), el cual fue ensayado en las progenies de las 8 plantas homocigotas selectas, permitiendo realizar una selección adicional de aquellos individuos portadores de al menos un alelo del gen *Lr26*.

Las ocho plantas seleccionadas fueron evaluadas asimismo con el marcador gwm149 asociado al gen de resistencia *Lr12/31* localizado en el cromosoma 4BL que complementa la expresión del gen de resistencia *LrG6* en planta adulta, permitiendo apilar en las mismas un total de 5 genes de resistencia.

Finalmente cabe mencionar que en las progenies de las 8 plantas selectas se ensayó y confirmó la asociación del marcador *barc159*, localizado en el cromosoma 2D con el gen de resistencia *LrG6*.

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 8 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original KDE (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente las 8 líneas resistentes y con fenotipo similar al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluadas visualmente).

3.2.4 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Bio INTA 1001

A partir del cruzamiento de Bio INTA 1001 por 10 individuos F1 del cruzamiento Bio INTA 1001 x Buck Manantial, se obtuvieron 308 plantas BC1. Estas plantas fueron ensayadas con el marcador molecular wmc764 que se encuentra asociado al gen de resistencia *Lr16*.

Además para seleccionar el resto del cromosoma 2BS de Buck Manantial se utilizaron los siguientes marcadores polimórficos: wmc597, gwm148 y gwm374, ubicados en los mapas genéticos a lo largo del brazo corto del cromosoma 2B. Se seleccionaron 22 plantas heterocigotas para distintas combinaciones de los marcadores (**Tabla Anexo 18**).

Estas 22 plantas selectas fueron analizadas con 29 marcadores al azar para evaluar el fondo genético del padre recurrente (**Tabla Anexo 19**), seleccionándose 6 plantas BC1 con porcentajes de genoma recurrente 78-85% (**Tabla 19**)(**Figura 22**), para realizar la retrocruza 2 (BC2).

Tabla 19: Análisis de los 29 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y BioINTA1001 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC1 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (BioINTA1001) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = \frac{cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)}{cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0} \times 100$

	41	48	52	71	84	86	96	103	128	130	136	144	167	170	173	180	184	191	248	257	266	278
CANT. 1	14	14	17	16	16	14	13	12	11	14	13	14	15	18	17	11	17	15	16	11	19	17
CANT. H	12	11	10	13	8	13	10	9	15	13	13	13	12	10	10	17	11	11	12	12	8	6
GR%	76,92	78*	81,5*	77,59	83,3*	75,926	78,26	78,6	71,2	75,926	75	75,93	77,78	82,14	81,481	69,64	80,36*	78,85	78,6	73,91*	85,2*	86,96

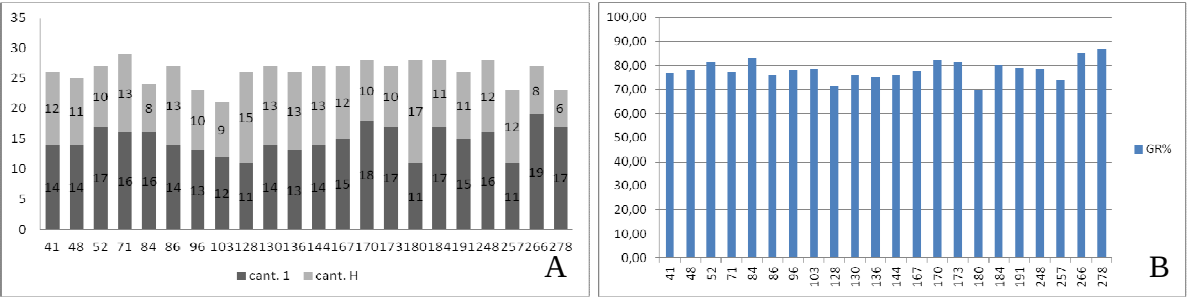


Figura 22. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: "1" es homocigota para BioINTA1001 "H" es heterocigota y "0" es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Del BC2 se obtuvieron 474 plantas. Estas plantas fueron ensayadas con el marcador molecular wmc764, que se encuentra asociado al gen de resistencia *Lr16*.

Además para seleccionar el resto del cromosoma 2BS de B Manantial se utilizaron los siguientes marcadores polimórficos: wmc597, gwm148 y gwm374, ubicados en los mapas genéticos a lo largo del brazo corto del cromosoma 2B. Se seleccionaron 22 plantas heterocigotas para distintas combinaciones de los marcadores (**Tabla Anexo 20**).

Se evaluó el fondo genético de las 22 plantas selectas por parecido al padre recurrente con 28 SSRs (**Tabla Anexo 21**), seleccionándose 10 plantas con un parecido de 83-90% (**Tabla 20**) (**Figura 23**) y posteriormente fueron autofecundadas .

Tabla 20: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y BioINTA1001 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC2 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (BioINTA1001) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR%= [cant 1+ (0.5 cant H)/(cant 1+cant H+cant 0)] x 100).

	5	60	69	129	131	153	174	263	270	306	310	313	332	335	338	340	342	376	405	420	453	501
CANT. 1	15	18	13	22	18	21	18	14	15	17	15	21	14	19	18	18	17	16	19	15	4	18
CANT. H	12	9	14	6	7	6	10	12	10	5	11	5	14	9	9	8	11	12	7	3	1	4
GR%	78	83,3*	74,1	89	86*	88,9*	82,1	77	80	88,6*	79	90*	75	83,9	83,3*	85*	80,4	79	86,54*	91,7	90*	90,91*

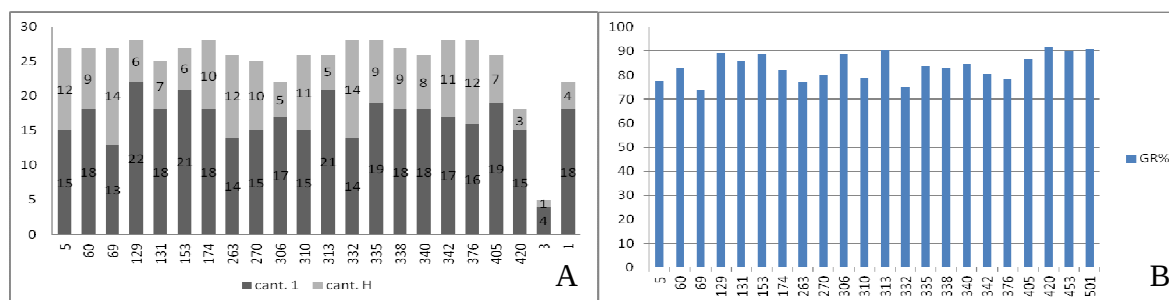


Figura 23. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para BioINTA1001 “H” es heterocigota y “0” es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

De la autofecundación de estas 10 plantas se obtuvieron 1734 plantas de las cuales 428 resultaron resistentes a la raza de roya que identifica al gen *Lr16* (χ^2 1:3 p=0.76). Las plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores moleculares del 2BS wmc764, wmc597, gwm148 y gwm374 y se seleccionaron 29 plantas con la mayor cantidad de marcadores homocigotas similares al padre resistente (Buck Manantial) (**Tabla Anexo 22**).

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 29 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original *BioINTA 1001* (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 4 líneas resistentes y con fenotipos similares al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluados visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 24**):

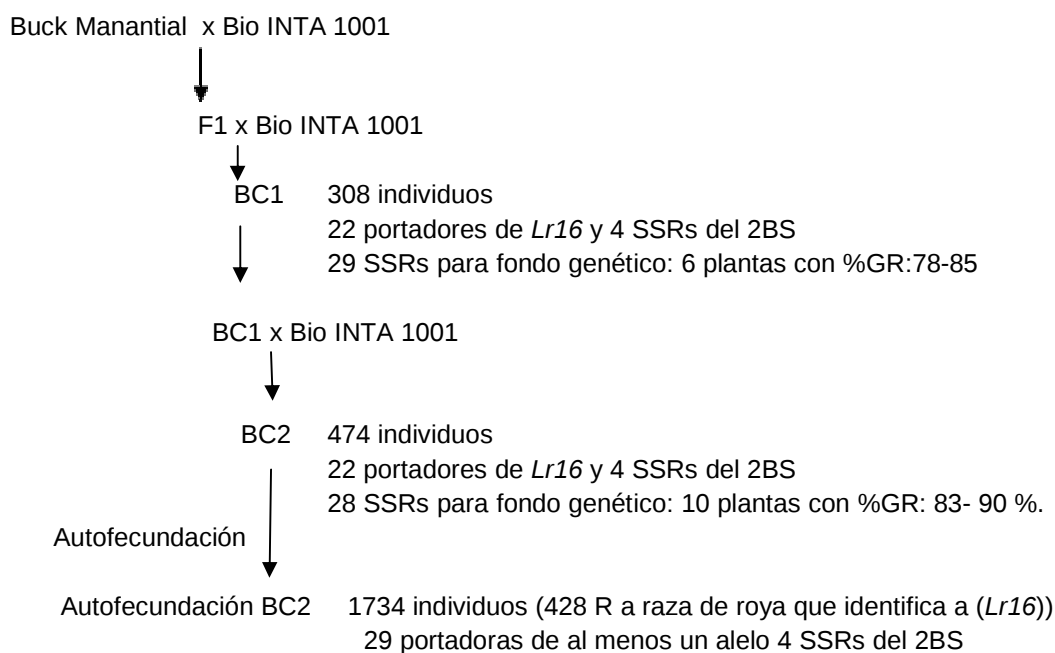


Figura 24. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión del cromosoma 2BS, que contiene a los genes BMP1, *Lr16* y *Lr13*. Se utilizó el donador Buck Manantial (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial Bio INTA 1001 (susceptible). En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores asociados al brazo corto del cromosoma 2 (2BS) y los marcadores de selección de fondo genético. En total, se realizaron dos retrocruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionaron 4 líneas.

3.2.5 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial ACA801

A partir del cruzamiento de ACA 801 por 10 individuos F1 del cruzamiento ACA801 x Buck Manantial, se obtuvieron 210 plantas BC1. Estas plantas fueron ensayadas con la raza de roya Ma07 Baguette9, que identifica al gen de resistencia *Lr16* localizado en el extremo distal del cromosoma 2BS, permitiendo seleccionar 94 plantas resistentes (χ^2 1:1 p=0.13). Para seleccionar el resto del 2BS de B Manantial se utilizaron los siguientes marcadores polimórficos: Xgwm257, Xgwm403, Xwmc597, Xbarc124, Xgwm636 y Xgwm630, ubicados en los mapas genéticos a lo largo del brazo corto. Se seleccionaron 22 plantas heterocigotas para distintas combinaciones de los marcadores (**Tabla Anexo 23**). El marcador wmc764 resultó heterocigota para las 22 plantas evaluadas ya que este marcador está asociado al gen de resistencia *Lr16*).

Estas 22 plantas selectas fueron analizadas con 22 marcadores al azar para evaluar el fondo genético del padre recurrente (**Tabla Anexo 24**), seleccionándose 2 plantas BC1 con porcentajes de genoma recurrente del 71-77 % (**Tabla 21**) (**Figura 25**), para obtener el BC2.

Tabla 21: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y ACA801 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC1 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (ACA801) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)] / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0) \times 100$

	2	4	10	12	14	16	20	31	34	42	45	59	65	67	77	79	81	93	94	11	17	97
CANT. H	7	8	14	11	9	7	11	12	15	12	11	10	14	6	12	9	14	12	15	17	12	3
CANT. 1	11	12	6	9	13	17	10	9	7	9	15	15	11	11	7	9	12	10	11	10	14	15
GR%	80,55	80	65	72,5	79,5	85,42	73,81	71,43	65,91	71,43	78,85	80	72	82,35	68,42	75	73,08	72,73	71,15*	68,5	76,9*	91,7

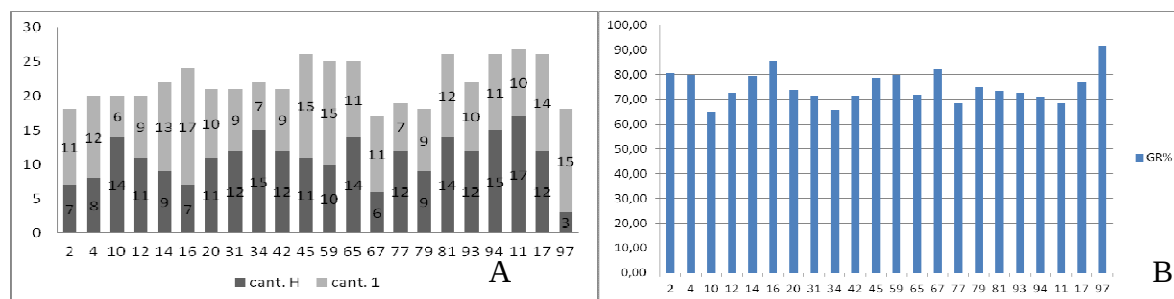


Figura 25. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: "1" es homocigota para ACA801 "H" es heterocigota y "0" es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Del BC2 se obtuvieron 303 plantas, de las cuales 139 plantas resultaron resistentes a la infección con roya Ma07 Baguette9 (χ^2 1:1 p=0.15) y heterocigotas para el análisis con el marcador wmc764. Estas plantas resistentes se evaluaron con los marcadores del 2BS: Xgwm148, Xgwm403, wmc597, Xgwm374 y Xgwm630 y se seleccionaron 22 plantas con entre 4 y 5 de los marcadores en estado heterocigota (**Tabla Anexo 25**) .

Se evaluó el fondo genético de las plantas selectas por parecido al padre recurrente con 29 SSRs (**Tabla Anexo 26**), seleccionándose 7 plantas con un con porcentajes de genoma recurrente (ACA801) de 80-86% (**Tabla 22**) (**Figura 26**) y posteriormente fueron autofecundadas.

Tabla 22: Análisis de los 29 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y ACA801 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC2 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (ACA801) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)] / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0) \times 100)$

	50	51	53	54	57	58	59	73	75	83	89	115	119	138	140	146	147	151	153	158	172	177
CANT. 1	14	14	16	16	18	16	20	17	15	16	18	14	15	17	17	16	15	14	18	17	13	15
CANT. H	13	13	13	11	8	9	8	12	14	12	10	9	12	12	10	10	13	14	10	10	16	11
GR%	75,9	75,9	77,6	79,6	84,6*	82*	85,7*	79,3	75,9	78,6	82,1*	80,4*	77,8	79,3	81,5*	80,8	76,8	75	82,1*	81,5	72,4	78,8

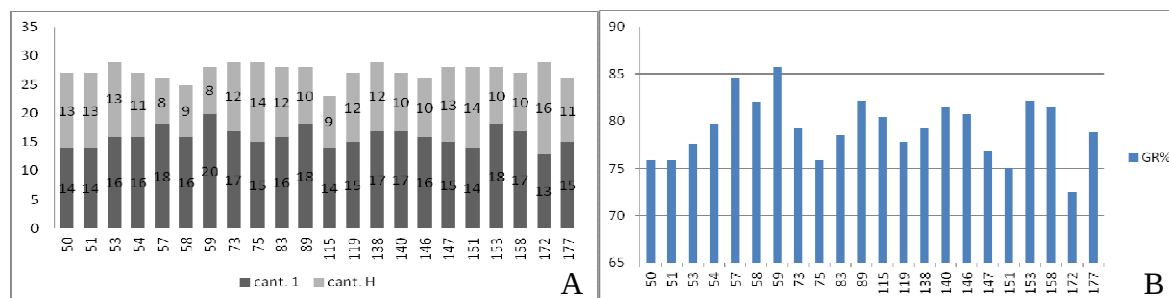


Figura 26. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para ACA801 “H” es heterocigota y “0” es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

De la autofecundación de las 7 plantas se obtuvieron 1115 plantas de las cuales 299 resultaron resistentes a la raza de roya que identifica al gen *Lr16* (χ^2 3:1 $p=0.16$). Las plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores moleculares del 2BS Xgwm630, Xgwm148, Xgwm374 y Xgwm403 (**Tabla Anexo 27**) y se seleccionaron 19 plantas con la mayor cantidad de marcadores homocigotas similares al padre resistente (Buck Manantial).

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 19 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original ACA801 (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 3 líneas resistentes y con fenotipos similares al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluados visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 27**):

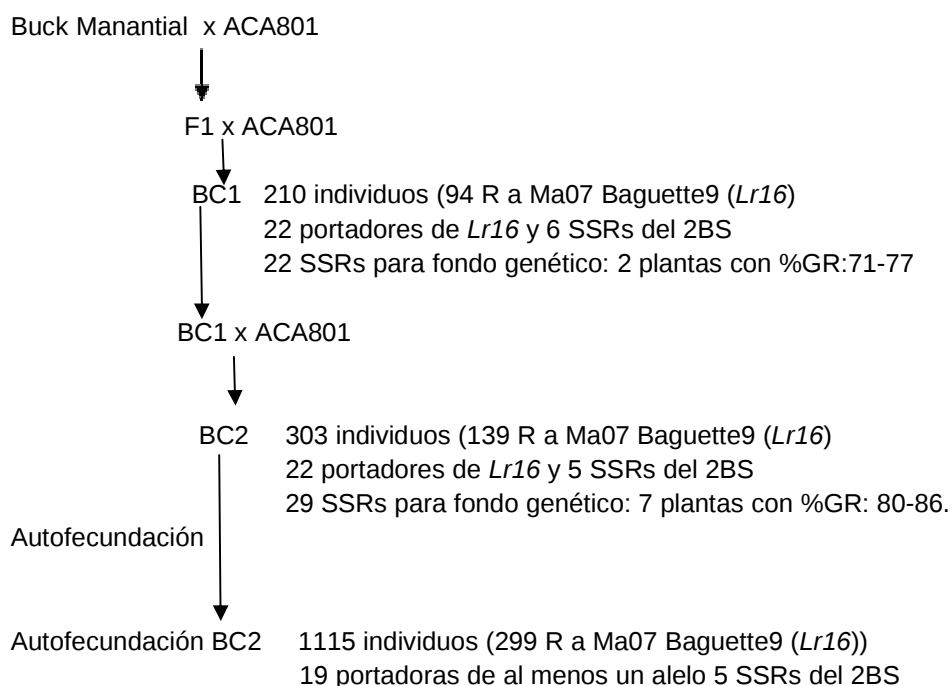


Figura 27. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión del cromosoma 2BS, que contiene a los genes BMP1, *Lr16* y *Lr13*. Se utilizó el donador Buck Manantial (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial ACA801 (susceptible)

En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores asociados al brazo corto del cromosoma 2 (2BS) y los marcadores de selección de fondo genético. En total, se realizaron dos retrocruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionaron 3 líneas.

3.2.6 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Baguette9

A partir del cruzamiento de Baguette9 por 10 individuos F1 del cruzamiento Baguette9 x Buck Manantial, se obtuvieron 138 plantas BC1. Estas plantas fueron ensayadas con la raza de roya Ma07 Baguette9, que identifica al gen de resistencia *Lr16* localizado en el extremo distal del cromosoma 2BS, permitiendo seleccionar 75 plantas resistentes (χ^2 1:1 $p=0.31$). Para seleccionar el resto del 2BS de B Manantial se utilizaron los siguientes marcadores polimórficos: Xwmc597, Xbarc18, Xgwm374 y Xgwm403 (**Tabla Anexo 28**), ubicados en los mapas genéticos a lo largo del brazo corto.

Se seleccionaron 22 plantas heterocigotas para distintas combinaciones de los marcadores. El marcador wmc764 resultó heterocigota para las 22 plantas evaluadas ya que este marcador está asociado al gen de resistencia *Lr16* y se usó como control.

Estas 22 plantas selectas fueron analizadas con 28 marcadores al azar para evaluar el fondo genético del padre recurrente (**Tabla Anexo 29**), seleccionándose 5 plantas BC1 con un parecido del 78-86 % con Baguette9 (**Tabla 23**) (**Figura27**), para realizar la retrocruza 2 (BC2).

Tabla 23: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y Baguette9 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC1 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS. Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Baguette9) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde ($GR\% = \frac{cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)}{cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0} \times 100$)

	2	9	15	16	18	21	25	30	31	38	44	45	46	47	48	54	56	57	58	66	72	73
CANT. 1	19	17	18	18	18	17	25	16	13	19	11	18	15	20	16	21	25	21	21	15	14	25
CANT. H	17	19	12	17	16	13	10	18	21	15	20	11	19	15	17	16	10	13	13	17	22	10
%GR	76,4	73,61	80	75,7*	76,47	78,33	85,71*	73,5	69,12	77,941*	68	81	72,06	78,6	74	78	86	80,9*	80,9	73	69,4	85,7*

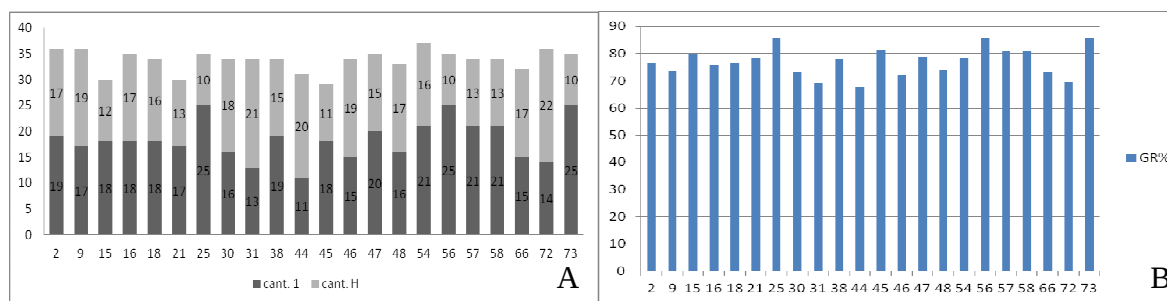


Figura 27: Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: "1" es homocigota para Baguette9 "H" es heterocigota y "0" es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Del BC2 se obtuvieron 337 plantas, de las cuales 177 plantas resultaron resistentes a la infección con roya Ma07 Baguette9 (χ^2 1:1 p=0.35). Estas plantas resistentes se evaluaron con los marcadores del 2BS: wmc597, barc18, Xgwm374 y Xgwm403 (**Tabla Anexo 30**) y se seleccionaron 19 plantas con entre 3 y 4 de los marcadores en estado heterocigota. El marcador wmc764 resultó heterocigota para las 19 plantas evaluadas ya que este marcador está asociado al gen de resistencia *Lr16*.

Se evaluó el fondo genético de estas selectas por porcentajes de genoma recurrente con 27 SSRs (**Tabla Anexo 31**), seleccionándose 8 plantas con porcentajes de genoma recurrente de 85-94% (**Tabla 24**) (**Figura 28**) y posteriormente fueron autofecundadas.

Tabla 24: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y Baguette9 ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC2 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS . Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Baguette9) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde ($GR\% = \frac{\text{cant } 1 + (0.5 \text{ cant } H)}{\text{cant } 1 + \text{cant } H + \text{cant } 0} \times 100$)

	4	12	13	14	16	19	30	31	37	53	56	59	60	141	152	153	166	168	171
CANT. 1	21	19	16	15	18	19	16	19	15	15	15	18	15	14	20	19	19	24	22
CANT. H	6	8	9	12	8	8	8	7	11	10	9	7	10	12	7	7	7	3	5
GR%	88,89*	85,2*	82	78	84,6	85,2	83,3	86,5*	78,85	80	81,3	86*	80	76,92	87*	86,5*	86,54	94,4*	90,7*

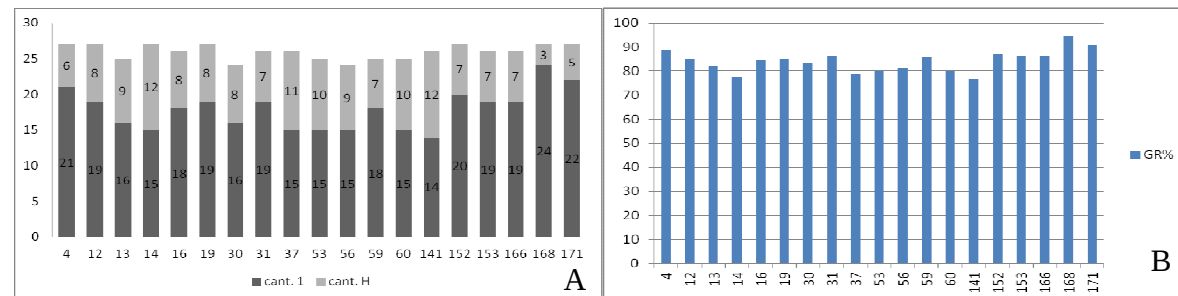


Figura 28. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para Baguette9 “H” es heterocigota y “0” es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

De la autofecundación de estas 8 plantas se obtuvieron 1997 plantas de las cuales 529 resultaron resistentes a la raza de roya que identifica al gen *Lr16* (χ^2 1:3, $p=0.12$). Las plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores moleculares del 2BS wmc764, wmc597, Xbarc18 y Xgwm403 (**Tabla Anexo 32**) y se seleccionaron 30 plantas con la mayor cantidad de marcadores homocigotas similares al padre resistente (Buck Manantial).

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 30 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original baguette 9 (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 1 línea resistente y con fenotipo similar al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluada visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 29**):

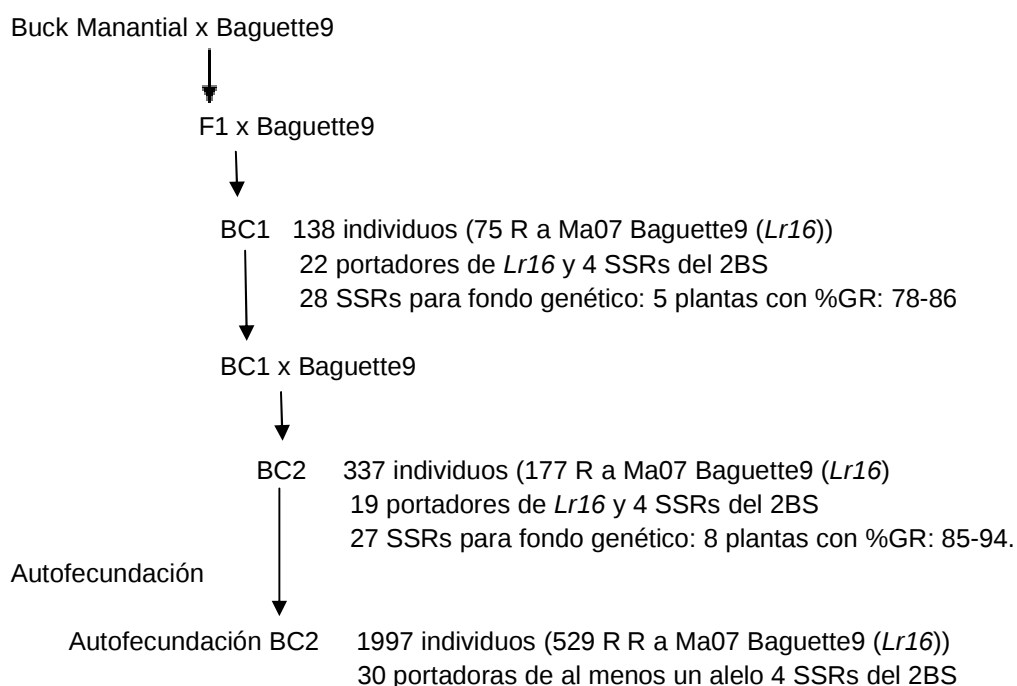


Figura 29. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión del cromosoma 2BS, que contiene a los genes *BMP1*, *Lr16* y *Lr13*. Se utilizó el donador Buck Manantial (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial Baguette 9 (susceptible). En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores asociados al brazo corto del cromosoma 2 (2BS) y los marcadores de selección de fondo genético. En total, se realizaron dos retrocruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionó una línea.

3.2.7 Introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Buck Biguá

A partir del cruzamiento de Buck Biguá por 10 individuos F1 del cruzamiento Buck Biguá x Buck Manantial, se obtuvieron 283 plantas BC1. Estas plantas fueron ensayadas con la raza de roya Bg07 Baguette9, que identifica al gen de resistencia *Lr16* localizado en el extremo distal del cromosoma 2BS, permitiendo seleccionar 139 plantas resistentes (χ^2 1: 1 p=0.77). Para seleccionar el resto del 2BS de B Manantial se utilizaron los siguientes marcadores polimórficos: gwm257, gwm374, barc124 y gwm630 ubicados en los mapas genéticos a lo largo del brazo corto. Se seleccionaron 19 plantas heterocigotas para distintas combinaciones de los marcadores (**Tabla Anexo 33**). El marcador wmc764 resultó heterocigota para las 22 plantas evaluadas ya que este marcador está asociado al gen de resistencia *Lr16*.

Estas 19 plantas selectas fueron analizadas con 34 marcadores al azar para evaluar el fondo genético del padre recurrente (**Tabla Anexo 34**), seleccionándose 5 plantas BC1 con porcentajes de genoma recurrente del 72-80% (**Tabla 25**) (**Figura30**), para realizar la retrocruza 2 (BC2).

Tabla 25: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y Buck Biguá ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC1 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS . Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Buck Biguá) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR%=[cant 1+ (0.5 cant H)/(cant 1+cant H+cant 0)] x 100)

	19	20	21	33	35	41	45	48	51	52	68	84	87	85	90	91	95	96	97	109	123	124
CANT. 1	19	17	11	15	18	20	15	12	17	16	15	19	15	15	17	20	14	19	16	17	13	19
CANT. H	14	16	23	16	15	13	19	21	17	17	19	13	18	17	15	14	18	13	17	15	20	14
GR%	78,79	75,76	66,18	74,19	77,27*	80,30	72,06	68,18	75,00	74,24	72,06*	79,69*	72,73	73,44	76,56	79,41	71,88	79,69*	74,24*	76,56	69,70	78,79

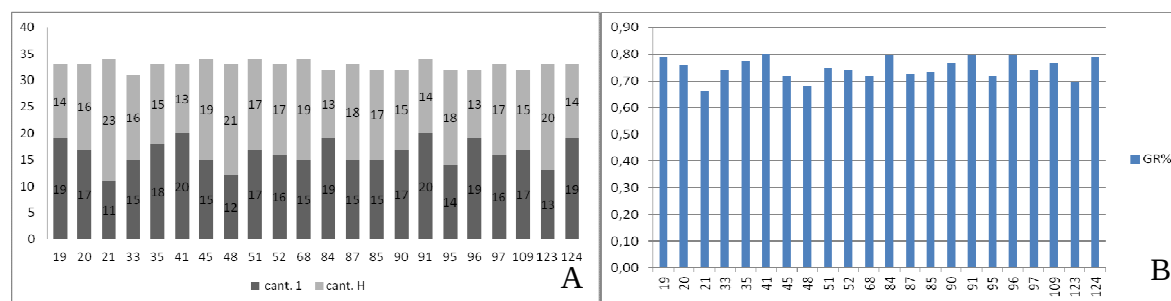


Figura 30. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para Buck Biguá “H” es heterocigota y “0” es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

Del BC2 se obtuvieron 409 plantas, de las cuales 207 plantas resultaron resistentes a la infección con roya Bg07 Baguette9 (χ^2 1:1 p=0.8). Estas plantas resistentes se evaluaron con los marcadores del 2BS: gwm257, gwm374, barc124 y gwm630 (**Tabla Anexo 35**) y se seleccionaron 22 plantas con entre 4 y 5 de los marcadores en estado heterocigota.

Se evaluó el fondo genético de estas selectas por parecido al padre recurrente con 33 SSRs (**Tabla Anexo 36**), seleccionándose 7 plantas con porcentajes de genoma recurrente 81-88% (**Tabla 26**)(**Figura 31**) y posteriormente fueron autofecundadas.

Tabla 26: Análisis de los 28 microsatélites polimórficos entre los parentales Buck Manantial y Buck Biguá ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente de las plantas selectas del BC2 portadoras de las distintas combinaciones de los marcadores del 2BS . Se muestra la cantidad de homocigotas (1) para la variedad comercial (Buck Biguá) y cantidad de Heterocigotas (H). La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR%= [cant 1+ (0.5 cant H)/(cant 1+cant H+cant 0)] x 100)

	10	11	32	34	40	47	64	70	75	85	91	109	122	123	175	182	183	190	192	201	204	205
CANT. 1	23	17	20	18	20	24	19	17	16	17	18	21	21	16	19	20	18	18	21	20	21	24
CANT. H	8	15	13	15	12	9	12	16	15	12	6	8	11	15	10	10	7	9	9	13	10	9
GR%	87,1	77	80,3	77,3	81*	86*	80,6	75,8	75,8	79	88*	86*	82,8	76	82,8	83,3	86*	83,3	85	80*	83,9*	86,4

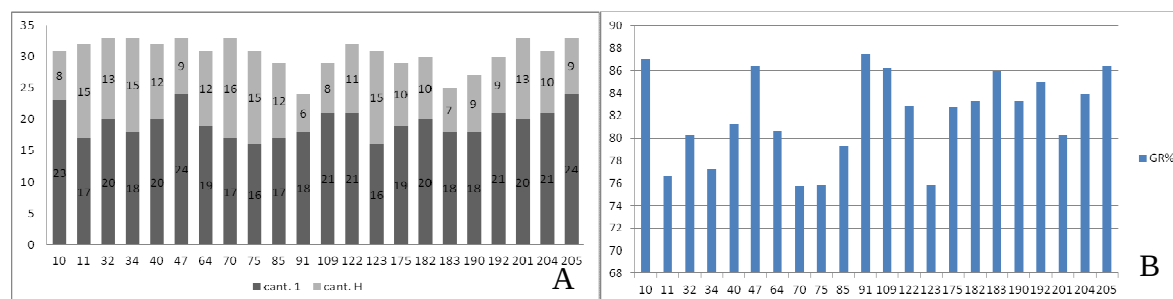


Figura 31. Gráfico de barras de la cantidad marcadores en estado heterocigota y homocigota en individuos seleccionados. A: “1” es homocigota para Buck Biguá “H” es heterocigota y “0” es homocigota para B. Manantial. B. Porcentaje de genoma recurrente GR% de los individuos seleccionados.

De la autofecundación de estas 7 plantas se obtuvieron 2214 plantas de las cuales 509 resultaron resistentes a la raza de roya que identifica al gen *Lr16* (χ^2 1:3 $p=0.32$). Las plantas resistentes fueron evaluadas con los marcadores moleculares del 2BS gwm257, gwm374, barc124 y gwm630 (**Tabla Anexo 37**) y se seleccionaron 21 plantas con la mayor cantidad de marcadores homocigotas similares al padre resistente (Buck Manantial).

i. Validación de la resistencia en las variedades introgresadas

Las progenies de estas 21 plantas selectas fueron sembradas en el campo experimental del IGEAF y evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original Buck Biguá (control) y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural. Se seleccionaron finalmente 4 líneas resistentes y con fenotipos similares al control susceptible (altura, forma de espiga y morfología foliar evaluados visualmente). A continuación se muestra un esquema resumido del proceso de introgresión y selección (**Figura 32**):

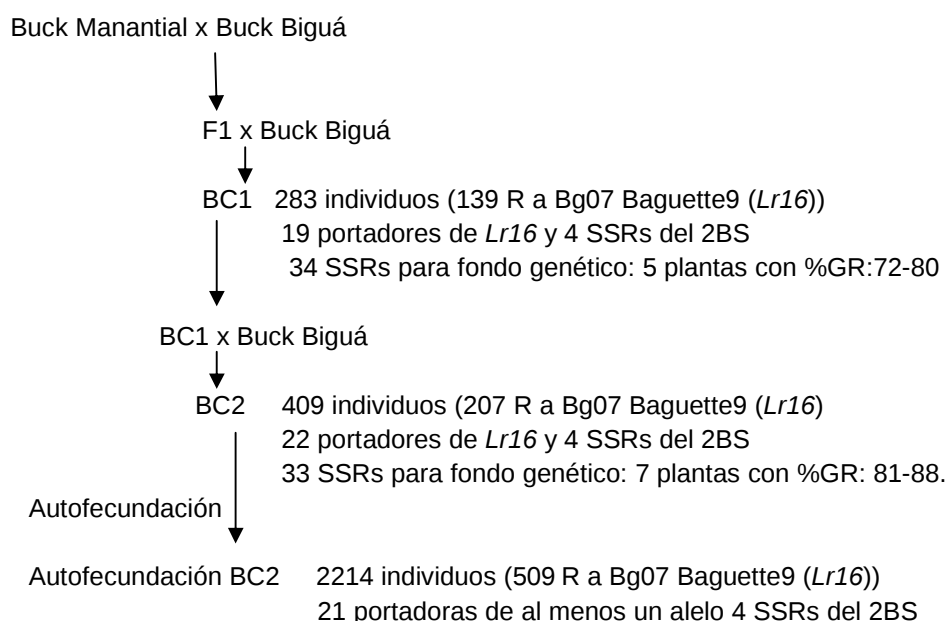


Figura 32. Esquema de la introgresión asistida por marcadores, para la introgresión del cromosoma 2BS, que contiene a los genes BMP1, *Lr16* y *Lr13*. Se utilizó el donador Buck Manantial (resistente) y como padre recurrente a la variedad comercial Buck Biguá (susceptible). En las retrocruzas se utilizaron dos grupos de marcadores: los marcadores asociados al brazo corto del cromosoma 2 (2BS) y los marcadores de selección de fondo genético. En total, se realizaron dos retrocruzas y una autofecundación para obtener las líneas introgresadas. Finalmente, luego de la validación de la resistencia se seleccionaron 4 líneas.

Finalmente, cabe mencionar que se validó el marcador molecular Wmc764 ligado al gen *Lr16* (Altieri *et al*, 2008) para las introgresiones cuyo parental donador era Buck Manantial. Se comprobó que todos aquellos individuos selectos que eran resistentes a la raza de roya que identifica al gen *Lr16* presentaban el mismo alelo que el parental resistente.

En las **Figuras 33 y 34** se muestran ejemplos del aspecto de las líneas selectas a campo y el detalle de la infección en el recuadro superior derecho

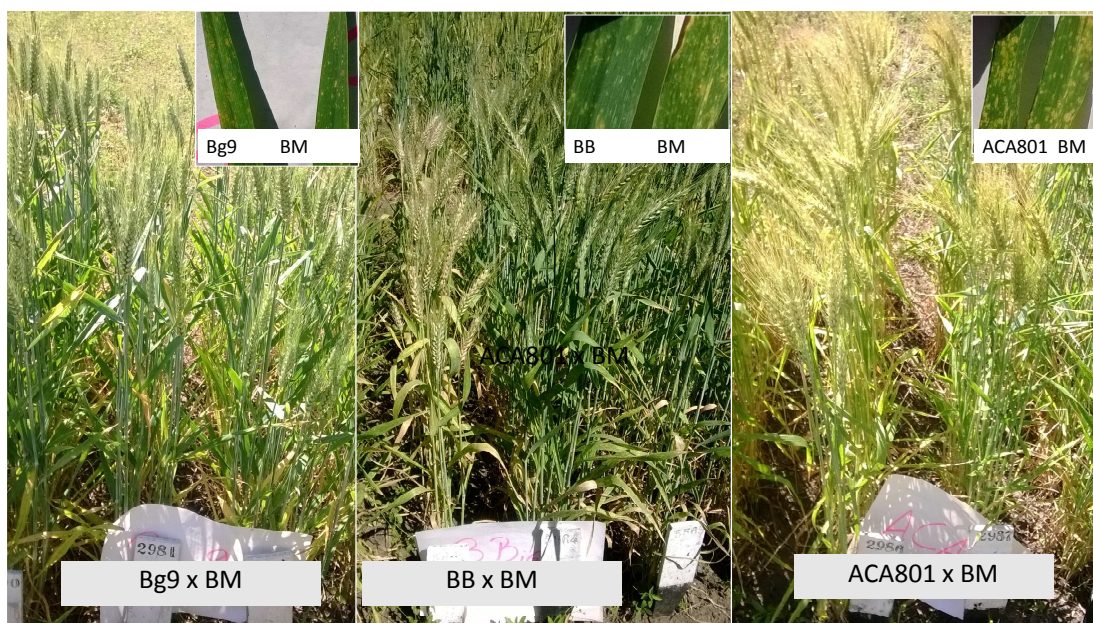


Figura 33. Se muestran las líneas introgresadas sembradas a campo y el detalle de la infección de la línea comercial susceptible (Baguette 9, Buck Biguá y ACA801) y la infección del parental resistente Buck Manantial. BM corresponde a Buck Manantial, Bg9 corresponde a Baguette 9, BB corresponde a Buck Biguá.

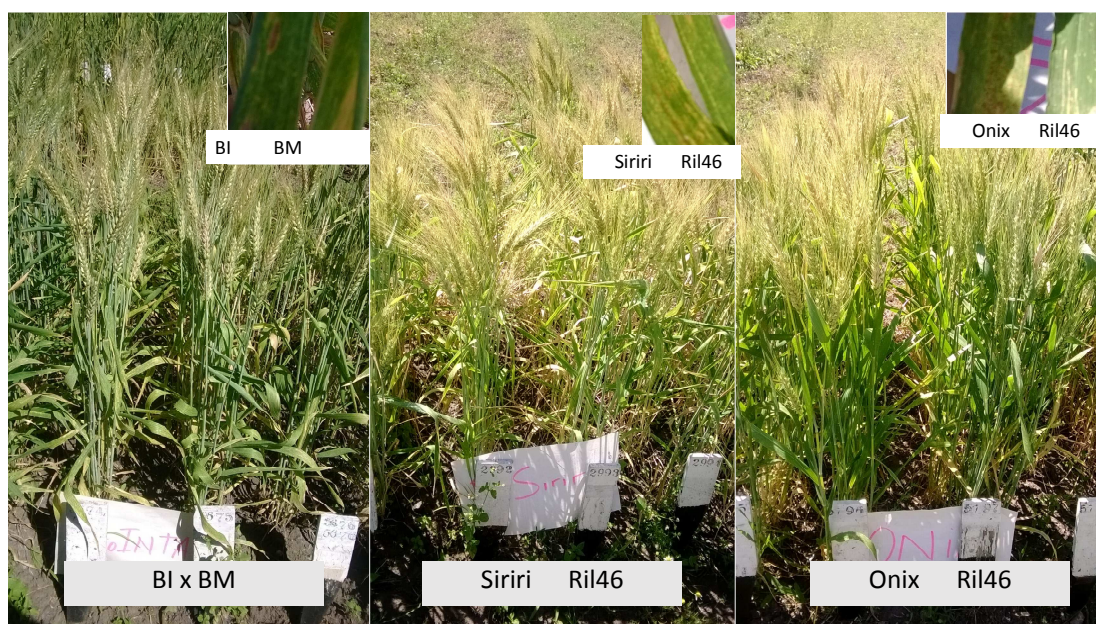


Figura 34. Se muestran las líneas introgresadas sembradas a campo y el detalle de la infección de la línea comercial susceptible (BioINTA1001, Relmó Sirir y Onix) y la infección del parental resistente Buck Manantial o RIL 46 según el cruzamiento. BM corresponde a Buck Manantial, BI corresponde a BioINTA1001.

4. DISCUSIÓN

4.1 Desarrollo de mapas genéticos de mediana/alta resolución que incluyen a los genes de resistencia a roya de la hoja del trigo *LrSV1* y *LrG6*

La disponibilidad de mapas genéticos y físicos permite posicionar con precisión los genes y marcadores ligados a los mismos en los cromosomas, lo cual facilita la introgresión de genes de interés y, entre otras posibilidades, si se dispone de mapas de alta resolución, el clonado posicional de los mismos (Harper & Cande *et al.* 2000). Mientras los mapas genéticos de baja resolución son útiles para determinar grupos de ligamiento y localizaciones cromosómicas, los mapas de mediana o alta resolución permiten definir con mayor precisión el orden de los marcadores y las distancias entre los mismos, y disponer de intervalos confiables, especialmente para avanzar en la búsqueda de nuevos marcadores informativos utilizando las nuevas herramientas de genómica, no solo en la especie en estudio, sino también en las especies afines o emparentadas. Los intervalos robustos aseguran una introgresión correcta de los genes o regiones cromosómicas de interés, y también sustentan las búsquedas confiables de regiones homólogas en los bancos de secuencias de ADN.

En esta Tesis se trabajó con los genes *LrSV1* y *LrG6* previamente reportados como asociados a genes de resistencia a roya de la hoja, con el objetivo de obtener líneas con resistencia durable y alta similitud con el fondo genético de las variedades comerciales. La información disponible para los marcadores asociados a los genes *LrSV1* y *LrG6* con los que contábamos al comienzo de esta Tesis resultaron del mapeo de baja resolución sobre una población de 91 RILs del cruzamiento Sinvalocho X Gama 6 (Ingala, Tesis doctoral, 2008). De allí la decisión de mejorar estos mapas, ampliando el número de individuos de la población de mapeo en estudio y haciendo uso de la información genómica disponible para la especie para lograr mapas de mediana resolución.

Para el mapeo de mediana resolución de los genes *LrSV1* y *LrG6* se trabajo con una población ampliada del cruzamiento Sinvalocho X Gama6 que consiste de 274 RILs, lo que permitió lograr mapas de mediana resolución, y de gran confiabilidad para ser usados en la introgresión de genes, con una oferta de marcadores asociados que permiten tener mayores probabilidades de encontrar polimórficos para la incorporación potencial de genes de resistencia en distintas variedades para mejorar su comportamiento a roya de hoja. La estrategia de mapeo utilizada en este trabajo es el método de BSA (*Bulk segregant analysis*, Michelmore *et al.* 1991), que resulta muy eficaz para identificar marcadores asociados a los genes de resistencia. Esta tarea se facilitó principalmente por la disponibilidad de poblaciones RILs que permitieron realizar pruebas tanto con

marcadores, como con razas del patógeno. La naturaleza autógena del trigo permitió un manejo simple de las generaciones y la disponibilidad de stocks citológicos y marcadores públicos, que han alcanzado un considerable grado de desarrollo en el trigo, facilitaron las localizaciones cromosómicas.

4.1.a Mapeo mapeo genético del gen *LrG6*

El gen *LrG6* de resistencia en plántula, proveniente de la línea experimental Gama6 localizado en el cromosoma 2DL, constituye una novedad como fuente de resistencia, ya que en la bibliografía no existen reportes de genes de plántula en este cromosoma. Asimismo, el cruzamiento de esta línea con Sinvalcho permitió identificar 2 genes de resistencia en planta adulta y marcadores asociados a los mismos. En un principio el gen *LrG6* fue ubicado en el cromosoma 2BL, con 2 marcadores asociados (Ingala *et al.* 2012). Sin embargo, a partir del estudio abordado en esta Tesis usando 50 marcadores SSRs disponibles para ese brazo cromosómico, no se encontraron nuevos marcadores asociados. Dado que esta localización en el cromosoma 2BL estuvo basada en un mapa de baja resolución, y sin confirmación citológica, se procedió a evaluar nuevamente su localización cromosómica mediante el uso de nulitetrasómicos, ditelosómicos y especies diploides y tetraploides de trigo, llegándose a la conclusión que el gen *LrG6* se localizaba en el cromosoma 2DL. Se procedió a una nueva búsqueda de marcadores en ese brazo teniendo como referencia el mapa consenso publicado por Sommers *et al.* (2004). A partir de la evaluación de 78 SSRs, se identificaron 8 marcadores asociados al gen *LrG6*, que fueron posteriormente mapeados en la población de 274 RILs. Estos marcadores formaron un grupo de ligamiento con el gen *LrG6*, confirmando su ubicación en la región distal del cromosoma 2DL, en un intervalo de 2 cM definido por los marcadores gdm87 y barc159. El gen de resistencia se ubicó en ese intervalo a 1cM de ambos marcadores (**Figura 10**). Los marcadores usados en este estudio habían sido mapeados en la región distal del cromosoma 2DL (Sommers *et al.* 2004). La falta de precisión en la localización inicial del gen en el cromosoma 2BL, puede ser explicada por el bajo número de marcadores del mapa de ligamiento para los cromosoma 2D y 2B, lo cual condujo a una asignación errónea por el programa usado en ese momento (Ingala *et al.* 2012)

4.1.b Mapeo mapeo genético del gen *LrSV1*

La búsqueda de nuevos marcadores asociados al *LrSV1* a partir de información bibliográfica resultó exitosa, ya que se pudo conformar un grupo de ligamiento con 9 marcadores en el cromosoma 2DS, donde pudieron adicionarse 4 nuevos marcadores al mapa elaborado previamente por Ingala *et al.* (2012). El mapa inicial ubicaba 5 marcadores en un intervalo de 16.8 cM que incluía al gen de resistencia *LrSV1* a 7.1cM del marcador gwm261 usado en las introgresiones. El nuevo mapa obtenido a partir del análisis de 274 RILs, incorporó 4 marcadores nuevos en la región estudiada, lo que permitió definir junto con el marcador gwm261 un intervalo de 11 cM ahora con el marcador gwm296 a 0,4cM del gen *LrSV1* (**Figura 12**).

El gen *LrSV1*, de resistencia en planta adulta, fue localizado en el cromosoma 2DS donde fueron reportados los genes de resistencia en planta adulta *Lr22a* y *Lr22b* (Rowland & Kerber 1974, Dick *et al.* 1979). Al infectar líneas portadoras de los genes *Lr22a* y *Lr22b* con la raza 99-28 de *P. triticina* que había identificado al gen SV1, resultaron resistente y susceptible respectivamente. Estos resultados indican que el gen SV1 proveniente de Sinvalochó es diferente del *Lr22b* y que podría ser alélico del mismo (Ingala *et al.* 2012). El gen *Lr22b* (Dyck *et al.* 1979) deriva de la antigua variedad americana Marquis de la cual fue aislado originalmente, y el gen *Lr22a* (Rowland & Kerber *et al.*, 1974) deriva de *Triticum tauschii* que fue introgresado en trigo hexaploide en los años 70, por lo que es muy poco probable que este alelo sea el de Sinvalochó.

4.1.c Desarrollo de marcadores moleculares ligados a los genes *LrG6* y *LrSV1* mediante la utilización de herramientas genómicas.

Con el propósito de aumentar la resolución de la localización genética de los genes de resistencia *LrG6* y *LrSV1*, y obtener nuevos marcadores para utilizar en el proceso de introgresión en variedades susceptibles a roya de la hoja, en este trabajo, se recurrió la información generada por el proyecto de secuenciación genómica de trigo, así como también la información sobre sintenia del genoma de trigo con el especies relacionadas como *O. sativa* (arroz) y *B. distachyon*. Esta última fue propuesta recientemente como organismo modelo de las gramíneas y fue usada específicamente en este trabajo ya que presenta mayor homología con el trigo que el arroz (Bossolini *et al.* 2007).

Este análisis permitió la caracterización de 2 nuevos marcadores informativos. para las regiones asociadas a los genes *LrSV1* y *LrG6*.

En el caso del gen *LrSV1*, el nuevo marcador denominado FSs70, se posicionó a 1.4 cM del gen, que junto con el marcador gwm296, ubicado a 0.4 cM distal del gen de resistencia, definen un nuevo intervalo de 1.8 cM (**Figura 13**).

Para el gen *LrG6*, el nuevo marcador FSs30, resultó completamente ligado al mismo (**Figura 11**). Ambos ejemplos demuestran la efectividad y precisión para diseñar nuevos marcadores en regiones específicas del genoma de trigo. No solo resultó efectiva la búsqueda de nuevos marcadores a partir de los intervalos definidos por marcadores flanqueantes a los genes de resistencia, sino también, como en el caso del *LrSV1*, a partir de un clúster de marcadores mapeado por otro grupo para un carácter diferente pero con una ubicación cromosómica cercana. Esta situación se refiere a los marcadores diseñados por Gasperini *et al.* 2012, que a pesar de no ser polimórficos para el cruzamiento analizado, se utilizó la información publicada para el gen *Rht8* de enanismo, localizado en las proximidades del gen *LrG6*, para poder establecer la sintenia de la región sobre el cromosoma de interés, con una región sobre el genoma de *B. distachyon*

La información genómica asociada a la anotación funcional aporta evidencias biológica a la asociación de los marcadores moleculares con la resistencia. En el caso de los marcadores FSs30, completamente ligado al gen *LrG6* y FSs70 ubicado a 1.4 cM del gen *LrSV1*, fueron diseñados sobre regiones que contienen motivos asociados a proteínas relacionadas con procesos de defensa como receptores de kinasas ricos en repeticiones de leucina (LRR RKs) y dominios de tipo sitio de unión a nucleótidos-repeticiones ricas en leucina (NBSLRR) reportado por Spielmeier *et al.* (2000) como asociado a genes de resistencia a roya de la hoja.

La identificación de genes responsables de resistencia durable, el conocimiento de su modo de herencia, localización cromosómica y comportamiento en distintos ambientes, constituyen una aproximación para controlar la roya de la hoja, basada en un mejor conocimiento de las bases genéticas de la interacción hospedante-patógeno. El uso de marcadores de ADN para asistir la incorporación y selección de genes de resistencia, constituye una herramienta sumamente valiosa, ya que permite acotar los fragmentos de cromatina que son introgresados en las variedades a mejorar, minimizando el aporte de caracteres indeseables.

4.2 Piramidación de genes de resistencia en variedades comerciales de trigo

El mejoramiento tradicional plantea una serie de cuestiones, tanto en términos biológicos, como conocer las bases genéticas de los caracteres a mejorar e identificar de manera inequívoca los principales genes que determinan el carácter,

como de eficiencia económica tales como acelerar al máximo los procesos para obtener un producto final mejorado.

En el caso particular del mejoramiento para resistencia a royas, si se trata de incorporar genes simples la selección es relativamente sencilla y puede iniciarse en las generaciones tempranas (Vanzetti *et al.* 2006, Helguera *et al.* 2010).

Sin embargo, como se comentó más arriba, las mejores fuentes de resistencia presentan genotipos más complejos, que plantean el desafío de incorporar de manera eficiente varios genes de resistencia simultáneamente, sin modificar otros caracteres de interés económico en el producto final.

La piramidalización de genes de resistencia, tanto de plántula como de planta adulta, puede ser la mejor solución para el control de esta enfermedad.

La aplicación de MAS (*Marker Assisted Selection*) a los programas de mejoramiento también puede ser ventajosa cuando la selección por fenotipo es costosa, cuando se trata de incorporar genes que son muy afectados por el ambiente o de expresión tardía, así como para incorporar genes de resistencia que necesitan condiciones especiales para expresarse.

Una estrategia eficiente para introgresar genes es la retrocruza, que permite recuperar rápidamente el genotipo de la variedad comercial. Cabe mencionar que, si se compara la retrocruza con una autofecundación, en cada retrocruza se reduce en un 50% la heterocigosis y en la autofecundación se homocigotiza solo el 25% en cada ciclo.

También hay que mencionar que el mejoramiento es muy competitivo, y que muchas veces se trata de incorporar algún carácter en particular, como resistencia a enfermedades, en un fondo genético con un porcentaje alto del padre recurrente, y eso es suficiente para usarlo en cruza, como material puente de pre mejoramiento, con las variedades de mayor rendimiento.

En el presente trabajo se utilizaron dos fuentes de resistencia roya de la hoja. Una de ciclo mediano-corto como el RIL 46 (línea recombinante homocigota en generación F8 derivada de la variedad tradicional Sinvaloch MA) utilizado como donante de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6*; y otra de ciclo mediano-largo como Buck Manantial donante del brazo corto del cromosoma 2BS, donde se localizan varios genes de resistencia. Ambas variedades fueron previamente estudiadas en el IGEAF, donde se caracterizaron las bases genéticas de las mismas y se desarrollaron mapas genéticos con marcadores asociados a los genes de resistencia presentes en las mismas (Ingala *et al.* 2012, Altieri *et al.* 2008).

Se propuso como estrategia realizar 2 retrocruzas con cada una de las 7 variedades comerciales y una autofecundación final para homocigotizar los genes de resistencia.

Los 3 genes identificados en el RIL 46 fueron introgresados en las variedades KDE, Onix y Relmó Sirirí. El RIL46 utilizado como donante de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6*, es una línea recombinante homocigota en generación F8, por lo que la gran mayoría de sus genes se encuentran en homocigosis, facilitando la incorporación simultanea de los mismos. Los genes *LrSV1* y *LrG6* ya fueron descritos en el apartado 4.1, para el gen *LrSV2* se contaba con un marcador asociado, el gwm533 (Ingala *et al.* 2012) que resulta de un trabajo de mapeo de alta resolución sobre la población Sinvalocho x Gama6 (Dieguez *et al.* 2014). En la retrocruza, la probabilidad de obtener individuos heterocigotas para los 3 genes es de 1/8, de allí que en todos los casos se produjeron más de 100 progenies en cada ciclo (Tabla 27). La probabilidad de recuperar un locus del padre recurrente en un BC es de $\frac{1}{2}$. Para n loci es $(\frac{1}{2})^n$, por lo tanto si se quiere recuperar un individuo con todos los loci iguales al padre recurrente deben obtenerse 2^n individuos.

Tabla 27: Probabilidad de obtener un individuo en la retrocruza (BC) y en la autofecundación con “n” loci.

	3 LOCI	4 LOCI	5 LOCI	6 LOCI	N LOCI
PROBABILIDAD BC	$(\frac{1}{2})^3 = 1/8$	$(\frac{1}{2})^4 = 1/16$	$(\frac{1}{2})^5 = 1/32$	$(\frac{1}{2})^6 = 1/64$	$(\frac{1}{2})^n$
PROBABILIDAD AUTOFECDACION	$(\frac{3}{4})^3 = 27/64 =$	$(\frac{3}{4})^4 = 81/256$	$(\frac{3}{4})^5 = 243/1024$	$(\frac{3}{4})^6 = 729/4096$	$(\frac{3}{4})^n$
	0,42	0,31	0,24	0,18	

Puede notarse que el número necesario de progenies para recuperar un individuo con todos los loci analizados iguales al padre recurrente es muy grande. Cada criadero debe adaptar los tamaños de las poblaciones a mejorar a su capacidad operativa, y los marcadores ofrecen la ventaja de la selección precisa del fondo genético a recuperar, aunque en los últimos años las plataformas de genotipificación ofrecen capacidades muy grandes y a costos cada vez más bajos.

4.2.a Introgresión de los genes de resistencia *LrG6*, *LrSV1* y *LrSV2* del RIL46

En el caso de las introgresiones cuyo donante era el RIL46, se determinó durante el transcurso de esta Tesis la presencia de un gen de resistencia complementario al gen *LrSV2* en el cromosoma 4B con marcadores asociados al mismo (Petignat Tesis de Licenciatura, 2010; Ferella, Tesis de licenciatura 2013), permitiendo apilar finalmente en las variedades comerciales KDE, Onix y R. Sirirí un total de 4 genes.

En el caso particular de la variedad de trigo KDE, originalmente portadora del gen de resistencia *Lr26*, el uso de un marcador asociado al mismo (Das, et al 2006) permitió realizar una selección adicional en las progenies de las 8 plantas homocigotas selectas, de aquellos individuos portadores de al menos un alelo de este gen de resistencia.

4.2.b Introgresión del brazo corto del cromosoma 2B de Buck Manantial

En Buck Manantial los genes *BMP1*, *Lr16* y *Lr13* fueron localizados en el brazo corto del cromosoma 2B. Los genes *Lr16* y *BMP1* fueron mapeados en la región telomérica del cromosoma 2BS (Altieri *et al.* 2008). En un estudio previo se determinó que los genes *Lr16* y *BMP1* se encontraban muy ligados, a menos de 3 cM (Altieri *et al.*, 2008), lo que podría sugerir la presencia de un clúster de genes de resistencia en esa región. En trigo, como así también en maíz, se han localizado regiones, como ocurre en el cromosoma 3BS de trigo, que conforman clústers de resistencia no solo a distintas razas de roya, sino también a distintas enfermedades (Hulbert *et al.* 1993).

El gen de expresión en planta adulta *Lr13*, cuya presencia fue sugerida por Dyck (1989) en Buck Manantial, fue localizado en el tercio proximal de ese brazo cromosómico. Teniendo en cuenta las posiciones telomérica y centrómerica de ambos grupos de genes, se decidió considerar a todo este brazo cromosómico como fuente de resistencia, ante la posibilidad que exista algún clúster de genes de resistencia en las inmediaciones de ambos grupos de genes. Por esta razón se eligieron marcadores que cubrieran la posibilidad de incorporar ambas regiones. El brazo corto del cromosoma 2BS de B. Manantial fue introgresado en las variedades Buck Bigua, BioINTA1001, Baguette9 y ACA801 usándose para la selección de ese brazo 5, 4, 5 y 6 marcadores respectivamente. Las probabilidades para obtener un heterocigoto para 4, 5 o 6 marcadores son 1/16, 1/32 y 1/64 respectivamente. En todos los casos las progenies superaron los 200 individuos excepto en el BC1 de Baguette9 que fue de 138 individuos.

Además de la selección por marcadores y en algunos casos, como el gen *LrG6* y *Lr16/BMP1*, donde se usaron razas de roya, se realizó en cada ciclo una selección visual del fenotipo por parecido a la variedad original o padre recurrente (se consideró altura, caña, hoja bandera y espiga).

Con la metodología descripta se pudieron seleccionar en el campo, bajo condiciones de infección natural, 21 líneas resistentes a roya de la hoja, muy similares fenotípicamente a los controles susceptibles de las variedades originales, con porcentajes de genoma recurrente que oscilaron entre un 81 y 97% (Tabla

28). Todas estas líneas selectas mostraron tipos de infección R-MR (resistencia a moderada resistencia).

Tabla 28: muestra el rango de porcentaje de genoma recurrente (GR%) por variedad introgresada en la retrocruza dos y en la autofecundación.

VARIEDAD INTROGRESADA	NÚMERO DE LÍNEAS FINALES	%GR BC2	%GR AUTOFECUNDACION
KDE	5	87-93	95-97
ONIX	2	85-93	89-95
RELMO SIRIRI	2	84-97	88-98
ACA 801	3	82-86	87-90
BAGUETTE 9	1	85-94	86-96
BIOINTA1001	4	83-91	87-93
B BIGUA	4	81-88	86-91

En un BC2 se espera obtener un 87% del fondo genético del padre recurrente. Estos valores que fueron superados en el caso de KDE, Onix, BioINTA1001, Baguette9 y Relmó Sirirí, en el caso de ACA801 casi se alcanzó el valor promedio. Claramente se observa una tendencia de los valores de parecido a los promedios esperados para una retrocruza (**Tabla 29** y **Tabla 30**). La ventaja del uso de marcadores respecto a la metodología tradicional es que permite conocer la composición real del genotipo seleccionado y no en términos de probabilidad. Además, en estas líneas selectas, con los genes de resistencia homocigotizados, por cada generación de autofecundación adicional se puede aumentar la homocigocidad del fondo genético en un 25%.

Tabla 29: muestra el Promedio de porcentaje de genoma recurrente por cruzamiento en la retrocruza 1 (BC1) y en la retrocruza 2 (BC2).

	ONIX	RS	BB	BI	BG9	ACA
BC1	76,58	74,0634	74,85	78,31648	77,04197	75,28545
BC2	85,25	88,4299	81,98441	83,6915	84,3075	79,26035

Tabla 30: muestra el Promedio de porcentaje de genoma recurrente por cruzamiento en la autofecundación.

	KDE	ONIX	RS	BB	BI	BG9	ACA
AUTOFEC	95,1903874	88,93983	91,32243	86,48831	87,76862	88,23063	84,44526

En el trabajo publicado por Moullet *et al.* (2009), se reportó la obtención de líneas introgresadas para 3 genes de resistencia a roya de la hoja de trigo luego de 7 retrocruzas y una autofecundación. En el trabajo se reporta que luego de 6 años, en el final del programa de mejoramiento, se aplicó la selección asistida por

marcadores para confirmar la presencia de los genes de resistencia *Lr9*, *Lr24* y *Lr22a* en las líneas introgresadas. En el presente trabajo, fue posible obtener líneas introgresadas resistentes a la enfermedad, luego de 2 retrocruzas y una autofecundación, asistiendo la selección con marcadores en cada generación. Esto implica una reducción a la mitad en el tiempo y un aumento en la cantidad de genes introgresados en las líneas.

Como ya se mencionó al inicio las variedades que presentan resistencia durable a esta enfermedad presentan niveles bajos a intermedios de infección y tipos de infección de moderados a resistentes (pústulas de medianas a pequeñas, con halo necrótico o clorótico) y en ciertas circunstancias de ataques intensos pueden llegar a tipos intermedios del tipo moderadamente resistente a moderadamente susceptible. La escala utilizada en este estudio para medir los efectos de los genes es un indicador del grado de incidencia de la enfermedad y está directamente relacionada con las escalas comúnmente utilizadas, donde la infección se mide en términos de porcentaje referido a un control susceptible. Las líneas portadoras de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6* y del brazo corto del cromosoma 2B de Buck Manantial fueron las que mostraron el menor número de pústulas por cm², confirmando la hipótesis que la acumulación de genes de expresión en planta adulta y plántula son los que brindan mayor protección frente al patógeno. Cabe mencionar que valores de número de pústulas superiores a 40-50 por cm², solo son observables en variedades de moderadamente susceptibles a susceptibles, donde la planta no manifiesta una reacción de defensa que provoque muerte celular o clorosis en el tejido, de modo que no impide ocupar el tejido verde al máximo del potencial del hongo. En cambio cuando se activan mecanismos de defensa, severos o moderados, el hongo no puede colonizar plenamente el tejido y la cantidad de pústulas por unidad de superficie se reduce notablemente y de manera proporcional a la reacción de la planta. Cuanto más intensa la reacción, menos pústulas y de menor tamaño (Ingala, Tesis doctoral, 2008), situación que se observa en las líneas portadoras de los cuatro genes de resistencia.

Cabe mencionar que todas las selecciones se realizaron teniendo en cuenta el perfil genotípico de los individuos, pero que en última instancia, también deben tenerse en cuenta otros caracteres de interés agronómico considerados por los mejoradores y que complementan el análisis de marcadores. Resultan también de interés aquellos individuos que muestran un bajo porcentaje de similitud con los parentales donadores de resistencia para ser usados en futuras retrocruzas, porque aportarían una proporción pequeña del genoma de las variedades donantes, en general con características agronómicas poco deseables.

Las líneas mejoradas desarrolladas en este trabajo fueron puestas a disposición de 7 criaderos de trigo (ACA, Buck, Klein, Don Mario, Nidera, Sursem e INTA) para ser usadas en futuros programas de mejora. Según información actual brindada por el criadero Nidera, la línea mejorada de Baguette 9 está siendo evaluada como material para pre-mejoramiento. Mientras que la población de RILs del cruzamiento Sinvallocho x Gama6 continúa siendo estudiada en un nuevo proyecto de mapeo fino de las regiones cromosómicas portadoras de los genes *Lr3*, *LrSV1*, *LrG6* y el clonado posicional del gen *LrSV2* de expresión en planta adulta.

El germoplasma tradicional de trigo en Argentina es un reservorio de fuentes de resistencia a roya de la hoja, que puede ser explotado de manera muy eficiente mediante el uso de marcadores ya que permiten rescatar genes de variedades en desuso sin incorporar caracteres indeseables para el mejoramiento. Actualmente también se están llevando a cabo, en el IGEAF estudios para caracterizar las bases genéticas de las Variedades Buck Poncho y El Gaucho FA, ambas con resistencia durable a roya de la hoja, que seguramente ampliarán la oferta de genes de resistencia para uso en mejoramiento genético.

5. Conclusiones generales

Este trabajo de Tesis contribuyó a la caracterización de las regiones genómicas de trigo que contienen fuentes de resistencia a roya de la hoja causada por el hongo *P. triticina*, su introgresión y selección en materiales comerciales. Tomando como base los trabajos desarrollados en el IGEAF en el estudio de resistencia a roya, se avanzó en el mapeo de mediana resolución de los genes *LrSV1* y *LrG6* y en la obtención de líneas mejoradas para resistencia a roya constituyendo un avance significativo para un programa de mejoramiento por introgresión de genes.

Las conclusiones principales de este trabajo son:

- La construcción de un nuevo mapa genético de los cromosomas 2DL y 2DS para la población Sinvallocho x Gama6.
 - o La localización del gen *LrG6* en el cromosoma 2DL. Este gen aparece como una fuente de resistencia inédita de genes de resistencia en plántula para este cromosoma.
 - o La delimitación de un intervalo de 3.6 cM donde está localizado el gen *LrG6*, con el marcador FSs30 completamente ligado.
 - o La delimitación de un intervalo de 1.8 cM donde está localizado el gen *LrSV1*, con el marcador FSs70 a 1.4 cM y el marcador gwm296 a 0,4cM del gen.
 - o El desarrollo de nuevos marcadores moleculares para las regiones que contienen los genes de resistencia *LrSV1* y *LrG6* basados en análisis de sintenia entre los genomas de trigo y *B.distachyon*.
- La obtención de 21 líneas mejoradas a partir de dos retrocruzas y una autofecundación, con porcentajes de recuperación del genoma recurrente en el rango de 86 a 97%. Así como también la validación de la resistencia de las 21 líneas mejoradas en el campo experimental del IGEAF que fueron evaluadas fenotípicamente por parecido a la variedad original y por su comportamiento a roya de hoja bajo condiciones de infección natural.

BIBLIOGRAFÍA

- Allard RW (1999) Principles of plant breeding. New York: John Wiley and Sons, Inc. USA.
- Annone J, García R, Botta G, Ivancovich A. (2001). Pérdidas de rendimiento ocasionadas por la "Roya de la Hoja" y la "Mancha Amarilla" del trigo: estimaciones en el norte de la Provincia de Buenos Aires. Revista de Tecnología agropecuaria. Volumen VI, número 16.
- Altieri E, McCallum B, Somers D, and F Sacco. (2008). Inheritance and genetic mapping of leaf rust resistance genes in the wheat cultivar Buck Manantial. Brisbane, Australia. Proceedings of the 11th IWGS. PDF 155: 1-3. ISBN 978-1-920899-14.
- Bennett MD, Smith JB. (1976). Nuclear DNA amounts in angiosperm. Philos Trans R Soc Lond Ser. Biol Sci 274:227-274.
- Benbouza H, Jacquemin J, Baudoin J, Mergeai G. (2006) Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 10 (2), 77–81.
- Benchimol I.I., c.l. souza, a.p. souza, (2005) microsatellite-assisted backcross selection in maize. Genet. Mol. Biol. 28: 789- 797.
- Bossolini E, Wicker T, Knobel PA and Keller B. (2007) Comparison of orthologous loci from small grass genomes Brachypodium and rice: implications for wheat genomics and grass genome annotation. Plant Journal 49: 704-717.
- Brenchley RI, Spannagl M, Pfeifer M, Barker G L. A., D'Amore R *et al.* (2012) Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature* 491:705–710 . doi:10.1038/nature11650
- Burt C, Nicholson P.(2011). Exploiting co-linearity among grass species to map the Aegilops ventricosa-derived Pch1 eyespot resistance in wheat and establish its relationship to Pch2. TAG 123(8):1387-400. doi: 10.1007/s00122-011-1674-9.
- Cadalen T, Boeuf C, Bernard S, Bernard M. (1996). An intervarietal molecular marker map in Triticum aestivum L. Em. Thell. and comparison with a map from a wide cross. Theo. Appl. Genet. 94:367-377.
- Caetano-Anollés and Gresshoff. (1997). DNA Markers: Protocols, Applications and Overviews. Wiley-VCH.
- Chapman, J. A., Mascher, M., Buluç, A. N., Barry, K., Georganas, E., Session, A., ... & Rokhsar, D. S. (2015). A whole-genome shotgun approach for assembling and anchoring the hexaploid bread wheat genome. *Genome biology*, 16 (1), 26.
- Choulet F, Alberti A, Theil S, Glover N, Barbe V, Daron J, *et al* (2014). Structural and functional partitioning of bread wheat chromosome 3B. Science 345:6194 DOI:10.1126/science.1249721.
- Cloutier S, McCallum BD, Loutre C, Banks TW, Wicker T, Feuillet C, Keller B, Jordan MC (2007) Leaf rust resistance gene *Lr1*, isolated from bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is a member of the large psr567 gene family. Plant Mol Biol 65(1–2):93–106.

- Delaney T.P., Friedrich L., Ryals J.A. (1995). Arabidopsis signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 6602–6606.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks. (1994). *Molecular Biology Protocols. Plant DNA Miniprep and Microprep: Versions 2.1- 2.3.* page 525.
- Deepak S, Gill K S (2004) Distribution Of Genes And Recombination In Wheat And Other Eukaryotes', *Plant Cell Tissue and Organ culture*,79:257-270.
- Dieguez MJ, Altieri E, Ingala LR, Perera E, Sacco F and Naranjo T.(2006). Physical and genetic mapping of amplified fragment length polymorphisms and the leaf rust resistance Lr3 gene on chromosome 6BL of wheat. *TAG* 112:251-257.
- Diéguez MJ; Pergolesi MF; Velásquez SM; Ingala L; López M; Darino M; Paux E; Feuillet C; Sacco F.(2014). Fine mapping of *LrSV2*, a novel race-specific adult plant leaf rust resistance gene on wheat chromosome 3BS. *TAG* 127:1133-1141 DOI 10.1007/s00122-014-2285-z
- Dyck PL.(1979). Identification of the gene for adult plant leaf rust resistance in Thatcher. *Can. Of Plant Science* 59:499-501
- Dyck PL. (1989). The inheritance of leaf rust resistance in wheat cultivars Kenyon and Buck Manantial. *Can J Plant Sci* 69: 1113-1117.
- Favret EA. (1971). The host pathogen system and its genetic relationship. *Barley Genetics, Vol II*, 457:71.
- Favret EA, Saione, HA y Franzone PM. (1983). New approaches in breeding for disease resistance. *Cereal breeding and production Symp. Argentina Special Report* 718. Oregon State University.
- Favret EA, Cenoz HP, Sikvero Sanz OI, Solari R, y Mujica F.(1969). Efecto de Posición inducido en trigo para reacción a las royas. *Ind. Mut. In plants. Symp.IAEA/FAO, Pullman, Washington, USA*,123-133.
- Feuillet C, Travella S, Stein N, Albar L, Nublat A, Keller B (2003). Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(25):15253–15258
- Ferreira L.(2013) Análisis genético de la resistencia a Roya de la hoja del Trigo en el cruzamiento de Sinvaloch MA por Purplestraw Tesina de licenciatura. Universidad de Morón.
- Flor, HH. (1956). Mutations in flax rust induced by ultraviolet radiation. *Science* 124, 888-889.
- Frisch, M., M, Bohn and A.E. Melchinger. (1999). Comparison of selection strategies for Marker Assisted Backcrossing of a gene. *Crop Sci* 39:1295-1301.
- Ganal M and Röder M. (2007). Microsatellite and SNP markers in wheat breeding *varshney and r. Tuberosa (eds.), genomics assisted crop improvement:vol. 2: genomics applications in crops*, 1–24.
- Gasperini D, Greenland A, Hedden P, Dreos R, Wendy H and Simon G. (2012). Genetic and physiological analysis of Rht8 in bread wheat: an alternative source of semi-dwarfism with a reduced sensitivity to brassinosteroids. *J. Exp. Bot.* doi: 10.1093/jxb/ERS138

- Givry S. de, Bouchez M., Chabrier P., Milan D., T. Schiex. (2005). CARTHAGENE: multipopulation integrated genetic and radiated hybrid mapping Bioinformatics, 21(8): 1703-1704.
- Gill KS, Gill BS, Endo TR and Boyko EV. (1996) Identification and high density mapping of gene-rich regions in chromosome group 1 of wheat. Genetics 144:1883-1891.
- Gupta, P.K., Mir, R.R. and Kumar, (2008) Wheat genomics: present status and future prospects. J. Int. J. Plant Genomics 896451.
- Gupta,P.K,Balyan,H.S,Edwards,K.J,Isaac,P,Korzun,V,Roder,M.S,Gautier,F,Joudrier,P,Schlatter,A.R,Dobcovsky,Delapena,R,,Khairallah,M,Penner,G,Hayden,M.J,Shar p,P,Keller,B,Wang,R.C,Hardouin,J.P,Jack,P,leory,P.(2002).Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat.TAG 105:413-422.
- Guyomarc'h H, Sourdille P, Charmet G, Edwards KJ, Bernard M (2002) Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. TAG 104:1164–1172
- Haggag MEA, Samborski DJ and Dyck PL. (1973). Genetics of pathogenicity in three races of leaf rust on four wheat varieties. Can. J. Genet. Cytol. 15,73:82.
- Hamada H, Petrino MD and Takugana T. (1982) A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes.Proc Natl Acad Sci U S A 79(21): 6465–6469.
- Harper, L.C., and Cande, W.Z. (2000). Mapping a new frontier; Development of integrated cytogenetic maps in plants. Funct. Integr. Genomics 1 89–98.
- Helguera, M.; Khan, I. A.; Dubcovsky J. (2000). Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. TAG 101 (4): 625-631
- Helguera m. (2010). Evolución de los marcadores moleculares en el trigo. Utilización de esta herramienta en el mejoramiento genético de este cultivo. Maestría en genética vegetal “mejoramiento vegetal I, Autógamas” FCA – UNR.
- Hospital, F, Chevalet C., and Mulsant P. (1992). Using Markers in Gene Introgression Breeding Programs. Genetics 132: 1199-1210.
- Hospital f and Servin B.(2002). Optimal positioning of markers to control genetic background in marker assisted backcrossing. The journal of heredity 93 (3)
- Huang L, Brooks SA, Li W, Fellers JP, Trick HN, Gill BS (2003) Mapbased cloning of leaf rust resistance gene *Lr21* from the large and polyploid genome of bread wheat. Genetics 164:655–664
- Hulbert S.H., Sudupak M.A., Hong K.S. (1993). Genetic relationships between alleles of the *Rp1* rust resistance locus of maize. Mol. Plant-Microbe Interact. 6,387–392
- Ingala L, Saione H, Formento N and Sacco F. (2003). Molecular and pathogenic variation in *Puccinia triticina* populations from Argentina. Proceedings of the T10th IWGS. Vol 3: 1154-1156.
- Ingala LR (2008) Estudios de las bases genéticas de la resistencia durable a roya de la hoja en trigo.Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.

- Ingala Lorena, Lopez Micaela, Darino Martin, Pergolesi Maria Fernanda, Dieguez Maria Jose, Sacco Francisco (2012). Genetic analysis of leaf rust resistance genes and associated markers in the durable resistant wheat cultivar Sinvaloch MA. TAG-2012, 124 (7):1305-1314, DOI 10.1007/s00122-012-1788-8.
- Jensen, N. F. (1988). Plant breeding methodology. John Wiley and Sons. New York. 659 p.
- Jia J, et. al. (2013). *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature* 496, 91–95. doi:10.1038/nature12028.
- Johnson R. (1981). Durable resistance: definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71, 567-568
- Johnson GR, Mumm RH (1996) Marker assisted maize breeding. *In* Proceedings of the 51st Corn and Sorghum Conference. American Seed Trade Association, Washington, DC, pp 75–84
- Klein, O. Régimen de fiscalización: informe técnico, Nuevo trigo Pan Klein Don Enrique.
- Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeier W, Singh RP, Huerta-Espino J, McFadden H, Bossolini E, Selter LL, Keller B (2009) A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 623:1360–1363.
- Kumar S, Mohan A, Balyan H and Gupta P. (2009) Orthology between genomes of *Brachypodium*, wheat and rice. *BMC Research Notes*, 2:93 doi:10.1186/1756-0500-2-93
- Kunbo Wang, Zhiwen Wang, Fuguang Li, Wuwei Ye, Junyi Wang, Guoli Song, et al. (2012) The draft genome of a diploid cotton *Gossypium raimondii*. *Nature Genetics* 44, 1098–1103 doi:10.1038/ng.2371
- Lander E, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daley M, Lincoln S, and Newburg L. (1987). MAPMAKER: An Interactive Computer Package for Constructing Primary Genetic Linkage Maps of Experimental and Natural Populations. *Genomics*. 1: 174-181.
- Ling HQ, Zhao S, Liu D, Wang J, Sun H. (2013). Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu*. *Nature* 496, 87–90 doi:10.1038/nature11997
- Liu S, Zhang X, Pumphrey MO, Snack RW, Gill BS and Anderson JA. (2006). Complex microcolinearity among wheat, rice and barley revealed by fine mapping of the genomic region harbouring a major QTL for resistance to Fusarium head blight in wheat. *Funct Integr genomics*. 6: 83–89.
- Liu S and Anderson JA. (2003). Targeted molecular mapping of a major wheat QTL for Fusarium head blight resistance using wheat ESTs and synteny with rice. *Genome*. 46: 817-823
- Long D.L. and Kolmer J.A..(1989) A North American System of Nomenclature for *Puccinia triticina*. *Phytopathology* 79:525-529
- Lopez Micaela. (2007). Desarrollo de una metodología de incorporación de genes de resistencia a roya de la hoja del trigo, mediante retrocruzas asistidas por

marcadores y “fingerprinting” del padre recurrente”. Tesina de licenciatura. FCEN, UBA.

-Luo MC, Gub YQ, Youa FM, [...] (2013) A 4-gigabase physical map unlocks the structure and evolution of the complex genome of *Aegilops tauschii*, the wheat D-genome progenitor. 7940–7945. PNAS. vol. 110 no. 19.

-Mace ES, Tai S, Gilding E, *et al.* (2013) Whole-genome sequencing reveals untapped genetic potential in Africa’s indigenous cereal crop sorghum. *Nature Communications*, Article number: 2320 doi:10.1038/ncomms3320

-Mains, E.B., and Jackson, H.S. (1926). Physiological specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss. *Phytopathology*, 16: 89–120.

-Martins WS, Lucas DCS, Neves KFS, Bertoli DJ. (2009) WebSat - A Web Software for MicroSatellite Marker Development, *Bioinformation*, 3(6):282-283.

-Masaru Iehisa J, Shimizu A, Sato K, Nishijima R, Sakaguchi K, Matsuda R. (2014) Genome-wide marker development for the wheat D genome based on single nucleotide polymorphisms identified from transcripts in the wild wheat progenitor *Aegilops tauschii*. *TAG* 10/2013; 127(2). DOI: 10.1007/s00122-013-2215-5

-McCallum BD, Seto-Goh P. (2005). Physiologic specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) in Canada in 2002. *Can. J. Plant pathol.* 27: 90-99.

-McIntosh RA, Wellings CR and Park RF. (1995). Wheat rusts: an atlas of resistance genes. Ed. By McIntosh RA and Wellings CR and Park RF. Kluwer Academic publishers.

-Michelmore RW, Paran I and Kesseli V. (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9828-9832.

-Mohan A, Goyal A, Singh R, Balyan HS, Gupta PK . (2007). Physical mapping of wheat and rye EST-SSRs on wheat chromosomes. *The Plant Genome* 47: S1-S13

-Morgante, M. and Olivieri, A.M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* 3:175-182

-Moulet O, Fossati D, Mascher F, Guadagnolo R and Schori A. (2009) Use of marker-assisted selection (MAS) for pyramiding leaf rust resistance genes (*Lr9*, *Lr24*, *Lr22a*) in wheat. *Tagung der Vereinigung der Pfl anzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs* 2009, 143 – 146.

-Paux E, Roger D, Badaeva E, Gay G, Bernard M, Sourdille P and Feuillet C. (2006). Characterizing the composition and evolution of homoeologous genomes in hexaploid wheat through BAC-end sequencing on chromosome 3B. *Plant J.* 48, 463-474.

-Paux E, Sourdille P, Salse J, Saintenac C, Choulet F, Leroy P, Korol A, Michalak M, Kianian S, Spielmeier W, Lagudah E, Somers D, Kilian A, Alaux M, Vautrin S, Berges H, Eversole K, Appels R, Safar J, Simkova H, Dolezel J, Bernard M and Feuillet C. (2008). A physical map of the 1 gigabase bread wheat chromosome 3B. *Science*. 322, 101-104.

- Petignat C. (2010) "Mapeo de marcadores moleculares y de un gen de resistencia a roya de la hoja de expresión en planta adulta en la región subtelomérica del cromosoma 3BS de Trigo". Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
- Pestova,E, Ganai,M.W, Rodder,M.S.(2000). Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat.Genome 43:689-697.
- Pink DAC. (2002). Strategies using genes for non-durable resistance. Euphytica 1: 227-236.
- Qi L, Echalié B, Friebe B. (2003). Molecular characterization of a set of wheat deletion stocks for use in chromosome bin mapping of ESTs. Funct.Integr. Genomics 3:39-55.
- Qi L. L, B. Echalié, [...], and B. S. Gill. (2004) A Chromosome Bin Map of 16,000 Expressed Sequence Tag Loci and Distribution of Genes Among the Three Genomes of Polyploid Wheat. Genetics. 168(2): 701–712.
- Ragot M, Biasioli M, Delbut MF, Dell'Orco A, Malgarini L, Thevenin P, Vernoy J, Vivant J, Zimmermann R, Gay G (1995) Marker-assisted backcrossing: a practical example. In A Bervillé, M Tersac, eds, Les Colloques, No. 72, Techniques et Utilisations des Marqueurs Moléculaires. INRA, Paris, pp 45–56
- Roder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M. (1998). A Microsatellite Map of Wheat .Genetics 149: 2007–2023.
- Rodríguez Milla MA., Gustafson JP, (2001). Genetic and physical characterization of chromosome 4DL in Wheat. Genome 44: 883-892
- Rowland and Kerber (1974) Origin of the free threshing character in hexaploid wheat .Can J Genet Cytol 16,137-144.
- Sacco F, Suárez EY, and Naranjo T. (1998). Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr3* on chromosome 6B of Sinvalocho MA wheat Genome 41: 686–690.
- Saione HA, Favret EA, Franzoni PM, Sacco F. (1993). Host genetic analysis by using *Puccinia recondita tritici* induced mutants for increased virulence. J Phytopathology 138:225-232.-Sacco F,
- Suárez EY, and Naranjo T. (1998). Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr3* on chromosome 6B of Sinvalocho MA wheat. Genome 41: 686–690.
- Samborski, DJ, and Dyck, PL. (1968). Inheritance of virulence in wheat leaf rust on the standard differential wheat varieties. Can J. Genet. Cytol. 10: 24-32.
- Semagn K., Bjørnstad Å. and Ndjiondjop M. N. (2006). Progress and prospects of marker assisted backcrossing as a tool in crop breeding programs. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (25), pp. 2588-2603.
- Simons, K., Abate, Z., Chao, S., Zhang, W., Rouse, M., Jin, Y., Elias, E. & Dubcovsky, J. (2011). Genetic mapping of stem rust resistance gene *Sr13* in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum* L.). Theoretical and Applied genetics, 122:649-658

- Singh RP, Park RF, McIntosh RA. (1999). Genetic relationship between the adult plant resistance gene *Lr31* for seedling resistance to leaf rust in common wheat. *Plant Pathol* 48:567-573.
- Singh S y Robert L. Bowden, (2010). Molecular Mapping of adult-plant race-specific leaf rust resistance gene *Lr12* in bread wheat. *Molecular Breeding* DOI 10.1007/s11032-010-9467-4.
- Somers DJ and Isaac P.(2004). SSRs from the Wheat Microsatellite Consortium. wheat.pw.usda.gov/SSR/WMC
- Song QJ, Shi JR, Singh S, Fickus W, Costa JM, Lewis J, Gill BS, Ward R and Cregan PB. (2005). Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *TAG*. 110: 550–560.
- Sourdille P, Singh S, Cadalen T, Brown-Guedira GL, Gay G, Qi LL, Gill BS, Dufour P, Murigneux A, Bernard M (2004) Microsatellite- based deletion bin system for the establishment of geneticphysical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct Integr Genomics* 4:12–25
- Spielmeyer W et al. (2000) NBS-LRR sequence family is associated with leaf and stripe rust resistance on the end of homoeologous chromosome group 1S of wheat *Theoretical and Applied Genetics*101:1139-1144.
- Spielmeyer W, Sharp PJ and Lagudah ES (2003). Identification and validation of markers linked to broad-spectrum stem rust resistance gene *Sr2* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci*. 43: 333-336.
- Stephenson P, Bryan G, Kirby J, Collins A, Devos KM et al (1998) Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theor Appl Genet* 97:946–949,
- The International Barley Genome Sequencing Consortium. (2012). A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* . Vol 491 . doi:10.1038/nature11543.
- The International Brachypodium Initiative. (2010) Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Nature* Vol 463 doi:10.1038/nature08747
- Vanzetti L, Brevis,J; Dubcovsky,J; Helguera, M. (2006) Identification of microsatellites linked to *Lr47*. *Electronic , Journal of Biotechnology*, Vol. 9 No. 3.
- Visscher P, Haley C. And Thompson R. (1996) Marker-assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics* 144: 1923-1932.
- Voorrips RE (2002) MapChart: software for the graphical presentation f linkage maps and QTLs. *J Hered* 93(1):77-78.
- Vos,P.,Hogers,R.,Bleeker,M.,Reijans,M.,Theovan,D.L.,Hornes,M.,Frijers,A., Kuiper, M., and Zabeau, M.(1995). AFLP : A new technique for DNA fingerprinting , *Nucleic Acid Res*. 23:4407-4414
- Wang Shichen *et al.* (2014) Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal* 12:787–796

- Wenzl P, Li H, Carling J, Zhou M, Raman H, Paul E, Hearnden P, Maier C, Xia L et al. (2006). A high-density consensus map of barley linking DArT markers to SSR, RFLP and STS loci and agricultural traits. *BMC Genomics*. 7:206.
- Wu J, Maehara T, Shimokawa T, Yamamoto S, Harada C, Takazaki Y, et al. (2002). A Comprehensive Rice Transcript Map Containing 6591 Expressed Sequence Tag Sites. *The Plant Cell*, Vol. 14, 525–535.
- www.ars.usda.gov
- www.Fao.org
- www.gramene.org
- www.inase.gov.ar
- www.modelcrop.org/cgi-bin/gbrowse/brachyv1
- www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html
- www.niderasemillas.com.ar Catálogo cultivo Nidera semillas.
- www.phytozome.org
- www.relmo.com Catálogo cultivo criadero Relmó.
- www.wheatgenome.org
- Xue S, Zhang z, Lin F, Kong Z, Cao Y, Li C, Yi H, Mei M, Zhu H, Wu J, Xu H, ---- Zhao D, Tian D, Zhang C, Ma Z. (2008). A high-density intervarietal map of the wheat genome enriched with markers derived from expressed sequence tags TAG 117:181–189.DOI 10.1007/s00122-008-0764-9
- Yu J-K, Dake T M, Singh S, Benscher D, Li W, Gill B, Sorrells ME. (2004) Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome* 47(5): 805-818, 10.1139/g04-057
- Zeller, F.J. (1973).: IB/IR wheat-rye chromosome substitutions and translocations. *Proc. 4th IWGS Columbia Mo. Univ. of Missouri* (eds. Sears, E.R. and Sears, L.M.S.), pp. 209-222.

Tabla Anexo 1: Matriz básica de datos de marcadores moleculares para mapeo del gen *LrG6*. Evaluación de la población de RILs con los 7 SSRs (Columnas 2, 3, 4, 5, 9, 11) previamente asociados por BSA al gen *LrG6* y 3 marcadores diseñados (FSs30, FSs53 y FSs59) (Columnas 5, 7 y 9) mediante herramientas genómicas. El número “1” corresponde a los alelos pertenecientes a Sinvalocho y “0” a aquellos correspondientes a Gamma6. La columna 1 corresponde al número de individuo. La columna 6 corresponde a la reacción fenotípica frente a la infección con la raza de roya que identifica al gen donde R es Resistente y S Susceptible.

	gdm93	gwm382	gdm87	barc159	FSs30	<i>LrG6</i>	FSs59	wmc817	FSs53	wms4828
1	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
3	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
4	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
5	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
7	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
8	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
10	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
13	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
14	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
15	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
16	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
17	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
18	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
19	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
21	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
22	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
23	0	-	1	1	1	S	1	1	1	1
24	0	-	0	0	0	R	0	0	0	0
25	1	1	1	1	1	S	1	1	1	-
26	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
27	1	0	0	0	0	R	0	0	-	0
28	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
29	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
30	0	1	1	1	1	S	1	1	1	0
31	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
33	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
34	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
35	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
36	0	0	1	1	1	S	1	1	1	1
37	0	1	1	1	1	S	1	-	1	1
38	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
39	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
40	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
41	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
42	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
43	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
44	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
46	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
47	0	-	0	0	0	R	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
49	0	0	0	1	0	R	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
52	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
53	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1

54	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
55	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
56	1	-	0	0	0	R	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
58	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
59	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
60	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
61	1	-	1	0	0	R	0	0	0	0
62	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
63	1	0	1	1	1	S	1	1	1	1
64	0	0	0	0	0	R	0	-	1	0
65	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
66	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
67	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
68	1	1	1	1	1	S	1	1	-	1
69	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
70	1	-	0	0	0	R	0	0	0	0
71	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
72	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
73	1	1	1	1	1	S	1	0	-	1
74	1	1	1	1	1	S	1	0	0	1
75	1	0	0	0	0	R	0	1	0	0
76	1	1	1	1	1	S	1	-	0	1
77	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
78	0	0	0	0	0	R	0	1	1	0
79	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
80	1	1	1	1	1	S	1	1	0	-
81	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
82	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
83	0	0	0	0	0	R	0	0	0	-
84	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
85	0	0	1	1	1	S	1	1	0	1
86	0	1	1	1	1	S	1	1	0	1
87	0	1	0	0	0	R	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
89	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
90	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
91	1	1	0	1	1	S	1	1	1	1
92	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
93	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
94	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
95	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
96	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
97	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
98	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
99	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
100	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
101	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
102	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
103	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
104	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
105	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
106	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
107	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
109	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
110	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
111	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
112	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
113	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1
114	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
115	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
116	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
117	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
118	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
120	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
121	1	1	1	1	1	S	1	0	1	0

122	1	0	1	1	1	S	1	1	1	1
123	1	1	1	1	1	S	1	0	1	0
124	0	0	0	0	0	R	0	0	0	1
125	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
126	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
127	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
128	0	1	0	0	0	R	0	1	0	0
129	0	0	0	0	0	R	0	1	0	1
130	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
131	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
132	1	0	0	1	0	R	0	-	1	-
133	0	0	0	0	0	R	0	0	0	1
134	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
135	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
136	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
137	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
138	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
139	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
140	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
141	0	0	0	0	0	R	0	-	1	0
142	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
143	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
144	0	0	0	0	0	R	0	0	0	-
145	0	0	0	0	0	R	0	-	0	1
146	0	1	1	1	1	S	1	1	0	1
147	0	0	0	0	0	R	0	0	1	-
148	0	0	0	0	0	R	0	1	0	0
149	0	0	0	0	0	R	0	0	1	0
150	0	0	0	0	0	R	0	-	1	0
151	1	1	1	1	1	S	1	0	1	1
152	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
153	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
154	1	0	0	0	0	R	0	-	0	0
155	1	1	1	1	1	S	1	1	1	-
156	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
157	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
158	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
159	1	1	1	1	1	S	1	1	1	-
160	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
161	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
162	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
163	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
164	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
165	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
166	1	1	1	1	1	S	1	1	-	1
167	0	0	-	0	0	R	0	-	0	0
168	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
169	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
170	0	0	0	0	1	R	0	0	0	0
171	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
172	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
173	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
174	0	1	1	1	1	S	1	1	1	0
175	0	1	1	1	1	S	1	1	1	0
176	0	0	0	0	0	R	0	0	0	1
177	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
178	0	1	0	0	0	R	0	0	0	0
179	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
180	0	0	0	0	0	R	-	0	0	0
181	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
182	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
183	0	1	1	1	1	S	1	0	1	1
184	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1
185	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
186	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
187	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
188	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1

190	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
191	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
192	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
193	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
194	1	0	0	0	1	R	0	0	0	0
195	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
196	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
197	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
198	0	0	0	0	0	R	0	0	1	0
199	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
200	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
201	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1
202	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
203	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1
204	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
205	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
206	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
207	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
208	1	0	0	0	0	R	0	0	-	0
209	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
210	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
211	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
212	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
213	0	0	0	0	0	R	0	1	0	0
214	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
215	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
216	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
217	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
218	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
219	0	1	0	0	0	R	1	0	0	0
220	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
221	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
222	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
223	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
224	0	0	0	0	0	R	0	-	-	0
225	1	1	1	1	1	S	1	1	-	1
226	1	1	1	1	1	S	1	1	-	1
227	0	0	0	0	0	R	-	0	1	0
228	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
229	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
230	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
231	1	1	1	1	1	S	1	-	1	1
232	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
233	0	1	1	1	1	S	1	-	1	1
234	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
235	0	0	0	0	0	R	0	0	-	0
236	0	0	0	0	0	R	0	0	-	-
237	1	0	0	0	0	R	-	0	-	0
238	0	1	1	1	1	S	1	-	1	1
239	1	1	1	1	1	S	1	1	0	1
240	0	0	0	0	0	R	0	0	1	0
241	1	1	1	1	1	S	1	-	0	1
242	0	0	0	0	0	R	0	0	1	0
243	1	1	1	1	1	S	1	1	0	-
245	0	1	1	0	1	R	0	1	1	-
246	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
247	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
248	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
249	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
250	0	1	0	0	0	R	0	0	0	0
251	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
252	1	1	1	1	1	S	1	-	-	1
253	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
254	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
255	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
256	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
257	1	1	1	-	1	S	1	1	1	1

258	0	1	1	1	1	S	1	1	1	1
259	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
260	0	0	0	0	0	R		0	0	0
261	0	0	0	0	0	R	0	-	0	0
262	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
263	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
264	1	0	0	0	0	R	0	-	-	0
265	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
266	-	1	1	1	1	S		-	-	-
267	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
268	1	0	0	0	0	R	0	0	0	0
269	0	0	0	0	0	R	0	0	0	1
270	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
271	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
272	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
273	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0
275	-	1	1	1	1	S	1	1	1	0
276	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
277	-	0	0	0	0	R	0	0	0	1
278	0	0	0	1	0	R	0	1	1	1
279	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
280	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
281	0	0	0	0	0	R	0	0	0	1
282	-	0	0	0	0	R	0	0	0	1
283	1	1	1	1	1	S	1	1	1	1
284	1	1	1	1	1	S	1	1	1	0
285	-	1	1	1	1	S	1	1	1	0
286	0	1	1	1	1	S	1	1	1	0
287	0	1	0	0	0	R	0	0	0	0
288	1	1	0	0	0	R	0	0	0	0

Tabla Anexo 2. Identificación y diseño de marcadores moleculares ligados al gen *LrG6* utilizando información genómica. La columna 1 corresponde al marcador en trigo, la columna 2 al transcripto de *B. Dystachion* identificado, las columnas 3, 4 y 5 corresponden al contig de trigo del cromosoma 2DL y la columna SSR corresponde al nombre del primer diseñado.

Marcador en trigo	Transcripto B.d	contig 2DL	contig 2DL	contig 2DL	SSR
	Bd5g26987	9823640			
Gwm382	Bd5g26820	9838569			
	Bd5g27000	9903307			
Vir	Bd5g27020	9813993	9901564		FSs25
	Bd5g27030	9910443	9757369		FSs64
	Bd5g27040	9825189			
	Bd5g27050	5017222	2540505		
	Bd5g27070	9877642	3217511		
	Bd5g27080	9904709	9869753		FSs60
	Bd5g26500	214550			
	Bd5g26510	5908380	9832343		
	Bd5g26580	9847580			FSs26
	Bd5g26587	9884163			FSs61
	Bd5g26600	3404062	9907613		
	Bd5g26510	9853959	9832343		FSs1
	Bd5g26580	9847580			
	Bd5g26587	9884163			
	Bd5g26600	3404062	9907613		
	Bd5g26630	9853959	3606741	9866975	
	Bd5g26640	5379042			
	Bd5g26660	9784765	9853686		
Nucleic acid binding	Bd5g26670	9853686	9853685		FSs22
	Bd5g26680	9909188	9872399		
	Bd5g26700	9879746			
	Bd5g26720	1060731			
stress oxidativo	Bd5g26725	1060731			FSs31
	Bd5g26730	3610190	9835658		
	Bd5g26740	7675247	8733700		
	Bd5g26760	9840482			FSs52
Lrr	Bd5g26770	9789517			FSs30
	Bd5g26782	9770934	9887325		FSs53, FSs65,
	Bd5g26830	9853962	9739994		
	Bd5g26835	9910163	9841856		FSs2
	Bd5g26840	9741473	9900758		
	Bd5g26850	9885001	9886651		FSs23, FSs24
	Bd5g26867	9771988	9899861		
	Bd5g26880	9908369			FSs29
	Bd5g26890	6072362			
	Bd5g26900	9740694	505595		
	Bd5g26907	1502275			
	Bd5g26917	9862309	9881966		
	Bd5g26930	9881179	9699114		
	Bd5g26940	9822586			
	Bd5g26950	9842722	9873155		FSs3
	Bd5g26960	3820166	9908164		
	Bd5g26980	8149296	9903307		
	Bd5g27100	9851458	9909448		FSs59
	Bd5g27110	9793466			
	Bd5g27130	9907672			FSs27
	Bd5g27150	9908345			
	Bd5g27160	9908345	9725243		
	Bd5g27170	9908345			FSs28
	Bd5g27200	9876898	3370870		
	Bd5g27210	9876898	3370870		
	Bd5g27220	9876898			

Diseño de SSRs para el gen *LrG6* usando el programa WEBSAT

Tabla anexo 3: Marcadores SSRs diseñados en la región del gen *LrG6* usando el programa WEBSAT. La columna 1 corresponde al nombre del marcador, la columna 2 muestra el número de *contig* sobre el que se diseñó el marcadores SSRs. la columna 3 describe el microsatélite y la columna 5 la secuencia de los *primers* diseñados, la columna 6 la temperatura de *annealing* y la Columna 7 el tamaño esperado.

Marcador	Contig	repetición	Primer		Tm (°C)	tamaño (bsp)
FSs1	>2DL_9832343	(T)10	Forward	AGCTCCTAAGTTTCACTGGCAT	59.438	
			Reverse	CACATGCAATACCTCATTTGCT	60.025	339
FSs2	>2DL_9841856	(GA)18	Forward	ACTCAGGATACTCGAACTTGGC	59.779	
			Reverse	AACTGCTTGCATGGGATCTATT	59.993	383
FSs3	>2DL_9842722	(TAA)6	Forward	GGGGACCTCTTCGTAAAGACTA	58.781	
			Reverse	TCCTCTTCATCTAAACCTTGC	59.725	359
FSs22	> 2DL_9853686	(T)10	Forward	TTATGCACCCAAGACCTCCTAT	59.856	
			Reverse	CTAAAAATGCACCAACCTTGTGA	60.032	341
FSs23	>2DL_9885001	(GCT)6	Forward	ACTGGGGTCTGATCTCGATTT	59.949	
			Reverse	GCTACTCCAACAAACAGCCCT	60.675	194
FSs24	>2DL_9885001	(A)10	Forward	ACAGCCCATGTTTCTCAGATA	60.875	
			Reverse	TCATGTTTGACCGCTATTGTTC	60.003	369
FSs25	>2DL_9901564	(TAA)24	Forward	CTCGGAATAAAATACACTGCCC	59.864	
			Reverse	AGAAGTAGGTGACGAAGCAGGT	59.456	385
FSs26	>2DL_9904709	(T)11	Forward	CCACGCAATATGTACTGGAAAA	59.890	
			Reverse	AACCGAAAAGTAAAACACGGAAC	59.454	225
FSs27	>2DL_9907672	(A)10	Forward	TGATCCACAAGACAGTCGTAGA	59.788	
			Reverse	CATTTTATCACACTGGCGCTAT	59.169	372
FSs28	>2DL_9908345	(AT)9	Forward	CCGTTTTCTTCCCTTTTCAACT	60.816	
			Reverse	AAATGTGAGCACCAATGTCAAG	60.037	352
FSs29	>2DL_9908369	(A)10	Forward	TGCACGTTTACACAAGGTTTTC	60.075	
			Reverse	GCTGTTTGACATTTGCTGTTGT	60.219	369
FSs30	>2DL_9789517	(TTTA)4	Forward	GCCTTGCCAGATCAATAACCTA	60.459	
			Reverse	GCATGTGAGGATTTTAGCAACA	60.138	259
FSs31	>2DL_1060731	(CA)5	Forward	GTGCATTTGTGTTTGGAAGCTA	60.173	
			Reverse	GGAACCAGATAGCGATGAGAAG	60.228	142
FSs52	>2DL_9840482	(CTT)4	Forward	CAATGCTCAAGACTGATTCCAC	59.740	
			Reverse	GCCATTACATCGCTAACTACCC	59.890	379
FSs53	>2DL_9887325	(TTGTA)3	Forward	TGGTCTGTCTGTCTATCCAGA	59.867	
			Reverse	TTGTTTTCTCCCAGTTGTTCT	60.012	385
FSs54	>2DL_9887325	(GAG)8	Forward	TTGAAGATCGCTAAGAGGAAGC	60.116	
			Reverse	TAGTGAGGGATAGAGAGGGCAG	59.864	337
FSs58	>2DL_9843051	(TTG)6	Forward	AACAGGCATTGACACCACTATG	59.920	
			Reverse	GAGCACATTTTATTGGGTTCTT	60.360	317
FSs59	>2DL_9851458	(AT)7	Forward	CAGCATGTGTCTGGGTTGTATT	59.920	
			Reverse	TGTCACCTTTGATCTCACCATC	59.973	311
FSs60	>2DL_9869753	(T)10	Forward	TATTGCTGATGTGGATAGGCTG	60.117	
			Reverse	GGACGGTGGTCTAATGTTGATT	60.117	264
FSs61	>2DL_9884163	(TG)8	Forward	AAGGTGCAATACCACGACTCT	60.061	
			Reverse	CTGCCTCAACCTAACAATAGCC	60.149	313
FSs62	>2DL_9885935	(T)10	Forward	ATTCTGTTGGTGCTGAAATGTG	60.037	
			Reverse	AGTCTTTCGGAGGTGCTCATAG	59.907	250
FSs63	>2DL_9910443	(T)10	Forward	AGAAAACCGTGACTCGTGAAA	59.766	
			Reverse	CAGTCTTCCTTAGCTTTTCGATCA	60.028	186
FSs64	>2DL_9910443	(AAAGC)2	Forward	GACAAGCTGTTTTGCATTTAC	59.797	
			Reverse	ATCGCCCAAGGTTTAAGGTATC	60.545	211
FSs65	>2DL_9770934	(CACCA)2	Forward	CACCAATTCCATGTCTAGCAAA	59.996	
			Reverse	TGCAGTGGTATGCTTCTTTCTT	59.044	316
FSs66	>2DL_9770934	TGTTG 2	Forward	CATCTCTACATCACCCAGCTCC	61.038	
			Reverse	CTGCTGAACACCAAGAACAAGA	60.465	330

Tabla Anexo 4: Matriz básica de datos de marcadores moleculares para mapeo del gen *LrSV1*. Evaluación de la población de RILs con los 9 SSRs (Columnas 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12) previamente asociados por BSA al gen *LrSv1* y 1 marcador diseñado (FSs70) (Columna 11) mediante herramientas genómicas. El número “1” corresponde a los alelos pertenecientes a Sinvallocho y “0” a aquellos correspondientes a Gamma6. La columna 1 corresponde al número de individuo. La columna 6 corresponde a la reacción fenotípica frente a la infección con la raza de roya que identifica al gen donde R es Resistente y S Susceptible.

	cfd51	gdm35	gwm455	gdm5	gwm296	<i>LrSV1</i>	gwm261	wmc503	cfd53	FSs70	wmc25
1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
4	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	R	1	1	0	1	1
6	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
7	1	1	1	1	1	R	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
9	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
10	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
11	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
12	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
13	1	1	1	1	1	R	1	1	1	9	1
14	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
15	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
16	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	0
17	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
18	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
19	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
20	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
21	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
22	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
23	0	0	0	0	0	R	0	0	0	0	0
24	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
25	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
26	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
27	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
28	1	1	1	1	1	R	1	0	0	1	1
29	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
31	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
34	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
35	9	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
36	1	0	0	0	1	R	1	1	1	1	0
37	0	1	1	1	1	S	0	1	0	0	1
38	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
39	1	1	1	1	1	R	1	1	9	1	1
40	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
41	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
42	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
43	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
44	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
45	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
46	9	0	0	0	0	S	1	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	S	0	0	1	0	0
48	1	1	1	1	1	R	1	1	0	1	1
49	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	S	0	0	1	0	0
51	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
52	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0

53	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
56	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
57	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
58	0	0	0	0	1	S	1	1	1	1	1	1
59	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
60	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
61	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
62	0	0	1	0	0	S	0	0	0	0	0	0
63	1	1	0	1	1	R	1	1	1	1	1	1
64	1	1	1	1	0	S	0	0	0	0	0	0
65	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
66	1	0	0	1	1	R	1	1	1	1	1	1
67	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
68	0	1	0	1	1	R	1	1	1	1	1	1
69	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	0
70	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
71	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	0
72	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
73	1	0	1	0	1	R	1	1	1	1	1	1
74	1	1	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
75	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
76	1	1	1	1	1	R	1	1	1	0	1	1
77	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
78	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
79	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
80	1	1	1	1	1	R	1	1	0	1	1	1
81	1	1	1	1	1	R	1	0	0	1	1	0
82	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
83	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
84	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
85	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
86	1	0	1	0	1	R	1	1	1	1	1	1
87	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
88	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
89	0	0	0	0	0	S	1	1	1	0	1	1
90	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
91	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
92	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0	0
93	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
94	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
95	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
96	1	1	0	1	1	R	1	1	1	1	1	1
97	9	0	0	0	0	S	0	9	0	0	9	9
98	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
99	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
100	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
101	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
102	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
103	0	0	0	0	0	S	0	0	1	1	0	0
104	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
105	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
106	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
107	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
108	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1	1
109	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
110	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
111	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
112	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9	9
113	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
114	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
115	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
116	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
117	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1	1
118	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9	9
119	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0	0

120	1	0	1	1	0	S	0	0	0	0	0
121	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
122	1	0	1	1	1	R	1	1	0	1	1
123	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
124	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
125	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
126	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
127	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
128	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
129	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
130	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
131	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
132	9	1	1	0	0	R	9	0	9	1	1
133	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	9
134	0	0	1	1	1	R	1	1	1	0	9
135	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
136	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
137	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
138	1	1	1	1	1	R	1	0	0	1	0
139	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	9
140	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
141	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
142	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
143	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
144	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
145	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
146	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
147	0	0	1	1	1	R	1	0	1	1	1
148	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
149	0	0	0	0	0	S	1	1	1	0	1
150	0	0	0	0	1	S	0	1	0	0	0
151	1	1	1	1	1	R	1	0	0	9	0
152	0	0	1	0	0	S	0	1	0	0	0
153	1	1	1	1	1	R	1	0	1	1	1
154	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
155	9	9	9	1	0	S	0	1	0	0	9
156	0	0	0	0	1	R	1	1	1	1	1
157	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
158	0	0	0	0	0		0	1	0	0	1
159	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
160	1	1	1	1	1	R	1	0	1	1	9
161	1	1	0	0	0	S	0	0	0	0	0
162	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
163	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
164	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
165	1	1	1	9	1	R	1	1	1	1	1
166	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
167	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
168	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
169	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
170	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
171	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
172	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
173	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	0
174	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
175	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
176	1	1	1	1	1	R	0	1	1	1	1
177	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
178	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
179	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	9
180	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
181	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1
182	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
183	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
184	1	0	1	1	1	R	1	1	9	1	1
185	1	1	1	1	1	R	1	1	1	0	1
186	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0

187	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
188	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
189	1	1	9	1	9	S	0	1	9	9	9
190	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
191	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
192	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
193	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
194	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
195	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
196	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
197	1	1	1	1	1	R	0	0	0	0	1
198	0	0	0	0	1	R	1	1	1	1	1
199	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
200	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
201	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
202	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
203	1	1	1	1	1	R	0	0	0	9	0
204	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
205	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
206	1	0	0	0	0	S	0	9	0	0	0
207	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
208	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
209	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
210	1	1	0	0	0		0	0	1	0	0
211	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
212	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
213	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
214	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
215	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
216	0	0	0	0	1	R	1	0	0	1	1
217	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1
218	1	1	1	1	1	R	0	0	0	1	0
219	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
220	1	1	1	1	1	R	0	0	0	9	0
221	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
222	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
223	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
224	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
225	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
226	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
227	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
228	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
229	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
230	1	1	1	1	1	R	1	0	1	1	1
231	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
232	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
233	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
234	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
235	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
236	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
237	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
238	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
239	1	1	1	1	1	R	0	0	0	1	0
240	1	0	1	0	0	S	0	0	0	0	0
241	1	1	1	1	1	R	0	0	0	1	0
242	0	0	0	0	0	S	1	1	1	1	1
243	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
244	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
245	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
246	9	1	0	1	9	S	0	1	9	0	9
247	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
248	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
249	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
250	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
251	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
252	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
253	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1

254	1	0	0	0	1	R	1	1	1	1	1
255	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1
256	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
257	9	1	1	1	1	R	1	1	1	1	9
258	0	0	0	0	0	S	1	1	1	1	0
259	0	0	1	1	1	R	1	1	1	1	1
260	0	0	1	1	1	S	1	1	1	1	0
261	0	0	0	0	0	S	0	0	1	0	0
262	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
263	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
264	1	1	0	0	0	S	0	0	0	0	0
265	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
266	9	1	1	1	1	R	1	9	9	9	9
267	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
268	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
269	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
270	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	1
271	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
272	0	0	0	0	1		1	1	1	1	1
273	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
274	0	0	0	0	0	S	1	0	0	0	0
275	1	9	1	1	1	R	1	1	1	1	1
276	0	0	0	0	0	S	0	0	0	1	0
277	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
278	9	1	1	0	0	S	0	9	0	1	9
279	0	0	0	0	0	S	0	0	0	9	9
280	0	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
281	1	1	0	0	0	S	0	0	0	1	0
282	0	0	1	1	1	R	1	1	1	0	1
283	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
284	0	0	0	9	0	S	0	0	1	0	0
285	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
286	1	1	1	1	1	R	1	1	1	1	1
287	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
288	0	0	0	1	0		0	1	1	0	0

Tabla Anexo 5: Identificación y diseño de marcadores moleculares ligados al gen LrSV1 utilizando información genómica. La columna 1 corresponde al marcador en trigo, la columna 2 al transcripto de *B. Dystachion* u *O. Sativa* identificado, las columnas 3, 4 y 5 corresponden al contig de trigo del cromosoma 2DL y la columna SSR corresponde al nombre del primer diseñado.

Marcador en trigo	Transcripto B.d	Contig en trigo	Contig en trigo	Contig en trigo		SSRs diseñado
gdm5	Bd5g02480	5354147	223347			
	Bd5g02490	5362023				
	Bd5g02500	5362023				
	Bd5g02510	5358861				
	Bd5g02520	5358861				
	Bd5g02625	5388425	5377758			
	Bd5g02730	5319819				FSs68, FSs69
	Bd5g02740	5330992	5360430			
	Bd5g02750	791522	1056254	5319819		
	Bd5g02760	5319819				
gwm296	Bd5g02770	5319819				
	Bd5g02780	5341494				
	Bd5g02790	5389440	5346522			
	Bd5g02800	5389022				
	Bd5g02810	531382				
	Bd5g02820	5389487				
	Bd5g02830	5358877	5317970	5362250	5379411	FSs67, FSs18
	Bd5g02840	5389775	5344563			
	Bd5g02850	5388441	5324611	5324610	5389102	FSs71, FSs10
	Bd5g02860	5338366				FSs4, FSs5 FSs6, FSs8, FSs9
	Bd5g02870	169559				FSs9
	Bd5g02890	5343763				FSs72
	Bd5g02900	5390754	5318424			
	Bd5g02906	5384661	5383636			
	Bd5g02912	5383636				
	Bd5g02920	5342238				FSs19
	Bd5g02940	5342673				
	Bd5g02950	5390456				FSs20
	Bd5g02957	5355205	5350508			FSs21
	Bd5g02967	5390456				
DG087	Bd5g02980	5364496	5352574			FSs73
	Bd5g02990	5324565	5388432			FSs70

Transcripto B. d	Transcripto O. s	Contig en	Contig en	SSR
Bd5g02500	OS07g045940	5331929	5330259	FSs74
	OS07g046220	5359768		
	OS07g046790	5330991		FSs75
	OS07g047250	5368435		
	OS07g047430	5341072	5341071	FSs76

Diseño de SSRs para el gen *LrSV1* usando el programa WEBSAT

Tabla anexo 6: Marcadores SSRs diseñados en la región del gen *LrSV1* usando el programa WEBSAT. La columna 1 corresponde al nombre del marcador, la columna 2 muestra el número de *contig* sobre el que se diseñó el marcadores SSRs. la columna 3 describe el microsatélite y la columna 5 la secuencia de los *primers* diseñados, la columna 6 la temperatura de *annealing* y la Columna 7 el tamaño esperado.

Marcador	Contig	Rep	primer		Tm	Product Size
FSs9	169559	AGAAAGAA AGAA	Forward	GCAGCGAGTTATTAGCCAAACT	59.945	
			Reverse	AAAGGACCACCCCTACATTCT	60.109	254
FSs67	531797	(T)10	Forward	ACTTATGGGTTTCAGGCTTTCA	60.001	
			Reverse	GTGAACACAAATCTCCGTCAA	60.015	331
FSs68	531981	AATCAATC AATC	Forwar	ACGCAAATAAGAAGACTCGTGG	60.661	
			Reverse	TCATGCGCCAATAATAAGTCAG	60.116	337
FSs69	531981	TCTCT CTCTC	Forward	GAAATGTGGCTCTTAAACTGGC	60.136	
			Reverse	AAACTAGCAGCAGCACACAGAA	60.117	217
FSs70	532456	AAAAAAA AAAA	Forward	CACAAATGTTGAAAAAGTCC	60.393	
			Reverse	GGATGTTAGTCAGGGCGATCTA	60.471	160
FSs71	532461	GTGTGTGT GTGTGTGTGT	Forward	ACTGGTAATCGCCATCAGAGAC	60.525	
			Reverse	GACAGTTCAATACACACACGCG	60.532	192
FSs10	532461	GTGTGTGT GTGT	Forward	GACTGTGCTAATCGTGTCTATCA	58.804	
			Reverse	ATGCGATCATATACTGCCTCA	58.228	151
FSs4	533836	ATATATA TAT	Forwar	GTTTCAAGTGCCGGTTTCTACT	59.696	
			Reverse	AAGTGATGTGGCTAGGTTGGTT	59.928	156
FSs5	533836	ATATA TATATATATATAT	Forwar	CCAGTAACCACGGATTATGTC	56.957	
			Reverse	TTTTGAATGAGGCAACCAC	57.068	444
FSs6	533836	TTTATTTA TTTA	Forward	GGACGACATTCTATAGAAAATCTGG	61.040	
			Reverse	CGAAATAAGACAACAAGTAGGGG	60.712	279
FSs7	533836	TTCTTC TTCTTC	Forwar	GGACGACATTCTATAGAAAATCTGG	61.040	
			Reverse	CGAAATAAGACAACAAGTAGGGG	60.712	279
FSs8	533836	AGTAAGTAA GTA	Forward	GGACGACATTCTATAGAAAATCTGG	61.040	
			Reverse	CGAAATAAGACAACAAGTAGGGG	60.712	279
FSs19	534223	CTCCTCC TCCTCTC	Forwar	GTACGCACCTGTAGCTCTGC	58.705	
			Reverse	GTCCTTTCATTCTTCTCCTCAC	59.466	312
FSs72	534376	AAATAAATAAAT	Forward	TCCGTCTGATTGAGCTGTATGT	59.763	
			Reverse	AAAATGAGCAAGTAGCAGAGGC	60.048	388
FSs21	535520	TCTCTCTCTC	Forward	CCCCTGTTCAATGGATTATTTG	60.412	
			Reverse	GGAGAGAAGCAGAGAGCGATAC	59.763	257
FSs18	536225	(ATTA)3	Forward	ACCAAGCACGGAGATAAGAGAG	59.907	
			Reverse	TATACTAACCGGGACAGATGGG	60.089	256
FSs73	536449	(CCG)4	Forward	GTCGTCCCGAATTTTGTTTGT	61.121	
			Reverse	CTTTGAATGAGATGGCTCCCT	60.584	357
FSs20	539045	(TA)5	Forwar	TTAGGAACGGAGGGAGTATGAA	59.960	
			Reverse	CACATGCGAAGAAGTAGCAAAC	59.948	337
FSs74	533025	(AGA)18	Forward	CTTAGCTTATTTTCTCTTAATGGC	60.027	
		(TCT)4	Reverse	AGTAGACTCCATCAACGCAAGC	60.821	275
FSs75	533099	(TG)6	Forwar	TCTCGAATCTCTCTACGACGCT	60.670	
			Reverse	TGAAGATCAGGGTCACTTTCG	60.239	265
FSs76	534107	(GT)6	Forward	CTTGTGATTGGGTTGGGATATT	59.945	
			Reverse	ATGCCTTGCTTCGTAAGAGAAC	59.919	340

Tabla anexo 7: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* en la variedad comercial Onix. Las columnas 1, 4 y 7 indican cada individuo portador del gen LrG6 analizado en relación a los marcadores Xgwm261 y Xgwm533. En las columnas correspondientes a los marcadores el número 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde.

INDIVIDUO	gwm533	gwm261	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	INDIVIDUO	gwm533	gwm261
1	1	NC	33	1	NC	65	2	2
2	1	NC	34	2	1	66	2	1
3	2	1	35	1	NC	67	2	2
4	1	NC	36	2	2	68	2	1
5	2	2	37	2	2	69	1	NC
6	1	NC	38	1	NC	70	1	NC
7	1	NC	39	2	2	71	2	2
8	1	NC	40	2	2	72	2	1
9	2	1	41	2	1	73	2	1
10	1	NC	42	1	NC	74	2	1
11	1	NC	43	1	NC	75	1	NC
12	1	NC	44	1	NC	76	2	1
13	2	2	45	1	NC	77	1	NC
14	2	1	46	1	NC	78	2	2
15	1	NC	47	2	1	79	2	2
16	2	1	48	1	NC	80	1	NC
17	1	NC	49	1	NC	81	1	NC
18	1	NC	50	1	NC	82	2	1
19	2	1	51	2	1	83	2	2
20	2	1	52	1	NC	84	1	NC
21	2	1	53	2	2	85	2	1
22	2	1	54	2	1	86	1	NC
23	1	NC	55	1	NC	87	1	NC
24	1	NC	56	1	NC	88	1	NC
25	1	NC	57	1	NC	89	2	1
26	2	2	58	2	2	90	2	1
27	1	NC	59	1	NC	91	2	1
28	2	1	60	1	NC	92	1	NC
29	1	NC	61	1	NC	93	1	NC
30	2	2	62	2	2	94	2	2
31	1	NC	63	2	1	Onix	1	1
32	1	NC	64	2	2	RIL46	0	0

Tabla anexo 8: SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. Onix como las variedades comerciales susceptibles y RIL46 como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donor y 2 para Heterocigota. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = \frac{\text{cant } 1 + (0.5 \text{ cant } H)}{\text{cant } 1 + \text{cant } H + \text{cant } 0}) \times 100$)

	5	13	26	30	37	39	40	53	58	62	64	65	67	71	78	79	83	94	36	On	R46
gwm135	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	2	1	9	2	1	2	1	1	0
gwm382	1	1	1	1	9	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	0
gwm332	2	2	2	1	1	2	2	2	1	9	2	1	9	9	9	2	2	2	9	1	0
gwm259	1	2	2	2	9	9	1	1	2	1	1	1	2	2	2	9	1	1	1	1	0
gwm273	1	1	9	9	9	1	2	2	1	2	1	1	1	9	9	9	9	2	2	1	0
gwm146	9	9	9	9	1	1	1	1	1	1	1	9	9	9	9	9	1	1	1	1	0
barc8	1	2	2	2	2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	2	2	1	0
barc334	2	2	2	1	9	9	9	9	1	2	2	2	1	2	1	2	2	2	1	1	0
gwm174	1	1	1	1	1	9	1	1	1	2	1	9	1	2	1	1	2	1	1	1	0
barc106	1	1	2	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0
gwm164	2	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	9	1	1	0
gwm293	1	1	1	1	9	9	1	1	1	2	2	2	1	1	1	2	9	9	9	1	0
gwm350	2	2	2	2	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	9	1	0
gwm247	1	2	2	9	9	9	2	2	1	9	9	9	2	1	1	9	9	1	2	1	0
wmc216	1	1	1	1	9	1	2	9	9	2	1	9	1	2	1	1	1	2	1	1	0
gwm261	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0
gwm604	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1?	1?	2	2	2	2	2	2	1	9	1	0
gwm508	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	0
gwm624	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	2	1	1	0
gwm120	2	2	2	2	2	2	2	1	9	9	9	9	9	2	1	2	2	9	1	1	0
gwm389	1	1	1	1	2	9	9	9	2	9	9	9	2	2	2	2	2	9	9	1	0
gwm469	2	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	2	1	0
barc3	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	9	2	1	2	2	1	1	1	1	1	0
barc130	9	1	2	2	1	1	2	1	1	9	1	1	2	1	2	1	1	2	1	1	0

Tabla anexo 9: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2*. Las columnas 2 y 6 indican cada individuo portador del gen *LrG6* analizado en relación a los marcadores Xgwm261 y Xgwm533. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 5 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

Selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261		INDIVIDUO	gwm533	gwm261
36	1	2	1	67	65	1	1
	2	2	1		66	2	2
	3	1	2		67	2	1
	4	1	2		68	1	1
	5	2	1		69	1	1
	6	2	1		70	1	2
	7	2	2		71	2	1
	8	2	2		72	2	1
	9	1	2		73	2	2
	10	1	2		74	2	1
	11	1	1		75	2	2
	12	1	1		76	2	1
	13	1	2		77	1	1
	14	2	2		78	1	2
	15	2	2		79	9	2
	16	2	2		80	2	1
	17	2	2		81	2	2
	18	1	2		82	2	2
	19	2	1		83	1	2
	20	2	2		84	1	2
	21	1	1		85	2	2
	22	2	2		86	2	2
39	23	2	1	87	2	2	
	24	2	1	113	1	2	
	25	1	2	114	1	2	
	26	2	2	115	1	2	
53	27	1	2	116	1	2	
	28	1	2	117	1	1	
	29	2	1	118	2	2	
	30	1	1	119	1	2	
	31	1	1	120	1	1	
	32	1	1	121	NC	2	
	33	2	1	122	1	1	
	34		1	123	1	2	
	35		1	124	2	2	
	36	1	1	125	2	1	
	37	2	2	126	1	2	
	38	1	2	127	1	2	
	39	1	2	128	2	2	
	40		1	129	1	1	
	41	2	1	130	1	1	
	42	2	1	131	1	1	
	43			132	2	2	
	44	2	1	133	2	1	
	45		2	134	1	1	
	46	2	2	135	1	1	
	47			136	2	2	
	48	1	2	137	1	2	
	49	2	1	138	2	2	
	50	1	1	139	1	1	
	51	2	1	140	1	1	
	52	1	2	141	2	2	
	53	1	1	142	1	2	
	54	2	2	143	1	1	
	55	1	1	144	2	1	
	56	2	2	145	2	1	
	57	2	1	146	2	1	
	58	2	1	147	2	1	

	59	2	1		148	1	2
	60	2	2		Onix	1	1
	61	2	1		Ril 46	0	0
	62	2	2				
	63	1	1				
	64	2	1				

Tabla anexo 10: SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. Onix como la variedad comercial susceptible y RIL46 como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = \frac{\text{cant } 1 + (0.5 \text{ cant } H)}{\text{cant } 1 + \text{cant } H + \text{cant } 0} \times 100$

Sel.BC1	36									39		53										67												
		7	8	14	15	16	17	20		26		46	54	56	62	73	75	81	85	87		118	124	136	138	141								
gwm99		2	2	2	1	2	1	2		1		9	9	9	9	1	1	1	1	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm135		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0					
barc158		2	2	2	2	2	2	2		1		2	2	2	2	2	1	1	1	2		1	2	2	2	2	2	1	0					
gwm357		1	1	9	1	1	1	1		1		9	9	9	9	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm403		1	1	2	2	2	1	1		1		9	9	1	1	1	1	9	1	1		1	1	9	1	2	1	0						
gwm47		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0						
gwm71		9	1	2	1	9	1	1		1		1	1	1	1	2	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm382		1	1	1	1	1	1	1		9		1	1	1	1	1	1	1	1	1		2	1	2	1	2	1	0						
gwm312		2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm374		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0						
barc18		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0					
wmc597		1	1	2	1	1	1	1		1		1	1	2	2	2	1	1	2	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm296		2	1	2	1	1	2	2		1		2	1	1	2	2	2	1	2	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
barc124		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	0					
gwm369		1	1	1	1	1	1	2		2		1	1	2	2	1	1	2	1			1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm32		2	2	1	1	2	1	2				9	9	1	9	2	1	1	9	1		1	9	1	1	1	1	1	0					
barc19		2	2	1	1	2	1	2		1		1	1	2	2	2	1	9	2	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm566		1	1	1	1	1	1	1		2		2	2	1	2	2	2	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
wmc54		1	2	2	2	2	2	1		2		2	2	1	2	2	2	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
barc218		9	1	1	1	1	1	1		9		1	1	1	2	9	2	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm610		2	1	1	1	1	1	2		2		1	2	2	2	2	2	1	1	1		1	1	9	1	1	1	1	0					
gwm397		2	1	1	1	1	1	2		1		1	2	2	2	2	2	1	1	2		1	1	2	9	1	1	0						
barc308		1	1	1	1	1	1	1		1		1	1	1	1	1	1	1	2	2		1	1	1	2	2	1	0						
gwm427		2	9	9	1	2	1	2		2		9	1	1	1	1	1	1	1	1		2	2	1	1	2	1	0						
gwm570		1	2	2	2	2	1	1		1		9	1	1	1	1	9	9	1	9		1	9	1	1	1	1	1	0					
gwm334		1	1	1	1	1	1	1		9		1	1	2	2	1	1	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	0					
gwm573		2	2	1	1	1	1	2		9		1	2	2	2	9	2	2	2	1		1	2	1	1	1	1	1	0					
gwm52		1	1	1	1	1	1	1		9		1	2	1	2	1	2	1	2	1		1	1	1	1	1	1	1	0					
Cant.1	15	18	17	23	18		24	17	5	17	5	18	16	16	11	14	19	17	19	13	4	25	22	22	25	21	28	0						
Cant. H	11	9	9	5	9	4	11	1	6	1	5	8	10	14	11	8	8	8	8	14	1	3	4	4	2	6	0							

Tabla 11: Resultado obtenido de la autofecundación para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2*. Las columnas 2 y 7 indican cada individuo portador del gen *LrG6* analizado en relación a los marcadores *Xgwm261* y *Xgwm533*. En las columnas correspondientes a los marcadores el número 1 indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 6 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

Selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	barc159		INDIVIDUO	gwm533	gwm261	barc159
	1	2	1	0		196	NC	1	0
15	2	2	2	0		197	NC	2	0
	3	2	2	0		198	NC	2	0
	4	0	0	0		199	9	0	0
	5	1	2	0		200	NC	2	9
	6	2	2	0		201	NC	2	0
	7	2	0	0		202	NC	2	9
	8	2	2	0		203	NC	2	0
	9	0	2	0		204	NC	2	9
	10	1	0	0		205	NC	1	0
	11	0	0	0		206	NC	2	0
	12	0	0	0		207	NC	2	0
	13	2	0	0		208	NC	1	9
	14	0	2	0		209	2	0	0
	15	0	0	0		210	NC	2	0
	16	2	2	0		211	NC	2	0
	17	0	2	0		212	NC	1	0
	18	0	2	0		213	NC	2	0
	19	2	2	0		214	NC	1	0
	20	2	2	0		215	2	0	0
	21	0	0	0		216	NC	2	0
	22	0	0	0		217	NC	2	0
	23	0	0	0	118	218	NC	2	0
	24	0	0	0		219	NC	2	0
	25	2	1	0		220	NC	2	0
	26	2	2	0		221	NC	2	0
	27	2	2	0		222	NC	1	0
	28	2	1	0		223	NC	0	9
	29	2	2	0		224	NC	1	0
	30	2	2	0		225	NC	2	9
	31	2	1	0		226	NC	2	0
	32	2	1	0		227	NC	1	0
	33	0	2	0		228	2	0	0
	34	2	2	0		229	NC	1	9
	35	2	0	9		230	NC	2	9
	36	1	2	0		231	NC	2	9
	37	0	1	0		232	NC	2	0
	38	2	2	9		233	0	0	0
	39	2	2	0		234	2	0	0
	40	2	2	9		235	NC	2	0
	41	2	2	0		236	NC	2	0
	42	2	2	0		237	NC	2	9
	43	0	1	0		238	NC	1	0
	44	1	0	0		239	NC	2	0
	45	1	2	0		240	NC	9	9
	46	9	2	0		241	0	2	0
	47	1	2	0		242	2	1	9
	48	2	2	0		243	0	2	0
	49	0	0	0		244	1	2	0
	50	2	2	0		245	1	1	0
	51	2	1	1		246	0	1	0
	52	2	2	1		247	1	2	0
	53	0	2	1		248	2	9	9
	54	2	2	9		249	0	2	0
	55	2	2	9		250	1	2	9
	56	2	2	0		251	1	1	0

	57	9	1	0		252	0	2	0
	58	2	0	0		253	2	9	9
	59	2	1	9		254	2	2	0
	60	2	2	0		255	0	1	9
	61	0	0	0		256	2	0	9
	62	2	2	0		257	2	0	9
	63	2	2	0		258	1	2	0
	64	0	0	0		259	1	0	0
	65	2	0	0		260	1	2	0
17	66	0	2	0		261	1	2	0
	67	0	2	0		262	2	1	0
	68	2	1	9		263	1	9	0
	69	1	9	9		264	2	1	0
	70	2	2	0		265	1	9	0
	71	2	2	0		266	2	2	0
	72	1	2	0		267	2	2	0
	73	2	2	0		268	2	9	0
	74	0	2	0		305	0	2	0
	75	2	0	0	136	306	0	2	9
	76	2	0	0		307	2	2	0
	77	2	0	0		308	2	1	0
	78	0	2	9		309	2	0	0
	79	1	0	0		310	1	0	2
	80	2	2	9		311	2	1	0
	81	2	2	0		312	0	0	2
	82	1	9	0		313	2	2	0
	83	1	0	0		314	1	1	0
	84	0	0	0		315	2	2	0
	85	2	2	0		316	2	0	0
	86	1	0	0		317	0	9	0
	87	2	2	0		318	2	0	2
	88	9	2	0		319	2	9	0
	89	1	1	0		320	2	2	0
	90	9	1	9		321	0	2	0
	91	2	2	9		322	1	1	2
	92	0	1	0		323	2	0	0
	93	2	1	9		324	2	2	0
	94	0	2	0		325	0	2	0
	95	9	2	9		326	2	0	2
	96	2	1	9		327	0	1	0
	97	2	0	9		328	0	2	0
	98	2	0	0		329	0	1	0
	99	2	0	0		330	1	1	0
	100	1	0	0		331	1	0	0
	101	2	2	9		332	1	2	0
	102	2	0	9		333	1	2	2
	103	1	2	0		334	1	1	2
	104	1	1	0		335	9	2	2
	105	0	2	2		336	0	0	2
	106	2	2	9		337	1	1	0
	107	2	2	9		338	1	1	2
	108	2	1	2		339	2	1	2
	109	2	2	2		340	1	2	2
26	110	1	1	9		341	0	2	2
	111	2	0	0		342	0	1	0
	112	0	2	9		343	9	9	9
	113	1	2	2		344	2	0	0
	114	0	2	2		345	0	0	0
	115	2	2	2		346	2	2	2
	116	0	0	0		347	0	1	0
	117	2	2	2		348	9	2	9

	118	0	2	2	138	349	0	2	0
	119	0	2	2		350	0	2	0
	120	2	0	0		351	9	9	9
	121	0	2	2		352	1	1	0
	122	0	1	2		353	0	2	0
	123	0	1	9		354	1	2	0
	124	2	2	0		355	2	2	0
	125	1	2	2		356	2	2	2
	126	2	0	2		357	1	0	2
	127	2	9	9		358	2	2	2
	128	1	2	2		359	9	1	2
	129	0	2	2		360	9	0	2
	130	2	0	0		361	2	2	9
	131	2	2	0		362	2	1	0
	132	0	0	2		363	2	1	0
	133	2	2	2		364	2	2	0
	134	2	0	2		365	0	2	2
	135	2	2	2		366	2	0	2
	136	2	2	2		367	0	2	0
	137	0	2	0		368	2	2	0
	138	0	2	2		369	0	2	0
	139	2	1	9		371	0	2	2
	140	0	1	9		372	1	0	0
	141	0	1	0		373	0	2	0
46	142	0	1	0		374	0	0	0
	143	0	0	0		375	9	2	2
	144	1	2	0		376	2	2	2
	145	1	2	0		377	2	2	0
	146	2	1	9		378	0	1	0
	147	1	1	9		379	1	1	0
	148	2	2	0		380	2	0	0
	149	2	2	9		381	2	2	0
	150	0	2	0		382	1	2	0
	151	0	1	0		383	2	2	0
	152	0	2	0		384	0	1	2
	153	1	2	0		385	2	2	0
	154	2	1	0		386	1	1	0
	155	0	2	0		387	2	2	0
	156	1	2	0		388	1	2	0
	157	2	2	0		389	2	2	0
	158	2	2	0		390	2	2	0
	159	2	2	0	141	391	1	2	0
	160	1	0	0		392	2	1	0
	161	2	1	0		393	0	1	0
	162	0	0	9		394	2	1	0
	163	2	1	0		395	2	1	0
	164	2	1	0		396	2	1	0
	165	0	2	0		397	1	0	0
	166	2	2	0		398	1	0	0
	167	0	2	0		399	1	0	0
	168	0	1	0		400	1	1	0
	169	0	1	0		401	0	1	0
	170	2	1	0		402	1	2	0
	171	0	2	0		403	0	2	0
	172	1	2	0		404	2	2	0
	173	1	0	0		405	0	0	0
	174	0	2	0		406	0	0	0
	175	2	1	0		407	9	2	2
	176	1	2	0		408	2	2	0
	177	2	2	0		409	9	2	0
	178	2	1	0		410	9	1	0

	179	0	1	0		411	9	2	0
85	180	2	1	0		412	0	0	0
	181	2	2	0		413	9	0	0
	182	0	2	0		414	0	2	0
	183	0	2	0		415	2	2	0
	184	0	2	0		416	0	2	0
	185	2	1	0		417	2	2	0
	186	1	1	0		418	2	9	0
	187	2	2	0		419	2	2	2
	188	0	1	0		420	2	0	0
	189	0	1	9		421	1	2	0
	190	2	1	0		422	1	1	0
	191	0	1	0		423	1	1	0
	192	2	1	0		424	0	2	0
	193	NC	2	9	Onix	1	1	1	
	194	NC	0	9	Ril46	0	0	0	
	195	NC	1	0					

3.2.2 Introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* y *LrG6*

Tabla anexo12: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2* en la variedad comercial *Relmo Sirirí*. Las columnas 1, 4 y 7 indican cada individuo portador del gen *LrG6* analizado en relación a los marcadores Xgwm261 y Xgwm533. En las columnas correspondientes a los marcadores el número 1 indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde.

INDIVIDUO	gwm533	gwm261	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	INDIVIDUO	gwm533	gwm261
1	1	NC	38	2	2	75	1	NC
2	1	NC	39	2	1	76	9	NC
3	2	2	40	2	1	77	1	NC
4	1	NC	41	1	NC	78	9	NC
5	2	2	42	1	NC	79	2	1
6	1	NC	43	2	1	80	9	NC
7	2	2	44	2	2	81	9	NC
8	2	2	45	1	NC	82	1	NC
9	2	2	46	2	2	83	2	1
10	1	NC	47	1	NC	84	1	NC
11	1	NC	48	2	2	85	1	NC
12	1	NC	49	1	NC	86	2	1
13	2	2	50	1	NC	87	2	2
14	2	2	51	1	NC	88	2	2
15	1	NC	52	2	1	89	1	NC
16	1	NC	53	1	NC	90	1	NC
17	1	NC	54	1	NC	91	1	NC
18	2	1	55	2	1	92	9	NC
19	1	NC	56	1	NC	93	2	2
20	2	2	57	2	1	94	2	2
21	1	NC	58	1	NC	95	1	NC
22	1	NC	59	2	1	96	1	NC
23	2	1	60	2	1	97	1	NC
24	1	NC	61	1	NC	98	9	NC
25	2	1	62	1	NC	99	1	NC
26	2	1	63	1	NC	100	9	NC
27	1	NC	64	1	NC	101	2	1
28	1	NC	65	2	2	102	9	NC
29	2	1	66	1	NC	103	9	NC
30	1	NC	67	1	NC	104	1	NC
31	1	NC	68	1	NC	105	2	1
32	2	1	69	2	2	106	2	1
33	1	NC	70	1	NC	RS	1	1
34	2	1	71	1	NC	RIL46	0	0
35	2	2	72	1	NC			
36	1	NC	73	2	2			
37	1	NC	74	2	2			

Tabla anexo 13: SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las últimas dos columnas de corresponden al parental. R. Siriri como la variedad comercial susceptible y RIL46 como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador , 2 para Heterocigota y 9 para dato faltante. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H) / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0)] \times 100$

	3	5	7	8	9	13	14	20	35	38	44	46	48	65	69	73	74	87	88	93	94	RS	Ril 46
Primer																							
gwm135	1	2	2	2	2	1	2	0	1	1	0	1	1	9	2	2	2	1	1	2	2	1	0
gwm164	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	2	9	1	2	2	1	0
gwm273	1	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	0
wmc216	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	9	1	0
wmc216	1	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	0
wmc147	2	2	1	2	9	2	2	2	1	9	2	9	2	2	2	1	2	2	9	2	2	1	0
gwm558	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	9	1	1	2	2	2	2	1	9	2	1	0
gwm636	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	2	1	0
gwm120	2	9	1	2	9	2	1	1	2	2	1	1	2	1	9	1	2	1	9	2	2	1	0
gwm257	1	1	1	2	2	2	1	1	2	9	1	1	9	1	9	1	2	1	1	1	1	1	0
gwm349	2	2	2	1	2	1	1	2	1	2	9	9	1	1	9	2	9	2	2	1	1	1	0
gwm247	1	1	1	2	2	1	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1	9	1	0
wmc69,1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1	0
wmc78	1	9	2	1	1	1	2	2	1	2	1	9	1	1	1	1	1	2	1	2	2	1	0
barc106	9	9	2	1	2	1	1	2	9	2	1	1	9	2	1	1	1	1	2	2	1	1	0
gwm495	1	1	1	9	1	2	1	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	9	2	2	1	0
wmc622	2	2	2	9	2	1	1	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	9	2	1	0
gwm604	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0
gwm174	2	9	2	1	1	2	1	1	9	2	2	1	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	0
gwm427	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	2	1	0
gwm626	9	2	2	2	1	1	1	2	2	1	9	2	2	1	1	1	2	9	2	1	1	1	0
gwm469	1	1	1	9	2	2	2	1	9	1	1	2	1	2	2	2	1	2	2	1	1	1	0
gwm332	2	1	1	2	2	1	2	2	2	1	1	9	1	1	9	1	2	9	1	2	2	1	0
gwm400	9	1	9	9	2	9	1	2	1	9	9	1	1	1	1	1	9	9	1	2	2	1	0
gwm46	1	1	2	9	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	9	2	2	1	1	0

Tabla anexo 14: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2*. Las columnas 2 y 6 indican cada individuo portador del gen *LrG6* analizado en relación a los marcadores Xgwm261 y Xgwm533. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 5 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

Selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261
35	9	1	2		48	1	1
	10	1	1		49	1	2
	11	1	1		50	2	1
	12	2	2		51	1	2
	13	2	1		52	1	2
	14	2	1		53	1	2
	15	1	1		54	1	1
	16	2	1		55	2	2
	17	2	1	44	56	1	1
	18	2	2		57	1	2
	19	2	2		58	1	2
	20	2	1		59	2	1
	21	2	2		60	2	1
	22	1	1		61	2	1
	23	1	2		62	1	1
	24	2	2		63	1	2
	25	2	2		64	2	1
	26	2	2		65	2	2
	27	2	1		66	1	2
	28	2	2		67	1	2
	29	1	1		68	1	1
	30	1	2		69	2	2
	31	1	1		70	1	1
	32	1	2		71	2	2
	33	1	2		72	2	2
	34	2	1		73	1	2
	35	1	2		74	2	2
	36	2	1		75	2	2
	37	2	2		76	2	2
	38	1	2		77	2	2
	39	1	1		78	2	1
	40	2	1		79	1	1
	41	2	1		80	1	1
	42	2	1		81	1	2
	43	2	2		82	1	
	44	1	1		83	1	2
	45	2	2		Siriri	1	1
	46	2	1		Ril 46	0	0
	47	1	2				

Tabla anexo 15: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las últimas dos columnas de corresponden al parental R. Siriri como la variedad comercial susceptible y RIL46 como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador , 2 para Heterocigota y 9 para dato faltante. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = [cant\ 1 + (0.5\ cant\ H) / (cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0)] \times 100$

	35								44											
		12	18	24	26	28	37	45		56	65	69	71	72	74	75	76	77	RS	R46
Primer		3	4	5	6	7	8	9		10	11	12	13	14	15	16	17	18		
gwm99		1	1	1	2	9	9	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc158		1	1	1	1	2	2	2		2	2	9	1	1	1	1	1	2	1	0
barc213		1	1	1	1	9	9	1		1	1	1	1	1	1	1	9	9	1	0
gwm18		1	1	1	1	1	1	9		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm47		1	1	2	9	2	2	2		1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc212		2	2	2	1	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm312		2	2	2	1	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm388		9	2	1	1	9	9	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc18		1	1	2	1	2	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
wmc764		1	1	2	2	2	1	1		2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	0
wmc474		1	1	2	1	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
wmc69		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	9	2	2	1	1	1	0
wmc78		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	9	2	1	1	1	0
wmc54		2	2	2	2	1	2	2		2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	0
barc135		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc8		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc343		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm513		1	1	1	1	2	2	2		2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc308		2	2	1	2	2	1	2		1	1	1	2	1	9	1	1	2	1	0
gwm174		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	2	1	0
barc130		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm427		1	1	1	9	1	9	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm570		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc3		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm371		9	1	1	9	1	1	1		1	2	2	2	1	1	1	1	2	1	0
gwm626		1	1	2	1	1	9	2		9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm508		1	2	2	2	1	1	2		1	9	9	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm350		1	9	1	1	9	9	9		1	2	2	9	2	1	1	1	9	1	0
psp3000		1	1	1	1	1	1	1		1	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0
gwm52		1	1	1	1	1	1	1		1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	0
gwm153		1	1	2	2	1	1	1		1	2	1	1	2	1	2	1	9	1	0

Tabla anexo 16: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión de los genes *LrSV1*, *LrSV2*. Las columnas 2 y 7 indican cada individuo portador del gen *LrG6* analizado en relación a los marcadores *Xgwm261* y *Xgwm533*. En las columnas correspondientes a los marcadores el número 1 indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 6 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	barc159	selecta	INDIVIDUO	gwm533	gwm261	barc159
sel 18	1	2	2	0		122	0	2	0
	2	2	2	0		123	2	1	0
	3	2	1	0		124	0	0	0
	4	9	2	0		125	1	1	0
	5	2	1	0		126	1	0	0
	6	2	2	0		127	1	2	0
	7	2	1	0		128	2	2	0
	8	1	2	0		129	0	2	0
	10	2	0	0		130	2	0	0
	12	2	2	0		131	0	2	0
	13	0	2	0		132	0	1	2
	14	0	0	9		133	0	0	0
	15	9	0	0		134	2	1	0
	16	2	2	9		135	2	2	0
	17	9	0	0		136	0	2	0
	18	9	0	9	sel 74	137	2	2	0
	19	2	1	0		138	2	2	0
	20	1	2	0		139	2	1	2
	21	2	2	0		140	0	2	0
	22	2	0	9		141	2	2	0
	23	0	1	9		142	2	0	0
	25	2	9	9		143	2	0	0
	26	2	1	0		144	0	0	0
	27	1	2	0		145	2	0	0
	28	0	1	0		146	2	0	9
	29	2	1	0		147	0	1	9
	30	2	0	0		148	1	1	2
	31	2	2	0		149	1	1	0
	32	1	2	0		150	1	1	2
	33	2	1	0		151	1	1	2
	34	1	2	0		152	1	1	2
	35	1	1	0		153	1	1	2
	36	2	0	9		154	1	0	0
	37	2	1	0		155	1	1	2
	38	2	2	0		156	1	0	2
	39	2	2	0		157	1	1	0
	40	2	0	0		158	1	2	0
	41	2	0	0		159	2	2	0
	42	0	9	0		160	1	2	0
	43	9	0	0		161	2	0	0
sel 26	44	0	1	0	sel 76	162	0	2	0
	45	0	1	0		163	0	2	0
	46	9	2	0		164	1	2	0
	47	2	0	0		165	2	0	0
	49	2	0	9		166	1	0	0
	50	2	0	0		167	2	2	0
	51	2	2	0		168	2	2	2
	52	2	1	9		169	1	2	2
	53	9	2	9		170	2	1	0
	54	9	9	0		171	2	2	0
	55	2	1	0		172	0	0	0
	56	9	2	0		173	1	1	2
	57	9	9	0		174	1	2	0
	58	2	2	0		175	1	0	0

	59	0	1	0		176	2	0	0
	60	9	2	0		177	2	0	0
	61	2	1	0		178	2	1	0
	62	2	2	0		179	2	2	0
	63	9	2	0		180	2	2	0
	64	0	2	0		181	0	2	2
	65	0	0	0		182	2	2	2
	66	0	2	0		183	2	2	0
	67	0	2	0		184	0	2	2
	68	9	2	0		185	1	1	0
	69	9	9	0		186	1	0	0
	70	9	0	0		187	2	2	0
	71	0	9	0		188	2	0	0
	72	9	9	0		189	2	2	0
	73	0	1	0		190	2	2	0
sel 69	74	1	1	0	sel 77	191	2	2	0
	76	0	2	0		192	2	2	0
	77	9	2	0		193	9	9	0
	78	9	2	9		194	2	2	0
	79	2	2	0		195	2	1	0
	80	1	0	0		196	2	2	0
	81	2	0	0		197	0	2	0
	82	2	1	9		198	9	0	0
	83	1	2	0		199	1	2	0
	84	1	0	0		200	2	1	0
	85	0	1	9		201	2	2	0
	86	2	1	0		202	0	1	0
	87	1	2	0		203	2	2	2
	88	2	0	0		205	2	1	2
	89	2	0	0		206	1	0	2
	90	2	1	0		207	2	2	0
	91	0	2	0		208	2	0	0
	92	1	0	0		209	2	2	0
	93	2	0	9		210	2	2	0
	94	9	2	0		211	2	2	0
	95	2	0	0		212	1	1	0
	96	0	1	0		213	2	2	0
	97	2	2	9		214	1	2	0
	98	2	1	9		215	1	0	0
	99	1	1	0	sel 24	216	2	2	0
	100	0	2	0		217	0	2	0
	101	9	2	0		224	0	1	0
	102	2	2	0		225	1	2	0
sel 72	103	2	1	0		226	2	0	0
	104	2	2	0		227	1	1	0
	105	2	2	0		228	2	1	0
	106	2	1	0		229	2	1	0
	107	0	9	9		230	1	1	0
	108	2	9	0		231	0	2	0
	109	2	1	0		232	2	2	0
	110	2	2	0		233	1	2	0
	111	0	0	0		234	1	1	0
	112	0	2	0		235	2	2	0
	113	0	1	0		236	1	0	0
	114	1	1	0		237	2	0	0
	115	2	1	0		238	0	0	0
	116	1	2	0		239	2	2	0
	117	1	2	0		240	1	2	0
	118	2	2	0		241	1	2	0
	119	2	0	0	RS		1	1	1
	120	2	1	0	R46		0	0	0
	121	1	1	0					

gwm397	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm55	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm164	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm232	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm314	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm190	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm88	2	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm299	1	2	2	2	2	1	2	1	9	2	1	9	2	1	1	2	2	2	1	2	2		
gwm403	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm469	1	2	1	1	2	1	2	9	9	1	9	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm156	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm544	1	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
gwm46	1	1	9	9	1	9	9	1	1	9	2	9	9	2	1	9	9	9	9	2	1		

Tabla anexo 18: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial Bio INTA 1001 Las columnas 1 y 6 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xgwm148 y Xgwm374. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde.

INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm374	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm374
1	2	1	2	2	157	1	NC	NC	NC
2	2	1	2	2	158	1	NC	NC	NC
3	2	9	1	1	159	2	1	1	1
4	1	NC	NC	NC	160	2	2	1	2
5	1	NC	NC	NC	161	1	NC	NC	NC
6	1	NC	NC	NC	162	2	1	2	2
7	2	9	2	2	163	2	2	2	1
8	1	NC	NC	NC	164	1	NC	NC	NC
9	1	NC	NC	NC	165	2	2	1	1
10	2	2	1	1	166	1	NC	NC	NC
11	2	1	1	1	167	2	2	2	2
12	2	1	1	1	168	2	2	1	1
13	1	NC	NC	NC	169	1	NC	NC	NC
14	1	NC	NC	NC	170	2	2	2	2
15	2	1	9	2	171	2	2	1	1
16	2	2	2	1	172	1	NC	NC	NC
17	2	2	1	1	173	2	2	2	2
18	1	NC	NC	NC	174	1	NC	NC	NC
19	1	NC	NC	NC	175	2	1	2	1
20	1	NC	NC	NC	176	2	2	1	1
21	2	1	1	9	177	2	2	1	1
22	2	2	1	1	178	1	NC	NC	NC
23	1	NC	NC	NC	179	1	NC	NC	NC
24	1	NC	NC	NC	180	2	2	2	2
25	1	NC	NC	NC	181	1	NC	NC	NC
26	2	9	1	1	182	1	NC	NC	NC
27	2	9	1	1	183	2	2	1	1
28	2	9	1	1	184	2	2	2	2
29	2	9	1	1	185	1	NC	NC	NC
30	1	NC	NC	NC	186	1	NC	NC	NC
31	1	NC	NC	NC	187	2	2	1	1
32	1	NC	NC	NC	188	1	NC	NC	NC
33	1	NC	NC	NC	189	2	1	1	1
34	2	1	1	1	190	2	2	1	1
35	2	2	1	1	191	2	2	2	2
36	2	1	1	1	192	1	NC	NC	NC
37	2	1	2	2	193	1	NC	NC	NC
38	1	NC	NC	NC	194	1	NC	NC	NC
39	1	NC	NC	NC	195	2	1	1	1
40	2	1	1	1	196	2	2	1	1
41	2	2	2	2	197	2	1	2	1
42	1	NC	NC	NC	198	2	1	1	1
43	1	NC	NC	NC	199	2	1	2	9
44	1	NC	NC	NC	200	2	1	2	9
45	1	NC	NC	NC	201	2	2	2	9
46	1	NC	NC	NC	202	1	NC	NC	NC
47	1	NC	NC	NC	203	2	1	1	9
48	2	2	2	2	204	2	1	1	9
49	1	NC	NC	NC	205	2	2	2	9
50	1	NC	NC	NC	206	1	NC	NC	NC
51	1	NC	NC	NC	207	2	1	2	1
52	2	2	2	2	208	1	NC	NC	NC
53	1	NC	NC	NC	209	2	2	2	9
54	1	NC	NC	NC	210	1	NC	NC	NC
55	2	1	1	1	211	1	NC	NC	NC

56	1	NC	NC	NC	212	1	NC	NC	NC
57	1	NC	NC	NC	213	1	NC	NC	NC
58	2	1	2	2	214	1	NC	NC	NC
59	1	NC	NC	NC	215	2	2	1	9
60	1	NC	NC	NC	216	1	NC	NC	NC
61	1	NC	NC	NC	217	1	NC	NC	NC
62	2	9	2	2	218	2	2	1	1
63	1	NC	NC	NC	219	1	NC	NC	NC
64	1	NC	NC	NC	220	2	1	1	9
65	1	NC	NC	NC	221	1	NC	NC	NC
66	1	NC	NC	NC	222	2	1	1	1
67	2	9	1	1	223	2	2	1	1
68	1	NC	NC	NC	224	1	NC	NC	NC
69	1	NC	NC	NC	225	2	2	1	1
70	1	NC	NC	NC	226	1	NC	NC	NC
71	2	2	2	2	227	1	NC	NC	NC
72	2	2	1	1	228	2	2	1	9
73	1	NC	NC	NC	229	2	2	1	1
74	2	1	1	1	230	2	9	1	9
75	2	9	1	1	231	2	2	2	9
76	2	2	1	1	232	1	NC	NC	NC
77	1	NC	NC	NC	233	2	2	1	9
78	9	NC	NC	NC	234	2	1	1	1
79	2	1	1	1	235	1	NC	NC	NC
80	1	NC	NC	NC	236	2	2	1	1
81	1	NC	NC	NC	237	1	NC	NC	NC
82	1	NC	NC	NC	238	2	2	1	9
83	2	1	9	1	239	1	NC	NC	NC
84	2	2	2	2	240	2	9	1	9
85	2	2	1	1	241	1	NC	NC	NC
86	2	2	2	2	242	9	NC	NC	NC
87	2	2	9	2	243	1	NC	NC	NC
88	1	NC	NC	NC	244	9	NC	NC	NC
89	2	1	1	1	245	2	1	1	9
90	1	NC	NC	NC	246	2	1	1	1
91	2	2	1	1	247	1	NC	NC	NC
92	1	NC	NC	NC	248	2	2	2	2
93	2	1	1	1	249	2	1	1	9
94	1	NC	NC	NC	250	1	NC	NC	NC
95	1	NC	NC	NC	251	1	NC	NC	NC
96	2	2	2	2	252	2	2	1	1
97	1	NC	NC	NC	253	2	1	2	9
98	1	NC	NC	NC	254	1	NC	NC	NC
99	1	NC	NC	NC	255	1	NC	NC	NC
100	2	1	1	1	256	9	NC	NC	NC
101	1	NC	NC	NC	257	2	2	2	2
102	2	2	1	2	258	1	NC	NC	NC
103	2	2	2	2	259	1	9	9	9
104	1	NC	NC	NC	260	1	NC	NC	NC
105	1	NC	NC	NC	261	1	NC	NC	NC
106	9	NC	NC	NC	262	9	NC	NC	NC
107	2	2	1	1	263	1	NC	NC	NC
108	1	NC	NC	NC	264	1	NC	NC	NC
109	1	NC	NC	NC	265	2	1	1	1
110	1	NC	NC	NC	266	2	2	2	2
111	1	NC	NC	NC	267	1	NC	NC	NC
112	2	1	1	1	268	2	2	1	1
113	2	1	1	2	269	2	2	1	9
114	1	NC	NC	NC	270	1	NC	NC	NC
115	1	NC	NC	NC	271	9	NC	NC	NC
116	2	1	1	1	272	1	NC	NC	NC
117	1	NC	NC	NC	273	1	NC	NC	NC
118	2	1	1	1	274	9	NC	NC	NC
119	2	2	1	1	275	1	NC	NC	NC
120	2	2	1	1	276	1	NC	NC	NC

121	1	NC	NC	NC	277	2	2	1	9
122	1	NC	NC	NC	278	2	2	2	2
123	2	1	2	2	279	2	2	1	1
124	1	NC	NC	NC	280	2	1	2	1
125	1	NC	NC	NC	281	1	NC	NC	NC
126	9	NC	NC	NC	282	2	9	1	9
127	2	1	1	1	283	1	NC	NC	NC
128	2	2	2	2	284	1	NC	NC	NC
129	1	NC	NC	NC	285	1	NC	NC	NC
130	2	2	2	2	286	2	2	1	9
131	1	NC	NC	NC	287	1	NC	NC	NC
132	2	2	1	1	288	1	NC	NC	NC
133	2	2	1	1	289	2	2	1	9
134	1	NC	NC	NC	290	2	2	1	1
135	2	2	1	1	291	1	NC	NC	NC
136	2	2	2	2	292	2	2	2	1
137	1	NC	NC	NC	293	1	NC	NC	NC
138	2	1	2	2	294	2	2	1	9
139	2	1	1	2	295	2	1	1	9
140	1	NC	NC	NC	296	2	2	1	9
141	1	NC	NC	NC	297	1	NC	NC	NC
142	2	1	2	2	298	1	NC	NC	NC
143	2	2	2	1	299	1	NC	NC	NC
144	2	2	2	2	300	9	NC	NC	NC
145	2	2	1	1	301	2	1	1	9
146	1	NC	NC	NC	302	2	1	1	1
147	1	NC	NC	NC	303	1	NC	NC	NC
148	2	1	2	1	304	2	1	1	9
149	1	NC	NC	NC	305	2	2	1	1
150	1	NC	NC	NC	306	1	NC	NC	NC
151	2	1	1	1	307	1	NC	NC	NC
152	2	2	1	1	308	2	2	1	1
153	1	NC	NC	NC	BI	130	235	140	198
154	2	9	9	9	Bm	128	228	160	215
155	2	1	1	1					
156	2	2	2	2					

Tabla anexo 19: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las últimas dos columnas corresponden a los parentales. BioINTA1001 como la variedad comercial susceptible y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador, 2 para Heterocigota y 9 para dato faltante. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $(GR\% = \frac{cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)}{cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0}) \times 100$.

Pri	41	48	52	71	84	86	96	103	128	130	136	144	167	170	173	180	184	191	248	257	266	278	BI	Bm
barc28	1	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	1	1	1	0
gwm273	2	1	2	1	1	1	9	9	1	2	1	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1	1	0
wmc216	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	9	1	1	1	0
wmc147	9	1	2	2	9	1	9	9	2	9	1	2	2	1	1	2	2	2	9	2	1	9	1	0
gwm382	1	2	1	2	1	1	1	9	2	2	1	1	1	1	9	9	1	9	2	1	9	1	1	0
barc5	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	1	0
gwm148	2	9	2	2	2	2	2	9	2	2	2	2	2	9	2	2	2	9	2	2	2	2	1	0
gwm349	9	2	1	1	1	2	2	2	9	1	9	2	1	1	2	2	2	1	2	9	1	1	1	0
gwm455	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	2	1	9	1	9	1	0
barc19	1	2	2	2	2	2	1	1	2	9	2	1	2	2	1	2	2	1	1	9	2	9	1	0
gwm299	1	1	9	1	2	2	1	2	2	2	1	1	9	2	2	1	1	2	2	2	1	2	1	0
gwm645	2	9	2	1	2	2	9	1	?	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	0
gwm160	1	1	9	2	9	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm601	2	9	2	1	1	9	1	1	9	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	0
gwm107	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	0
barc308	1	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	0
gwm617	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	9	1	0
gwm604	2	1	1	1	2	9	9	9	2	2	2	2	9	2	2	1	2	2	1	2	1	1	1	0
gwm174	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1	0
gwm192	2	1	1	2	1	1	9	9	2	1	9	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	9	1	0
gwm193	9	1	2	2	2	2	9	9	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	0
gwm325	1	1	1	1	2	2	1	9	1	2	9	1	2	1	1	2	1	1	1	2	9	2	1	0
gwm332	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm146	1	9	1	1	1	2	2	1	1	2	2	9	2	2	9	1	2	1	1	9	1	2	1	0
gwm153	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	1	0
gwm312	1	2	1	2	1	1	2	2	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm371	1	2	1	1	9	2	1	2	1	1	2	9	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0
gwm499	2	2	1	1	9	2	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	9	1	9	1	9	1	0
gwm614	1	1	1	1	9	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	0

Tabla anexo 20: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 8 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xgwm148 y Xgwm374. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 7 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

selecta	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm374	selecta	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm374
	1	2	1	1	9		290	9	9	1	9
48	2	1	1	1	9		291	9	9	1	2
	3	2	1	2	9		292	2	9	1	9
	4	1	2	2	2		293	1	9	1	9
	5	2	2	2	2		294	1	9	9	9
	6	2	2	1	2		295	1	9	1	9
	7	2	2	2	1		296	1	9	9	9
	8	1	1	1	1		297	1	9	1	9
	9	1	9	2	1		298	1	9	1	1
	10	1	9	1	1		299	2	9	1	9
	11	1	9	2	9		300	2	2	2	9
	12	2	9	2	9		301	1	1	1	9
	13	2	1	1	1		303	9	9	1	9
	14	1	2	1	9		304	9	9	1	9
	15	1	2	2	2		305	9	9	2	2
	16	1	1	2	2		306	2	2	2	2
	17	1	2	1	1		307	2	1	1	9
	18	2	2	2	1		308	2	9	2	9
	19	1	2	2	1		309	1	9	2	9
	20	1	9	2	2		310	2	2	2	9
	21	1	2	1	2		311	1	1	2	2
	22	1	1	1	2		312	2	1	1	9
	23	1	1	1	1		313	2	2	2	2
	24	1	9	1	1		314	1	9	2	9
	25	1	1	2	9		315	2	2	2	1
	26	2	1	2	1		316	2	9	2	1
	27	2	1	2	1		317	1	2	1	1
	28	1	9	2	9		318	2	2	1	9
	29	2	1	1	1		319	2	2	9	9
	30	2	1	2	1		320	9	9	1	2
	31	2	1	2	9		321	2	1	2	2
	32	2	2	1	2		322	9	9	9	9
	33	1	1	9	1		323	1	1	2	2
	34	1	1	1	9		324	1	2	1	1
	35	2	1	1	1		325	1	1	2	1
	36	2	2	1	1		326	9	9	9	9
	37	1	9	2	1	184	327	9	9	1	9
	38	1	2	2	1		328	2	1	1	1
	39	1	2	1	1		329	9	9	1	9
	40	2	2	1	1		330	2	9	1	2
	41	1	2	1	2		331	1	9	9	9
	42	2	2	9	2		332	2	2	2	2
	43	9	9	9	9		333	9	9	1	9
	44	1	2	1	1		334	9	9	1	9
	45	2	2	1	1		335	2	2	2	2
	46	1	9	1	2		336	1	9	1	9
	47	2	2	1	2		337	1	9	2	2
	48	2	1	1	9		338	2	2	2	2
	49	2	1	2	2		339	9	9	1	9
	50	1	1	1	2		340	2	2	2	2
	51	1	1	1	1		341	2	1	1	1
	52	2	2	1	2		342	2	2	2	2
	53	2	2	1	9		343	1	2	2	2
	54	2	2	2	1		344	1	9	9	9

	55	1	1	2	1		345	1	9	1	9
	56	1	1	1	1		346	2	1	2	2
	57	2	1	2	1		347	9	9	1	9
	58	2	2	2	1		348	9	9	9	9
	59	2	2	1	1		349	9	9	9	9
	60	2	2	2	9		350	9	1	9	9
	61	9	9	1	9		351	1	9	1	1
	62	2	1	1	9		352	2	2	2	1
	63	2	2	9	9		353	1	9	1	9
	64	1	1	9	1		354	2	1	1	1
	65	1	1	1	1		355	1	9	9	9
	66	1	1	2	9		356	1	1	2	2
	67	1	9	1	9		357	9	9	9	9
	68	1	2	1	2		358	2	2	1	1
	69	2	2	2	9		359	2	9	1	2
	70	2	1	2	9		360	9	9	1	9
	71	2	1	1	9		361	9	9	2	9
	72	1	1	1	9		362	2	2	2	2
	73	1	1	2	9		363	1	9	1	9
	74	1	1	2	9		365	9	9	1	2
	75	1	1	2	9		366	2	9	1	9
	76	1	1	2	9		367	2	1	1	2
	77	9	9	1	9		368	2	9	1	9
	78	1	1	1	9		369	9	9	1	1
	79	1	1	2	9		370	1	9	1	9
	80	9	1	1	1		371	2	1	9	1
	81	2	2	2	1		372	9	9	1	2
	82	2	2	1	2		373	2	2	1	2
	83	9	1	2	1		374	1	9	9	9
	84	1	9	1	1		375	9	9	2	2
	85	1	1	1	9		376	2	2	2	2
	86	1	2	2	9		377	1	1	1	9
	87	1	2	2	9		378	2	2	1	1
	88	2	1	2	1		379	9	9	2	2
	89	1	9	1	1		380	1	2	1	9
	90	1	9	1	2		381	9	9	2	2
	91	2	2	1	1		382	1	2	1	1
	92	2	1	2	1		383	2	2	1	9
	93	2	9	1	1		384	2	9	9	9
	94	2	9	2	1		385	2	9	9	9
	95	1	9	1	9		386	1	1	1	2
	96	2	9	2	9		387	9	9	2	2
	97	9	9	1	9		388	9	9	1	9
	98	2	1	1	9		389	9	9	1	9
	99	1	2	1	2		390	2	9	1	1
	100	1	1	2	2		391	2	9	1	9
	101	1	2	1	2		392	1	9	1	9
	102	1	1	1	1		393	9	9	1	1
52	103	2	1	2	9		394	1	9	9	1
	104	2	9	1	1		395	1	9	2	2
	105	2	2	2	9		396	1	9	2	1
	106	9	1	1	1		397	1	9	2	2
	107	9	1	9	9	257	398	1	9	1	1
	108	9	2	2	1		399	1	9	1	9
	109	9	9	9	2		400	9	9	1	9
	110	2	1	2	1		401	1	9	1	9
	111	2	1	1	2		402	1	9	1	1
	112	9	9	9	2		404	2	2	9	9
	113	9	1	1	2		405	2	9	2	2
	114	9	1	1	9		406	2	2	9	1
	115	2	2	1	1		408	2	9	9	1

	116	9	1	9	2		409	9	2	1	9
	117	9	2	2	1		410	1	2	1	9
	118	1	1	1	2		411	2	1	1	1
	119	1	2	2	2		412	1	9	2	2
	120	1	1	2	2		413	1	1	2	1
	121	1	1	1	9		414	1	2	1	2
	122	1	1	1	2		415	1	1	2	9
	123	1	1	9	1		416	1	2	1	9
	124	1	1	1	2		417	1	2	1	9
	125	1	1	9	1		418	1	9	1	9
	126	2	2	1	1		419	1	1	1	9
	127	1	1	1	1		420	2	2	2	9
	128	2	1	1	1		421	1	1	2	9
	129	2	2	9	2		422	1	2	1	9
	130	1	1	1	2		423	1	9	1	9
	131	2	2	2	2		424	1	2	1	1
	132	1	2	1	2		425	1	9	2	9
	133	9	2	1	1	266	426	1	1	1	1
	134	1	2	1	1		427	1	2	1	9
	135	2	2	2	1		428	1	1	9	1
	136	9	1	1	1		429	1	2	1	1
	137	9	1	1	1		430	1	1	1	1
	138	1	1	2	1		431	1	2	1	9
	139	2	2	1	9		432	1	1	9	1
	140	2	1	2	1		433	1	9	1	1
	141	1	1	2	9		434	2	1	1	9
	142	2	1	1	1		435	1	9	1	2
	143	2	1	1	1		436	1	2	2	9
	144	2	1	2	2		437	2	2	1	1
	145	1	2	2	1		438	1	9	1	9
	146	1	1	1	2		439	1	1	9	9
	147	2	2	1	9		440	2	2	9	9
	148	1	2	1	9		441	2	1	1	2
	149	2	2	1	9		442	1	1	1	1
	150	1	2	1	9		443	9	9	1	1
	151	1	1	1	9		444	2	1	9	9
	152	1	1	1	9		445	1	2	2	2
	153	2	2	2	1		446	1	1	2	1
	154	1	1	1	9		447	9	1	9	9
	155	2	2	1	1		448	9	9	9	9
	156	1	1	1	2		449	9	9	9	9
	157	1	2	2	2		450	1	1	2	9
	158	1	1	2	9		451	2	2	1	2
	159	1	1	9	2		452	2	1	1	1
	160	9	9	9	1		453	2	2	2	9
	161	2	2	1	1		454	9	9	1	9
	162	1	2	1	1		455	1	1	1	9
	163	2	9	9	2		456	9	9	2	1
	164	2	1	1	1		457	2	2	1	1
	165	2	1	1	1		458	2	9	2	2
	166	1	2	2	9		459	9	9	1	2
	167	1	1	1	1		460	9	9	2	1
	168	2	1	1	1		461	2	2	1	2
	169	2	2	1	9		462	9	9	1	9
	170	9	1	2	1		463	9	9	1	9
	171	1	1	1	9		464	9	9	1	1
	172	9	1	1	1		465	2	1	1	2
	173	2	1	1	2		466	2	9	9	9
	174	2	2	2	2		467	1	1	1	2
	175	9	9	9	1		468	1	1	1	2
	176	1	2	1	2		469	2	1	2	2
	177	1	1	1	1		470	1	1	1	1

	178	2	1	1	2		471	9	9	9	9
	179	2	1	9	1		472	2	1	1	1
	180	2	1	1	1		473	2	2	1	1
	181	1	1	1	1		474	9	9	1	1
	182	2	1	1	1		475	2	2	1	1
	183	2	1	1	1		476	2	1	9	2
	184	9	1	1	1		477	2	9	9	1
	185	1	2	1	2		478	9	9	9	2
	186	9	9	1	2		479	2	9	1	1
	187	2	2	1	9		480	2	2	1	1
	188	2	1	2	1		481	9	9	9	9
	189	1	9	9	1		482	9	9	1	2
	190	2	2	1	9		483	1	2	1	1
	191	2	2	1	9		484	1	2	1	2
	192	9	1	1	9		485	1	1	1	1
	193	1	1	1	9		486	1	2	1	1
	194	1	1	2	2		487	2	1	1	1
	195	1	2	2	9		488	2	1	2	2
	196	2	2	2	1		489	2	9	1	2
	197	1	2	1	1		490	1	9	9	9
	198	1	2	2	2		491	1	9	1	2
	199	1	2	2	1		492	1	2	1	1
	200	1	2	2	9		493	1	9	9	9
	201	2	2	2	1		494	2	1	1	1
	202	9	1	1	1		495	1	9	1	2
	203	2	1	2	9		496	1	1	1	2
	204	1	2	2	9		497	1	2	1	1
	205	1	1	9	2		498	1	2	2	9
	206	1	1	1	1		499	1	1	2	9
	207	2	1	1	1		500	2	1	1	1
	208	2	2	1	1		501	2	2	2	2
	209	1	1	1	2		502	2	9	9	9
	210	1	1	1	9		503	1	1	1	1
	211	2	1	1	2		504	2	2	2	1
	212	1	1	1	1		505	1	1	2	2
	213	1	1	1	1		506	9	9	9	9
	214	1	2	1	1		507	1	1	2	2
	215	1	1	1	1		508	1	9	9	9
	216	2	2	1	9		509	2	1	2	2
	217	1	1	2	9		510	1	1	2	9
	218	1	1	2	2		511	2	1	1	9
	219	1	1	2	2		513	9	1	2	2
	271	1	9	2	9		514	9	1	1	9
	272	1	2	9	1		515	9	9	9	9
84	273	9	9	2	9		516	2	1	2	2
	274	2	2	1	2		517	1	1	2	2
	275	2	9	9	1		518	1	2	1	1
	276	1	9	9	1		519	2	2	1	1
	277	1	2	1	1		520	1	1	1	9
	278	1	9	9	1		521	1	1	1	1
	279	1	1	9	9		522	2	1	1	9
	280	1	9	9	2		523	1	1	9	9
	281	1	9	9	9		524	1	9	9	9
	282	1	9	1	9		525	2	1	1	1
	283	2	2	1	1		526	1	1	2	9
	284	2	1	1	9		527	1	1	9	2
	285	9	9	9	1		528	1	2	2	2
	286	1	9	1	2		529	1	1	9	1
	287	2	2	1	9		530	2	2	9	9
	288	9	9	1	9		Biolnta1001	1	1	1	1
	289	2	9	2	9		B. Manantial	0	0	0	0

Tabla anexo 21: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. BioINTA1001 como las variedades comerciales susceptibles y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = \frac{cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)}{(cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0)} \times 100$

	selecta48				Selecta 52				Selecta 71		Selecta 84				Selecta 184				Selecta 257		Selecta 266			
	5	60	69	129	131	153	174	263	270	306	310	313	332	335	338	340	342	376	405	420	453	501	BI	Bm
gwm99	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	2	9	1	1	1	1	1	1	2	9	9	1	1	0
wmc630	2	9	2	1	1	1	2	1	9	2	2	1	1	1	1	1	1	2	9	9	9	2	1	0
gwm194	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	0
barc316	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	2	1	1	1	9	9	1	0
gwm499	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	9	9	1	1	0
gwm614	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	1	2	1	9	9	9	1	0
barc159	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	9	1	1	0
gwm259	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm642	1	1	1	1	1	1	1	2	2	9	1	1	2	1	1	2	1	1	1	9	9	1	1	0
barc169	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1	2	2	2	1	1	1	9	1	1	0
gwm515	1	1	9	1	1	2	1	2	1	9	1	1	2	2	9	9	2	1	1	9	9	1	1	0
gwm312	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	1	1	9	1	1	0
gwm388	2	2	2	2	1	1	1	1	9	9	1	2	2	1	1	1	1	2	1	9	9	9	1	0
gwm120	2	2	2	2	1	1	2	1	1	9	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	9	2	1	0
gwm257	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	9	1	0
gwm296	2	1	2	1	9	1	1	9	2	2	9	1	1	2	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1
gwm369	1	1	2	2	2	9	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	9	9	1	1	0
gwm247	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	0
wmc78	2	1	1	1	1	1	1	9	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1	9	9	1	0
gwm161	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	0
gwm397	1	2	1	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2	1	9	2	1	0
gwm165	1	1	1	1	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	9	1	1	0
gwm513	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	9	9	2	1	0
gwm495	1	1	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0
gwm626	1	1	1	2	2	2	2	1	2	9	9	1	2	1	1	9	1	1	2	2	9	9	1	0
gwm573	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	9	2	9	1	1	0
gwm400	2	1	1	1	1	1	1	2	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	9	1	1	0
barc154	9	2	2	1	9	1	2	1	1	9	2	9	1	1	1	1	2	2	1	1	9	1	1	0

Tabla anexo 22: Resultado obtenido de la autofecundación para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 8 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xgwm148 y Xgwm374. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 7 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

selecta	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm374	selecta	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	gwm148	gwm 74
	1	0	NC	1	1		289	9	NC	1	2
	2	0	NC	1	1		290	9	NC	1	2
	3	2	NC	1	2		291	9	NC	1	2
	4	0	NC	0	0		292	9	NC	9	2
	5	0	NC	2	2		293	0	NC	1	0
	6	0	NC	0	2		294	0	NC	1	0
	7	2	NC	1	1		295	2	NC	2	1
	8	0	NC	1	1		296	2	NC	1	2
	9	2	NC	0	0		297	0	NC	1	2
	10	2	NC	1	2	(338)	298	0	NC	9	2
	11	0	NC	2	2		299	2	NC	1	0
	12	0	NC	1	2		300	2	NC	2	1
	13	2	NC	1	1		301	9	NC	1	9
	14	2	NC	0	2		302	9	NC	1	0
	15	0	NC	1	2		303	2	NC	1	0
(60)	16	9	NC	2	9		304	2	NC	9	1
	17	2	NC	1	2		305	2	NC	1	0
	18	2	NC	1	1		306	2	NC	2	2
	19	2	NC	0	9		307	2	NC	1	1
	20	0	NC	2	0		308	2	NC	1	2
	21	9	NC	0	0		309	0	NC	2	0
	22	0	NC	0	0		310	0	NC	1	2
	23	2	NC	0	2		311	2	NC	2	2
	24	0	NC	2	0		312	0	NC	1	2
	25	0	NC	2	2		313	9	NC	1	2
	26	0	NC	2	2		314	2	NC	1	0
	27	2	NC	1	1		315	2	NC	1	0
	28	2	NC	1	1		316	0	NC	0	1
	29	0	NC	0	2		317	0	NC	1	1
	30	0	NC	2	9		318	0	NC	0	1
	31	0	NC	1	1		319	0	NC	2	0
	32	2	NC	1	1		320	0	NC	1	0
	33	0	NC	0	2		321	0	NC	2	1
	34	2	NC	2	2		322	0	NC	0	2
	35	0	NC	0	2		323	2	NC	0	2
	36	2	NC	2	2		324	2	NC	2	0
	37	2	NC	0	9		325	0	NC	1	1
	38	2	NC	1	1		326	2	NC	1	1
	39	0	NC	1	2		327	2	NC	2	1

	40	2	NC	1	1		328	0	NC	9	1
	41	0	NC	2	2		329	2	NC	2	0
	42	2	NC	2	2		330	0	NC	2	2
	43	2	NC	2	1		331	0	NC	2	2
	44	0	NC	2	1		332	2	NC	2	2
	45	0	NC	0	0		333	2	NC	2	1
	46	0	NC	0	1		334	2	NC	1	1
	47	2	NC	2	0		335	2	NC	1	2
	48	2	NC	1	1		336	0	NC	2	1
	49	2	NC	1	9		337	2	NC	0	2
	50	0	NC	2	2		338	2	NC	1	2
	51	0	NC	2	2		339	2	NC	1	2
	52	0	NC	2	2		340	2	NC	9	2
	53	2	NC	2	2		341	2	NC	1	2
	54	0	NC	0	0		342	2	NC	1	1
	55	0	NC	2	2		343	2	NC	2	2
	56	0	NC	0	0		344	2	NC	2	2
	57	0	NC	0	2		345	0	NC	1	1
	131	0	NC	2	2		346	0	NC	2	1
(131)	132	0	NC	2	2		347	0	NC	1	2
	133	0	NC	2	2		348	0	NC	1	0
	134	2	NC	2	1		349	9	NC	0	2
	135	0	NC	1	1		350	2	NC	0	0
	136	0	NC	1	1		351	9	NC	1	2
	137	0	NC	2	2		352	2	NC	9	2
	138	0	NC	2	1	(340)	353	2	NC	1	0
	139	2	NC	1	1		354	9	NC	1	2
	140	0	NC	1	1		355	2	NC	1	1
	141	0	NC	0	2		356	9	NC	1	2
	142	9	NC	2	9		357	0	NC	0	1
	143	0	NC	2	2		358	0	NC	2	1
	144	0	NC	1	1		359	9	NC	1	1
	145	0	NC	2	2		360	9	NC	2	2
	146	0	NC	1	1		361	0	NC	2	2
	147	0	NC	1	0		362	9	NC	9	9
	148	2	NC	0	2		363	2	NC	2	0
	149	0	NC	2	2		364	2	NC	9	9
	150	0	NC	2	2		365	2	NC	2	2
	151	0	NC	2	2		366	0	NC	1	2
	152	2	NC	1	2		367	0	NC	1	2
	153	0	NC	2	2		368	2	NC	2	2
	154	2	NC	2	2		369	2	NC	1	2
	155	0	NC	2	2		370	2	NC	1	0
	156	0	NC	2	2		371	9	NC	2	0
	157	0	NC	1	1		372	0	NC	0	2

	158	0	NC	0	0		373	0	NC	0	9
	159	0	NC	1	1		374	0	NC	0	0
	160	0	NC	0	2		375	0	NC	0	9
	161	0	NC	2	2		376	0	NC	9	1
	162	2	NC	1	1		377	0	NC	2	1
	163	0	NC	0	0		378	0	NC	1	1
	164	0	NC	1	1		379	9	NC	2	2
	165	9	NC	2	2		380	9	NC	2	0
	166	0	NC	1	1		381	9	NC	0	1
	167	0	NC	2	2		382	9	NC	1	2
	168	0	NC	1	2		383	9	9	9	1
	169	0	NC	0	0		384	9	9	9	0
	170	0	NC	2	2		385	2	0	9	2
	171	0	NC	1	1		386	9	9	9	0
(153)	172	0	NC	1	1	(405)	387	2	2	9	2
	173	0	NC	1	1		388	2	1	1	1
	174	0	NC	9	1		389	0	9	1	9
	175	2	NC	1	1		390	2	2	2	2
	176	0	NC	1	1		391	2	1	9	2
	177	0	NC	9	2		392	2	0	0	0
	178	0	NC	1	1		393	2	2	0	2
	179	0	NC	1	1		394	2	2	2	2
	180	0	NC	1	1		395	2	2	2	1
	181	0	NC	1	9		396	0	2	2	9
	182	0	NC	1	1		397	0	9	1	1
	183	0	NC	1	1		398	2	0	0	9
	184	2	NC	1	1		399	0	0	1	9
	185	2	NC	1	1		400	9	9	2	2
	186	0	NC	1	1		401	9	1	9	9
	187	0	NC	1	1		402	0	2	0	9
	188	0	NC	1	1		403	0	1	9	9
	189	0	NC	1	1		404	0	0	1	9
	190	1	NC	1	1		405	2	9	0	9
	191	9	NC	9	9		406	2	1	0	9
	192	9	NC	9	9		407	0	0	1	9
	193	0	NC	2	1		408	0	1	0	9
	194	2	NC	2	1		409	0	0	2	0
	195	2	NC	2	1		410	0	1	9	0
	196	0	NC	2	1		411	0	1	2	2
	197	0	NC	0	9		412	0	1	9	2
	198	2	NC	0	1		413	0	1	1	1
	199	0	NC	1	1		414	0	1	0	2
	200	0	NC	2	1		415	0	9	9	9
	201	2	NC	1	1		416	0	9	0	9
	202	0	NC	1	1		417	0	0	1	9

	203	2	NC	1	1		418	0	0	2	9
	204	9	NC	1	1		419	0	0	2	9
	205	0	NC	2	1		420	0	9	2	9
	206	0	NC	2	1		421	0	1	0	9
	207	0	NC	9	1		422	0	2	2	9
	208	0	NC	2	1		423	0	2	2	2
	209	0	NC	0	1		424	0	1	2	2
	210	2	NC	2	1		425	0	2	0	1
	211	0	NC	1	1		426	0	1	2	1
	212	0	NC	0	1		427	0	2	1	9
	213	2	NC	0	1		428	0	2	1	9
	214	0	NC	0	1		429	0	2	1	9
	215	0	NC	1	1		430	0	2	2	9
	216	2	NC	1	1		431	0	1	2	9
	217	2	NC	9	1		432	0	2	2	9
	218	0	NC	9	1		433	0	2	1	1
	219	2	NC	0	1		434	0	2	1	1
	220	9	NC	2	9		435	0	0	1	1
(306)	221	2	NC	1	1		436	0	2	1	1
	222	0	NC	1	0		437	0	2	0	0
	223	2	NC	1	2		438	0	2	2	2
	224	2	NC	2	2		439	0	0	1	9
	225	0	NC	2	2		440	0	2	2	2
	226	0	NC	2	0		441	0	2	0	9
	227	2	NC	0	0		442	0	2	1	9
	228	2	NC	2	0		443	0	1	1	9
	229	0	NC	2	1		444	0	9	1	9
	230	2	NC	2	1		445	0	2	1	9
	231	0	NC	2	2	(453)	446	0	2	1	9
	232	2	NC	2	1		447	0	9	1	1
	233	2	NC	0	2		448	0	9	1	2
	234	2	NC	0	2		449	0	2	1	9
	235	0	NC	9	2		450	0	2	1	9
	236	2	NC	2	2		451	0	2	1	1
	237	0	NC	1	2		452	0	2	1	9
	238	2	NC	1	1		453	0	2	1	9
	239	2	NC	1	1		454	0	2	1	9
	240	2	NC	2	1		455	0	2	1	9
	241	2	NC	2	0		456	0	1	1	9
	242	2	NC	0	1		457	0	1	1	1
	243	2	NC	0	1		458	0	1	1	1
	244	0	NC	2	1		459	0	2	1	1
	245	2	NC	0	1		460	0	2	1	1
	246	2	NC	1	1		461	0	2	1	1
	247	2	NC	2	2		462	0	2	1	9

	248	0	NC	2	2		463	0	0	1	9
	249	2	NC	1	1		464	0	9	1	1
	250	2	NC	2	2		465	0	9	0	0
	251	2	NC	9	2		466	9	2	9	9
	252	0	NC	0	2		467	0	9	9	9
	253	0	NC	1	0		468	0	2	1	9
	254	0	NC	9	0		469	0	9	2	9
	255	2	NC	1	1		470	0	2	0	9
	256	9	NC	0	9		471	2	2	1	1
	257	2	NC	0	1	(501)	472	2	1	1	1
	258	0	NC	1	1		473	0	0	1	1
	259	0	NC	1	1		474	2	0	9	9
	260	2	NC	9	1		475	0	0	0	9
	261	0	NC	1	0		476	0	0	1	1
	262	2	NC	1	1		477	0	9	0	9
	263	2	NC	1	1		478	0	9	0	9
	264	2	NC	1	9		479	0	2	9	9
	265	2	NC	1	2		480	2	2	9	9
	266	2	NC	9	9		481	0	9	2	0
	267	2	NC	2	2		482	0	9	9	2
	268	2	NC	2	1		483	2	9	9	1
	269	2	NC	2	1		484	0	9	0	2
	270	2	NC	2	1		485	2	9	2	0
	271	2	NC	2	1		486	0	9	0	2
	272	2	NC	1	2		487	0	9	2	2
	273	9	NC	0	9		488	2	9	0	2
(313)	274	2	NC	1	2		489	0	9	1	1
	275	2	NC	1	0		490	2	9	0	2
	276	0	NC	2	9		491	2	9	0	0
	277	2	NC	0	0		492	2	9	0	2
	278	2	NC	2	0		493	2	9	1	1
	279	2	NC	1	0		494	2	9	0	2
	280	2	NC	2	1		495	2	9	0	2
	281	0	NC	2	2		496	0	9	2	2
	282	2	NC	2	1		497	0	9	0	2
	283	2	NC	2	2		498	0	9	2	2
	284	2	NC	1	2		499	2	9	0	0
	285	2	NC	1	0		500	0	9	2	2
	286	2	NC	2	1		501	0	9	0	0
	287	9	NC	1	1	BI		1	1	1	1
	288	0	NC	0	9	BM		0	0	0	0

Tabla anexo 23: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial ACA801. Las columnas 1 y 9 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xbarc124, Xgwm257, Xwmc597, Xgwm630, Xgwm636 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 7 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

INDIVIDUO	wmc764	barc124	gwm257	wmc597	gwm630	gwm636	gwm403	INDIVIDUO	wmc764	barc124	gwm257	wmc597	gwm630	gwm636	gwm403
1	2	1	2	1	1	1	2	50	2	2	1	2	1	1	1
2	2	1	2	2	1	1	2	51	2	1	2	2	1	1	1
3	2	1	2	9	9	2	2	52	2	1	1	2	1	1	1
4	2	1	2	1	2	1	2	53	2	2	1	2	1	1	1
5	2	2	1	1	1	2	1	54	2	1	1	1	2	1	1
6	2	2	2	2	2	1	1	55	2	2	2	1	1	1	1
7	2	2	1	1	1	1	1	56	2	2	2	9	1	1	2
8	2	2	2	1	1	2	2	57	2	2	1	2	2	1	2
9	2	1	1	1	1	1	2	58	2	9	1	9	1	2	2
10	2	1	2	1	2	1	2	59	2	2	9	1	2	2	2
11	2	2	2	1	1	1	2	60	2	1	2	9	1	2	1
12	2	2	2	1	2	1	2	61	2	1	2	2	1	1	1
13	2	1	1	9	1	1	9	62	2	2	2	2	9	2	2
14	2	9	2	2	9	1	2	63	2	1	2	2	1	1	9
15	2	2	1	9	1	1	9	64	2	1	1	1	1	2	2
16	2	1	2	1	2	2	2	65	2	2	2	1	2	2	2
17	2	2	2	2	2	2	1	66	2	1	2	1	1	2	2
18	2	1	1	2	9	2	2	67	2	2	1	1	2	2	2
19	2	2	2	2	1	2	2	68	2	2	2	1	1	1	1
20	2	1	2	2	2	1	2	69	2	2	1	1	1	2	9
X	2	1	2	1	2	1	1	70	2	2	2	1	1	1	2
21	2	1	2	1	1	1	1	71	2	1	9	2	2	1	1
22	2	1	2	2	9	2	1	72	2	1	2	1	1	2	1
23	2	1	2	1	1	2	2	73	2	1	2	1	1	1	1
24	2	9	2	2	1	1	2	74	2	2	9	2	9	2	2
25	2	2	9	2	9	2	1	75	2	2	2	1	2	1	1
26	2	2	2	1	2	9	1	76	2	1	2	1	1	1	1
27	2	2	2	2	9	2	1	77	2	1	1	1	2	1	2
28	2	1	2	1	2	2	2	78	2	1	2	9	2	1	1
29	2	9	2	9	9	9	9	79	2	1	2	1	2	1	2
30	2	9	2	9	1	1	1	80	2	1	2	1	1	1	1
31	2	1	2	2	2	1	2	81	2	1	2	9	2	2	2
32	2	2	2	1	1	1	9	82	2	2	2	1	2	1	1
33	2	2	2	1	1	1	2	83	2	1	2	1	1	2	9
34	2	1	2	2	2	1	2	84	2	1	2	9	2	2	1

35	2	1	2	2	2	1	1	85	2	9	1	1	9	2	2
36	2	9	2	2	9	2	2	86	2	1	1	1	9	2	2
37	2	1	2	2	9	2	2	87	2	2	2	2	1	2	2
38	2	2	2	2	1	1	2	88	2	2	1	2	9	2	2
39	2	2	1	1	1	2	1	89	2	1	2	1	1	1	1
40	2	1	1	2	1	2	1	90	2	2	2	2	2	1	9
41	2	2	1	2	1	1	1	91	2	2	1	1	1	2	1
42	2	1	2	2	2	1	2	92	2	1	1	1	1	1	2
43	2	9	2	1	1	1	2	94	2	1	1	1	2	2	2
44	2	2	1	2	1	2	2	95	2	1	2	1	1	2	2
45	2	1	1	1	2	2	2	ACA801	1	1	1	1	1	1	1
47	2	2	2	1	9	1	2	RIL46	0	0	0	0	0	0	0
48	2	1	1	1	1	2	2								
49	2	2	1	1	1	2	2								

Tabla anexo 24: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. ACA801 como las variedades comerciales susceptibles y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde $GR\% = \frac{[cant\ 1 + (0.5\ cant\ H)]}{[cant\ 1 + cant\ H + cant\ 0]} \times 100$

	2	4	10	12	14	16	20	31	34	42	45	59	65	67	77	79	81	93	94	11	17	97	ACA	Bm
barc28	2	1	9	1	1	1	1	9	2	9	2	9	2	1	2	1	2	9	9	9	1	9	1	0
gwm357	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	2	1	2	NC	NC	NC	2	NC	2	2	1	NC	1	0
gwm413	2	9	2	2	9	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0
gwm273	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	1	0
wmc216	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1	2	2	NC	NC	NC	2	NC	2	2	1	NC	1	0
gwm642	1	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2	9	1	1	1	1	2	2	2	1	2	1	1	0
barc169	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	2	9	1	NC	NC	NC	1	NC	2	2	2	NC	1	0
wmc147	1	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	9	2	2	2	2	9	1	0
gwm388	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	2	2	2	NC	NC	NC	1	NC	2	1	2	NC	1	0
gwm382	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	2	2	2	1	9	9	1	2	1	1	2	1	1	0
gwm120	9	9	9	2	2	2	2	2	2	2	1	9	9	9	9	9	2	2	2	1	1	1	1	0
barc160	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	9	9	2	2	2	2	2	1	2	9	1	0
gdm19	1	1	2	1	1	1	9	1	2	9	1	1	2	1	9	1	1	1	1	9	2	1	1	0
gwm349	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	0
barc87	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	0
gwm247	1	1	1	9	9	1	2	2	2	1	9	1	9	9	9	9	9	1	2	1	1	1	1	0
gwm299	1	2	2	2	2	2	9	9	9	2	2	9	1	2	1	2	2	1	9	9	1	1	1	0
gwm389	9	1	1	9	9	2	9	9	9	2	1	1	9	1	1	9	2	9	9	9	9	9	1	0
wmc69	1	9	2	9	1	2	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	9	1	2	2	9	9	1	0
gwm160	9	9	9	1	1	1	2	1	9	9	9	9	9	9	9	1	1	2	1	2	2	9	1	0
gwm165	9	1	1	1	1	1	1	9	1	9	9	1	2	9	1	1	1	1	1	1	9	9	1	0
gwm513	2	9	2	2	1	1	1	2	2	2	9	2	9	9	2	1	9	1	9	2	1	1	1	0
gwm194	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1	1	1	NC	NC	NC	1	NC	0	1	0	NC	1	0
gwm126	1	1	2	1	2	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	2	1	0
gwm604	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	9	1	1	NC	NC	NC	1	NC	0	0	0	NC	1	0
gwm540	9	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1	1	0
gwm192	9	2	9	9	1	1	1	2	2	9	1	2	9	9	9	9	9	9	1	9	1	1	1	0
gwm334	1	2	1	9	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	0
barc3	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1	1	1	NC	NC	NC	1	NC	1	2	2	NC	1	0
gwm193	2	2	2	1	1	9	9	1	1	1	1	9	1	9	2	9	9	9	9	2	2	9	1	0
gwm146	2	2	9	2	2	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	9	2	2	2	2	1	1	1	0
gwm400	9	1	1	2	2	1	1	1	1	1	9	1	1	9	9	9	9	2	1	2	9	2	1	0
psp3000	9	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	2	9	1	2	2	2	1	2	2	9	1	1	0

Tabla anexo 25: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 9 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc597, Xgwm 148, Xgwm630, Xgwm374 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	INDIVIDUO	wmc597	gwm148	gwm630	gwm374	gwm403		INDIVIDUO	wmc597	gwm148	gwm630	gwm374	gwm403
17	36	1	1	1	1	1	94	119	H	H	H	H	1
	37	1	H	H	H	1		120	H	1	H	1	1
	38	1	9	9	1	1		121	9	H	H	9	9
	39	H	1	H	1	1		122	H	1	1	1	1
	40	9	1	H	1	1		123	1	1	1	9	9
	41	1	H	H	1	1		124	1	1	1	9	9
	42	H	H	H	1	1		125	H	1	1	9	9
	43	1	H	H	H	1		126	H	1	1	1	1
	44	9	1	H	1	1		127	H	H	1	H	1
	45	1	H	H	H	1		128	1	H	H	9	9
	46	9	H	H	9	9		129	H	H	1	9	9
	47	1	1	1	1	1		130	H	1	1	9	9
	48	1	1	1	1	1		131	H	1	1	9	9
	49	H	1	H	1	1		132	H	1	1	1	1
	50	H	H	H	H	1		133	H	1	1	1	1
	51	H	H	H	H	1		134	H	H	H	1	1
	52	9	1	9	9	9		135	1	1	1	1	1
	53	H	H	H	H	1		136	H	1	1	1	1
	54	H	H	H	H	H		137	1	1	H	9	9
	55	H	1	1	1	1		138	H	H	H	H	1
	56	1	1	1	1	1		139	H	1	1	1	H
	57	H	H	H	H	1		140	H	H	H	H	H
	58	H	H	H	H	1		141	H	H	H	9	9
	59	H	H	H	H	1		142	H	1	1	1	H
	60	1	1	1	1	1		143	H	H	1	H	1
	61	1	H	1	H	1		144	H	H	H	9	9
	62	1	H	1	1	1		145	H	1	H	1	H
	63	1	1	1	1	1		146	H	H	H	H	H
	64	1	H	1	1	1		147	H	H	H	H	H
	65	1	H	H	H	1		148	H	1	1	9	9
	66	1	1	1	1	H		149	1	H	1	9	9
	67	1	H	1	H	1		150	H	H	1	1	1
	68	1	1	1	9	H		151	H	H	H	H	1
	69	1	1	1	1	1		152	H	1	1	H	H
	70	H	H	9	H	1		153	H	H	H	H	H
	71	1	1	1	9	H		154	1	1	1	9	9
	72	1	H	H	H	1		155	H	1	1	9	9
	73	H	H	H	H	1		156	1	1	1	H	H
	74	1	9	9	H	1		157	1	1	1	9	9
	75	H	H	H	H	1		158	H	H	H	H	H
	76	1	1	1	1	1		159	H	1	H	1	1
	77	1	H	H	H	1		160	1	1	1	H	1
	78	1	H	H	H	1		161	H	1	1	1	9
	79	1	1	1	1	1		162	H	1	1	H	H
	80	1	1	1	1	1		163	1	1	H	9	9
	81	H	H	H	H	1		164	1	1	1	1	1
	82	H	H	H	9	1		165	H	H	H	1	1
	83	H	H	H	H	1		166	1	H	H	H	H
	84	1	H	1	H	1		167	1	H	H	1	1
	85	1	1	H	1	1		168	1	1	1	1	1
	86	1	H	H	H	1		169	1	1	H	9	9
	87	H	1	1	H	1		170	H	H	H	9	9
	88	H	1	H	1	1		171	1	1	1	9	9
	89	H	H	H	H	1		172	H	H	H	1	H
	90	H	1	H	H	1		173	H	1	1	9	9
	91	1	1	1	9	9		174	H	1	1	H	1
	105	1	1	1	9	1		175	H	1	H	H	1
	106	H	1	1	9	9		176	H	1	1	9	9
	107	1	1	H	9	9		177	H	H	H	H	1

	108	1	9	9	9	9		178	H	1	1	9	9
	109	H	1	1	1	H		179	H	1	1	9	9
	110	9	9	9	9	9		180	H	1	H	H	H
	111	1	1	1	1	1		181	H	H	H	1	1
	112	H	1	1	1	H		182	H	1	1	9	9
	113	9	9	9	9	9		183	H	1	1	9	9
	114	H	1	1	9	9		184	H	1	H	H	H
	115	H	H	H	H	1		185	9	1	H	H	H
	116	H	1	1	9	9		186	9	1	H	9	9
	117	9	H	1	9	9		187	1	1	1	H	H
	118	H	H	H	9	9		Aca	1	1	1	1	1
								Bm	0	0	0	0	0

Tabla anexo 27: Resultado obtenido de la autofecundación para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 9 indican cada individuo analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xgwm 148, Xgwm630, Xgwm374 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	INDIVID	wmc7	gwm6	gwm1	gwm3	gwm4		INDIVID	wmc7	gwm6	gwm1	gwm3	gwm4
sel	1	2	2	0	0	0		152	2	1	2	9	9
57	2	2	1	1	1	2		153	2	2	2	9	9
	3	2	0	0	2	2		154	2	2	2	9	9
	4	2	0	2	9	9		155	2	1	1	1	2
	5	2	1	1	1	2		156	2	2	0	9	0
	6	2	2	2	9	9		157	2	1	2	1	2
	7	2	1	1	1	2	SEL	158	2	2	0	2	0
	8	2	1	2	9	9	11	159	2	2	1	9	2
	9	2	2	0	2	0		160	2	9	2	2	9
	10	2	1	2	1	2		161	2	2	0	0	2
	11	2	0	2	0	0		162	2	1	1	1	2
	12	2	0	2	2	2		163	2	0	0	0	9
	13	2	9	9	0	0		164	2	9	2	2	2
	14	2	0	2	2	0		165	2	9	0	9	2
	15	2	2	2	9	0		166	2	9	9	1	2
	16	2	2	2	2	2		167	2	9	9	9	9
	17	2	2	2	2	2		168	2	2	2	9	9
	18	2	2	2	2	2		169	2	0	2	9	2
	19	2	0	1	1	2		170	2	0	2	9	0
	20	2	2	2	2	2		171	2	0	0	0	2
	21	2	2	0	2	2		172	2	2	0	9	9
	22	2	9	9	2	2		173	2	2	2	0	2
	23	2	9	9	1	2		174	2	1	2	1	2
	24	2	9	9	9	0		175	2	1	0	9	9
	25	2	2	0	0	0		176	2	0	2	2	2
	26	2	2	0	2	2		177	2	2	2	2	2
	27	2	2	2	0	0		178	2	0	2	2	2
	28	2	2	0	2	2		179	2	9	2	9	9
	29	2	2	2	0	0		180	2	2	2	9	9
	30	2	2	2	0	0		181	2	0	2	1	2
	31	2	2	2	2	0		182	2	1	1	1	2
	32	2	2	2	2	2		183	2	2	2	9	9
	33	2	2	2	2	2		184	2	1	1	9	9
	34	2	2	2	0	0		185	2	1	1	2	2
	35	2	2	2	1	2		186	2	2	2	0	0
	36	2	2	2	2	2		187	2	2	2	1	1
	37	2	2	0	2	2		188	2	2	2	1	1
	38	2	2	0	2	2		189	2	2	2	1	1
	39	2	2	1	2	9		190	2	0	2	1	1
	40	2	2	0	2	2		191	2	1	2	1	1
	41	2	2	0	1	9		192	2	2	2	1	1
se	42	2	2	1	1	9		193	2	0	2	1	1
5	43	2	2	2	9	9		194	2	2	2	1	1
	44	2	2	1	2	2		195	2	1	1	1	1
	45	2	2	1	0	2		196	2	1	1	1	1
	46	2	2	2	2	2		197	2	0	2	1	1
	47	2	2	2	0	0		198	2	2	2	1	1
	48	2	2	0	0	0		199	2	1	2	1	1
	49	2	2	2	0	2		200	2	1	0	1	1
	50	2	9	2	9	0		201	2	1	1	1	2
	51	2	9	9	9	9		202	2	1	9	2	2
	52	2	1	1	2	2		203	2	1	9	1	2
	53	2	9	1	9	9		204	2	1	9	1	2
	54	2	0	2	1	0		205	2	1	2	1	2
	55	2	2	2	0	2		206	2	1	1	1	1
	56	2	0	2	9	9	sel	207	2	1	2	2	2
	57	2	2	0	9	9	14	208	2	2	1	9	9
	58	2	9	0	0	9		209	2	2	2	2	2

	59	2	2	1	2	2		210	2	2	2	2	2
	60	2	1	1	0	2		211	2	0	2	9	9
	61	2	2	2	1	2		212	2	1	1	1	1
	62	2	0	2	2	0		213	2	2	2	2	2
	63	2	1	1	2	2		214	2	0	1	2	2
	64	2	2	2	0	2		215	2	0	2	2	2
	65	2	1	2	9	2		216	2	9	9	1	1
	66	2	9	1	9	9		217	2	9	1	9	9
	67	2	2	2	9	9		218	2	9	1	9	9
	68	2	0	0	9	9		219	2	9	2	2	0
	69	2	1	1	2	0		220	2	9	2	2	2
	70	2	2	2	0	2		221	2	9	9	9	9
	71	2	2	0	9	2		222	2	9	2	9	9
	72	2	2	0	2	2		223	2	9	2	9	9
	73	2	1	1	9	9		224	2	9	1	1	2
	74	2	2	2	2	2		225	2	9	1	1	2
	75	2	1	1	9	9		226	2	2	0	1	2
	76	2	2	2	0	2		227	2	9	1	1	2
	77	2	2	0	9	9		228	2	0	2	2	2
	78	2	2	2	2	2		229	2	9	1	1	2
	79	2	2	2	2	2		230	2	0	2	0	0
	80	2	2	2	2	2		231	2	9	1	1	1
	81	2	2	2	9	0		232	2	0	0	2	2
	82	2	2	2	9	0		233	2	0	1	9	9
	83	2	2	2	9	9		234	2	9	0	0	0
	84	2	2	2	9	0		235	2	9	2	2	2
	85	2	2	0	9	9		236	2	9	1	1	1
	86	2	2	1	2	2		237	2	9	2	2	2
	87	2	2	2	0	0		238	2	0	2	0	0
se	88	2	2	1	9	9		239	2	1	1	2	2
5	89	2	2	2	9	2		240	2	0	2	0	0
	90	2	2	2	9	9		241	2	9	1	2	2
	91	2	2	2	9	9		242	2	9	2	2	2
	92	2	2	1	2	2		243	2	9	9	9	9
	93	2	2	1	0	2		244	2	0	2	2	2
	94	2	2	1	0	1		245	2	9	2	9	9
	95	2	2	0	1	0		246	2	0	2	0	0
	96	2	2	2	2	2		247	2	0	2	2	1
	97	2	2	2	0	0		248	2	9	2	2	1
	98	2	2	1	1	2		249	2	9	2	2	2
	99	2	1	1	1	2		308	2	9	2	9	9
	100	2	2	2	2	2		309	2	9	2	9	9
	101	2	1	1	1	2	sel	310	2	9	1	9	9
	102	2	2	0	1	0	15	311	2	0	2	9	9
	103	2	1	1	1	2		312	2	2	2	9	9
	104	2	2	0	1	2		313	2	9	2	2	2
	105	2	1	2	1	2		314	2	9	1	1	2
	106	2	2	2	0	0		315	2	9	2	2	2
	107	2	1	1	1	2		316	2	9	1	1	2
	108	2	1	1	1	9		317	2	9	2	2	1
	109	2	2	1	1	2		318	2	9	2	9	9
	110	2	2	2	1	1		319	2	9	2	0	0
	111	2	2	1	1	1		320	2	9	1	2	0
	112	2	9	9	1	2		321	2	9	1	1	1
	113	2	9	9	1	0		322	2	9	2	2	2
	114	2	2	0	0	0		323	2	9	2	2	0
	115	2	2	0	1	9		324	2	0	2	2	2
	116	2	2	1	1	9		325	2	9	2	2	2
	117	2	0	2	1	9		326	2	9	2	1	2
	118	2	0	2	1	9		327	2	0	0	0	0
	119	2	9	9	1	9		328	2	9	2	2	2
	120	2	9	9	1	9		329	2	9	2	2	0
	121	2	2	0	0	0		330	2	9	0	0	0
	122	2	2	0	1	2		331	2	9	9	0	0
	123	2	2	0	1	2		332	2	0	0	0	0
	124	2	1	1	1	2		333	2	2	0	2	2

	125	2	1	2	2	2		334	2	9	2	0	0
	126	2	1	2	1	2		335	2	9	1	9	9
	127	2	1	1	1	2		336	2	9	2	1	2
	128	2	9	2	0	0		337	2	9	1	9	9
	129	2	2	2	1	2		338	2	9	1	1	2
	130	2	2	2	2	2		339	2	9	2	2	0
	131	2	2	2	0	0		340	2	0	2	9	9
	132	2	2	2	1	9		341	2	9	1	9	9
	133	2	2	0	0	0		342	2	0	0	0	0
	134	2	2	1	2	2		343	2	9	2	2	2
se	135	2	0	1	1	2		344	2	9	1	1	2
8	136	2	0	2	2	2		345	2	2	0	2	2
	137	2	0	2	2	2		346	2	9	2	2	2
	138	2	0	2	2	2		347	2	9	2	0	9
	139	2	0	2	2	2		348	2	9	1	2	2
	140	2	9	9	9	0		349	2	9	2	1	1
	141	2	2	0	0	2		350	2	9	1	2	1
	142	2	2	2	2	2		351	2	9	2	0	0
	143	2	2	1	2	0		352	2	2	0	9	9
	144	2	1	2	1	0		353	2	9	2	2	1
	145	2	2	0	0	2		354	2	9	2	2	1
	146	2	1	2	9	9		355	2	9	2	2	1
	147	2	0	0	1	0		356	2	9	2	1	2
	148	2	0	2	1	2		357	2	9	1	1	2
	149	2	0	2	9	9		ACA	138	115	140	190	130
	150	2	2	0	0	0		Bm	128	120	160	215	125
	151	2	2	2	9	9							

Tabla anexo 28: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión del cromosoma 2BS en la variedad comercial *Baguette9* . Las columnas 1 y 7 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xbarc18, Xgwm374 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde.

INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403
1	2	1	2	2	1	41	2	1	1	9	2
2	2	2	2	2	2	42	2	2	1	1	1
3	2	1	1	1	1	43	2	2	9	1	2
4	2	1	2	2	1	44	2	1	2	2	2
5	2	1	1	1	1	45	2	1	2	2	2
6	2	1	2	2	1	46	2	2	2	2	2
7	2	1	1	2	1	47	2	1	2	2	2
8	2	1	1	1	1	48	2	1	2	2	2
9	2	1	2	2	2	49	2	1	9	2	2
10	2	2	1	2	1	50	2	1	2	2	1
11	2	1	2	1	2	51	2	2	9	9	1
12	2	1	1	1	2	52	2	9	2	2	1
13	2	2	1	1	2	53	2	9	1	1	2
14	2	2	1	1	2	54	2	2	2	2	2
15	2	2	2	2	1	55	2	2	1	1	1
16	2	2	2	2	1	56	2	9	2	2	2
17	2	2	1	1	2	57	2	2	2	2	2
18	2	2	2	2	1	58	2	1	2	2	2
19	2	1	1	1	1	59	2	1	2	2	1
20	2	2	2	1	1	60	2	2	1	1	2
21	2	1	2	2	2	61	2	2	1	1	2
22	2	2	1	9	1	62	2	1	1	1	2
23	2	1	2	2	1	63	2	2	1	1	2
24	2	2	9	2	1	64	2	9	9	1	1
25	2	2	2	2	1	65	2	1	1	1	1
26	2	9	1	1	2	66	2	2	2	2	1
27	2	2	1	1	1	67	2	1	2	2	1
28	2	2	1	1	2	68	2	2	1	1	1
29	2	9	1	1	2	69	2	2	1	1	2
30	2	2	2	2	2	70	2	1	1	1	2
31	2	9	2	2	2	71	2	2	1	1	1
32	2	2	2	2	2	72	2	1	2	2	2
33	2	1	1	1	1	73	2	2	2	2	2
34	2	1	1	1	1	74	2	1	1	2	2
35	2	1	1	1	2	75	2	1	1	1	1
36	2	2	1	1	2	Bg9	1	1	1	1	1
37	2	2	1	1	2	BM	0	0	0	0	0
38	2	2	2	2	2						
39	2	2	1	1	2						
40	2	1	2	2	2						

Tabla anexo 29: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. Baguette9 como las variedades comerciales susceptibles y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila GR% corresponde a porcentaje de genoma recurrente donde (GR% = $\frac{\text{cant 1} + (0.5 \text{ cant H})}{\text{cant 1} + \text{cant H} + \text{cant 0}} \times 100$)

Pr	2	9	15	16	18	21	25	30	31	38	44	45	46	47	48	54	56	57	58	66	72	73	B9	Bm
gwm135	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	9	1	1	1	0
barc28	1	1	9	2	1	1	1	2	2	2	9	9	2	1	2	2	1	9	2	2	1	1	1	0
gwm403	2	2	1	1	1	2	9	2	1	2	2	9	1	2	2	9	2	2	2	1	2	2	1	0
gwm642	1	1	1	1	9	1	2	2	1	9	9	9	9	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	0
barc169	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	9	9	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	0
gwm382	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	0
barc212	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	9	2	2	1	1	1	1	1	1	0
gwm388	2	2	2	9	2	2	2	2	2	2	2	9	2	9	2	2	9	1	1	2	2	2	1	0
gwm120	2	2	2	2	9	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	9	9	2	2	2	2	1	0
gwm349	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	9	9	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	0
gwm455	2	9	1	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	9	1	1	1	2	9	2	2	1	1	0
gwm155	2	2	1	2	2	2	1	2	1	2	1	2	9	1	1	1	1	9	2	9	2	9	1	0
barc19	1	2	2	2	2	9	2	9	9	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	9	1	1	1	0
gwm108	1	1	1	1	2	9	1	2	2	9	9	9	2	2	9	1	1	2	1	1	1	1	1	0
gwm389	2	1	1	1	2	2	1	1	9	1	2	1	2	1	1	2	9	2	2	2	1	1	1	0
gwm456	2	2	9	2	1	9	9	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0
barc135	2	2	9	2	1	9	1	2	2	1	1	9	2	2	1	2	1	1	9	2	2	1	1	0
gwm397	1	1	1	2	9	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	2	2	9	1	1	2	1	0
barc343	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0
gwm513	2	2	9	2	1	1	2	2	9	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0
gwm368	9	1	2	2	1	1	1	9	2	1	2	1	2	9	2	1	1	1	2	2	2	1	1	0
gwm194	1	1	9	1	2	9	9	1	2	1	2	1	2	1	1	1	2	9	9	9	2	9	1	0
barc308	1	9	1	1	2	1	1	2	1	9	9	9	1	1	9	2	2	1	1	2	2	2	1	0
gwm617	1	2	2	1	1	1	2	1	1	1	9	1	1	1	9	1	1	1	1	1	9	2	1	0
barc316	1	1	1	9	9	9	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	9	9	9	1	0
gwm604	2	2	9	2	1	9	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	1	1	9	2	2	1	1	0
barc4	2	1	1	1	2	1	9	2	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm174	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	0
gwm192	2	2	1	2	1	9	1	1	9	9	1	2	9	9	9	2	1	1	1	2	2	2	1	0
barc3	1	2	2	1	1	1	2	1	2	9	1	2	2	2	2	1	1	1	1	9	2	9	1	0
gwm219	2	2	2	1	2	2	1	9	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	9	1	1	1	0
gwm508	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	1	1	1	0
gwm325	1	2	9	1	9	1	1	9	2	1	2	9	2	1	2	1	2	1	1	2	2	1	1	0
gwm469	1	2	1	9	1	2	1	9	2	2	2	1	2	1	2	1	9	1	1	2	9	1	1	0
barc64	1	1	11	1	1	1	1	1	1	1	2	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
gwm611	9	1	2	9	1	9	1	1	2	2	9	1	9	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	0
gwm43	9	9	1	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	0
gwm37	1	1	9	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	2	9	9	2	1	1	1	2	1	1	0
barc154	2	2	1	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0

Tabla anexo 30: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 9 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xbarc18, Xgwm374 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403		INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403
sel 16	1	2	2	1	1	1		91	2	1	1	1	2
	2	2	2	1	1	1		92	2	1	1	1	2
	3	2	9	9	9	1		93	2	1	1	1	2
	4	2	2	2	2	2		94	2	1	1	1	2
	5	2	2	1	1	1		95	2	1	9	2	1
	6	2	1	1	2	1		96	2	1	1	1	1
	7	2	2	1	1	1		97	2	1	1	1	9
	8	2	2	9	2	1		98	2	1	1	2	9
	9	2	2	1	1	1		99	2	1	1	1	9
	10	2	2	1	1	1		100	2	1	1	9	9
	11	2	2	1	1	1		101	2	1	1	1	9
	12	2	2	2	2	2		102	2	1	1	1	9
	13	2	2	2	2	1		103	2	1	1	1	9
	14	2	2	2	2	1		104	2	1	1	2	9
	15	2	9	1	1	1		105	2	1	2	2	9
	16	2	2	2	2	1		106	2	1	1	1	9
	17	2	2	1	1	1		107	2	1	1	1	9
	18	2	2	1	1	1		108	2	1	2	9	9
	19	2	2	2	2	1		109	2	1	1	9	9
	20	2	1	1	2	1		110	2	1	2	1	9
	21	2	1	2	2	1		111	2	1	1	9	9
	22	2	1	1	1	1		112	2	1	1	9	9
	23	2	2	2	2	1		113	2	1	1	9	9
	24	2	1	1	1	1		114	2	1	1	1	9
	25	2	2	1	1	1	sel 56	115	2	1	2	2	9
	26	2	2	1	1	1		116	2	1	2	9	9
	27	2	1	2	2	1		117	2	1	2	9	9
	28	2	1	1	1	1		118	2	1	9	1	9
	29	2	1	2	2	1		119	2	1	1	9	9
	30	2	2	2	2	1		120	2	1	2	9	9
	31	2	2	2	9	1		121	2	1	2	9	9
	32	2	2	1	1	1		122	2	1	9	1	2
	33	2	1	2	9	1		123	2	1	1	1	9
sel25	34	2	1	1	1	1		124	2	1	2	1	2
	35	2	1	1	1	1		125	2	1	1	1	9
	36	2	9	2	2	1		126	2	1	2	2	1
	37	2	2	2	2	1		127	2	1	2	2	1
	38	2	2	1	1	1		128	2	1	2	2	1
	39	2	1	2	2	1		129	2	1	2	2	1
	40	2	1	2	2	1		130	2	1	1	1	1
	41	2	1	2	2	1		131	2	1	2	2	1
	42	2	1	1	1	1		132	2	1	2	2	2
	43	2	1	1	1	1		133	2	1	2	9	1
	44	2	2	1	1	1		134	2	1	2	9	1
	45	2	9	9	1	1		135	2	1	2	9	9
	46	2	2	1	1	1		136	2	1	1	1	1
	47	2	1	1	1	1		137	2	1	1	9	9
	48	2	2	1	1	1		138	2	1	2	1	1
	49	2	2	1	1	1		139	2	1	2	2	2
	50	2	1	2	2	2		140	2	1	2	2	2
sel38	51	2	1	2	2	1	sel57	141	2	2	2	2	2
	52	2	2	2	2	1		142	2	1	2	2	1
	53	2	1	2	2	2		143	2	1	2	2	2
	54	2	2	1	1	2		144	2	1	1	1	2
	55	2	1	1	1	9		145	2	1	2	9	9
	56	2	2	2	2	2		146	2	9	1	1	2

	57	2	2	2	2	2	sel 73	147	2	1	9	1	9
	58	2	1	2	2	2		148	2	9	9	9	9
	59	2	2	2	2	2		149	2	9	9	9	9
	60	2	2	2	2	1		150	2	9	1	1	1
	61	2	1	1	1	1		151	2	9	9	1	9
sel 45	62	2	1	1	1	2		152	2	2	2	2	2
	63	2	1	1	1	1		153	2	2	2	2	2
	64	2	1	9	2	9		154	2	2	1	1	2
	65	2	1	2	2	1		155	2	9	9	2	1
	66	2	1	1	1	1		156	2	9	9	1	9
	67	2	1	2	2	1		157	2	2	1	2	9
	68	2	1	1	9	9		158	2	1	2	2	9
	69	2	1	1	1	1		159	2	9	1	1	9
	70	2	1	2	2	1		160	2	9	9	1	9
	71	2	1	2	2	1		161	2	1	9	9	9
	72	2	1	1	1	1		162	2	9	2	2	1
	73	2	1	9	9	9		163	2	9	9	1	9
	74	2	1	2	2	1		164	2	1	2	9	9
	75	2	1	1	1	1		165	2	2	1	1	2
	76	2	1	2	2	1		166	2	2	2	2	2
	77	2	1	1	1	1		167	2	2	9	2	9
	78	2	1	2	1	2		168	2	9	2	2	2
	79	2	1	1	2	2		169	2	1	9	1	9
	80	2	1	1	1	1		170	2	1	2	2	2
	81	2	1	2	2	2		171	2	2	2	2	2
	82	2	1	1	1	2		172	2	1	1	1	2
	83	2	1	1	1	1		173	2	9	9	9	9
	84	2	1	1	1	2		174	2	1	2	2	1
	85	2	1	1	1	2		175	2	9	1	1	2
	86	2	1	2	2	1		176	2	1	2	2	1
	87	2	1	2	2	2		177	2	9	2	1	2
	88	2	1	1	1	2		Bg9	1	1	1	1	1
	89	2	1	1	1	2		Bm	0	0	0	0	0
	90	2	1	2	1	1							

Tabla anexo 32: Resultado obtenido de la autofecundación para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 1 y 7 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xwmc597, Xbarc18, Xgwm374 y Xgwm403. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403		INDIVIDUO	wmc764	wmc597	barc18	gwm374	gwm403
4	1	0	0	2	NC	0		323	0	9	2	1	1
	2	2	0	2	NC	0		324	0	9	2	2	0
	3	0	1	1	NC	0		325	0	9	2	2	0
	4	0	0	2	NC	2		326	0	9	1	2	2
	5	0	2	9	NC	1		327	0	9	9	0	1
	6	0	0	1	NC	2		328	0	9	2	9	1
	7	0	1	9	NC	0		329	0	9	9	2	2
	8	0	2	1	NC	2		330	0	9	9	2	2
	9	0	1	2	NC	1		331	0	9	2	9	9
	10	2	1	1	NC	9		332	0	9	1	2	2
	11	2	0	1	NC	2		333	0	9	2	0	1
	12	2	0	1	NC	1		334	2	9	2	2	2
	13	0	0	2	NC	9		335	0	9	2	2	2
	14	0	2	0	NC	9		336	0	9	2	2	2
	15	0	2	1	NC	9		337	2	9	2	2	0
	16	0	1	1	NC	2		339	0	9	2	2	2
	17	2	0	2	NC	9		340	0	9	0	2	2
	18	2	2	2	NC	0		341	0	9	0	1	0
	19	0	0	9	NC	0		342	0	9	2	1	2
	20	2	2	1	NC	0		343	2	9	9	2	2
	21	2	1	1	NC	0		345	0	9	2	0	2
	22	2	0	0	NC	2		346	2	9	1	0	2
	23	2	2	1	NC	9		347	0	9	0	1	0
	24	0	2	2	NC	2		348	0	9	2	2	0
	25	0	1	2	NC	2		349	2	9	0	1	0
	26	0	2	0	NC	2		350	0	9	1	0	2
	27	2	1	1	NC	2		351	2	9	0	2	0
	28	0	2	1	NC	1		352	0	9	1	0	1
	29	2	2	0	NC	2		353	9	9	2	9	1
	30	2	2	2	NC	2		354	2	9	2	2	1
	31	2	2	2	NC	2		355	0	9	9	9	2
	32	0	2	2	NC	2		356	0	9	2	2	0
33	2	2	2	NC	0		357	0	9	2	0	1	
34	0	2	2	NC	1		358	2	9	2	0	1	
35	2	2	2	NC	2		359	0	9	2	2	2	
36	2	2	0	NC	0		360	0	9	1	2	2	
37	2	2	1	NC	2		361	2	9	2	0	1	
38	2	0	0	NC	9		362	0	9	2	2	2	
39	0	1	2	NC	0		363	0	9	2	2	0	
40	2	0	9	NC	9		364	2	9	0	2	2	
41	2	0	2	NC	2		365	0	9	2	2	2	
42	0	2	2	NC	1		366	2	9	2	2	2	
43	0	9	9	NC	9		367	9	9	0	9	1	
44	2	1	0	NC	2	152	368	0	9	0	1	2	
45	2	1	2	NC	2		369	0	9	2	1	2	
46	0	2	2	NC	2		370	9	9	2	2	2	
47	2	1	1	NC	2		371	2	9	2	2	2	
48	0	2	2	NC	2		372	9	0	0	2	2	
50	0	1	9	NC	9		373	9	9	9	1	0	
57	9	9	2	NC	9		374	0	1	0	2	2	
58	0	0	2	NC	0		375	9	9	1	9	2	
59	0	0	9	NC	9		376	9	9	1	0	2	
61	2	1	0	NC	2		377	2	9	1	2	2	
62	0	1	1	NC	2		378	0	2	9	1	1	
63	0	1	2	NC	2		379	0	9	2	9	9	
64	0	2	2	NC	1		380	0	0	2	2	0	
65	0	0	1	NC	2		381	0	0	2	2	0	

12	66	0	0	2	NC	1
	67	0	1	9	NC	0
	68	2	2	2	NC	1
	71	2	2	0	NC	9
	72	0	2	2	NC	9
	73	0	2	1	NC	2
	74	0	2	1	NC	2
	77	2	2	0	NC	0
	78	0	2	0	NC	9
	79	2	0	1	NC	1
	80	0	2	1	NC	0
	81	2	2	2	NC	0
12	82	9	9	0	NC	9
	83	0	0	2	NC	0
	84	0	2	2	NC	0
	86	2	0	2	NC	0
	87	2	2	1	NC	0
	89	2	1	2	NC	0
	90	2	0	1	NC	0
	91	0	0	0	NC	0
	92	2	2	2	NC	0
	93	0	0	2	NC	9
	94	2	1	0	NC	0
	95	2	2	9	NC	0
12	97	2	1	2	NC	0
	98	0	2	2	NC	0
	99	0	1	2	NC	0
	101	0	0	0	NC	9
	102	2	0	9	NC	0
	103	2	1	2	NC	9
	104	2	2	0	NC	0
	106	0	2	2	NC	9
	107	0	0	9	NC	9
	108	2	2	9	NC	0
	109	2	1	2	NC	0
	110	0	0	0	NC	9
12	111	0	2	2	NC	0
	112	0	2	0	NC	0
	113	2	0	1	NC	0
	114	9	9	9	NC	2
	115	9	0	2	NC	1
	116	0	0	0	NC	2
	117	0	2	2	NC	1
	118	2	2	1	NC	2
	119	0	2	1	NC	0
	120	0	0	0	NC	0
	121	2	0	0	NC	2
	122	2	1	0	NC	0
12	123	0	1	1	NC	9
	124	2	2	2	NC	0
	125	2	0	2	NC	0
	128	2	0	1	NC	2
	129	0	9	2	NC	0
	132	2	2	0	NC	2
	133	0	0	9	NC	0
	134	0	2	1	NC	0
	135	2	2	2	NC	0
	136	0	0	0	NC	0
	137	2	0	1	NC	2
	139	2	2	2	NC	2
12	140	0	2	2	NC	0
	142	2	2	9	NC	0
	143	2	1	1	NC	0
	145	2	1	2	NC	1
	146	0	2	9	NC	2
	149	0	1	0	NC	9

153

382	2	9	1	2	2
383	0	0	0	0	9
384	0	2	0	1	0
385	2	0	0	0	1
386	2	2	1	1	0
387	0	2	2	2	1
388	2	1	0	2	2
389	2	0	9	1	0
390	0	9	1	2	2
391	0	0	2	0	9
392	0	1	9	2	2
393	9	9	2	1	2
394	0	9	1	2	2
395	0	9	1	0	2
396	9	0	0	1	0
398	0	1	1	0	1
399	0	2	2	2	0
400	2	9	1	0	9
401	9	9	9	9	1
402	9	9	9	9	9
403	9	9	2	2	2
404	2	2	2	2	0
405	0	9	2	9	9
406	0	0	1	0	1
407	0	2	2	2	2
408	0	2	2	2	2
409	0	0	2	1	2
411	0	0	2	2	2
412	0	2	0	1	0
413	9	9	9	1	0
414	0	2	0	1	2
415	0	1	2	2	2
416	9	9	9	9	9
417	2	2	2	2	0
418	9	9	9	9	1
419	0	0	1	0	1
420	0	1	2	1	0
421	2	2	0	1	0
422	0	0	1	0	1
423	0	0	2	2	2
424	0	0	2	2	2
425	0	9	1	9	9
426	2	2	2	0	1
427	0	9	2	2	0
428	2	2	0	1	2
429	0	0	1	0	1
430	2	0	2	2	9
431	0	0	2	1	0
432	0	2	2	2	0
433	2	9	2	2	2
434	0	2	2	2	2
435	0	1	2	2	2
436	9	9	9	2	2
437	0	1	2	2	2
438	9	9	9	2	2
439	9	9	9	0	2
440	2	1	2	2	2
441	0	2	2	2	2
442	0	2	1	0	1
443	2	1	1	0	2
444	2	2	2	1	2
445	0	1	9	2	0
446	9	9	9	9	9
447	0	2	2	2	2
448	9	9	9	9	9
449	2	0	2	2	2

31	150	2	0	0	NC	0	168	450	2	2	9	2	2
	151	2	2	2	NC	0		451	2	2	2	2	2
	152	2	1	2	NC	0		452	0	0	0	1	2
	153	2	2	2	NC	0		453	0	1	2	2	2
	154	0	1	2	NC	9		454	9	9	9	9	9
	156	2	2	2	NC	9		455	2	1	2	1	2
	157	2	2	2	NC	1		456	2	2	0	1	0
	158	0	2	2	NC	2		458	2	2	2	0	2
	159	2	2	1	NC	0		459	0	0	1	2	2
	160	2	2	2	NC	0		460	9	9	1	0	1
	162	2	1	1	NC	1		461	2	1	1	2	1
	163	0	2	2	NC	2		462	9	9	9	9	9
	164	0	2	0	NC	0		463	2	2	0	2	2
	165	2	0	2	NC	2		464	2	9	0	9	9
	166	2	0	2	NC	9		465	2	2	1	0	1
	169	0	2	1	NC	9		466	0	2	2	2	2
	170	2	1	0	NC	2		467	2	1	2	2	2
	171	2	2	1	NC	9		468	0	9	0	1	0
	172	2	0	1	NC	1		469	0	1	0	1	0
	174	2	2	2	NC	0		470	0	2	1	0	2
	177	0	1	2	NC	2		471	0	9	9	9	0
	178	0	0	1	NC	0		472	0	2	2	2	0
	179	2	2	2	NC	9		473	0	0	1	2	0
	180	9	9	9	NC	0		474	0	0	1	0	1
	181	0	2	2	NC	0		475	2	2	2	2	2
	182	9	0	2	NC	0		476	0	1	2	1	2
	183	0	0	1	NC	9		477	2	1	1	0	2
	185	0	2	2	NC	0		478	9	9	1	9	9
	187	2	2	1	NC	2		479	9	9	9	9	9
	188	2	2	1	NC	0		480	9	9	9	9	9
	189	2	1	2	NC	2		481	0	0	2	2	0
	190	2	2	2	NC	2		482	0	1	2	2	0
	191	0	1	1	NC	9		483	0	0	2	0	9
	192	9	9	1	NC	9		484	0	2	0	1	2
	193	9	9	1	NC	2		485	2	2	2	0	0
	194	2	2	2	NC	1		486	0	2	2	2	2
	195	0	1	0	NC	2		487	0	1	1	0	2
	196	2	0	1	NC	0		488	2	2	2	1	0
	197	9	1	0	NC	9		489	0	9	9	9	2
	198	2	0	0	NC	0		490	0	1	1	0	1
	199	2	0	0	NC	0		491	9	9	2	1	2
	200	0	2	0	NC	9		492	0	2	1	2	2
	201	9	9	2	NC	1		493	2	2	2	2	2
	202	0	2	2	NC	2		494	0	0	2	2	2
	203	0	2	0	NC	9		495	0	1	9	2	2
	204	2	2	2	NC	9		496	0	1	2	2	2
	206	2	1	0	NC	0		497	0	1	2	2	2
	208	2	2	0	NC	0		498	2	1	2	1	2
	209	0	2	2	NC	0		499	0	1	2	2	0
	210	2	2	2	NC	0		500	0	2	1	0	1
	211	0	0	1	NC	0		501	0	2	2	2	2
	212	0	0	2	NC	2		502	9	9	1	9	9
	214	2	0	2	NC	1		503	9	9	1	9	9
	215	2	2	2	NC	2		504	0	2	2	2	9
	217	0	0	0	NC	2		505	0	2	1	2	1
	218	0	2	2	NC	9		506	0	2	2	2	0
	219	2	0	2	NC	0		507	0	1	9	9	9
	220	2	0	2	NC	0		508	0	2	0	1	2
	221	9	0	2	NC	2		509	9	9	9	9	9
	222	2	2	1	NC	2		510	0	2	1	0	1
	223	0	2	2	NC	1		511	0	0	2	2	1
	224	2	1	2	NC	2		512	0	2	2	9	1
	225	0	1	2	NC	0		513	0	0	1	0	2
	226	0	2	2	NC	2		514	0	0	1	9	9
	227	0	2	0	NC	2		515	0	0	0	9	9
	228	0	0	2	NC	2		516	0	2	0	1	2

59	229	0	0	9	NC	1	171	517	0	2	0	1	2
	230	0	0	2	NC	9		518	2	2	2	2	2
	231	2	2	2	NC	1		519	0	2	0	1	0
	232	9	9	9	NC	9		520	0	2	0	2	2
	234	9	9	9	NC	9		521	2	1	0	9	2
	235	0	0	2	NC	1		522	9	9	0	9	9
	236	2	1	0	NC	1		523	0	2	0	2	0
	237	2	0	2	NC	2		524	0	2	0	2	0
	238	2	0	1	NC	9		525	2	1	0	1	0
	239	2	1	2	NC	9		526	2	1	2	2	2
	241	0	2	2	NC	2		527	2	2	2	2	0
	242	0	9	9	NC	0		528	0	1	2	2	0
	243	0	0	1	NC	2		529	0	2	2	2	2
	244	9	9	9	NC	1		530	0	2	1	0	2
	245	9	9	9	NC	0		531	0	2	0	1	0
	246	2	0	2	NC	0		532	2	2	2	2	0
	247	2	0	2	NC	2		533	0	2	0	1	1
	248	9	9	9	NC	9		534	0	2	2	0	9
	249	0	0	1	NC	2		535	0	2	2	2	2
	250	2	2	1	NC	2		536	0	2	2	2	2
	251	0	0	1	NC	9		537	9	9	2	2	2
	252	0	0	2	NC	0		538	0	2	9	1	1
	253	0	2	2	NC	0		539	0	1	1	0	9
	254	2	1	1	NC	0		540	0	2	9	2	2
	255	0	0	0	NC	2		541	0	2	0	1	2
	256	0	1	2	NC	1		542	0	2	9	1	2
	257	0	0	1	NC	2		543	0	1	2	2	2
	258	0	0	0	NC	2		544	0	2	2	2	2
	264	0	0	1	NC	1		545	0	1	1	0	1
	265	2	0	2	NC	1		546	2	9	0	1	2
	266	9	9	9	NC	9		547	0	2	2	2	2
	267	2	2	2	NC	2		548	0	2	2	9	9
	270	0	2	2	NC	2		549	0	2	9	9	2
	272	0	0	0	NC	0		550	0	2	2	9	0
	273	9	9	9	NC	9		551	0	2	2	2	2
	274	2	0	1	NC	2		552	0	2	2	1	0
	275	2	2	0	NC	1		553	2	2	0	2	0
	276	2	2	2	NC	9		554	0	2	9	1	2
	277	0	0	2	NC	2		555	0	1	1	0	1
	278	2	2	2	NC	0		556	0	2	2	1	2
	279	9	9	9	NC	9		557	0	2	9	9	9
	280	2	2	1	NC	2		558	0	1	9	0	1
	281	0	2	1	NC	2		559	0	2	2	2	2
	282	0	2	0	NC	2		560	0	2	0	1	2
	283	0	9	1	NC	9		561	9	9	0	2	2
	284	9	9	0	NC	9		562	9	9	2	9	9
	285	2	1	1	NC	1		563	0	1	2	9	9
	286	0	1	1	NC	1		564	0	1	9	1	2
	287	0	2	1	NC	0		565	2	2	1	0	1
	288	2	2	1	NC	0		566	0	2	2	1	2
	292	0	9	2	NC	9		567	0	2	1	2	1
	294	0	1	9	NC	2		568	0	2	2	2	2
	295	2	2	2	NC	0		569	0	2	0	1	2
	296	0	2	1	NC	2		570	0	2	0	1	2
	297	0	0	1	NC	2		571	0	1	2	1	1
	298	0	0	2	NC	1		572	0	2	0	1	2
	300	0	2	2	NC	2		573	2	1	0	1	2
	301	2	0	1	NC	2		574	0	2	0	1	2
	303	0	2	2	NC	1		575	9	1	2	1	2
	305	2	2	0	NC	1		576	0	2	2	2	2
	306	0	1	2	NC	9		577	0	1	1	9	2
59	307	0	9	2	0	2		578	0	1	9	9	9
	308	0	9	2	2	2		579	0	2	0	1	2
	309	2	9	9	2	2		580	0	2	0	9	9
	310	9	9	2	1	2		581	9	9	2	9	9
	311	9	9	0	1	2		582	9	9	0	2	2

	312	2	9	1	1	2		583	0	1	2	0	2
	313	0	9	1	2	1		584	0	2	2	1	2
	314	0	9	2	0	1		585	9	2	0	1	0
	315	0	9	2	2	0		586	0	2	0	2	2
	316	0	9	2	2	0		587	0	1	1	9	2
	317	0	9	2	2	0		588	0	2	9	9	9
	318	0	9	2	2	2		589	0	2	2	9	2
	319	9	9	9	2	2		590	0	2	9	1	2
	320	9	9	2	9	9		Bg9	138	245	219	192	135
	321	0	9	1	2	0		Bm	128	228	228	205	125
	322	2	9	0	0	9							

Tabla anexo 33: Resultado obtenido del BC1 para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 1 y 6 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xgwm257, Xgwm374, Xbarc124 y gwm630. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero 1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde.

INDIVIDUO	barc124	gwm257	gwm630	gwm374	INDIVIDUO	barc124	gwm257	gwm630	gwm374
1	2	1	2	2	72	1	2	1	2
2	1	1	1	1	73	1	9	1	2
3	1	1	1	1	74	2	1	9	2
4	1	1	1	1	75	1	9	9	1
5	1	1	9	2	76	1	9	9	2
6	1	1	1	2	77	1	1	1	1
7	1	2	1	1	78	1	1	2	1
8	2	2	1	1	79	1	1	1	2
9	2	9	1	2	80	2	1	1	1
10	1	2	1	1	81	2	1	1	9
11	1	2	1	1	82	2	2	1	1
12	2	9	1	2	83	1	2	1	2
13	9	9	9	9	84	2	2	2	2
14	2	9	9	9	85	9	2	2	2
15	2	9	9	1	86	1	9	1	1
16	2	2	1	1	87	2	2	1	2
17	1	9	1	1	88	1	1	2	1
18	1	9	1	1	89	2	9	1	2
19	2	2	2	2	90	2	2	1	2
20	2	2	2	2	91	2	2	2	1
21	2	2	1	2	92	1	1	1	1
22	1	9	1	1	93	1	2	1	2
23	1	9	1	1	94	2	9	2	2
24	2	9	1	1	95	2	2	2	2
25	1	1	9	1	96	2	2	2	2
26	2	2	9	1	97	2	1	2	2
27	1	1	1	1	98	1	9	9	1
28	1	2	9	1	99	2	1	2	2
29	2	9	1	1	100	9	9	9	9
30	1	1	9	1	101	2	1	2	2
31	1	1	2	2	102	9	9	9	9
32	2	2	1	1	103	1	2	1	1
33	2	2	2	1	104	1	2	2	2
34	2	1	2	1	105	2	9	1	2
35	2	1	2	2	106	2	9	9	1
36	1	2	1	1	107	1	9	1	2
37	1	1	9	1	108	1	9	1	1
38	1	1	2	1	109	2	2	9	2
39	2	1	1	1	110	1	2	9	1
40	9	9	1	2	111	1	9	1	1
41	1	2	2	2	112	2	9	1	2
42	2	1	9	2	113	1	2	1	1
43	1	2	2	2	114	1	9	1	1
44	2	9	1	1	115	2	9	1	1
45	2	1	2	2	116	1	1	1	2
46	2	9	1	1	117	1	2	1	2
47	1	1	1	1	118	2	9	1	2
48	2	2	2	2	119	1	9	1	1
49	1	2	2	1	120	2	9	9	2
50	2	1	2	1	121	1	9	9	2
51	2	2	9	2	122	1	9	9	1
52	2	1	2	9	123	2	2	9	2
53	2	2	1	2	124	2	2	9	2
54	1	1	1	2	125	2	9	9	2
55	1	2	2	1	126	1	2	1	1
56	1	1	9	2	127	2	1	9	2
57	1	1	2	1	128	2	1	1	2
58	1	2	11	2	129	1	1	1	1
59	1	2	1	2	130	2	1	1	2
60	2	2	9	1	131	2	9	1	2

61	2	1	9	2	132	1	1	1	1
62	2	1	9	1	133	2	9	1	2
63	2	1	2	1	134	2	1	1	2
64	2	1	9	2	135	1	9	9	2
65	2	1	9	1	136	1	2	9	1
66	1	1	1	1	137	2	1	9	1
67	2	1	2	2	138	2	9	9	2
68	2	2	1	2	139	2	1	9	9
69	2	9	1	1	BB	1	1	1	1
70	2	9	9	2	Bm	0	0	0	0
71	2	2	1	1					

Tabla anexo 34: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. Buck Biguá como las variedades comerciales susceptibles y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila correspondiente a %: corresponde al cociente entre cantidad de "1" sobre el total de marcadores.

	19	20	21	33	35	41	45	48	51	52	68	84	87	85	90	91	95	96	97	109	123	124	BB	Bm
wmc216	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	0
barc309	1	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	0
gwm636	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	2	1	1	2	2	1	1	0
gwm539	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	0
gdm19	2	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	0
gwm349	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	2	1	0
gwm455	2	2	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	2	1	0
barc124	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	1	2	2	1	0
gwm155	1	2	2	9	2	2	1	9	2	2	1	2	9	9	1	1	1	2	2	1	1	2	1	0
gwm247	9	2	1	1	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	1	2	1	0
barc218	1	1	2	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	0
gwm645	2	2	2	9	9	2	2	2	2	9	2	2	1	9	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0
gwm456	1	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	0
gwm664	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	0
barc106	2	1	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2	1	1	2	1	0
gwm610	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	2	1	1	0
gwm165	1	1	1	2	1	9	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	9	2	1	1	9	1	1	0
gwm513	2	1	2	9	2	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	0
wmc622	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1	0
barc308	1	1	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	0
gwm291	1	2	2	2	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	2	1	1	9	1	1	1	1	1	0
gwm126	1	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	0
gwm67	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	0
gwm604	1	1	2	2	1	2	1	2	2	2	2	9	2	2	9	2	1	1	2	1	1	1	1	0
gwm540	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	1	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	0
gwm174	2	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	1	2	1	2	1	9	2	1	2	2	2	1	0
barc143	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	2	1	1	0
gwm334	1	9	1	2	1	1	1	1	2	2	2	9	1	1	1	1	1	9	9	1	2	1	1	0
barc3	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	0
gwm626	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	9	2	2	2	2	9	2	1	1	0
gwm219	1	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	1	0
gwm193	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	0
gwm325	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	9	1	0
gwm146	1	1	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	9	1	1	1	0

Tabla anexo 35: Resultado obtenido del BC2 para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 9 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xgwm257, Xgwm374, Xbarc124 y gwm630. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	INDIVIDUO	wmc764	barc124	gwm257	gwm630	gwm374		INDIVIDUO	wmc764	barc124	gwm257	gwm630	gwm374
	1	2	1	NC	1	9	10-802	105	2	1	NC	1	1
20	2	2	1	NC	2	1	84	106	2	2	NC	1	1
	3	2	1	NC	2	2		107	2	2	NC	1	1
	4	2	1	NC	1	1		108	2	9	NC	1	1
	5	2	1	NC	1	1		109	2	2	2	2	9
	6	2	1	NC	2	2		110	2	1	NC	9	9
	7	2	9	NC	2	2		111	2	1	NC	1	1
	8	2	1	NC	2	2		112	2	1	NC	2	9
	9	2	1	NC	1	2		113	2	2	NC	1	2
	10	2	2	2	2	2		114	2	1	NC	1	1
	11	2	2	2	2	2		115	2	2	NC	2	1
	12	2	1	NC	1	1		116	2	1	NC	2	2
	13	2	1	NC	1	1		117	2	9	NC	1	9
	14	2	1	NC	1	1		118	2	1	NC	2	9
	15	2	2	NC	1	1		119	2	1	NC	9	1
	16	2	1	NC	1	1		120	2	2	NC	1	9
	17	2	2	NC	2	1		121	2	1	NC	9	2
	18	2	2	NC	1	1		122	2	2	2	2	2
	19	2	1	NC	1	1		123	2	2	2	2	9
	20	2	1	NC	1	1		124	2	1	NC	9	9
	21	2	2	NC	2	1		125	2	1	NC	9	1
	22	2	1	NC	1	1		126	2	2	NC	1	1
	23	2	2	NC	1	1		127	2	2	NC	9	2
	24	2	1	NC	1	9		128	2	1	NC	2	9
	25	2	1	NC	1	9		129	2	1	NC	2	9
	26	2	1	NC	1	1		130	2	1	NC	9	9
	27	2	2	NC	1	1		131	2	2	NC	9	9
	28	2	1	NC	2	1		132	2	1	NC	1	1
	29	2	1	NC	1	9		133	2	2	NC	1	1
	30	2	1	NC	1	1		134	2	2	NC	1	1
	31	2	1	NC	1	2		135	2	9	NC	1	1
	32	2	2	2	2	2		136	2	2	NC	9	9
	33	2	1	NC	2	1		137	2	2	NC	9	2
	34	2	2	2	2	2		138	2	1	NC	1	1
	35	2	2	NC	1	1		139	2	1	NC	1	1
35	36	2	2	NC	2	1	91	140	2	1	NC	1	1
	37	2	1	NC	1	2		141	2	1	NC	1	1
	38	2	1	NC	2	1		142	2	1	NC	1	1
	39	2	2	NC	1	2		143	2	1	NC	1	9
	40	2	2	2	2	2		144	2	1	NC	1	2
	41	2	2	NC	2	1		145	2	1	NC	1	1
	42	2	2	NC	1	2		146	2	1	NC	1	2
	43	2	1	NC	2	2		147	2	1	NC	1	1
	44	2	2	NC	2	1		148	2	1	NC	1	1
	45	2	2	NC	1	2		149	2	1	NC	1	2
	46	2	1	NC	2	2		150	2	1	NC	1	1
	47	2	2	2	2	2		151	2	1	NC	1	2
	48	2	1	NC	2	2		152	2	1	NC	1	2
	49	2	1	NC	2	1		153	2	1	NC	9	9
	50	2	1	NC	1	1		154	2	1	NC	1	9
	51	2	2	NC	1	1		155	2	1	NC	9	2
	52	2	2	NC	1	2		156	2	1	NC	1	2
	53	2	1	NC	1	1		157	2	1	NC	9	1
	54	2	1	NC	2	2		158	2	1	NC	1	9
	55	2	1	NC	1	2		159	2	1	NC	1	2
	56	2	2	NC	1	9		160	2	1	NC	1	2
	57	2	2	NC	1	2		161	2	1	NC	1	1

	58	2	1	NC	1	9		162	2	1	NC	1	1
	59	2	1	NC	1	2		163	2	1	NC	1	2
	60	2	2	NC	1	9		164	2	1	NC	1	2
45	61	2	1	NC	2	1		165	2	1	NC	1	2
	62	2	1	NC	2	1		166	2	1	NC	1	1
	63	2	2	NC	1	2		167	2	1	NC	1	2
	64	2	2	2	2	2		168	2	1	NC	1	1
	65	2	2	NC	2	1		169	2	1	NC	1	9
	66	2	1	NC	1	2		170	2	1	NC	9	2
	67	2	2	NC	2	1		171	2	1	NC	1	2
	68	2	1	NC	1	2		172	2	1	NC	1	2
	69	2	9	NC	2	1		173	2	1	NC	1	2
	70	2	2	2	2	2		174	2	1	NC	1	9
	71	2	1	NC	1	9	96	175	2	2	9	2	2
	72	2	1	NC	9	9		176	2	2	NC	1	9
	73	2	1	NC	1	1		177	2	2	NC	1	2
	74	2	1	NC	1	2		178	2	1	NC	2	2
	75	2	2	2	2	2		179	2	1	NC	2	1
	76	2	2	NC	1	2		180	2	2	NC	1	2
	77	2	2	NC	1	1		181	2	2	NC	1	1
	78	2	1	NC	1	2		182	2	2	2	2	2
	79	2	2	NC	1	1		183	2	2	1	2	2
	80	2	2	NC	1	1		184	2	2	NC	1	2
	81	2	1	NC	1	2		185	2	2	NC	1	2
	82	2	1	NC	2	2		186	2	1	NC	9	9
	83	2	2	NC	2	1		187	2	1	NC	2	2
	84	2	9	NC	1	2		188	2	2	NC	1	9
	85	2	2	2	2	2		189	2	1	NC	1	2
	86	2	1	NC	1	2		190	2	2	1	2	2
	87	2	2	NC	2	1		191	2	9	NC	1	2
	88	2	2	NC	1	2		192	2	2	2	2	2
	89	2	9	NC	2	2		193	2	1	NC	1	1
	90	2	2	NC	9	2		194	2	9	NC	1	9
	91	2	2	1	2	2	97	195	2	1	NC	1	2
68	92	2	1	NC	2	1		196	2	2	NC	1	2
	93	2	2	NC	1	1		197	2	1	NC	2	2
	94	2	1	NC	1	1		198	2	1	NC	9	2
	95	2	2	NC	1	1		199	2	1	NC	1	1
	96	2	1	NC	1	9		200	2	1	NC	2	1
	97	2	1	NC	1	1		201	2	2	2	2	9
	98	2	1	NC	1	1		202	2	2	NC	1	2
	99	2	1	NC	2	1		203	2	9	NC	1	1
	100	2	1	NC	2	1		204	2	9	2	2	2
	101	2	2	NC	1	2		205	2	9	1	2	2
	102	2	1	NC	2	1		206	2	1	NC	1	2
	103	2	1	NC	1	1		207	2	1	NC	1	1
	104	2	1	NC	2	1		BB	1	1	1	1	1
								Bm	0	0	0	0	0

Tabla anexo 36: La tabla muestra los SSRs ensayados para evaluar el fondo genético del padre recurrente. Las ultimas columnas de corresponden a los parentales. Buck Biguá como las variedades comerciales susceptibles y Buck Manantial como el parental donador, codificado como 1 para comercial, 0 para donador y 2 para Heterocigota. La fila correspondiente a %: corresponde al cociente entre cantidad de "1" sobre el total de marcadores.

Corresponde al cociente entre Cantidad de 1 sobre el total de marcadores:																								
	Sel 20				Sel 35		Sel 45				Sel 68	Sel 84			Sel 96					Sel 97				
	10	11	32	34	40	47	64	70	75	85	91	109	122	123	175	182	183	190	192	201	204	205	BB	Bm
xgwm99	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	9	9	1	1	1	1	1	1	1	0
xgwm120	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0
xgwm674	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	9	1	1	9	1	1	1	2	1	1	1	1	0
xgwm69	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1	1	9	2	1	1	1	0
barc8	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	1	0
xgwm617	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc316	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
xgwm400	2	2	1	2	1	1	1	1	9	1	1	2	1	2	1	1	9	9	1	2	9	1	1	0
xgwm46	2	2	2	2	1	2	1	1	2	9	9	9	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	0
xgwm95	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	9	1	1	1	2	2	1	0
xgwm311	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	0
xgwm312	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	9	1	1	2	1	9	1	2	1	2	1	0
xgwm614	9	2	1	2	1	1	9	1	1	1	1	9	2	2	1	1	9	2	9	1	2	2	1	0
wmc773	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
barc159	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	0
xgwm259	1	2	2	1	9	2	1	1	1	9	1	1	1	1	1	2	9	2	1	1	2	1	1	0
xgwm515	1	9	1	1	1	1	1	2	9	2	2	2	2	2	2	2	9	9	2	1	9	1	1	0
xgwm382	9	1	1	2	2	1	1	2	2	2	9	2	2	2	9	1	9	2	2	1	1	2	1	0
xgwm157	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0
xgwm388	1	2	2	1	2	1	1	2	2	2	9	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0
xgwm257	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	9	2	1	1	2	2	2	1	1	0
barc160	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0
xgwm296	2	2	2	2	1	1	9	1	1	1	9	1	1	2	2	9	1	1	1	1	2	2	1	0
xgwm369	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0
xgwm566	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	1	2	1	2	9	1	1	1	1	1	0
xgwm538	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0
xgwm554	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	9	1	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	1	0
xgwm67	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	9	1	2	1	1	0
xgwm544	1	2	2	2	1	1	2	2	2	2	9	1	1	1	1	1	9	9	1	1	1	1	1	0
xgwm570	1	1	2	2	2	1	2	2	2	9	1	9	1	9	1	1	9	9	1	1	1	1	1	0
xgwm55	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	9	1	1	1	1	1	2	1	1	1	0
barc21	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	2	1	1	1	2	1	0
xgwm573	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0

Tabla anexo 37: Resultado obtenido de la autofecundación para la introgresión del cromosoma 2BS. Las columnas 2 y 9 indican cada individuo portador del gen Lr16 analizado en relación a los marcadores Xwmc764, Xgwm257, Xgwm374, Xbarc124 y gwm630. En las columnas correspondientes a los marcadores el numero1 Indica homocigota tipo padre recurrente, el 0 tipo padre donante y el 2 indica Heterocigota y NC: no corresponde. Las columnas 1 y 8 indican la planta selecta del cruzamiento anterior.

	Individuo	wmc764	barc124	gwm257	gwm630	gwm374		Individuo	wmc764	barc124	gwm257	gwm630	gwm374
40	55	0	2	2	0	9	183	255	9	1	0	0	9
	56	9	1	2	1	9		256	9	2	1	0	9
	57	0	2	2	2	2		257	2	2	2	2	2
	58	9	9	0	1	9		258	0	2	2	2	0
	59	0	2	2	0	0		259	0	2	2	2	2
	60	0	2	0	2	0		260	9	0	9	9	9
	61	0	2	0	2	0		261	0	0	0	0	0
	62	0	2	2	2	2		262	9	1	2	2	9
	63	9	0	0	9	9		263	9	9	9	9	9
	64	9	1	2	1	9		264	2	0	2	2	0
	65	9	2	1	1	9		265	2	2	2	2	9
	66	9	1	2	1	9		266	9	2	9	9	9
	67	9	2	0	1	9		267	9	2	9	9	9
	68	9	2	2	1	9		268	0	2	2	2	2
	69	9	1	2	2	9		269	0	0	0	2	0
	70	9	1	9	9	9		311	9	0	2	1	9
	71	9	1	2	0	9		312	9	1	2	2	9
	72	9	1	1	0	9		313	9	0	2	9	9
	73	0	2	0	0	0		314	9	2	1	9	9
	74	0	0	2	0	0		315	9	2	1	1	9
	75	9	9	9	9	9		316	9	0	9	1	9
	76	9	2	0	0	2		317	9	1	0	9	9
	77	9	0	9	9	9		318	9	1	9	0	9
	78	9	0	2	1	9		319	9	2	9	9	9
	79	9	1	2	2	9		320	9	0	2	9	9
	80	2	2	2	2	2		321	9	2	2	9	9
	81	2	2	2	2	0		322	9	2	0	1	9
	82	0	2	2	0	0		323	0	2	2	0	0
	83	9	9	2	2	9		324	9	2	0	9	9
	84	9	1	1	1	9		325	0	0	0	0	0
	85	2	2	2	2	0		326	9	2	1	2	9
	86	2	2	2	2	2		327	0	0	0	0	0
	87	9	0	2	2	0		328	9	1	9	9	9
	88	9	2	2	1	9		329	2	0	2	2	0
	89	9	1	2	2	9		330	9	2	9	9	9
	90	9	1	1	0	9		331	0	2	2	2	2
	91	2	2	2	2	2		332	0	2	2	0	9
	92	0	0	2	0	0		333	0	2	2	2	2
	93	9	1	2	2	9		334	9	1	2	1	9
	94	9	9	0	0	9		335	9	2	0	1	9
	95	9	2	1	0	9		336	9	2	1	2	9
	96	9	2	1	2	9		337	2	2	2	2	2
	97	0	0	2	2	2		338	0	0	2	2	2
	98	2	2	2	0	0		339	0	0	2	2	2
	99	0	2	2	2	2		340	0	2	0	0	9
	100	0	0	2	2	2		341	9	2	1	2	9
	101	0	0	2	2	2		342	9	9	1	9	9
	102	9	1	2	2	9		343	9	2	2	1	9
	103	0	2	2	2	2		344	0	2	2	2	2
	104	9	2	0	2	0		345	9	2	1	9	9
	105	9	9	9	9	9		346	0	2	2	2	2
47	106	0	2	2	0	0		347	9	2	1	0	9
	107	0	2	0	0	0		348	0	2	0	0	0
	108	9	9	9	2	9		349	0	0	2	0	2
	109	9	0	9	2	9		350	9	0	2	1	9
	110	0	2	0	0	0		351	0	2	0	2	2
	111	9	9	1	2	9		352	9	0	1	1	9

	112	2	2	2	0	0	201	353	9	2	2	1	9
	113	9	0	1	2	9		354	2	2	2	0	0
	114	9	9	2	1	9		355	9	1	2	1	9
	115	9	2	9	0	9		356	9	0	2	1	9
	116	0	0	2	0	0		357	9	2	2	1	0
	117	9	1	0	0	9		358	9	0	2	1	0
	118	0	0	0	2	2		415	9	2	9	9	9
	119	9	0	1	0	9		416	9	1	0	1	9
	120	9	1	1	1	9		417	9	1	1	1	9
	121	9	1	9	1	9		418	9	1	1	1	9
	122	0	2	2	2	2		419	9	1	2	1	9
	123	0	0	0	0	0		420	9	0	0	1	9
	124	9	1	1	2	9		421	9	0	2	1	9
	125	9	9	9	9	9		422	9	1	1	2	9
	126	9	9	2	2	9		423	9	1	0	2	9
	127	9	1	1	1	9		424	0	2	2	0	0
	128	9	2	1	1	9		425	9	9	2	2	9
	129	9	2	9	2	9		426	9	0	9	1	9
	130	9	1	0	2	9		427	9	2	2	9	9
	131	9	1	2	2	9		428	9	2	1	2	9
	132	9	1	9	2	9		429	9	9	2	1	9
	133	9	1	9	2	9		430	9	1	9	9	9
	134	9	1	0	0	9		431	9	1	9	9	9
	135	0	0	2	2	2		432	9	1	2	2	9
	136	9	0	2	1	9		433	9	0	9	9	9
	137	9	2	2	0	0		434	2	0	2	2	0
	138	2	2	0	0	2		435	9	9	9	9	9
	139	9	2	0	1	9		436	0	2	0	0	0
	140	9	9	9	9	9		437	9	9	1	1	9
	141	2	2	0	0	0		438	2	2	2	2	2
	142	9	2	9	0	9		439	9	2	1	0	9
	143	2	0	2	0	2		440	9	2	1	1	9
	144	9	2	0	1	9		441	9	1	1	0	9
	145	9	0	1	9	9		442	9	1	1	2	9
	146	9	1	1	1	9		443	9	1	1	2	9
	147	9	2	1	1	9		444	0	2	2	2	2
	148	9	2	0	2	2		445	9	2	1	1	9
	149	0	0	0	2	0		446	9	2	1	0	9
	150	9	2	1	2	9		447	9	2	1	2	9
	151	9	9	9	9	9		448	9	2	1	0	9
	152	9	2	1	2	9		449	9	2	1	2	9
	153	9	1	1	2	9		450	9	1	9	9	9
91	193	2	2	2	0	2	204	451	9	2	1	1	9
	194	2	2	2	0	2		452	9	1	2	0	9
	195	0	2	2	2	1		453	9	2	1	1	9
	196	9	2	2	1	9		454	2	2	0	0	0
	197	9	2	9	9	9		455	9	2	1	2	9
	198	0	2	2	2	1		456	9	1	1	2	9
	199	0	2	2	2	2		457	2	2	2	2	2
	200	9	1	0	1	9		458	9	2	2	1	9
	201	9	2	9	9	9		459	9	2	1	1	9
	202	0	2	2	2	2		460	9	2	2	1	9
	203	9	2	2	1	9		461	9	1	0	2	9
	204	9	0	0	9	9		462	9	2	9	9	9
	205	0	0	2	2	0		463	9	1	0	0	9
	206	9	9	9	9	9		464	0	1	1	2	9
	207	9	2	9	9	9		465	9	1	2	1	9
	208	0	0	2	2	2		466	9	1	0	0	9
	209	9	2	9	9	9		467	9	1	1	9	9
	210	0	2	2	0	2		468	9	9	0	2	9
	211	9	1	2	9	9		469	9	9	0	2	9
	212	9	1	2	2	9		470	9	1	0	0	9
	213	9	2	2	9	9		471	9	1	0	2	9
	214	9	1	2	2	9		472	9	2	2	1	9
	215	9	9	2	3	9		473	9	9	1	0	9

	216	9	9	9	9	9	474	9	1	9	1	9
	217	9	2	1	0	9	475	0	0	0	2	0
	218	9	2	1	2	9	476	9	0	2	1	9
	219	9	9	9	9	9	477	9	9	2	0	9
	220	9	9	9	9	9	478	9	9	1	2	9
	221	9	1	0	0	9	479	9	9	2	1	9
	222	9	1	1	2	9	480	9	0	1	0	9
	223	2	0	2	0	0	481	0	0	2	0	0
	224	0	2	2	0	2	482	0	2	0	2	1
	225	0	2	0	0	0	483	9	2	2	1	9
	226	9	1	9	9	9	484	9	1	2	2	9
	227	9	1	2	2	9	485	9	1	2	2	9
	228	9	0	9	0	9	486	9	0	9	9	9
	229	9	0	1	2	9	487	9	2	1	0	9
	230	0	2	0	2	2	488	9	0	1	2	9
	231	0	2	0	2	2	489	0	1	0	1	9
	232	9	1	2	2	9	490	0	1	0	1	9
	233	2	2	2	0	2	491	9	1	2	2	9
	234	0	2	0	0	0	492	9	2	1	2	9
	235	0	2	2	0	2	493	9	2	2	1	9
	236	2	0	2	0	2	494	9	0	0	1	9
	237	9	0	9	1	9	495	0	0	0	2	0
	238	0	2	0	0	0	496	2	0	0	0	0
109	239	9	0	9	9	9	497	0	0	1	1	9
	240	9	9	9	9	9	498	9	9	0	0	9
	241	0	2	2	1	1	499	9	0	1	1	9
	242	9	1	2	1	9	500	0	0	0	2	0
	243	9	2	0	9	9	501	0	2	2	2	2
	244	9	2	9	9	9	502	9	0	2	2	9
	245	9	0	2	1	9	503	9	2	2	2	0
	246	9	0	2	1	9	504	9	2	9	9	9
	247	0	0	2	2	0	505	9	2	1	2	9
	248	9	0	2	1	9	506	9	2	0	1	9
	249	0	2	2	0	2	507	0	2	0	2	0
	250	9	1	0	2	9	508	0	1	0	2	9
	251	9	1	9	9	9	509	2	0	2	2	2
	252	9	1	2	2	9	BB	1	1	1	1	1
	253	0	2	2	0	1	Bm	0	0	0	0	0
	254	9	2	9	9	9						