



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Búsqueda de *hotspots* de resistencia para
múltiples enfermedades en germoplasma
argentino de maíz**

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

Ing. Agr. (Esp.) María Belén Kistner

Director de tesis: Dr. Gerardo D. L. Cervigni

Directora Adjunta: Dra. Juliana Iglesias

Consejera de Estudios: Dra. Viviana A. Confalonieri

Lugar de trabajo: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)
– Estación Experimental Pergamino, Pergamino, Buenos Aires.

Buenos Aires, marzo 2025

Búsqueda de *hotspots* de resistencia para múltiples enfermedades en germoplasma argentino de maíz

RESUMEN

El estudio de las bases moleculares de la resistencia a múltiples enfermedades (MDR) en el maíz es indispensable para el desarrollo de germoplasma con una resistencia amplia tanto a enfermedades existentes como emergentes. El objetivo principal de este trabajo fue identificar regiones de MDR en un panel de 63 líneas endocriadas de maíz a través de un estudio de asociación de genoma completo (GWAS). Los genotipos se caracterizaron por su resistencia a siete enfermedades del maíz en múltiples ambientes. Los resultados mostraron una alta variabilidad genotípica y una alta heredabilidad para las siete resistencias estudiadas. A través del GWAS se identificaron 26 QTL de resistencia a las enfermedades y la comparación de sus posiciones físicas reveló una región de MDR para dos enfermedades en el *bin* 3.04. El análisis de ontología génica en la región de MDR evidenció la presencia de múltiples genes candidatos de resistencia, entre los que destacan una enzima lipasa y un receptor de tipo quinasa como posibles mecanismos subyacentes de resistencia. Estos resultados apoyan la hipótesis de que los genes de resistencia se agrupan en regiones específicas del genoma y forman puntos calientes de resistencia (*hotspot* de resistencia), y destacan la importancia de la región 3.04 asociada a MDR en el germoplasma argentino.

Palabras clave

Zea mays L. – Resistencia – Locus de rasgo cuantitativo – Heredabilidad - Enfermedades

Search for multi-disease resistance hotspots in Argentine maize germplasm

ABSTRACT

The study of the molecular basis of multiple disease resistance (MDR) in maize is essential for the development of germplasm with broad resistance to existing and emerging diseases. The main objective of this work was to identify MDR regions in a panel of 63 inbred maize lines using a genome-wide association study (GWAS). Genotypes were characterised for resistance to seven maize diseases in different environments. The results showed high genotypic variability and heritability for the seven resistances studied. Twenty-six disease resistance QTL were identified by GWAS, and comparison of their physical positions revealed a MDR region for two diseases at bin 3.04. Gene ontology analysis of the MDR region revealed the presence of several candidate resistance genes, including a lipase enzyme and a kinase-like receptor as the underlying resistance mechanism. These results support the hypothesis that resistance genes cluster in specific regions of the genome, forming resistance hotspots, and highlight the importance of a MDR region at bin 3.04 in Argentine germplasm.

Keywords

Zea mays L. – Resistance – Quantitative trait loci – Heritability - Diseases

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FÓRMULAS	xiii
AGRADECIMIENTOS.....	xiv
DEDICATORIA	xvi
PUBLICACIONES	xvii
Capítulo I – Introducción general.....	1
Resumen	1
Generalidades del cultivo de maíz.....	2
Enfermedades del maíz	6
Roya común del maíz (CRM).....	9
Tizón común del maíz (NLB).....	11
Tizón foliar del maíz (SLB).....	12
Estría foliar bacteriana (BLS).....	14
Podredumbres de espiga (FER y GER).....	16
Carbón común del maíz (CSM).....	19
Resistencia a enfermedades.....	21
Identificación de genes de resistencia	23
Mecanismos moleculares de la resistencia	24
Resistencia a múltiples enfermedades (MDR)	31
Hipótesis.....	36
Objetivo general	37
Objetivos específicos.....	37
Capítulo II : Fenotipado	38

Resumen	38
Introducción.....	39
Materiales y métodos.....	43
Material vegetal	43
Evaluación fenotípica	43
Protocolos.....	49
Análisis estadístico	51
Estudio de la MDR.....	53
Resultados	55
Enfermedades foliares	55
Podredumbres de espiga.....	60
Carbones de espiga.....	61
Estudio de la MDR.....	64
Discusión	71
Capítulo III : GWAS para MDR.....	78
Resumen	78
Introducción.....	79
Materiales y métodos.....	82
Fenotipado	82
Genotipado	82
Estructura poblacional y relaciones de parentesco	82
LD.....	83
Modelos de GWAS.....	83
Estudio de la MDR.....	84
Resultados	85
Genotipado, estructura poblacional, Kinship y LD	85
GWAS.....	91
Regiones candidatas	95

Genes candidatos de resistencia genética a enfermedades	97
Discusión.....	101
Capítulo IV : Consideraciones finales y perspectivas	111
Bibliografía.....	114
Capítulo A : ANEXO.....	134

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I-1: Ciclo ontogénico del maíz según la escala Ritchie & Hanway (1982).	3
Figura I-2: Patogénesis de <i>P. sorghi</i> , agente causal de CRM.	9
Figura I-3: Sintomatología característica de CRM.	10
Figura I-4: Patogénesis de <i>E. turcicum</i> , agente causal de NLB.	11
Figura I-5: Sintomatología característica de NLB.	12
Figura I-6: Patogénesis de <i>C. heterostrophus</i> , agente causal de SLB.	13
Figura I-7: Sintomatología característica de SLB.	14
Figura I-8: Patogénesis de <i>X. vasicola</i> , agente causal de BLS.	15
Figura I-9: Sintomatología característica de BLS.	15
Figura I-10: Sintomatología característica de las podredumbres de espiga.	18
Figura I-11: Patogénesis de <i>M. maydis</i> (sinónimo <i>U. maydis</i>), agente causal de CSM.	19
Figura I-12: Sintomatología característica de CSM.	20
Figura I-13: Tipos de resistencia a enfermedades.	21
Figura I-14: Tipos de interacciones entre genes de resistencia y avirulencia.	22
Figura I-15: Mapa consenso y compendio de QTL de resistencia a enfermedades en maíz.	27
Figura I-16: Receptores y moléculas asociadas a la respuesta de defensa inducida PTI y ETI.	28
Figura I-17: Modelo Zig-Zag propuesto por Jones y Dangl (2006).	29
Figura I-18: Posibles mecanismos genéticos sobre el control de MDR.	32
Figura I-19: Mapa de calor indicando cantidad de QTL por bin cromosómico.	34
Figura I-20: Mapa de calor indicando cantidad de enfermedades por bin cromosómico con QTL de resistencia.	34
Figura II-1: Escala utilizada para la evaluación de CRM.	45
Figura II-2: Escala utilizada para la evaluación de NLB.	46
Figura II-3: Escala utilizada para la evaluación de SLB.	47
Figura II-4: Escala utilizada para la evaluación de BLS.	48
Figura II-5: Escala para la evaluación de GER y FER.	49
Figura II-6: Preparación de cámaras húmedas para aislamiento de patógenos.	50

Figura II-7: Procedimiento para la preparación del inóculo NLB.	51
Figura II-8: Gráficos de caja con BLUP de la resistencia a (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS de 87 genotipos evaluados en ambientes individuales.	55
Figura II-9: Correlaciones genéticas de los BLUP de las resistencias a (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS de 87 genotipos entre ambientes individuales.	56
Figura II-10: Gráficos de caja con BLUP de la resistencia a (a) FER y (b) GER de genotipos evaluados en ambientes individuales.	60
Figura II-11: Histograma de la variable CSM expresada como número de carbones por ambiente.	61
Figura II-12: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a CRM y BLS.	64
Figura II-13: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a NLB y SLB.	64
Figura II-14: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a FER y GER.	65
Figura II-15: Histograma frecuencias de genotipos según número de enfermedades a los que son resistentes.	66
Figura II-16: Biplot de las CP1 y 2 de un ACP basado en los BLUP de la resistencia a siete enfermedades evaluadas en 78 genotipos.	68
Figura III-1: Etapas del procedimiento para un mapeo de genoma completo.	80
Figura III-2: Gráfico de Evanno et al. (2005) para la detección del óptimo K grupos en la población.	86
Figura III-3: Agrupamiento bayesiano de 63 genotipos (K=2).	86
Figura III-4: ACP.	87
Figura III-5: Mapa de calor de valores derivados de la matriz Kinship basados en ~ 41 K SNP y 63 genotipos.	88
Figura III-6: Gráfico de caída de LD por cromosoma.	90
Figura III-7: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para CRM.	91
Figura III-8: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para NLB.	91
Figura III-9: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para SLB.	92
Figura III-10: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para BLS.	92
Figura III-11: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para FER.	92
Figura III-12: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para GER.	93
Figura III-13: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para CSM.	93

Figura III-14: Clústeres de genes candidatos basado en el análisis de ontología.	97
Figura III-15: Clasificación de genes candidatos según término GO asociado a componente celular. 98	
Figura III-16: Clasificación de genes candidatos según función molecular.	99
Figura III-17: Clasificación de genes candidatos según proceso biológico.....	100
Figura A-1: Gráficos diagnóstico de los MLM utilizados para el análisis de (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS.	156
Figura A-2: Gráficos diagnóstico de los MLM utilizados para el análisis de (a) FER y (b) GER.	157
Figura A-3: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para CRM.	158
Figura A-4: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para NLB.	159
Figura A-5: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para SLB.	160
Figura A-6: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para BLS.	161
Figura A-7: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para FER.	162
Figura A-8: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para GER.	163
Figura A-9: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para CSM.	164

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I-1: Características de los patógenos asociados a las principales enfermedades del maíz en Argentina.....	8
Tabla II-1: Caracterización climática y meteorológica asociada a los experimentos de fenotipado. ...	44
Tabla II-2: Medidas resumen y parámetros genéticos para la resistencia a cuatro enfermedades foliares en 87 genotipos evaluados en ensayos multi ambientales en Argentina	57
Tabla II-3: H^2 de la resistencia a siete enfermedades del maíz publicados en la literatura	58
Tabla II-4: Criterios AIC, BIC, Devianza y \emptyset de los MLGM utilizados para el análisis de la resistencia a CSM.....	62
Tabla II-5: Correlaciones de Pearson entre los BLUP de la incidencia de CSM por ambiente.....	62
Tabla II-6: Componentes de varianza, repetibilidades y H^2 para la resistencia a CSM	63
Tabla II-7: Correlaciones de Pearson entre los BLUP genotípicos de la resistencia a siete enfermedades del maíz.	67
Tabla II-8: Listado de genotipos MDR y ranking de selección según cuatro índices de selección.....	69
Tabla II-9: Eficiencias y GG asociadas a índices de selección utilizados para la selección de genotipos MDR.....	70
Tabla II-10: GG asociada a la selección indirecta a través de resistencias individuales.	70
Tabla III-1: Medidas resumen asociadas a la distribución de MM del MaizeSNP50 BeadChip de Illumina luego del filtrado de calidad.....	85
Tabla III-2: Listado de 46 SNP significativos luego de la corrección por FDR.....	94
Tabla III-3: Regiones candidatas de resistencia a enfermedades del maíz.	95
Tabla A-1: Poblaciones y metodologías de mapeo para la identificación de QTL de resistencia a enfermedades en maíz	134
Tabla A-2: Listado completo de genotipos evaluados.	137
Tabla A-3: Ranking de BLUP de la resistencia a enfermedades foliares por ambiente de 87 genotipos.	140
Tabla A-4: Ranking de BLUP de la resistencia a FER y GER por ambiente para 19 genotipos comunes entre experimentos	141
Tabla A-5: Criterios AIC, BIC y Devianza de los MLGM utilizados para el análisis de la variable CSM.	142

Tabla A-6: Ranking de BLUP de la resistencia a CSM de 78 genotipos por ambiente.	143
Tabla A-7: BLUP de la resistencia de 87 genotipos a siete enfermedades del maíz evaluados en ensayos multi ambientales en Argentina.	144
Tabla A-8: Combinaciones de MDR existentes en el panel asociada a resistencia a entre dos y siete enfermedades.....	146
Tabla A-9: Correlaciones entre el ranking de genotipos con MDR seleccionados utilizando cuatro índices de selección.	147
Tabla A-10: Probabilidad de pertenencia de 63 genotipos a K subgrupos luego del análisis de estructura poblacional (STRUCTURE).	148
Tabla A-11: Listado de genes candidatos identificados a través de GWAS en un panel de 63 genotipos asociados a mecanismos de resistencia a enfermedades.	150

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- $\sigma A2$. Varianza aditiva
- $\sigma D2$. Varianza de dominancia
- $\sigma e2$. Varianza residual o del error
- $\sigma E2$. Varianza epistática
- $\sigma F2$. Varianza fenotípica
- $\sigma G2$. Varianza genética, Varianza genética
- $\sigma GxA2$. Varianza de la interacción genotipo por ambiente
- ACP. Análisis de componentes principales
- AIC. Criterio de información de akaike
- AP2/ERF. Apetala-2/Ethylene responsive factor
- APG. Agar papa glucosado
- Avr. Avirulencia
- BLS. Estría foliar bacteriana, del inglés *Bacterial leaf streak*.
- BLUE. Mejor Estimación Lineal Insesgada, del inglés *Best Linear Unbiased Estimation*
- BLUP. Mejor Predicción Lineal Insesgada, del inglés *Best Linear Unbiased Prediction*
- CC. Receptor Coiled-coil
- CIM. Mapeo por intervalo compuesto, del inglés *composite interval mapping*.
- CMS. Cytoplasmic male sterility, del inglés *cytoplasmic male sterility*
- CP. Componente principal
- Criterio de información de bayesiano, 52
- CRM. Roya común del maíz, del inglés *common rust of maize*.
- CSM. Carbón común del maíz, del inglés *common smut maize*.
- CV. Coeficiente de variación.
- CWDE. Enzimas degradadoras de la pared celular, del inglés *cell wall degrading enzymes*.
- DAMP. Patrones moleculares comunes asociados al daño, del inglés *Damage Associated Molecular Patterns*.
- DON. Deoxinivalenol.
- ETS. Susceptibilidad inducida por efectores, del inglés *Effector Triggered Susceptibility*
- FDR. False discovery rate
- FER. Podredumbre de espiga por *Fusarium*, del inglés *Fusarium ear rot*.
- GER. Podredumbre de espiga por *Graminearum*, del inglés *Gibberella ear rot*.
- GG. Ganancia genética
- GO. Ontología génica, del inglés *gene ontology*
- GWAS. Estudio de asociación de genoma completo, del inglés *genome wide association study*.
- h^2 . Heredabilidad en sentido estricto
- H^2 . Heredabilidad en sentido amplio
- HR. reacción de hipersensibilidad, del inglés *Hypersensitive response*
- HST. Toxinas hospedante específicas, del inglés *Host specific toxins*
- HWE. Equilibrio de Hardy-Weinberg
- IBD. Idénticos por descendencia
- INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria., See, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
- K. Kinship
- LD. Desequilibrio de ligamiento, del inglés *linkage disequilibrium*.
- MAF. Frecuencia alélica menor, del inglés *minor allele frequency*
- MAMP. Patrones moleculares comunes asociados a microbios, del inglés *Microbial Associated Molecular Patterns*.
- MAPK. Proteínas quinasas activadas por mitógenos, del inglés *Mitogen-activated protein kinase*
- MB. Modelo con distribución binomial
- MDR. Multiple Disease Resistance
- MLGM. Modelo Lineal Generalizado Mixto, Modelo lineal generalizado mixto
- MLM. Modelo lineal mixto
- MM. Marcador molecular
- MP. Modelo con distribución Poisson
- NB-LRR. Dominios de unión al ADN ricos en leucina, del inglés *nucleotide-binding and leucine-rich repeat domain*.
- NLB. Tizón común del maíz, del inglés *Northern corn leaf blight*.
- QTL. Locus de rasgo cuantitativo, del inglés *Quantitative Trait Locus*.

LISTADO DE ABREVIATURAS

RFLP. Fragmentos de restricción de longitud polimórfica, del inglés *Restriction fragment lenght polymorphism*

RLK. Receptor tipo quinasa, del inglés *Receptor like kinase*

RLP. Receptores tipo proteína, del inglés *Receptor like protein*

ROS. Especies reactivas de oxígeno, del inglés *Reactive Oxygen species*

SIM. Mapeo por intervalo simple, del inglés *Simple interval mapping*.

SLB. Tizón foliar del maíz, del inglés *Southern corn leaf blight*.

SNP,. Polimorfismo de un solo nucleótido, del inglés *Single-nucleotide polymorphism*

TIR. *Receptor Toll-interleucina*

WAK. *Wall-associated kinases*

ZEA. *Zearalenona*.

ZINB1. *Modelo binomial negativo inflado en cero con relación lineal entre media-varianza*

ZINB2. *Modelo binomial negativo inflado en cero con una relación cuadráticas entre media-varianza*

ZIP. *Modelo con distribución Poisson inflado en cero, Basic leucine zipper*

ÍNDICE DE FÓRMULAS

Ecuación 1: Heredabilidad en sentido amplio (H^2)	39
Ecuación 2: Heredabilidad en sentido estricto (h^2)	39
Ecuación 3: Ganancia genética (GG)	42
Ecuación 4: MLM para localidades individuales (y_{ik}).....	51
Ecuación 5: H^2 según Cullis et al. (2006) ($HCullis2$)	51
Ecuación 6: MLM para análisis multi ambiental (y_{ijk}).....	52
Ecuación 7: MLM para localidades individuales para un diseño de parcelas divididas (y_{ijk}).....	52
Ecuación 8: Constante de proporcionalidad entre la media y la varianza (\emptyset).....	52
Ecuación 9: Notación matricial modelo GWAS	83
Ecuación 10: σ^2G explicada por un QTL.....	84

AGRADECIMIENTOS

A mi director, *Gerardo*, por su ética profesional, por su amplia experiencia que me ha guiado a lo largo de este camino, y por haber sido un facilitador clave en este proyecto. Su orientación, tanto académica como personal, fue esencial para alcanzar este logro.

A mi directora, *Juliana*, por haber inspirado esta idea, por su pasión por la ciencia y las interacciones planta-patógeno, y por haber facilitado el marco necesario para llevar a cabo este trabajo.

Al doctor *Thomas Miedaner*, de la Universidad de Hohenheim, por haber sido mi mentor, por enseñarme a confiar en mí y por compartir su profundo conocimiento sobre el mejoramiento genético y la resistencia a enfermedades. Su guía fue fundamental para el éxito de este trabajo.

A la *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (UBA)*, por haberme aceptado como alumna de doctorado y brindarme la oportunidad de formarme en una institución de reconocido prestigio internacional. Me llena de orgullo representar con mi título de Doctora en Ciencias Biológicas a esta Casa de Estudios. Agradezco profundamente la posibilidad que nos da esta universidad de educarnos y formarnos como profesionales de excelente nivel de forma gratuita. ¡Que este derecho nunca se pierda!

A los profesionales de esta Casa de Estudios. A la Dra. Viviana Confalonieri, por haberme acompañado en su rol de consejera. A la Lic. Graciela Chiappini, por su excelente trabajo como secretaria del Departamento de Ecología, Genética y Evolución, y por su valioso acompañamiento administrativo a lo largo del doctorado.

A los miembros del jurado de mi tesis, Dra. Victoria Novas, Dr. César López y Dr. Pablo Roncallo, por el tiempo dedicado a evaluar mi trabajo, por sus observaciones y sugerencias que contribuyeron a enriquecer esta investigación.

Al *INTA*, *CONICET*, al *DAAD* y a la *Universidad de Hohenheim*, por las becas que me otorgaron para realizar este proyecto. Gracias por el valioso trabajo que estas instituciones realizan, brindando soporte financiero a tantos estudiantes y contribuyendo de manera significativa a su formación y crecimiento académico en todo el mundo.

A mi directora de beca INTA-CONICET, Dra. Ernestina Galdeano, por confiar en mí y aceptarme como becaria, por facilitarme el camino para concluir esta etapa.

A las diferentes instituciones que me abrieron sus puertas y me brindaron acceso a su infraestructura y personal técnico. Agradezco profundamente la colaboración y disposición de quienes hicieron posible el desarrollo de esta investigación. A los grupos de Mejoramiento Genético de Maíz, Fitopatología, Laboratorio de Biotecnología y Laboratorio de Semillas de INTA Pergamino, así como también a Ignacio Terrile, quien fuera su director durante el periodo de mi beca. A INTA Manfredi e INTA Leales, por los experimentos llevados a cabo en esas localidades. Al Landessaatzuchtanstalt (LSA), Instituto

Estatad de Mejoramiento de Plantas de la Universidad de Hohenheim; a la Cátedra de Estadística y Biometría de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC); y a la Cátedra de Fitopatología de la Universidad Nacional del Noroeste (UNNOBA).

A mis colegas, por hacer que esta investigación fuera tan divertida, por todas las risas, preguntas y discusiones. Por esos colegas que, después de tanto compartir, se convirtieron en mis amigos. Un especial agradecimiento, en orden alfabético, a la Dra. Ana Galiano, Dr. David Gaikpa, Ing. Agr. MSc Flavio Lozano-Isla, Lic. Daiana Del Dago, Lic. Carolina Ferrari, Dr. Johannes Trini, Dr. Rodrigo Galán y Dra. Luciana Galizia.

A los pasantes y tesistas que, con su compromiso, entusiasmo, tiempo y dedicación, contribuyeron al desarrollo de esta investigación y a mi crecimiento como profesional. Un especial agradecimiento a Matías Giurich, Lic. Lucia Montenegro, Lic. Lazzaro Nazar, Lic. Virginia Zelada.

A los diferentes docentes que, a lo largo de mi formación profesional, me han marcado e inspirado: a la Dra. Adriana Pérez (Biometría), a la Dra. Ana María Romero (Fitopatología), al Dr. Hans-Peter Piepho (Estadística), a la Dra. Victoria Novas (Patógenos y sus interacciones con las plantas) y al Dr. Tobias Würschum (Fitomejoramiento), cuyas clases han sido una valiosa fuente de inspiración y aprendizaje.

A mis amigos, tanto del ámbito de la agronomía como de otros caminos, por acompañarme en este recorrido, por sus consejos, por escucharme y por estar cuando los necesité, incluso en la distancia. A mis amigas que me acompañan desde el jardín de infantes: Florencia y Daiana, por su constante apoyo. A mis amigos de la ALE-ARG: Bruno, Emma, Maga, Polly y Sofí, cuya cercanía se siente a pesar de la distancia. A José por aconsejarme y acompañarme durante los momentos más difíciles. A los nuevos amigos, a Mercedes y Gonzalo, y a sus tres hijos Julia, Benjamín e Isabel porque su amistad y compañía fueron esenciales para encontrarme en Alemania. A Julian, por acompañarme y estar siempre presente con su motivación y aliento, especialmente en la recta final.

A Mabel Miccelli, por su excelente trabajo como counselor y por sus sabias enseñanzas, que me ayudaron no solo a llegar hasta el final, sino a alcanzar tanto crecimiento personal.

A mi familia, por su apoyo emocional en los momentos de incertidumbre, por sus consejos y su aliento incondicional. A mi mamá, Viviana, y a mi hermana, Magalí. A mis abuelos, Nelly y Tomás, quienes fueron una parte fundamental de mi infancia.

A esta experiencia, que me permitió crecer enormemente como persona.

.

DEDICATORIA

*A mis padres, Viviana y Néstor,
a mi madre, por haberme guiado en todo este camino, a mi padre que no pudo disfrutar ni
enorgullecerse de todos mis logros, y a ambos, por su amor incondicional, y por enseñarme a seguir
mis sueños sin importar los obstáculos.*

*A todos aquellos que aman y disfrutan de la ciencia y la investigación, a los apasionados del
conocimiento, a quienes, como yo, encuentran en la curiosidad el motor de su vida.*

A mi hermana Magalí, que también comparte esta pasión conmigo.

*A todos aquellos que, debido a injusticias, no pudieron alcanzar sus sueños. Que no bajen los brazos,
para que juntos podamos construir un futuro más justo para todos.*

PUBLICACIONES

Parte del contenido correspondiente al CAPÍTULO I fue publicado en los siguientes artículos:

- *Explorando la complejidad de la resistencia genética a enfermedades en maíz*. [Tesis de Especialización, Universidad de Buenos Aires]. **Kistner, MB** (2021). <http://ri.agro.uba.ar/files/download/tesis/especializacion/2021kistnermariabelen.pdf>
- Unravelling the complexity of maize resistance to bacterial and fungal diseases: An integrative perspective. **Kistner, MB**, Romero, AM, & Iglesias, J (2022). *Tropical Plant Pathology*, 47(3), 332–352. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00486-6>

Parte del contenido correspondiente al CAPÍTULO II fue publicado en los siguientes artículos:

- Detecting sources of resistance to multiple diseases in Argentine maize (*Zea mays* L.) germplasm. **MB Kistner**, L Nazar, LD Montenegro, GDL Cervigni, E Galdeano, ... *Euphytica* 218 (5), 48. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03000-4>.
- Assessment of physiological races of *Exserohilum turcicum* isolates from maize in Argentina and Brazil. BL Navarro, L Ramos Romero, **MB Kistner**, J Iglesias, A Von Tiedemann. 2022. *Tropical Plant Pathology* 46 (3), 371-380. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00417-x>.
- Ludwig Navarro B, Hanekamp H, Ramos Romero L, **Kistner MB**, Iglesias J, de Araújo Campos R, de Godoy Gasparoto MC, von Tiedemann A (2021). A Comparison of Northern Corn Leaf Blight (*Exserohilum turcicum*) in Maize (*Zea mays* L.) in Europe and South America. 62. Deutsche Pflanzenschutztagung. Alemania (evento virtual). 21 al 23 de septiembre 2021.
- Navarro BL, Ramos Romero L, **Kistner MB**, Iglesias J, von Tiedemann A (2021). Assessment of physiological races of *Exserohilum turcicum* isolates from maize in Argentina and Brazil. Libro de Resúmenes: 5º Congreso Argentino de Fitopatología: 59º Reunión APS División Caribe / Ernestina Galdeano ... [et al.]. - 1a ed revisada. - Córdoba: Asociación Civil Argentina de Fitopatólogos, 2021. Evento virtual: 22 y 23 de septiembre 2021.
- Kistner MB, Montenegro LD, Baricalla A, Perdomo S, Cervigni GDL, Galdeano E, Iglesias J (2021). Detection of genotypes with multiple disease resistance in Argentinean maize germplasm. Libro de Resúmenes: 5º Congreso Argentino de Fitopatología: 59º Reunión APS División Caribe / Ernestina Galdeano ... [et al.]. - 1a ed revisada. - Córdoba: Asociación Civil Argentina de Fitopatólogos, 2021. Evento virtual: 22 y 23 de septiembre 2021.
- **Kistner MB**, Nazar L, Iglesias J. Heredabilidades para resistencia a múltiples enfermedades en maíz. Autores Actas resúmenes: VII Jornadas de Jóvenes Investigadores UNNOBA. Lugar y fecha: Argentina (evento virtual) - 24 y 25 Junio 2021.
- **Kistner, M. B.**; Lavilla, M.A.; Montenegro, L.; Zelada, V.D. e Iglesias, J. Resumen. “Tizones foliares que afectan al maíz: una guía breve para su identificación y diferenciación”. Segundo Taller Nacional de Enfermedades de Cultivos Extensivos. Zavalla, Santa Fe. Marzo 2019.
- Kistner, M. B.; Canteros, F. H.; Lavilla, M.A.; Parrado, J. ; Videla, M. E. y Iglesias, J. “Comportamiento de líneas endocriadas de maíz frente al tizón foliar por *Bipolaris maydis*”. Resumen. Segundo Taller Nacional de Enfermedades de Cultivos Extensivos. Zavalla, Santa Fe. Marzo 2019.
- Español, L.A.; Rodríguez, A.; **Kistner, M.B.**; Iglesias, J. “Búsqueda de fuentes de resistencia frente a bacteriosis en maíz”. Resumen y póster científico. VI Jornada de Jóvenes Investigadores de la UNNOBA. Pergamino, Abril 2019.
- Montenegro, L.; **Kistner, M. B.**; Defacio, R.; Iglesias, J. “Caracterización de conidios y desarrollo de inóculo de *Exserohilum turcicum* del maíz”. Resumen. Actas VI Jornada de Jóvenes Investigadores de la UNNOBA. Pergamino, Abril 2019.
- Montenegro, L.; **Kistner, M. B.** e Iglesias, J. “Evaluación de resistencia genética frente a tizón común en líneas endocriadas de maíz”. Resumen. Actas VI Jornada de Jóvenes Investigadores de la UNNOBA. Pergamino, Abril 2019.

- **Kistner, M.B.**; Videla, M.E.; Parrado, J.; Canteros, F.H.; Bruno, C.; Iglesias, J. “Evaluación de líneas endocriadas de maíz frente a múltiples enfermedades.” Resumen ampliado. XI Congreso Nacional de Maíz. - Agosto 2018.
- **Kistner, M.B.**; Buzzetti, G.; Montenegro, L.; Tesei, I.; Zelada, V.; Iglesias, J. “Comportamiento de líneas endocriadas de maíz frente a roya común y su relación con la reacción de hipersensibilidad.” Resumen ampliado. XI Congreso Nacional de Maíz. - Agosto 2018.
- Iglesias, J.; **Kistner, M.B.**; Canteros, F.H.; Parrado, J.; Ferrer, M.E.; Defacio, R.A. Resumen ampliado. XI Congreso Nacional de Maíz. - Agosto 2018. “Diversidad para la resistencia a enfermedades en un set de poblaciones locales de maíz.”
- Videla, M.E.; **Kistner, M.B.**; Iglesias, J.; Bruno, C. “Evaluación del carbón de la espiga del maíz (*Ustilago maydis*) con modelos estadísticos inflados en cero.” Resumen ampliado. XI Congreso Nacional de Maíz. - Agosto 2018.
- Montenegro, L.; Buzzetti, G.; Tesei, I.; Zelada, V.; Videla, M.E.; **Kistner, M.B.**; Bruno, C.; Iglesias, I. “Evaluación de líneas endocriadas de maíz frente a podredumbres de espiga causadas por *Fusarium* spp y *Ustilago maydis*.” Resumen ampliado. XI Congreso Nacional de Maíz. - Agosto 2018.

Parte del contenido correspondiente al CAPÍTULO III fue publicado en los siguientes artículos:

- **Kistner MB**, Montenegro LD, Baricalla A, Perdomo S, Cervigni GDL, Galdeano E, Iglesias J (2021). First report of genomic regions associated to multiple disease resistance in Argentinean maize germplasm. Libro de Resúmenes: 5º Congreso Argentino de Fitopatología: 59º Reunión APS División Caribe / Ernestina Galdeano ... [et al.]. - 1a ed revisada. - Córdoba: Asociación Civil Argentina de Fitopatólogos, 2021. Evento virtual: 22 y 23 de septiembre 2021.

El contenido producido durante la instancia de investigación en la Universidad de Hohenheim (Alemania, Julio 2019 – Octubre 2020) no fue incluido en la tesis y fue publicado en el siguiente artículo científico:

- Multi-parental QTL mapping of resistance to white spot of maize (*Zea mays*) in southern Brazil and relationship to QTLs of other foliar diseases. **MB Kistner**, AL Galiano-Carneiro, B Kessel, T Presterl, T Miedaner. Plant Breeding 140 (5), 801-811.
<https://doi.org/10.1111/pbr.12964>.

CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN GENERAL

Resumen

El maíz es un cultivo de gran antigüedad que ofrece una notable diversidad, versatilidad y capacidad de adaptación ambiental, lo que lo convierte en un cultivo de significativa relevancia para la humanidad. Su importancia se debe a su uso en la alimentación humana y animal, aunque también a sus usos industriales y como organismo modelo en el campo de la investigación. Actualmente, las enfermedades del maíz constituyen una amenaza y limitan su producción. Las principales enfermedades del maíz incluyen enfermedades foliares, como royas, tizones y manchas, así como enfermedades de las espigas como podredumbres y carbones. Los agentes causales de las enfermedades engloban una amplia diversidad de patógenos y estrategias patogénicas. Esta diversidad abarca desde el órgano afectado hasta el tipo de interacción que se establece con el hospedante. Las plantas han evolucionado y desarrollado múltiples estrategias defensivas para enfrentar a los patógenos, siendo la enfermedad una situación excepcional. Investigar y comprender las interacciones que se establecen entre el maíz y sus patógenos es clave para el desarrollo de resistencia genética, especialmente frente a múltiples enfermedades (MDR). La MDR se define como una resistencia genética a más de una enfermedad, probablemente condicionada por componentes inespecíficos de las defensas de las plantas y un agrupamiento no aleatorio de QTL de resistencia en regiones específicas del genoma. Este campo de estudio es reciente y, aunque las bases moleculares no se han esclarecido por completo, tiene un enorme potencial de aplicación para la agricultura moderna. Este capítulo proporciona el marco teórico y el estado del arte de la MDR, así como también plantea la hipótesis y los objetivos de la presente tesis doctoral.

Generalidades del cultivo de maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las *Poaceae* (=Gramínea), una familia cosmopolita que comprende alrededor de 10.000 especies (García-Lara y Serna-Saldivar 2019). El género *Zea* incluye especies y subespecies silvestres, conocidas comúnmente como “teosintes” y al maíz como única forma cultivada.

El cultivo es originario de América, donde se encuentra el mayor centro de diversidad, ubicado en México. La domesticación del maíz se inició hace unos 10.000 años por civilizaciones mesoamericanas precolombinas que habitaron las zonas altas del sur del país (Bracco 2012; Yang et al. 2019; Wani et al. 2022). En la naturaleza no se conocen maíces silvestres, por lo que existieron dudas sobre su ancestro directo. La hipótesis más aceptada en la actualidad indica que el maíz moderno descende de una única especie de teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) (Doebley 2004; Liu et al. 2020; Wani et al. 2022) y, aunque sus morfologías difieren considerablemente, los estudios moleculares han revelado que solo un pequeño número de *loci* de efecto mayor son responsables de estas grandes diferencias (Doebley 2004; Liu et al. 2020).

A pesar de la pérdida de diversidad genética como consecuencia de la domesticación, se ha encontrado evidencia de flujo génico posterior, lo que ha permitido que el maíz moderno conserve cierta variación genética que facilita su adaptación a diversos ambientes (Yang et al. 2019). Esta versatilidad favoreció su expansión por el mundo, tanto en zonas climáticas templadas como tropicales, desde los 40° de latitud sur hasta los 58° de latitud norte (Wani et al. 2022). En América, se han descrito más de 300 razas diferentes de maíz (grupos de poblaciones con caracteres distintivos comunes) procedentes de las zonas de mayor diversidad, en México y en la región andina peruana (Lia et al. 2007). La variación geográfica de Argentina ha contribuido con razas nativas que representan una fuente valiosa de diversidad (Robutti et al. 2000). La colección del Banco Activo de Germoplasma del INTA Pergamino, en la provincia de Buenos Aires, comprende más de 2.500 entradas, clasificadas en 44 razas. Algunos ejemplos como las razas “Dentado amarillo”, “Perlita”, “Pisingallo” y “Cristalino colorado”, entre otras, denotan la diversidad del germoplasma representado en el tipo de endosperma (maíces harinosos, Flint, Semi-Flint o reventadores) o colores (colorados, amarillos, blancos o morados), entre otras características distintivas. Los programas de mejoramiento, como el programa de mejoramiento de INTA Pergamino, han aprovechado esta diversidad única para el desarrollo de germoplasma con características muy particulares.

La morfología de la planta de maíz se caracteriza por tener un único tallo leñoso, hojas alargadas y raíces profundas y ramificadas. La inflorescencia masculina (panoja o panícula) es terminal y consta de un raquis del que nacen espiguillas con flores estaminadas. La inflorescencia femenina (espiga) se ubica en yemas axilares de las hojas y consta de un raquis donde se insertan espiguillas de a pares con flores pistiladas (Bracco 2012). La inflorescencia masculina y femenina se encuentran separadas en la misma

planta, por lo que el maíz es una especie diclino-monoica, predominantemente de polinización cruzada y anemófila (Darrah et al. 2019).

La escala propuesta por Ritchie y Hanway (1982) es la más utilizada para describir la sucesión de etapas fenológicas del maíz (ciclo de desarrollo). Esta escala se basa en la observación de caracteres morfológicos externos y se subdivide en dos grandes periodos: vegetativo (identificados con la letra V) y reproductivo (identificados con la letra R) (Cárcova et al. 2010). El cultivo emerge con la aparición de la primera hoja cubierta por el coleóptilo sobre la superficie del suelo (VE). El periodo vegetativo se subdivide en función del número total de hojas (V1 a Vn, siendo n el número total de hojas), que depende del genotipo y del ambiente. La elongación de los entrenudos (encañazón) comienza alrededor del periodo V6 y continúa hasta la aparición de los estigmas (R1 o floración femenina), momento en el que se define la altura y el área foliar máxima (Cárcova et al. 2010). Con la elongación de los últimos entrenudos se completa la emergencia de la panoja (VT), aparecen las anteras en las flores de la panoja (antesis) y comienza la liberación de polen (Cirilo 2012). El periodo reproductivo comienza con la emergencia de los estigmas (R1). La sincronización entre la liberación de polen y la receptividad de los estigmas condiciona el número de óvulos fecundados, que además puede disminuir durante el cuaje de granos (R2). Las siguientes etapas son el llenado de los granos (R3=grano lechoso, R4=grano pastoso y R5=grano duro o indentado) y el ciclo finaliza con la madurez fisiológica (R6) (Cárcova et al. 2010) (**Figura I-1**).

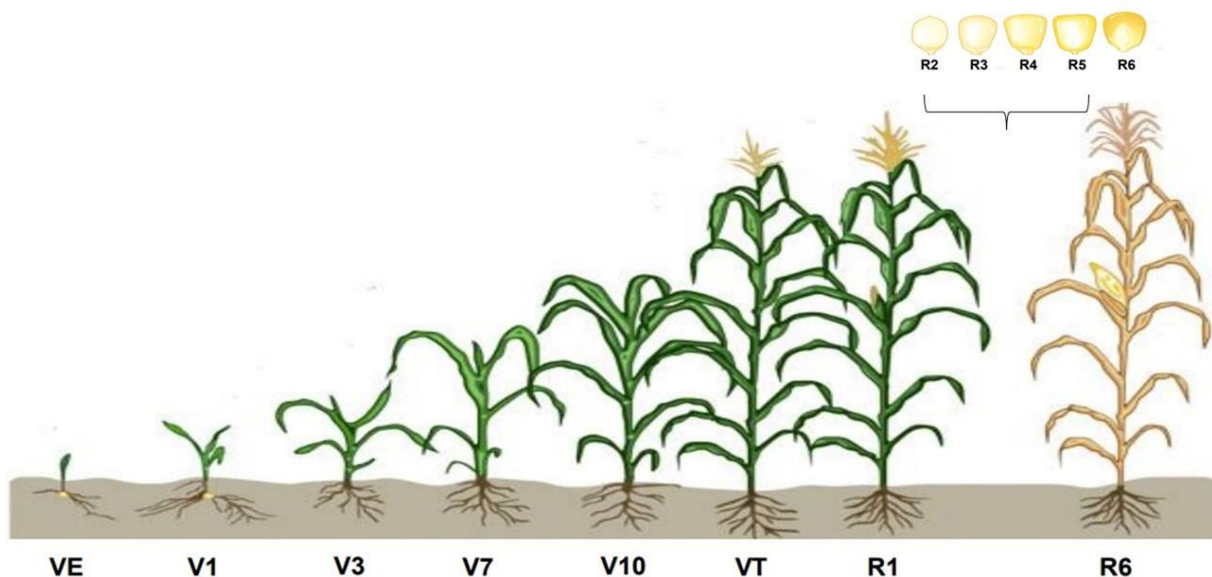


Figura I-1: Ciclo ontogénico del maíz según la escala Ritchie & Hanway (1982). VE: emergencia; V1: primera hoja completamente desplegada; V3: tres hojas completamente desplegadas; V7: siete hojas completamente desplegadas; V10: diez hojas completamente desplegadas; VT: floración masculina (emergencia de la panoja); R1: floración femenina (emergencia de estigmas); R6: madurez fisiológica. Imagen tomada de <http://www.agro.unc.edu.ar/~wpweb/cereales/wp-content/uploads/sites/31/2018/07/Etapas-fenologicas-de-cereales-y-oleaginosas.pdf>

En la actualidad, el maíz es un cultivo fundamental para la humanidad. La producción de maíz en la última campaña agrícola 2023/24 fue de 1.230 millones de toneladas, por lo que representa al cereal de mayor producción, superando al trigo y al arroz (USDA 2025). Los principales países productores de maíz son: Estados Unidos (390 millones de toneladas anuales), China (289 millones de toneladas anuales), Brasil (119 millones de toneladas anuales) y Argentina (51 millones de toneladas anuales). Argentina es el cuarto productor mundial y su contribución representa alrededor del 5 % de la producción mundial (USDA 2024). En la última campaña agrícola (2022/23) se sembraron en Argentina 7,10 millones de hectáreas con un rendimiento promedio de 5,22 toneladas por hectárea (USDA 2024).

La importancia económica del maíz a nivel mundial se debe a una amplia variedad de usos y destinos (García-Lara y Serna-Saldivar 2019). El maíz es particularmente importante como alimento básico en la dieta de millones de personas en África, Asia y América Latina. Sin embargo, solo un 13 % de la producción de maíz se destina al consumo humano directo. El principal destino del maíz es la alimentación animal (61 %), seguido por la producción de biocombustibles (17 %) y otros usos industriales (9 %) (Grote et al. 2021). Debido a su bajo costo, buena palatabilidad, digestibilidad y amplia distribución, es la principal materia prima en la alimentación de animales monogástricos (producción avícola y porcina) y rumiantes (producción bovina) (García-Lara y Serna-Saldivar 2019). La mayor parte del maíz empleado en alimentación animal es de tipo dentado, amarillo y textura blanda, aunque la industria avícola requiere maíz de tipo colorado por su alto contenido de pigmentos (Robutti 2012). La industria de la molienda utiliza como insumo granos maduros de maíz y genera subproductos como cereales para el desayuno, tortillas, diferentes jarabes y edulcorantes, artículos de panadería y coproductos para alimentación animal o usos industriales (García-Lara y Serna-Saldivar 2019). El endosperma se utiliza para la extracción de harina, almidón y sémola. La harina se emplea para elaborar polenta y galletitas y como ligante de fibra o briquetas. El almidón se utiliza como adhesivo, pasta de papel y para obtener dextrosa, que se utiliza como ingrediente en panaderías o bebidas gaseosas. La sémola se emplea para elaborar copos de maíz. El pericarpio (o salvado del grano) se utiliza en alimentación por ser rico en aminoácidos y proteínas, mientras que el germen concentra los lípidos del grano y se utiliza principalmente para la elaboración de aceite de maíz (Passarella y Savin 2010).

La importancia económica y social del maíz han impulsado muchas investigaciones y, debido a sus particulares características, es hoy un organismo modelo (Wallace et al. 2014). Una de las contribuciones más significativas asociadas al maíz fue el descubrimiento del fenómeno de la heterosis o vigor híbrido, un concepto que indica que la progenie de un cruzamiento exhibe una mejor aptitud respecto a sus progenitores (Coe 2001; Wallace et al. 2014). Este concepto sentó las bases del maíz moderno y ha permitido el desarrollo de diversas metodologías que se utilizan actualmente en el mejoramiento de cultivos (Hallauer y Carena 2009). El descubrimiento de la herencia citoplasmática y el desarrollo del CMS fue clave para la producción y adopción del germoplasma híbrido. Actualmente, la generación de híbridos de maíz no se basa en CMS, sino que ha sido reemplazado por sistemas de castración mecánicos

(Wallace et al. 2014). La separación física de las estructuras florales de la planta de maíz facilita el desarrollo de líneas puras homocigotas, que se utilizan como padres y madres en cruzamientos para la creación de híbridos.

El maíz es una especie diploide con 10 pares de cromosomas ($2n = 2x = 10$). Los 10 cromosomas del genoma del maíz son estructuralmente diversos y han experimentado cambios dinámicos en la composición de la cromatina (Schnable et al. 2009). El tamaño del genoma es de $\sim 2,3$ Gb, similar al del genoma humano ($\sim 2,9$ Gb), aunque considerablemente más grande que el de otras especies vegetales como *Arabidopsis* ($\sim 0,16$ Gb) o el arroz ($\sim 0,44$ Gb) (Haberer et al. 2005; Messing y Dooner 2006; Schnable et al. 2009). El tamaño promedio de un gen es de 4 Kb con cinco exones, aunque se encontraron genes de hasta 59 Kb con 31 exones (Haberer et al. 2005). Otra característica muy particular del genoma del maíz es la alta frecuencia de transposones o elementos transponibles, que son secuencias de ADN que pueden moverse de forma autónoma entre distintas regiones del genoma. Este fenómeno constituye una fuente de variabilidad importante en el maíz (Schnable et al. 2009).

La primera versión del genoma del maíz se obtuvo en 2009 usando la línea americana B73, con predicciones para 32.000 genes y un 85 % del genoma compuesto por elementos transponibles (Schnable et al. 2009). Desde entonces, se han realizado varias actualizaciones que incorporaron datos de diversidad y arquitectura de caracteres cuantitativos (Wallace et al. 2014; Andorf et al. 2019; Liu et al. 2020).

Enfermedades del maíz

Las enfermedades son alteraciones de la fisiología normal de las plantas, principalmente causadas por agentes patógenos o factores ambientales persistentes. Los efectos de las enfermedades se traducen en efectos parciales (síntomas) o totales (muerte de la planta) (Agrios 2005). La aparición de una enfermedad está condicionada por la coincidencia temporal y espacial de un patógeno virulento, un hospedante susceptible y un ambiente predisponente (Agrios 2005; Kistner 2021; Kistner et al. 2022b). Esta interacción se denomina comúnmente “triángulo de la enfermedad” o “patosistema” (Agrios 2005) y determina que, dentro de la enorme diversidad de patógenos, solo un número reducido aparece en una determinada región y en un momento dado causando una enfermedad (Ali y Yan 2012).

La enfermedad es un proceso cíclico que se inicia con un inóculo infectivo sobre un hospedante susceptible y continúa con sucesivas etapas de penetración, infección, colonización, reproducción y diseminación hasta la supervivencia del nuevo inóculo que inicia un nuevo ciclo de la enfermedad (Kistner 2021; Kistner et al. 2022b). Los patógenos comprenden una amplia variedad de grupos taxonómicos, principalmente hongos y bacterias (Niks et al. 2015; Doehlemann et al. 2017; Rodríguez-Moreno et al. 2018) (**Tabla I-1**). A su vez, cada patógeno presenta características únicas en su interacción con el hospedante y cada uno atraviesa cada una de estas etapas de manera diferente (**Tabla I-1**). Conocer tales particularidades es clave para el desarrollo de estrategias sustentables frente a las enfermedades.

Los propágulos de los patógenos se dispersan hasta la superficie del hospedante principalmente a través del viento y el agua, aunque también pueden actuar como vehículos las semillas, el hombre, los animales o los insectos (Agrios 2005). La superficie vegetal es la primera barrera que necesita superar un patógeno para infectar. La penetración puede producirse a través de heridas, aberturas naturales o atravesando directamente la superficie del hospedante. Para ello, los patógenos disponen de diversas facultades que permiten la penetración (Łażniewska et al. 2012; Lo Presti et al. 2015) (**Tabla I-1**). Los patógenos también pueden clasificarse en función de su estilo de vida y de su relación nutricional con el hospedante. En este sentido, se pueden distinguir tres grupos principales: biótrofos, necrótrofos y hemibiótrofos (Oliver y Ipcho 2004; Spanu y Panstruga 2017) (**Tabla I-1**). Los biótrofos se caracterizan por colonizar tejido vivo (colonización intercelular) y nutrirse sin matar las células del hospedante. Para ello, necesitan establecer una interacción planta-patógeno muy específica y a largo plazo para manipular la fisiología del hospedante en beneficio propio (Glazebrook 2005; Spanu y Panstruga 2017; Doehlemann et al. 2017). En contraposición, los patógenos necrótrofos inducen la muerte celular para extraer nutrientes (colonización intracelular). Para ello, despliegan estrategias más agresivas y menos específicas (Oliver y Ipcho 2004; Laluk y Mengiste 2010; Mengiste 2012; Abdullah y Akhtar 2016). Los hemibiótrofos comprenden un grupo intermedio que, en una primera fase se comporta como biótrofo y, en una segunda fase, como necrótrofo (Oliver y Ipcho 2004; Doehlemann et al. 2017).

Tanto la penetración como la colonización del patógeno en el hospedante están facilitadas por sustancias o moléculas secretadas por el patógeno, entre ellas, efectores, toxinas, enzimas y fitohormonas (Agrios 2005; Lo Presti et al. 2015; Abdullah y Akhtar 2016) (**Tabla I-1**). En términos generales, para manipular la fisiología vegetal, los biótrosos secretan, principalmente, efectores y fitohormonas, mientras que los necrótrofos secretan toxinas y enzimas que promueven la muerte celular (Spanu y Panstruga 2017). Los efectores son, por lo general, pequeñas moléculas proteicas secretadas, de forma inter o intracelularmente, por el patógeno que interfieren en la fisiología vegetal y suprimen el sistema inmune de la planta (Toruño et al. 2016; Snelders et al. 2018). Las toxinas son moléculas que carecen de un papel directo en el crecimiento o reproducción del patógeno, pero poseen un efecto tóxico en la planta como resultado de su interferencia en procesos vitales del metabolismo vegetal (Agrios 2005; Stergiopoulos et al. 2013; Doehlemann et al. 2017; Blacutt et al. 2018). Existen dos grandes grupos de toxinas: toxina HST y toxinas no-HST (Toruño et al. 2016; Doehlemann et al. 2017). La diversidad de enzimas secretadas por los patógenos refleja la complejidad de las estructuras vegetales. Las enzimas CWDE incluyen pectinasas, celulasas, hemicelulasas y xilanasas (Kubicek et al. 2014; Alvarez-Cervantes et al. 2016). Aunque las cutinasas no degradan estrictamente componentes de la pared celular, se consideran también CWDE por su rol en las etapas iniciales de la infección, ya que degradan la cutina en la superficie foliar (Agrios 2005; Boddy 2016). Otro importante grupo de enzimas son las que degradan los componentes protoplasmáticos, entre ellas, proteinasas, amilasas y enzimas lipolíticas (Agrios 2005; Kubicek et al. 2014; Rodriguez-Moreno et al. 2018). Las fitohormonas de origen patogénico son compuestos secretados por el patógeno que imitan a las fitohormonas vegetales, como el ácido salicílico, el jasmonato, el etileno, las auxinas, las citoquininas, las giberelinas, el ácido abscísico y los brasinoesteroides (Bari y Jones 2009; Pieterse et al. 2012; Denancé et al. 2013; Berens et al. 2017). Las fitohormonas ejercen su influencia en procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo de las plantas en concentraciones muy bajas y poseen un papel fundamental en las defensas vegetales. Por consiguiente, la manipulación del equilibrio hormonal por parte de los patógenos, ya sea mediante la alteración de la síntesis, secreción o degradación de estas hormonas, conduce a efectos perjudiciales en el metabolismo de la planta, lo que beneficia al patógeno (Jones y Dangl 2006; Denancé et al. 2013; Alvarez-Cervantes et al. 2016).

Las principales enfermedades que afectan al cultivo de maíz en Argentina son patologías foliares y de espiga. Las enfermedades foliares presentan una sintomatología variada que incluye pústulas, tizones, manchas o estrías. Entre de las patologías de espiga se destacan las podredumbres y los carbones. Las principales características asociadas a los agentes causales de las enfermedades destacadas en Argentina se listan en la **Tabla I-1** y se describen a continuación:

Tabla I-1: Características de los patógenos asociados a las principales enfermedades del maíz en Argentina.

Enfermedad	Agente causal	Taxonomía	Pared celular	Infección	Síntoma	Penetración	Estilo de vida (Nutrición)	Factores de patogenicidad	Referencia
Roya común del maíz	<i>Puccinia sorghi</i>	Hongo Basidiomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Foliar	Pústula (signo)	Estoma (Apresorio)	Biótrofo (Haustorio)	Efectores	Kolmer et al. (2009); Gonzalez et al. (2011); Guerra et al. 2019)
Tizón común del maíz	<i>Exserohilum turcicum</i>	Hongo Ascomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Foliar	Tizón	Directa (Apresorio)	Hemibiótrofo	Efectores No- HST Toxina HT CWDE	Galiano-Carneiro y Miedaner (2017); Kotze et al. (2019); Human et al. 2020)
Tizón foliar del maíz	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (= <i>Bipolaris maydis</i>)	Hongo Ascomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Foliar	Tizón	Directa	Necrótrofo	No-HST Toxina T CWDE	Bengyella et al. (2018); Völz et al. (2020)
Estría foliar bacteriana	<i>Xanthomonas vasicola</i> pv. <i>vasculorum</i>	Bacteria Gram (-)	Peptidoglicano y LPS	Foliar	Estría	Estoma Herida	Hemibiótrofo	Efectores No- HST	Pfeilmeier et al. (2016); Plazas et al. (2018)
Podredumbre de espiga por <i>Fusarium</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i> (= <i>Fusarium verticillioides</i>)	Hongo Ascomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Espiga	Podredumbre	Directa	Necrótrofo	No-HST (FUM/B1) CWDE	Munkvold (2003); Shu et al. (2017)
Podredumbre de espiga por <i>Graminearum</i>	<i>Fusarium graminearum</i> (= <i>Gibberella zeae</i>)	Hongo Ascomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Espiga	Podredumbre	Directa	Hemibiótrofo	No-HST (DON) CWDE	Munkvold (2003); Gaikpa y Miedaner 2019)
Carbón común del maíz	<i>Mycosarcoma maydis</i> (= <i>Ustilago maydis</i>)	Hongo Basidiomicota	Quitina, glucanos, manoproteínas	Espiga	Tumor	Directa	Biótrofo (Haustorio)	Efectores (Pep1) Fitohormonas CWDE	Djamei y Kahmann (2012); Rabe et al. (2013); Morrison et al. (2015); Lanver et al. (2018)

Roya común del maíz (CRM)

CRM es una enfermedad foliar endémica en la región maicera argentina, aunque con diferente intensidad cada año. Actualmente, CRM es la principal problemática de los cultivos de siembras tempranas (Gonzalez 2005; Gonzalez et al. 2011; Rossi et al. 2020a). El desarrollo de la enfermedad se ve favorecido por temperaturas de entre 15 a 25 °C y una alta humedad relativa, que acortan el periodo de latencia y aceleran el ciclo de la enfermedad (Ramos Romero 2018). El agente causal es el hongo biótrofo *Puccinia sorghi* Schwein., que pertenece a la división Basidiomycota (Guerra et al. 2019) (**Tabla I-1**). Los hongos causantes de las royas son parásitos obligados (no pueden cultivarse en medios de cultivo artificiales) con ciclos de vida complejos que incluyen varios estadios de esporas. *P. sorghi* es un patógeno macrocíclico con cinco estadios de esporas: teliosporas, basidiosporas, espermacias, aecidiosporas y urediosporas. El ciclo de la enfermedad se inicia cuando una espора (uredospora) transportada por el viento se deposita sobre la superficie foliar (Guerra et al. 2019) (**Figura I-2**).

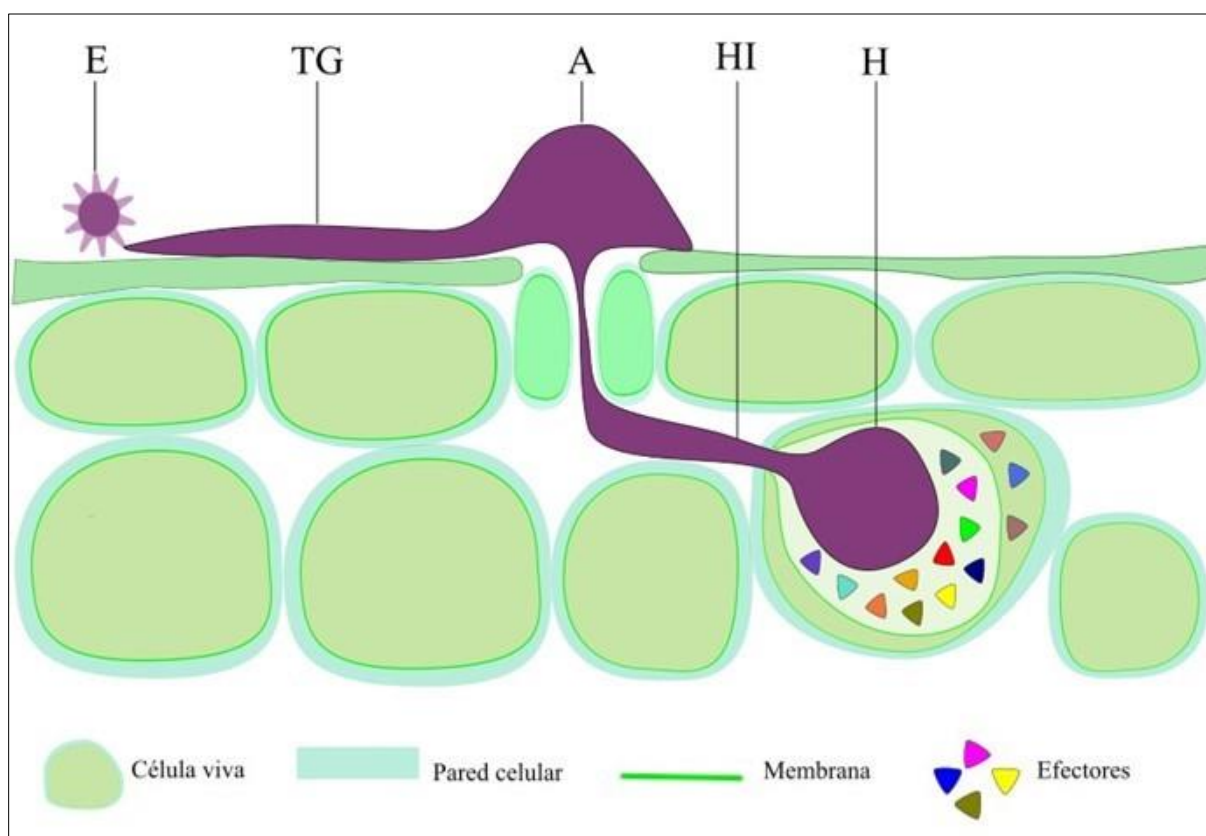


Figura I-2: Patogénesis de *P. sorghi*, agente causal de CRM. Una espора del hongo *P. sorghi* (E) germina y emite un tubo germinativo (TG) que crece hasta detectar un estoma, donde desarrolla un apresorio (A) y una hifa de infección (HI). El patógeno coloniza el espacio intercelular y establece una íntima relación con el hospedante, regulada por la secreción de efectores. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

En condiciones ambientales propicias, la espора germina y produce un tubo germinativo, que es guiado por mecanismos de tigmotropismo que exploran la topografía foliar y orientan su crecimiento hacia un estoma (**Figura I-2**). El crecimiento se detiene y, en el punto de infección forma un apresorio que facilita

la penetración directa a través de un estoma (Kolmer et al. 2009) (**Figura I-2**). El crecimiento y la colonización son intercelulares y la nutrición se realiza a través de un haustorio formado en el extremo de la hifa de infección (**Figura I-2**). El haustorio es una estructura de nutrición que se ensancha y presiona la membrana plasmática, absorbiendo nutrientes (Kolmer et al. 2009). El patógeno induce cambios en el segmento de la membrana en contacto con el hongo (membrana extrahaustorial) para favorecer su nutrición (Boddy 2016; Doehlemann et al. 2017). A través del haustorio, el patógeno también inyecta efectores en el interior de la célula, lo que le permite manipular la fisiología y la respuesta inmune de la planta hospedante.

La sintomatología de la enfermedad se manifiesta en ambas caras de las hojas en forma de pústulas. En el caso de las royas, el síntoma coincide con el signo de la enfermedad. Inicialmente, las pústulas son de color anaranjado (uredosporas) y oscuras al final del ciclo de la enfermedad (teliosporas) (**Figura I-3**).



Figura I-3: Sintomatología característica de CRM. Izquierda: Sintomatología temprana (pústulas anaranjadas con uredosporas). Derecha: Sintomatología tardía (pústulas oscuras con teliosporas). Figura de autoría propia.

Las uredosporas inician las infecciones secundarias, mientras que las teliosporas son esporas de supervivencia que permiten que el patógeno sobreviva al invierno. El ciclo de vida de este patógeno involucra a dos hospedantes: el maíz y varias especies del género *Oxalis*. En primavera, las teliosporas (2n) pueden germinar y producir basidiosporas que infectan plantas del género *Oxalis*, donde se completan todos los estadios de esporas. En Argentina, se demostró que el patógeno completa el ciclo generando potencialmente nuevas razas fisiológicas, lo que implica un serio impacto epidemiológico (Guerra et al. 2019).

Tizón común del maíz (NLB)

En conjunto, CRM y NLB son las enfermedades foliares más importantes en la región maicera núcleo de Argentina (Montemarani et al. 2018; De Rossi et al. 2022). El agente causal es un hongo hemibiótrofo de la división Ascomycota denominado *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs (**Tabla I-1**). En Argentina se han documentado siete razas fisiológicas del patógeno (0, 1, 2, 3, 23N, 3N y 13N), siendo la raza 0 la predominante (Navarro et al. 2021). Las condiciones ambientales que predisponen la aparición de la enfermedad incluyen temperaturas moderadas (15 °C a 25 °C), una alta humedad relativa (90 % a 100 %) y períodos de mojado de más de cuatro horas (Galiano-Carneiro y Miedaner 2017). Los conidios del patógeno sobreviven en el rastrojo del cultivo anterior y son transportados mediante gotas de agua hasta la superficie foliar. En condiciones ambientales favorables, la espore germina y emite un tubo germinativo que crece hasta el punto de infección. La penetración es directa y se ve facilitada por el desarrollo de un apresorio. La colonización es inicialmente intercelular y la nutrición se realiza mediante la hifa de infección, que queda completamente rodeada por la membrana plasmática, generando una estrecha matriz de intercambio. Diez días después de la infección, el patógeno cambia a un estilo de vida necrótrofo y coloniza el tejido intracelular, principalmente el tejido vascular, causando daño celular básicamente por plasmólisis (**Figura I-4**) (Kotze et al. 2019).

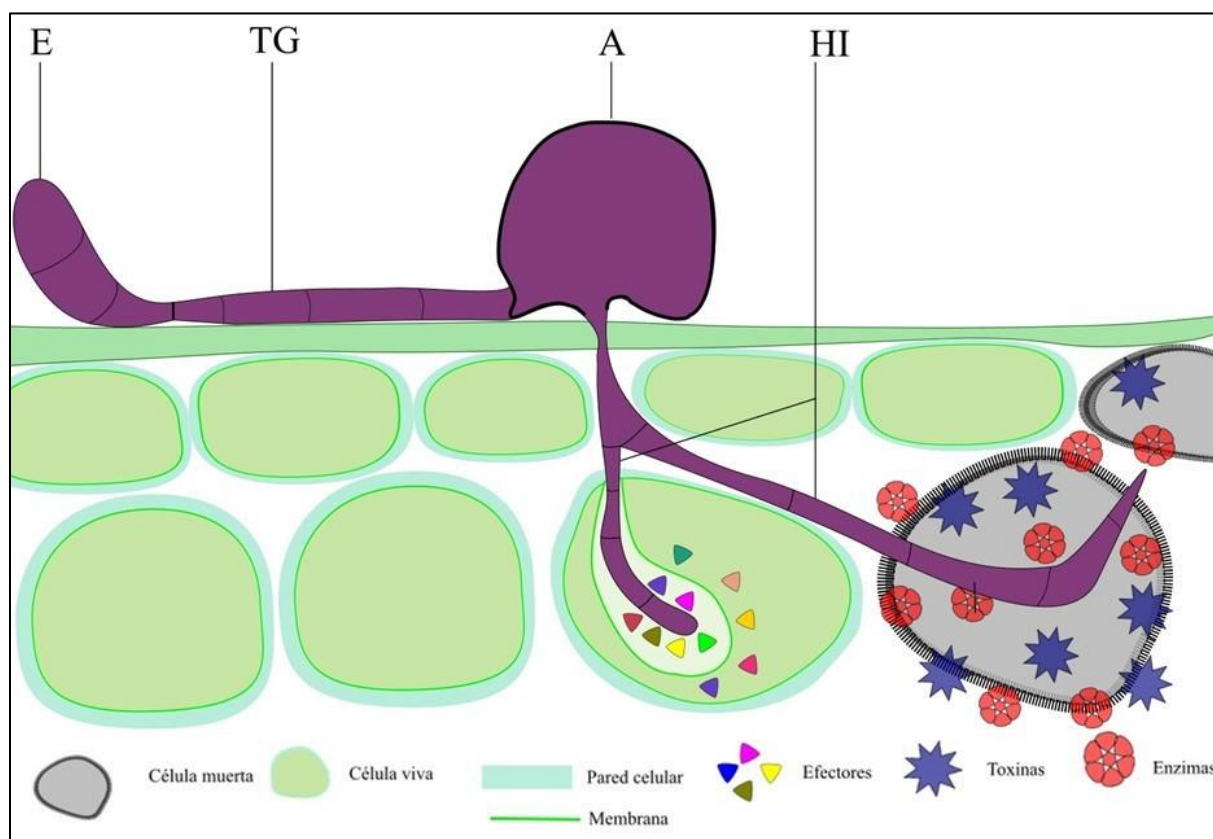


Figura I-4: Patogénesis de *E. turcicum* agente causal de NLB. Una espore del hongo *E. turcicum* (E) germina y emite un tubo germinativo (TG) que crece hasta el punto de infección, donde desarrolla un apresorio (A) y una hifa de infección (HI) para penetrar en el interior del hospedante. La colonización comienza de manera intercelular, inicialmente regulada por la secreción de efectores, y posteriormente se vuelve intracelular, favorecida por la secreción de toxinas y enzimas. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

La sintomatología se corresponde con el estilo de vida necrótrofo del patógeno y provoca lesiones iniciales elípticas y cloróticas que se convierten en grandes lesiones necróticas que, eventualmente, marchitan por completo la hoja (Galiano-Carneiro y Miedaner 2017) (**Figura I-5**). Las pérdidas asociadas a las enfermedades se estiman entre un 15 % y un 30 % del rendimiento, aunque, en condiciones ambientales predisponentes y en ausencia de resistencia, dicha disminución puede llegar al 75 % (Galiano-Carneiro y Miedaner 2017; Kotze et al. 2019).



Figura I-5: Sintomatología característica de NLB. Izquierda: Sintomatología temprana (lesiones elípticas cloróticas correspondiente a la fase biotrófica del patógeno). Derecha: Sintomatología tardía (lesiones necróticas coalescentes correspondiente a la fase necrótrofica del patógeno). Figura de autoría propia.

Tizón foliar del maíz (SLB)

SLB es una de las principales enfermedades que afectan al cultivo de maíz a nivel mundial, aunque esta enfermedad se restringe a climas cálidos y húmedos. En Argentina, la enfermedad está presente en el norte del país, donde predomina un clima cálido subtropical (Kistner 2021; Kistner et al. 2022b). El agente causal es el hongo necrótrofo *Cochliobolus heterostrophus* (Drechsler) Drechsler (sinónimo *Bipolaris maydis* (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoemaker) (Catalogue of Life 2025). De este patógeno se conocen tres razas fisiológicas O, T y C (Zhao et al. 2012) (**Tabla I-1**). La enfermedad es mundialmente reconocida por la epidemia que afectó gravemente a la agricultura de América del Norte durante 1970-1971 (Bruns 2017).

Los conidios del patógeno sobreviven en el rastrojo del maíz o como saprofitos en el suelo, y se dispersan por el viento o por gotas de agua (Bengyella et al. 2018). El ciclo de la enfermedad se inicia con una espora depositada sobre un hospedante susceptible. En condiciones ambientales favorables, la espora germina y crece hasta el punto de infección, donde ocasionalmente desarrolla un apresorio. La hifa de

infección penetra directamente la cutícula gracias a la secreción de toxinas y CWDE (Stergiopoulos et al. 2013; Völz et al. 2020) (**Figura I-6**).

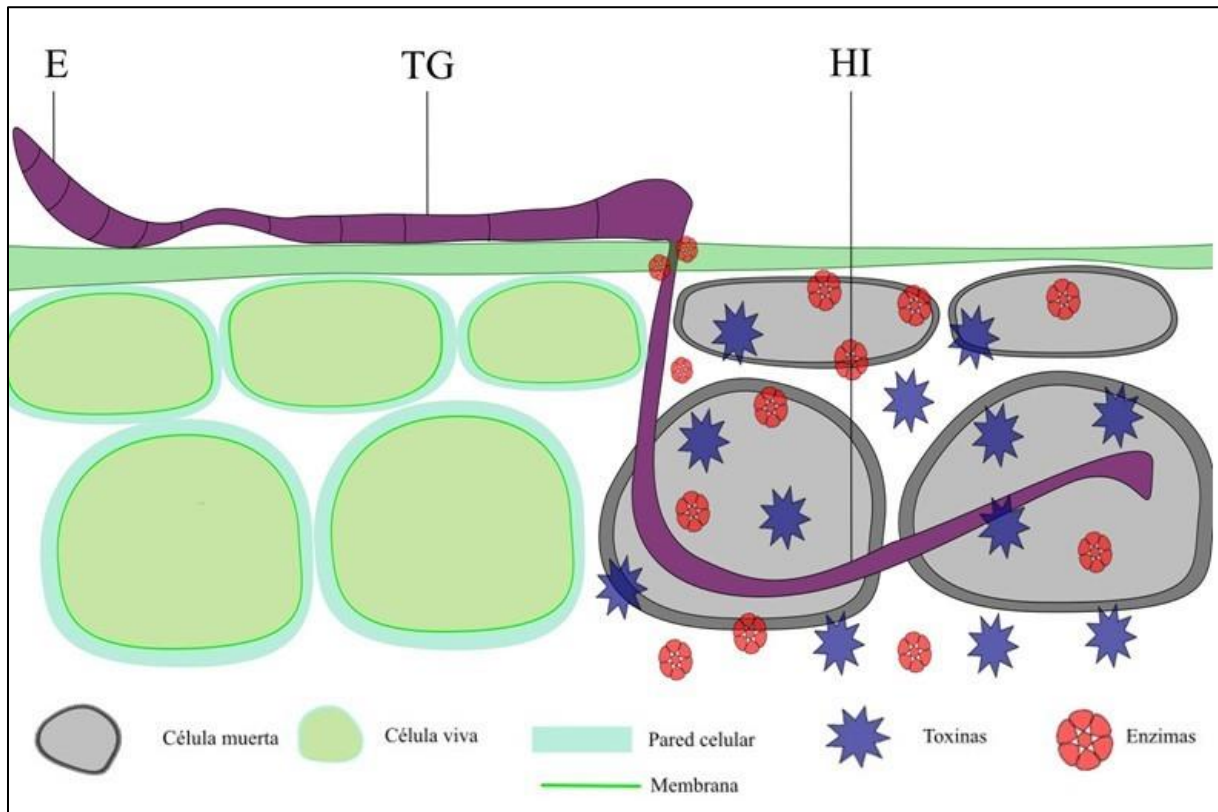


Figura I-6: Patogénesis de *C. heterostrophus*, agente causal de SLB. Una espora del hongo *C. heterostrophus* (E) germina y genera un tubo germinativo (TG) que crece hasta alcanzar el punto de infección. La penetración de la hifa de infección (HI) está favorecida por la secreción de enzimas y la colonización intracelular por toxinas. Figura de autoría propia adaptada Kistner (2021).

La sintomatología de la enfermedad en la superficie foliar se caracteriza por lesiones iniciales pequeñas y romboidales que, a medida que maduran, adquieren una forma rectangular con márgenes irregulares y cuyo crecimiento se ve restringido por las nervaduras de la hoja (Mubeen et al. 2017) (**Figura I-7**).



Figura I-7: Sintomatología característica de SLB. Izquierda: Sintomatología temprana (lesión necrótica pequeña de forma romboidal). Derecha: Sintomatología tardía (Lesión necrótica rectangular restringida por las nervaduras). Figura de autoría propia.

Estría foliar bacteriana (BLS)

BLS es una enfermedad emergente en América que se ha relacionado con el surgimiento de una nueva cepa más virulenta de la bacteria *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Cobb.) comb. nov. (Plazas et al. 2018) (**Tabla I-1**). La enfermedad se describió por primera vez en 1949 en Sudáfrica y, en los últimos años, su importancia ha aumentado considerablemente en Sudamérica y Norteamérica. Estudios filogenéticos determinaron que probablemente la bacteria fue introducida inicialmente desde Sudáfrica a Sudamérica y, posteriormente, a Norteamérica, debido al intercambio comercial de semillas. Esta nueva cepa posee regiones genéticas diferenciales asociadas con factores de virulencia adquiridos, probablemente por transferencia horizontal, asociada con la rápida propagación del patógeno en la región (Perez-Quintero et al. 2020). *X. vasicola* puede sobrevivir en el suelo, en residuos vegetales, en semillas u hospedantes alternativos y se dispersa, principalmente, a través de medios acuosos o semillas (Ortiz-Castro et al. 2020). En general, las bacterias sobreviven inicialmente sobre la superficie foliar como epifitas, formando biopelículas (biofilms) que les proporcionan protección frente al ambiente. La comunidad bacteriana evalúa la densidad poblacional dentro de la biopelícula usando un sistema de comunicación denominado *quorum sensing* o autoinducción. Este mecanismo, basado en el reconocimiento de autoinductores (pequeñas moléculas de señalización), le permite inducir una infección ante un aumento de la comunidad bacteriana (Pfeilmeier et al. 2016; Mukherjee y Bassler 2019). La penetración bacteriana se produce principalmente a través de un estoma o una herida (**Figura I-8**). Por lo general, las bacterias se comportan como hemibiótrofos, con una colonización inicial intercelular del tejido apoplástico no vascular, seguida de una colonización intracelular tardía y breve (Ortiz-Castro et al. 2020).

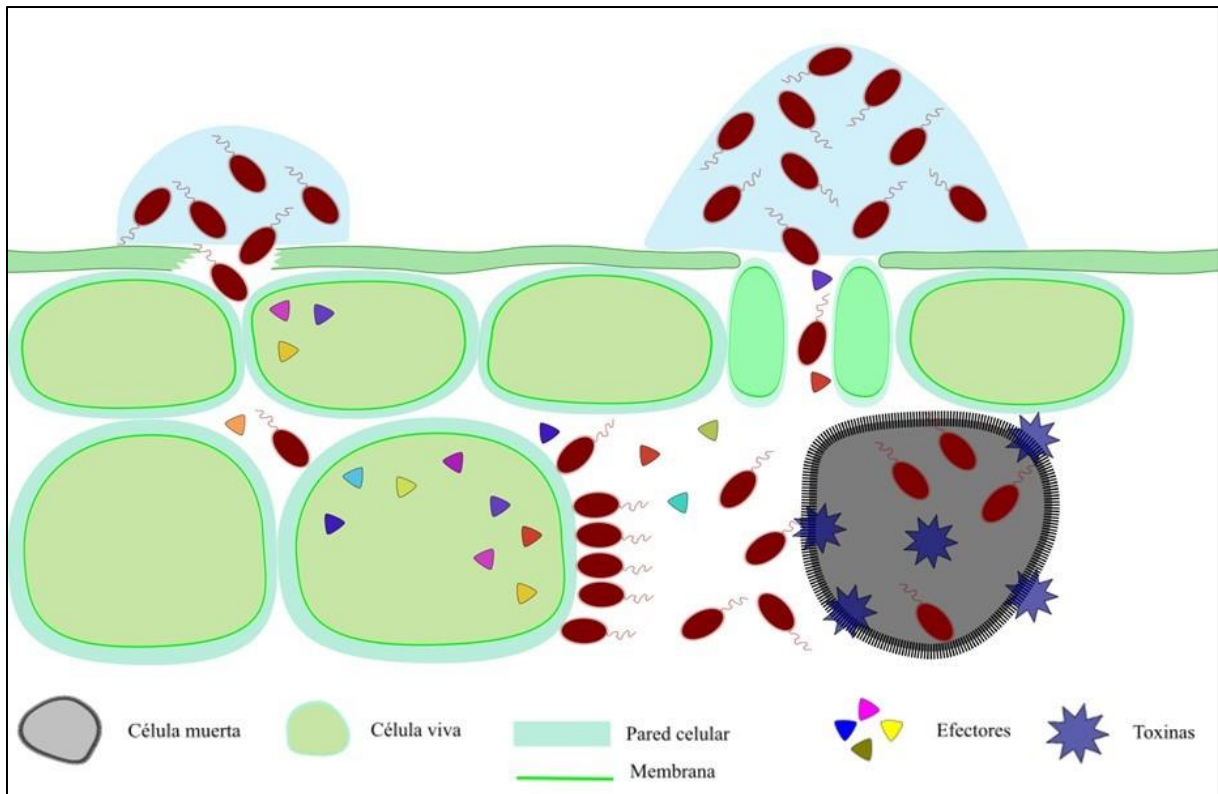


Figura I-8: Patogénesis de *X. vasicola*, agente causal de BLS. *X. vasicola* vive como epífita sobre la superficie vegetal protegida por biopelículas, e ingresa en el hospedante a través de heridas o estomas. La bacteria coloniza inicialmente el espacio intercelular a través de la secreción de efectores y luego el espacio intracelular a través de la secreción de toxinas. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

La sintomatología de la enfermedad se caracteriza por la aparición de lesiones iniciales acuosas en las hojas, que posteriormente se transforman en estrías estrechas y alargadas con una coloración que va desde el amarillo hasta el marrón (Plazas et al. 2018) (**Figura I-9**).



Figura I-9: Sintomatología característica de BLS. Izquierda: Sintomatología temprana (lesiones pequeñas acuosas). Derecha: Sintomatología tardía (estrías alargadas amarillo- marrón). Figura de autoría propia.

Inicialmente, los síntomas se presentan en el estrato inferior de la planta y progresan hacia el estrato medio y superior. *X. vasicola* causa infecciones localizadas (no sistémicas) y la propagación es consecuencia de sucesivas infecciones secundarias. Las pérdidas de rendimiento asociadas a la enfermedad oscilan entre el 5 y el 15 %, en función del grado de susceptibilidad del cultivar, la presión de la enfermedad y las condiciones ambientales (Ortiz-Castro et al. 2020).

Podredumbres de espiga (FER y GER)

Las podredumbres de espigas son las enfermedades más graves del cultivo de maíz, ya que, además de disminuir el rendimiento, contaminan los granos con micotoxinas que son extremadamente tóxicas para los humanos y el ganado (Mesterházy et al. 2012; Gaikpa y Miedaner 2019). Los géneros fúngicos reportados que causan podredumbres de espiga son diversos, entre los que destaca el género *Fusarium* con más de 19 especies informadas. Las dos especies principales del género *Fusarium* son *F. fujikuroi* Nirenberg (sinónimo *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg) y *F. graminearum* Schwabe (sinónimo *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch) (Iglesias et al. 2010; Gaikpa and Miedaner 2019; Catalogue of Life 2025) (**Tabla I-1**). La composición de especies varía de un año a otro, dependiendo principalmente de las condiciones ambientales durante la floración y el llenado de los granos. *F. fujikuroi* (sinónimo *F. verticillioides*) predomina con temperaturas más cálidas y estrés hídrico durante el periodo de llenado de los granos, mientras que *F. graminearum* predomina con días más frescos y con un mayor régimen de precipitaciones durante la floración (Munkvold 2003; Gaikpa y Miedaner 2019). En Argentina, ambas especies están presentes, aunque prevalece la primera (Iglesias et al. 2010). La principal preocupación en el uso directo de cereales como alimento radica en la contaminación por micotoxinas, que conlleva serias consecuencias asociadas a su consumo (Blacutt et al. 2018). Ambas especies de *Fusarium* producen micotoxinas químicamente diferentes. La fumonisina es producida por *F. fujikuroi* (sinónimo *F. verticillioides*), mientras que DON y ZEA son producidas por *F. graminearum* (Gaikpa y Miedaner 2019).

Las fumonisinas de la serie B (B₁, B₂, B₃ y B₄) son las que aparecen con mayor frecuencia y concentración en muestras de maíz infectado con *F. fujikuroi* (sinónimo *F. verticillioides*). Dentro de ellas, la más abundante y estudiada es la B₁ (Blacutt et al. 2018). Las fumonisinas son estructuralmente análogas a la esfingosina, una molécula precursora de la ceramida. La fumonisina B₁ inhibe competitivamente la ceramida sintasa y provoca una alteración en el perfil de los esfingolípidos. Una interrupción general de las funciones fisiológicas y de señalización de estas moléculas tiene un efecto tóxico en animales, humanos y plantas (Blacutt et al. 2018). El metabolismo alterado de los esfingolípidos está asociado a una ingesta diaria alta de fumonisinas, que es común en comunidades donde el maíz contaminado es el alimento básico. El consumo de DON deriva en síntomas diversos como náuseas, mareos, vómitos, diarrea, fiebre, dolor abdominal y de cabeza, mientras que ZEA se

asocia principalmente con trastornos reproductivos como abortos o infertilidad en animales (Gaikpa y Miedaner 2019).

FER y GER son podredumbres de espiga causadas por *F. fujikuroi* (sinónimo *F. verticillioides*) y por *F. graminearum*, respectivamente, y son las principales podredumbres de espiga del maíz.

F. fujikuroi (sinónimo *F. verticillioides*) es un hongo necrótrofo de la división Ascomycota que representa, por lo general, un 10 % de la comunidad microbiana del suelo (**Tabla I-1**). El patógeno sobrevive en residuos de maíz y la falta de rotaciones de cultivos ha contribuido a la prevalencia del patógeno en todas las zonas productivas (Munkvold 2003; Blacutt et al. 2018). La naturaleza heterotática del patógeno favorece la reproducción asexual y la producción de grandes cantidades de macro y microconidios sobre residuos vegetales (Iglesias et al. 2010; Blacutt et al. 2018). La vía principal de infección del patógeno son las heridas en las espigas causadas por insectos o el canal del estigma durante la floración (**Tabla I-1**). La colonización intracelular se ve facilitada por la secreción de enzimas y toxinas, similar a la patogénesis descrita para *C. heterostrophus* (**Figura I-6**) (Blacutt et al. 2018). A pesar de que las fumonisinas son tóxicas para el maíz, cepas sin la habilidad de producir micotoxinas produjeron niveles de severidad de FER similares a las cepas micotoxicogénicas, lo que indica un papel secundario de estas toxinas en la patogénesis (Munkvold 2003). El patógeno generalmente infecta granos al azar, grupos de granos o granos dañados físicamente. Los síntomas de la enfermedad se caracterizan por la presencia de un micelio algodonoso blanco o levemente rosado y, en algunas ocasiones, se observa un estriado blanco sobre el pericarpio como resultado de la colonización del canal estilar (**Figura I-10**) (Munkvold 2003; Mesterházy et al. 2012; Blacutt et al. 2018).



Figura I-10: Sintomatología característica de las podredumbres de espiga. Izquierda: FER: Micelio algodonoso blanco o ligeramente rosado en granos aislados con presencia de estrías. Derecha: GER: Micelio algodonoso rosado intenso que se inicia en la punta de la espiga y se desarrolla hacia la base. Figura de autoría propia.

F. graminearum es también un hongo de la división Ascomycota, aunque presenta un estilo de vida hemibiótrofo (**Tabla I-1**). Este patógeno habita en la comunidad microbiana del suelo y sobrevive en el rastrojo de maíz u otros cereales, causando Fusariosis de la espiga en el trigo y el centeno (Miedaner et al. 2020a). *F. graminearum* produce clamidiosporas, que son esporas con paredes gruesas que le permiten sobrevivir en el suelo durante largos períodos en ausencia del huésped. Además, se reproduce de manera asexual y sexual, produciendo abundantes ascosporas y macroconidios (Munkvold 2003; Agrios 2005). La principal vía de infección es el estigma, que es especialmente susceptible durante los primeros seis días después de la emergencia, por lo que la infección a través de heridas es menos importante en este patosistema (**Tabla I-1**) (Munkvold 2003). La colonización sigue un patrón similar al del hongo hemibiótrofo *E. turcicum* (**Figura I-4**), con una fase inicial intercelular y una fase final intracelular, donde la producción de DON desempeña un papel crucial en la patogénesis (Kikot et al. 2009).

Los síntomas se caracterizan por un micelio algodonoso de color rosado intenso que se desarrolla desde la punta de la espiga hacia su base y puede cubrir grandes proporciones de la espiga (**Figura I-10**) (Munkvold 2003).

Carbón común del maíz (CSM)

CSM es una enfermedad destructiva del cultivo que se caracteriza por la formación de tumores, principalmente en la espiga (Matei y Doehlemann 2016). El agente causal es el hongo *Mycosarcoma maydis* (DC.) Bref (sinónimo *Ustilago maydis* (DC.) Corda), un hongo biótrofo facultativo de la división Basidiomycota que depende de la reproducción sexual para infectar (**Tabla I-1**). El ciclo de la enfermedad comienza cuando una basidióspora se deposita en la superficie del hospedante. Ésta germina y produce un micelio haploide (monocarión), que posteriormente se fusionará con otra hifa para formar un micelio diploide (dicarión) con capacidad infectiva (**Figura I-11**) (Zou et al. 2022). Las hifas siguen un crecimiento polar sobre la superficie de la planta y detienen su crecimiento en el sitio de infección, en respuesta a una señal desconocida (Brefort et al. 2009). En el sitio de infección, la punta de la hifa se engrosa para formar un apresorio poco diferenciado y no melanizado. La penetración es directa y se ve facilitada por la acción de CWDE (Brefort et al. 2009; Matei y Doehlemann 2016; Lanver et al. 2018; Zou et al. 2022). El hongo coloniza el espacio intercelular y genera una íntima interacción entre la hifa de infección y la membrana plasmática, lo que le permite nutrirse y manipular los mecanismos de defensa y la fisiología del hospedante (Villajuana-Bonequi et al. 2019; Zou et al. 2022) (**Figura I-11**).

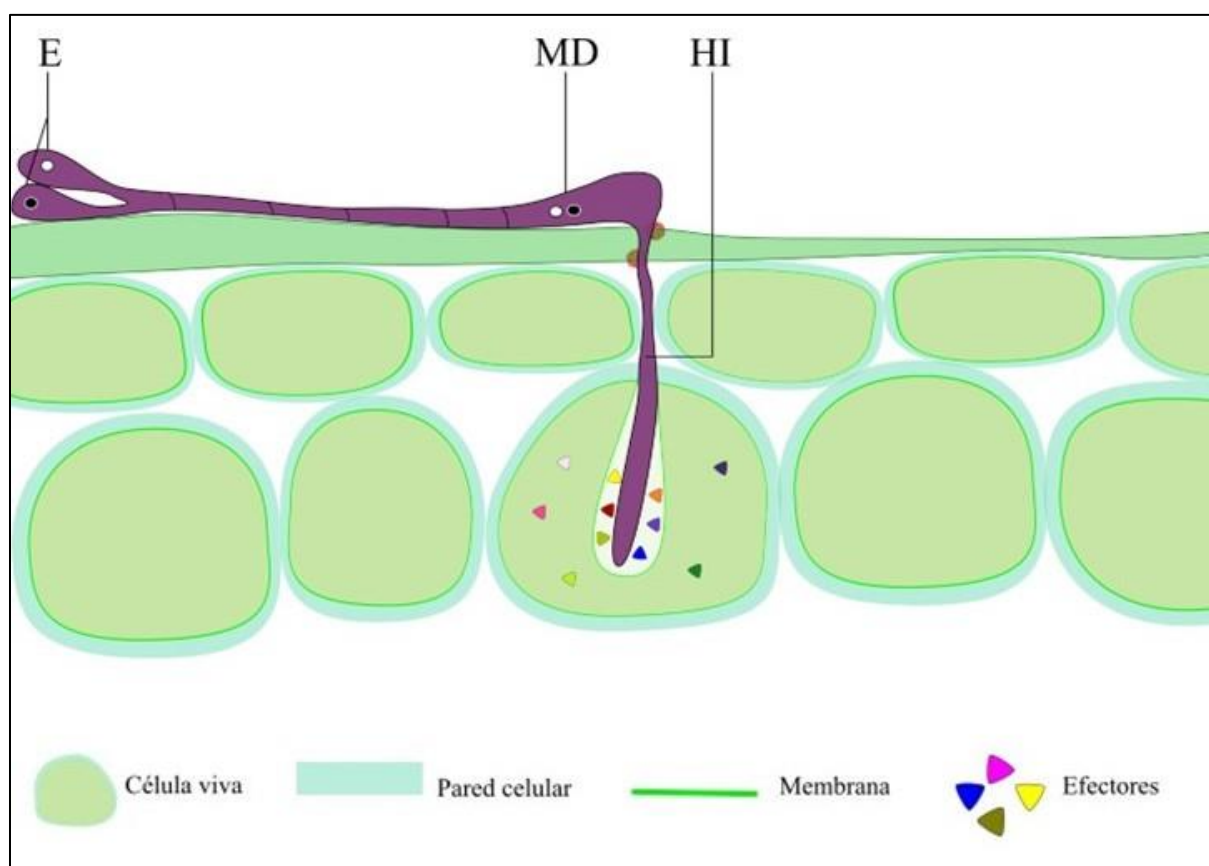


Figura I-11: Patogénesis de *M. maydis* (sinónimo *U. maydis*), agente causal de CSM. Dos esporas (E) germinan y se fusionan para formar un micelio dicarión (MD) infeccioso. En el punto de infección, la hifa de infección (HI) se ensancha y forma un incipiente apresorio y penetra directamente. La colonización es intercelular, la nutrición

se produce a través de la HI y la patogénesis a través de la secreción de efectores. Figura de autoría propia adaptada Kistner (2021).

El patógeno induce la formación de tumores principalmente en las espigas, donde libera teliosporas diploides a la madurez (aproximadamente 15 dpi). Los tumores y las teliosporas reemplazan los granos de la panoja, lo que afecta directamente a la cantidad y la calidad de la cosecha (**Figura I-12**). *M. maydis* (sinónimo *U. maydis*) es también un organismo modelo para el estudio de las interacciones biotróficas planta-patógeno (Brefort et al. 2009; Zou et al. 2022). En México, el consumo de los tumores (“huitlacoche” o “flor del maíz”) es muy popular y, en los últimos años, su demanda ha crecido considerablemente, principalmente debido a sus propiedades nutraceuticas (Méndez-López et al. 2019).



Figura I-12: Sintomatología característica de CSM (tumores con teliosporas que reemplazan la estructura de la espiga). Imagen tomada por Lic. Lucía Montenegro.

Resistencia a enfermedades

La resistencia a enfermedades es una estrategia muy importante para la agricultura, principalmente por su bajo impacto ambiental, su buena efectividad frente a enfermedades para las cuales los métodos químicos tienen un alcance limitado y porque no supone un costo adicional para el productor. Además, sus beneficios se trasladan a la huella de agua y carbono en la producción de alimentos, al reducir el uso de pesticidas.

El concepto de resistencia se refiere a un atributo genético que determina la habilidad de una planta para impedir, parcial o completamente, el crecimiento y/o el desarrollo de un patógeno una vez establecido el contacto entre ambos (Vale et al. 2001; Niks et al. 2019). A diferencia del concepto de tolerancia, la resistencia consiste en interferir en el crecimiento o desarrollo del patógeno, mientras que la tolerancia se refiere a la habilidad de la planta para mitigar el impacto del patógeno. En otras palabras, considerando igual rendimiento potencial y nivel de enfermedad, una planta tolerante rendirá más que una planta sensible (Vale et al. 2001; Agrios 2005). Por otro lado, la resistencia también se diferencia de la evasión, que se refiere a la imposibilidad de que se establezca contacto entre el patógeno y el hospedante, y se asocia principalmente a características morfológicas o fenológicas de la planta (Niks et al. 2019).

En la literatura se hace referencia a dos tipos de resistencia: cualitativa y cuantitativa, que se diferencian principalmente por sus características fenotípicas y genéticas (**Figura I-13**).

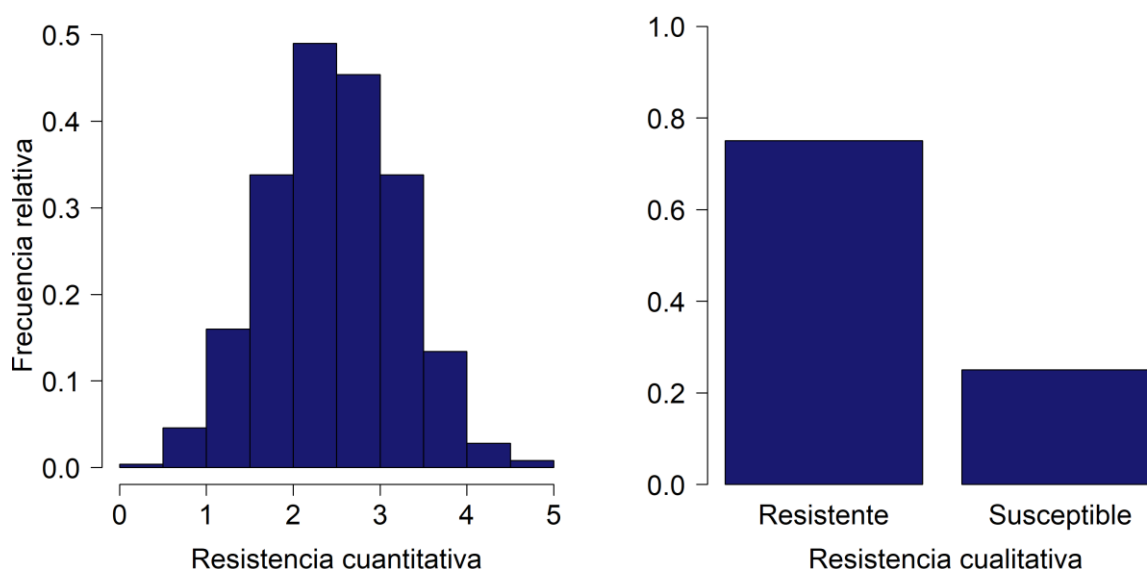


Figura I-13: Tipos de resistencia a enfermedades. Izquierda: la resistencia cuantitativa se caracteriza por un gradiente de genotipos resistentes (0) y susceptibles (5) con distintos niveles de resistencia. Derecha: la resistencia cualitativa se caracteriza por individuos resistentes o susceptibles (sin respuestas intermedias). Figura tomada de Kistner (2021) adaptada de Nelson et al. (2018).

La resistencia cualitativa es fenotípicamente completa, es decir, que los individuos se enferman o no, sin reacciones intermedias (**Figura I-13**). Es de carácter raza-específica, ya que resulta de una interacción específica entre un gen del patógeno y un gen del hospedante. La respuesta desencadenada restringe completamente el crecimiento y la reproducción del patógeno (Ali y Yan 2012; Miedaner 2016; Yang et al. 2017a). Esta interacción es la base genética de la resistencia cualitativa y se deriva de la teoría de Flor (1971), que postula que por cada gen de resistencia en el hospedante (Gen *R*) hay un gen de avirulencia (Gen *Avr*) en el patógeno. En general, el alelo de resistencia en el hospedante es dominante sobre el alelo de virulencia en el patógeno, y la reacción de incompatibilidad (o resistencia) puede manifestarse como resultado de la interacción entre ambos alelos (**Figura I-14**).









		Genotipos del patógeno	
		AA /Aa (<i>Avr</i>) 	aa (<i>avr</i>) 
Genotipos del hospedante	RR /Rr (<i>R</i>) 	RESISTENCIA  Reacción incompatible	SUSCEPTIBILIDAD  Reacción compatible
	rr (<i>r</i>) 	SUSCEPTIBILIDAD  Reacción compatible	SUSCEPTIBILIDAD  Reacción compatible

Figura I-14: Tipos de interacciones entre genes de resistencia y avirulencia. La combinación de un gen *R* (*RR* o *Rr*) del hospedante con un gen *Avr* (*AA* o *Aa*) del patógeno es la única interacción que genera una respuesta incompatible que confiere resistencia. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

La resistencia cualitativa se valora por ser fenotípicamente completa y por su naturaleza monogénica (genes *R*), que permite que sea introgresada fácilmente en diversos fondos genéticos. Sin embargo, no existen fuentes de resistencia cualitativa para todas las enfermedades, sino que están limitadas a enfermedades causadas por patógenos (hemi)-biótros. Además, se trata de una resistencia que generalmente no es duradera, ya que el surgimiento de una nueva raza puede quebrarla, por lo que se prefiere el uso de resistencia cuantitativa por sobre la resistencia cuantitativa (Miedaner 2016; Niks et al. 2019).

La resistencia cuantitativa es fenotípicamente incompleta, ya que implica la contribución de múltiples genes y factores ambientales en la respuesta del hospedante frente a la enfermedad. Su efecto reduce la tasa epidemiológica de la enfermedad al prolongar el periodo de latencia o incubación o bien reducir el

número y el tamaño de las lesiones (Vale et al. 2001). Como consecuencia, se observa un gradiente de genotipos con diferente grado de resistencia (o susceptibilidad) (**Figura I-13**).

Desde el punto de vista epidemiológico, el hecho de que la resistencia sea fenotípicamente incompleta puede limitar la selección de razas del patógeno resistentes, lo que aumenta la durabilidad de la resistencia (Poland et al. 2009; Nelson et al. 2018). Esta resistencia es el resultado de la acción de numerosos genes de efecto pequeño a moderado (poligénica), que a su vez interactúan entre ellos (epistasia) y con el ambiente (interacción genotipo por ambiente) (Yang et al. 2017a; Nelson et al. 2018). Por lo tanto, la progenie derivada de un genotipo resistente y otro susceptible exhibirá un continuo de fenotipos entre ambos extremos de la distribución de frecuencias (**Figura I-13**) (Falconer y Mackay 1996; Nelson et al. 2018).

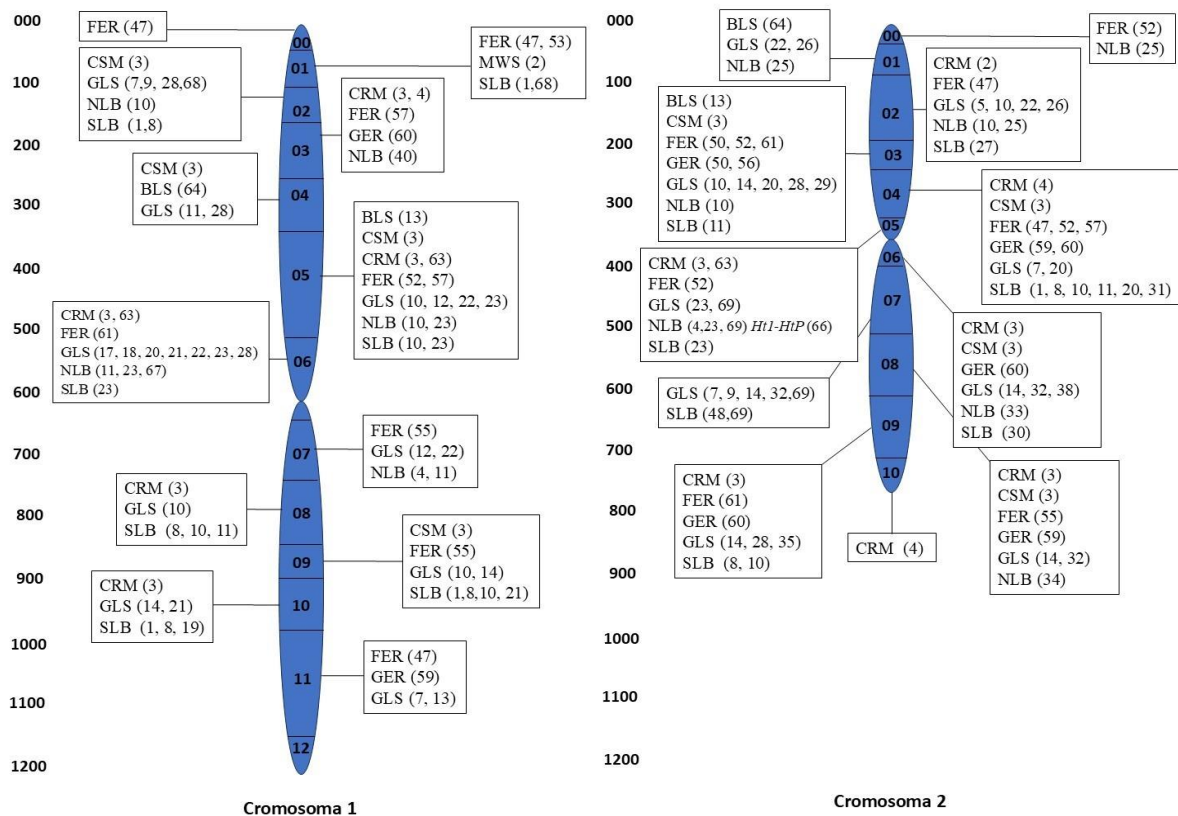
Identificación de genes de resistencia

La resistencia genética, al igual que la mayoría de los caracteres agronómicos importantes, está controlada por múltiples genes, lo que la convierte en un carácter cuantitativo (Collard et al. 2005). Las regiones del genoma que contienen genes asociados a rasgos cuantitativos se conocen como QTL. El descubrimiento y la aplicación de los MM han facilitado el estudio de la base genética de estos caracteres (Rasheed et al. 2017; MacCannell 2019). Los RFLP fueron uno de los primeros MM utilizados, aunque con el tiempo fueron reemplazados por los SNP (Rasheed et al. 2017). Los SNP destacan por su alta frecuencia en el genoma, baja tasa de mutación, alto rendimiento y bajo costo, dado el uso de secuenciadores automáticos (Zhu et al. 2008; Font i Forcada et al. 2019; MacCannell 2019).

Las técnicas de mapeo de ligamiento y asociación son las estrategias más extendidas para identificar QTL de resistencia a enfermedades, como se muestra en la **Tabla A-1** (Sahito et al. 2024). Estas técnicas se basan en detectar una asociación entre el fenotipo y el polimorfismo del MM, ambos registrados en la población de mapeo. Si tal asociación resulta estadísticamente significativa, se puede inferir la existencia de genes o QTL que afectan al carácter estudiado (Collard et al. 2005; Burghardt et al. 2017). El poder de detección depende de varios factores, entre ellos, del tipo y magnitud del efecto génico del QTL, de la distancia entre el QTL y el MM, del tamaño y de la variabilidad genética de la población de mapeo y de la técnica de mapeo empleada. Las técnicas pueden ser simples, como la prueba de chi-cuadrado, un análisis de la varianza o regresiones lineales (**Tabla A-1**). Los mapas genéticos permitieron desarrollar métodos de mapeo más complejos, como el mapeo por intervalo simple (SIM) (Lander y Botstein 1989) o compuesto (CIM) (Zeng 1993, 1994), entre otros (**Tabla A-1**). En las últimas décadas ha aumentado el uso del mapeo por asociación o GWAS, basado en el principio de LD, es decir, en una asociación no aleatoria entre MM (**Tabla A-1**). El GWAS permite usar directamente paneles de germoplasma ya disponibles, lo que ahorra la elaboración de poblaciones de mapeo y permite una mayor resolución de mapeo asociada a una mayor historia de recombinación (Sahito et al. 2024).

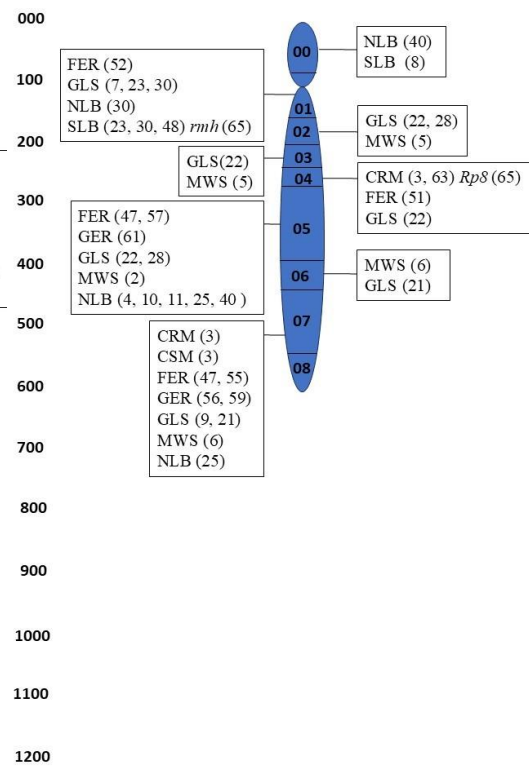
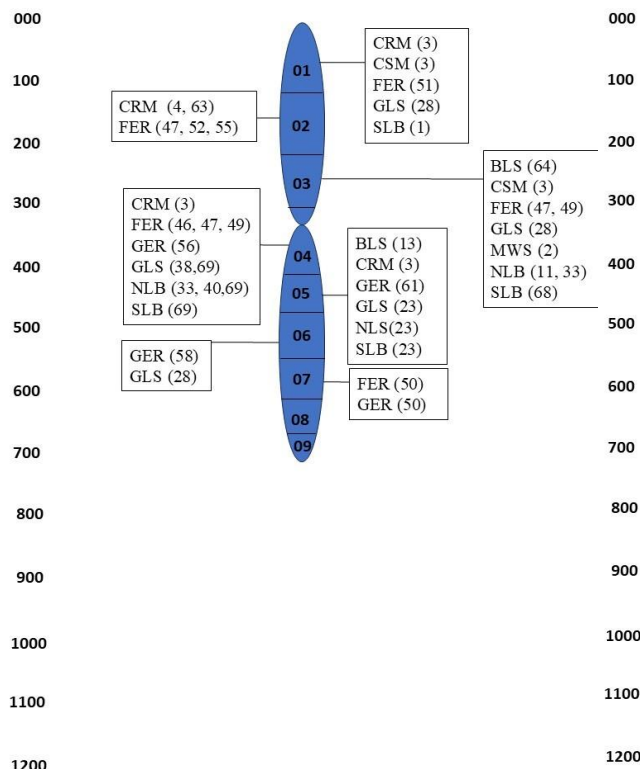
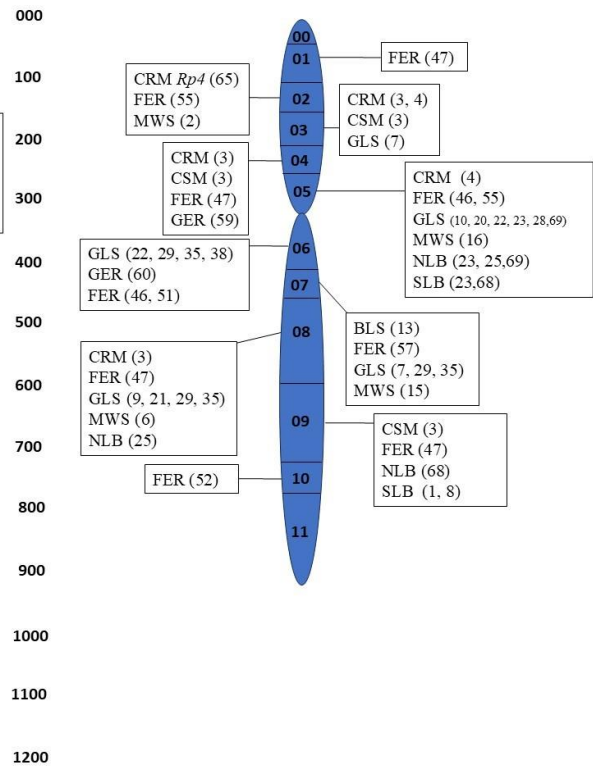
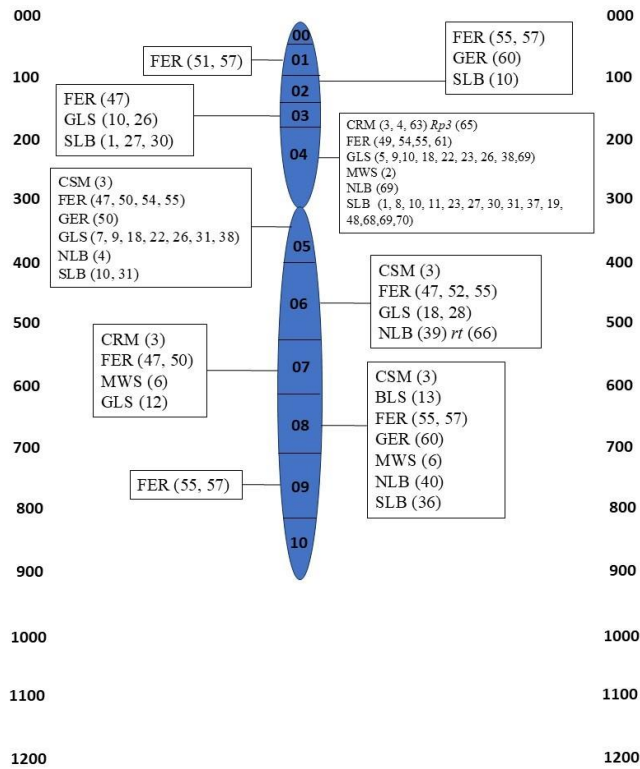
Mecanismos moleculares de la resistencia

Las diversas metodologías de mapeo disponibles han permitido identificar un gran número de QTL de resistencia a enfermedades en maíz (Gou et al. 2023). La **Figura I-15** resume la localización de QTL de resistencia a enfermedades en maíz identificados en 70 estudios basados en diversas poblaciones (**Tabla A-1**). A pesar de la cantidad de QTL identificados, solo se han estudiado y validado unos pocos genes en estas regiones. La evidencia surgida de estos estudios ha propuesto mecanismos moleculares asociados a variaciones en la regulación de la morfología y desarrollo de las plantas, receptores, señalización, detoxificación, entre otros mecanismos (Poland et al. 2009; Miedaner et al. 2020b). Recientemente, nuevos estudios han revelado nuevos genes con funciones atípicas que también confieren resistencia a enfermedades (Gou et al. 2023).



CAPÍTULO I – Introducción general

Resistencia a enfermedades



CAPÍTULO I – Introducción general

Resistencia a enfermedades

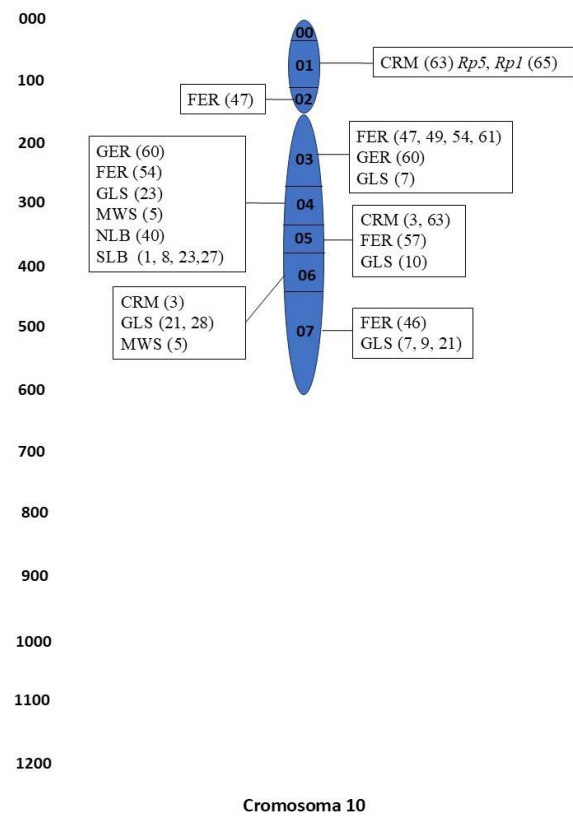
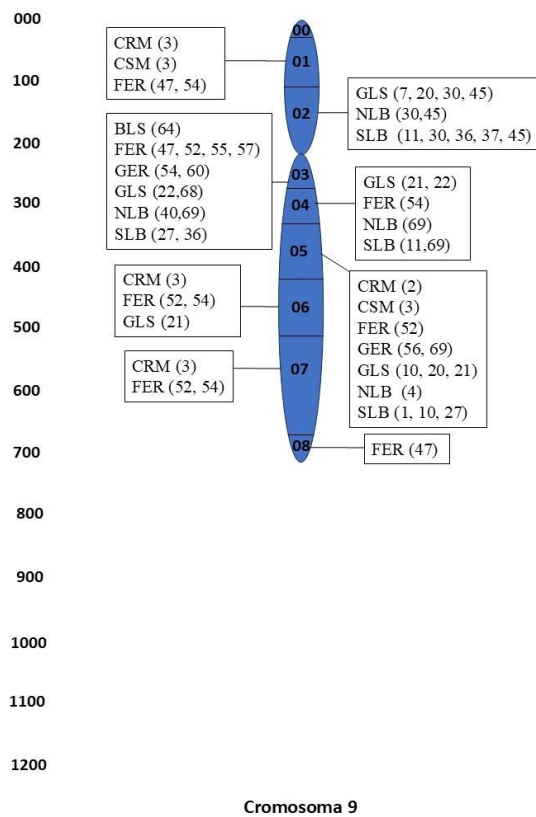
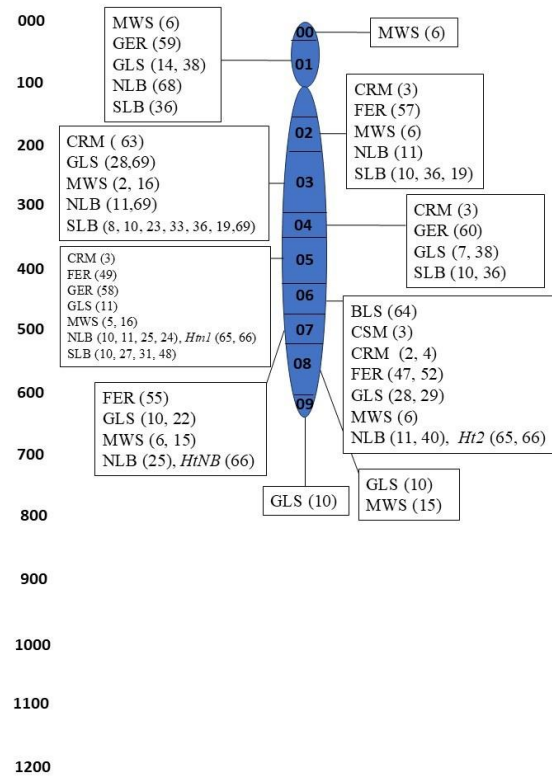
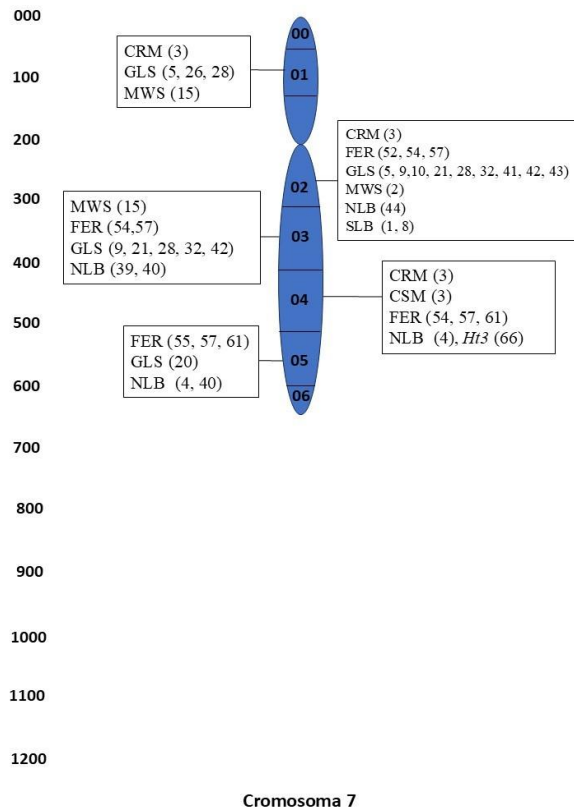


Figura I-15: Mapa consenso y compendio de QTL de resistencia a enfermedades en maíz. Mapa creado por el autor basado en la revisión bibliográfica de 70 estudios que incluyen 598 QTL de resistencia para nueve enfermedades del maíz citados en la **Tabla A-1**.

El sistema de defensa de las plantas es el resultado de una larga historia evolutiva entre plantas y patógenos, lo que dio como resultado que la mayoría de las plantas no sean hospedantes de la mayor parte de los patógenos (Zipfel 2008; Ali y Yan 2012; Boddy 2016). Las defensas de las plantas incluyen defensas constitutivas e inducidas. Las defensas constitutivas son pasivas y se encuentran presentes independientemente de la presencia de una amenaza. Este tipo de defensas incluye principalmente barreras físicas en la superficie vegetal, como el grosor de la cutícula, el pericarpio, capas de cera o la distancia internerval, y sustancias acumuladas dentro de las células que son tóxicas para los patógenos, como compuestos antimicrobianos, fenoles, péptidos antimicrobianos, entre otros (Sampietro et al. 2009, 2013; Poloni y Schirawski 2014; Pechanova y Pechan 2015; Fauguel et al. 2017; Ding et al. 2022).

Ciertos patógenos pueden sortear las defensas constitutivas de las plantas. En respuesta a esta amenaza, la planta puede reconocerla e inducir una respuesta defensiva (Łażniewska et al. 2012; Pieterse et al. 2012). Numerosas investigaciones enfocadas en el sistema inmune de las plantas han identificado un sistema de detección y respuesta a patógenos que opera en dos niveles: la inmunidad desencadenada por patrones (PTI) y la inmunidad desencadenada por efectores (ETI) (Jones and Dangl 2006; Dodds and Rathjen 2010; Gou et al. 2023). Las principales diferencias entre las defensas de tipo PTI y ETI se basan en la naturaleza de la molécula reconocida, el lugar donde se produce el reconocimiento y la intensidad de la respuesta desencadenada (**Figura I-16**).

La PTI es la primera línea de defensa inducida y se desencadena a partir del reconocimiento de moléculas PAMP, MAMP o DAMP, que son patrones moleculares comunes asociados a patógenos, microbios o derivados del daño (Jones y Dangl 2006; Gou et al. 2023). Los PAMP o MAMP incluyen una diversidad de moléculas con funciones esenciales y conservadas entre especies de microorganismos (Gou et al. 2023). Por ejemplo, quitina y glucanos en hongos, β -glucanos y elicitinias en oomicetes o flagelina y péptidoglicanos en bacterias, como se detalla en la **Tabla I-1**. Por su parte, los DAMP son moléculas vegetales liberadas como consecuencia de un daño producido por el patógeno (Dodds y Rathjen 2010; Spoel y Dong 2012; Mengiste 2012; Andersen et al. 2018).

Los receptores asociados a la respuesta PTI son receptores de reconocimiento de patrones (PRR) localizados en la membrana celular vegetal. Los PRR pueden clasificarse en diferentes subfamilias en función de sus dominios (Gou et al. 2023). Los PRR pertenecen principalmente a receptores de tipo quinasa (RLK), los receptores de tipo proteína (RLP) y los receptores asociados a la pared celular (WAK) (Spoel y Dong 2012; Zhang et al. 2017; Chen et al. 2023) (**Figura I-16**). Los RLK comprenden una gran familia de proteínas con un dominio extracelular rico en leucina (LRR) o lisina (Lys) donde se produce el reconocimiento de las moléculas PAMP. Los LRR-RLK una clase importante de PRR que

reconocen PAMP o MAMP y actúan formando complejos de señalización con correceptores para activar la respuesta inmune (Chen et al. 2023). En maíz se han descrito más de 300 proteínas LRR-RLK, aunque se conoce de forma limitada su participación en los mecanismos de resistencia (Man et al. 2020). Los dos LRR-RLK más estudiados son FLS2, que detecta un fragmento conservado de 22 aminoácidos de la flagelina conocido como “flg22”, y EFR, que detecta un fragmento del factor de transcripción bacteriano Tu denominado “efl18” (Chen et al. 2023).

Los receptores WAK-RLK son PRR especializados en el reconocimiento de moléculas DAMP como fragmentos de pectina u oligogalacturonidos (Mengiste 2012; Andersen et al. 2018; Chen et al. 2023). Los WAK suelen estar formados por dominios citoplasmáticos de serina/treonina quinasa y un dominio extracelular de unión al galacturonano (Gou et al. 2023).

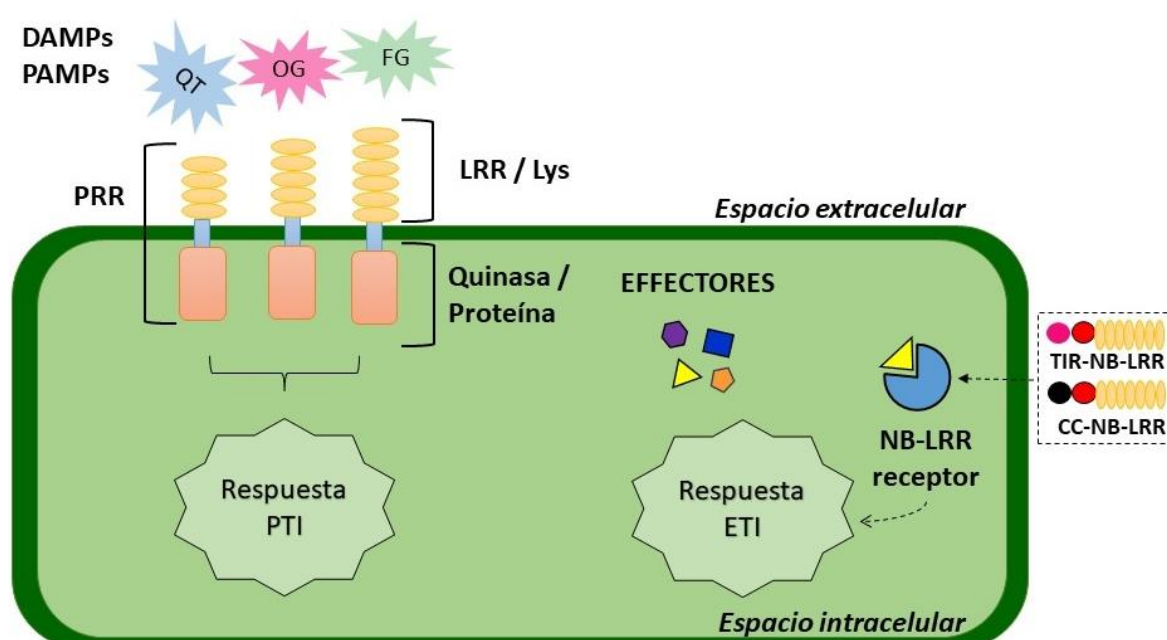


Figura I-16: Receptores y moléculas asociadas a la respuesta de defensa inducida PTI y ETI. En la respuesta de tipo PTI, receptores ubicados en la membrana vegetal (PRR) reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o a daño (DAMP). En la respuesta de tipo ETI, los receptores intracelulares (NB-LRR) reconocen efectores secretados por el patógeno. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

La defensa de tipo PTI puede ser suprimida por patógenos evolucionados que han desarrollado efectores especializados y que interfieren con la respuesta PTI. La respuesta de tipo ETI se activa después del reconocimiento de estos efectores por receptores intracelulares. Los receptores de la respuesta ETI se caracterizan por dominios de unión al ADN ricos en leucina (NB-LRR) y un terminal amino de tipo TIR o CC (Dodds y Rathjen 2010; Balint-Kurti 2019) (**Figura I-16**). El reconocimiento puede ser directo a través de la unión del receptor con el efector, o indirecto, a través de proteínas accesorias (Biezen y Jones 1998; Van Der Hoorn y Kamoun 2008; Collier y Moffett 2009).

Las interacciones planta-patógeno en la naturaleza conllevan a una coevolución constante entre ambos. El modelo “Zig-Zag” (Jones y Dangl 2006) describe de manera sencilla las fases de esta coevolución (**Figura I-17**).

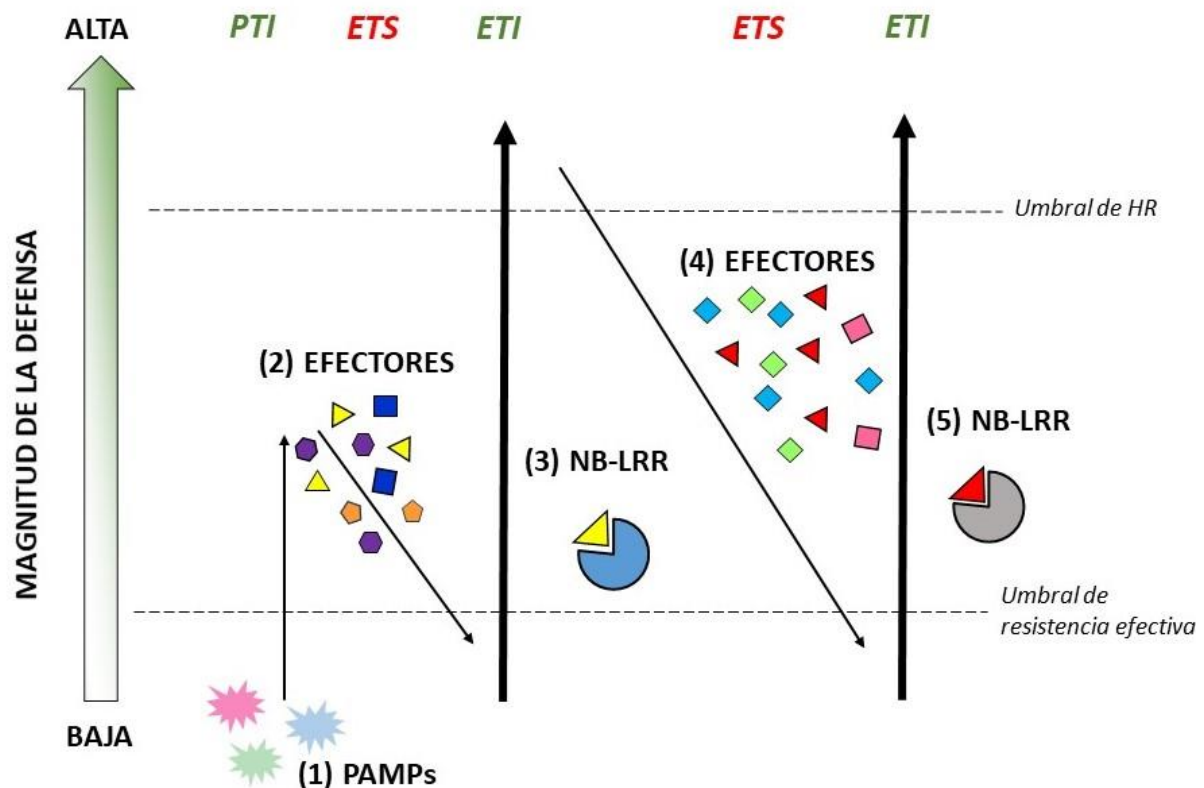


Figura I-17: Modelo Zig-Zag propuesto por Jones y Dangl (2006). Alternancia de fases de resistencia y susceptibilidad: En una primera fase, PAMP son reconocidos por el hospedante y activan una respuesta de PTI que confiere resistencia al hospedante. En una segunda fase, el patógeno secreta efectores que suprimen la respuesta PTI y generan ETS. En una tercera fase, receptores NB-LRR reconocen a los efectores secretados por el patógeno activando una respuesta ETI que confiere nuevamente resistencia. Finalmente, una nueva raza del patógeno puede emerger y suprimir la respuesta ETI, mientras que el hospedante también puede evolucionar frente a esta nueva raza del patógeno y desencadenar nuevamente una respuesta ETI. Figura de autoría propia adaptada de Kistner (2021).

EST: Susceptibilidad inducida por efectores. ETI: Inmunidad activada por efectores. HR: Reacción de hipersensibilidad. NB-LRR: Dominio de unión al ADN rico en leucina. PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos. PTI: Inmunidad activada por patógenos.

En la actualidad, el modelo Zig-Zag constituye la visión más aceptada y difundida sobre el funcionamiento del sistema inmune de las plantas. Inicialmente, se produce el reconocimiento entre PAMP y PRR, lo que activa la respuesta defensiva de tipo PTI. Seguidamente, patógenos virulentos pueden secretar efectores que suprimen la respuesta defensiva de tipo PTI y generan una reacción de susceptibilidad inducida por efectores (ETS). En respuesta a esta reacción, receptores NB-LRR pueden reconocer estos efectores, activar una respuesta de tipo ETI y alcanzar nuevamente la resistencia. Sin embargo, una nueva raza del patógeno puede emerger eliminando o diversificando el efector reconocido por las proteínas NB-LRR y quebrar la resistencia, generando un nuevo estado de ETS. A su vez, el

hospedante puede adaptar nuevamente los receptores NB-LRR y generar un nuevo estado de resistencia. Esta coevolución constante entre el patógeno y el hospedante da lugar a una alternancia de fases de resistencia y susceptibilidad, que recibe el nombre de “Zig-Zag” (**Figura I-17**).

El reconocimiento PAMP/DAMP/efector-receptor activa diversas rutas de señalización que desencadenan la respuesta de defensa. Las vías de señalización conocidas involucran MAPK, cambio en el flujo de iones, producción de hormonas, activación de factores de transcripción e incluso modificaciones epigenéticas. La vía de señalización es específica del patosistema y es un tema actual de investigación con descubrimientos permanentes (Andersen et al. 2018; Ding et al. 2022; Gou et al. 2023).

La respuesta de defensa se activa rápidamente después del reconocimiento del patógeno con el objetivo de crear un ambiente hostil para su proliferación. Las respuestas defensivas incluyen liberación de ROS, formación y liberación de compuestos antimicrobianos, refuerzo y reparación de la pared celular y activación de mecanismos de detoxificación (Zhang et al. 2017; Andersen et al. 2018; Ding et al. 2022). La respuesta de tipo ETI es más rápida y fuerte que la respuesta PTI y, por lo general, implica una reacción de HR, que es una muerte celular programada en el sitio de infección, lo que limita la dispersión del patógeno (Olukolu et al. 2016; Balint-Kurti 2019).

Los genes *R* suelen ser responsables de la resistencia cualitativa y, por lo general, codifican proteínas receptoras de tipo NB-LRR u proteínas que interactúan con toxinas específicas del patógeno (Miedaner 2016; Nelson et al. 2018). En maíz se han descrito genes *R* para CRM, NLB, SLB. Los genes *Rp* son genes de resistencia a CRM que codifican receptores de tipo NB-LRR y confieren resistencia mediante una reacción de HR (Darino et al. 2016; Olukolu et al. 2016; Yang et al. 2017a). A través de las diferentes técnicas de mapeo, se han identificado más de 20 genes *Rp* en los cromosomas 3, 4, 6 y 10 (**Figura I-15**) (Darino et al. 2016). Para resistencia a NLB, se han identificado varios genes *Ht* ubicados en los cromosomas 2, 3, 7 y 8 que confieren resistencia principalmente a través de una reacción de HR. La mayoría de estos genes son dominantes o codominantes a excepción de dos genes recesivos (Galiano-Carneiro and Miedaner 2017; Navarro et al. 2021). El gen *T-urf13* es recesivo y confiere resistencia a SLB. Este gen codifica una proteína de la membrana mitocondrial que interactúa con la toxina T del patógeno *C. heterostrophus*, determinando la susceptibilidad. En ausencia de la proteína, no se produce la interacción, lo que determina la resistencia (Nelson et al. 2018; Rodriguez-Moreno et al. 2018). En 1970, los maíces con CMS-T representaban más del 85 % de la producción de maíz de Estados Unidos, lo que condujo a la epidemia más devastadora que ha afectado a este país (Belcher et al. 2012; Bruns 2017). Otro ejemplo de resistencia cualitativa es el gen *Hm1*, localizado en el cromosoma 1, que codifica una enzima que inactiva la toxina HC del hongo *Bipolaris zeicola* (G.L. Stout) Shoemaker y confiere resistencia al tizón de hoja y la podredumbre de espiga (Johal y Briggs 1992; Yang et al. 2017a).

En cuanto a las bases moleculares de la resistencia cuantitativa, se han estudiado muy pocos genes. Los genes asociados a la resistencia cuantitativa carecen del carácter raza específica y se asocian a funciones de percepción de patógenos, traducción de señales, homeostasis hormonal y transporte y biosíntesis de metabolitos (Poland et al. 2009; Gou et al. 2023). Recientemente, se han asociado nuevos genes con funciones atípicas como el tráfico de vesículas, moléculas chaperonas, entre otras funciones, a la resistencia cuantitativa (Gou et al. 2023). Todas estas funciones repercuten en componentes inespecíficos del sistema inmune y suelen ser efectivas frente a más de una enfermedad (Wiesner-Hanks y Nelson 2016; Yang et al. 2017a; Kistner et al. 2022b).

Resistencia a múltiples enfermedades (MDR)

La MDR se refiere a plantas hospedantes que son resistentes a dos o más enfermedades (Nene 1988; Wiesner-Hanks y Nelson 2016). En este sentido, este tipo de resistencia incluye más de un género o especie patógena y a todas o a la mayoría de las razas esa especie (Li et al. 2020). El concepto de MDR se formalizó en 1988 a través de la observación de cultivares de poroto caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) resistentes a la marchitez y al quiste de raíz (Nene 1988).

Un estudio reciente estimó las pérdidas de cosecha mundiales causadas por patógenos y plagas en maíz entre el 19,5 % y el 41,1 % (Savary et al. 2019). El impacto de las enfermedades reduce la calidad y el valor económico del cultivo (Li et al. 2020). El cambio climático ha comenzado a modificar la gama de enfermedades que afectan al maíz, favoreciendo aquellas que sobreviven en los residuos vegetales (Qiu et al. 2024). Por estos motivos, la MDR es un objetivo implícito en el mejoramiento genético de los cultivos.

La producción agrícola de maíz se desarrolla en ambientes con múltiples patógenos y múltiples enfermedades pueden afectar al cultivo, con una gravedad e importancia que suele variar de un año a otro (Qiu et al. 2024). Este escenario sugiere la existencia de genotipos con MDR como resultado de una selección natural del ambiente de evolución. A pesar del alto valor de la MDR, su explotación aún está limitada por el desconocimiento de sus bases funcionales (Kistner et al. 2022b; Qiu et al. 2024).

El control genético de la MDR podría estar condicionado por múltiples genes no ligados, segmentos cromosómicos o genes pleiotrópicos (Wiesner-Hanks y Nelson 2016) (**Figura I-18**).

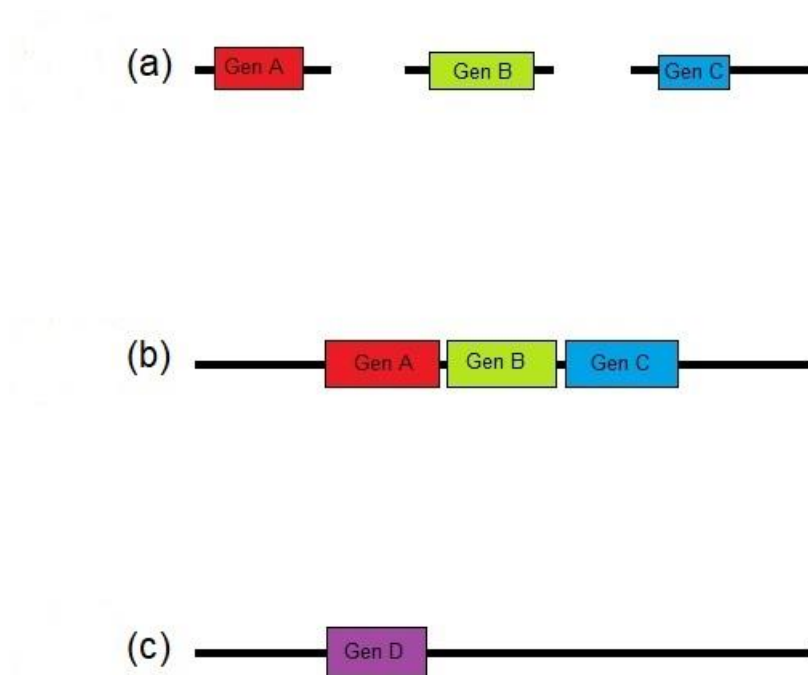


Figura I-18: Posibles mecanismos genéticos sobre el control de MDR. (a) Genes individuales no ligados; (b) Genes individuales ligados; (c) Genes pleiotrópicos. Figura de autoría propia adaptada de Wiesner-Hanks y Nelson (2016).

El mecanismo genético de la MDR es fundamental para seleccionar la estrategia de mejoramiento más adecuada en el desarrollo de genotipos resistentes. Cuando los genes implicados no están ligados entre sí (**Figura I-18 - a**), la incorporación de genes MDR puede lograrse a través de estrategias como el retrocruzamiento o el apilamiento de genes. En el caso del retrocruzamiento, esta técnica permite integrar la característica deseada, en este caso la MDR, en un genotipo con excelentes propiedades agronómicas, sin comprometer su valor agronómico. Para ello, se realizan cruzamientos repetidos entre el genotipo elite y el genotipo resistente, hasta obtener una planta con las propiedades agronómicas y de resistencia deseada. Por otro lado, el apilamiento de genes se centra en la acumulación de múltiples genes de resistencia o características de interés, sin necesariamente mantener las características agronómicas originales. Esta estrategia permite combinar varios genes de resistencia de diferentes orígenes, creando un genotipo con una resistencia robusta a una variedad de patógenos, pero que podría no conservar todas las propiedades agronómicas del genotipo original. La selección recurrente permite acumular alelos de resistencia a través de sucesivos ciclos de selección, lo que resulta en poblaciones segregantes con una alta frecuencia de genes MDR. A medida que avanzan las generaciones, la segregación genética aumenta la variabilidad dentro de la población, facilitando la identificación de individuos con la combinación óptima de resistencia a múltiples patógenos. A partir de estas poblaciones segregantes, es posible obtener líneas endocriadas que, además de mostrar una alta estabilidad genética, mantienen los genes MDR, convirtiéndose en fuentes valiosas de resistencia para futuros programas de mejoramiento genético. El proceso de endocriamiento favorece la fijación de los alelos de resistencia en

la población, lo que asegura que las líneas obtenidas sean homogéneas, estables y con un alto nivel de resistencia frente a las enfermedades objetivo.

Genes individuales ligados correspondería a aquellos genes de resistencia que se encuentran cercanos entre sí en el cromosoma (**Figura I-18 - b**), lo que genera un bloque de resistencia que se transmite junto con otros genes en la progenie. Este patrón de segregación conjunta implica que, en lugar de segregaciones aleatorias de los genes de resistencia, como ocurre en escenarios de genes no ligados, los genes de resistencia y sus alelos asociados se heredan en bloques, lo que aumenta la probabilidad de que un individuo reciba todos los genes de resistencia deseados de manera simultánea. La **Figura I-18 - b** ilustra cómo la segregación conjunta de los genes MDR en el bloque genético facilita la transmisión de toda la resistencia de manera más eficiente.

Un escenario de genes pleiotrópicos no solo facilitaría la selección e incorporación de genes de MDR, sino que también podría tener importantes aplicaciones biotecnológicas a través de tecnologías avanzadas como la edición génica (**Figura I-18 - c**). Los genes pleiotrópicos son aquellos que afectan varias características fenotípicas a la vez, lo que significa que un único gen puede influir en la resistencia a múltiples enfermedades, además de otras propiedades agronómicas, como el rendimiento o la tolerancia a estrés ambiental. Este tipo de genes facilita la selección porque al seleccionar por resistencia a una enfermedad, es probable que se seleccionen también otras características deseables, sin necesidad de cruzar repetidamente diferentes líneas para incorporar rasgos adicionales. La edición génica, especialmente mediante tecnologías como CRISPR-Cas9, puede utilizarse para modificar o insertar estos genes pleiotrópicos directamente en el genoma de plantas cultivadas, lo que acelera el proceso de mejora al evitar ciclos largos de cruzamiento. A través de la edición precisa de genes pleiotrópicos, los mejoradores pueden incorporar múltiples características en una sola planta, optimizando su potencial agronómico y fitosanitario.

En la literatura no hay un consenso respecto a las bases funcionales de la MDR y se ha descrito asociada a las variantes mencionadas. Los “*hotspots*” o regiones calientes de resistencia son regiones del genoma con una gran cantidad de genes de resistencia. Estas regiones podrían estar conformados por una combinación de los tres escenarios descritos en la **Figura I-18**, es decir múltiples genes *R* y pleiotrópicos ligados.

El metaanálisis es una herramienta que requiere una exhaustiva y sistemática revisión bibliográfica, permitiendo ordenar resultados derivados de diversos estudios de QTL e identificar patrones asociados a características agronómicas (Wisser et al. 2006; Rossi et al. 2019). Los trabajos de McMullen y Simcox (1995) y Wisser et al. (2006) fueron los primeros en reportar agrupaciones no aleatoria de QTL de resistencia en diferentes regiones del genoma del maíz. Trabajos recientes han destacado varios *hotspots* de resistencia en maíz, entre ellas se destacan los bins 1.02, 1.06, 3.04, 4.06, 7.02, 8.03, 8.05 y 9.02 (Rossi et al. 2019; Qiu et al. 2020a, 2024; Miedaner et al. 2020b; Kistner et al. 2021). Como se describió

previamente, la **Figura I-15** resume la localización de 598 QTL para resistencia a las enfermedades del maíz. Los agrupamientos observados en la **Figura I-15** son consistente con los resultados obtenidos en los metaanálisis conducidos por Wisser et al. (2006) y posteriormente por Rossi et al. (2019).

Los cromosomas con mayor cantidad de QTL fueron los cromosomas 1, 2 y 3 (n=86 a 88). El cromosoma con menor cantidad fue el cromosoma 10 (n=31). Esto concuerda con las conclusiones de Rossi et al. (2019), donde se indica que la cantidad de QTL se asocia al tamaño propio de cada uno de los cromosomas. Los bins con mayor número de QTL en orden decrecientes fueron 3.04-3.05, 1.05-1.06, 7.02, 8.05, 2.04, 4.05 y 8.03 (**Figura I-19**). Estas regiones concuerdan con las regiones reportadas por Wisser et al. (2006) y Rossi et al. (2019). A su vez, estas regiones coinciden con QTL de resistencia a más de seis enfermedades diferentes (**Figura I-20**).

QTL	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	Suma
Cromosoma 1	1	5	8	7	5	16	16	5	5	8	6	4	0	86
Cromosoma 2	2	4	8	14	15	14	8	7	7	8	1	-	-	88
Cromosoma 3	0	2	4	6	36	16	8	5	8	2	0	-	-	87
Cromosoma 4	0	1	3	4	4	15	7	6	8	5	1	0	-	54
Cromosoma 5	0	5	5	4	11	6	2	2	0	0	-	-	-	35
Cromosoma 6	2	9	3	2	5	11	2	10	0	-	-	-	-	44
Cromosoma 7	0	5	16	10	7	6	0	-	-	-	-	-	-	44
Cromosoma 8	1	6	7	15	7	16	13	7	2	1	-	-	-	75
Cromosoma 9	0	4	11	13	6	12	4	3	1	-	-	-	-	54
Cromosoma 10	0	3	1	6	9	4	4	4	-	-	-	-	-	31

Figura I-19: Mapa de calor indicando cantidad de QTL por bin cromosómico. Figura de autoría propia adaptada de la revisión bibliográfica de 70 estudios de mapeo de QTL de resistencia para enfermedades del maíz (**Tabla A-1**).

Enfermedad	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
Cromosoma 1	1	3	4	5	4	8	6	3	3	4	3	3	0
Cromosoma 2	2	3	5	7	6	5	6	2	6	5	1	-	-
Cromosoma 3	0	1	3	3	6	6	4	4	7	1	0	-	-
Cromosoma 4	0	1	3	4	4	6	3	4	5	4	1	0	-
Cromosoma 5	0	5	2	7	6	6	2	2	0	0	-	-	-
Cromosoma 6	2	4	2	2	3	5	2	7	0	-	-	-	-
Cromosoma 7	0	3	6	4	4	3	0	-	-	-	-	-	-
Cromosoma 8	1	5	5	5	4	7	7	4	2	1	-	-	-
Cromosoma 9	0	3	3	7	4	7	3	2	1	-	-	-	-
Cromosoma 10	0	1	1	3	6	3	3	2	-	-	-	-	-

Figura I-20: Mapa de calor indicando cantidad de enfermedades por bin cromosómico con QTL de resistencia. Figura de autoría propia adaptada de la revisión bibliográfica de 70 estudios de mapeo de QTL de resistencia para enfermedades del maíz (**Tabla A-1**).

La disección y validación de genes en algunas de estas regiones ha permitido respaldar la hipótesis de que componentes inespecíficos de las defensas pero comunes entre grupos de patógenos serían los mecanismos moleculares subyacente en la MDR (Wiesner-Hanks y Nelson 2016; Kistner 2021). En el

bin 1.06, se identificó al gen *pan1*, un gen de susceptibilidad asociado a la regulación del citoesqueleto y estomática, cuya inactivación confiere resistencia a dos patógenos vasculares: *E. turcicum* causante del NLB y *Pantoea stewartii* subsp. *Stewartii* causante de la marchitez de Stewart (Jamann et al. 2014; Nelson et al. 2018). En el bin 7.02, el gen GST codifica para una enzima con funciones de detoxificación y confiere resistencia frente a patógenos principalmente necrotróficos: *C. heterostrophus*, *E. turcicum* y *Cercospora zea-maydis* Tehon & E.Y. Daniels (Wisser et al. 2011). En el bin 9.02, el gen *ZmCCoAOMT2* codifica para una enzima involucrada en la vía de los fenilpropanoides y producción de lignina. Dicho gen confiere resistencia a dos patógenos necrotróficos: *C. heterostrophus* y *C. zea-maydis* y su efecto limitaría la colonización de los patógenos (Yang et al. 2017b). Investigar sobre las características asociados a los patógenos causantes de las enfermedades (**Tabla I-1**) y entender el funcionamiento del sistema defensivo de las plantas es el punto clave para identificar nuevos los mecanismos moleculares asociados a la MDR.

En este capítulo introductorio se describió el marco teórico y estado del arte de la MDR. La importancia del cultivo del maíz, sus enfermedades y la compleja interacción entre el maíz y sus patógenos, demandan ampliar el estudio de la MDR a nuevas fuentes de germoplasma en entornos multidisciplinarios con el fin de contribuir a una agricultura sostenible, justa y sustentable.

Hipótesis

1. El panel de líneas endocriadas de maíz perteneciente al programa nacional de mejoramiento genético de maíz templado del INTA Pergamino proporciona una fuente única, aún inexplorada, de alelos debido a la selección y desarrollo de líneas élite derivadas de poblaciones locales, lo que sugiere que estos alelos podrían conferir nuevas fuentes de resistencia a enfermedades.
2. Los múltiples ciclos de selección natural y artificial han generado regiones génicas de MDR en forma de puntos calientes o *hotspots* dentro del panel de líneas, lo que sugiere que estas regiones contienen agrupaciones de genes de defensa frente a diferentes patógenos.
3. Es posible identificar dichas regiones génicas de MDR en el panel de líneas mediante un GWAS, lo que permitirá detectar loci específicos relacionados con la resistencia a múltiples patógenos.
4. Las regiones génicas de MDR identificadas pueden vincularse con vías metabólicas específicas asociadas a la resistencia, lo que permitirá establecer conexiones funcionales entre los loci identificados y los mecanismos biológicos que confieren resistencia a patógenos.

Objetivo general

El objetivo principal de esta tesis de doctorado fue la identificación de *hotspots* de resistencia a múltiples enfermedades en un panel de líneas endocriadas de maíz, perteneciente al programa nacional de mejoramiento genético de maíz templado INTA, a través de un GWAS.

Objetivos específicos

- I. **Fenotipado**: Caracterizar un panel de líneas endocriadas de maíz por su resistencia a siete enfermedades del maíz (**Capítulo II**).
- II. **GWAS**: Establecer asociaciones fenotipo-genotipo para siete enfermedades del maíz en un panel de líneas endocriadas de maíz (**Capítulo III**).
- III. **Identificación de *Hotspots***: Identificar regiones del genoma que contienen agrupaciones de genes de defensa frente a diferentes patógenos (**Capítulo III**).
- IV. **Interpretación biológica**: Describir posibles vías metabólicas de resistencia asociadas a los *hotspot* identificados (**Capítulo III**).

CAPÍTULO II : FENOTIPADO

Resumen

El fenotipado constituye el punto de partida para el GWAS. La correcta selección del germoplasma y técnicas de fenotipado tienen un impacto directo en la heredabilidad de un carácter y, consecuentemente, en el poder de detección de QTL. El objetivo de este capítulo fue la caracterización fenotípica y estimación de parámetros genéticos en un panel compuesto por 87 genotipos de maíz para siete enfermedades. Las enfermedades estudiadas incluyeron cuatro enfermedades foliares (CRM, NLB, SLB y BLS) y tres enfermedades de espiga (FER, GER y CSM). La evaluación fenotípica se condujo en múltiples ambientes de Argentina bajo infección natural o artificial a través de la estimación de la severidad o incidencia. Los datos fenotípicos recolectados fueron analizados utilizando modelos mixtos (MLM o MLGM) para obtener predicciones genéticas (BLUP) las siete resistencias. La H^2 se calculó a través de dos metodologías diferentes: Estándar y Cullis (2006). Cuatro índices de selección fueron empleados para la selección de genotipos con MDR: índice MDR, índice Elston, índice ACP y índice FAI-BLUP y comparados en función de su eficiencia y GG. La evaluación fenotípica arrojó un adecuado nivel de diferenciación entre los genotipos para las siete enfermedades estudiadas, determinando que el panel está compuesto por una alta proporción de genotipos resistentes a CRM (79%) y BLS (78%), una proporción intermedia de genotipos resistentes a CSM (55%) y GER (42%) y una baja proporción de genotipos resistentes a FER (35%), SLB (27%) y NLB (24%). Las siete resistencias evaluadas presentaron valores de H^2 altos ($>0,63$). El cálculo de la H^2 a través de la metodología de Cullis (2006) resultó más apropiado ya que evitó la sobreestimación asociada a la presencia de datos desbalanceados. Un 95 % de los genotipos que componen al panel presentó MDR, es decir, que fueron resistentes simultáneamente a más de una enfermedad. La mayor proporción de ellos (32 %) presentó resistencia a tres enfermedades simultánea y solamente uno de ellos (**LP178**) fue resistente a las siete enfermedades. El ACP agrupó, principalmente, genotipos resistentes a enfermedades de espiga y foliares, evidenciando el rol principal del órgano afectado asociado a los mecanismos de resistencia, y como secundario al estilo de vida del patógeno. Ninguno de los cuatro índices generó una eficiencia del 100 % en la selección, aunque todos ellos generaron una GG superior a la obtenida mediante selección por una única enfermedad. En base al panel de genotipos utilizado y las siete resistencias estudiadas, los mejores resultados se obtuvieron con el índice MDR y Elston, que derivaron en resultados idénticos.

Introducción

El fenotipado constituye el punto de partida para los estudios GWAS, ya que determina la heredabilidad de los caracteres bajo estudio y afecta directamente el resultado del mapeo de QTL (Gaikpa y Miedaner 2019; Mesterhazy 2020). A pesar de su importancia, la correcta selección de germoplasma, las técnicas de fenotipado y su impacto en la heredabilidad son aspectos poco discutidos en la literatura. Es por este motivo, que este capítulo se enfoca en el fenotipado, haciendo hincapié en su influencia sobre la heredabilidad.

La heredabilidad se refiere a la proporción de la σ_F^2 que puede ser atribuida a la σ_G^2 (Falconer y Mackay 1996; Burghardt et al. 2017). Al mismo tiempo, permite investigar la relación entre el fenotipo observado y el componente genético subyacente, además, puede expresarse como heredabilidad amplia (H^2 ; Ecuación 1) o estricta (h^2 ; Ecuación 2) si solo se considera la σ_A^2 dentro de la σ_G^2 .

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2} = \frac{\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_E^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{G \times A}^2}{a} + \frac{\sigma_e^2}{ar}} \quad \text{Ecuación 1: Heredabilidad en sentido amplio } (H^2)$$

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2} = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{G \times A}^2}{a} + \frac{\sigma_e^2}{ar}} \quad \text{Ecuación 2: Heredabilidad en sentido estricto } (h^2)$$

donde σ_G^2 : varianza genética, σ_A^2 : varianza aditiva, σ_D^2 : varianza de dominancia, σ_E^2 : varianza epistática, σ_F^2 : varianza fenotípica, $\sigma_{G \times A}^2$: varianza de la interacción genotipo por ambiente, σ_e^2 : varianza residual o del error, a: el número de ambientes y r: número de repeticiones (Falconer y Mackay 1996; Piepho y Möhring 2007; Schmidt et al. 2019). La fórmula de la H^2 (Ecuación 1) permite identificar directamente dos aspectos claves que pueden ser manipulados y deben ser considerados para un correcto fenotipado: σ_G^2 y la σ_e^2 .

La σ_G^2 se refiere a la variabilidad genética del germoplasma bajo estudio. La correcta selección del germoplasma es un punto de partida para maximizar la σ_G^2 y aumentar la heredabilidad. Como se describió en el Capítulo I (Identificación de genes de resistencia), el mapeo de QTL se lleva adelante principalmente empleando poblaciones biparentales, poblaciones multiparentales y paneles de genotipos mayormente no emparentados (**Tabla A-1**). La amplia distribución y adaptación del cultivo de maíz conllevó a una enorme diversificación. Las colecciones de maíces nativos provenientes de colectas previas a la introducción de cultivares híbridos y transgénicos ofrecen una diversidad alélica inmensa y

única. Estas colecciones conservadas en bancos de germoplasma han servido para la identificación de nuevas fuentes de resistencia y para el desarrollo de programas de mejoramiento locales (Robutti et al. 2000; Vilaró et al. 2020). Los paneles de germoplasma pueden derivar directamente de colecciones de maíces nativos, germoplasma elite con diferente grado de selección derivado de estas colecciones, o una combinación de ambas (Würschum 2012). A diferencia de las poblaciones biparentales o multiparentales, que requieren de inversión de tiempo y dinero para su desarrollo, los paneles pueden ser directamente empleados para el mapeo de QTL (Ersoz et al. 2009; Würschum 2012; Butrón et al. 2019). En maíz, la identificación de QTL para resistencia a enfermedades se ha llevado adelante exitosamente utilizando paneles de germoplasma (**Tabla A-1**).

La σ_e^2 representa el error experimental, es decir, aquella variación que no puede ser explicada por ninguno de los factores del modelo estadístico y que por lo tanto debe minimizarse. Existen varios aspectos asociados al fenotipado que contribuyen a esta fuente de variación. Dado que la resistencia cuantitativa se basa en diferencias fenotípicas pequeñas, es muy importante seleccionar *a priori* una metodología de fenotipado apropiada que permita capturar tales diferencias sin incrementar el error experimental.

El fenotipado puede ser conducido bajo infección natural o artificial. La infección natural aprovecha la diversidad racial presente en el ambiente y constituye una representación más real del patosistema. Sin embargo, la presión y distribución del inóculo natural en el sitio de evaluación pueden no ser adecuados (Kistner 2021; Kistner et al. 2022b). Por otro lado, la inoculación artificial resulta una alternativa muy difundida cuando la presión del inóculo natural es baja o irregular. Aunque esta técnica permite un control más preciso del patosistema, requiere un profundo conocimiento del mismo y resulta ser costosa y laboriosa (Gaikpa y Miedaner 2019; Mesterhazy 2020).

La caracterización de los genotipos se lleva adelante tradicionalmente de forma visual, mediante la estimación de la incidencia o la severidad de la enfermedad. La incidencia es una medida rápida y objetiva que se refiere al número o proporción de plantas (o partes de la planta) con síntomas, mientras que la severidad se refiere al área afectada por la enfermedad (Agrios 2005). La incidencia es útil para enfermedades como los carbones, donde el órgano infectado suele verse afectado en su totalidad. Sin embargo, para la mayoría de las enfermedades del maíz, la incidencia no resulta informativa ya que muchas hojas o espigas presentan al menos una lesión, resultando en una incidencia cercana al 100 % para todos los genotipos. La severidad permite llevar adelante una caracterización más precisa, aunque subjetiva, compleja y requiere de un evaluador experimentado (Bock et al. 2010). El uso de escalas porcentuales u ordinales basadas en escalas diagramáticas validadas contribuyen de manera rápida y precisa a la evaluación de la severidad, incluso cuando son realizadas por diferentes evaluadores (Hartung y Piepho 2007; Braga et al. 2020). Además, incluir testigos resistentes y susceptibles, así como registrar condiciones ambientales, situaciones de estrés y aplicaciones de agroquímicos, es fundamental para garantizar la calidad del fenotipado. Estas medidas adicionales ayudan a proporcionar un contexto

adecuado para la evaluación de la resistencia y permiten una interpretación más precisa de los resultados obtenidos (Zhu et al. 2008).

El diseño experimental es fundamental para controlar todas aquellas fuentes de variación que no estén asociadas al genotipo y que tienden a aumentar el error experimental (Piepho et al. 2003). Las repeticiones, a través de ambientes, es decir combinación de localidades y años, permiten estimar la interacción del genotipo con el ambiente y seleccionar genotipos con una resistencia estable o estática (Galiano-Carneiro y Miedaner 2017; Schmidt et al. 2019).

La elección del modelo estadístico es relevante para el análisis de los datos fenotípicos. Los MLM permiten modelar los diferentes factores como efectos fijos o aleatorios (Piepho et al. 2003; Bolker et al. 2009; Kozak y Piepho 2018). La elección del tipo de efecto depende del criterio del investigador, aunque como regla general se asume como aleatorio a factores cuyos niveles corresponden a una muestra aleatoria de la población o representen una unidad de aleatorización (Piepho et al. 2003). Los efectos fijos se pueden estimar a través de los BLUE y los efectos aleatorios a través de los BLUP (Schmidt et al. 2019). En el campo del mejoramiento genético, los BLUP genotípicos maximizan la correlación entre la predicción y el verdadero valor genotípico, razón por la cual esta metodología es de uso frecuente (Piepho et al. 2008; Bernardo 2020).

Los MLM son la metodología más popular para analizar variables continuas, aunque presentan limitaciones cuando se aplican a variables discretas. Los MLGM ofrecen una teoría unificada para el estudio de variables discretas al combinar un MLM, con la distribución apropiada para la variable respuesta y una función de enlace que transforma la esperanza de dicha variable (Zuur et al. 2009; Bolker et al. 2009; Brooks et al. 2017). Los conteos suelen ajustarse a una distribución Poisson, que asume una relación lineal entre la media y la varianza. Sin embargo, esta suposición raramente se cumple en el análisis de datos biológicos, lo que puede resultar en sobredispersión y problemas en el modelado de la variable respuesta (Brooks et al. 2017; Videla et al. 2018). La sobredispersión puede ser causada por presencia de valores atípicos (*outliers*) en el conjunto de datos, falta de independencia entre observaciones o exceso de ceros. Esta última situación es bastante frecuente en los datos de conteos y puede incluir falsos ceros originados por escapes (el genotipo no estuvo expuesto a la enfermedad), errores del observador o errores aleatorios. Los modelos inflados en ceros proporcionan una solución al considerar que los ceros se originan en procesos distintos: un proceso asociado a una distribución de Bernoulli donde se modela la probabilidad de observar un falso cero, y otro asociado a una distribución de Poisson donde se modela la ocurrencia de los ceros verdaderos. Alternativamente, en presencia de sobredispersión se puede utilizar una distribución binomial negativa en lugar de una distribución de Poisson (Zuur et al. 2009; Brooks et al. 2017; Videla et al. 2018).

La GG o la respuesta a la selección determinada a través de la “la ecuación del mejorador” (Ecuación 3), es fundamental para evaluar el éxito de un programa de mejoramiento genético.

$$GG = \Delta S \times H^2 = i \times h \times \delta g \quad \text{Ecuación 3: Ganancia genética (GG)}$$

El cálculo de la H^2 tiene un impacto determinante en el resultado de la ecuación del mejorador (Ecuación 3). La presencia de datos desbalanceados, es decir, una cantidad desigual de observaciones entre los genotipos es común en este tipo de experimentos. Dicha desproporción impacta directamente la estimación de la H^2 , ya que el número desigual de repeticiones entre genotipos tiende a sobreestimar el resultado (Piepho y Möhring 2007; Schmidt et al. 2019). En los últimos años, se han propuesto nuevas metodologías para obtener estimaciones menos sesgadas de la H^2 en el campo del mejoramiento vegetal.

El estudio fenotípico de la MDR ha sido escasamente abordado en la literatura, que predominantemente se ha enfocado en enfermedades individuales. Hasta el momento, no existen trabajos previos que comparen estrategias para la selección de genotipos con MDR ni que hayan evaluado su eficiencia o GG. Los índices de selección, que se basan en la combinación lineal de múltiples caracteres para generar una nueva variable, son una herramienta ampliamente utilizada en el mejoramiento genético (Baker 1994; Fellahi et al. 2020). Desde la publicación del índice Smith en 1936, se han desarrollado una gran variedad de índices de selección, cada uno basado en teorías diferentes, como promedios, ponderaciones, parámetros poblacionales, entre otros (Elston 1963; Hallauer 2007; Yan y Frégeau-Reid 2018; Miedaner et al. 2020a). Esta metodología ofrece un marco interesante para la selección fenotípica de MDR, un área que aún no ha sido explorada en la literatura (Kistner et al. 2022a).

El objetivo de este capítulo fue fenotipar y estimar parámetros genéticos de la resistencia a siete enfermedades en un panel de 87 líneas endocriadas de maíz, todas pertenecientes al programa nacional de mejoramiento genético de INTA Pergamino.

Los siguientes objetivos específicos fueron establecidos:

- I. Caracterizar fenotípicamente 87 líneas endocriadas de maíz por su resistencia a siete enfermedades a través de experimento multi ambientales.
- II. Estimar parámetros genéticos asociados a cada una de las resistencias estudiadas.
- III. Identificar genotipos con MDR dentro del panel estudiados.
- IV. Evaluar diferentes índices de selección para MDR en función de su eficiencia y GG.

Materiales y métodos

Material vegetal

El material vegetal utilizado en este trabajo consistió en un panel compuesto por 87 líneas endocriadas de maíz, en adelante denominadas “genotipos”, que representan al germoplasma del programa nacional de mejoramiento de INTA Pergamino. Estos genotipos se desarrollaron localmente a partir de variedades argentinas, germoplasma de origen caribeño y canadiense e híbridos comerciales (Olmos et al. 2014, 2017). También se incluyeron dos líneas americanas de referencia (B73 y B100), junto con testigos resistentes y susceptibles para todas las enfermedades evaluadas. La lista completa de genotipos se encuentra detallada en **Tabla A-2**.

Evaluación fenotípica

El panel completo de genotipos fue caracterizado en cuanto a su resistencia a cuatro enfermedades foliares y tres de espiga. Las enfermedades foliares evaluadas fueron CRM, NLB, SLB y BLS, mientras que las enfermedades de espiga incluyeron FER, GER y CSM. Cada enfermedad fue evaluada en experimentos independientes en ambientes con adecuado nivel de enfermedad (**Tabla II-1**). En todos los experimentos se aplicaron prácticas agronómicas estándar para simular condiciones de manejo habituales en la agricultura. Los experimentos se sembraron utilizando un diseño de bloques completos aleatorizados con dos repeticiones, donde la unidad experimental consistió en parcelas de 5,0 metros de largo con dos surcos sembrados a 0,7 metros de distancia, con aproximadamente 20 plantas por parcela. La evaluación de FER y GER se realizó utilizando un diseño de parcelas divididas, en el que los genotipos fueron asignados a la parcela principal y el patógeno a la subparcela.

Tabla II-1: Caracterización climática y meteorológica asociada a los experimentos de fenotipado.

Experimento / Ambiente	Enfermedad	Fecha de siembra (Época)	Localidad, Provincia	Región climática	T ^b _{med.} (°C)	T ^b _{min.} (°C)	T ^b _{max.} (°C)	P ^b (mm)	HR ^b (%)
A	CRM - CSM	31/10/2016	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	21,90	15,70	28,00	559,00	65,00
O ^a	FER - GER	(Intermedia)							
B	CRM - CSM	31/10/2017	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	21,10	13,00	29,10	214,00	64,00
C	CRM- CSM	5/12/2017	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	22,60	14,80	30,40	183,00	69,00
D	CRM- CSM	4/10/2018	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	20,60	14,60	26,70	870,00	77,00
E	CRM- CSM	10/11/2018	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	21,80	15,90	27,80	801,00	78,00
K ^a	NLB	6/12/2018	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	22,10	16,30	27,90	728,00	82,00
I	NLB	20/12/2018 (Tardía)	Manfredi, Córdoba	Pampeano (Cfa)	21,30	15,40	28,10	106,00	85,00
J	NLB	08/01/2018 (Tardía)	Manfredi, Córdoba	Pampeano (Cfa)	20,70	15,00	27,20	76,00	88,00
G	SLB	28/12/2016 (Tardía)	Leales, Tucumán	Tropical (Cwa)	23,70	19,20	29,20	633,00	81,00
H	SLB	02/01/2018 (Tardía)	Leales, Tucumán	Tropical (Cwa)	22,70	18,60	28,70	592,00	80,00
L	BLS	4/10/2018 (Temprana)	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	20,60	14,60	26,70	870,00	77,00
M	BLS	10/11/2018	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	21,80	15,90	27,80	801,00	78,00
		(Intermedia)							
P ^a	FER - GER	21/10/2002	Pergamino, Buenos Aires	Pampeano (Cfa)	20,40	13,92	26,80	-	73,54
		(Intermedia)							

El experimento “P” fue organizado y evaluado por el grupo de mejoramiento de maíz templado de INTA Pergamino, y cedida por la Dra. Juliana Iglesia para la realización de esta tesis.^a Evaluación bajo infección artificial. ^b. Información climática basada en la caracterización de Köppen y Geige adaptada a información climática local (Peel et al. 2007; ANIDA 2020). ^c. Información ambiental tomada de www.siga2.inta.gov.ar. T_{med} (°C): Temperatura media en grados centígrados; T_{min} (°C): Temperatura mínima en grados centígrados; T_{max} (°C): Temperatura máxima en grados centígrados; P (mm): Precipitación media en milímetros; HR (%): Humedad relativa. Enfermedades: BLS: estria foliar bacteriana; CRM: roya común del maíz; CSM: carbón común del maíz; FER: podredumbres de espiga causadas por *Fusarium*; GER: podredumbres de espiga causadas por *Graminearum*; NLB: tizón común del maíz; SLB: tizón foliar del maíz.

Los experimentos para evaluar CRM se realizaron en la localidad de Pergamino, ubicada en el norte de la provincia de Buenos Aires, durante fechas de siembra tempranas e intermedias en las campañas agrícolas 2016/17, 2017/18 y 2018/19 (**Tabla II-1**). Pergamino es una localidad representativa de la región maicera núcleo Argentina, donde CRM es una enfermedad endémica con alta presión de inóculo y una conocida diversidad racial (Gonzalez et al. 2011; Darino et al. 2016). La evaluación se realizó bajo infección natural durante el estadio fenológico R4 (**Figura I-1**) evaluando conjuntamente la severidad, tipo y tamaño de lesión según la escala en la **Figura II-1**. La severidad de la enfermedad se estimó cuantitativamente con una escala de cinco puntos, donde 1 corresponde al 1 %, 2 al 5%, 3 al 10 %, 4 al 20 % y 5 al 50 % del área foliar afectada (Peterson et al. 1948; Carmona 2008). El tipo y tamaño de lesión (tipo de infección) se evaluaron con una escala cualitativa de cuatro puntos, donde 1: ausencia de pústulas o presencia de HR; 2: pequeñas pústulas errumbentes; 3: grandes pústulas errumbentes (alineadas); 4: grandes pústulas necróticas (áreas necróticas) (Gonzalez 2005; Defacio et al. 2018).

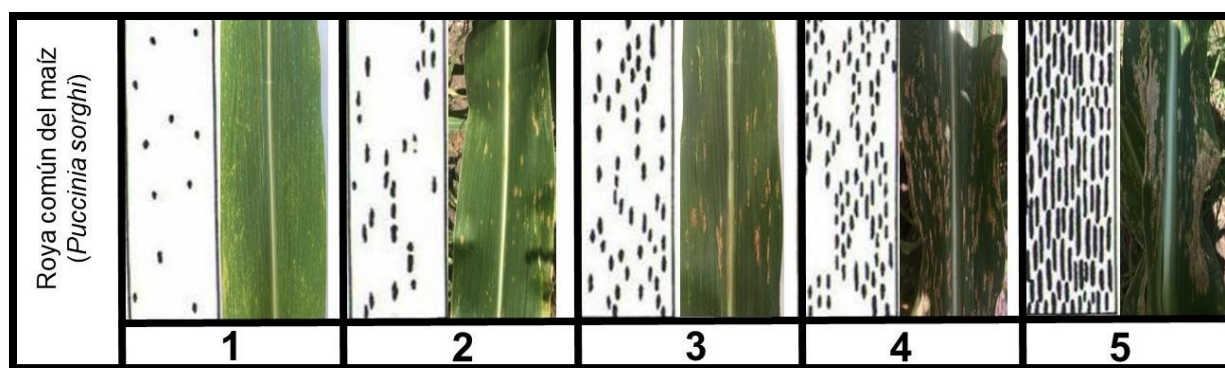


Figura II-1: Escala utilizada para la evaluación de CRM. La escala se compone por una escala diagramática para estimar la severidad (izquierda) y una escala para caracterizar el tipo de lesión (derecha). Severidad: 1 corresponde al 1 %, 2 al 5 %, 3 al 10 %, 4 al 20 % y 5 al 50 % del área foliar afectada (Peterson et al. 1948; Carmona 2008). Tipo de lesión 1: ausencia de pústulas o presencia de HR; 2: pequeñas pústulas errumbentes; 3: grandes pústulas errumbentes (alineadas); 4 (y 5): grandes pústulas necróticas (áreas necróticas). Figura y escalada de autoría propia adaptada de Gonzalez (2005) y Defacio et al. (2018).

Los ensayos de NLB se realizaron en las localidades de Pergamino y Manfredi (centro-norte de la provincia de Córdoba) en fechas de siembra tardías, durante la campaña agrícola 2018/19 (**Tabla II-1**). NLB es una enfermedad emergente en Argentina que rápidamente se ha vuelto endémica en la zona núcleo maicera (Montemarani et al. 2018). La diversidad de razas del patógeno *E. turcicum* presentes en Argentina fue estudiada por primera vez en un trabajo complementario a este trabajo (Navarro et al. 2021). En Pergamino, la evaluación se realizó bajo infección artificial (*ver Protocolos*), mientras que en Manfredi se llevó a cabo bajo infección natural. La severidad fue evaluada en el estadio fenológico R6 (**Figura I-1**) utilizando una escala de 5 puntos, donde 1 indica: ausencia de lesiones (o pocas lesiones restringidas a las hojas del estrato inferior); 2: 25 % del área foliar afectada (moderado número de lesiones en las hojas del estrato inferior); 3: 26-50 % del área foliar afectada (abundantes lesiones en las hojas del estrato inferior y algunas en el estrato medio); 4: 51-75 % del área foliar afectada (lesiones

abundantes en hojas del estrato inferior y medio que se extienden a las hojas del estrato superior); 5: 76-100 % del área foliar afectada (abundante número de lesiones en toda la planta, la mayoría de las hojas están muertas) (Defacio et al. 2018) adaptado de CIMMYT (1985) (**Figura II-2**).

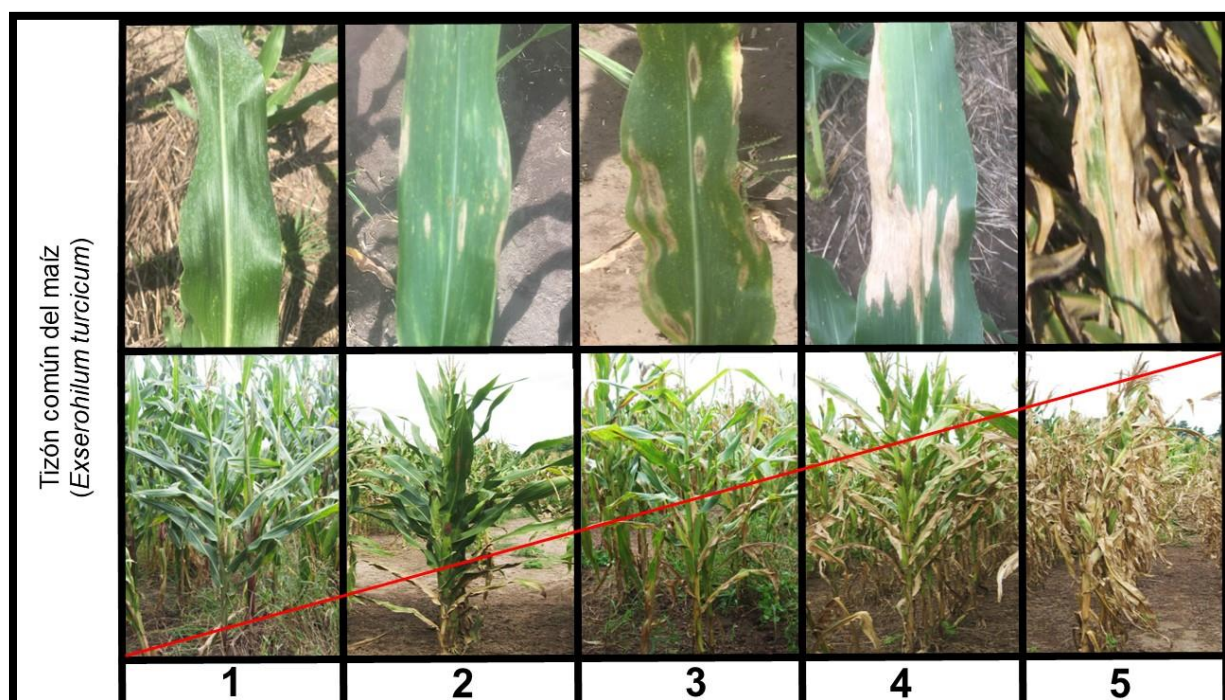


Figura II-2: Escala utilizada para la evaluación de NLB. Escala de cinco puntos: 1: Ausencia de lesiones; 2: 25 % del área foliar afectada; 3: 26-50 % del área foliar afectada; 4: 51-75 % del área foliar afectada; 5: 76-100 % del área foliar afectada. Figura de autoría propia adaptada de Defacio et al. (2018) y CIMMYT (1985).

Los experimentos para la evaluación de SLB se realizaron en la localidad de Leales (provincia de Tucumán) en una fecha de siembra tardía, durante las campañas agrícolas 2016/17 y 2017/18 (**Tabla II-1**). En el noroeste de la Argentina, el clima es tropical (Cwa según la clasificación climática de Köppen-Geiger), con veranos cálidos, temperaturas superiores a los 22 °C y una precipitación anual de 1200 mm (Peel et al. 2007; ANIDA 2020). Estas condiciones proporcionan un entorno favorable para el desarrollo de las enfermedades, especialmente considerando que el área de siembra de los experimentos forma parte de un infectario natural del programa nacional de mejoramiento de maíces tropicales del INTA Leales. Este infectario tiene una larga historia de monocultivo de maíz, lo que aumenta la probabilidad de presencia y actividad del patógeno asociado. La evaluación de la severidad se realizó en el estadio fenológico R6, adaptando la escala descripta para NLB (**Figura II-3**).

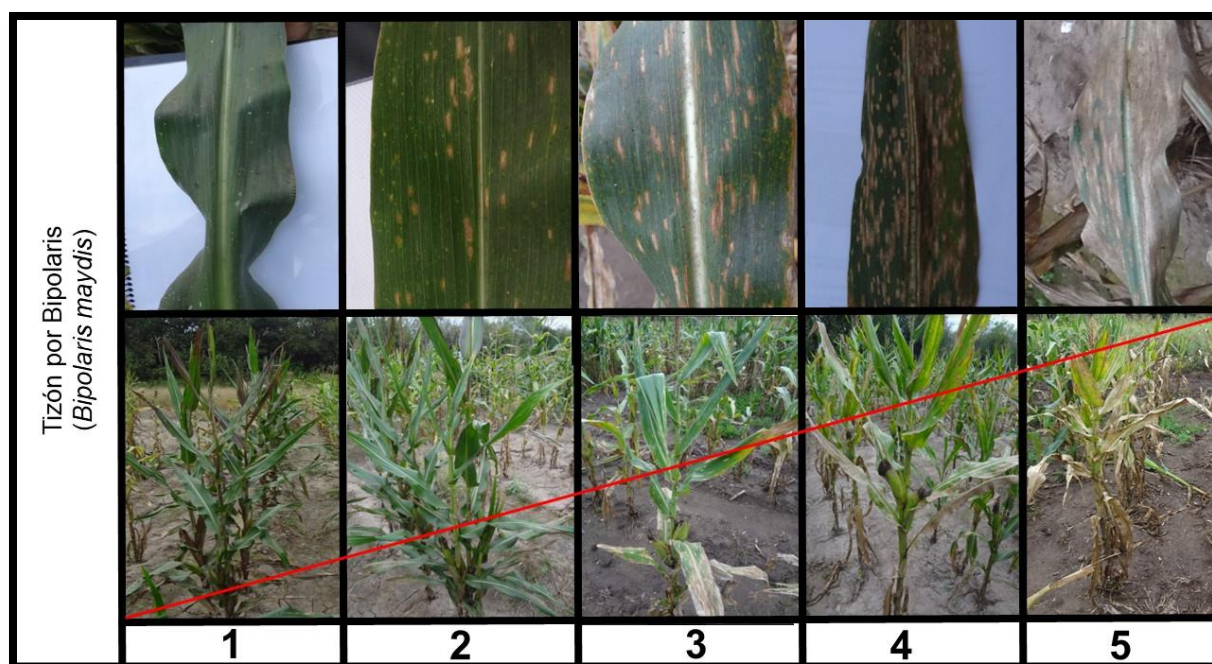


Figura II-3: Escala utilizada para la evaluación de SLB. Escala de cinco puntos, 1: ausencia de lesiones; 2: 25 % del área foliar afectada; 3: 26-50 % del área foliar afectada; 4: 51-75 % del área foliar afectada; 5: 76-100 % del área foliar afectada. Figura de autoría propia adaptada Defacio et al. (2018) y CIMMYT (1985).

Los experimentos de BLS se realizaron en la localidad de Pergamino en dos fechas de siembra, una temprana y otra intermedia, durante la campaña agrícola 2018/19 (**Tabla II-1**). Desde su aparición en 2010, BLS se ha convertido en una enfermedad prevalente en Argentina (Plazas et al. 2018). En ensayos previos realizados en Pergamino, el nivel de enfermedad no había permitido un fenotipado preciso, aunque se lograron identificar genotipos susceptibles y resistente para utilizar como testigos. En la campaña 2018/19, las condiciones ambientales favorecieron la ocurrencia de un brote que permitió evaluar la enfermedad bajo infección natural. La severidad se evaluó adaptando la escala propuesta por Esker (2008) (Defacio et al. 2018). La escala consta de cinco puntos donde 1: indica sin sintomatología o muy pocas estrías afectando un 1 % del área foliar; 2: estriado leve afectando 5 % del área foliar; 3: estriado moderado afectando el 25 % del área foliar; 4: estriado severo afectando el 50 % del área foliar y 5: estriado severo afectando casi completamente el área foliar (**Figura II-4**).

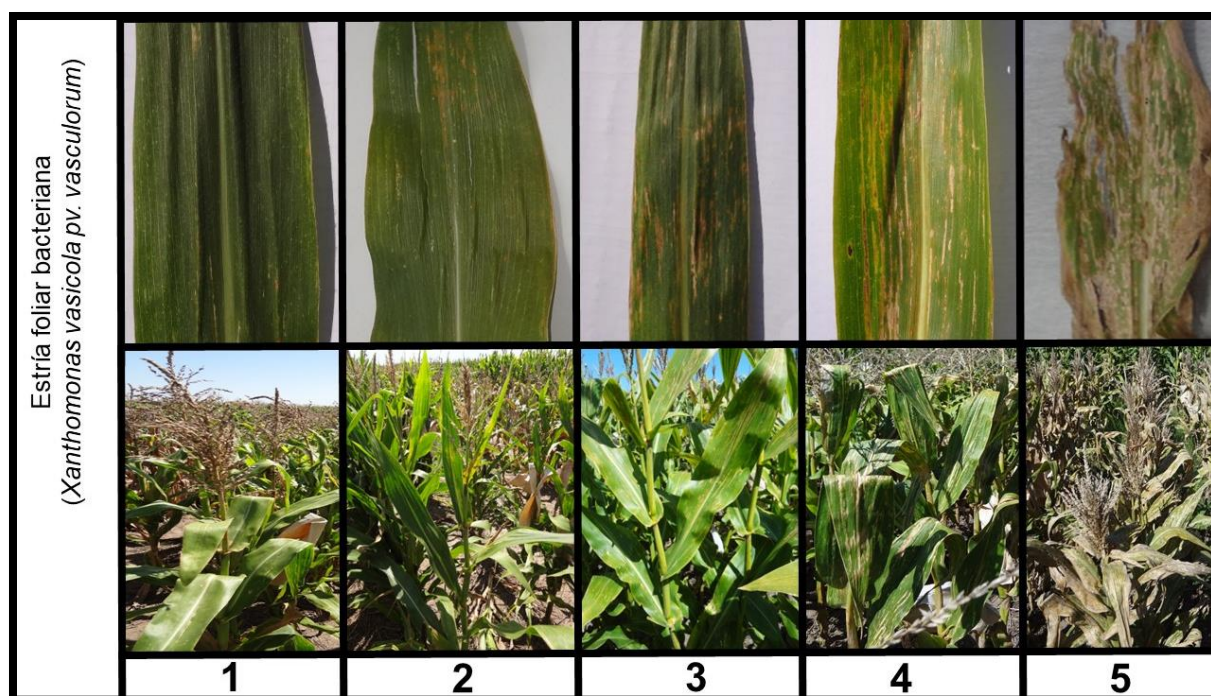


Figura II-4: Escala utilizada para la evaluación de BLS. Escala de cinco puntos, donde 1: sin sintomatología o muy pocas estrías afectando un 1 % del área foliar; 2: estriado leve afectando 5 % del área foliar; 3: estriado moderado afectando el 25 % del área foliar; 4: estriado severo afectando el 50 % del área foliar y 5: estriado severo afectando casi completamente el área foliar. Figura de autoría propia adaptada de Esker (2008) y Defacio et al. (2018).

Los experimentos para la evaluación de FER y GER se realizaron en Pergamino durante las campañas agrícolas 2002/03 y 2016/17 bajo infección artificial (**Tabla II-1**). Ambos ensayos fueron sembrados e inoculados por el grupo de mejoramiento de INTA de Pergamino (*ver Protocolos*). Al momento de madurez fisiológica las plantas, que habían sido inoculadas entre 4-6 días después de la floración femenina, fueron cosechadas manualmente y deschaladas. La severidad se evaluó utilizando una escala diagramática de siete puntos, donde 1 indica: sin sintomatología; 2: 1 al 3 %; 3: 4 al 10 %; 4: 11-25 %; 5: 26-50 %; 6: 51-75 % y 7: 76-100 % del área de la espiga cubierta con micelio del patógeno (Papst et al. 2007) (**Figura II-5**).

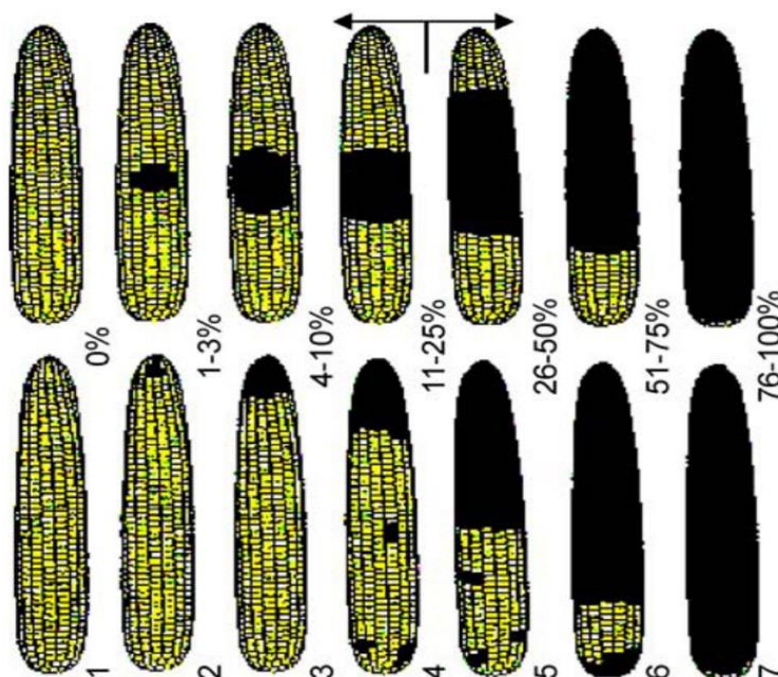


Figura II-5: Escala para la evaluación de GER y FER. Escala diagramática de siete puntos para la evaluación de la Podredumbre de espiga por *Graminearum* (arriba) y la Podredumbre de espiga por *Fusarium* (abajo), donde 1: sin sintomatología; 2: 1 al 3 %; 3: 4 al 10 %; 4: 11-25 %; 5: 26-50 %; 6: 51-75 % y 7: 76-100 % del área de la espiga cubierta con micelio del patógeno. Imagen tomada de Papst et al. (2007).

La evaluación de CSM se realizó en la localidad de Pergamino durante las campañas agrícolas 2016/17, 2017/18 y 2018/19, en cinco ensayos instalados en diferentes fechas de siembra (**Tabla II-1**). La evaluación se llevó adelante bajo infección natural. A diferencia de las demás enfermedades, en este caso, se evaluó la incidencia de la enfermedad al momento de madurez fisiológica, registrando el número de plantas totales y carbones por parcela.

Protocolos

- I. Cámaras húmedas: Los aislamientos de *E. turcicum* se obtuvieron a partir de hojas de maíz con síntomas provenientes del mismo lote donde se instaló el ensayo. El procedimiento para la preparación de cámaras húmedas se ilustra en la **Figura II-6**. Primero, las hojas fueron desinfectadas superficialmente (alcohol 70 % por un minuto, hipoclorito de sodio 2 % por dos minutos, seguido por dos enjuagues en agua destilada estéril). Después de la desinfección, las muestras se colocaron en cajas de Petri con papel de filtro humedecido en la base. Además, se dispusieron dos portaobjetos en forma de cruz dentro de cada caja, sobre los cuales se colocaron las muestras para incubarlas durante dos o tres días (oscuridad total a 25°C). Después del periodo de incubación, con la ayuda de una lupa y una aguja, se transfirió una espora a una caja de Petri con medio de cultivo APG. Las colonias monospóricas se conservaron en una solución de glicerol al 15 % a -20 °C. El mismo protocolo se empleó para la preparación de inóculo monospórico de *C. heterostrophus* (**Figura II-6**).

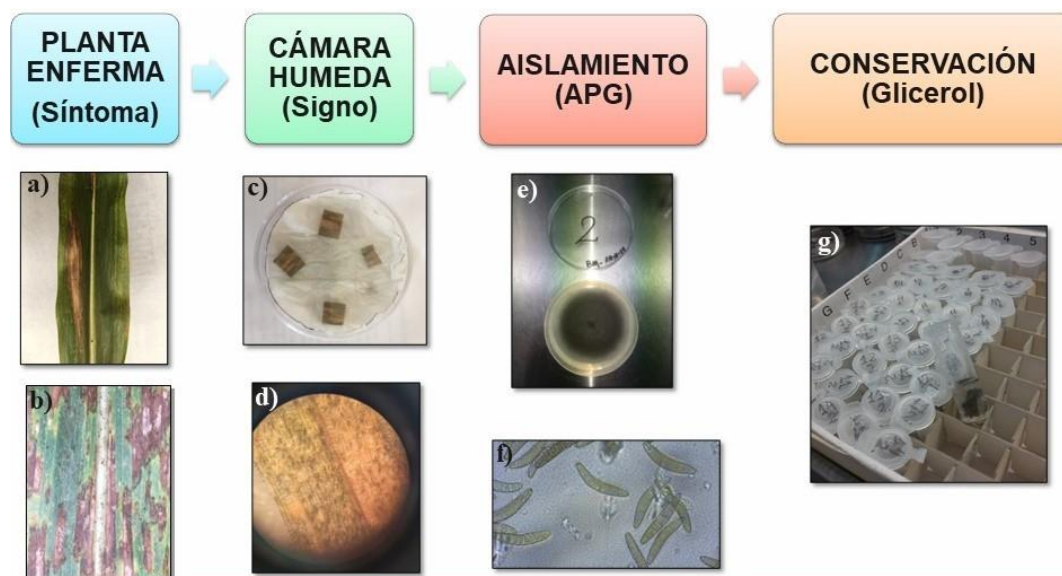


Figura II-6: Preparación de cámaras húmedas para aislamiento de patógenos. a) Síntomas característicos de NLB y b) SLB, c) incubación de muestras, d) observación del patógeno bajo lupa, e) incubación del patógeno sobre medio nutritivo, f) observación del patógeno bajo microscopio electrónico, g) conservación del patógeno en tubos con glicerol al 15 %. Figura de autoría propia.

- II. Inóculo de NLB: La preparación del inóculo se realizó a partir de un aislamiento de *E. turcicum* raza 0 (Navarro et al. 2021). El aislamiento se cultivó en medio de cultivo APG durante 10 días a 25 °C en oscuridad para favorecer la producción de conidios. Los conidios se recolectaron mediante lavados con agua destilada estéril y se inocularon en botellas con granos de sorgo esterilizados (autoclave 121 °C - 20 minutos – 1 atm). Los granos de sorgo infectados se incubaron durante dos semanas (25 °C y oscuridad) y luego se almacenaron a 4 °C hasta el momento de la inoculación. La misma se realizó colocando aproximadamente 20-30 granos de sorgo infectados en el cogollo de plantas de maíz en el estadio fenológico entre V4 y V6 (**Figura I-1**). Este procedimiento se llevó a cabo al atardecer, seguido de una irrigación inmediata con un pulverizador para prevenir el desecamiento de las esporas. Esta irrigación se repitió durante los tres días siguientes a la inoculación para mantener las condiciones adecuadas de humedad. El procedimiento para la preparación del inóculo de NLB se ilustra en la **Figura II-7** y corresponde al protocolo adaptado de Carson et al. (2005).

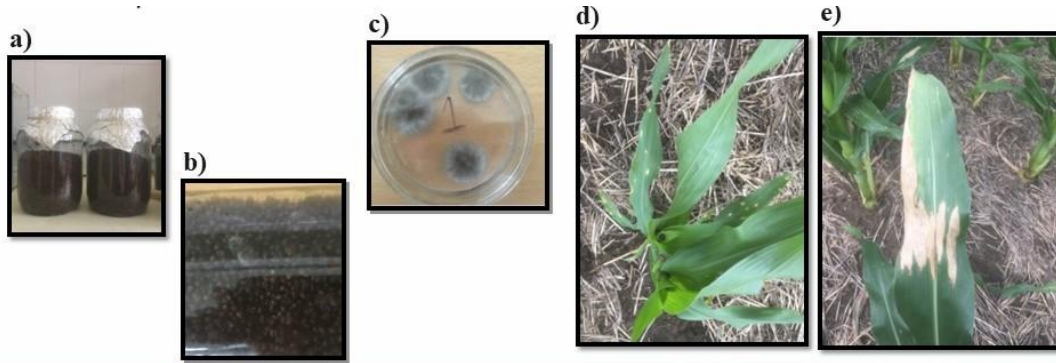


Figura II-7: Procedimiento para la preparación del inóculo NLB. a) Conidios de *E. turcicum* provenientes de un aislamiento monospórico fueron incubados en granos de sorgo. b) Los granos infectados se incubaron por dos semanas (25 °C en oscuridad) hasta la aparición de un micelio grisáceo. c) Un grano de sorgo fue colocado sobre medio nutritivo APG para confirmar la infección. d). La inoculación se realizó colocando aproximadamente 20-30 granos de sorgo infectados en el cogollo de plantas. e) Síntomas observados en plantas de maíz inoculadas. Figura de autoría propia.

- III. Preparación de los inóculos FER y GER: El inóculo para FER y GER fue producido a partir de aislamientos monospóricos de agresividad y capacidad micotoxigénica conocida: *F. verticillioides* aislamiento P364 (Iglesias et al. 2010) y *F. graminearum* aislamiento IV-II-3 (Presello et al. 2011). Los aislamientos de *F. fujikuroi* (sinónimo *F. verticillioides*) y *F. graminearum* se cultivaron por separado en medio de cultivo líquido según el protocolo desarrollado por Reid et al. (1996), a una concentración de $2,5 \times 10^5$ conidios por ml. Para la inoculación, se inyectaron 2 ml de inóculo en el canal del estigma de las espigas de maíz, aproximadamente entre 4 y 6 días después de la emergencia de los estigmas. Protocolo adaptado de Reid et al. (1996).

Análisis estadístico

Para las enfermedades foliares (CRM, NLB, SLB y BLS), cada experimento se analizó individualmente a través del siguiente modelo:

$$y_{ik} = u + \alpha_i + b_k + e_{ik} \quad \text{Ecuación 4: MLM para localidades individuales } (y_{ik})$$

donde y_{ijk} es el valor de severidad del genotipo i en el bloque k , u representa a la media general, α_i al efecto del genotipo i , b_k al efecto del bloque k y e_{ik} es el error experimental asociado a la parcela ik . El efecto del genotipo se modeló como aleatorio para obtener BLUP y el bloque como efecto fijo. La repetibilidad fue determinada a través de la metodología propuesta por Cullis et al. (2006):

$$H^2_{Cullis} = 1 - \frac{\overline{\vartheta BLUP}}{2\sigma_G^2} \quad \text{Ecuación 5: } H^2 \text{ según Cullis et al. (2006) } (H^2_{Cullis})$$

donde $\overline{\vartheta BLUP}$ se refiere a la varianza media entre pares de valores BLUP. La correlación genotípica entre experimentos correspondientes a una misma enfermedad se calculó a través del coeficiente de correlación de Pearson utilizando los valores BLUP obtenido del análisis de cada experimento

individual. Para el análisis multi ambiental se utilizó Ecuación 6, que es una extensión del Ecuación 4 en la que se incluyó el efecto del ambiente β_j e interacción genotipo por ambiente $(\alpha\beta)_{ij}$:

$$y_{ijk} = u + \alpha_i + \beta_j + b_{jk} + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk} \quad \text{Ecuación 6: MLM para análisis multi ambiental } (y_{ijk})$$

En este modelo, todos los factores fueron modelados como aleatorios. La H^2 se calculó a través de dos metodologías diferentes: tradicional (Ecuación 1) y Cullis et al. (2006) (Ecuación 5).

Para el análisis de FER y GER se adaptó la Ecuación 4 a un diseño de parcelas divididas (Ecuación 7):

$$y_{ijk} = u + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + b_k + r_{ik} + e_{ijk} \quad \text{Ecuación 7: MLM para localidades individuales para un diseño de parcelas divididas } (y_{ijk})$$

donde y_{ijk} es el valor de severidad observado para el genotipo i , inoculado con la especie de hongo j en el bloque k , u representa a la media general, α_i al efecto del genotipo i , β_j al efecto de la especie de hongo j , $(\alpha\beta)_{ij}$ a la interacción entre el genotipo i y la especie de hongo j , b_k al efecto del bloque k y r_{ik} y e_{ijk} corresponden a los errores asociados a la parcela principal y residual, respectivamente.

CSM se analizó utilizando un MLGM para lo cual se ajustaron y compararon cinco modelos basados en diferentes distribuciones: 1) un modelo con distribución binomial (MB); 2) un modelo con distribución Poisson (MP); 3) un modelo con distribución Poisson inflado en cero (ZIP), 4) modelo binomial negativo inflado en cero con relación lineal entre media-varianza (ZINB1) y 5) modelo binomial negativo inflado en cero con una relación cuadráticas entre la media y la varianza (ZINB2). Todos ellos con función de enlace canónico (log). La selección del mejor modelo se determinó en función del criterio de información de AIC, BIC y Devianza. También se consideró la dispersión de los modelos calculada a través de la constante de proporcionalidad entre la media y la varianza (\emptyset) (Ecuación 8):

$$\emptyset = \frac{\sum e_{person}^2}{GL_{residuales}} \quad \text{Ecuación 8: Constante de proporcionalidad entre la media y la varianza } (\emptyset)$$

donde $\sum e_{person}^2$ corresponde a la sumatoria de los residuos de Pearson elevados al cuadrado y $GL_{residuales}$ a los grados de libertad. La dispersión del modelo se evaluó según la propuesta de Zuur et al. (2009): $\emptyset > 1,5$ indica la presencia de sobredispersión. Para los modelos individuales correspondientes a cada ambiente, se aplicaron distintas funciones de enlace: la función logit para el modelo basado en una distribución binomial (MB), y la función log para los modelos basados en distribuciones Poisson (MP y ZIP) o binomial negativa (ZINB1 y ZINB2), según lo descrito en Ecuación 4.

Cuando la distribución de errores no es normal, en la literatura no existe un acuerdo formal de cómo estimar la H^2 y repetibilidad (Nakagawa y Schielzeth 2010; Schmidt et al. 2019). En este trabajo optamos

por calcular la H^2 Estándar a través de los componentes de la varianza derivados de un MLM y la H^2 según Cullis et al. (2006) usando componentes derivados del MLGM.

Estudio de la MDR

La clasificación de genotipos en resistentes se basó en los criterios definidos por CIMMYT (1985):

- I. Enfermedades foliares: Genotipos con valores BLUP menores a 3. Escala de 1 a 5, donde los genotipos con un valor de 1 se consideran altamente resistentes, los de valor 2 resistentes, los de valor 3 moderadamente resistentes, los de valor 4 susceptibles y los de valor 5 altamente susceptibles.
- II. Enfermedades de espiga: Genotipos con valores BLUP menores a 5. Escala de 1 a 7, donde los genotipos con un valor de 1 se consideran completamente resistentes, 2 resistencia alta, 3 resistencia moderada, 4 resistencia baja, 5 susceptibilidad baja, 6 susceptibilidad moderada, 7 completamente susceptibles.
- III. Enfermedades de espiga (Número carbones por parcela): Genotipos con valores BLUP menores a 1,0. Escala ausencia-presencia.

La correlación genética entre resistencias se determinó a través del coeficiente de correlación de Pearson, calculado entre los BLUP genotípicos de las siete resistencias estudiadas. Para la selección de genotipos con MDR, se compararon cuatro índices de selección. El índice “MDR” se basa en la creación de una nueva variable que promedia los valores BLUP estandarizados de cada resistencia. La estandarización se realizó restandole a cada valor BLUP la media general y dividiéndolo por el desvío estándar respectivo de cada resistencia (Miedaner et al. 2020a). El índice “Elston” es un índice multiplicativo independiente de ponderaciones económicas y parámetros poblacionales (Elston 1963). Para su cálculo todos los valores fueron multiplicados por (-1) con el objetivo de que los valores más altos representen a los genotipos más resistentes (con las escalas utilizadas los valores más bajos representan a los genotipos más resistentes). El índice “ACP” se basa en un ACP y se compone de los autovalores de la CP1. El cuarto índice, “FAI-BLUP”, se basa en distancias probabilísticas a un idiotipo (mejor combinación de caracteres), ordenando a los genotipos por cercanía al idiotipo (Rocha et al. 2018; Woyann et al. 2020).

La elección del mejor índice para la selección de genotipos MDR se basó en la eficiencia y en la GG derivada de cada uno de ellos (Kistner et al. 2022a). La eficiencia, expresada en porcentaje (%), se refiere a la proporción de genotipos MDR correctamente seleccionados por el índice, sobre el total de genotipos seleccionados utilizando una intensidad de selección del 10 % (siete genotipos de un total de 78 genotipos fenotipados para las siete resistencias). Por su parte, la GG se determinó a partir del promedio de las GG asociada a cada una de las resistencias derivadas de la Ecuación 3.

Todos los análisis se realizaron en el software R version 4.0.4 (R Core Team 2021). Los MLM, repetibilidades y H^2 se calcularon utilizando las rutinas desarrolladas por Kistner y Lozano-Isla (2020). Para los MLGM se utilizó el paquete “glmmTMB” (Brooks et al. 2017). Los índices Elston y FAI-BLUP se calcularon utilizando las rutinas desarrolladas por Eyzaguirre (2020) y Rocha et al. (2018), respectivamente.

Resultados

Enfermedades foliares

Las condiciones ambientales fueron favorables en todos los experimentos para un adecuado desarrollo de las enfermedades (**Tabla II-1**). Cada combinación de época, localidad y año (experimento) se consideró como un ambiente dado que las condiciones meteorológicas variaron (**Tabla II-1**). En la mayoría de los ambientes se observó un adecuado nivel de infección, cubriendo completamente la escala de severidad de 1 a 5 (**Figura II-8**). La inclusión de testigos tanto resistentes como susceptibles para todas las enfermedades confirmó una presión de enfermedad adecuada en todos los ambientes (**Figura II-8**). Todos los ambientes presentaron valores de repetibilidad altos, con valores entre 0,72 y 0,93 (**Figura II-8**).

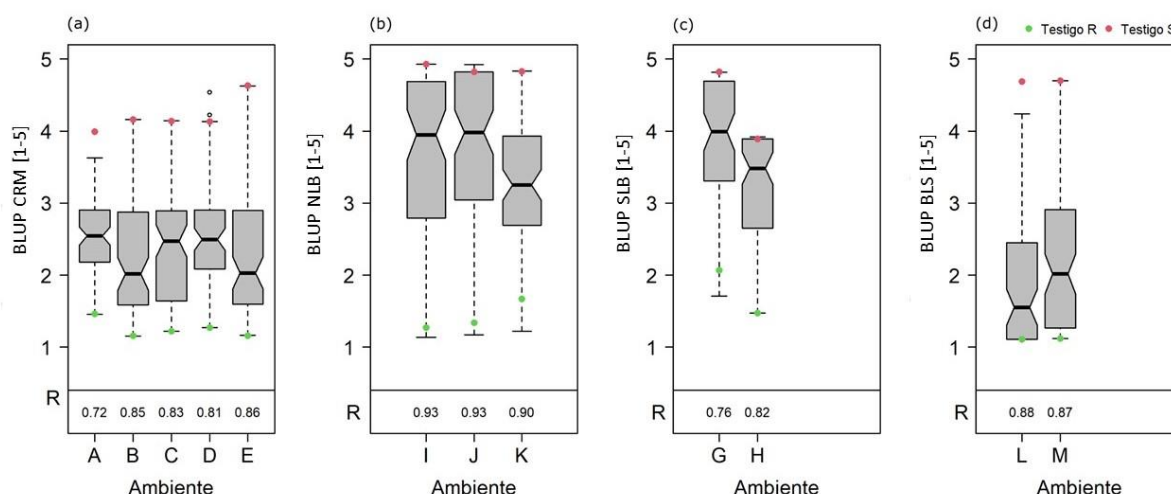


Figura II-8: Gráficos de caja con BLUP de la resistencia a (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS de 87 genotipos evaluados en ambientes individuales. Las resistencias se evaluaron utilizando una escala de severidad de cinco puntos donde 1 indica completamente resistente y 5 completamente susceptible. La línea media indica el valor de la mediana, los bordes inferior y superior de las cajas indican los valores de los cuartiles primero y tercero, respectivamente. Los testigos resistentes (Testigo R) y susceptibles (Testigo S) están representados con un punto verde y rojo, respectivamente. La repetibilidad (R) fue calculada según Cullis et al. (2006).

La correlación genotípica entre los BLUP de las resistencias por ambiente fue alta, con valores que oscilaron entre 0,57 y 0,81 (**Figura II-9**). La menor correlación se observó en los ambientes donde se evaluó CRM, mientras que la mayor se registró en los ambientes donde se evaluó BLS (**Figura II-9**). El ranking de genotipos se mantuvo relativamente constante entre ambientes para todas las resistencias evaluadas (**Tabla A-3**). Todos los ambientes se incluyeron en el análisis multi ambiental.



Figura II-9: Correlaciones genéticas de los BLUP de las resistencias a (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS de 87 genotipos entre ambientes individuales.

El análisis multi ambiental demostró una amplia variabilidad en los niveles de resistencia a las cuatro enfermedades foliares estudiadas (**Tabla II-2**). Los BLUP de la resistencia a CRM estuvieron entre 1,13 y 4,39, con un promedio de 2,35 en una escala de cinco puntos (**Tabla II-2**). Para la resistencia a NLB, los BLUP variaron entre 1,43 y 4,86, con un promedio de 3,56 en la misma escala (**Tabla II-2**). En relación con la resistencia a SLB, los BLUP oscilaron entre 1,55 y 4,43, con un promedio de 3,54 (**Tabla II-2**). Por último, para la resistencia a BLS, los BLUP variaron entre 1,10 y 4,74, con un promedio de 2,11 (**Tabla II-2**).

Todos los MLM utilizados cumplieron con los supuestos estadísticos requeridos para el análisis de experimentos (distribución normal de los residuales, homogeneidad de varianza e independencia de las observaciones), habiendo sido los mismos verificados a través de gráficos diagnóstico que no demostraron desviaciones del patrón esperado (**Figura A-1**). Los CV obtenidos fueron aceptables para ensayos agrícolas con valores entre 12% y 26%. Los valores menores correspondieron a la evaluación de la resistencia a NLB y SLB, mientras que los valores más altos a la evaluación de la resistencia a CRM y BLS (**Tabla II-2**).

En cuanto a los componentes de la varianza, la σ_G^2 fue significativa para las cuatro resistencias, mientras que la $\sigma_{G \times A}^2$ solamente fue significativa para la resistencia a CRM y NLB (**Tabla II-2**). En términos relativos, la σ_G^2 representó por lo menos el 55 % de la σ_F^2 total observada para cada enfermedad, mientras que la $\sigma_{G \times A}^2$ solamente entre un 5 % y 16 %, dependiendo de la enfermedad considerada. La H^2 se calculó a través de dos metodologías obteniendo resultados similares entre ellas, aunque los valores de la $H_{Standard}^2$ estuvieron sobreestimados (**Tabla II-2**). Considerando la H_{Cullis}^2 todas las resistencias presentaron altos valores de H^2 , con valores de 0,82 (SLB), 0,88 (CRM y NLB) y 0,89 (BLS) (**Tabla II-2**).

Tabla II-2: Medidas resumen y parámetros genéticos para la resistencia a cuatro enfermedades foliares en 87 genotipos evaluados en ensayos multi ambientales en Argentina

Resistencia	CRM [1-5]		NLB [1-5]		SLB [1-5]		BLS [1-5]	
Número de genotipos	87		87		82		87	
Número de ambientes	5		3		2		2	
Mínimo	1,13		1,43		1,55		1,10	
Mediana	2,30		3,58		3,75		1,76	
Media	2,35		3,56		3,54		2,11	
Máximo	4,39		4,86		4,43		4,74	
CV (%)	23		12		15		26	
<i>Componentes de varianza</i>								
σ_F^2	1,02		1,29		1,09		1,53	
σ_G^2	0,56	***	0,91	***	0,73	***	1,15	***
$\sigma_{G \times A}^2$	0,15	***	0,21	***	0,07		0,08	
σ_e^2	0,31		0,17		0,30		0,29	
<i>Heredabilidad</i>								
$H_{Standard}^2$	0,90		0,90		0,86		0,91	
H_{Cullis}^2	0,88		0,88		0,82		0,89	

CV: Coeficiente de variación; BLS: estría foliar bacteriana, CRM: roya común del maíz, H^2 : Heredabilidad; NLB: tizón común del maíz; SLB: tizón foliar del maíz; σ_F^2 : varianza fenotípica; σ_G^2 : varianza genética; $\sigma_{G \times A}^2$: varianza interacción genotipo por ambiente; σ_e^2 : varianza residual o del error.

A su vez, los valores de H^2 de la resistencia a CRM, NLB, SLB y BLS informados en la **Tabla II-2** estuvieron dentro del rango de valores publicados en la literatura **Tabla II-3**. La H^2 calculada de la resistencia a CRM fue de 0,88, mientras que en la literatura se informaron valores de entre 0,58 y 0,93 (Lübberstedt et al. 1998; Brown et al. 2001; Olukolu et al. 2016; Zheng et al. 2018; Rossi et al. 2020a; Sserumaga et al. 2020). La H^2 calculada de la resistencia a NLB fue igual a la calculada para CRM (0,88), mientras que en la literatura se informaron valores entre 0,57 y 0,87 (Zwonitzer et al. 2010; Wissner et al. 2011; Van Inghelandt et al. 2012; Lopez-Zuniga et al. 2019; Galiano-Carneiro et al. 2021). La H^2 calculada de la resistencia a SLB fue 0,82, mientras que en la literatura estos valores estuvieron entre 0,52 y 0,95 (Carson et al. 2004; Balint-Kurti y Carson 2006; Zwonitzer et al. 2010; Wissner et al. 2011; Lopez-Zuniga et al. 2019a). Para la resistencia a BLS, la H^2 calculada fue de 0,89, valor que fue considerablemente superior al único valor publicado $H^2=0,42$ (Qiu et al. 2020b).

Tabla II-3: H² de la resistencia a siete enfermedades del maíz publicados en la literatura

Enfermedad	Heredabilidad	Germoplasma	Población		Metodología	Referencia
			tipo	tamaño		
<i>CRM</i>	0,93	PD (CIMMYT)	LE	50	Estándar	(Sserumaga et al. 2020)
	0,75	PD	LE	274	Holland	(Olukolu et al. 2016)
	0,72	PD (CIMMYT)	LE	296	Holland	(Zheng et al. 2018)
	0,71	731xW6786 (Maíces dulces)	F _{2:3}	157	Estándar	(Brown et al. 2001)
	0,65-0,82	KW1265xD146 KW1265xD145 D145xKW1292	F ₃ F ₄ F ₅	120-280	Estándar	(Lübberstedt et al. 1998)
	0,58	PD (CIMMYT)	LE	206	Estándar	(Rossi et al. 2020a)
<i>NLB</i>	0,87	PD (Germoplasma europeo)	LE	1487	Holland	(Van Inghelandt et al. 2012)
	0,87	PD (Maíces tropicales y templados)	LE	253	Holland	(Wisser et al. 2011)
	0,67-0,83	CSSL	BC3F _{4:5}	111-265	Holland	(Lopez-Zuniga et al. 2019)
	0,57-0,83 0,64-0,84	Población multiparental derivada de un donante tropical por líneas templadas	LE TC	85-246 93-269	Cullis Cullis	(Galiano-Carneiro et al. 2021)
	0,67	Ki14 × B73	RIL	109	Holland	(Zwonitzer et al. 2010)
<i>SLB</i>	0,95	PD (Maíces tropicales y templados)	LE	253	Holland	(Wisser et al. 2011)
	0,89	NC300 × B104	RIL	133	Estándar	(Balint-Kurti y Carson 2006)
	0,85	Ki14 × B73	RIL	109	Holland	(Zwonitzer et al. 2010)
	0,81	Mo17 × B73	RIL	298	Holland	(Balint-Kurti et al. 2007)
	0,65-0,85	CSSL	BC3F _{4:5}	111-265	Holland	(Lopez-Zuniga et al. 2019)
	0,52-0,79	Mo17 × B73	RIL	158	Standat	(Carson et al. 2004)
<i>BLS</i>	0,42	CSSL	BC3F _{4:5}	229	Holland	(Qiu et al. 2020b)
<i>FER</i>	0,76	LP4637xL4674 (Germoplasma argentino)	RIL	298	Estándar	(Giomi et al. 2016)

CAPÍTULO II – Fenotipado Resultados

GER	0,56	A509, EP17, EP43, EP53, EP125 (Banco germoplasma de Galicia, España)	MAGIC	672	Holland	(Butrón et al. 2019)
	0,73-0,75	PD: Goodman association panel	LE	279	Holland	(Zila et al. 2014)
	0,47-0,86	GE440×FR1064 NC300×B104	BC1F _{1:2}	213	Estándar	(Robertson- Hoyt et al. 2006)
	0,59-0,75	B73 × CML333 B73 × CML52 B73 × CML69 B73 × NC358	RIL	200	Holland	(Morales et al. 2019)
	0,72	LP4637 × L4674 (Germoplasma argentino)	RIL	298	Estándar	(Giomi et al. 2016)
	0,77-0,80	Poblaciones europeas ("Kemater Landmais Gelb" y "Petkuser Ferdinand Rot")	DH	500	Cullis	(Gaikpa et al. 2021)
	0,68-0,72	Población	LE	173	Cullis	(Galiano- Carneiro et al. 2020)
	0,44-0,72	multiparental derivada de un donante tropical por líneas templadas	TC	498	Cullis	
	0,56-0,72	CO325 × CO265	BC2F ₂	NA	Estándar	(Chungu et al. 1996)
	0,67	Zong 3 (resistente) x 87-1 (susceptible)	RIL	200	Knapp	(Ding et al. 2008)
CSM	0,70 – 0,84	Poblaciones derivadas de KW1265, D146, D145 y KW1292	TC	533	Estándar	(Lübberstedt et al. 1998)

BCXfx:x: Familias derivadas de retrocruzas; BLS: estria foliar bacteriana; CIMMYT: Centro internacional de mejoramiento de maíz y trigo; CRM: roya común del maíz; CSSL: del inglés chromosome segment substitution line, se refiere a una población compuesta por líneas que portan un segmento cromosómico diferente del padre donante; CSM: carbón común del maíz; DH: doble haploides; FER: podredumbre de espiga por *Fusarium*; GER: podredumbre de espiga por *Graminearum*; MAGIC: del inglés Multiparent advanced-generation intercross population, se refiere a una población multiparental con muchas generaciones de inter cruzamientos; NLB: tizón común del maíz; LE: líneas endocriadas; PD: Panel diverso; RIL: del inglés recombinant inbred lines, se refiere una población de líneas recombinantes; SLB: tizón foliar del maíz.

Podredumbres de espiga

La resistencia a las podredumbres de espigas (FER y GER) se evaluó en dos experimentos de parcelas divididas y bajo infección artificial. La escala de severidad utilizada fue una escala de 7 puntos, donde 1 indica resistencia y 7 susceptible. Los dos experimentos independientes, realizados con 14 años de diferencia, presentaron poca conexión entre los genotipos evaluados. El experimento en el ambiente P (Pergamino, campana agrícola 2002/03) incluyó solamente 22 genotipos, lo que resultó en un acotado nivel de variación. La severidad media del experimento fue de entre 2,95 y 5,30 para resistencia a FER, y entre 3,79 y 5,42 para resistencia a GER (**Figura II-10**). La repetibilidad de las resistencias fue alta para FER (0,76) y moderada para GER (0,59) (**Figura II-10**). El experimento en el ambiente O (2016/17) incluyó 78 genotipos, de los cuales solamente 19 coincidieron con aquellos evaluados en el ambiente P. La evaluación mostró una amplia variación en ambas resistencias, con valores BLUP entre 2,43 y 6,56 en la resistencia a FER, y entre 2,75 y 6,61 en la resistencia a GER (**Figura II-10**). La repetibilidad fue alta en ambas resistencias, con valores de 0,83 para la resistencia a FER y 0,80 para la resistencia a GER (**Figura II-10**).

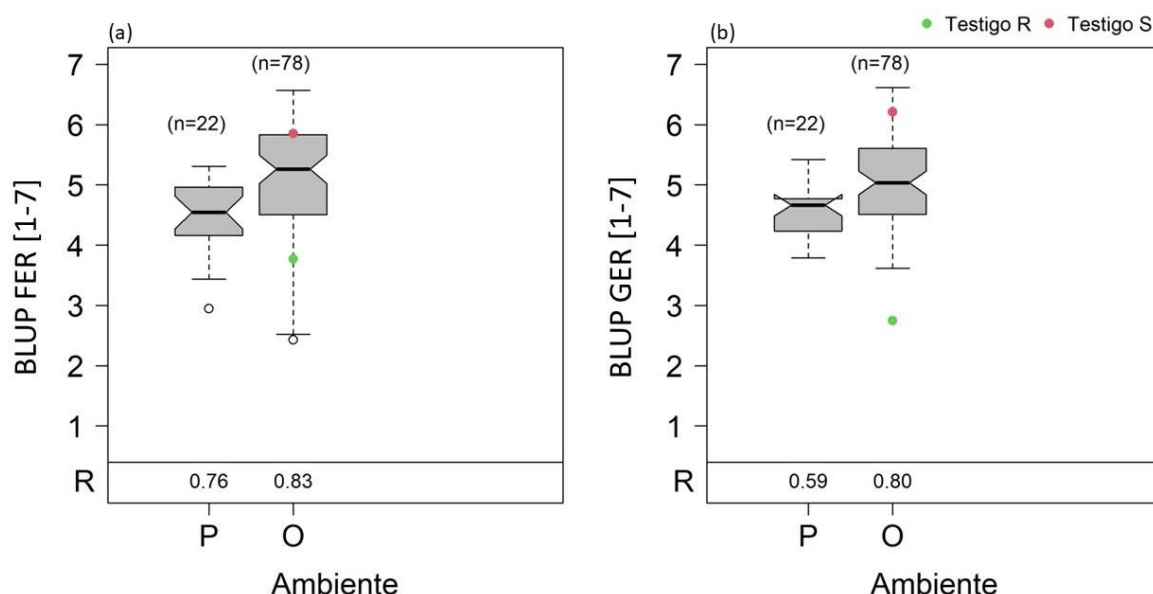


Figura II-10: Gráficos de caja con BLUP de la resistencia a (a) FER y (b) GER de genotipos evaluados en ambientes individuales. Las resistencias se evaluaron utilizando una escala de severidad de siete puntos donde 1 indica completamente resistente y 7 completamente susceptible. La línea media indica el valor de la mediana, los bordes inferior y superior de las cajas indican los valores de los cuartiles primero y tercero, respectivamente. “n” se refiere al número de genotipos evaluados por ambiente. Los testigos resistentes (Testigo R) y susceptibles (Testigo S) están representados con un punto verde y rojo, respectivamente. La repetibilidad (R) fue calculada según Cullis et al. (2006).

Los MLM ajustados para ambos experimentos cumplieron con los supuestos estadísticos, verificados a través de gráficos diagnósticos presentados en la **Figura A-2**. La correlación genética entre los experimentos en los diferentes ambientes fue muy baja, siendo 0,064 en la resistencia a FER y 0,003 en la resistencia a GER. Consecuentemente, el ranking de genotipo mostró variaciones significativas entre

ambientes para ambas resistencias (**Tabla II-4**) y la H^2 fue extremadamente baja (FER: 0,12 y GER: 0,00) (resultados no presentados). Por esta razón, solo se consideraron para los posteriores análisis los BLUP genotípicos obtenidos en el experimento realizado en 2016/17 (Ambiente O). En este sentido, la H^2 coincide con la repetibilidad del experimento (0,83 y 0,80 para FER y GER, respectivamente). Estos valores se encuentran dentro de rango de valores publicados en la literatura y coinciden con aquellos valores más altos (0,47 y 0,86) (Chungu et al. 1996; Giomi et al. 2016; Galiano-Carneiro et al. 2020).

Carbones de espiga

La resistencia a CSM fue evaluada mediante el conteo de número de carbones por planta (incidencia). La distribución de la variable CSM demostró la presencia de un exceso de ceros tanto en los experimentos individuales como en todo el conjunto de datos (**Figura II-11**).

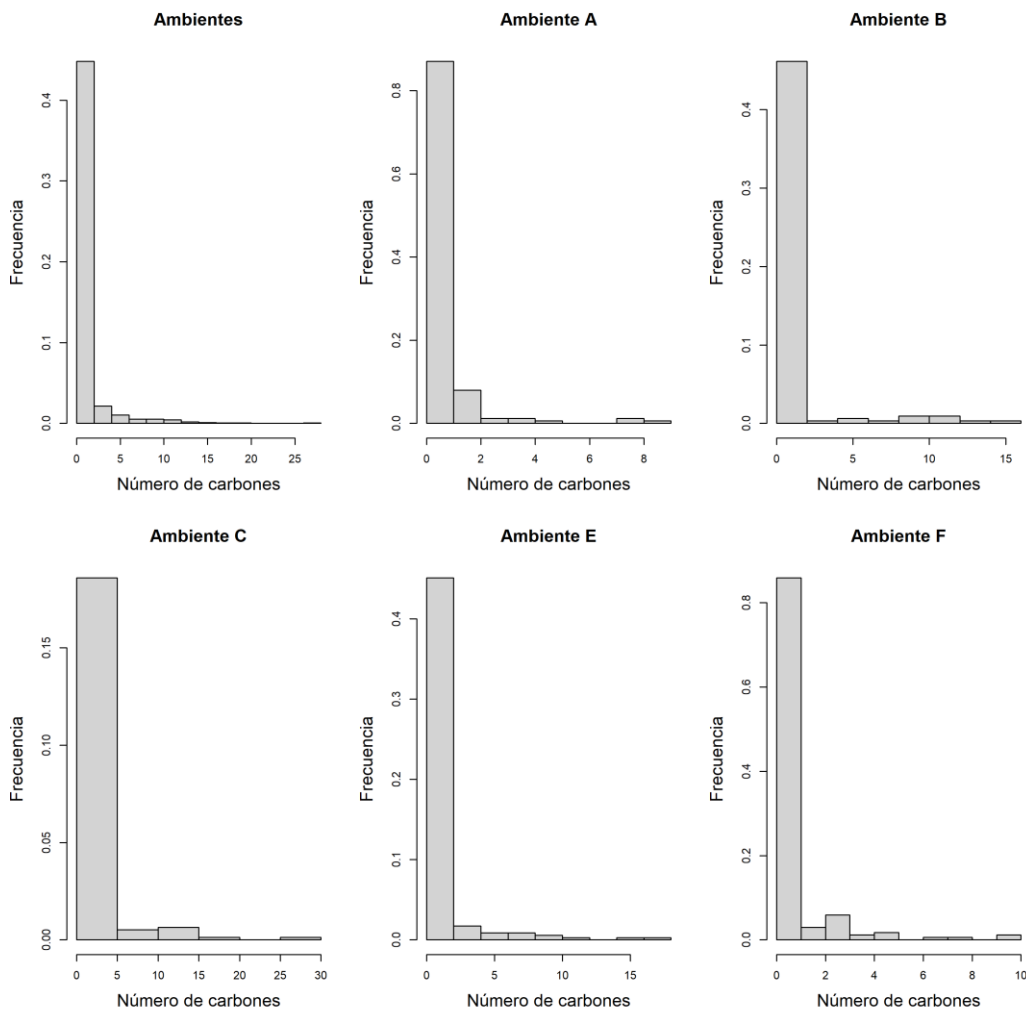


Figura II-11: Histograma de la variable CSM expresada como número de carbones por ambiente. El eje X representa el número de carbones por genotipo y el eje Y la frecuencia relativa.

La comparación de MLGM a través del criterio de AIC indicó que el mejor ajuste se logró con el MLGM con distribución Poisson inflado en cero (ZIP) dado que no se presentó sobredispersión (**Tabla II-4**).

Tabla II-4: Criterios AIC, BIC, Devianza y \emptyset de los MLGM utilizados para el análisis de la resistencia a CSM.

Modelo	gl	\emptyset	AIC	BIC	Devianza
MB	12	-	1797	1853	1773
MP	12	0,81	1792	1848	1768
ZIP	17	1.06	1774	1854	1741
ZINB1	18	-	1791	1876	1755
ZINB2	18	-	1775	1859	1739

MB: Modelo con distribución binomial; MP: Modelo con distribución Poisson; ZIP: Modelo con distribución Poisson inflado en cero; ZINB1: Modelo binomial negativo inflado en cero con relación lineal entre media-varianza; ZINB2: Modelo binomial negativo inflado en cero con una relación cuadráticas entre media-varianza. \emptyset : Sobredispersión del modelo. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiana. Valores más pequeños de AIC, BIC y Devianza indican mejor ajuste del modelo (indicado con gradientes de colores, donde el color verde indica valores más bajos y el color rojo valores más alto). El modelo MBN1 presenta el mejor ajuste basado en el AIC (valores resaltados en “**negrita**”).

Este resultado fue consistente en los ambientes individuales, excepto en el ambiente “E”, donde el MLGM ZINB1 fue levemente superior (**Tabla A-5**). Ninguno de los ambientes presentó sobredispersión ($\emptyset < 1,0$) por lo que se utilizó el MLGM ZIP para todos ellos (**Tabla A-5**). La correlación entre el ranking de genotipos a través de los ambientes resultó en valores intermedios a altos (0,45-0,67, **Tabla II-5**). El ranking de genotipos fue similar entre ambientes (**Tabla A-6**).

Tabla II-5: Correlaciones de Pearson entre los BLUP de la incidencia de CSM por ambiente.

Correlación de Pearson	Ambiente A	Ambiente B	Ambiente C	Ambiente E	Ambiente F
Ambiente A		0,35	0,33	0,40	0,44
Ambiente B	0,35		0,54	0,59	0,64
Ambiente C	0,33	0,54		0,49	0,64
Ambiente E	0,40	0,59	0,49		0,46
Ambiente F	0,44	0,64	0,64	0,46	

La repetibilidad, la H^2 , así como también los componentes de varianza asociados a la resistencia a CSM, se presentan en la **Tabla II-6**. A través de la metodología estándar, se calcularon repetibilidades con valores de entre 0,69 y 0,91 para cada ambiente, y la H^2 de la resistencia fue de 0,86 (**Tabla II-6**). A través de la metodología Cullis et al. (2006), los valores de repetibilidad estuvieron entre 0,63 y 0,82 y H^2 de la resistencia fue de 0,63 (**Tabla II-6**). A excepción del ambiente “E”, todas las repetibilidades y la H^2 calculadas a través de la metodología estándar fueron superiores a las obtenidas a través de la metodología de Cullis et al. (2006) (**Tabla II-6**). Los valores de H^2 publicados por otros autores fueron levemente superiores (0,67 a 0,84, **Tabla II-3**) a los obtenidos en este trabajo.

Tabla II-6: Componentes de varianza, repetibilidades y H^2 para la resistencia a CSM

Parámetros	Ambiente "A"	Ambiente "B"	Ambiente "C"	Ambiente "E"	Ambiente "F"	Multi ambiental
Metodología Estándar						
σ_G^2	1,00***	5,90***	9,36***	3,31***	1,88***	2,78***
$\sigma_{G \times A}^2$						1,39**
σ_e^2	0,91	1,21	2,88	3,01	0,89	1,79
$H_{Estándar}^2$	0,69	0,91	0,87	0,69	0,81	0,86
Metodología Cullis						
σ_G^2	2,84	3,80	1,40	3,06	0,55	1,54
H_{Cullis}^2	0,63	0,82	0,80	0,75	0,79	0,63

Los asteriscos (***) indican que los valores son estadísticamente diferentes de cero a un nivel de significancia de 0.1% ($p < 0.001$). σ_G^2 : varianza genética; $\sigma_{G \times A}^2$: varianza de la interacción genotipo por ambiente; σ_e^2 : varianza del error; $H_{Estándar}^2$: Heredabilidad (repetibilidad por ambiente) calculada a través de la metodología estándar, H_{Cullis}^2 : metodología Cullis et al. (2006).

Estudio de la MDR

Los BLUP de las siete resistencias derivados del análisis multi ambiental se informan en la **Tabla A-7** y las distribuciones de frecuencia de dichos BLUP se grafican en las **Figura II-12** a **Figura II-14**.

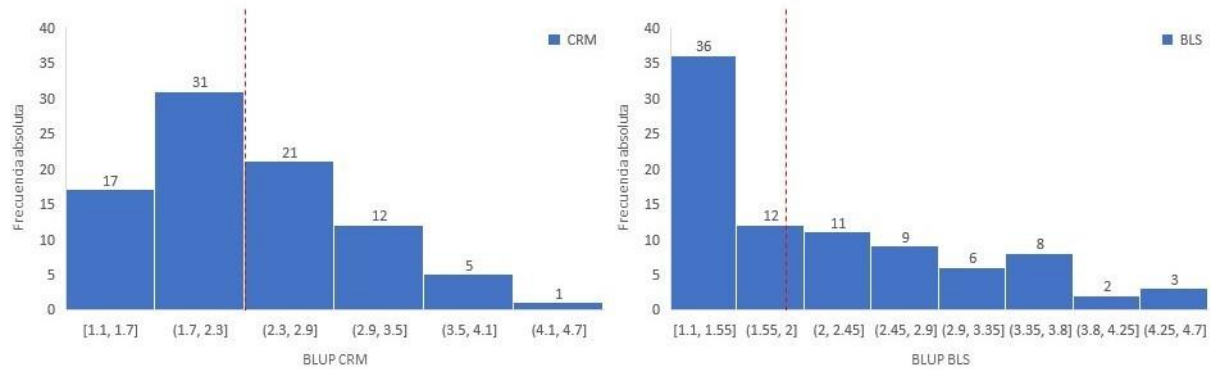


Figura II-12: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a CRM y BLS. Izquierda: BLUP de 87 genotipos evaluados en cinco ambientes para resistencia a CRM. Derecha: BLUP de 87 genotipos evaluados en dos ambientes para resistencia a BLS. La evaluación de ambas resistencias está basada en una escala de cinco puntos donde uno (1) indica completamente resistente y cinco (5) completamente susceptible. La línea punteada roja indica la mediana de los datos. Los valores sobre las barras indican el número de genotipos por categoría.

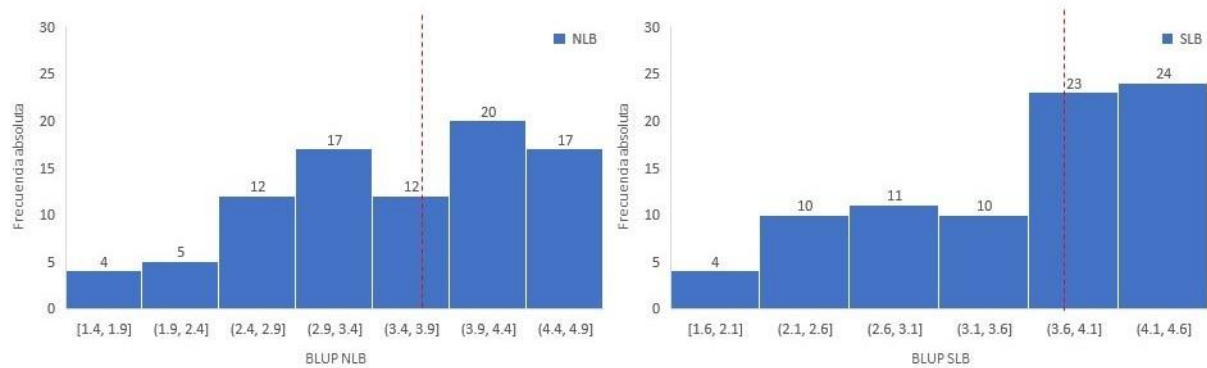


Figura II-13: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a NLB y SLB. Izquierda: BLUP de 87 genotipos evaluados en tres ambientes para resistencia a NLB. Derecha: BLUP de 82 genotipos evaluados en cinco ambientes para resistencia a SLB. La evaluación de ambas resistencias está basada en una escala de cinco puntos donde uno (1) indica completamente resistente y cinco (5) completamente susceptible. La línea punteada roja indica la mediana de los datos. Los valores sobre las barras indican el número de genotipos por categoría.

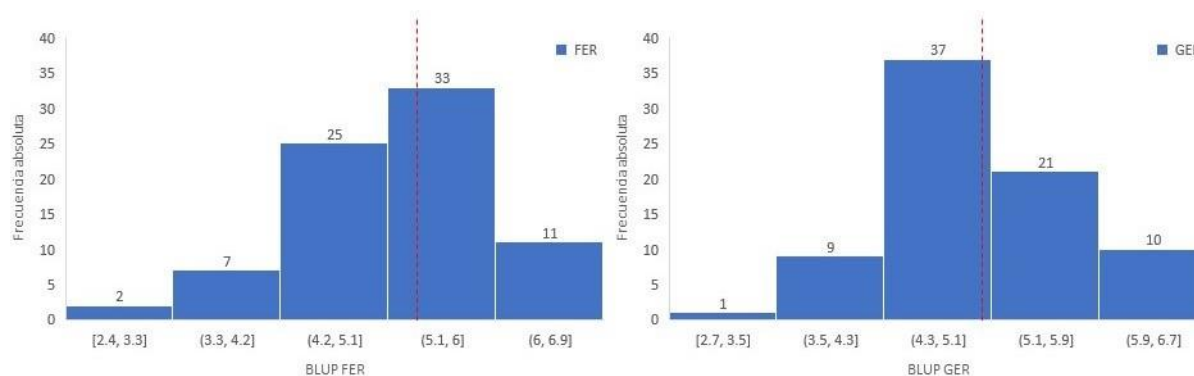


Figura II-14: Histograma de frecuencias de BLUP de la resistencia a FER y GER. Izquierda: BLUP de 78 genotipos evaluados en un ambiente para resistencia a FER. Derecha: BLUP de 78 genotipos evaluados en un ambiente para resistencia a GER. La evaluación de ambas resistencias está basada en una escala de siete puntos donde uno (1) indica completamente resistente y siete (7) completamente susceptible. La línea punteada roja indica la mediana de los datos. Los valores sobre las barras indican el número de genotipos por categoría.

La distribución de frecuencias de los BLUP de la resistencia a CSM en el histograma presentado en la **Figura II-11** presentó un sesgo extremo hacia la derecha, coincidiendo con la presencia de exceso de ceros mencionado previamente. Consecuentemente, el coeficiente de asimetría (Skewness) fue positivo, con un valor de 4,48, la mediana fue de 0,50 basada en la escala de incidencia. Las distribuciones de frecuencias de los BLUP de las resistencias a BLS y CRM también mostraron una predominancia de genotipos resistentes (**Figura II-12**). Esto resultó en distribuciones ligeramente sesgada hacia la derecha, con coeficiente de asimetría de 0,84 y 0,48, respectivamente y medianas de 1,80 y 2,30 basada en la escala de severidad de 1 a 5. Por el contrario, las distribuciones de frecuencias de los BLUP de las resistencias a NLB y SLB en la **Figura II-13** mostraron una predominancia de genotipos susceptibles a ambas enfermedades. Ambas distribuciones se presentaron ligeramente sesgada hacia la izquierda, con coeficientes de asimetría negativos de -0,41 y -0,79, y medianas de 3,60 y 3,75 dentro de la escala severidad de 1 a 5. En cuanto a las podredumbres de espiga, las distribuciones de frecuencias de los BLUP de las resistencias mostraron una ligera asimetría hacia la izquierda. Los coeficientes de asimetrías fueron negativos, con valor de -0,23 para GER y -0,78 para FER, y medianas de 5,00 y 5,75 dentro de la escala de severidad de 1 a 7 (**Figura II-14**).

Según los criterios de clasificación de genotipos resistentes definidos en este mismo capítulo (Materiales y métodos: Estudio de la MDR), el panel se compuso de la siguiente proporción de genotipos resistentes: CRM (79%), BLS (78%), CSM (55%), GER (42%), FER (35%), SLB (27%) y NLB (24%).

La distribución de genotipos según el número de enfermedades a las que son resistentes se aproximó a una distribución normal (**Figura II-15**). La mayoría de los genotipos presentó MDR, es decir, son resistentes a al menos dos enfermedades. En orden decreciente, la proporción de genotipos resistentes fue la siguiente: 32 % resistencia a tres enfermedades (n=28), 20 % resistencia a dos enfermedades (n=17), 18 % resistencia a cinco enfermedades (n=16), 17 % resistencia a cuatro enfermedades (n=15)

y 7 % resistencia a seis enfermedades (n=6) (**Figura II-15**). Solo un genotipo (**LP178**) fue resistente a todas las enfermedades. Por su parte, un único genotipo fue susceptible a todas las enfermedades (**83525**) y tres genotipos fueron resistentes a una única enfermedad (**Figura II-15**). Esto evidenció una proporción de genotipos sin MDR extremadamente baja.

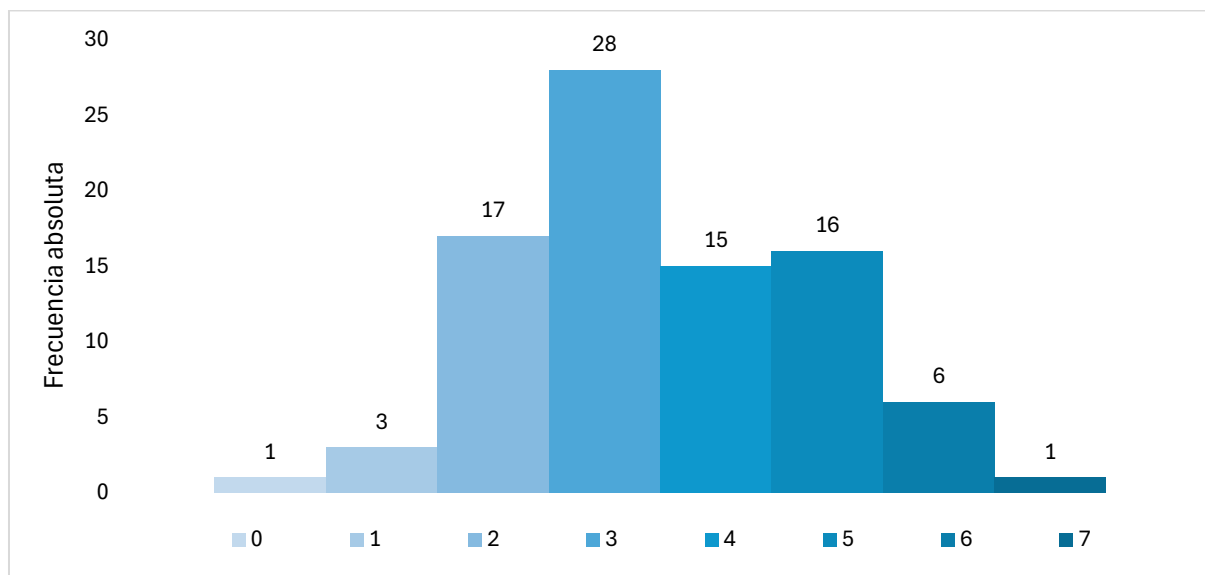


Figura II-15: Histograma frecuencias de genotipos según número de enfermedades a los que son resistentes.

De todas las posibles combinaciones de MDR, ocurrieron 42 combinaciones que se detallan en la **Tabla A-8**. La MDR a dos resistencias incluyó siete combinaciones, cada una de ellas con entre uno (1) y seis (6) genotipos (**Tabla A-8**). La MDR a tres resistencias incluyó 13 combinaciones, cada una de ellas con entre uno (1) y 12 genotipos, siendo la más importante la combinación CRM-BLS-CSM (**Tabla A-8**). La MDR a cuatro resistencias incluyó diez combinaciones, cada una de ellas con entre uno (1) y tres (3) genotipos. La MDR asociada a cinco resistencias incluyó ocho combinaciones con entre uno (1) y cinco (5) genotipos cada una de ellas (**Tabla A-8**). La MDR a seis resistencias representó tres combinaciones con entre uno (1) y cuatro (4) genotipos cada una de ellas (**Tabla A-8**). Por último, la MDR a todas las enfermedades resultó en una única combinación con un (1) solo genotipo (**Tabla A-8**).

La correlación genética entre las resistencias fue baja, con valores entre oscilaron entre -0,29 y 0,62 (**Tabla II-7**). La mayor correlación se observó entre la resistencia a las podredumbres de espigas FER y GER. Por su parte, la menor correlación, que a su vez fue negativa, se observó entre la resistencia a CRM y BLS. Entre las enfermedades foliares, la mayor correlación se observó entre la resistencia a los tizones (NLB y SLB).

Tabla II-7: Correlaciones de Pearson entre los BLUP genotípicos de la resistencia a siete enfermedades del maíz.

Correlación de Pearson		Enfermedades foliares				Enfermedades de espiga		
		CRM	NLB	SLB	BLS	FER	GER	CSM
Enfermedades foliares	CRM		0,17	0,15	-0,20	-0,04	0,05	0,06
	NLB	0,17		0,38***	0,17	-0,06	-0,08	0,06
	SLB	0,15	0,38***		0,18	0,06	0,13	-0,02
	BLS	-0,20	0,17	0,18		0,02	-0,03	0,00
Enfermedades de espiga	FER	-0,04	-0,06	0,06	0,02		0,62***	0,08
	GER	0,05	-0,08	0,13	-0,03	0,62***		0,14
	CSM	0,06	0,06	-0,02	0,00	0,08	0,14	

Los asteriscos (***) indican que la correlación es estadísticamente significativa a un nivel de significancia de 0,1% ($p < 0.001$). CRM: roya común del maíz; CSM: carbón común del maíz; FER: podredumbre de espiga por *Fusarium*; GER: podredumbre de espiga por *Graminearum*; NLB: tizón común del maíz; SLB: tizón foliar del maíz.

En la **Figura II-16**, el biplot permitió una exploración visual de las relaciones entre las resistencias (variables) y agrupamientos entre genotipos (observaciones). Las CP1 y CP2 del ACP explicaron un 46 % de la variación total observada, con una contribución individual de 24,1 % y 21,9 % para la CP1 y CP2, respectivamente. En la CP1, las variables de mayor peso fueron las resistencias a enfermedades de espiga, principalmente las podredumbres de espiga FER y GER (autovalores: 0,85 y 0,88, respectivamente). En la CP2, las resistencias a enfermedades foliares fueron más importantes, principalmente los tizones NLB y SLB (autovalores: -0,81 y -0,74, respectivamente). Los genotipos susceptibles se ordenaron en el cuadrante inferior derecho, mientras que los MDR se localizaron en el cuadrante superior derecho. A su vez, genotipos susceptibles a enfermedades foliares se ubicaron en la mitad inferior del biplot, mientras que los genotipos con MDR a enfermedades foliares en la mitad superior. En cuanto a enfermedades de espiga, los genotipos susceptibles se encontraron en la mitad derecha, mientras que los genotipos con MDR a enfermedades de espiga en la mitad izquierda del biplot (**Figura II-16**).

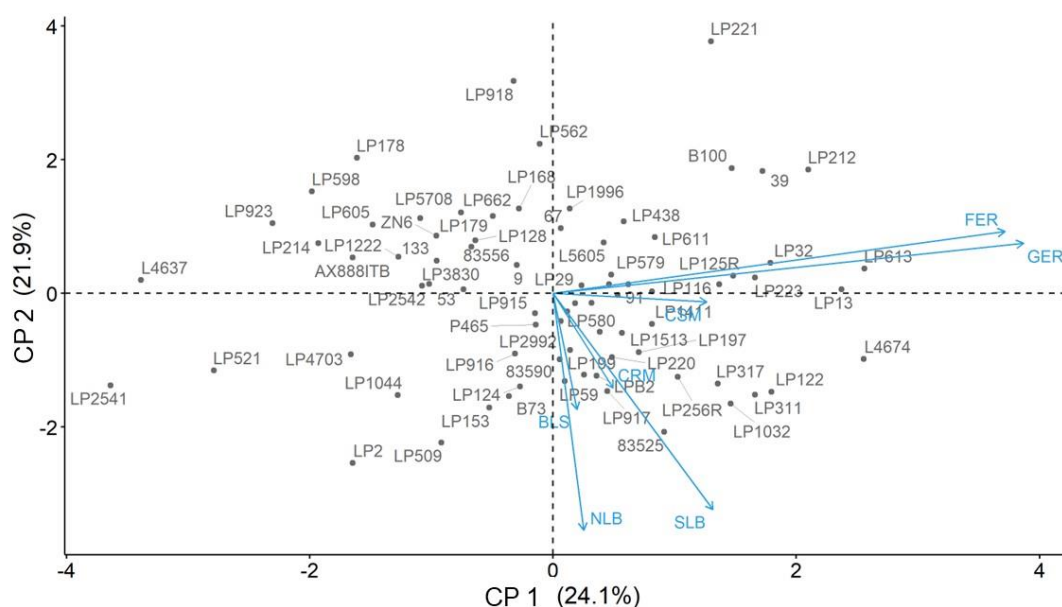


Figura II-16: Biplot de las CP1 y 2 de un ACP basado en los BLUP de la resistencia a siete enfermedades evaluadas en 78 genotipos.

Para la selección de genotipos MDR se consideró una intensidad de selección del 10%, que corresponde a 7 genotipos de los 78 genotipos para los cuales se contó con el fenotipado completo de las siete enfermedades. Considerando que la MDR no es un carácter habitual se consideraron como genotipos MDR a la línea **LP178**, resistente a las siete enfermedades, y a los seis genotipos resistentes simultáneamente a seis enfermedades: **AX888ITB**, **LP1222**, **LP214**, **LP3830**, **LP598** y **LP923**.

La selección de los genotipos MDR se realizó a través de cuatro índices de selección: índice MDR, índice Elston, índice ACP e índice FAI-BLUP. Las correlaciones entre los rankings de genotipos obtenidos a través de los diferentes índices fueron altas, con valores entre 0,71 y 0,90 (**Tabla A-9**). Las altas correlaciones indican que independientemente del índice utilizado, se selecciona un conjunto y ordenamiento similar de genotipos. Los índices MDR y Elston incluyeron al mismo conjunto de genotipos, mientras que los otros índices seleccionaron diferentes conjuntos de genotipos. En total, se seleccionaron 13 genotipos: **L4637, LP178, LP214, LP2541, LP3830, LP4703, LP521, LP562, LP5708, LP598, LP605, LP918, LP923** (**Tabla II-8**). Cuatro de estos genotipos: **L4637, LP214, LP598 y LP923**, fueron consistentemente seleccionados por todos los índices, mientras que dos genotipos: **LP178 y LP918**, fueron seleccionados por tres de los cuatro índices (**Tabla II-8**). Los demás genotipos fueron seleccionados solamente por uno o dos índices (**Tabla II-8**).

Tabla II-8: Listado de genotipos MDR y ranking de selección según cuatro índices de selección.

Genotipo	Ranking				BLUP						
	Índice MDR	Índice Elston	Índice ACP	Índice FAI	CRM	NLB	SLB	BLS	FER	GER	CSM ²
LP923	4	4	4	1	1,9	2,5	2,6	3,1	4,5	3,7	0,3
LP598	2	1	5	2	1,5	3,1	2,4	1,3	4,5	4,1	0,4
LP214	6	5	6	4	1,9	2,3	3,5	2,7	4,3	4,2	0,1
L4637	3	3	2	7	2,2	3,2	3,0	1,8	3,8	2,7	0,7
LP178	1	2	[10]	3	2,6	1,5	3,0	1,1	4,5	4,4	0,4
LP5708	7	7	[14]	[8]	1,6	3,6	2,8	1,1	5,3	4,4	0,4
LP918	5	6	[27]	5	1,1	2,2	1,6	2,2	5,7	5,2	0,3
LP562	[16]	[14]	[34]	6	1,4	2,2	2,2	3,2	5,8	5,1	0,4
LP605	[20]	[18]	[11]	[9]	2,3	3,5	2,2	1,1	4,2	4,2	5,8
LP4703	[22]	[22]	7	[26]	2,6	4,0	3,9	1,8	4,0	4,3	0,2
LP521	[8]	[28]	3	[30]	1,5	4,7	3,8	1,4	2,4	4,4	0,4
LP2541	[9]	[21]	1	[65]	2,5	4,4	3,0	3,4	2,5	3,6	0,3

La columna ranking indica la posición del genotipo según el índice considerado. Valores entre corchetes [] indican que el genotipo no fue seleccionado por el índice. La columna BLUP indica el BLUP genotípico de resistencia a cada una de las siete enfermedades consideradas. Los valores BLUP correspondientes a la resistencia a CSM se presentan en la escala original (interpretación biológica).

Criterios de resistencia: i) Valor BLUP < 3,0 para enfermedades foliares (CRM, NLB, SLB, BLS); ii) Valor BLUP < 5,0 para podredumbres de espiga (FER y GER); iii) Valor BLUP < 1,0 para carbones (CSM).

La performance de los índices de selección fue evaluada a través de la eficiencia de selección y GG asociada a cada uno de ellos. Ninguno de los cuatro índices considerados alcanzó una eficiencia del 100 %, es decir, ninguno incluyó a los siete genotipos definidos como MDR del panel (**Tabla II-9**). La mayor eficiencia fue del 57 %, y se alcanzó con tres de los cuatro índices evaluados: índice MDR, índice Elston e índice FAI-BLUP (**Tabla II-9**). El índice ACP alcanzó una eficiencia del 43 %, incluyendo en la selección solamente tres de los siete genotipos MDR. La mayor GG se obtuvo a través de los índices MDR y Elston, ambos con un valor de GG -21 %. Este valor representa que la siguiente generación será un 21 % menos susceptible (o más resistente) para todas las enfermedades (**Tabla II-9**). La GG del índice derivó del promedio de las GG por resistencia, asumiendo valores que oscilaron entre -8 % en la resistencia BLS y FER, y -52 % en la resistencia a CSM (**Tabla II-9**). Estos valores indicaron un progreso genético para todas las resistencias, aunque de magnitud diferente. La GG de los índices FAI-BLUP y ACP fueron inferiores, con valores de 20 % y 21 % respectivamente (**Tabla II-9**). Ninguno de los cuatro índices alcanzó una eficiencia del 100 %, sin embargo, la GG de los índices supera a la GG que se obtendría seleccionando los siete genotipos MDR (ver “Referencia” en la **Tabla II-9**).

Tabla II-9: Eficiencias y GG asociadas a índices de selección utilizados para la selección de genotipos MDR.

Índices	Eficiencia	GG Índice	GG CRM	GG NLB	GG SLB	GG BLS	GG FER	GG GER	GG CSM
Referencia	100%	-16%	-8%	-15%	-17%	-3%	-11%	-13%	-46%
MDR	57%	-21%	-20%	-23%	-19%	-8%	-8%	-15%	-52%
Elston	57%	-21%	-20%	-23%	-19%	-8%	-8%	-15%	-52%
ACP	43%	-17%	-13%	-3%	-9%	5%	-23%	-19%	-55%
FAI-BLUP	57%	-20%	-21%	-28%	-21%	4%	-7%	-14%	-52%

Referencia se refiere a la selección de los siete genotipos en el panel definidos como MDR.

En todos los casos, la GG promedio derivada de la selección de genotipos MDR a través de índices de selección es considerablemente superior que aquella obtenida a través de la selección indirecta, es decir si seleccionan individuos considerando solamente una resistencia (**Tabla II-10**).

Tabla II-10: GG asociada a la selección indirecta a través de resistencias individuales.

Resistencias	Promedio	GG CRM	GG NLB	GG SLB	GG BLS	GG FER	GG GER	GG CSM
CRM	-9%	-39%	-15%	-20%	8%	4%	-2%	-2%
NLB	-8%	-7%	-35%	-9%	-12%	6%	-1%	0%
SLB	-10%	-10%	-14%	-32%	-11%	-3%	-9%	8%
BLS	-6%	0%	0%	-7%	-44%	-8%	8%	9%
FER	-5%	1%	3%	-1%	1%	-23%	-15%	-2%
GER	-5%	1%	1%	-4%	-1%	-12%	-18%	-2%
CSM	-12%	-35%	-34%	30%	20%	-6%	2%	-63%

Discusión

El desarrollo de maíces con MDR es una demanda del actual modelo agrícola-productivo. Sin embargo, ninguna investigación se enfocó en la caracterización fenotípica y selección de MDR. Este capítulo tuvo como objetivo la caracterización fenotípica de la resistencia de 87 genotipos a siete enfermedades del maíz, además de la determinación de parámetros genéticos asociados a las resistencias estudiadas, identificación genotipos MDR y comparación de metodología para selección de MDR.

Cada resistencia estudiada presentó particularidades que no permitieron unificar la metodología de estudio, motivo por el cual se adaptaron protocolos y modelos específicos para cada una de ellas. Dentro de tales particularidades podemos destacar el órgano afectado (hojas versus espigas), patrón de infección (severidad versus incidencia) y presencia de inóculo natural versus inoculación artificial.

La resistencia a enfermedades foliares se evaluó utilizando escalas de severidad de cinco puntos, principalmente bajo infección natural. Las escalas utilizadas para evaluar la severidad fueron escalas ordinales (1-a-5) que fueron analizadas con MLM como si fueran escalas cuantitativas. Si bien este enfoque no cumple estrictamente con los supuestos estadísticos subyacentes al MLM, constituye la metodología más apropiada y difundida para el estudio de conjuntos de datos de esta naturaleza (Laidig et al. 2021). Los principales argumentos a favor de esta metodología se basan en la simplicidad, precisión y validez de la metodología. El objetivo principal de la evaluación es un correcto ranking de genotipos entre resistentes o susceptibles y no estimar la gravedad de la enfermedad en una escala porcentual. La escala ordinal con puntuaciones es esencialmente una escala logarítmica, donde los puntajes bajos (1) se corresponden a pequeños incrementos en la escala de porcentajes y puntajes altos (5) a incrementos más grandes (Hartung y Piepho 2007). Las escalas logarítmicas son ampliamente utilizadas en el mejoramiento ya que constituyen la forma más conveniente de evaluar la gravedad de la enfermedad a través de un óptimo balance entre simplicidad y precisión (Hartung y Piepho 2007; Laidig et al. 2021). Otras metodologías para el análisis de datos ordinales o la utilización de transformaciones derivan en distorsiones en el orden de los genotipos generando conclusiones incorrectas o poco razonables (Laidig et al. 2021). A su vez, los gráficos diagnóstico derivados de este trabajo, así como las conclusiones alcanzadas por Laidig et al. (2021) demuestran que no hay grandes desviaciones de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, siendo esta evidencia suficiente para garantizar la validez del modelo (Kozak y Piepho 2018).

La repetibilidad expresa la proporción de la variación total que es reproducible entre mediciones repetidas del mismo individuo (Nakagawa y Schielzeth 2010). En este sentido, los altos valores de repetibilidad observados en todos los ambientes demostraron, que además de las escalas, los ambientes fueron apropiados, con niveles de infección que permitieron una evaluación precisa. El fenotipado de enfermedades en ambientes con inóculo natural es menos común en la literatura, donde predomina la infección artificial. Esto se debe a que en ambientes con inóculo natural no siempre se pueden alcanzar

niveles adecuados y distribución uniforme de la enfermedad, lo que provoca inconsistencias en el fenotipado (Kistner et al. 2022a). Sin embargo, aprovechar ambientes naturales con alta y uniforme presión de inóculo presenta importantes beneficios biológicos, ambientales y económicos. En este trabajo, buscamos explotar estos beneficios a través de una correcta selección de ambientes, priorizando el inóculo natural para evitar el impacto de introducir nuevos patógenos.

CRM se evaluó en la región maicera Argentina, donde la enfermedad es endémica y se presenta todos los años con niveles de severidad variables, principalmente en fechas de siembra tempranas (Gonzalez 2005; Gonzalez et al. 2011; Rossi et al. 2020a). La propia localidad de Pergamino fue seleccionada para estudiar la diversidad racial del patógeno, lo que destaca su importancia en relación con la enfermedad (Gonzalez et al. 2011; Darino et al. 2016). Asimismo, la prevalencia e importancia de BLS en la región pampeana, y concretamente en la localidad de Pergamino, fue confirmada por Plazas et al. (2018). Los ensayos de SLB se realizaron en un lote con una larga historia de monocultivo de maíz, en el noroeste de Argentina, donde predomina un clima tropical favorable para la enfermedad (Peel et al. 2007). La presencia del patógeno en el lote se confirmó mediante la recolección de muestras con síntomas característicos y la realización de los postulados de Koch. Para evaluar NLB, se realizaron ensayos en la provincia de Córdoba, donde el nivel de prevalencia e infección es del 100% todos los años (De Rossi et al. 2022). En un solo ambiente se optó por la inoculación artificial para la caracterización de NLB (“Ambiente K en la localidad de Pergamino, provincia de Buenos Aires”) dado que experimentos previos demostraron baja presión de inóculo natural. La alta correlación del ranking de genotipos entre la localidad con inoculación artificial y las localidades con infección natural demostró que ambas metodologías son plausibles para el fenotipado. Este resultado favorable posiblemente se deba a la caracterización local de razas fisiológicas del patógeno, a la elección de una raza representativa para la preparación del inóculo y a un correcto ajuste del protocolo de inoculación (Gaikpa y Miedaner 2019; Navarro et al. 2021). Los testigos resistentes incluidos en cada experimento permitieron confirmar que la selección de ambientes fue correcta para las cuatro enfermedades foliares.

Las resistencias a FER y GER (podredumbres de espiga) se evaluaron mediante una escala de severidad ordinal de siete puntos (1-a-7). Por lo tanto, los puntos discutidos anteriormente para las escalas ordinales se aplican igualmente a esta escala. A diferencia de las enfermedades foliares, la evaluación de las podredumbres de espiga se realizó exclusivamente bajo infección artificial. Esta decisión se basó en la experiencia del grupo de mejoramiento de INTA Pergamino con la enfermedad, dado que los patógenos ingresan a través del canal del estigma o heridas, generando una infección poco uniforme (Iglesias et al. 2010; Presello et al. 2011; Giomi et al. 2016, 2021). La alta repetibilidad de la resistencia a FER y a GER demostró la efectividad de la metodología de trabajo y fue comparable con valores reportados en la literatura.

La resistencia a CSM se evaluó mediante la incidencia del número de carbones por planta. El análisis de los datos se realizó utilizando un modelo MLGM debido a la naturaleza discreta de la variable

respuesta. La visualización del conjunto de datos determinó la presencia de un exceso de ceros, es decir, una mayor cantidad de ceros en los valores observados de lo que se esperaría según una distribución de Poisson. Entre las metodologías para modelar excesos de ceros se optó por el modelo inflado en cero con distribución Poisson, porque fue el MLGM con menor AIC y sin sobredispersión (Zuur et al. 2009). El uso del MLGM permitió realizar una estimación tanto en la escala original, a través de la inversa de la función de enlace, como en la escala latente subyacente (Nakagawa y Schielzeth 2010). Los resultados presentados corresponden a la escala latente, con la excepción de la interpretación biológica para la cual se utilizó la escala original.

La H^2 es una extensión de la repetibilidad con mediciones repetidas en diferentes localidades y años, es decir ambientes (Nakagawa y Schielzeth 2010). Todas las resistencias resultaron en estimaciones de H^2 altas. Estos resultados indican una alta σ_g^2 y baja σ_e^2 y σ_{GXA}^2 . La alta y estadísticamente significativa σ_g^2 demostró que la diversidad presente en el germoplasma es significativa, un requisito esencial para la selección y el progreso genético de un programa de mejoramiento (Woyann et al. 2020). La magnitud de la σ_e^2 demuestra nuevamente la precisión del fenotipado en los ambientes, es decir, que la metodología de evaluación fue consistente a través de los ambientes. Por su parte, la σ_{GXA}^2 , no fue estadísticamente significativa y representó una pequeña proporción de σ_F^2 , por lo tanto, solo unos pocos ambientes representativos serían necesarios para el fenotipado de estas enfermedades, lo que se traduce en una mayor eficiencia en la selección e incorporación de resistencias en programas de mejoramiento genético (Yan et al. 2007). En los MLGM, la σ_e^2 se puede calcular directamente, al igual que en un MLM, sin embargo, los MLGM no proporcionan una estimación directa de la σ_e^2 . Esta varianza podría calcularse “equivalentemente” a través de tres componentes: una varianza específica inherente a la escala latente (enlace), un parámetro de (sobre)-dispersión de escala de datos expresado en relación con la varianza específica de distribución de escala latente (sobre dispersión multiplicativa) y una varianza residual en la escala latente (sobre dispersión aditiva) (Nakagawa y Schielzeth 2010). Sin embargo, esta metodología no es viable para el modelo inflado en ceros que asume dos tipos de distribuciones para los diferentes tipos de ceros. En la literatura hay poca documentación acerca de la mejor metodología para determinar de H^2 a través de un MLGM. Por este motivo, en este trabajo la H^2 Estándar se obtuvo aproximando un MLM y la H^2 Cullis a través de los componentes derivados del MLGM utilizado para obtener los BLUP. A pesar de que ambas metodologías derivaron en valores razonables, y de que la H^2 Estándar fue superior, es probable que la H^2 Cullis sea más conveniente, dado que deriva de un modelo apropiado para la variable respuesta, y disminuye el riesgo de sobre estimaciones asociada desbalances en el conjunto de datos (Piepho y Möhring 2007; Schmidt et al. 2019). De acuerdo con los trabajos de Schmidt et al. (2019), el cálculo de la H^2 a través de la metodología estándar (Ecuación 1) dio como resultado una sobreestimación del valor de H^2 asociado a datos desbalanceados (Piepho y Möhring 2007; Schmidt et al. 2019). En este trabajo, la diferencia entre ambas metodologías no fue tan grande, dado que básicamente se trabajó con el mismo conjunto de genotipos y se produjeron mínimas pérdidas de

datos. En la práctica, deberían preferirse los métodos alternativos (Ecuación 5) por su rapidez y menor sesgo. En la literatura, los trabajos más recientes optan por otras metodologías alternativas para calcular la H^2 (**Tabla II-3**). La metodología más habitual es la de Holland et al. (2002), que contempla el efecto del desbalance de los datos mediante la inclusión de medias armónicas en la Ecuación 1 para el número de ambientes y repeticiones. Si bien esta metodología es válida y deriva en resultados más precisos que a través de la H^2 Estándar, la H^2 Cullis permite no solo contemplar el efecto del desbalance de los datos, sino también extrapolar el cálculo tanto a MLM como a MLGM.

Nuestras estimaciones de la H^2 para las resistencias evaluadas dieron como resultado valores elevados. Estos valores coinciden con los valores publicados en la literatura, lo que demuestra que la resistencia a enfermedades es un carácter cuantitativo altamente heredable, que permite llevar a cabo una selección altamente eficiente. A su vez, dado que en este trabajo trabajamos con líneas endocriadas, podemos asumir que la H^2 es similar a la h^2 , ya que la varianza debida a los efectos de dominancia y epítasis carece de importancia, predominando el componente aditivo (σ_A^2) (Ecuación 2). La menor H^2 correspondió a la resistencia a CSM, resultado que podría explicarse por una menor σ_G^2 dada una importante proporción de genotipos resistentes y la distribución discreta de la enfermedad. No obstante, este valor de H^2 (0,63) sigue siendo un valor alto para un carácter cuantitativo.

La composición del panel de genotipos se caracterizó por una importante proporción de genotipos resistentes a CRM, BLS, una proporción intermedia de genotipos resistentes a CSM y una baja proporción de genotipos resistentes a GER, FER, SLB, y NLB. La alta proporción de genotipos resistentes a patógenos predominantemente biótropos y la baja proporción de genotipos resistentes a patógenos predominantemente necrótrofos indicaría que, durante el proceso de selección, se habrían seleccionado indirectamente mecanismos de resistencia mayormente asociados a patógenos biótropos en detrimento de mecanismos de resistencia a asociados a patógenos necrótrofos. Esta posibilidad incluye la respuesta mediada por ácido salicílico en respuesta a ataques biotróficos frente a la respuesta mediada por ácidos jasmónico/etileno en respuesta a ataques de patógenos necrótrofos (Spanu y Panstruga 2017) o la explotación de la HR como una forma de controlar patógenos biótropos que favorecen a los patógenos necrótrofos (Mengiste 2012; Balint-Kurti 2019).

Además, se comprobó que el panel está compuesto principalmente por genotipos MDR, y que los genotipos que no son resistentes a ninguna enfermedad, o son solo resistente a una, representan apenas un 5 % del panel. Estos resultados indicarían que la MDR es un fenómeno frecuente en el germoplasma utilizado y que probablemente sea consecuencia de la larga historia de adaptación y selección de los genotipos al ambiente local. La MDR presente en el panel corresponde principalmente a genotipos resistentes simultáneamente a tres enfermedades, aunque también se destaca la MDR a cinco, cuatro y dos enfermedades. A pesar de estos resultados, la mayor proporción de combinaciones de MDR está compuesta por entre 1 y 12 genotipos, siendo la más frecuente la combinación CRM-BLS-CSM. Las combinaciones de MDR en el panel no se corresponden con las correlaciones genéticas observadas entre

pares de enfermedades. Esta observación puede ser consecuencia de una proporción desigual de genotipos resistentes a las diferentes enfermedades y un número reducido de representantes por combinación. A pesar de este resultado, resulta interesante identificar las bases moleculares asociadas a estos genotipos MDR, ya que la MDR es una característica frecuente en el panel.

Las correlaciones genéticas entre pares de resistencias fueron de bajas, aunque comparables con aquellos valores informados en la literatura (Lopez-Zuniga et al. 2019; Qiu et al. 2020a; Kistner et al. 2021). Solamente la correlación entre FER y GER, y entre NLB y SLB fueron estadísticamente significativas. Una alta correlación genética puede indicar que las bases genéticas de dos caracteres son comunes, ya sea por la presencia de genes pleiotrópicos o de regiones genómicas comunes (Falconer y Mackay 1996). La mayor correlación se observó entre la resistencia a las dos podredumbres de espiga (FER y GER), lo que podría indicar que alguna característica de la espiga conferiría resistencia. Trabajos previos han sugerido que algunas características del grano, como la composición y el grosor de la capa de cera, la composición de fenilpropanoides en el pericarpio, o el perfil de compuestos volátiles en el estigma o granos, podrían estar asociadas con la resistencia a la podredumbre de espiga y reducir la acumulación de micotoxinas (Sampietro et al. 2009, 2013; Fauguel et al. 2017). Las correlaciones entre resistencias a enfermedades foliares y de espiga fueron cercanas a cero, y sin significancia estadística, por lo que diferentes mecanismos moleculares determinarían la resistencia a enfermedades en diferentes órganos. Por su parte, la correlación entre ambas podredumbres de espiga (FER y GER) respecto a CSM también fue cercana a cero, lo cual concuerda con la naturaleza necrotrófica versus biotrófica de los agentes causales. La correlación genética entre NLB y SLB fue relativamente alta, lo que podría asociarse a que ambos patógenos (*E. turcicum* y *C. heterostrophus*) tienen fases necrotróficas predominantes, y a algún mecanismo de detoxificación o refuerzo de las paredes celulares subyacente a la resistencia (Wisser et al. 2011; Zhao et al. 2012; Yang et al. 2017b; Human et al. 2020). Aunque en el panel existe una alta proporción de genotipos resistentes a CRM y BLS, y que ambos agentes causales (*P. sorghi* und *X. vasicola*) tienen fases biotróficas predominantes, la correlación entre ambas resistencias fue negativa. En este sentido, es posible que no haya genes pleiotrópicos o genes ligados asociados a ambas resistencias (Wisser et al. 2011).

La MDR resultó más frecuentemente representada por genotipos con resistencia a más de dos resistencias, por lo tanto, la representación gráfica del ACP a través de un biplot de variables y observaciones resultó más informativa que las correlaciones entre pares de resistencias. En este sentido, el gráfico permitió identificar grupos de genotipos con MDR general, MDR a enfermedades foliares y MDR a enfermedades de espiga. Estos resultados indican un papel principal de los mecanismos de resistencia asociados al órgano afectado y un papel secundario del estilo de vida del patógeno involucrado.

La selección de genotipos con MDR se podría haber realizado intuitivamente seleccionando aquellos genotipos resistentes al mayor número de enfermedades. Sin embargo, el uso de índices de selección

ofrece la posibilidad de aumentar la eficiencia y el progreso genético en la siguiente generación. Por tal motivo, los cuatro índices de selección evaluados se compararon en función de su eficiencia (cantidad de genotipos seleccionados correctamente) y de la GG del índice (incremento promedio de la resistencia o disminución promedio de la susceptibilidad de la población en la próxima generación). Se consideró una eficiencia del 100 % a la selección de los siete genotipos definidos como MDR. Esta eficiencia no se alcanzó con ninguno de los índices estudiados, sin embargo, las GG obtenidas con todos los índices fueron mayores que la GG alcanzada seleccionando manualmente a los genotipos MDR. En este sentido, la GG es un parámetro más importante que la eficiencia, ya que indica el progreso genético, que es el objetivo principal del programa de mejoramiento genético (Falconer y Mackay 1996).

Entre los cuatro índices comparados, la mayor GG se obtuvo con los índices MDR y Elson, que seleccionaron el mismo conjunto de genotipos. En este sentido, cualquiera de estos dos índices podría recomendarse para la selección de MDR. En una publicación previa, Kistner et al. 2022 estudiaron los cuatro índices propuestos para la selección de resistencias a cuatro enfermedades foliares, identificando al índice ACP como el más apropiado. En aquel trabajo, los tizones, que coinciden con las resistencias de mayor variación genética y correlación, se ordenaron sobre la CP1 de izquierda a derecha de menor a mayor resistencia, mientras que sobre la CP2 se ordenaron los genotipos según su comportamiento frente a CRM (abajo) y BLS (arriba). Dada la alta proporción de genotipos resistentes a CRM y BLS, la selección basada en el ACP, que se basa principalmente en la CP1, resultó exitosa. La inclusión de más resistencia (variables) favoreció que la selección basada en el índice ACP se inclinara por aquellas resistencias con mayor peso en la CP 1 (FER, GER y CSM) en detrimento de aquellas más representadas por la CP 2.

En función de estos resultados, se puede concluir que el mejor índice depende del conjunto de resistencias estudiadas y de las relaciones entre ellas. El índice ACP resulta útil cuando se trabaja con resistencias altamente correlacionadas o bien cuando aquellas con menor necesidad de progreso genético tienen mayor peso sobre la CP2. Cuando se trabaja con un gran número de resistencias, asociadas a órganos y patógenos tan diversos, es de esperar que los mecanismos subyacentes sean también diferentes y que no exista correlación entre ellas o sea negativa. En este sentido, los índices MDR y Elston resultan más recomendables. El uso de un índice proporciona siempre una mayor GG que la selección intuitiva de genotipos MDR (genotipos con resistencias a más enfermedades) y que la selección indirecta de MDR (a partir de una sola resistencia). De todas formas, la decisión final sobre qué índice es el mejor queda a criterio del mejorador, ya que es posible que se desee favorecer la GG de determinadas resistencias y no la GG general.

A excepción del índice ACP, todos los demás incluyeron en la selección a la línea **LP 178**, la única línea del panel que resultó resistente simultáneamente a las siete enfermedades. La línea **LP 178** es una línea de ciclo intermedio con endosperma Flint y, grano anaranjado que fue derivada de germoplasma tropical Suwan (Kistner et al. 2022a). El endosperma Flint se reconoce por su mayor resistencia a los patógenos

de la espiga en comparación con el endosperma de tipo dentado, ya que tiene una textura dura y vítrea, a diferencia de la textura blanda y harinosa de los dentados (Sampietro et al. 2009; Giomi et al. 2016). Por su parte, cabe esperar una mayor contribución de alelos de resistencia en el germoplasma tropical, dada la mayor presión de selección de los ambientes tropicales en comparación con ambientes templados (Galiano-Carneiro et al. 2021; Gaikpa et al. 2021). Esta combinación de características podría explicar la MDR asociada a las siete enfermedades. En contraposición, la única línea con MDS del panel (**83525**, susceptible a las siete enfermedades) es una línea semidentada con un fondo genético amplio que incluye germoplasma argentino-caribe, compuesto II, y poblaciones locales en su pedigree. A pesar del amplio fondo genético disponible, la línea fue seleccionada por sus atributos de calidad, como un alto contenido de ácido oleico. Estos atributos, combinados con la presencia de un endosperma harinoso, podrían haber sido criterios de selección prioritarios en detrimento de la resistencia a enfermedades.

En resumen, los resultados de este capítulo permitieron una primera aproximación al estudio de la MDR en germoplasma argentino de maíz, sentando las bases para un estudio de GWAS exitoso. Esta afirmación se deriva de las altas H^2 obtenidas que indican: i) un diseño experimental eficiente, ambientes y escalas de evaluación apropiadas que minimizaron la σ_e^2 para todas las resistencias estudiadas; ii) una alta σ_G^2 presente en el germoplasma para todas las resistencias estudiadas. Además, nuestros resultados demostraron la presencia de una alta proporción de genotipos MDR que incluyen múltiples combinaciones de resistencias probablemente asociadas a diversos alelos de MDR presentes en el panel.

CAPÍTULO III : GWAS PARA MDR

Resumen

El GWAS es una de las técnicas más utilizadas para identificar QTL asociados a resistencia a enfermedades. El objetivo principal de este capítulo fue identificar regiones de MDR en un panel de genotipos de maíz mediante GWAS. El GWAS se realizó con los BLUP de las siete resistencias obtenidos en el capítulo II y ~41K SNP en un subconjunto del panel compuesto por 63 genotipos. El análisis de la estructura poblacional no mostró una clara estructuración, sino más bien una estratificación asociada a las relaciones de parentesco. El análisis de caída de LD reveló una distancia promedio de caída del LD de 326 Kb, una distancia mínima de 175 Kb en el cromosoma 1 y una máxima de 460 Kb en el cromosoma 9. El GWAS derivó en la identificación de 26 QTL para tres de las resistencias estudiadas. La mayor proporción de QTL ($n=20$) se asoció con resistencia a SLB, explicando conjuntamente un 16 % de la σ_G^2 total, mientras que para NLB y BLS se identificaron tres y dos QTL, respectivamente, que explicaron entre el 2 % y el 3 % de la σ_G^2 total. El *bin* 3.04 fue el que presentó más QTL y coincide con la ubicación del *qMDR.3.04*, que fue el único QTL de MDR (resistencia a BLS y SLB). Dentro de las regiones en LD de los 26 QTL de resistencia se localizaron un total de 355 genes candidatos. El análisis de los genes candidatos basado en la anotación funcional permitió identificar 73 genes dentro de las regiones candidatas putativamente asociados con mecanismos de resistencia. La mayor cantidad de genes candidatos se localizó en el *bin* 3.04, región que coincidió con publicaciones de otros autores como una región de MDR. Entre los genes candidatos identificados, se destacaron funciones enzimáticas, proteínas estructurales, de detoxificación y factores de transcripción. Concretamente, en el *qMDR.3.04*, el mecanismo de resistencia asociado podría derivar de la acción de una enzima lipasa y un receptor RLK.

Introducción

El GWAS ha demostrado ser una herramienta exitosa para identificar genes o QTL asociados a caracteres cuantitativos, entre ellos de resistencia a enfermedades en maíz. La **Tabla A-1** muestra varios ejemplos recientes de GWAS exitosos para resistencia a BLS (Ruiz et al. 2023), FER (Zila et al. 2014; Chen et al. 2016; Coan et al. 2018; Samayoa et al. 2019; Butrón et al. 2019), GER (Gaikpa et al. 2021), GLS (Wisser et al. 2011; Shi et al. 2014; Benson et al. 2015; Mammadov et al. 2015; Kuki et al. 2018; Omondi et al. 2023), MWS (Rossi et al. 2020a) y SLB (Kump et al. 2011; Chen et al. 2016).

El GWAS es una metodología de mapeo de QTL/genes basada en el LD que permite identificar asociaciones fenotipo-genotipo (Breseghello y Sorrells 2006; Burghardt et al. 2017). El desequilibrio de ligamiento es un fenómeno genético que ocurre cuando ciertos alelos en loci diferentes, de marcadores y/o genes/QTL, tienden a heredarse juntos con mayor frecuencia de lo que se esperaría por azar. Este fenómeno proporciona información valiosa sobre la historia evolutiva y la estructura genética de las poblaciones, así como sobre la localización de genes/QTL asociados a ciertos caracteres. A diferencia de otras estrategias de mapeo génico, el GWAS puede analizar millones de variantes alélicas simultáneamente, lo que permite realizar un análisis integral del genoma. Al aprovechar los eventos de recombinación históricos, consigue una mayor precisión que otras técnicas de mapeo (Würschum 2012; Burghardt et al. 2017; Wani et al. 2022).

El GWAS implica básicamente los siguientes pasos (**Figura III-1**): (1) selección del germoplasma, (2) caracterización fenotípica y genotípica del mismo, (3) determinación de la presencia de estratificación en la población y grado del LD, (4) establecimiento de asociaciones estadísticas fenotipo-genotipo, (5) identificación de los posibles genes y vías metabólicas candidatas (Ersoz et al. 2009; Burghardt et al. 2017).

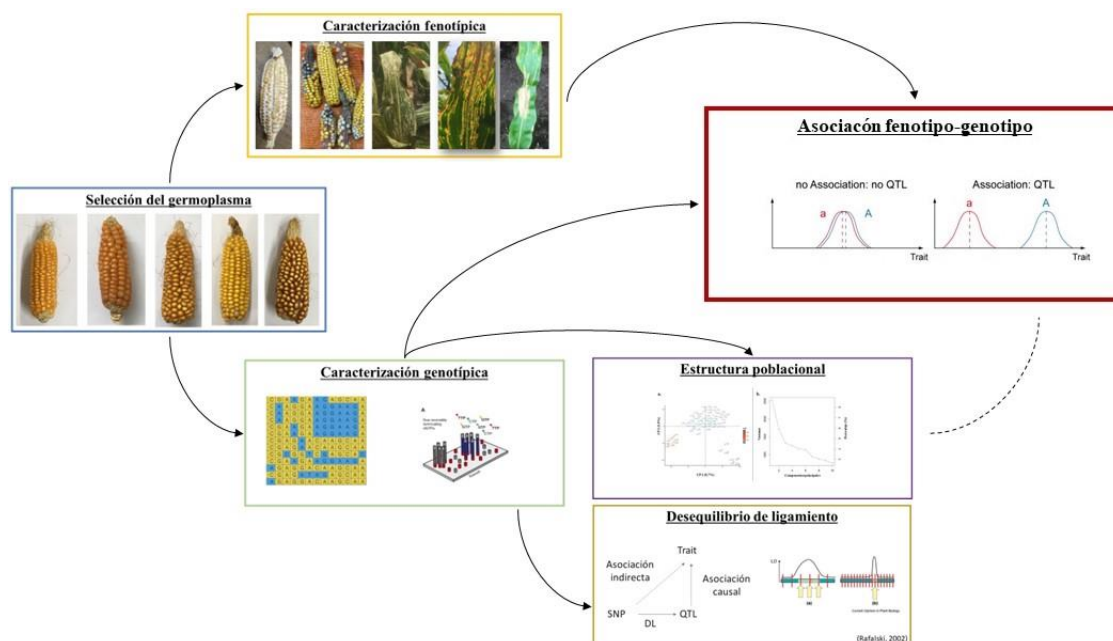


Figura III-1: Etapas del procedimiento para un mapeo de genoma completo. (1) Selección de germoplasma con amplia variación fenotípica. (2) Caracterización fenotípica. (3) Caracterización genotípica del germoplasma. (4) Estudio de la estructura poblacional y relaciones de parentesco. (5) Estudio de la extensión del LD. Figura de autoría propia.

La selección del germoplasma y su caracterización fenotípica, así como la H^2 del carácter estudiado, son determinantes para el éxito del GWAS (Burghardt et al. 2017). Estos aspectos esenciales y condicionantes se abordaron en profundidad en el Capítulo II : Fenotipado.

El genoma del maíz posee un tamaño aproximado de 2,3 Gb y una tasa de polimorfismos de aproximadamente un SNP cada 44-77 pb (Rafalski y Morgante 2004; Ganai et al. 2011). El microarreglo MaizeSNP50 BeadChip se desarrolló a partir de 800.000 SNP previamente identificados en el maíz y supuso el primer microarreglo de SNP fiable y a gran escala en maíz (Ganal et al. 2011). Su utilización fue exitosa en la identificación de QTL de resistencia a enfermedades y otras características agronómicas (Xue et al. 2013; Zila et al. 2013; Han et al. 2018).

Los microarreglos de SNP permiten estudiar diferentes características de una población. El patrón de LD depende de múltiples factores, es específico de cada población y es esencial para inferir la densidad de MM necesarios para lograr una buena resolución de mapeo (Flint-Garcia et al. 2003; Rafalski y Morgante 2004; Stich y Melchinger 2010; Van Inghelandt et al. 2012). Entre los factores que influyen en el patrón del LD, se pueden mencionar la selección, la migración, la endogamia y el tamaño de la población (Rafalski y Morgante 2004; Breseghello y Sorrells 2006). Por su parte, las mutaciones generan nuevos polimorfismos y haplotipos, y los eventos de recombinación reclasifican estas variantes de haplotipos a lo largo de las generaciones (Flint-Garcia et al. 2003; Breseghello y Sorrells 2006). La magnitud del parámetro r^2 sintetiza los eventos históricos de recombinación y mutación que ocurrieron en la población a lo largo de las generaciones, y es la medida más usada para informar el LD. Un valor de r^2 igual a cero indica que dos *loci* no se heredan de forma conjunta, mientras que valores más cercanos

a uno evidencian una fuerte asociación entre *loci* (Flint-Garcia et al. 2003; Ersoz et al. 2009). La caída y extensión del LD se verifica graficando los valores r^2 en función de una distancia física (Kb) o genética (cM) (Flint-Garcia et al. 2003; Yan et al. 2009).

La presencia de subgrupos de individuos con diferente ascendencia y las relaciones de parentesco entre ellos afectan a la extensión del LD y proporcionan falsos positivos si no se tienen en cuenta en el modelo de mapeo (Aistle y Balding 2009). Esta estructura genética puede determinarse mediante el método bayesiano propuesto por Pritchard et al. (2000), que consiste en usar un conjunto de MM aleatorios para agrupar los individuos emparentados en subgrupos. También es posible inferir la estructura poblacional a través de un ACP (Zhu et al. 2008). Por otro lado, debe determinarse el grado de parentesco entre los individuos, cuyos valores generan la matriz de parentesco o Kiship (K), que indica la probabilidad de que los gametos sean idénticos por descendencia (IBD) (Zhang et al. 2010).

Los mejores resultados de GWAS se obtienen con un número elevado de MM y una distribución uniforme en el genoma (Burghardt et al. 2017). Sin embargo, una cobertura desigual de MM es una situación frecuente en la que la imputación de datos faltantes, por ejemplo mediante el método LD-kNNi, (kNNi, del inglés *k-nearest neighbors imputation*), proporciona una solución rápida y precisa para lidiar con la falta de cobertura (Money et al. 2015; Kaler et al. 2020).

La teoría básica de un GWAS se basa en un modelo lineal para detectar diferencias significativas entre las medias asociadas a los pares de alelos de un MM (Brescaghello y Sorrells 2006; Ersoz et al. 2009; Burghardt et al. 2017). Sin embargo, este modelo básico da lugar a un gran número de falsos positivos, es decir, a un error de tipo I. En este sentido, se han desarrollado diferentes métodos estadísticos para controlar este fenómeno (Ersoz et al. 2009; Laidò et al. 2014; Kaler et al. 2020). El uso de MLM permite incorporar la estructura poblacional como covariable fija en el modelo y controlar falsos positivos asociados a la estructuración (Zhang et al. 2010). La aparición de falsos positivos también puede deberse a la multiplicidad de pruebas estadísticas que se realizan durante el análisis donde métodos como el método de la tasa de falso descubrimiento (FDR) puede utilizarse reducir el número de este tipo de resultados (Benjamini y Hochberg 1995; Ersoz et al. 2009).

El objetivo de este capítulo fue identificar genes/QTL de resistencia a enfermedades individuales o múltiples (MDR) a través de un GWAS, y asociarlos con vías metabólicas de resistencia usando un panel compuesto por 63 líneas endocriadas de maíz, pertenecientes al programa nacional de mejoramiento genético de INTA Pergamino.

Los objetivos específicos fueron:

- I) Identificar regiones de resistencia individual a siete enfermedades del maíz.
- II) Comparar regiones de resistencia a enfermedades individuales identificadas para revelar regiones comunes o *hotspots* de resistencia.
- III) Asociar las regiones candidatas a genes y vías metabólicas de resistencia.

Materiales y métodos

Fenotipado

El germoplasma, la colección y el análisis de datos fenotípicos se describieron en el capítulo anterior (ver Capítulo II: Fenotipado). En este capítulo se utilizaron los BLUP correspondientes a los 63 genotipos evaluados en los ensayos multi ambientales.

Genotipado

El genotipado se obtuvo a partir de muestras de ADN de los 63 genotipos que se caracterizaron con 56.100 SNP uniformemente distribuidos en el genoma del maíz (MaizeSNP50 BeadChip de Illumina, (Ganal et al. 2011)). Este genotipado se realizó en el marco de un convenio de vinculación tecnológica entre INTA y la empresa Syngenta Argentina. Las posiciones físicas de los SNP se ajustaron a la última versión del genoma de referencia del maíz: Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0 (B73v5) (Woodhouse et al. 2021). El control de calidad de la base de datos genómicos se realizó mediante el programa PLINK, versión 1.90 (Purcell et al. 2007), eliminando SNP según los parámetros definidos por Kaler et al. (2020): i) posición física desconocida, ii) >10 % valores faltantes, iii) <5 % MAF. Los valores faltantes se imputaron mediante el método kNNi implementado en el software TASSEL (Money et al. 2015).

Estructura poblacional y relaciones de parentesco

La estructura poblacional se determinó con el programa STRUCTURE, versión 2.3.3 (Pritchard et al. 2012). Este programa utiliza modelos bayesianos para asignar individuos a poblaciones genéticas ancestrales basadas en la similitud de sus genotipos. El método asume que las frecuencias genotípicas de los MM se encuentran en HWE (Pritchard et al. 2012). Por lo tanto, todos los MM se sometieron a una prueba de chi-cuadrado y, utilizando un valor de significancia de 5×10^{-7} , se excluyeron del análisis todos aquellos MM que se desviaron del HWE (Anderson et al. 2010). Un total de 3928 SNP en HWE se utilizaron para estudiar la estructura poblacional mediante la evaluación de 1 a 10 grupos (K) con 7 repeticiones por K. En cada repetición se descartaron las 50.000 primeras iteraciones y se consideraron las 100.000 siguientes. Los resultados se visualizaron en STRUCTURE HARVESTER (Earl y vonHoldt 2012), determinando el número óptimo de grupos según la metodología propuesta por Evanno et al. (2005). Los genotipos se subdividieron en diferentes poblaciones de acuerdo con su máxima probabilidad de pertenencia, considerando un umbral de 0,75 (Thurrow et al. 2019). La estructura poblacional también se inspeccionó mediante un ACP utilizando el paquete GAPIT 3.1.0 (Wang y Zhang 2021) en R 4.0.4 (R Core Team 2021). Las relaciones de parentesco se obtuvieron a partir de la matriz Kinship, que se calculó mediante la metodología de Endelman y Jannink (2012) implementada en TASSEL (Bradbury et al. 2007). A su vez, a partir de la matriz Kinship se generó un mapa de calor para representar la distancia de parentesco (VanRaden 2008), mediante una función implementada en GAPIT (Wang y Zhang 2021) en R 4.0.4 (R Core Team 2021).

LD

El LD se determinó mediante la estimación del coeficiente de correlación de las frecuencias alélicas (r^2) entre pares de MM (Thurrow et al. 2019). El análisis se realizó a partir del subgrupo de 41 K SNP derivados del filtrado de calidad e imputación en el software TASSEL, versión 5.2.80 (Bradbury et al. 2007). El patrón de caída del LD se evaluó por cromosoma ajustando una curva de regresión no lineal entre los valores de r^2 y la distancia física entre MM (expresada en Kb) (Hill y Weir 1988). El valor crítico correspondió al percentil 95 % de la distribución de MM no ligados, valor por debajo del cual no hay evidencia de ligamiento entre MM (r_{95}^2) (Brescghello y Sorrells 2006). Alternativamente, se consideró un valor crítico arbitrario igual a 0,10 (r_{10}^2) (Van Inghelandt et al. 2011).

Modelos de GWAS

El GWAS se realizó de forma individual para cada una de las siete resistencias estudiadas. Inicialmente se probaron para cada resistencia cuatro modelos:

- 1) GLM – Naive ($y = m_i + e$): Modelo básico sin incluir ninguna covariable para corregir la estructura poblacional o relaciones de parentesco.
- 2) GLM – Q ($y = m_i + Q + e$): Modelo que incluye la matriz Q como efecto fijo para corregir el efecto de la estructura poblacional.
- 3) MLM – K ($y = m_i + K + e$): Modelo que incluye la matriz K como efecto aleatorio para corregir el efecto de relaciones de parentesco presentes en la población.
- 4) MLM – K+Q ($y = m_i + K + Q + e$): Modelo que incluye la matriz K como efecto aleatorio para corregir el efecto de relaciones de parentesco y la matriz Q como efecto fijo para corregir el efecto de la estructura poblacional.

Para todos los modelos, y representa al fenotipo observado, m es el efecto del MM i testado, Q es la matriz derivada del programa STRUCTURE, K es la matriz de Kinship y e es el error asociado al modelo. Para los MLM, la notación matricial fue:

$$y = X\beta + Zu + e$$

Ecuación 9: Notación matricial modelo GWAS

donde y representa al vector de observaciones, β es el vector de efectos fijos (MM y estructura poblacional “Q”), u es el vector de efectos aleatorios, X y Z son las matrices que contienen el diseño y e es el error residual. Todos los modelos se corrieron con el software TASSEL (Bradbury et al. 2007). Para mejorar la visualización, los resultados se graficaron en R utilizando el paquete “qqman” (Turner 2018). El valor de corte para determinar asociaciones significativas se estableció en $-\log(0,0001)$. Para controlar la tasa de falsos positivos se utilizó el método de FDR (Benjamini y Hochberg 1995) ajustando los valores p con la función p.adjust de R (Qiu et al. 2024). Los MM se declararon significativos utilizando una FDR del 5 %.

La contribución fenotípica individual de cada QTL se calculó comparando el modelo completo, que incluyó todos los MM, y el modelo reducido, que excluyó al MM significativo. La σ_G^2 explicada por el QTL de interés se calculó mediante la Ecuación 10 (Utz et al. 2000):

$$\sigma_G^2 = \frac{R_{adj}^2}{H^2} \quad \text{Ecuación 10: } \sigma_G^2 \text{ explicada por un QTL}$$

donde R_{adj}^2 corresponde al R^2 del MLM que incluye todos los MM significativos y H^2 estimada del carácter.

Estudio de la MDR

Las posiciones físicas de todos los SNP significativos se compararon a nivel cromosoma, bin cromosómico y bloque de ligamiento. El tamaño del bloque de ligamiento se estableció considerando la distancia de caída del LD del cromosoma, es decir, los Kb anteriores y posteriores al SNP significativo (Yang et al. 2020). Los SNP en un mismo bloque de ligamiento se designaron como un QTL, denominándolo según la resistencia y el bin cromosómico asociado. Se añadió un número consecutivo cuando se identificaron más de un QTL en el mismo bin para la misma resistencia. El genoma de maíz de referencia B73v5 disponible en maizeGDB (<http://www.maizegdb.org>) se utilizó para explorar el bloque de ligamiento alrededor de los QTL en busca de genes candidatos de resistencia (Li et al. 2024). Un análisis de enriquecimiento basado en la anotación funcional de los genes candidatos identificados se llevó adelante a través de la herramienta bioinformática DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>, Huang et al. 2009; Sherman et al. 2022). Además, los términos GO basados en las categorías “componente celular”, “función molecular” y “proceso biológico” se complementaron con información extraída de las bases de datos genómicos IntrePro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) y QuickGO (<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>). La categoría “componente celular” hace referencia a la estructura subcelular o a la localización donde los productos del gen son activos; la “función molecular” se refiere a la función bioquímica realizada por el gen; y el “proceso biológico” describe el proceso biológico o la vía metabólica en la que participa el producto del gen (<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>). En función de estas tres categorías, se seleccionaron genes candidatos con una posible asociación a mecanismos de defensa.

Resultados

Genotipado, estructura poblacional, Kinship y LD

De los 56.100 SNP originales, se conservaron 41.576 SNP luego del filtrado de calidad. Los criterios de eliminación fueron los siguientes: i) SNP sin posición física conocida (8437 SNP), ii) $> 10\%$ de valores faltantes (331 SNP), iii) $MAF < 5\%$ (5.756 SNP). En cada cromosoma se localizaron en promedio de 4.158 SNP, siendo el cromosoma 1 el de mayor densidad de SNP (6568 SNP) y el cromosoma 9 el de menor densidad (3014 SNP) (**Tabla III-1**). Todos los cromosomas mostraron una tasa de heterocigosidad baja, en promedio del 3,97 %. La menor tasa se observó en el cromosoma 8 (3,44 %) y la mayor en el cromosoma 2 (4,87 %) (**Tabla III-1**). La distancia física promedio entre MM fue de 51 Kb, aunque la distancia mínima y máxima media observada entre MM presentó una considerable amplitud, oscilando entre 1 Pb y 3462 Kb, respectivamente (**Tabla III-1**).

Tabla III-1: Medidas resumen asociadas a la distribución de MM del MaizeSNP50 BeadChip de Illumina luego del filtrado de calidad.

Cromosoma	Número de SNP	Tasa de heterocigosidad (%)	Distancia media entre SNP (Kb)	Distancia mínima entre SNP (Pb)	Distancia máxima entre SNP (Kb)	Distancia de caída de DL (Kb)	Número SNP mínimo
1	6.568	4,12	47	1	1.809	175	1.754
2	5.025	4,87	49	1	1.344	200	1.534
3	4.683	3,61	50	1	1.600	320	959
4	4.493	3,75	55	1	2.169	455	674
5	4.448	3,77	50	1	1.364	255	1.203
6	3.269	3,86	53	1	3.462	355	864
7	3.512	3,47	52	1	1.241	340	903
8	3.523	3,44	51	1	2.379	450	682
9	3.014	4,80	53	1	2.379	460	667
10	3.041	4,03	50	1	968	250	1.228
Total	41.576	-	-	-	-	-	-
Promedio	4.158	3,97	51	1	3.462	326	10.468

Cromosoma: Identificación del cromosoma analizado. Número de SNP: Total de SNP identificados en cada cromosoma. Tasa de heterocigosidad (%): Porcentaje de loci heterocigotos dentro del conjunto de SNP. Distancia media entre SNP (Kb): Promedio de distancia entre SNP en kilobases (Kb). Distancia mínima entre SNP (Pb): Menor distancia observada entre dos SNP, en pares de bases (Pb). Distancia máxima entre SNP (Kb): Mayor distancia observada entre dos SNPs, en kilobases (Kb). Distancia de caída de DL (Kb): Longitud en la que el desequilibrio de ligamiento (LD) decae, en kilobases. Número SNP mínimo: Cantidad de mínima de SNP necesarios para un mapeo de asociación basado en la distancia de caída de LD.

El estudio de la estructura poblacional se abordó mediante un análisis bayesiano y un ACP. El análisis bayesiano mostró un pico del valor delta K en 2, por lo que se infiere la presencia de dos subgrupos en la población (**Figura III-2**). El subgrupo principal incluyó 42 genotipos, mientras que un subgrupo secundario incluyó ocho genotipos (**Figura III-3**). Además, 12 genotipos no pudieron clasificarse en ninguno de estos dos subgrupos. La probabilidad de pertenencia a cada una de las subpoblaciones se proporciona en la **Tabla A-10**.

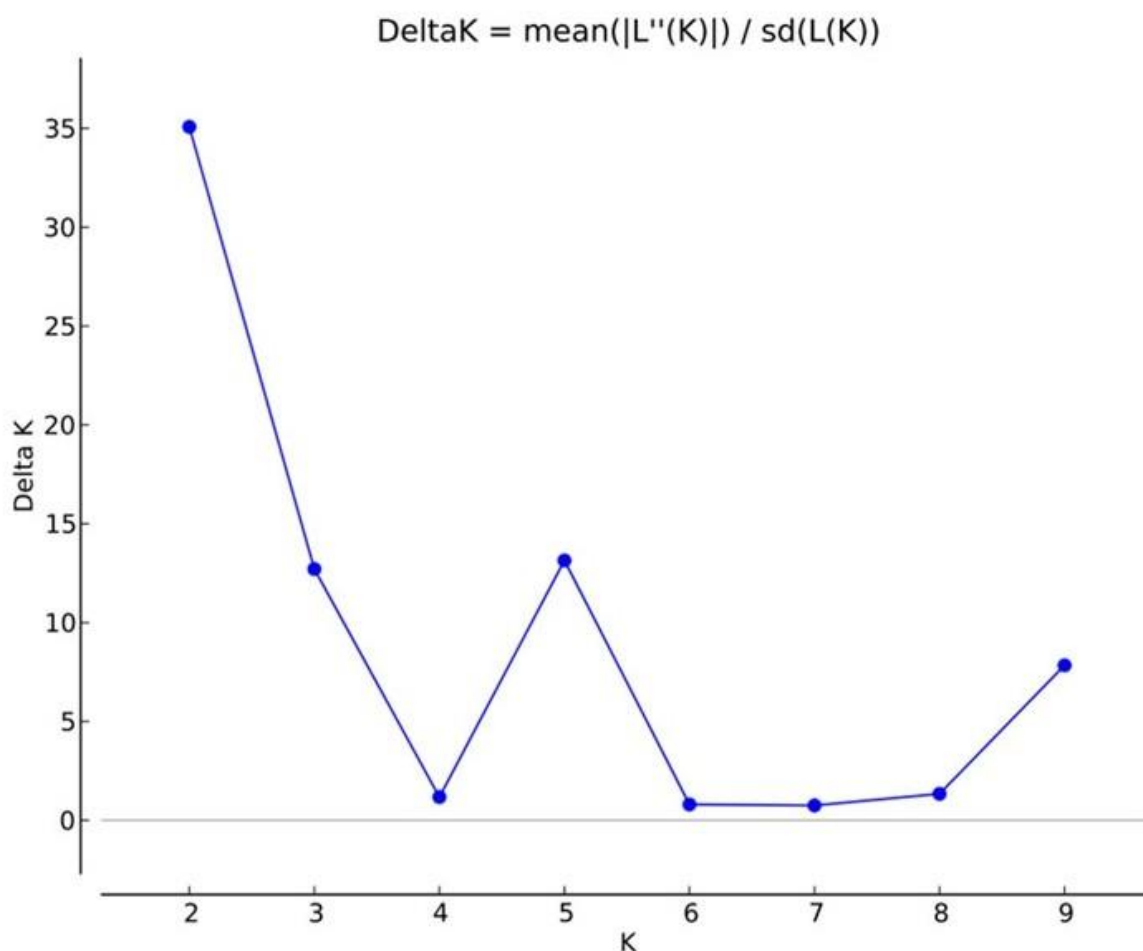


Figura III-2: Gráfico de Evanno et al. (2005) para la detección del óptimo K grupos en la población.

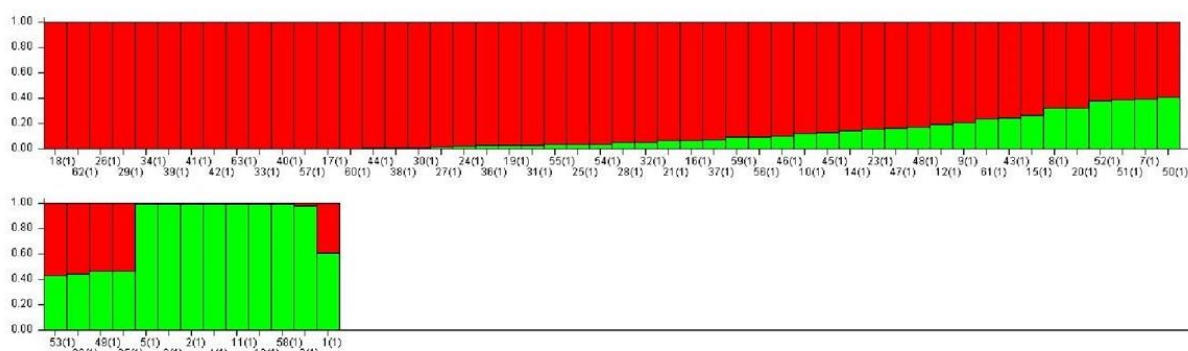


Figura III-3: Agrupamiento bayesiano de 63 genotipos (K=2).

Por su parte, el ACP agrupó a los genotipos en cinco grupos, uno principal que contuvo a la mayor cantidad de genotipos y cuatro secundarios con entre 3 y 4 genotipos cada uno de ellos (**Figura III-4**). Las tres primeras CP explicaron el mayor porcentaje de la σ_F^2 observada (7,0 %, 4,8 % y 4,2 %, respectivamente) y conjuntamente un 16 % (**Figura III-4**).

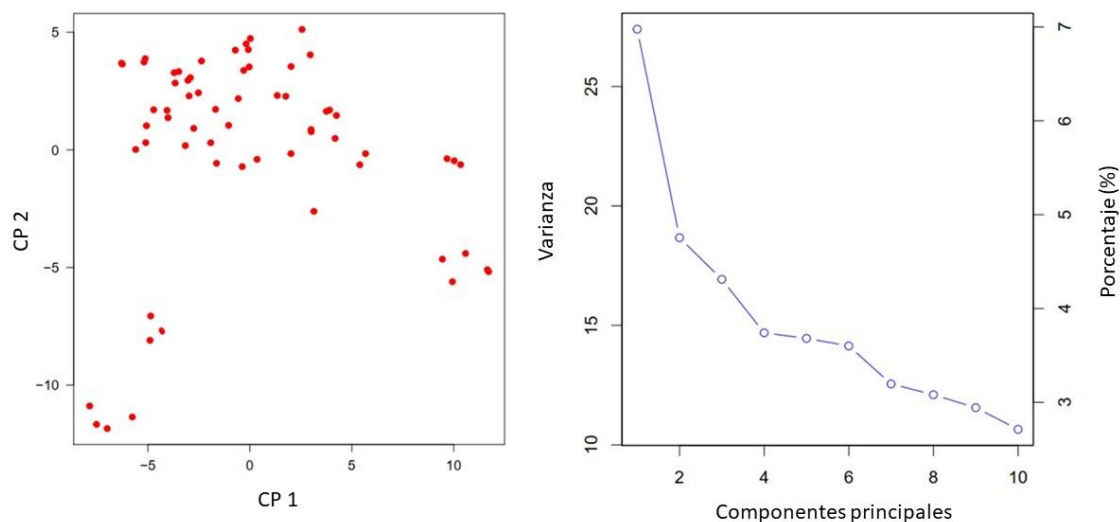


Figura III-4: ACP. Izquierda: Gráfico de ACP de 63 genotipos calculado a partir de ~41K SNP, donde el eje x corresponde al CP1 y el eje y al CP 2. Derecha: Varianza acumulada de las CP del ACP expresada en valores absolutos y porcentaje.

Las relaciones de parentesco entre individuos determinadas a través del coeficiente de consanguinidad derivado de la matriz Kinship, se representan gráficamente en un mapa de calor (**Figura III-5**). Las relaciones de parentesco más cercanas están asociadas a genotipos con antecesores comunes. Los principales antecesores están representados por:

- i) P465: Población local Flint anaranjada (n=7).
- ii) SSD: Híbrido comercial amarillo semidentado (n=5).
- iii) FADC: Flint argentino (P1338) x dentado canadiense (n=4).
- iv) FCA: Población Flint colorada argentina (n=7).
- v) CAC/CI-II: Compuestos Argentino-Caribe, I, II (n=14).

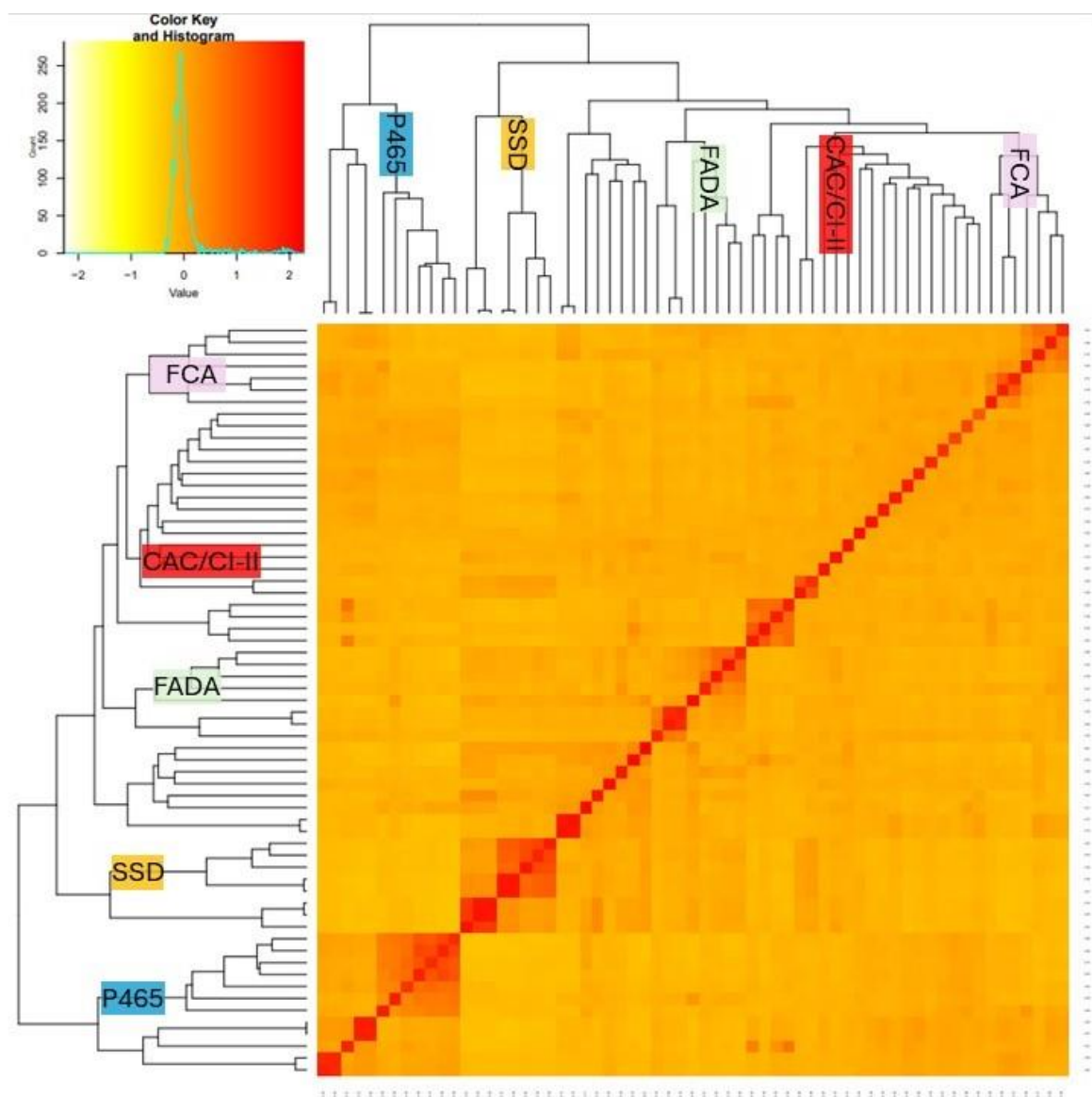
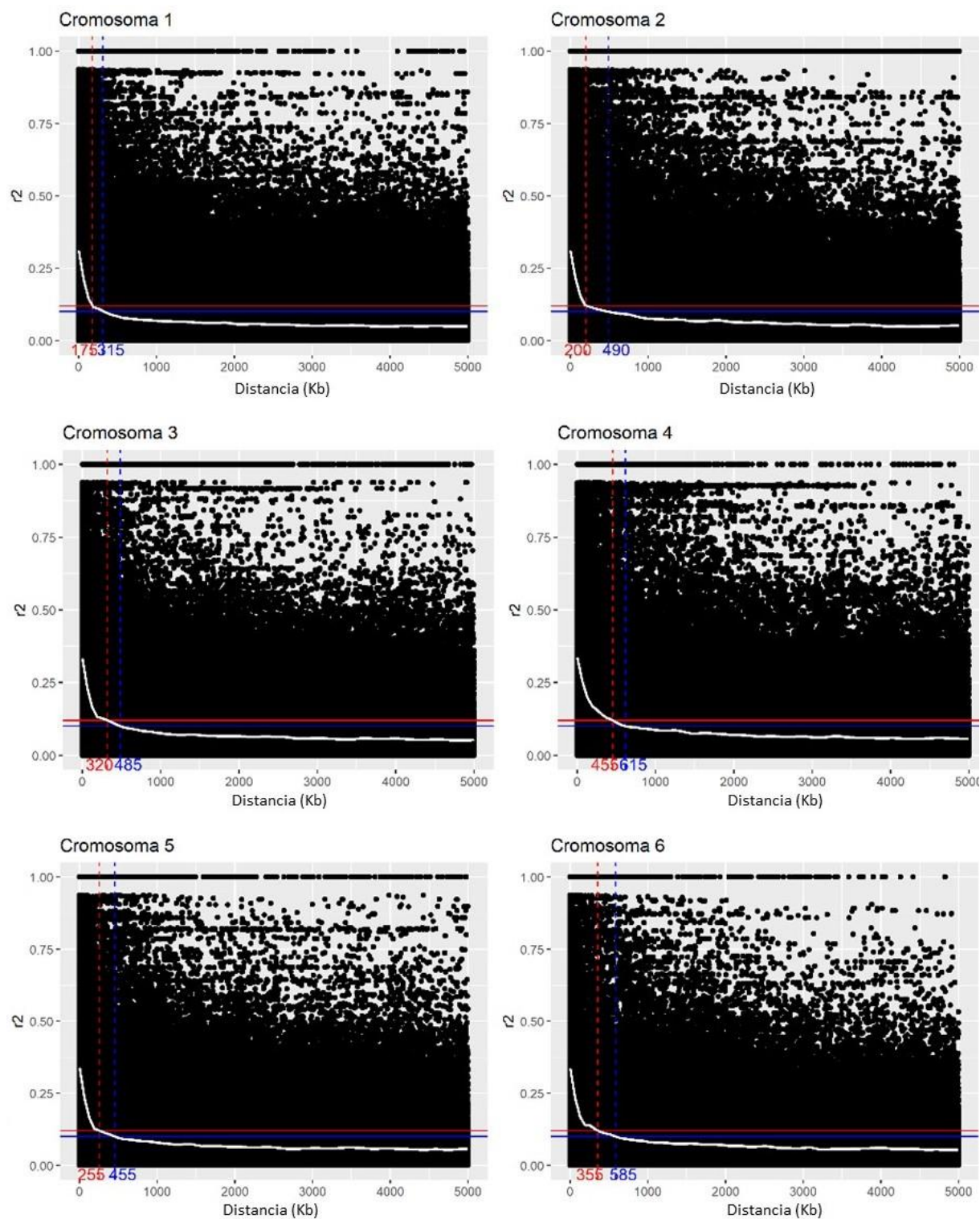


Figura III-5: Mapa de calor de valores derivados de la matriz Kinship basados en ~ 41 K SNP y 63 genotipos. El histograma muestra la distribución de los coeficientes de consanguinidad. El color rojo más intenso indica genotipos cercanamente emparentados.

El patrón de caída del LD por cromosoma se observa en la **Figura III-6**. El valor crítico, derivado del percentil 95 % de la distribución de MM no ligados por debajo del cual no hay evidencia de ligamiento entre MM, fue $r_{95}^2 = 0,12$. Considerando este valor, la distancia de caída de LD promedio fue de 326 Kb. A nivel cromosómico, la distancia de caída de LD osciló entre un valor mínimo de 175 Kb en el cromosoma 1 y un valor máximo de 460 Kb en el cromosoma 9 (**Figura III-6** y **Tabla III-1**). Si se considera el valor de corte arbitrario ($r_{10}^2 = 0,10$), la distancia promedio de caída de LD fue de 584 Kb, con un valor mínimo de 315 Kb en el cromosoma 1 y un valor máximo de 905 Kb en el cromosoma 9. Aunque la diferencia entre ambos valores umbral es mínima, la diferencia en la distancia de caída de LD se duplicó, motivo por el cual es importante evaluar el valor umbral dentro de la población bajo estudio y no utilizar un valor arbitrario. De aquí en adelante, se consideran solamente los resultados

obtenidos con el valor umbral $r_{95}^2 = 0,12$. El número mínimo de SNP necesarios para el GWAS coincide con el patrón de caída del LD y oscila entre 667 y 1754 SNP (**Tabla III-1**).



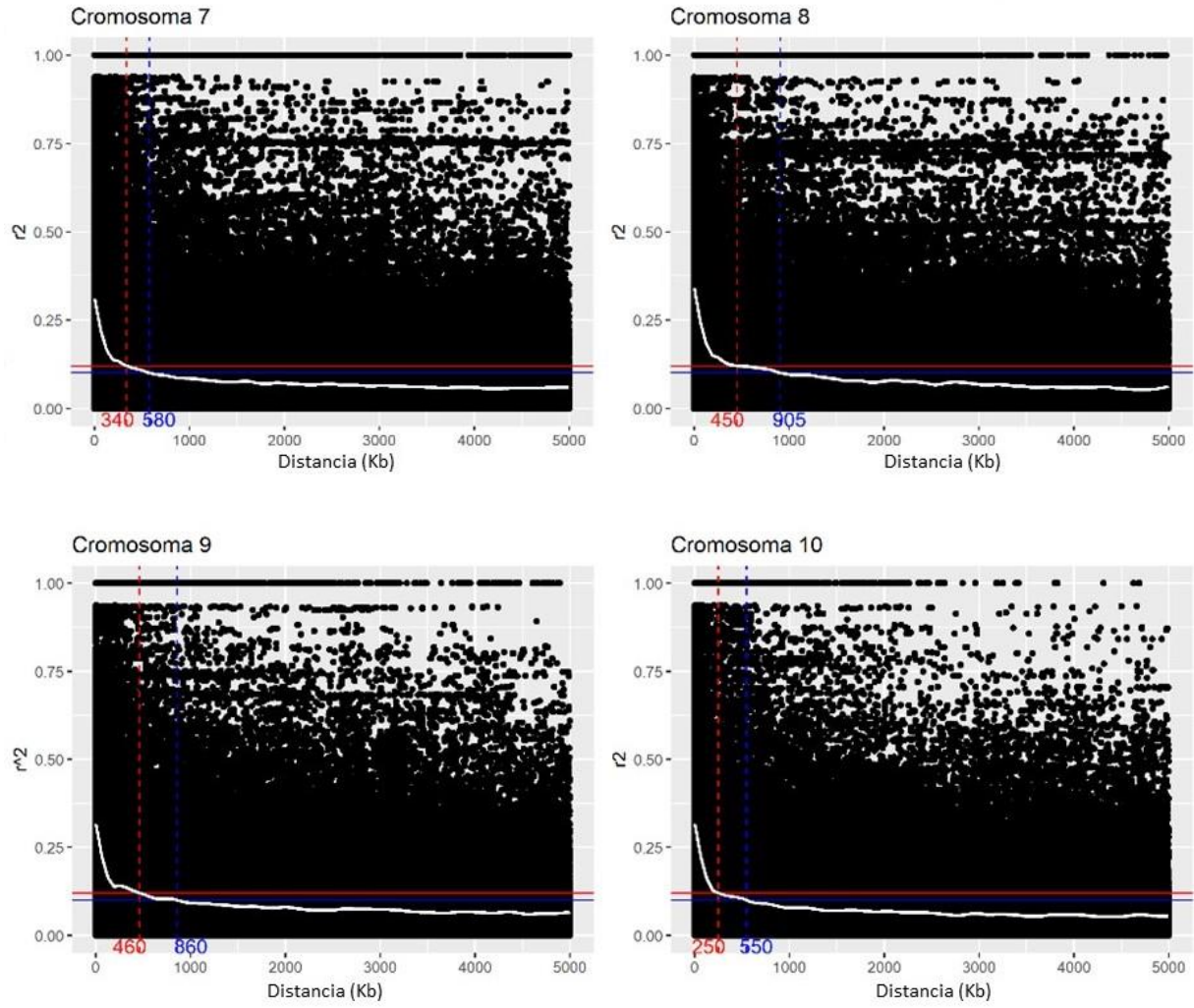


Figura III-6: Gráfico de caída de LD por cromosoma. El eje Y representa los r^2 , el eje X la distancia física expresada en Kb, la función blanca representa la caída media del LD por cromosoma y las líneas de color indican los r^2 críticos: $r_{95}^2 = 0,12$ (rojo) y $r_{10}^2 = 0,10$ (azul).

GWAS

El MLM utilizado para el GWAS consideró la información de las matrices Q (estructura poblacional) y K (Kinship): Modelo 4: MLM – K+Q. Los resultados de los demás modelos evaluados no se incluyeron, ya que los modelos 1 y 2 mostraron una menor potencia estadística, y el modelo 3 arrojó los mismos resultados que el modelo 4 (**Figura A-3** a **Figura A-9**). A su vez, el MLM K+Q asegura el control de asociaciones espurias derivadas de la presencia de estructuración o estratificación en la poblacional.

Los resultados del GWAS se presentan mediante gráficos Manhattan (**Figura III-7** a **Figura III-13**). Un total de 95 SNP se asociaron significativamente con algunas de las siete resistencias estudiadas (valor $p \leq 1.0 \times 10^{-4}$). Después de la corrección por el método de FDR un total de 46 SNP fueron significativos a un valor p de corte $\leq 0,05$ (Benjamini y Hochberg 1995).

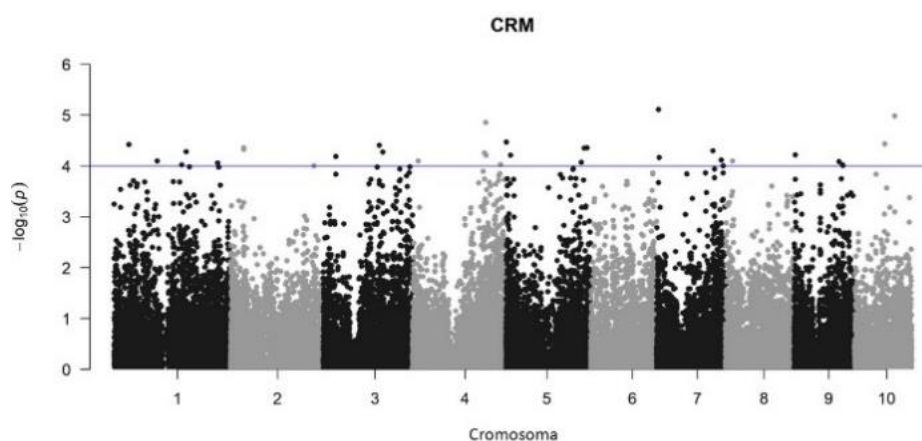


Figura III-7: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para CRM. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

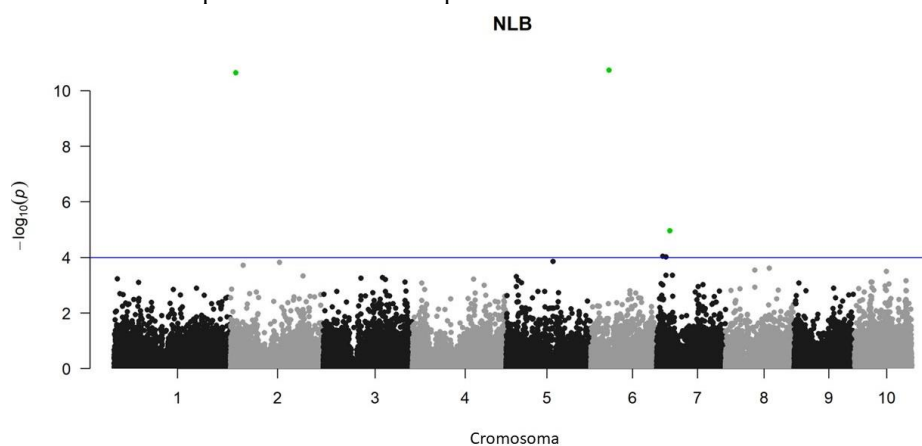


Figura III-8: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para NLB. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

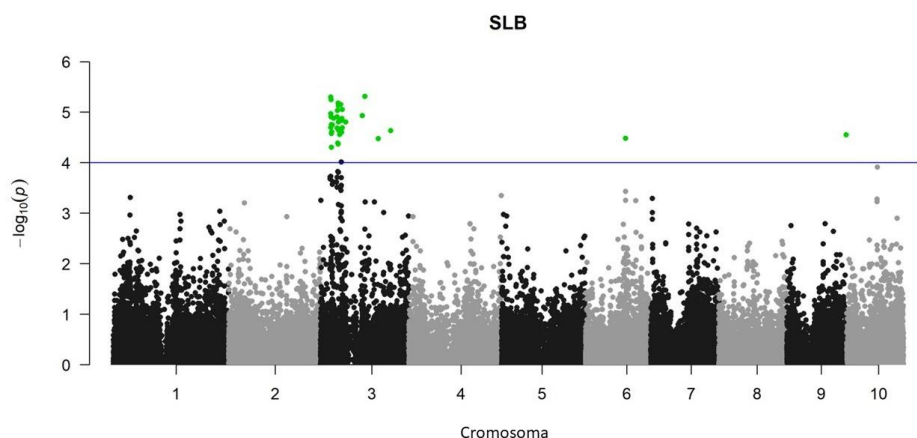


Figura III-9: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para SLB. SNP significativos corregidos por el método FDR se presentan en verde.

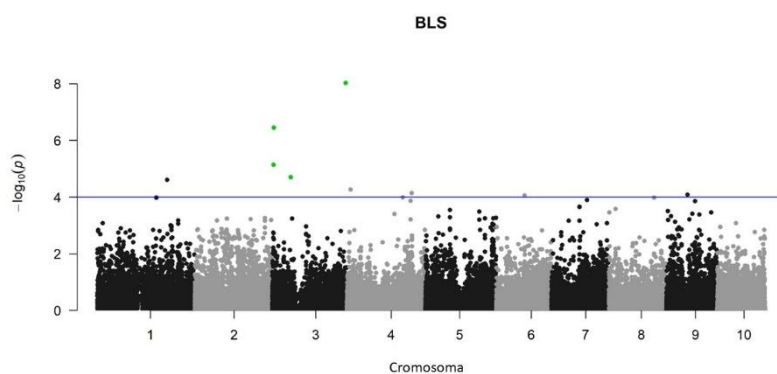


Figura III-10: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para BLS. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

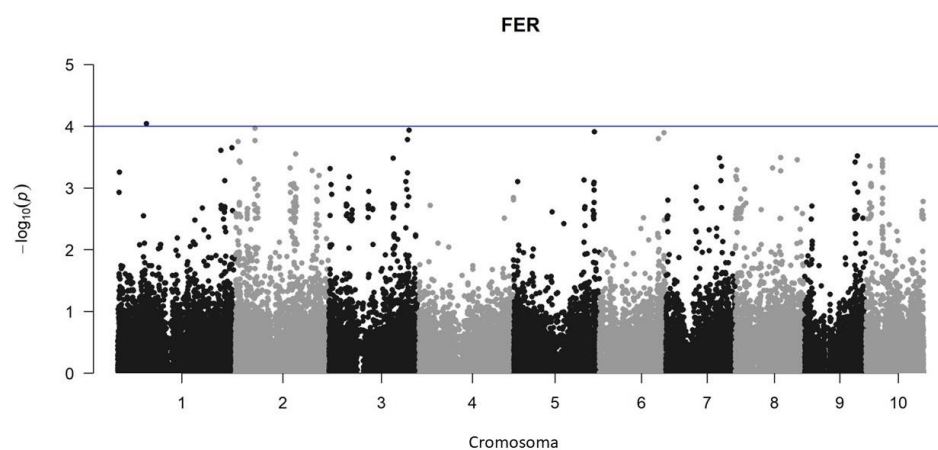


Figura III-11: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para FER. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

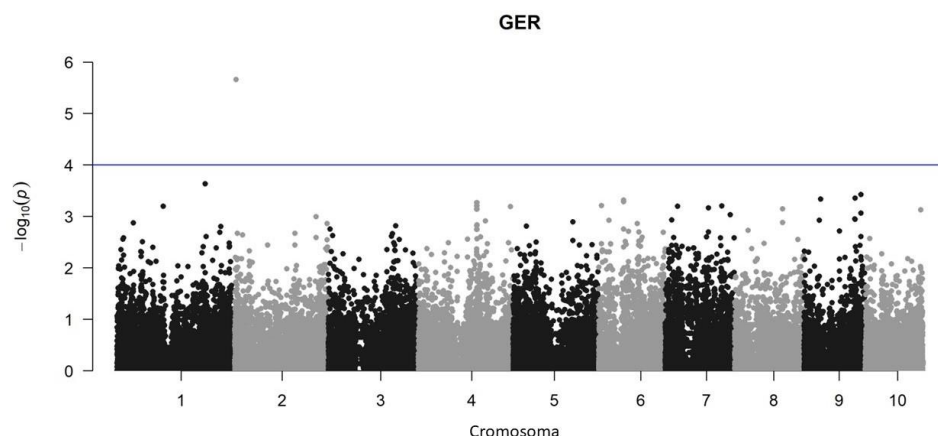


Figura III-12: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para GER. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

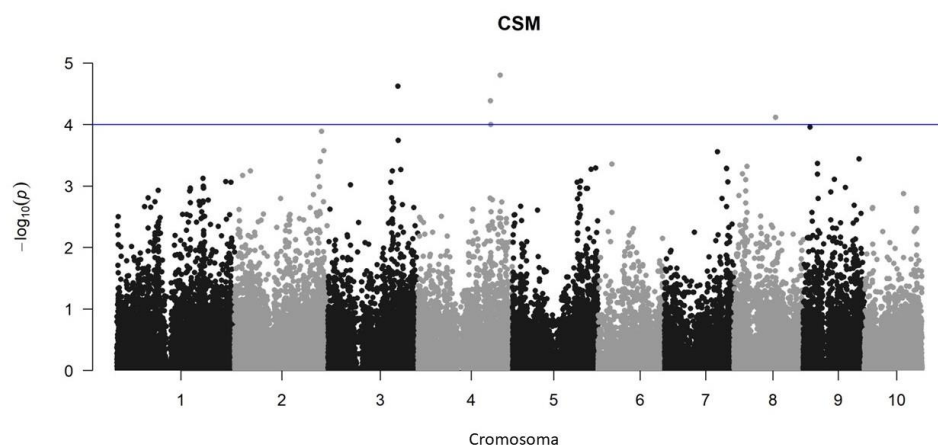


Figura III-13: Gráfico de Manhattan de los $-\log_{10}$ (valores-p) derivados del GWAS para CSM. SNP significativos tras la corrección por el método FDR se presentan en verde.

Los 46 SNP significativos luego de la corrección por FDR se presentan en la **Tabla III-2**. Para la resistencia a BLS se identificaron cinco SNP significativos ubicados en el cromosoma 3, que conjuntamente explicaron un 3 % de la σ_G^2 total (**Tabla III-2**). La contribución individual de cada SNP a la σ_G^2 fue del 0,35 % al 1,34 %, con efectos alélicos individuales entre -0,87 y 0,31 en la escala de 1 a 5 (**Tabla III-2**). Para la resistencia a NLB, se identificaron tres SNP significativos ubicados en los cromosomas 2, 6 y 7 que, conjuntamente, explicaron un 2 % de la σ_G^2 total. Individualmente, cada SNP explicó entre un 0,31 % y un 0,65 % de la σ_G^2 , con efectos alélicos pequeños, de entre -0,12 y -0,01 en la escala de 1 a 5 (**Tabla III-2**). Para la resistencia a SLB, se identificaron 38 SNP significativos ubicados en los cromosomas 3, 6, y 9, que explicaron conjuntamente un 15,73 % de la σ_G^2 total (**Tabla III-2**). La contribución individual de cada SNP a la σ_G^2 total fue del 0,45 % y el efecto alélico osciló entre -0,68 y 0.26 en la escala de 1 a 5 (**Tabla III-2**). No se identificaron SNP significativos luego de la corrección por el método de FDR para las resistencias a CRM, CSM, FER y GER.

Tabla III-2: Listado de 46 SNP significativos luego de la corrección por FDR.

Resistencia	SNP	Bin	R ²	σ_G^2	Efecto alélico	-Log(valor-p)	FDR (valor-p)
BLS	PZE-103182717	3.09	1,19	1,34	0,31	8,03	0,00
BLS	SYN28478	3.02	0,40	0,45	0,06	6,45	0,00
BLS	SYN28479	3.02	0,40	0,45	0,06	6,45	0,00
BLS	PZE-103008521	3.02	0,34	0,38	0,10	5,14	0,04
BLS	PZA02589.1	3.04	0,31	0,35	-0,87	4,70	0,04
NLB	PZE-106019289	6.01	0,57	0,65	-0,12	10,74	0,00
NLB	PZE-102027950	2.02	0,57	0,65	-0,01	10,64	0,00
NLB	SYNGENTA5697	7.02	0,27	0,31	-0,01	4,95	0,04
SLB	PZE-103071879	3.04	0,37	0,45	-0,14	5,31	0,03
SLB	PZE-103034531	3.04	0,37	0,45	-0,12	5,30	0,03
SLB	PZE-103035649	3.04	0,37	0,45	-0,11	5,25	0,03
SLB	PZE-103045749	3.04	0,32	0,39	-0,01	5,18	0,03
SLB	PZE-103049356	3.04	0,36	0,44	-0,08	5,16	0,03
SLB	PZE-103046045	3.04	0,36	0,44	-0,07	5,13	0,03
SLB	PZE-103052172	3.04	0,36	0,44	-0,12	5,05	0,03
SLB	PZE-103044918	3.04	0,36	0,43	-0,19	5,04	0,03
SLB	PZE-103034545	3.04	0,35	0,43	-0,13	4,97	0,03
SLB	SYN15234	3.04	0,35	0,43	-0,07	4,94	0,03
SLB	PZE-103035114	3.04	0,35	0,43	-0,11	4,91	0,03
SLB	PZE-103044655	3.04	0,35	0,43	-0,12	4,91	0,03
SLB	PZE-103039915	3.04	0,35	0,42	-0,12	4,89	0,03
SLB	PZE-103051547	3.04	0,35	0,42	-0,04	4,88	0,03
SLB	PZE-103050475	3.04	0,35	0,42	-0,06	4,84	0,03
SLB	PZE-103051152	3.04	0,35	0,42	-0,15	4,84	0,03
SLB	PZE-103051464	3.04	0,34	0,42	-0,06	4,84	0,03
SLB	PZE-103045836	3.04	0,34	0,42	-0,04	4,81	0,03
SLB	PZE-103055682	3.04	0,34	0,42	-0,07	4,80	0,03
SLB	PZE-103036305	3.04	0,34	0,41	-0,02	4,75	0,03
SLB	SYN27565	3.04	0,34	0,41	-0,15	4,75	0,03
SLB	PZE-103034362	3.04	0,34	0,41	-0,03	4,70	0,03
SLB	PZE-103051880	3.04	0,34	0,41	-0,14	4,69	0,03
SLB	PZE-103044650	3.04	0,34	0,41	-0,09	4,68	0,03
SLB	PZE-103044652	3.04	0,34	0,41	-0,09	4,68	0,03
SLB	PZE-103044654	3.04	0,34	0,41	-0,09	4,68	0,03
SLB	PUT-163a-84969550-4460	3.04	0,33	0,41	-0,02	4,65	0,03
SLB	PZE-103125892	3.04	0,33	0,41	-0,03	4,64	0,03
SLB	SYN572	3.04	0,33	0,40	-0,04	4,61	0,03
SLB	PZE-103050833	3.04	0,33	0,40	-0,06	4,60	0,03
SLB	PZE-103036153	3.04	0,33	0,40	-0,01	4,58	0,04
SLB	PZE-103048148	3.04	0,33	0,40	-0,10	4,56	0,04
SLB	SYN4083	3.04	0,32	0,39	-0,13	4,39	0,04
SLB	PUT-163a-74236155-3617	3.04	0,32	0,39	-0,26	4,37	0,04
SLB	PZE-103036076	3.04	0,31	0,38	-0,07	4,31	0,04
SLB	SYN10502	6.03	0,32	0,40	-0,01	4,48	0,04

R²: Varianza fenotípica explicada por el SNP, σ_G^2 : varianza genética explicada por el SNP, -Log(valor-p): Valor p expresado a -log10 y FDR(Valor-p): Valor p corregido por el método FDR.

Regiones candidatas

El agrupamiento de SNP en QTL basado en la distancia de caída de LD por cromosoma derivó en la identificación de 26 regiones candidatas de resistencia (o QTL de resistencia) (**Tabla III-3**).

Tabla III-3: Regiones candidatas de resistencia a enfermedades del maíz.

QTL	Posición	Tamaño	N ¹
<i>qMDR.3.04</i>	crom3:57865094...58490259	625 Kb	2
<i>qBLS.3.02</i>	crom3:4449262...5283435	847 Kb	3
<i>qBLS.3.09</i>	crom3:232731493...233371493	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.1</i>	crom3:27685557...30403689	3.04 Mb	9
<i>qSLB.3.04.2</i>	crom3:32187322...32827322	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.3</i>	crom3:35397814...36037814	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.4</i>	crom3:44337787...44980487	642 Kb	4
<i>qSLB.3.04.5</i>	crom3:45053852...45693852	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.6</i>	crom3:45852361...46492361	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.7</i>	crom3:47542859...48689890	1.15 Mb	5
<i>qSLB.3.04.8</i>	crom3:51268068...51908068	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.9</i>	crom3:53717388...54357388	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.10</i>	crom3:55551777...56191777	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.11</i>	crom3:56208374...57131839	923 Kb	2
<i>qSLB.3.04.12</i>	crom3:57198066...57941004	742 Kb	2
<i>qSLB.3.04.13</i>	crom3:58497779...59137779	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.14</i>	crom3:67315490...67955490	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.15</i>	crom3:112232369...112872369	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.16</i>	crom3:119243720...119883720	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.17</i>	crom3:153744478...154384478	640 Kb	1
<i>qSLB.3.04.18</i>	crom3:188347877...188987877	640 Kb	1
<i>qSBL.6.03</i>	crom6:113045704...113685704	710 Kb	1
<i>qSLB.9.02</i>	crom9:160,245,551...161165551	920 Kb	1
<i>qNLB.2.02</i>	crom2:13,441,648...13841648	400 Kb	1
<i>qNBL.6.01</i>	crom6:54092452...54732452	710 Kb	1
<i>qNLB.7.02</i>	crom7:34080157...34760157	680 Kb	1

QTL: El nombre del QTL contiene la resistencia, bin cromosómico asociado, y un número consecutivo adicional cuando se identificaron más de un QTL en el mismo bin y misma resistencia. ¹: Número de SNP incluidos en el QTL.

El mayor número de QTL correspondió a QTL de resistencia a SLB (n=20), seguido por tres QTL de resistencia a NLB y dos QTL de resistencia a BLS (**Tabla III-3**). El tamaño promedio de los QTL fue de 789 Kb. Individualmente, este tamaño osciló entre 400 Kb y 3040 Kb, siendo *qNLB.2.02* y *qSLB.3.04.1* los QTL de menor y mayor tamaño, respectivamente (**Tabla III-3**). El tamaño del QTL fue proporcional al número de SNP en LD incluidos en cada QTL, que estuvo entre 1 SNP y 9 SNP. Un único QTL asociado a MDR se identificó luego de la comparación de las posiciones físicas. El *qMDR.3.04* presentó un tamaño de 625 Kb e incluyó dos SNP en LD, uno asociado a la resistencia a SLB (PZE-103051880) y otro asociado a la resistencia a BLS (PZA02589.1) (**Tabla III-3**). La distancia de separación entre ambos SNP fue de apenas 15 Kb, una distancia considerablemente inferior a la distancia de caída de LD del cromosoma 3 (320 Kb).

La mayoría de los QTL de resistencia a enfermedades individuales identificados en este trabajo, al igual que el QTL de MDR, coinciden con los QTL previamente reportados en la literatura por otros autores (**Figura I-15** y **Tabla A-1**). Sin embargo, *qBLS.3.02* y *qSBL.6.03* son nuevas regiones de resistencia para BLS y SLB que no habían sido reportadas previamente por otros autores.

El *bin* donde se localiza el *qMDR.3.04* fue reportado previamente por McMullen y Simcox (1995), Wisser et al. (2006), Zwonitzer et al. (2010), Lopez-Zuniga et al. (2019) y (Qiu et al. 2024) como una región de MDR. Las **Figura I-19** y **Figura I-20** mostraron, en este bin, la agrupación de 36 QTL identificados por otros autores asociados a diferentes resistencias. En este sentido, se localizaron en el *bin* 3.04 14 QTL de resistencia a SLB, nueve QTL de resistencia a GLS, cuatro QTL de resistencia a FER, tres QTL de resistencia CRM y un QTL de resistencia a MWS (ver citas y referencias en la **Figura I-15** y **Tabla A-1**). Además, este *bin* corresponde a la ubicación física del gen *Rp3*, un gen mayor raza-específico de resistencia a CRM (Sanz-Alferez et al. 1995; Wisser et al. 2006).

Genes candidatos de resistencia genética a enfermedades

Dentro de las regiones de resistencia identificadas se localizaron 355 genes candidatos. El análisis de ontología basado en la anotación funcional agrupó un total de 176 genes en 11 clústeres (**Figura III-14**).

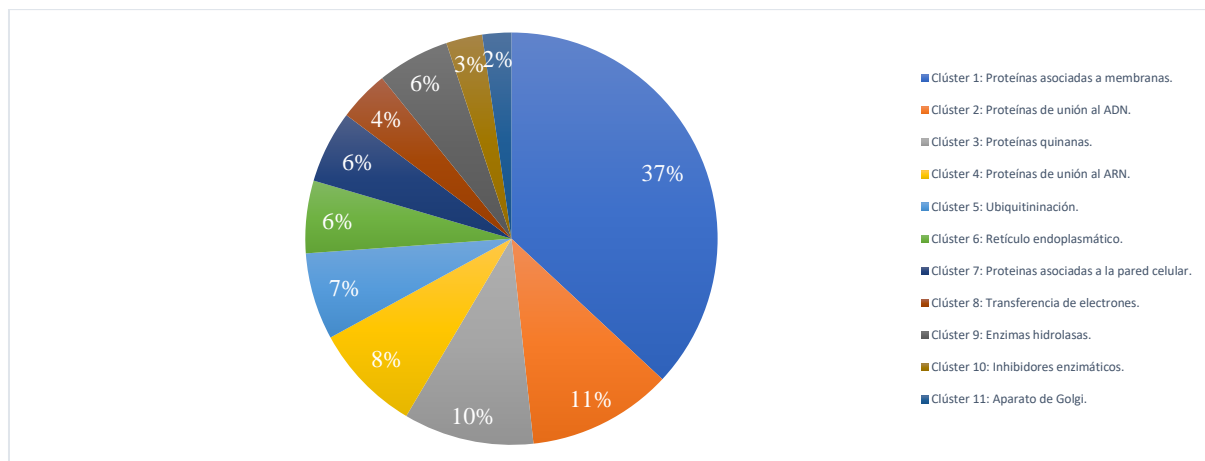


Figura III-14: Clústeres de genes candidatos basado en el análisis de ontología.

Cada clúster agrupó genes candidatos con funciones moleculares similares o que pertenecen a un mismo componente celular. El principal clúster agrupa proteínas asociadas a la membrana ($n = 65$), seguido de proteínas de unión al ADN ($n = 20$), proteínas de tipo quinasa ($n = 18$), proteínas de unión al ARN ($n = 15$), proteínas relacionadas con la ubiquitinación ($n = 12$), al retículo endoplasmático ($n = 10$) y a la pared celular ($n = 10$). Los demás clústeres incluyeron entre tres y siete genes candidatos y se relacionaron con procesos de transferencia de electrones, enzimas glicolasas, inhibidores enzimáticos, el aparato de Golgi y enzimas hidrolasas (**Figura III-14**).

El análisis de enriquecimiento funcional se complementó con información adicional de bases de datos suplementarias, que derivó en un agrupamiento más preciso e informativo. La base de datos de términos GO proporciona información a nivel componente celular, función molecular y proceso biológico.

La categoría “componente celular” incluyó genes candidatos asociados con 12 términos GO. El término más representado fue la membrana plasmática ($n = 84$) (**Figura III-15**). Otros componentes celulares fueron el núcleo celular ($n = 36$), el citoplasma ($n = 12$), el retículo endoplasmático ($n = 10$), la pared celular ($n = 9$), el espacio extracelular ($n = 8$), el aparato de Golgi ($n = 6$), la mitocondria ($n = 3$), ribosoma ($n = 3$), peroxisoma ($n = 1$) y vacuola ($n = 1$) (**Figura III-15**). De los 355 genes candidatos, un total de 180 no pudieron asociarse con ningún componente celular.

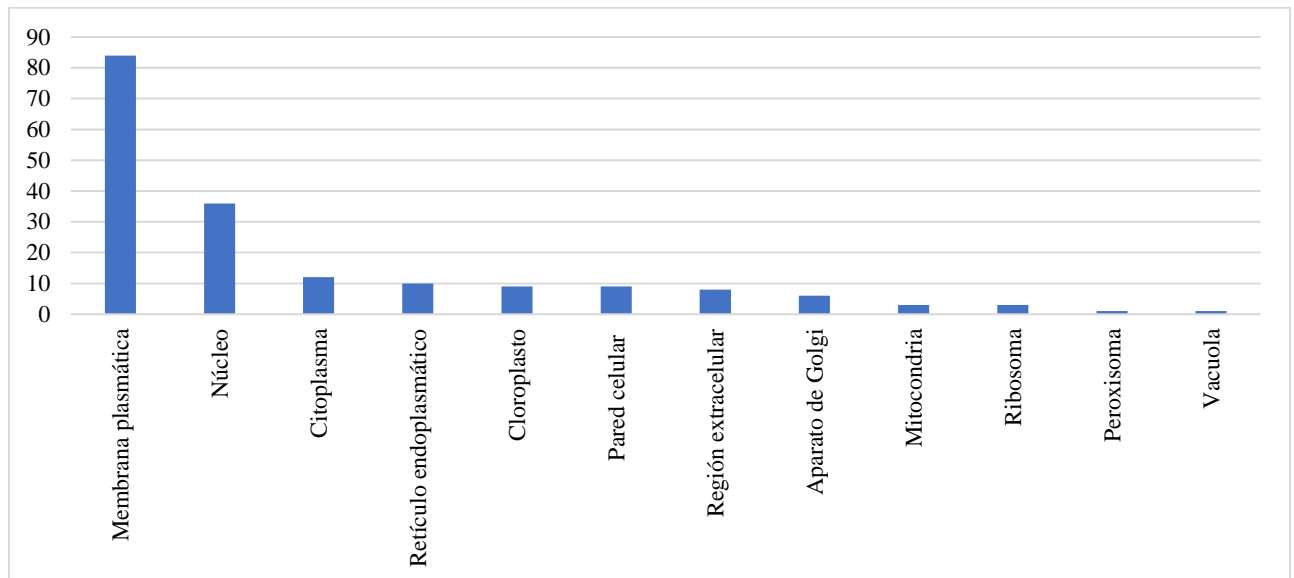


Figura III-15: Clasificación de genes candidatos según término GO asociado a componente celular. El eje X representa los términos GO y el eje Y muestra el número de genes candidatos asociados a cada término GO.

La categoría “función molecular” incluyó un amplio rango de términos GO. Sin embargo, estos términos se agruparon fácilmente en seis subcategorías: funciones de unión, enzimáticas, de transporte, factores de transcripción, receptores y proteínas chaperonas (**Figura III-16**). Entre las proteínas con funciones de unión, es decir, proteínas que pueden unirse a diversas biomoléculas, como ADN, ARN, hormonas, lípidos, carbohidratos, aminoácidos y otras proteínas, se identificaron 94 genes candidatos (**Figura III-16**). Por su parte, entre las proteínas con funciones enzimáticas se identificaron 93 genes candidatos (**Figura III-16**). La mayoría de estos genes codificaban enzimas de tipo hidrolasas ($n = 34$) y transferasas ($n = 32$). Además, se encontraron enzimas oxidorreductasas ($n = 11$), ligasas ($n = 6$), isomerasas ($n = 3$) y liasas ($n = 2$), así como cinco proteínas con funciones de inhibición enzimática. El resto de las categorías estuvieron menos representadas. La subcategoría asociada a proteínas con funciones transportadoras contó con 29 genes candidatos dedicados al transporte de un variado espectro de partículas y moléculas. Por su parte, las categorías de factores de transcripción, receptores y proteínas chaperonas tuvieron 18, 6 y 3 genes candidatos, respectivamente (**Figura III-16**). Un total de 185 genes no pudieron asociarse con ninguna función molecular específica.

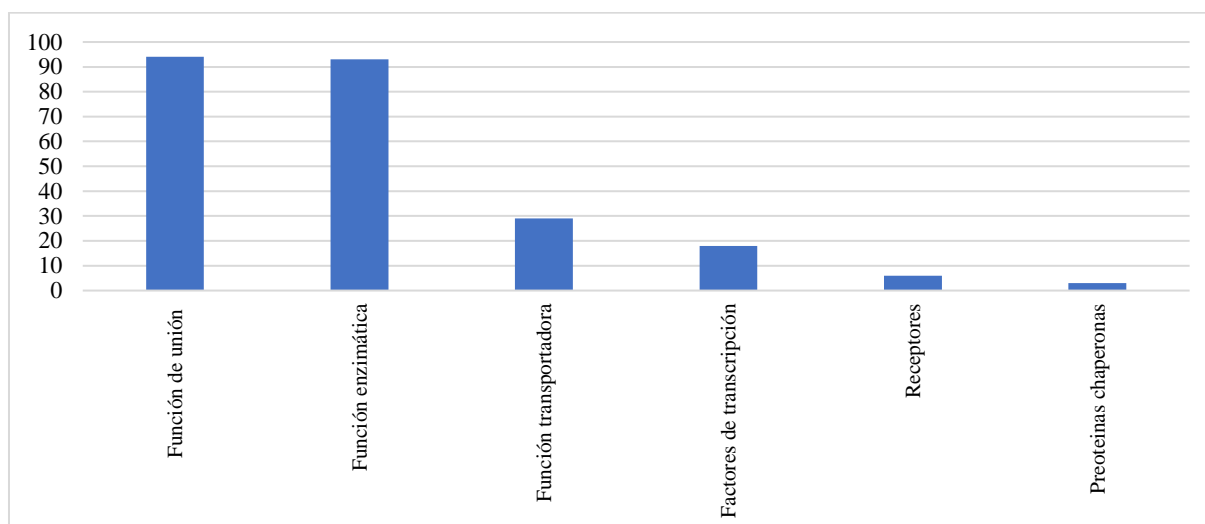


Figura III-16: Clasificación de genes candidatos según función molecular. El eje X representa los términos GO y el eje Y muestra el número de genes candidatos asociados a cada término GO.

La categoría “procesos biológicos” incluyó 26 términos GO diferentes, aunque la mayor parte de los genes pertenecen a ocho de estos términos (**Figura III-17**). Los términos asociados a procesos de transporte fueron los más representados ($n = 32$), incluyendo genes asociados al transporte de electrones, iones, lípidos, carbohidratos y hormonas, entre otros (**Figura III-17**). Otros procesos biológicos representados fueron respuesta a estímulos ($n = 27$), señalización ($n = 25$), organización de componentes celulares ($n = 20$), regulación ($n = 20$), fosforilación de proteínas ($n = 16$), metabolismo ($n = 15$) y biosíntesis ($n = 12$) (**Figura III-17**). Los demás términos se asociaron con 15 procesos representados por menos de 10 genes candidatos, entre los cuales destacan los términos asociados a procesos de detoxificación y senescencia (**Figura III-17**). Un total de 197 genes candidatos de los 355 identificados no pudieron asociarse con ningún proceso biológico.

En función del componente celular, la función molecular y el proceso biológico involucrado, se seleccionaron de los 355 genes identificados un total de 73 genes putativamente asociados como mecanismos de resistencia (**Tabla A-11**). Esta selección se basó en genes candidatos asociados a funciones enzimáticas (hidrolasas, transferasas, oxidoreductasas e isomerasas), proteínas estructurales (expansinas y β tubulinas), funciones asociadas a la detoxificación y factores de transcripción.

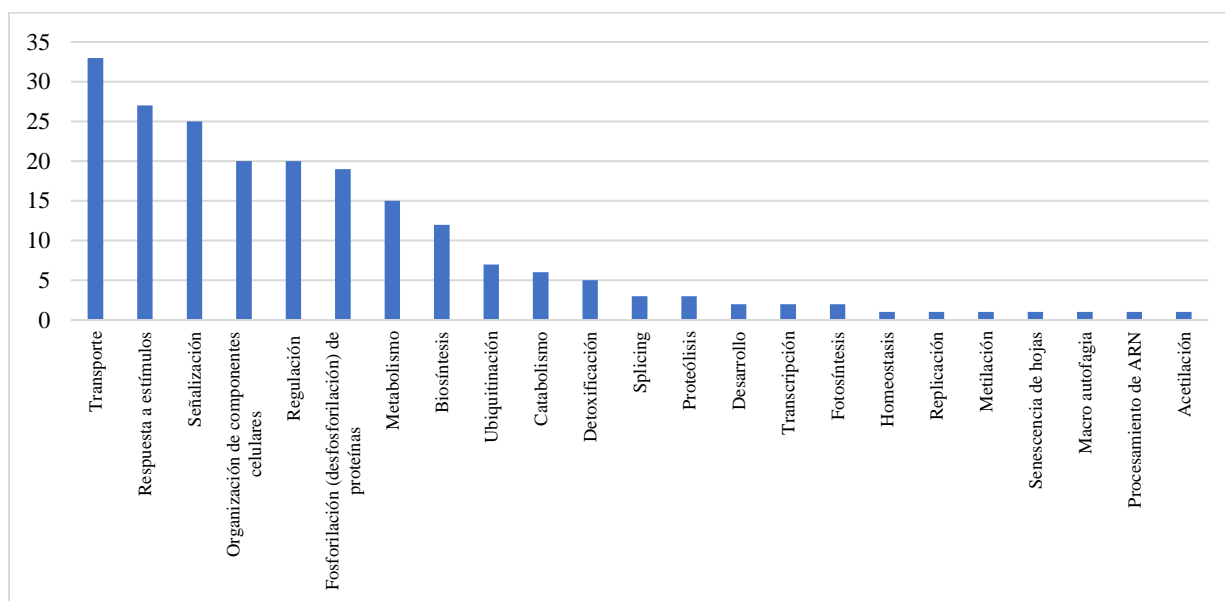


Figura III-17: Clasificación de genes candidatos según proceso biológico. El eje X representa los términos GO y el eje Y muestra el número de genes candidatos asociados a cada término GO.

Discusión

Este capítulo constituye el primer antecedente de aplicación de GWAS en maíces nativos argentinos para la identificación de genes de MDR, siendo una fuente única, inexplorada y esencial de biodiversidad para el equilibrio y la estabilidad de la agricultura.

La caracterización genotípica del panel se obtuvo a partir de los 41K SNP derivados del filtrado de calidad. Los SNP se distribuyeron de forma homogénea y conforme al tamaño de los diez cromosomas del maíz. La heterocigosidad promedio fue constante entre cromosomas y el valor promedio fue bajo. Este valor coincide con un alto nivel de endocría y el nivel de heterocigosidad es acorde a una heterocigosidad residual dentro del proceso de endocría.

El estudio de la estructura poblacional mediante el método propuesto por Pritchard et al. (2012) reveló *a priori* la presencia de dos subgrupos dentro de la población. Sin embargo, el estudio detallado de los individuos de cada subgrupo reveló un panel diverso de genotipos sin una estructuración definida. Esta conclusión también se observó en los resultados derivados del ACP. La ausencia de estructuración podría ser consecuencia del tamaño efectivo de la población, del ambiente de selección y de los padres fundadores. El panel de genotipos consta de un número reducido de genotipos totales que se seleccionaron y desarrollaron en un mismo ambiente a partir de un número limitado de líneas parentales y cruzamientos interconectados.

Otros trabajos en los que se identificaron poblaciones fuertemente estructuradas partieron de subpoblaciones con orígenes claramente diversos. Kuki et al. (2018) trabajó con un panel compuesto por 183 líneas de maíz tropical, de las cuales 98 eran maíz para grano y 85 eran maíces popcorn. El análisis de la estructura poblacional mediante un ACP confirmó este patrón, que ya era conocido por los autores. Wu et al. (2016) asignó 538 líneas endocriadas de maíz del CIMMYT a tres subgrupos asociados al ambiente en el que evolucionaron: ambientes tropicales de altitud baja, media y alta. Otro ejemplo es el estudio realizado por Van Inghelandt et al. (2010), en el que la estructura poblacional confirmó los cuatro grupos heteróticos presentes en el panel de 1537 genotipos: Flint, Lancaster, Stiff Stalk y Iodent. En todos estos ejemplos, el panel total de genotipos estuvo constituido por subpoblaciones con orígenes claramente distantes, que a su vez estaban representadas por un número importante de genotipos.

Nuestros resultados mostraron un subgrupo principal conformado por el 67 % de los genotipos. Este subgrupo incluyó genotipos derivados de poblaciones locales o de cruzamientos que involucran a dichas poblaciones, siguiendo un patrón de cruzamiento entre padres con endosperma Flint y padres con endosperma dentado. Este patrón de cruzamiento se traduce en el gradiente de endosperma observado en la progenie que incluye genotipos completamente Flint, semi-Flint y semidentado. Este grupo podría describirse como un grupo donde predomina el endosperma de tipo Flint, es decir, maíces con endosperma duro y vitreo, y granos lisos y redondeados, características que confieren resistencia a diversos factores de estrés. La ausencia de genotipos completamente dentados podría deberse a que el

padre recurrente fue, en su mayoría, el padre Flint. La mayor parte de los genotipos que conforman este subgrupo coinciden con el grupo principal en el ACP, aunque en este último cinco genotipos derivados de la población **P465** se separaron en un subgrupo independiente.

El subgrupo secundario derivado de nuestro análisis es un grupo muy reducido, conformado por apenas ocho individuos. En este grupo predominan genotipos dentados derivados de un mismo híbrido comercial dentado, aunque también incluye dos genotipos semi-Flint derivados de dos poblaciones locales. Estos resultados coinciden exactamente con los del ACP y este subgrupo podría describirse como un grupo de endosperma amarillo y harinoso, más cercano al germoplasma norteamericano y con menor resistencia a estreses bióticos o abióticos. Los dos genotipos semi-Flint incluidos en este subgrupo podrían haberse originado a partir de un padre recurrente de tipo Flint o de un registro impreciso del pedigree (Ersoz et al. 2009; Zhang et al. 2010).

Los 12 genotipos que no se clasificaron en ninguno de los dos subgrupos poseen orígenes que no estuvieron representados en ninguno de ellos. La línea **LP509** deriva de una población local denominada “Cuarentin”, asociada a los maíces Cateto-Flint, una raza de maíces tipo Flint originaria de Sudamérica, que se caracteriza por tener granos típicamente pequeños, redondeados y de colores intensos (Olmos et al. 2017). La línea **LP3830** proviene del cruzamiento de dos líneas americanas dentadas. Las líneas **LP916**, **LP917**, **LP918** y **LP580** derivan de híbridos comerciales de distintas empresas, es decir, que todos provienen de programas de mejoramiento diferentes. En el ACP, estos 12 genotipos se incluyeron en el primer subgrupo, sin que compartan ninguna característica con los genotipos que pertenecen a este grupo.

Los resultados presentados en este trabajo se compararon con los resultados obtenidos por Olmos et al. (2014 y 2017) y Torrent (2018), que también utilizaron germoplasma del programa nacional de mejoramiento genético de INTA Pergamino. Olmos et al. (2014) utilizó en su publicación 103 líneas endocriadas de maíz: tres líneas dentadas estadounidenses (B73, B98 y B100) y 100 líneas desarrolladas por el programa nacional de mejoramiento genético de INTA Pergamino. Los genotipos se caracterizaron genotípicamente con 50 microsatélites, y el análisis bayesiano de la estructura poblacional reveló la presencia de tres subgrupos: P465, ACDS y BS13-BSSS. Posteriormente, Olmos et al. (2017) incluyó ocho nuevas líneas de origen “Cuarentin” y Argentino-Caribe al panel previamente estudiado, que se caracterizaron genotípicamente con 74 microsatélites. El nuevo análisis de la estructura poblacional derivó en un subgrupo adicional a los previamente obtenidos: LP299-2. De las cuatro subpoblaciones sugeridas, los grupos “P465” y “ACDS” corresponden al patrón heterótico Flint, mientras que las subpoblaciones “BS13-BSSS” y “LP299-2” corresponden al patrón heterótico dentado (Olmos et al. 2014, 2017). En nuestros análisis, las subpoblaciones ACDS y P465 no se diferenciaron y se encuentran incluidas en el subgrupo principal, representadas por 21 y 6 genotipos, respectivamente. Los genotipos indicados por Olmos et al. (2017) como pertenecientes a la subpoblación “LP299-2” están incluidos en el segundo subgrupo derivado de nuestro análisis, mientras que solo hay dos genotipos

representantes de la subpoblación definida por Olmos et al. (2014 y 2017) como “BS13-BSSS”, que en nuestro análisis se incluyeron dentro de los 12 genotipos indefinidos. Por su parte, Torrent (2018) incluyó 198 líneas endocriadas del programa de mejoramiento de INTA Pergamino, que se genotiparon con el mismo chip de SNP utilizado en este trabajo. El análisis de la estructura poblacional mediante un método bayesiano derivó en la identificación de tres subgrupos: “Grupo 3”, “BSSS” y “CG280”, cada uno de ellos con 147, 23 y 21 genotipos, respectivamente. Todos los genotipos incluidos en nuestro trabajo se incluyeron en el “Grupo 3” definido por Torrent (2018). En este sentido, es más correcto hablar de un panel diverso de genotipos cercanamente emparentados por una historia común de selección y evolución que de subpoblaciones con relaciones de parentesco internas. Esta característica presente en el panel de genotipos utilizado en este trabajo es una característica deseable para un estudio de asociación (Würschum 2012). A su vez, los resultados de los trabajos previos se explican por los diferentes subconjuntos y el número de genotipos representantes de cada subpoblación incluidos en cada uno de ellos.

Torrent (2018) también sugirió la presencia de un segundo nivel de estructuración en el panel, representado por nueve subgrupos (Torrent 2018). En este sentido, la matriz Kinship resultó más informativa, ya que permitió visualizar, a través de un mapa de calor, las relaciones de parentesco entre los genotipos. La comparación de los resultados obtenidos por Torrent (2018) con los orígenes genéticos de las líneas evaluadas es coherente con la genealogía de estas y representa la diversidad de orígenes del panel. De los nueve subgrupos mencionados por Torrent (2018), cinco se observaron en el mapa de calor derivado de la matriz Kinship: el grupo “P465” derivado de a población local Flint anaranjada P465, el grupo “SSD” derivado de un híbrido comercial semidentado, el grupo “FADC” derivado del cruzamiento entre un padre Flint argentino y un padre dentado canadiense, el grupo “FCA” derivado de una población Flint colorada argentina, y el grupo “CAC/CI-II” derivado de los compuestos Argentino-Caribe y Compuestos I y II (cosecha masal de poblaciones locales y del Caribe). Por su parte, el mapa de calor derivado de la matriz Kinship también señaló inconsistencias en los pedigríes anotados como genotipos cercanamente emparentados con pedigríes diferentes e individuos lejanamente emparentados con el mismo pedigrí. Esto podría ser consecuencia del proceso de selección, del padre recurrente o de la deriva génica que actuó diversificando a la población (Falconer and Mackay 1996), aunque también podría deberse a una anotación incorrecta de los pedigríes (Ersoz et al. 2009; Zhang et al. 2010).

El estudio de LD reveló una distancia de caída de 326 Kb. Esta distancia es variable en el maíz, desde 0,4 Kb en poblaciones con una larga historia de recombinación hasta 3600 Kb en líneas altamente seleccionadas (Remington et al. 2001; Flint-Garcia et al. 2003; Würschum et al. 2022). En este sentido, nuestro panel presentó un adecuado nivel de recombinación y diversidad, más cercano al de una población que al de germoplasma de élite. A su vez, la distancia de caída de LD señaló una buena cobertura de MM proporcionada por el chip de SNP.

El método para determinar el umbral en el que se produce la caída del LD es un aspecto que depende del criterio del investigador, ya que no existe un consenso en la literatura (Tobias Würschum, comunicación personal, 2021). Un número significativo de publicaciones sugiere un rango arbitrario que varía entre 0,10 (Kuki et al. 2018) y 0,20 (Kaler et al. 2020). En este trabajo, hemos elegido la metodología propuesta por Breseghello y Sorrells (2006), utilizando el percentil 95 % de la distribución de MM no ligados como umbral por debajo del cual no se encuentra evidencia de ligamiento entre MM. Este valor no es arbitrario, sino que es específico de la población. Además, la distancia de caída de LD varió considerablemente en función del umbral. Por lo tanto, consideramos más apropiado utilizar como valor umbral un parámetro derivado de la población que un valor arbitrario.

Mediante el análisis de GWAS se identificaron 26 QTL de resistencia a enfermedades y un total de 355 genes candidatos. El análisis de enriquecimiento funcional permitió agrupar a los genes candidatos en grupos que no permitieron una interpretación biológica directa. La incorporación de términos GO basados en las categorías “componente celular”, “función molecular” y “proceso biológico” permitió una caracterización más precisa para establecer asociaciones entre 73 genes candidatos y mecanismos de defensa asociados.

Entre los términos GO asociados a componentes celulares, se destacaron la membrana plasmática y la pared celular. Los genes candidatos relacionados con la membrana plasmática podrían corresponder a receptores de membrana involucrados en la respuesta inmune, mientras que en la pared celular podrían asociarse con mecanismos de fortificación. Sin embargo, la información asociada al componente celular es inespecífica y no necesariamente se relaciona con mecanismos de defensa. Los términos GO asociados a la función molecular y al proceso biológico resultaron más informativos. Dentro de las funciones moleculares, se destacaron un gran número de genes candidatos con funciones enzimáticas, principalmente hidrolasas y las transferasas. Aunque en menor proporción, también se identificaron genes asociados a enzimas oxidorreductasas e isomerasas.

Las hidrolasas son un grupo de enzimas cuya función principal es la ruptura de enlaces químicos mediante la adición de una molécula de agua. Este proceso denominado hidrólisis es esencial en múltiples procesos biológicos, entre ellos la producción de moléculas PAMP o DAMP, señalización y regulación de vías metabólicas asociadas a las defensas (van der Hoorn y Jones 2004; Laluk y Mengiste 2010; Mengiste 2012). Según el tipo de enlace que rompen, las hidrolasas se clasifican en varias subcategorías, entre ellas lipasas, esterases, proteasas y fosfatasas.

Cinco genes candidatos, entre ellos un gen ubicado en el *qMDR.3.04*, corresponden con funciones moleculares de tipo lipasa. Las lipasas pertenecen a la subclase II de la superfamilia α/β -hidrolasa e hidrolizan una amplia gama de sustratos lipídicos (Lee y Park 2019). Las lipasas desempeñan distintas funciones en la interacción planta-patógeno (Shah 2005; Lee y Park 2019). Por un lado, tras la infección por patógenos, efectores u otras moléculas PAMP/DAMP inducen la expresión y activación de lipasas

en las células vegetales. La acción de las lipasas conduce a la liberación de compuestos lipídicos que activan la respuesta inmune través de la generación de ROS, cambios en el pH, activación de proteínas quinasas, señalización por MAPK o Ca^{2+} , producción de hormonas, oxilipinas y regulación de genes relacionados con la defensa (Canonne et al. 2011; Lee y Park 2019). A su vez, las lipasas están involucradas en la síntesis de compuestos antimicrobianos y hormonas u otras moléculas de señalización y regulación de la respuesta inmune (Lee y Park 2019).

Siete genes candidatos en el *bin* 3.04 se asociaron con pectinesterasas o inhibidores de la pectinesterasa. Las enzimas pectinesterasas pertenecen a la familia de las esterasas y catalizan la eliminación de los grupos metilo de la pectina, que es un polisacárido constituyente de la pared celular vegetal (Wan et al. 2021). En maíz, así como en otros cultivos, se ha descubierto un cambio significativo en la expresión de estas enzimas en plantas infectadas (Niu et al. 2020). Las plantas que tienen una mayor metilesterificación de la pectina suelen ser más resistentes a las pectinasas secretadas por patógenos (Wan et al. 2021). Este mecanismo podría estar asociado al rol directo de los inhibidores de la pectinesterasa (Wan et al. 2021), a la liberación de moléculas con diferente grado de metilación que inducen la respuesta inmune (Marzin et al. 2016; Wan et al. 2021), o a diversos genes de susceptibilidad (Nelson et al. 2018).

Tres genes candidatos ubicados en los *bines* 3.04 (*qSLB.3.04.5* y *qSLB.3.04.15*) y 9.02 (*qSLB.9.02*) se asociaron con proteasas. Las proteasas actúan en la hidrólisis de proteínas en pequeños péptidos o aminoácidos y constituyen sistemas proteolíticos que intervienen en diversos procesos del metabolismo celular, así como en la respuesta de defensa vegetal (Baek y Choi 2008). Las funciones que desempeñan las proteasas en el sistema inmune incluyen desde la percepción del patógeno, *priming* o memoria que permite una reacción amplificada y más rápida frente a una nueva infección, señalización y regulación de la HR (Thomas y Van der Hoorn 2018).

Las fosfatasas catalizan la remoción de grupos fosfato de las moléculas, proceso denominado desfosforilación, y actúan regulando la señalización celular. Las fosfatasas intervienen en múltiples procesos biológicos, entre los que se destaca la regulación hormonal del sistema defensivo (Berens et al. 2017). Tres genes candidatos ubicados en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.11*, *qSLB.3.04.15* y *qSLB.3.04.18*) se asociaron con fosfatasas involucradas en vías de señalización mediadas por hormonas (brasinosteroides y ácido abscísico). Por su parte, un gen candidato ubicado en el *bin* 3.02 (*qBLS.3.02*) codifica un receptor de membrana con una función inhibitoria de fosfatasas involucrado en la vía de señalización activada por ABA.

El segundo grupo de enzimas más representado dentro de los genes candidatos fueron las transferasas. Estas enzimas catalizan la transferencia de grupos funcionales entre diferentes moléculas y participan en la regulación de diversas vías metabólicas o en la síntesis de biomoléculas. El rol de las transferasas en las defensas depende del proceso biológico en el que participan. Entre los genes candidatos, se

destacaron una transferasa asociada a la síntesis de cutina (*qSLB.3.04.3*) y otra asociada a la síntesis de lignina (*qNLB.6.01*). Tanto la cutina como la lignina son moléculas directamente relacionadas con la fortificación de la superficie y pared celular (Sturaro et al. 2005; Gao et al. 2017; Yang et al. 2017b; Ramaroson et al. 2022). En el *qNLB.6.01*, un gen candidato corresponde a una transferasa involucrada en la vía de los fenilpropanoides. En maíz, Yang et al. (2017b) sugirió la asociación de este tipo de transferasas no solo con la síntesis de lignina, sino también con la mitigación del estrés oxidativo. En el *qSLB.3.04.6*, un gen candidato corresponde a una transferasa involucrada en la síntesis de flavonoides y policétidos. Estas moléculas son metabolitos secundarios cuya acción en las defensas de las plantas puede ser indirecta, como moléculas de señalización, o directa, a través de su efecto tóxico como fitoanticipinas o fitoalexinas (Ramaroson et al. 2022). Además, algunos policétidos pueden actuar formando barreras físicas en la superficie celular (Polturak y Osbourn 2021). En el *qSLB.3.04.14*, el gen candidato identificado está asociado con una transferasa involucrada en la síntesis de citoquinina. Esta hormona se asocia principalmente a resistencia a patógenos biótrosos y hemibiotrosos, y potencia la respuesta defensiva mediada por ácido salicílico (Albrecht y Argueso 2017; Berens et al. 2017). Por último, un grupo importante de genes candidatos asociados a transferasas actúan como RLK. Dentro de este grupo de genes candidatos que incluyó 17 RLK, se destacaron un gen candidato en el *qMDR.3.04* (*Zm00001eb130700*) y otros siete candidatos también localizados en el *bin 3.04*. Otros genes candidatos se destacaron por su función asociada a RLK. En el *bin qBLS.3.02* se identificó un gen relacionado con el reconocimiento de patógenos y la traducción de señales (Luo et al. 2011). En el *qSLB.3.04.18* se identificó un gen asociado a la señalización y respuesta mediada por giberelina con un papel modulador en la interacción con otras hormonas asociadas a mecanismos defensivos (Berens et al. 2017). En el *q.SLB.9.02* un gen candidato se asoció con una proteína de tipo remorin, las cuales son proteínas ubicadas en la superficie celular con un rol en la señalización de la interacción planta-patógeno derivado de una posible función como RLK y restricción del movimiento intercelular del patógeno (Bozkurt et al. 2014; Jamann et al. 2016).

Las enzimas oxidorreductasas son enzimas que catalizan la transferencia de electrones desde una molécula donante a otra aceptora. Según el tipo de sustrato y aceptor o donante de electrones que interviene en la reacción, las oxidorreductasas se clasifican en subtipos. Entre los genes candidatos se identificaron oxidorreductasas que corresponden a los subtipos peroxidasas y oxidasas. En el *bin 3.04* (*qSLB.3.04.8* y *qSLB.3.04.14*) se identificaron tres genes candidatos asociados a enzimas peroxidasas. Este tipo de enzima interviene en procesos de detoxificación y respuesta a estrés oxidativo. El gen *ZmAPXI* identificado en maíz corresponde a una enzima peroxidasa, cuya sobreexpresión durante la infección del patógeno *C. heterostrophus* redujo la acumulación de peróxido de hidrógeno y aumentó la resistencia a SLB (Zhang et al. 2022). En este mismo *bin*, se identificó entre los genes candidatos del *qSLB.3.04.18* una oxidasa, específicamente una lacasa involucrada en el metabolismo de la lignina. Las lacasas catalizan la conversión de monolignina en formaciones intrincadas de lignina, cuya

polimerización refuerza las paredes celulares proporcionando una resistencia mecánica que limita la colonización de patógenos (Hu et al. 2018; Xie et al. 2020). A nivel de transcriptoma, se observó un aumento en el nivel de expresión de diferentes lacasas en plantas de maíz expuestas a diferentes factores de patógenos, así como también a otros factores de estrés biótico y abiótico, lo que sugiere un papel importante en las respuestas de defensa (Quiroz-Figueroa et al. 2023; Wang et al. 2024). Otra oxidasa involucrada en el proceso de síntesis del ácido L-ascórbico fue asociada a un gen candidato identificado en el *qNLB.2.02*. L-ascórbico es una molécula antioxidante que mitiga los efectos tóxicos del ROS, así como también con una activa participación en la detección y señalización de la respuesta de defensa mediada por ROS (Boubakri 2017).

El grupo de enzimas menos representado entre los genes candidatos fue el de las isomerasas. Estas enzimas catalizan la conversión de un isómero en otro y pueden estar involucradas en diversos procesos de biosíntesis. Un gen candidato identificado en el *qSLB.3.04.1* codifica una isomerasa involucrada en la síntesis de isoprenoides (Berthelot et al. 2012). Los isoprenoides son compuestos orgánicos derivados del isopreno que participan en múltiples procesos como hormonas, determinantes de la fluidez de las membranas, antioxidantes o compuestos antimicrobianos (Pichersky y Raguso 2018). El estudio de los perfiles de volátiles de maíces infectados por patógenos ha demostrado un aumento de la producción de numerosos terpenos. Este incremento de terpenos volátiles induciría la respuesta inmune. Además, algunos de estos terpenos pueden transformarse en zealexinas, que son sesquiterpenos ácidos no volátiles con funciones antimicrobianas (Becker et al. 2014; Fauguel et al. 2017).

Además de las funciones moleculares de tipo enzimáticas, se destacaron proteínas con funciones estructurales, de detoxificación, de transporte, y de unión. En el *bin 3.04* (*qSLB.3.04.7* y *qSLB.3.04.9*), tres genes candidatos codifican proteínas expansinas. Las expansinas son una familia de proteínas asociadas a la pared celular que inducen modificaciones a través del deslizamiento de las microfibrillas de celulosa (Sampedro y Cosgrove 2005). La alteración de la estructura de la pared celular provocada por la acción de expansinas puede generar una reacción de resistencia o susceptibilidad que depende del patosistema (Narváez-Barragán et al. 2022). En el mismo *bin* (*qSLB.3.04.7*), un gen candidato codifica una proteína β -tubulina. Este tipo de proteínas están asociadas a los microtúbulos y, en respuesta a situaciones de estrés, pueden inducir cambios en la dinámica del citoesqueleto (Li et al. 2015). Las funciones moleculares de detoxificación estuvieron representadas por genes en el *bin 3.04* (*qSLB.3.04.12*) y el *bin 6.01* (*qNLB.6.01*).

Las proteínas con funciones transportadoras representaron un gran número de genes candidatos, aunque la mayor parte de ellas con funciones inespecíficas asociadas a múltiples procesos del metabolismo celular. Algunos de ellos con funciones esenciales en la respuesta de defensa a través de la movilización de hormonas, metabolitos secundarios, proteínas que actúan en señalización, permeabilidad y regulación osmótica y secuestro de compuestos tóxicos, entre otras funciones (Ranocha et al. 2013; Jeena et al. 2019; Li et al. 2021). Sin embargo, dado que son inespecíficos y participan en múltiples procesos

asociados al metabolismo de la planta, no se consideraron en el listado de genes candidatos. En el *bin* 6.03 (*qSLB.6.03.1*) se identificó un gen candidato asociado a un transportador ABC. Este tipo de transportador se describió con funciones asociadas al transporte de compuestos xenobióticos y como un gen de MDR en trigo (Krattinger et al. 2009). Un gen candidato en *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.12*) corresponde a un transportador de azúcares “SWEET” (del inglés, *Sugar Will Eventually be Exported Transporter*) asociados a genes de susceptibilidad (Jeena et al. 2019).

Las proteínas con funciones de unión corresponden a genes candidatos que codifican factores de transcripción. Los factores de transcripción son proteínas de unión al ADN que inician procesos de transcripción esenciales para la regulación del desarrollo y del sistema defensivo de las plantas. En concreto, las familias de factores de transcripción MYB, AP2/ERF, ZIP y WRKY están involucradas en las defensas de las plantas (Biswas et al. 2023). Entre los genes candidatos, se identificaron dos factores de transcripción MYB ubicados en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.5* y *qSLB.3.04.13*), y uno en el *bin* 3.09 (*qBLS.3.09.1*). Los MYB son factores de transcripción asociados a múltiples procesos de desarrollo, aunque se destaca su función en la regulación directa de genes asociados a la patogénesis, biosíntesis de lignina, flavonoides, cutina, señalización mediada por polisacáridos y hormonal, así como también HR (Dubos et al. 2010; Biswas et al. 2023). Se identificaron dos genes candidatos que codifican factores de transcripción AP2/ERF en el *bin* 3.02 (*qBLS.3.02*) y en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.11*). Los factores de transcripción AP2/ERF son una familia exclusiva del reino vegetal, que desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta a heridas o infecciones por patógenos. Estos factores de transcripción se han descrito como integradores de las vías de señalización por jasmonato y etileno y están directamente involucrados en la regulación de genes asociados a la patogénesis y a las defensinas (Pré et al. 2008; Zhou et al. 2012). Dos genes candidatos en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.1*) y el *bin* 9.02 (*qSLB.9.02*) codifican factores de transcripción de tipo ZIP. Los factores de transcripción ZIP se han asociado sistemáticamente a la regulación de genes involucrados en la respuesta PTI, ETI y señalización hormonal (Noman et al. 2017). Un gen candidato identificado en el *bin* 3.02 (*qBLS.3.02*) codifica un factor de transcripción WRKY. Los factores de transcripción WRKY se localizan frecuentemente en receptores de tipo RLK y son esenciales en la red de señalización y regulación del sistema defensivo vegetal por quinasas, en la respuesta a PAMP o elicitores y hormonal (Chen et al. 2019). Otras familias de factores de transcripción destacadas son las familias ARF, BZR1 y MFT, que regulan la expresión de genes que responden a brasinoesteroides, auxinas y ácido abscísico, respectivamente (Tiwari et al. 2003; Yu et al. 2018). Aunque estas tres hormonas no son las principales reguladoras de la respuesta defensiva, interactúan con múltiples vías de señalización hormonal. Entre los genes candidatos, dos ubicados en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.1* y *qSLB.3.04.16*) y uno en el *bin* 6.03 (*qSLB.6.03.1*) que codifican factores de transcripción involucrados en la vía de señalización mediada por auxinas. Esta vía de señalización se encuentra asociada a susceptibilidad a enfermedades (Berens et al. 2017). Otro gen candidato ubicado en el *bin* 3.02 (*qBLS.3.02*) codifica un factor de transcripción involucrado en la vía de señalización

mediada por brasinoesteroides. Esta hormona comparte un RLK común involucrado en el reconocimiento de MAMP y podría ser funcional en la señalización PTI (Berens et al. 2017). Por último, un gen candidato identificado en el *bin* 3.04 (*qSLB.3.04.1*) se asoció con un factor de transcripción MFT involucrado en la respuesta mediada por ácido abscísico. Esta hormona está principalmente asociada a respuesta a estrés abiótico, aunque la señalización mediada por esta hormona en interacción con ácido salicílico induce el cierre estomático mediado por PAMP (Berens et al. 2017).

La gran cantidad de genes asociados a mecanismos diversos e inespecíficos de las defensas presentes en el *bin* 3.04 indicaría la presencia de una región caliente de resistencia en esta región (*hotspot*). Este resultado coincide con múltiples trabajos previos que han destacado esta región como una región importante para la MDR (McMullen and Simcox 1995; Wisser et al. 2006; Zwonitzer et al. 2010; Belcher et al. 2012; Rossi et al. 2019; Lopez-Zuniga et al. 2019; Martins et al. 2019; Qiu et al. 2020a, 2024; Chen et al. 2023).

En este *bin* se identificaron genes asociados a múltiples mecanismos de defensa, como peroxidasas con funciones detoxificantes, inhibidores enzimáticos, factores de transcripción vinculados con señalización hormonal y respuesta a estrés biótico, expansinas, enzimas involucradas en la síntesis de lignina y fortificación de paredes celulares, así como también involucradas en la generación de moléculas DAMP. Todos estos genes actúan sobre mecanismos inespecíficos que podrían ser efectivos frente a un amplio rango de patógenos. Específicamente, en el *qMDR3.04* la principal hipótesis asociada a la MDR apoya a una enzima lipasa que podría actuar activando la respuesta inmune o a través de la síntesis de compuestos antimicrobianos, hormonas u otras moléculas de señalización. A su vez, una fosfatasa con funciones RLK podría también contribuir al reconocimiento y activación de la respuesta inmune.

Al igual que en este trabajo, la precisión de los GWAS llevados a cabo por Belcher et al. (2012); Lopez-Zuniga et al. (2019); Martins et al. (2019); Qiu et al. (2020a) o Qiu et al. (2024) no pudieron dilucidar el o los mecanismos moleculares de resistencia que operan en esta región. Qiu et al. (2024) resaltó este *bin* relevante frente a patógenos de origen bacteriano y fúngico vinculándolo al mecanismo molecular del QTL “*qSLB_{3.04}*” identificado por Chen et al. (2023). En este trabajo los autores demostraron que este QTL causa una mayor susceptibilidad a SLB y está asociado a un gen en el *bin* 3.04 que codifica un receptor de tipo LRR-RLK (*ChSK1*, *Cochliobolus heterostrophus* Susceptibility Kinase 1) (Chen et al. 2023). El gen *ChSK1* participa en la regulación de la producción de H₂O₂ y múltiples vías de señalización que responden a las defensas. La familia de genes LRR-RLK generalmente son genes de resistencia, por lo que los autores suponen que el gen actúa como un supresor de la respuesta PTI, y su ausencia conlleva a un aumento general de las defensas de la planta (Chen et al. 2023). Estudios complementarios son necesarios para dilucidar el mecanismo molecular de resistencia en el *bin* 3.04 y determinar si coincide con el *qSLB_{3.04}*.

En resumen, en este capítulo se identificaron un gran número de QTL que controlan resistencias individuales, especialmente resistencia a SLB. Además, se confirmó la existencia de un QTL asociado a MDR en el *bin* 3.04. La localización de múltiples genes candidatos asociados con diversos mecanismos de defensa en la región de MDR, así como en regiones cercanas indicarían la presencia de un *hotspot* de resistencia en el *bin* 3.04. Esta región podría explotarse en programas de mejoramiento genético como fuente de MDR. Estudios complementarios de mapeo fino y validación son necesarios para investigar los genes subyacentes para una mejor comprensión del mecanismo biológico de resistencia a múltiples patógenos.

CAPÍTULO IV : CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS

El presente capítulo resume los principales resultados y conclusiones derivadas de los capítulos previos, desde una perspectiva amplia y asociada con su contribución como investigación científica. Esta tesis doctoral abordó el estudio tradicional de la resistencia a enfermedades en el maíz desde una perspectiva que incluye la variada interacción entre el hospedante y diversos patógenos. Este enfoque permite comprender las bases de la MDR para el desarrollo de una resistencia de amplio espectro, efectiva y duradera frente a múltiples amenazas.

Las principales conclusiones de este trabajo fueron:

- I. Los ensayos experimentales demostraron que el germoplasma desarrollado a partir de poblaciones locales constituye un recurso valioso con potencial para ampliar la base genética de la resistencia a un amplio espectro de enfermedades en los programas de mejoramiento de maíz. Una larga historia de ciclos de selección tanto natural como artificial ha contribuido a que la ausencia total de resistencia o la resistencia a solamente una enfermedad estén escasamente representadas dentro de la población.
- II. La H^2 tiene un impacto determinante en el resultado del GWAS, por lo tanto, la elección de una metodología de fenotipado correcta, así como la metodología de cálculo, son aspectos clave para una correcta estimación. Nuestros resultados demostraron que el fenotipado de enfermedades en maíz puede llevarse a cabo con éxito bajo infección natural si se utilizan ambientes y escalas de evaluación apropiados. La comparación de diferentes metodologías para la estimación de la H^2 sugirió que las metodologías que consideran la presencia de datos desbalanceados dan lugar a estimaciones más precisas.
- III. La alta H^2 determinada para todas las resistencias a enfermedades estudiadas indica que poseen un alto componente genético aditivo heredable, por lo que la selección puede realizarse con una alta eficiencia.
- IV. Los resultados obtenidos refuerzan la hipótesis de que la MDR está determinada por genes de resistencia que se agrupan en regiones específicas del genoma y conforman *hotspots* o puntos calientes de resistencia a enfermedades.
- V. El mecanismo molecular asociado a la MDR en el *bin* 3.04 no pudo determinarse con precisión en este trabajos y estudios complementarios son necesarios para determinar el mecanismo subyacente. La gran cantidad de genes candidatos presentes en la región sugiere mecanismos de defensa inespecíficos asociados a una enzima lipasa y un RLK.

Un aspecto destacado de esta tesis doctoral es su aporte a la comunidad científica:

- I. *El capítulo I es un ejemplo de cómo abordar de manera holística una temática de estudio y supone un importante aporte de valor para la presente tesis y para la comunidad científica.*
Este capítulo proporcionó el marco teórico para el estudio e interpretación de la MDR a través de una descripción detallada de los patógenos, el sistema de defensa de las plantas y las interacciones planta-patógeno como resultado de una exhaustiva revisión bibliográfica. Este capítulo se originó en un trabajo final de tesis de la Especialización en Mejoramiento Genético Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, que por su innovador enfoque fue publicado en la revista *Tropical Plant Pathologhie*.
- II. *El capítulo II presenta argumentos a favor de la adopción del fenotipado bajo infección natural.*
En la literatura, la mayoría de los estudios de QTL se basan en fenotipos obtenidos mediante infecciones artificiales, mientras que las infecciones naturales son menos frecuentes. Sin embargo, el fenotipado bajo infección natural presenta múltiples beneficios que han sido pobremente abordados en la literatura, lo que probablemente ha limitado su explotación. La infección natural es la mejor estrategia en ambientes con alta presión y uniforme distribución del inóculo natural. Esta situación garantiza una mejor representación del patosistema en términos de diversidad racial y competencia con otros patógenos, así como también minimiza el riesgo ambiental asociado a la introducción de nuevas especies. A su vez, requiere una menor inversión de tiempo y dinero en el desarrollo de una técnica de inoculación apropiada. El desarrollo de la técnica implica desde el aislamiento o adquisición del patógeno, pruebas de patogenicidad, preparación del inóculo y la inoculación *per se*. Si bien la literatura ofrece un amplio marco teórico, la adaptación al propio patosistema requiere de un profundo conocimiento y múltiples pruebas asociadas. A su vez, múltiples factores pueden conducir al fracaso de la inoculación, ya sea por errores en la concentración del inóculo o condiciones ambientales desfavorables que deriven en la ausencia de variación genética en la población bajo estudio. Un aspecto importante es el riesgo asociado a patógenos que producen micotoxinas, para el que el grupo de trabajo debe contar con protocolos de bioseguridad para el manejo y descarte del inóculo y los residuos derivados.
En este trabajo nos permitimos explorar ambos tipos de infección según el patosistema, y proporcionar herramientas a otros investigadores para decidir si es posible hacer uso del ambiente natural o si es necesario promover la infección a través del inóculo artificial. En este sentido, demostramos que para explotar el inóculo natural es clave la elección de ambientes donde las enfermedades son prevalentes y las condiciones ambientales predisponentes, el uso de testigos resistentes y susceptibles y la utilización de escalas de evaluación simples, aunque suficientemente precisas para captar la variación genética asociada. Nuestro aprendizaje en

relación con el fenotipado bajo infección natural se resume en esta tesis de doctorado, así como también en otras tres publicaciones científicas (Kistner et al. 2021, 2022b, a).

- III. *El estudio de la H^2 tuvo un papel central en esta tesis.* Mi impresión es que en muchos trabajos el cálculo de la H^2 se incluye como un cálculo de rutina previo al mapeo sin demasiada reflexión. En otros trabajos, se omite directamente la estimación de la H^2 del carácter bajo estudio. Considerar los componentes que influyen en la H^2 , le ofrece al investigador la posibilidad de manipular aspectos clave durante el fenotipado, lo que tiene un impacto directo en la calidad de los resultados asociados al mapeo. No menos importante es la H^2 en los programas de mejoramiento para la estimación de la GG. Todos estos aspectos que afectan a la H^2 y pueden controlarse se detallaron en el Capítulo II, así como también en dos publicaciones científicas: Kistner et al. 2021 y 2022a. Esperamos que estas conclusiones promuevan un rol más central de la H^2 en los estudios de mapeo.

También se hizo hincapié en la sobreestimación de la H^2 debido a observaciones desbalanceadas. A pesar de que la literatura ofrece soluciones a esta problemática, la fórmula tradicional de la H^2 continúa siendo la metodología más frecuente para su estimación. Personalmente, considero que esto se debe a que las alternativas presentadas en la literatura fueron desarrolladas utilizando softwares que son pagos y no accesibles para toda la comunidad científica. Durante el desarrollo de esta tesis tuve la oportunidad de conocer estas metodologías alternativas y surgió la motivación de poder recrearlas en un software libre. En colaboración con Flavio Lozano-Isla (Universidad de Hohenheim), desarrollamos la función `hcal2` (Kistner y Lozano-Isla 2020), que implementada en R que permite calcular rápidamente la H^2 a través de las metodologías propuestas por Cullis et al. (2006) o Piepho y Möhring (2007).

- IV. *El bin 3.04 es un hotspot de resistencia presente en múltiples fondos genéticos.* Los metaanálisis llevados a cabo por McMullen y Simcox (1995) y posteriormente por Wisser et al. (2006) fueron los primeros en señalar la importancia del bin 3.04 como una región relevante de MDR. Trabajos más recientes han enfatizado la importancia de este *hotspot* (Belcher et al. 2012; Lopez-Zuniga et al. 2019; Qiu et al. 2020a, 2024). Estos trabajos involucraron en su mayoría germoplasma americano derivado de la línea americana B73. Ninguno de estos trabajos ha podido determinar con precisión si la MDR en el bin 3.04 corresponde a un gen pleiotrópico o múltiples genes ligados, aunque se sugiere la presencia de múltiples genes de efecto pequeño en la región. La presencia repetida de esta región en múltiples fondos genéticos asociada a MDR indica la importancia de esta región como fuente de MDR y la necesidad de conducir estudios complementarios de mapeo fino para dilucidar su base molecular. Esta caracterización permitiría una rápida introgresión de MDR en germoplasma templado lo que maximizaría la conservación de los recursos genéticos autóctonos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah SNA, Akhtar MS (2016) Plant and Necrotrophic Fungal Pathogen Interaction: Mechanism and Mode of Action. In: Hakeem KR, Akhtar MS, Abdullah SNA (eds) Plant, Soil and Microbes. Springer International Publishing, Cham, pp 29–53
- Agrios GN (2005) Plant Pathology. Elsevier
- Albrecht T, Argueso CT (2017) Should I fight or should I grow now? The role of cytokinins in plant growth and immunity and in the growth–defence trade-off. *Annals of Botany* 119:725–735. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw211>
- Ali F, Yan J (2012) Disease Resistance in Maize and the Role of Molecular Breeding in Defending Against Global Threat: Maize Disease Resistance. *Journal of Integrative Plant Biology* 54:134–151. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01105.x>
- Alvarez-Cervantes J, Hernandez-Dominguez EM, Tellez-Tellez M, et al (2016) *Stenocarpella maydis* and *Sporisorium reilianum*: Two Pathogenic Fungi of Maize. *Fungal Pathogenicity* 45–60. <https://doi.org/10.5772/62662>
- Andersen E, Ali S, Byamukama E, et al (2018) Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes* 9:339. <https://doi.org/10.3390/genes9070339>
- Anderson CA, Pettersson FH, Clarke GM, et al (2010) Data quality control in genetic case-control association studies. *Nature Protocols* 5:1564–1573. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.116>
- Andorf C, Beavis WD, Hufford M, et al (2019) Technological advances in maize breeding: past, present and future. *Theoretical and Applied Genetics* 132:817–849. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03306-3>
- ANIDA (2020) Tipos de Clima - Atlas Nacional interactivo de Argentina. <https://www.ign.gob.ar/content/anida-atlas-nacional-interactivo-deargentina>. Accessed 16 Jul 2020
- Astle W, Balding DJ (2009) Population Structure and Cryptic Relatedness in Genetic Association Studies. *Statistical Science* 24:451–471. <https://doi.org/10.1214/09-STS307>
- Baek K-H, Choi D-I (2008) Roles of Plant Proteases in Pathogen Defense. *The Plant Pathology Journal* 24:367–374. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2008.24.4.367>
- Baker RJ (1994) Breeding methods and selection indices for improved tolerance to biotic and abiotic stresses in cool season food legumes. *Euphytica* 73:67–72
- Balint-Kurti P (2019) The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular Plant Pathology* 20:1163–1178. <https://doi.org/10.1111/mpp.12821>
- Balint-Kurti PJ, Carson ML (2006) Analysis of Quantitative Trait Loci for Resistance to Southern Leaf Blight in Juvenile Maize. *Phytopathology* 96:221–225. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0221>
- Balint-Kurti PJ, Wisser R, Zwonitzer JC (2008) Use of an Advanced Intercross Line Population for Precise Mapping of Quantitative Trait Loci for Gray Leaf Spot Resistance in Maize. *Crop Science* 48:1696–1704. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.12.0679>
- Balint-Kurti PJ, Yang J, Van Esbroeck G, et al (2010) Use of a Maize Advanced Intercross Line for Mapping of QTL for Northern Leaf Blight Resistance and Multiple Disease Resistance. *Crop Science* 50:458–466. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.02.0066>
- Balint-Kurti PJ, Zwonitzer JC, Pè ME, et al (2008) Identification of Quantitative Trait Loci for Resistance to Southern Leaf Blight and Days to Anthesis in Two Maize Recombinant Inbred Line Populations. *Phytopathology* 98:315–320. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-3-0315>
- Balint-Kurti PJ, Zwonitzer JC, Wisser RJ, et al (2007) Precise Mapping of Quantitative Trait Loci for Resistance to Southern Leaf Blight, Caused by *Cochliobolus heterostrophus* Race O, and

- Flowering Time Using Advanced Intercross Maize Lines. *Genetics* 176:645–657. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.067892>
- Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* 69:473–488. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Becker E-M, Herrfurth C, Irmisch S, et al (2014) Infection of Corn Ears by *Fusarium* spp. Induces the Emission of Volatile Sesquiterpenes. *J Agric Food Chem* 62:5226–5236. <https://doi.org/10.1021/jf500560f>
- Belcher AR, Zwonitzer JC, Cruz JS, et al (2012) Analysis of quantitative disease resistance to southern leaf blight and of multiple disease resistance in maize, using near-isogenic lines. *Theoretical and Applied Genetics* 124:433–445. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1718-1>
- Bengyella L, Yekwa EL, Nawaz K, et al (2018) Global invasive *Cochliobolus* species: cohort of destroyers with implications in food losses and insecurity in the twenty-first century. *Archives of Microbiology* 200:119–135. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1426-6>
- Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society* 57:289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Benson JM, Poland JA, Benson BM, et al (2015) Resistance to gray leaf spot of maize: Genetic architecture and mechanisms elucidated through nested association mapping and near-isogenic line analysis. *PLOS Genetics* 11:e1005045. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005045>
- Bentolila S, Guitton C, Bouvet N, et al (1991) Identification of an RFLP marker tightly linked to the *Htl* gene in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 82:393–398
- Berens ML, Berry HM, Mine A, et al (2017) Evolution of hormone signaling networks in plant defense. *Annual Review of Phytopathology* 55:401–425. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035544>
- Berger DK, Carstens M, Korsman JN, et al (2014) Mapping QTL conferring resistance in maize to gray leaf spot disease caused by *Cercospora zeina*. *BMC Genetics* 15:60. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-15-60>
- Bernardo R (2020) Reinventing quantitative genetics for plant breeding: something old, something new, something borrowed, something BLUE. *Heredity* 125:375–385. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0312-1>
- Berthelot K, Estevez Y, Deffieux A, Peruch F (2012) Isopentenyl diphosphate isomerase: A checkpoint to isoprenoid biosynthesis. *Biochimie* 94:1621–1634. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.03.021>
- Biezen EAVD, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends in Biochemical Sciences* 23:454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Biswas D, Gain H, Mandal A (2023) MYB transcription factor: A new weapon for biotic stress tolerance in plants. *Plant Stress* 10:100252. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100252>
- Blacutt AA, Gold SE, Voss KA, et al (2018) *Fusarium verticillioides*: Advancements in Understanding the Toxicity, Virulence, and Niche Adaptations of a Model Mycotoxigenic Pathogen of Maize. *Phytopathology* 108:312–326. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-17-0203-RVW>
- Bock CH, Poole GH, Parker PE, Gottwald TR (2010) Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29:59–107. <https://doi.org/10.1080/07352681003617285>
- Boddy L (2016) Pathogens of Autotrophs. In: *The Fungi*. Elsevier, pp 245–292
- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, et al (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 24:127–135. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.10.008>

- Boubakri H (2017) The role of ascorbic acid in plant–pathogen interactions. In: Hossain MA, Munné-Bosch S, Burritt DJ, et al. (eds) *Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance*. Springer International Publishing, Cham, pp 255–271
- Bozkurt TO, Richardson A, Dagdas YF, et al (2014) The plant membrane-associated *REMORINI.3* accumulates in discrete perhaustorial domains and enhances susceptibility to *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology* 165:1005–1018. <https://doi.org/10.1104/pp.114.235804>
- Bracco LM (2012) Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino. Doctorado, Universidad de Buenos Aires
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, et al (2007) TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23:2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Braga K, Fantin LH, Roy JMT, et al (2020) Development and validation of a diagrammatic scale for the assessment of the severity of bacterial leaf streak of corn. *European Journal of Plant Pathology* 157:367–375. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02008-7>
- Brefort T, Doehlemann G, Mendoza-Mendoza A, et al (2009) *Ustilago maydis* as a pathogen. *Annual Review of Phytopathology* 47:423–445. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081923>
- Breseghele F, Sorrells ME (2006) Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Science* 46:1323–1330. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.09-0305>
- Brooks ME, Kristensen K, Benthem KJ van, et al (2017) glmmTMB Balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal* 9:378–400
- Brown AF, Juvik JA, Pataky JK (2001) Quantitative trait Loci in sweet corn associated with partial resistance to Stewart’s wilt, northern corn leaf blight, and common rust. *Phytopathology* 91:293–300. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.3.293>
- Bruns HA (2017) Southern corn leaf blight: A story worth retelling. *Agronomy Journal* 109:1218–1224. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.01.0006>
- Bubeck DM, Goodman MM, Beavis WD, Grant D (1993) Quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot in maize. *Crop Science* 33:838–847. <https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300040041x>
- Burghardt LT, Young ND, Tiffin P (2017) A guide to genome-wide association mapping in plants. *Current Protocols in Plant Biology* 2:22–38. <https://doi.org/10.1002/cppb.20041>
- Butrón A, Santiago R, Cao A, et al (2019) QTLs for resistance to *Fusarium* ear rot in a multiparent advanced generation intercross (MAGIC) maize population. *Plant Disease* 103:897–904. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1669-RE>
- Canonne J, Froidure-Nicolas S, Rivas S (2011) Phospholipases in action during plant defense signaling. *Plant Signaling & Behavior* 6:13–18. <https://doi.org/10.4161/psb.6.1.14037>
- Cárcova J, Borrás L, Otegui M (2010) Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad del maíz. In: *Producción de granos: bases funcionales para su manejo*, 4th edn. Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina, pp 133–163
- Carmona M (2008) ¿Cómo medir la roya común del maíz? <https://studylib.es/doc/285025/¿cómo-medir-la-roya-común-del-maíz>. Accessed 26 Oct 2021 ¿Cómo medir la roya común del maíz?
- Carson ML, Stuber CW, Senior ML (2004) Identification and mapping of quantitative trait loci conditioning resistance to southern leaf blight of maize caused by *Cochliobolus heterostrophus* Race O. *Phytopathology* 94:862–867. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.8.862>
- Carson ML, Stuber CW, Senior ML (2005) Quantitative trait loci conditioning resistance to *Phaeosphaeria* leaf spot of maize caused by *Phaeosphaeria maydis*. *Plant Disease* 89:571–574. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0571>

- Catalogue of Life (2025) Catalogue of Life. In: Catalogue of Life. <https://www.catalogueoflife.org/>. Accessed 26 Mar 2025
- Chen C, Zhao Y, Tabor G, et al (2023) A leucine-rich repeat receptor kinase gene confers quantitative susceptibility to maize southern leaf blight. *New Phytologist* 238:1182–1197. <https://doi.org/10.1111/nph.18781>
- Chen G, Wang X, Long S, et al (2015) Mapping of QTL conferring resistance to northern corn leaf blight using high-density SNPs in maize. *Molecular Breeding* 36:4. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0421-3>
- Chen J, Ding J, Li H, et al (2012) Detection and verification of quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* ear rot in maize. *Molecular Breeding* 30:1649–1656. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9748-1>
- Chen J, Shrestha R, Ding J, et al (2016) Genome-wide association study and QTL mapping reveal genomic loci associated with *Fusarium* ear rot resistance in tropical maize germplasm. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 6:3803–3815. <https://doi.org/10.1534/g3.116.034561>
- Chen X, Li C, Wang H, Guo Z (2019) WRKY transcription factors: evolution, binding, and action. *Phytopathol Res* 1:13. <https://doi.org/10.1186/s42483-019-0022-x>
- Chung C-L, Poland J, Kump K, et al (2011) Targeted discovery of quantitative trait loci for resistance to northern leaf blight and other diseases of maize. *Theoretical and Applied Genetics* 123:307–326. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1585-9>
- Chungu C, Mather DE, Reid LM, Hamilton RI (1996) Inheritance of Kernel Resistance to *Fusarium graminearum* in Maize. *Journal of Heredity* 87:382–385. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a023019>
- CIMMYT (1985) Managing trials and reporting data for CIMMYT's International Maize Testing Program, 5th edn. Mexico, D.F.
- Cirilo A (2012) Ecofisiología del cultivo de maíz. In: Bases para el manejo del cultivo de maíz. INTA, Buenos Aires, Argentina, pp 25–56
- Clements MJ, Dudley JW, White DG (2000) Quantitative trait loci associated with resistance to gray leaf spot of corn. *Phytopathology* 90:1018–1025. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2000.90.9.1018>
- Coan MMD, Senhorinho HJC, Pinto RJB, et al (2018) Genome-wide association study of resistance to ear rot by *Fusarium verticillioides* in a tropical field maize and popcorn core collection. *Crop Science* 58:564–578. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.05.0322>
- Coe E (2001) The origins of maize genetics. *Nature Reviews Genetics* 2:898–905
- Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169–196. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5>
- Collier SM, Moffett P (2009) NB-LRRs work a “bait and switch” on pathogens. *Trends in Plant Science* 14:521–529. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.08.001>
- Cullis BR, Smith AB, Coombes NE (2006) On the design of early generation variety trials with correlated data. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 11:381–393. <https://doi.org/10.1198/108571106X154443>
- Darino MA, Rochi L, Lia VV, et al (2016) Virulence characterization and identification of maize lines resistant to *Puccinia sorghi* Schwein. present in the Argentine corn belt region. *Plant Disease* 100:770–776. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-15-0639-RE>
- Darrah LL, McMullen MD, Zuber MS (2019) Chapter 2 - Breeding, genetics and seed corn production. In: Serna-Saldivar SO (ed) *Corn*, 3rd edn. AACC International Press, Oxford, pp 19–41

- De Rossi RL, Guerra FA, Plazas MC, et al (2022) Crop damage, economic losses, and the economic damage threshold for northern corn leaf blight. *Crop Protection* 154:105901. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105901>
- Defacio RA, Iglesias J, Kistner MB, et al (2018) Las poblaciones locales de maíz como fuente para la resistencia a enfermedades. *Revista de Tecnología Agropecuaria* 10:18–21
- Denancé N, Sánchez-Vallet A, Goffner D, Molina A (2013) Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Frontiers in Plant Science* 4:1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00155>
- Ding J, Wang X, Chander S, Li J (2008) Identification of QTL for maize resistance to common smut by using recombinant inbred lines developed from the Chinese hybrid Yuyu22. *J Appl Genet* 49:147–154. <https://doi.org/10.1007/BF03195608>
- Ding L-N, Li Y-T, Wu Y-Z, et al (2022) Plant disease resistance-related signaling pathways: Recent progress and future prospects. *International Journal of Molecular Sciences* 23:16200. <https://doi.org/10.3390/ijms232416200>
- Dingerdissen AL, Geiger HH, Lee M, et al (1996) Interval mapping of genes for quantitative resistance of maize to *Setosphaeria turcica*, cause of northern leaf blight, in a tropical environment. *Molecular Breeding* 2:143–156. <https://doi.org/10.1007/BF00441429>
- Djamei A, Kahmann R (2012) *Ustilago maydis*: Dissecting the molecular interface between pathogen and plant. *PLOS Pathogens* 8:e1002955. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002955>
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11:539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Doebley J (2004) The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* 38:37–59. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.092425>
- Doehlemann G, Ökmen B, Zhu W, Sharon A (2017) Plant pathogenic fungi. *Microbiology Spectrum* 5:1–23. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0023-2016>
- Du L, Yu F, Zhang H, et al (2020) Genetic mapping of quantitative trait loci and a major locus for resistance to grey leaf spot in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 133:2521–2533. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03614-z>
- Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al (2010) MYB transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science* 15:573–581. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.06.005>
- Earl DA, vonHoldt BM (2012) Structure harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4:359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Elston RC (1963) A weight-free index for the purpose of ranking or selection with respect to several traits at a time. *Biometrics* 19:85–97. <https://doi.org/10.2307/2527573>
- Endelman JB, Jannink J-L (2012) Shrinkage estimation of the realized relationship matrix. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 2:1405–1413. <https://doi.org/10.1534/g3.112.004259>
- Ersoz ES, Yu J, Buckler ES (2009) Applications of linkage disequilibrium and association mapping in maize. In: Kriz AL, Larkins BA (eds) *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 173–195
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Eyzaguirre R (2020) st4gi: statistical tools for genetic improvement.
- Falconer D, Mackay T (1996) *Introduction to quantitative genetics*, 4th edn. Pearson Prentice Hall: Upper Saddle River, NJ, USA

- Fauguel CM, Campos Bermudez VA, Iglesias J, et al (2017) Volatile compounds released by maize grains and silks in response to infection by *Fusarium verticillioides* and its association with pathogen resistance. *Plant Pathology* 66:1128–1138. <https://doi.org/10.1111/ppa.12663>
- Fellahi ZEA, Hannachi A, Bouzerzour H (2020) Expected genetic gains from mono trait and indexbased selection in advanced bread wheat (*Triticum aestivum* L.) populations. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 73:9131–9141. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v73n2.77806>
- Flint-Garcia SA, Thornsberry JM, Buckler ES (2003) Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology* 54:357–374. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134907>
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* 9:275–296. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>
- Font i Forcada C, Guajardo V, Chin-Wo SR, Moreno MÁ (2019) Association mapping analysis for fruit quality traits in *Prunus persica* using SNP markers. *Frontiers in Plant Science* 9:1–12
- Gaikpa DS, Kessel B, Presterl T, et al (2021) Exploiting genetic diversity in two European maize landraces for improving *Gibberella* ear rot resistance using genomic tools. *Theoretical and Applied Genetics* 134:793–805. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03731-9>
- Gaikpa DS, Miedaner T (2019) Genomics-assisted breeding for ear rot resistances and reduced mycotoxin contamination in maize: methods, advances and prospects. *Theoretical and Applied Genetics* 132:2721–2739. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03412-2>
- Galiano-Carneiro AL, Kessel B, Presterl T, et al (2020) Multi-parent QTL mapping reveals stable QTL conferring resistance to *Gibberella* ear rot in maize. *Euphytica* 217:2. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02748-x>
- Galiano-Carneiro AL, Kessel B, Presterl T, Miedaner T (2021) Intercontinental trials reveal stable QTL for Northern corn leaf blight resistance in Europe and in Brazil. *Theoretical and Applied Genetics* 134:63–79. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03682-1>
- Galiano-Carneiro AL, Miedaner T (2017) Genetics of resistance and pathogenicity in the maize/*Setosphaeria turcica* pathosystem and implications for breeding. *Frontiers in Plant Science* 8:1490. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01490>
- Ganal MW, Durstewitz G, Polley A, et al (2011) A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. *PLoS ONE* 6:e28334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028334>
- Gao Y, He C, Zhang D, et al (2017) Two trichome birefringence like proteins mediate xylan acetylation, which is essential for leaf blight resistance in rice. *Plant Physiology* 173:470–481. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01618>
- García-Lara S, Serna-Saldivar SO (2019) Corn history and culture. In: *Corn*, 3rd edn. Elsevier, pp 1–18
- Giomi GM, Kreff ED, Iglesias J, et al (2016) Quantitative trait loci for *Fusarium* and *Gibberella* ear rot resistance in Argentinian maize germplasm. *Euphytica* 211:287–294. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1725-z>
- Giomi GM, Sampietro DA, Velazco JG, et al (2021) Map overlapping of QTL for resistance to *Fusarium* ear rot and associated traits in maize. *Euphytica* 217:81. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02814-y>
- Glazebrook J (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43:205–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- Gonzalez M del P, Eyherabide G, Laguna IG (2011) Variabilidad de *Puccinia sorghi* en la zona maicera núcleo Argentina. *Tropical Plant Pathology* 36:195–199. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762011000300009>

- Gonzalez MP (2005) Roya común del maíz: Altos niveles de severidad en la zona maicera núcleo (Campana 04/05). Cátedra de Fitopatología Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Rosario
- Gordon SG, Bartsch M, Matthies I, et al (2004) Linkage of molecular markers to *Cercospora zeae-maydis* resistance in maize. *Crop Science* 44:628–636. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.6280>
- Gou M, Balint-Kurti P, Xu M, Yang Q (2023) Quantitative disease resistance: Multifaceted players in plant defense. *Journal of Integrative Plant Biology* 65:594–610. <https://doi.org/10.1111/jipb.13419>
- Grote U, Fasse A, Nguyen TT, Erenstein O (2021) Food security and the dynamics of wheat and maize value chains in Africa and Asia. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4:617009. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.617009>
- Guerra FA, De Rossi RL, Brücher E, et al (2019) Occurrence of the complete cycle of *Puccinia sorghi* Schw. in Argentina and implications on the common corn rust epidemiology. *European Journal of Plant Pathology* 154:171–177. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01645-3>
- Haberer G, Young S, Bharti AK, et al (2005) Structure and architecture of the maize genome. *Plant Physiology* 139:1612–1624. <https://doi.org/10.1104/pp.105.068718>
- Hallauer A, Carena M (2009) Maize. In: *Cereals*. Springer, US, New York, pp 3–98
- Hallauer AR (2007) History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: Lessons from maize. *Crop Science* 47:. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0002IPBS>
- Han S, Miedaner T, Utz HF, et al (2018) Genomic prediction and GWAS of Gibberella ear rot resistance traits in dent and flint lines of a public maize breeding program. *Euphytica* 214:6. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-2090-2>
- Hartung K, Piepho H-P (2007) Are ordinal rating scales better than percent ratings? a statistical and “psychological” view. *Euphytica* 155:15–26. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9296-z>
- He W, Yang L, Leng Y, et al (2018) QTL mapping for resistance of maize to grey leaf spot. *Journal of Phytopathology* 166:167–176. <https://doi.org/10.1111/jph.12673>
- Hill WG, Weir BS (1988) Variances and covariances of squared linkage disequilibria in finite populations. *Theoretical Population Biology* 33:54–78. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(88\)90004-4](https://doi.org/10.1016/0040-5809(88)90004-4)
- Holland JB, Nyquist WE, Cervantes-Martínez CT (2002) Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update. In: *Plant Breeding Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd, pp 9–112
- Hu Q, Min L, Yang X, et al (2018) Laccase GhLac1 Modulates Broad-Spectrum Biotic Stress Tolerance via Manipulating Phenylpropanoid Pathway and Jasmonic Acid Synthesis. *Plant Physiology* 176:1808–1823. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01628>
- Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA (2009) Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols* 4:44–57. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>
- Human MP, Berger DK, Crampton BG (2020) Time-course RNAseq reveals *Exserohilum turcicum* effectors and pathogenicity determinants. *Frontiers in Microbiology* 11:360. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00360>
- Hurni S, Scheuermann D, Krattinger SG, et al (2015) The maize disease resistance gene *Htn1* against northern corn leaf blight encodes a wall-associated receptor-like kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112:8780–8785. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502522112>
- Iglesias J, Presello DA, Botta G, et al (2010) Aggressiveness of *Fusarium* section *liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. *Journal of Plant Pathology* 92:205–211

- Jamann TM, Luo X, Morales L, et al (2016) A remorin gene is implicated in quantitative disease resistance in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 129:591–602. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2650-6>
- Jamann TM, Poland JA, Kolkman JM, et al (2014) Unraveling genomic complexity at a quantitative disease resistance locus in maize. *Genetics* 198:333–344. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.167486>
- Jeena GS, Kumar S, Shukla RK (2019) Structure, evolution and diverse physiological roles of SWEET sugar transporters in plants. *Plant Molecular Biology* 100:351–365. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00872-4>
- Johal GS, Briggs SP (1992) Reductase activity encoded by the *Hm1* disease resistance gene in maize. *Science* 258:985–987. <https://doi.org/10.1126/science.1359642>
- Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kaler AS, Gillman JD, Beissinger T, Purcell LC (2020) Comparing different statistical models and multiple testing corrections for association mapping in soybean and maize. *Frontiers in Plant Science* 10:1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01794>
- Kaur M, Vikal Y, Kaur H, et al (2019) Mapping quantitative trait loci associated with southern leaf blight resistance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Phytopathology* 167:591–600. <https://doi.org/10.1111/jph.12849>
- Kibe M, Nyaga C, Nair SK, et al (2020) Combination of linkage mapping, GWAS, and GP to dissect the genetic basis of common rust resistance in tropical maize germplasm. *International Journal of Molecular Sciences* 21:6518. <https://doi.org/10.3390/ijms21186518>
- Kikot GE, Hours RA, Alconada TM (2009) Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium graminearum*: a review: Pathogenesis of *Fusarium graminearum*. *J Basic Microbiol* 49:231–241. <https://doi.org/10.1002/jobm.200800231>
- Kistner M, Lozano-Isla F (2020) Broad-sense heritability in plant breeding
- Kistner MB (2021) Explorando la complejidad de la resistencia genética a enfermedades en maíz. Tesis de especialización, Universidad de Buenos Aires
- Kistner MB, Galiano-Carneiro AL, Kessel B, et al (2021) Multi-parental QTL mapping of resistance to white spot of maize (*Zea mays*) in southern Brazil and relationship to QTLs of other foliar diseases. *Plant Breeding* 140:801–811. <https://doi.org/10.1111/pbr.12964>
- Kistner MB, Nazar L, Montenegro LD, et al (2022a) Detecting sources of resistance to multiple diseases in Argentine maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Euphytica* 218:48. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03000-4>
- Kistner MB, Romero AM, Iglesias J (2022b) Unravelling the complexity of maize resistance to bacterial and fungal diseases: an integrative perspective. *Tropical Plant Pathology* 47:332–352. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00486-6>
- Kolmer JA, Ordóñez ME, Groth JV (2009) The rust fungi. In: John Wiley & Sons, Ltd (ed) eLS, 1st edn. Wiley
- Kotze RG, Van Der Merwe CF, Crampton BG, Kritzing Q (2019) A histological assessment of the infection strategy of *Exserohilum turcicum* in maize. *Plant Pathology* 68:504–512. <https://doi.org/10.1111/ppa.12961>
- Kozak M, Piepho H-P (2018) What's normal anyway? Residual plots are more telling than significance tests when checking ANOVA assumptions. *Journal of Agronomy and Crop Science* 204:86–98. <https://doi.org/10.1111/jac.12220>

- Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeier W, et al (2009) A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323:1360–1363. <https://doi.org/10.1126/science.1166453>
- Kubicek CP, Starr TL, Glass NL (2014) Plant cell wall-degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology* 52:427–451. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045831>
- Kuki MC, Scapim CA, Rossi ES, et al (2018) Genome wide association study for gray leaf spot resistance in tropical maize core. *PLoS ONE* 13:e0199539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199539>
- Kump KL, Bradbury PJ, Wisser RJ, et al (2011) Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics* 43:163–168. <https://doi.org/10.1038/ng.747>
- Laidig F, Feike T, Hadasch S, et al (2021) Breeding progress of disease resistance and impact of disease severity under natural infections in winter wheat variety trials. *Theoretical and Applied Genetics* 134:1281–1302. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03728-4>
- Laidò G, Marone D, Russo MA, et al (2014) Linkage disequilibrium and genome-wide association mapping in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *PLoS ONE* 9:e95211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095211>
- Laluk K, Mengiste T (2010) Necrotroph attacks on plants: wanton destruction or covert extortion? *The Arabidopsis Book* 8:1–34. <https://doi.org/10.1199/tab.0136>
- Lana UGDP, Prazeres De Souza IR, Noda RW, et al (2017) Quantitative trait loci and resistance gene analogs associated with maize white spot resistance. *Plant Disease* 101:200–208. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0899-RE>
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185–199. <https://doi.org/10.1093/genetics/121.1.185>
- Lanver D, Müller AN, Happel P, et al (2018) The biotrophic development of *Ustilago maydis* studied by RNA-seq analysis. *The Plant Cell* 30:300–323. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00764>
- Łażniewska J, Macioszek VK, Kononowicz AK (2012) Plant-fungus interface: The role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 78:24–30. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.01.004>
- Lee H-J, Park OK (2019) Lipases associated with plant defense against pathogens. *Plant Science* 279:51–58. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.07.003>
- Lehmensiek A, Esterhuizen AM, Van Staden D, et al (2001) Genetic mapping of gray leaf spot (GLS) resistance genes in maize: *Theoretical and Applied Genetics* 103:797–803. <https://doi.org/10.1007/s001220100599>
- Lennon JR, Krakowsky M, Goodman M, et al (2016) Identification of alleles conferring resistance to gray leaf spot in maize derived from its wild progenitor species teosinte. *Crop Science* 56:209–218. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.07.0468>
- Li B, Zeng Y, Cao W, et al (2021) A distinct giant coat protein complex II vesicle population in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Plants* 7:1335–1346. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00997-9>
- Li H, Bradbury P, Ersoz E, et al (2011) Joint QTL linkage mapping for multiple-cross mating design sharing one common parent. *PLoS ONE* 6:e17573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017573>
- Li S, Jiang F, Bi Y, et al (2024) Utilizing two populations derived from tropical maize for genome-wide association analysis of banded leaf and sheath blight resistance. *Plants* 13:456. <https://doi.org/10.3390/plants13030456>

- Li W, Deng Y, Ning Y, et al (2020) Exploiting Broad-Spectrum Disease Resistance in Crops: From Molecular Dissection to Breeding. *Annual Review of Plant Biology* 71:575–603. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-010720-022215>
- Li Y, Ye Z, Nie Y, et al (2015) Comparative phosphoproteome analysis of *Magnaporthe oryzae*-responsive proteins in susceptible and resistant rice cultivars. *Journal of Proteomics* 115:66–80. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.12.007>
- Lia VV, Confalonieri VA, Ratto N, et al (2007) Microsatellite typing of ancient maize: insights into the history of agriculture in southern South America. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274:545–554. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3747>
- Liu J, Fernie AR, Yan J (2020) The past, present, and future of maize improvement: Domestication, genomics, and functional genomic routes toward crop enhancement. *Plant Communications* 1:1–19. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2019.100010>
- Liu Z, Cook J, Melia-Hancock S, et al (2016) Expanding maize genetic resources with predomestication alleles: Maize–teosinte introgression populations. *The Plant Genome* 9:1–11. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.07.0053>
- Lo Presti L, Lanver D, Schweizer G, et al (2015) Fungal effectors and plant susceptibility. *Annual Review of Plant Biology* 66:513–545. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114623>
- Lopez-Zuniga LO, Wolters P, Davis S, et al (2019) Using maize chromosome segment substitution line populations for the identification of loci associated with multiple disease resistance. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 9:189–201. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200866>
- Lübberstedt T, Klein D, Melchinger AE (1998) Comparative quantitative trait loci mapping of partial resistance to *Puccinia sorghi* across four populations of European flint maize. *Phytopathology* 88:1324–1329. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1324>
- Luo M, Brown RL, Chen Z-Y, et al (2011) Transcriptional profiles uncover *Aspergillus flavus*-induced resistance in maize kernels. *Toxins* 3:766–786. <https://doi.org/10.3390/toxins3070766>
- MacCannell D (2019) Platforms and analytical tools used in nucleic acid sequence-based microbial genotyping procedures. *Microbiology Spectrum* 7:10.1128/microbiolspec.ame-0005–2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ame-0005-2018>
- Mammadov J, Sun X, Gao Y, et al (2015) Combining powers of linkage and association mapping for precise dissection of QTL controlling resistance to gray leaf spot disease in maize (*Zea mays* L.). *BMC Genomics* 16:916. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2171-3>
- Man J, Gallagher JP, Bartlett M (2020) Structural evolution drives diversification of the large LRR-RLK gene family. *New Phytologist* 226:1492–1505. <https://doi.org/10.1111/nph.16455>
- Martin M, Dhillon BS, Miedaner T, Melchinger AE (2012a) Inheritance of resistance to Gibberella ear rot and deoxynivalenol contamination in five flint maize crosses. *Plant Breeding* 131:28–32. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01908.x>
- Martin M, Miedaner T, Schwegler DD, et al (2012b) Comparative quantitative trait loci mapping for Gibberella ear rot resistance and reduced deoxynivalenol contamination across connected maize populations. *Crop Science* 52:32–43. <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.04.0214>
- Martins LB, Rucker E, Thomason W, et al (2019) Validation and Characterization of Maize Multiple Disease Resistance QTL. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 9:2905–2912. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400195>
- Marzin S, Hanemann A, Sharma S, et al (2016) Are pectin esterase inhibitor genes involved in mediating resistance to *Rhynchosporium commun* in barley? *PLOS ONE* 11:e0150485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150485>

- Maschietto V, Colombi C, Pirona R, et al (2017) QTL mapping and candidate genes for resistance to Fusarium ear rot and fumonisin contamination in maize. *BMC Plant Biology* 17:20. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0970-1>
- Matei A, Doehlemann G (2016) Cell biology of corn smut disease —*Ustilago maydis* as a model for biotrophic interactions. *Current Opinion in Microbiology* 34:60–66. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.07.020>
- McMullen M, Simcox K (1995) Genomic organization of disease and insect resistance genes in maize. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 8:811–815
- Méndez-López A, Sánchez-Vega M, Torres JC-S, et al (2019) El cultivo de huitlacoche: alimento nutritivo y sustentable. *Ciencias Agronómicas Aplicadas y Biotecnología* 1:9–12
- Mengiste T (2012) Plant immunity to necrotrophs. *Annual Review of Phytopathology* 50:267–294. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172955>
- Messing J, Dooner HK (2006) Organization and variability of the maize genome. *Current Opinion in Plant Biology* 9:157–163. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.01.009>
- Mesterhazy A (2020) Updating the breeding philosophy of wheat to *Fusarium* head blight (FHB): resistance components, QTL identification, and phenotyping—A Review. *Plants* 9:1–33. <https://doi.org/10.3390/plants9121702>
- Mesterházy Á, Lemmens M, Reid LM (2012) Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium* spp. in maize - a review: Breeding for resistance to ear rots. *Plant Breeding* 131:1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01936.x>
- Miedaner T (2016) Breeding strategies for improving plant resistance to diseases. In: *Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits*. Springer International Publishing, Cham, pp 561–599
- Miedaner T, Akel W, Flath K, et al (2020a) Molecular tracking of multiple disease resistance in a winter wheat diversity panel. *Theoretical and Applied Genetics* 133:419–431. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03472-4>
- Miedaner T, Boeven ALG-C, Gaikpa DS, et al (2020b) Genomics-assisted breeding for quantitative disease resistances in small-grain cereals and maize. *International Journal of Molecular Sciences* 21:1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms21249717>
- Money D, Gardner K, Migicovsky Z, et al (2015) LinkImpute: Fast and accurate genotype imputation for nonmodel organisms. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 5:2383–2390. <https://doi.org/10.1534/g3.115.021667>
- Montemarani A, Sartori M, Nesci A, et al (2018) Influence of crop residues, matric potential and temperature on growth of *Exserohilum turcicum* an emerging maize pathogen in Argentina. *Letters in Applied Microbiology* 67:614–619. <https://doi.org/10.1111/lam.13076>
- Morales L, Zila CT, Moreta Mejía DE, et al (2019) Diverse Components of Resistance to *Fusarium verticillioides* Infection and Fumonisin Contamination in Four Maize Recombinant Inbred Families. *Toxins* 11:86. <https://doi.org/10.3390/toxins11020086>
- Moreira JUV, Bento DAV, De Souza AP, De Souza CL (2009) QTL mapping for reaction to *Phaeosphaeria* leaf spot in a tropical maize population. *Theoretical and Applied Genetics* 119:1361–1369. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1140-0>
- Morrison EN, Emery RJN, Saville BJ (2015) Phytohormone involvement in the *Ustilago maydis*–*Zea mays* pathosystem: Relationships between abscisic acid and cytokinin levels and strain virulence in Infected cob tissue. *PLoS ONE* 10:e0130945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130945>
- Mubeen S, Rafique M, Munis MFH, Chaudhary HJ (2017) Study of southern corn leaf blight (SCLB) on maize genotypes and its effect on yield. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16:210–217. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.06.006>

- Mukherjee S, Bassler BL (2019) Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nature Reviews Microbiology* 17:371–382. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>
- Munkvold GP (2003) Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. In: Xu X, Bailey JA, Cooke BM (eds) *Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 705–713
- Nakagawa S, Schielzeth H (2010) Repeatability for gaussian and non-gaussian data: a practical guide for biologists. *Biological Reviews* no-no. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00141.x>
- Narváez-Barragán DA, Tovar-Herrera OE, Guevara-García A, et al (2022) Mechanisms of plant cell wall surveillance in response to pathogens, cell wall-derived ligands and the effect of expansins to infection resistance or susceptibility. *Frontiers in Plant Science* 13:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.969343>
- Navarro BL, Ramos Romero L, Kistner MB, et al (2021) Assessment of physiological races of *Exserohilum turcicum* isolates from maize in Argentina and Brazil. *Tropical Plant Pathology* 46:371–380. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00417-x>
- Negeri AT, Coles ND, Holland JB, Balint-Kurti PJ (2011) Mapping QTL controlling southern leaf blight resistance by joint analysis of three related recombinant inbred line populations. *Crop Science* 51:1571–1579. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.12.0672>
- Nelson R, Wiesner-Hanks T, Wissner R, Balint-Kurti P (2018) Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nature Reviews Genetics* 19:21–33. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.82>
- Nene YL (1988) Multiple-disease resistance in grain legumes. *Annual Review of Phytopathology* 26:203–217. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.26.090188.001223>
- Niks R, Parlevliet J, Lindhout P, Bai Y (2019) *Breeding crops with resistance to diseases and pests*, 3rd edn. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands
- Niks RE, Qi X, Marcel TC (2015) Quantitative resistance to biotrophic filamentous plant pathogens: concepts, misconceptions, and mechanisms. *Annual Review of Phytopathology* 53:445–470. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-115928>
- Niu L, Liu L, Wang W (2020) Digging for Stress-Responsive Cell Wall Proteins for Developing Stress-Resistant Maize. *Front Plant Sci* 11:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.576385>
- Noman A, Liu Z, Aqeel M, et al (2017) Basic leucine zipper domain transcription factors: the vanguards in plant immunity. *Biotechnology Letters* 39:1779–1791. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2431-1>
- Oliver RP, Ipcho SVS (2004) *Arabidopsis* pathology breathes new life into the necrotrophs-vs.-biotrophs classification of fungal pathogens. *Molecular Plant Pathology* 5:347–352. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2004.00228.x>
- Olmos SE, Delucchi C, Ravera M, et al (2014) Genetic relatedness and population structure within the public Argentinean collection of maize inbred lines. *Maydica* 59:745–751
- Olmos SE, Lia VV, Eyherabide GH (2017) Genetic diversity and linkage disequilibrium in the Argentine public maize inbred line collection. *Plant Genet Resour* 15:515–526. <https://doi.org/10.1017/S1479262116000228>
- Olukolu BA, Bian Y, De Vries B, et al (2016) The genetics of leaf flecking in maize and its relationship to plant defense and disease resistance. *Plant Physiology* 172:1787–1803. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01870>
- Omondi DO, Dida MM, Berger DK, et al (2023) Combination of linkage and association mapping with genomic prediction to infer QTL regions associated with gray leaf spot and northern corn leaf blight resistance in tropical maize. *Frontiers in Genetics* 14:1282673. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1282673>

- Ortiz-Castro M, Hartman T, Coutinho T, et al (2020) Current understanding of the history, global spread, ecology, evolution, and management of the corn Bacterial leaf streak pathogen, *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*. *Phytopathology* 110:1124–1131. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-20-0018-PER>
- Papst C, Zellner J, Venkataratnam S, Eder J (2007) Fusarium – Problematik bei Körnermais (*Zea Mays* L.). *Gesunde Pflanzen* 59:7–16. <https://doi.org/10.1007/s10343-007-0139-1>
- Passarella V, Savin R (2010) Características físico químicas de los granos usos principales. In: *Producción de granos: Bases funcionales para su manejo*, 4th edn. Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina
- Pechanova O, Pechan T (2015) Maize-pathogen interactions: An ongoing combat from a proteomics perspective. *International Journal of Molecular Sciences* 16:28429–28448. <https://doi.org/10.3390/ijms161226106>
- Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA (2007) Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences* 11:1633–1644. <https://doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007>
- Perez-Quintero AL, Ortiz-Castro M, Lang JM, et al (2020) Genomic acquisitions in emerging populations of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* infecting corn in the United States and Argentina. *Phytopathology* 110:1161–1173. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-19-0077-R>
- Peterson RF, Campbell AB, Hannah AE (1948) A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research* 26:496–500. <https://doi.org/10.1139/cjr48c-033>
- Pfeilmeier S, Caly DL, Malone JG (2016) Bacterial pathogenesis of plants: future challenges from a microbial perspective: Challenges in bacterial molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 17:1298–1313. <https://doi.org/10.1111/mpp.12427>
- Pichersky E, Raguso RA (2018) Why do plants produce so many terpenoid compounds? *New Phytologist* 220:692–702. <https://doi.org/10.1111/nph.14178>
- Piepho HP, Büchse A, Emrich K (2003) A hitchhiker's guide to mixed models for randomized experiments. *Journal of Agronomy and Crop Science* 189:310–322. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2003.00049.x>
- Piepho H-P, Möhring J (2007) Computing heritability and selection response from unbalanced plant breeding trials. *Genetics* 177:1881–1888. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.074229>
- Piepho HP, Möhring J, Melchinger AE, Büchse A (2008) BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica* 161:209–228. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9449-8>
- Pieterse CMJ, Van Der Does D, Zamioudis C, et al (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 28:489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Plazas MC, De Rossi RL, Brucher E, et al (2018) First report of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* causing bacteria leaf streak of maize (*Zea mays*) in Argentina. *Plant Disease* 102:1026–1026. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1578-PDN>
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wissner RJ, et al (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends in Plant Science* 14:21–29. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.006>
- Poloni A, Schirawski J (2014) Red card for pathogens: Phytoalexins in sorghum and maize. *Molecules* 19:9114–9133. <https://doi.org/10.3390/molecules19079114>
- Polturak G, Osbourn A (2021) The emerging role of biosynthetic gene clusters in plant defense and plant interactions. *PLOS Pathogens* 17:e1009698. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009698>

- Pozar G, Butruille D, Silva HD, et al (2009) Mapping and validation of quantitative trait loci for resistance to *Cercospora zeae-maydis* infection in tropical maize (*Zea mays* L.). Theoretical and Applied Genetics 118:553–564. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0920-2>
- Pré M, Atallah M, Champion A, et al (2008) The *AP2/ERF* domain transcription factor ORA59 integrates jasmonic acid and ethylene signals in plant defense. Plant Physiology 147:1347–1357. <https://doi.org/10.1104/pp.108.117523>
- Presello DA, Pereyra AO, Iglesias J, et al (2011) Responses to selection of S5 inbreds for broad-based resistance to ear rots and grain mycotoxin contamination caused by *Fusarium* spp. in maize. Euphytica 178:23–29. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0255-3>
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945–959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Pritchard JK, Wen X, Falush D (2012) Documentation for structure software: Version 2.3
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al (2007) PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. The American Journal of Human Genetics 81:559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
- Qiu Y, Adhikari P, Balint-Kurti P, Jamann T (2024) Identification of loci conferring resistance to 4 foliar diseases of maize. G3 Genes|Genomes|Genetics 14:jkad275. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkad275>
- Qiu Y, Cooper J, Kaiser C, et al (2020a) Identification of loci that confer resistance to bacterial and fungal diseases of maize. G3 Genes|Genomes|Genetics 10:2819–2828. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401104>
- Qiu Y, Kaiser C, Schmidt C, et al (2020b) Identification of quantitative trait loci associated with maize resistance to bacterial leaf streak. Crop Science 60:226–237. <https://doi.org/10/gg4tr4>
- Quiroz-Figueroa FR, Cruz-Mendivil A, Ibarra-Laclette E, et al (2023) Cell wall-related genes and lignin accumulation contribute to the root resistance in different maize (*Zea mays* L.) genotypes to *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg infection. Front Plant Sci 14:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1195794>
- R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing.
- Rabe F, Ajami-Rashidi Z, Doehlemann G, et al (2013) Degradation of the plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus *Ustilago maydis*. Molecular Microbiology 89:179–188. <https://doi.org/10.1111/mmi.12269>
- Rafalski A, Morgante M (2004) Corn and humans: recombination and linkage disequilibrium in two genomes of similar size. Trends in Genetics 20:103–111. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2003.12.002>
- Ramaroson M-L, Koutouan C, Helesbeux J-J, et al (2022) Role of phenylpropanoids and flavonoids in plant resistance to pests and diseases. Molecules 27:1–24. <https://doi.org/10.3390/molecules27238371>
- Ramos Romero L (2018) Occurrence and importance of foliar diseases on maize (*Zea mays* L.) in Central Europe. Georg-August-University Göttingen
- Ranganatha HM, Lohithaswa HC, Pandravada A (2021) Mapping and validation of major quantitative trait loci for resistance to Northern corn leaf blight along with the determination of the relationship between resistances to multiple foliar pathogens of maize (*Zea mays* L.). Frontiers in Genetics 11:
- Ranocha P, Dima O, Nagy R, et al (2013) Arabidopsis WAT1 is a vacuolar auxin transport facilitator required for auxin homeostasis. Nature Communications 4:2625. <https://doi.org/10.1038/ncomms3625>

- Rasheed A, Hao Y, Xia X, et al (2017) Crop breeding chips and genotyping platforms: Progress, challenges, and perspectives. *Molecular Plant* 10:1047–1064. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.06.008>
- Reid L, Hamilton R, Mather D (1996) Screening maize for resistance to *Gibberella* ear rot. Agriculture & Agri-Food Canada, Research Branch, Eastern Cereal & Oilseed Research Centre
- Remington DL, Thornsberry JM, Matsuoka Y, et al (2001) Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:11479–11484. <https://doi.org/10.1073/pnas.201394398>
- Ritchie S, Hanway J (1982) How a corn plant develops. Special report 48:1–21
- Robertson-Hoyt LA, Jines MP, Balint-Kurti PJ, et al (2006) QTL Mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science* 46:1734–1743. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.12-0450>
- Robutti J (2012) Calidad y usos del maíz. In: Bases para el manejo del cultivo de maíz. INTA, Pergamino, Buenos Aires, Argentina, pp 235–251
- Robutti J, Borrás F, Ferrer M, et al (2000) Evaluation of quality factors in Argentine maize races. *Cereal Chem* 77:24–26. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.1.24>
- Rocha JRDASDC, Machado JC, Carneiro PCS (2018) Multitrait index based on factor analysis and ideotype-design: proposal and application on elephant grass breeding for bioenergy. *GCB Bioenergy* 10:52–60. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12443>
- Rodriguez-Moreno L, Ebert MK, Bolton MD, Thomma BPHJ (2018) Tools of the crook- infection strategies of fungal plant pathogens. *The Plant Journal* 93:664–674. <https://doi.org/10.1111/tpj.13810>
- Rossi EA, Ruiz M, Bonamico NC, Balzarini MG (2020a) Identifying inbred lines with resistance to endemic diseases in exotic maize germplasm. *Crop Science* 60:3141–3150. <https://doi.org/10.1002/csc2.20275>
- Rossi EA, Ruiz M, Rueda Calderón MA, et al (2019) Meta-analysis of QTL studies for resistance to fungi and viruses in maize. *Crop Science* 59:125–139. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.05.0330>
- Rossi ES, Kuki MC, Pinto RJB, et al (2020b) Genomic-wide association study for white spot resistance in a tropical maize germplasm. *Euphytica* 216:1–15. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2550-y>
- Ruiz M, Rossi EA, Bonamico NC, Balzarini MG (2023) Genome-wide association study for bacterial leaf streak resistance in maize. *Agronomy Journal* 115:1051–1058. <https://doi.org/10.1002/agj2.21299>
- Saghai Maroof MA, Yue YG, Xiang ZX, et al (1996) Identification of quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot disease in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 93:539–546
- Sahito JH, Zhang H, Gishkori ZGN, et al (2024) Advancements and Prospects of Genome-Wide Association Studies (GWAS) in Maize. *International Journal of Molecular Sciences* 25:1918. <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>
- Samayoa LF, Cao A, Santiago R, et al (2019) Genome-wide association analysis for fumonisin content in maize kernels. *BMC Plant Biology* 19:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1759-1>
- Sampedro J, Cosgrove DJ (2005) The expansin superfamily. *Genome Biology* 6:1–11. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-12-242>
- Sampietro DA, Fauguel CM, Vattuone MA, et al (2013) Phenylpropanoids from maize pericarp: resistance factors to kernel infection and fumonisin accumulation by *Fusarium verticillioides*. *European Journal of Plant Pathology* 135:105–113. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0069-3>

- Sampietro DA, Vattuone MA, Presello DA, et al (2009) The pericarp and its surface wax layer in maize kernels as resistance factors to fumonisin accumulation by *Fusarium verticillioides*. *Crop Protection* 28:196–200. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.09.010>
- Sanz-Alferez S, Richter TE, Hulbert SH, Bennetzen JL (1995) The *Rp3* disease resistance gene of maize: mapping and characterization of introgressed alleles. *Theoretical and Applied Genetics* 91:25–32. <https://doi.org/10.1007/BF00220854>
- Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, et al (2019) The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution* 3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Schmidt P, Hartung J, Rath J, Piepho H-P (2019) Estimating broad-sense heritability with unbalanced data from agricultural cultivar trials. *Crop Science* 59:525–536. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.06.0376>
- Schnable PS, Ware D, Fulton RS, et al (2009) The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics. *Science* 326:1112–1115. <https://doi.org/10.1126/science.1178534>
- Shah J (2005) Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 43:229–260. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135951>
- Sherman BT, Hao M, Qiu J, et al (2022) DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists. *Nucleic Acids Research* 50:216–221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>
- Shi L, Lv X, Weng J, et al (2014) Genetic characterization and linkage disequilibrium mapping of resistance to gray leaf spot in maize (*Zea mays* L.). *The Crop Journal* 2:132–143. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2014.02.001>
- Shu X, Livingston DP, Woloshuk CP, Payne GA (2017) Comparative histological and transcriptional analysis of maize kernels infected with *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Frontiers in Plant Science* 8:1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02075>
- Snelders NC, Kettles GJ, Rudd JJ, Thomma BPHJ (2018) Plant pathogen effector proteins as manipulators of host microbiomes? *Molecular Plant Pathology* 19:257–259. <https://doi.org/10.1111/mpp.12628>
- Spanu PD, Panstruga R (2017) Biotrophic plant-microbe interactions. *Frontiers in Plant Science* 8:1–4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00192>
- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews Immunology* 12:89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>
- Sserumaga JP, Makumbi D, Assanga SO, et al (2020) Identification and diversity of tropical maize inbred lines with resistance to common rust (*Puccinia sorghi* Schwein). *Crop Science* 60:2971–2989. <https://doi.org/10.1002/csc2.20345>
- Stergiopoulos I, Collemare J, Mehrabi R, De Wit PJGM (2013) Phytotoxic secondary metabolites and peptides produced by plant pathogenic *Dothideomycete* fungi. *FEMS Microbiology Reviews* 37:67–93. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00349.x>
- Stich B, Melchinger AE (2010) An introduction to association mapping in plants. *CABI Reviews* 2010:1–9. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20105039>
- Sturaro M, Hartings H, Schmelzer E, et al (2005) Cloning and characterization of *GLOSSY1*, a maize gene involved in cuticle membrane and wax production. *Plant Physiology* 138:478–489. <https://doi.org/10.1104/pp.104.058164>
- Thomas EL, Van der Hoorn RAL (2018) Ten Prominent Host Proteases in Plant-Pathogen Interactions. *International Journal of Molecular Sciences* 19:639. <https://doi.org/10.3390/ijms19020639>
- Thurrow LB, Gasic K, Bassols Raseira M do C, et al (2019) Genome-wide SNP discovery through genotyping by sequencing, population structure, and linkage disequilibrium in Brazilian peach

- breeding germplasm. *Tree Genetics & Genomes* 16:1–14. <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1406-x>
- Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle T (2003) The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *The Plant Cell* 15:533–543. <https://doi.org/10.1105/tpc.008417>
- Torrent I (2018) Caracterización fenotípica y genética de líneas de maíz templado (*Zea mays* L.) para el comportamiento frente al tizón común (*Exserohilum turcicum*). Maestria, Universidad de Rosario
- Toruño TY, Stergiopoulos I, Coaker G (2016) Plant-pathogen effectors: Cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners. *Annual Review of Phytopathology* 54:419–441. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100204>
- Turner SD (2018) qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *Journal of Open Source Software* 3:731. <https://doi.org/10.21105/joss.00731>
- USDA (2024) Grain: World Markets and Trade. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Accessed 10 Feb 2024
- Utz HF, Melchinger AE, Schön CC (2000) Bias and sampling error of the estimated proportion of genotypic variance explained by quantitative trait loci determined from experimental data in maize using cross validation and validation with independent samples. *Genetics* 154:1839–1849. <https://doi.org/10.1093/genetics/154.4.1839>
- Vale FXRD, Parlevliet JE, Zambolim L (2001) Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira* 26:577–589. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000300001>
- Van Der Hoorn RA, Jones JD (2004) The plant proteolytic machinery and its role in defence. *Current Opinion in Plant Biology* 7:400–407. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.003>
- Van Der Hoorn RAL, Kamoun S (2008) From guard to decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20:2009–2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060194>
- Van Inghelandt D, Melchinger AE, Lebreton C, Stich B (2010) Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 120:1289–1299. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1256-2>
- Van Inghelandt D, Melchinger AE, Martinant J-P, Stich B (2012) Genome-wide association mapping of flowering time and northern corn leaf blight (*Setosphaeria turcica*) resistance in a vast commercial maize germplasm set. *BMC Plant Biology* 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-56>
- Van Inghelandt D, Reif JC, Dhillon BS, et al (2011) Extent and genome-wide distribution of linkage disequilibrium in commercial maize germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 123:11–20. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1562-3>
- VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science* 91:4414–4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>
- Videla M, Kistner M, Iglesias J, Bruno C (2018) Evaluación del carbón de la espiga del maíz (*Ustilago maydis*) con modelos estadísticos inflados en cero. Pergamino, Buenos Aires, Argentina
- Vilaró M, Vidal R, Abadie T (2020) Diversity of maize landraces in germplasm collections from South America. *Agrociencia* 24:1–11
- Villajuana-Bonequi M, Matei A, Ernst C, et al (2019) Cell type specific transcriptional reprogramming of maize leaves during *Ustilago maydis* induced tumor formation. *Scientific Reports* 9:1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46734-3>
- Völz R, Park J, Kim S, et al (2020) The rice/maize pathogen *Cochliobolus* spp. infect and reproduce on Arabidopsis revealing differences in defensive phytohormone function between monocots and dicots. *The Plant Journal* 103:412–429. <https://doi.org/10.1111/tjp.14743>

- Wallace JG, Larsson SJ, Buckler ES (2014) Entering the second century of maize quantitative genetics. *Heredity* 112:30–38. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.6>
- Wan J, He M, Hou Q, et al (2021) Cell wall associated immunity in plants. *Stress Biology* 1:3. <https://doi.org/10.1007/s44154-021-00003-4>
- Wang J, Xu Z, Yang J, et al (2018) qNCLB7.02, a novel QTL for resistance to northern corn leaf blight in maize. *Molecular Breeding* 38:1–12. <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0770-1>
- Wang J, Zhang Z (2021) GAPIT 3
- Wang T, Liu Y, Zou K, et al (2024) The Analysis, Description, and Examination of the Maize LAC Gene Family's Reaction to Abiotic and Biotic Stress. *Genes* 15:749. <https://doi.org/10.3390/genes15060749>
- Wani SH, Samantara K, Razzaq A, et al (2022) Back to the wild: mining maize (*Zea mays* L.) disease resistance using advanced breeding tools. *Molecular Biology Reports* 49:5787–5803. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06815-x>
- Wiesner-Hanks T, Nelson R (2016) Multiple disease resistance in plants. *Annual Review of Phytopathology* 54:229–252. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100037>
- Wisser RJ, Balint-Kurti PJ, Nelson RJ (2006) The genetic architecture of disease resistance in maize: A synthesis of published studies. *Phytopathology* 96:120–129. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0120>
- Wisser RJ, Kolkman JM, Patzoldt ME, et al (2011) Multivariate analysis of maize disease resistances suggests a pleiotropic genetic basis and implicates a *GST* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:7339–7344. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011739108>
- Woodhouse MR, Cannon EK, Portwood JL, et al (2021) A pan-genomic approach to genome databases using maize as a model system. *BMC Plant Biology* 21:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03173-5>
- Woyann LG, Meira D, Matei G, et al (2020) Selection indexes based on linear-bilinear models applied to soybean breeding. *Agronomy Journal* 112:175–182. <https://doi.org/10.1002/agj2.20044>
- Wu Y, San Vicente F, Huang K, et al (2016) Molecular characterization of CIMMYT maize inbred lines with genotyping-by-sequencing SNPs. *Theoretical and Applied Genetics* 129:753–765. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2664-8>
- Wu Y, Zhou Z, Dong C, et al (2020) Linkage mapping and genome-wide association study reveals conservative QTL and candidate genes for *Fusarium* rot resistance in maize. *BMC Genomics* 21:357. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6733-7>
- Würschum T (2012) Mapping QTL for agronomic traits in breeding populations. *Theoretical and Applied Genetics* 125:201–210. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1887-6>
- Würschum T, Weiß TM, Renner J, et al (2022) High-resolution association mapping with libraries of immortalized lines from ancestral landraces. *Theoretical and Applied Genetics* 135:243–256. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03963-3>
- Xie T, Liu Z, Wang G (2020) Structural basis for monolignol oxidation by a maize laccase. *Nat Plants* 6:231–237. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0595-5>
- Xue Y, Warburton ML, Sawkins M, et al (2013) Genome-wide association analysis for nine agronomic traits in maize under well-watered and water-stressed conditions. *Theoretical and Applied Genetics* 126:2587–2596. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2158-x>
- Yan J, Shah T, Warburton ML, et al (2009) Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *PLoS ONE* 4:e8451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008451>

- Yan W, Frégeau-Reid J (2018) Genotype by yield*trait (GYT) biplot: a novel approach for genotype selection based on multiple traits. *Scientific Reports* 8:1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26688-8>
- Yan W, Kang MS, Ma B, et al (2007) GGE biplot vs. AMMI analysis of genotype-by-environment data. *Crop Science* 47:643–653. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.06.0374>
- Yang CJ, Samayoa LF, Bradbury PJ, et al (2019) The genetic architecture of teosinte catalyzed and constrained maize domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116:5643–5652. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820997116>
- Yang L, Li T, Tian X, et al (2020) Genome-wide association study (GWAS) reveals genetic basis of ear-related traits in maize. *Euphytica* 216:172. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02707-6>
- Yang Q, Balint-Kurti P, Xu M (2017a) Quantitative disease resistance: Dissection and adoption in maize. *Molecular Plant* 10:402–413. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.02.004>
- Yang Q, He Y, Kabahuma M, et al (2017b) A gene encoding maize caffeoyl-CoA O-methyltransferase confers quantitative resistance to multiple pathogens. *Nature Genetics* 49:1364–1372. <https://doi.org/10.1038/ng.3919>
- Yu H, Feng W, Sun F, et al (2018) Cloning and characterization of BES1/BZR1 transcription factor genes in maize. *Plant Growth Regul* 86:235–249. <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0424-2>
- Zeng ZB (1993) Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:10972–10976. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.23.10972>
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457–1468. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
- Zhang J, Jia X, Wang G-F, et al (2022) Ascorbate peroxidase 1 confers resistance to southern corn leaf blight in maize. *Journal of Integrative Plant Biology* 64:1196–1211. <https://doi.org/10.1111/jipb.13254>
- Zhang X, Valdés-López O, Arellano C, et al (2017) Genetic dissection of the maize (*Zea mays* L.) MAMP response. *Theoretical and Applied Genetics* 130:1155–1168. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2876-6>
- Zhang Y, Xu L, Fan X, et al (2012) QTL mapping of resistance to gray leaf spot in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 125:1797–1808. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1954-z>
- Zhang Z, Ersoz E, Lai C-Q, et al (2010) Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nature Genetics* 42:355–360. <https://doi.org/10.1038/ng.546>
- Zhao Y, Lu X, Liu C, et al (2012) Identification and fine mapping of *rhm1* locus for resistance to Southern corn leaf blight in maize. *Journal of Integrative Plant Biology* 54:321–329. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01112.x>
- Zheng H, Chen J, Mu C, et al (2018) Combined linkage and association mapping reveal QTL for host plant resistance to common rust (*Puccinia sorghi*) in tropical maize. *BMC Plant Biology* 18:1–14. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1520-1>
- Zhou M-L, Tang Y-X, Wu Y-M (2012) Genome-wide analysis of AP2/ERF transcription factor family in *Zea Mays*. *Current Bioinformatics* 7:324–332. <https://doi.org/10.2174/157489312802460776>
- Zhu C, Gore M, Buckler ES, Yu J (2008) Status and prospects of association mapping in plants. *The Plant Genome* 1:5–16. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2008.02.0089>
- Zila CT, Ogut F, Romay MC, et al (2014) Genome-wide association study of Fusarium ear rot disease in the U.S.A. maize inbred line collection. *BMC Plant Biol* 14:372. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0372-6>

- Zila CT, Samayoa LF, Santiago R, et al (2013) A genome-wide association study reveals genes associated with *Fusarium* ear rot resistance in a maize core diversity panel. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 3:2095–2104. <https://doi.org/10.1534/g3.113.007328>
- Zipfel C (2008) Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology* 20:10–16. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.11.003>
- Zou K, Li Y, Zhang W, et al (2022) Early infection response of fungal biotroph *Ustilago maydis* in maize. *Frontiers in Plant Science* 13:970897. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.970897>
- Zuur AF, Ieno EN, Walker N, et al (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York, NY
- Zwonitzer JC, Coles ND, Krakowsky MD, et al (2010) Mapping Resistance Quantitative Trait Loci for Three Foliar Diseases in a Maize Recombinant Inbred Line Population—Evidence for Multiple Disease Resistance? *Phytopathology* 100:72–79. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-1-0072>

CAPÍTULO A : ANEXO

Tabla A-1: Poblaciones y metodologías de mapeo para la identificación de QTL de resistencia a enfermedades en maíz

Ref.	Población	Tamaño	Germoplasma (origen)	Enf.	Met.
1	RIL	158	Mo17×B73 (Población IBM, germoplasma americano)	SLB	CIM
2	Panel (IL)	183	Maíz tropical y popcorn	MWS	GWAS
3	F3 F5 F4 F4	280 120 131 133	KW1265 D146 D145 KW1292	CRM	CIM
4	F2	157	IL731xW6786 (Maíz dulce)	CSM	
5	NAM (DH)	34 58 113 106 163	T1xA1 T1xA2 T1xA10 T2xA3 T2xA4	CRM	CIM
6	F2	256	L-08-05F × L-14-04B	NLB	
7	F2	139 193 144	ADENT×B73 NC250A × B73rmh1 NC250A × B73 (ADENT = Línea amarillo dentado parcialmente resistente a GLS, NC250A= Compuesto Nigeria), B723rmh1= resistencia a SLB).	MWS	MIM
8	RIL	192	Mo17×B73 (Población IBM, germoplasma americano)	GLS	CIM
9	Panel (IL)	183	Maize tropical y popcorn	SLB	GWAS
10	RIL	109	Ki14 × B73	GLS	CIM
11	NIL RIL	196	Donors (CML52, DK888) for NIL RIL B73xCML52	NLB	
12	TC	187	MON323×MON402	CRM - CSM - SLB - GLS - NLB	LSM
13	NAM (RIL)	335	US-NAM (diverso)	GLS	CIM
14	F2	161	Y32 × Q11	GLS	MIM
15	RIL	158	Mo17×B73 (Población IBM, germoplasma americano)	GLS	CIM
16	F2	148	L31.2.1.2xL726 (resistente x susceptible, germoplasma tropical)	MWS	MIM
17	DH Panel (IL)	230 239	CML511×CML546 Maíz tropical y subtropical	GLS	LM
18	F2	230	resistente x susceptible, germoplasma africano	GLS	GWAS
19	RIL	288	B73xMo17 (Población IBM)	GLS	LM
20	RIL	204 288	Mo17×B73 (Población IBM, germoplasma americano)	SLB	CIM
21	RIL	145	CML444×SC Malawi (CML444 = Subtropical white dent)	GLS	CIM
22	F2	233	446x08-641 (resistente x susceptible, germoplasma chino)	GLS	CIM
23	CSSL	1611	Padres MDR: NC304, NC344, Ki3, NC262 Padres MDS: Oh7B, H100	GLS - NLB - SLB	CSSL
24	F2	NA	B37Htn1xR1 B37Htn1xR3 B37Htn1xR1	NLB	NA
25	RIL	302	Mo17×B73 (Población IBM, germoplasma americano)	NLB	CIM
26	NAM (DH)	123 163	Q1 × Ye478 Q1 × Zheng58	GLS	CIM
27	RIL	120 214 126	CML254×B73 Ki14×B97 CML254 × B97	SLB	CIM

28	NAM (RIL) NIL	3676 24	US-NAM (diverso)	GLS	GWAS
29	F2	958	Va14 × B73	GLS	CIM
30	NIL	2246	NC292xB73 NC330xB73 (germoplasma americano)	SLB NLB GLS	-
31	NIL	744	B73xTeosinte donors	SLB - GLS	LSM
32	BCP1S1	301	061 × FR1141	GLS	CIM
33	F2	344	SKV50xCML153 (resistente x susceptible)	NLB	CIM
34	NIL	95	B73 A619 W153R CM105 DF20 LH146 GE440 Ladyfinger (germoplasma americano)	NLB	LM
35	F2	144	VO613YxPa405 (resistente x susceptible)	GLS	CIM
36	RIL	207	LM5xCM140 (resistente x susceptible, germoplasma indio)	SLB	CIM
37	NAM (RIL)	5000	US-NAM (diverso)	SLB	GWAS
38	F2	204	YML32xYe478 (resistente x susceptible, germoplasma chino)	GLS	ICIM
39	F2	121	Mo17xB52 (resistente x susceptible, germoplasma americano)	NLB	SIM
40	RIL	207	K22xBy815 (germoplasma chino)	NLB	ICIM
41	DH Panel (IL)	72 300	DAS-001xDAS-002 (germoplasma sudamericano resistente x americano susceptible) Diverso	GLS	GWAS
42	Panel (IL)	161	Germoplasma chino	GLS	GWAS
43	Panel (IL)	253	Germoplasma templado y tropical	GLS	GWAS
44	RIL	314	Ye478xQi319	NLB	CIM
45	RIL	4413	US-NAM (diverso)	GLS - NLB - SLB	ML
46	F2	210	BT-1×Xi502 (BT-1 = resistant y Xi502= susceptible, germoplasma chino)	FER	CIM
47	Panel (IL)	818	Elite tropical maize from Zimbabwe, Kenya, Colombia, y Mexico	FER	GWAS
48	RIL	142 186	H99xB73 B73xB52	SLB	CIM
49	RIL	187	87-1 × Zong 3 (germoplasma chino)	FER	CIM ICIM
50	RIL	298	LP4637×L4674 (resistente x susceptible, germoplasma argentino)	FER - GER	CIM
51	RIL	250	BT-1×N6 (resistente x susceptible, germoplasma chino)	FER	CIM
52	F2	188	CO441 × CO354	FER	CIM
53	RIL	250	BT-1xN6	FER	ICIM
54	Panel (IL)	874	Maize tropical	FER	GWAS
55	Panel (IL)	270	NA	FER	GWAS
56	DH	500	Poblaciones Flint europeas	GER	GWAS
57	MAGIC (RIL)	672	A509, EP17, EP43, EP53, EP125, F473, EP86, PB130 (EP17, EP86, EP125, A509 = partially resistant to FER; EP43, EP53, F473 = are intermediate, PB130 = susceptible to Fusarium ear rot)	FER	GWAS
58	NAM (DH)	99 174 155 71 110 150	T3xA6 T3xA7 T3xA8 T3xA12 T4xA4 T4xA5 (Tropical brasilero x Templado europeo)	GER	CIM
59	DH (NAM)	150	UH007 × UH006)	GER	LM
60	DH (NAM)	658	Flint	GER	LM
61	Panel (IL)	183	Tropical maize	FER	GWAS
62	IL	1687	USA collection	FER	GWAS

63	F2	210 268	277 272	CML495×LA CML492xLPSMT CML449xLPSMT	POSTA CML495xLPSMT	SEQ	CRM	ICIM
				(germoplasma africano y mexicano)				
64	Panel (IL)	200		CIMMYT			BLS	GWAS
65	QTL	437		Diverso			CRM	Meta-análisis
							NLB	
							SLB	
66	QTL	9		Poblaciones Ht			NLB	Meta-análisis
67	CSSL	435		Tx303 3 B73			NLB	CSSL
68	CSSL	1611		Padres MDR: NC304, NC344, Ki3, NC262 Padres MDS: Oh7B, H100			GLS	JLM
							NLB	
							SLB	
69	F2	40 101		DRIL x H100			GLS	Composite score
							NLS	
							SLB	
70	NIL			Mo17 NC292			SLB	RNA-seq

Ref.: Referencia:

Población: CSSL: Chromosome segment substitution line; DH: Double haploids; IL: Inbred Line; JLM: Joint linkage mapping, LM: Linkage mapping; LSM: Least Square Mean; NAM: Nested association mapping; NIL: Near-isogenic lines; QTL: Quantitative Trait Loci; RIL: Recombinant Inbred Line; SIM: Simple Interval Mapping; TC: Test crosses;

Enf. (Enfermedad): CRM: Roya común del maíz; CSM: Carbón común del maíz; FER: Podredumbre de espiga por *Fusarium*; GER: podredumbre de espiga por *Graminearum*; GLS: Mancha gris del maíz; MWS: Mancha blanca del maíz; NLB: Tizón común del maíz; SLB: Tizón foliar del maíz.

Met. (Metodología de mapeo): CIM: Composite Interval Mapping; GWAS: Genome Wide Association Study; MIM: Multiple Interval Mapping;

1: Carson et al. (2004); 2: Rossi et al. (2020); 3: Lübberstedt et al. (1998); 4: Brown et al. (2001); 5: Kistner et al. (2021); 6: Moreira et al. (2009); 7: Bubeck et al. (1993); 8: Balint-Kurti y Carson (2006); 9: Kuki et al. (2018); 10: Zwonitzer et al. (2010); 11: Chung et al. (2011); 12: Pozar et al. (2009); 13: Qiu et al. (2020); 14: Zhang et al. (2012); 15: Carson et al. (2005); 16: Lana et al. (2017); 17: Omondi et al. (2023); 18: Lehmensiek et al. (2001); 19: Balint-Kurti et al. (2007); 20: Balint-Kurti et al. (2008); 21: Berger et al. (2014); 22: He et al. (2018); 23: Lopez-Zuniga et al. (2019); 24: Humi et al. (2015); 25: Balint-Kurti et al. (2010); 26: Du et al. (2020); 27: Negeri et al. (2011); 28: Benson et al. (2015); 29: Saghai Maroof et al. (1996); 30: Belcher et al. (2012); 31: Lennon et al. (2016); 32: Clements et al. (2000); 33: Ranganatha et al. (2021); 34: Bentolila et al. (1991); 35: Gordon et al. (2004); 36: Kaur et al. (2019); 37: Kump et al. (2011); 38: Liu et al. (2016); 39: Dingerdissen et al. (1996); 40: Chen et al. (2015); 41: Mammadov et al. (2015); 42: Shi et al. (2014); 43: Wissner et al. (2011); 44: Wang et al. (2018); 45: Yang et al. (2017); 46: Chen et al. (2012); 47: Chen et al. (2016); 48: Balint-Kurti et al. (2008); 49: Ding et al. (2008); 50: Giomi et al. (2016); 51: Li et al. (2011); 52: Maschietto et al. (2017); 53: Wu et al. (2020); 54: Li et al. (2021); 55: Samayoa et al. (2019); 56: Gaikpa et al. (2021); 57: Butrón et al. (2019); 58: Galiano-Carneiro et al. (2021); 59: Martin et al. (2012); 60: Martin et al. (2012); 61: Coan et al. (2018); 62: Zila et al. (2014); 63: Kibe et al. (2020); 64: Ruiz et al. (2023); 65: Wissner et al. (2006); 66: Galiano-Carneiro y Miedaner (2017); 67: Jamann et al. (2014); 68: Qiu et al. (2024); 69: Martins et al. (2019); 70: Chen et al. (2023).

Tabla A-2: Listado completo de genotipos evaluados.

Denominación ¹	Codificación ²	Población de origen	T ³	CG ⁴	PH ⁵	Observación
9*	-	(DK752xB73) F2	F	AN	-	
39*	-	(M370xFA) x FA	F	C	-	
53*	-	(M370xFA) x FA	F	C	-	
67*	-	(DK752xB73) F2	SD	AM	-	
91*	-	Población F2 (híbrido Cargill 280)	F	AN	-	-
133*	-	Población F2 (híbrido Cargill 280)	F	AN	-	
83525	-	Población F2 [(LP1512xLP199)(LP453xLP58)]	SD	AN	-	Población con alto ácido oleico
83538	-	Población F2 [(LP1512xLP199)(LP453xLP58)]	SD	AN	-	Susceptible a CRM
83556	-	Población F2 [(LP1512xLP199)(LP453xLP58)]	SD	AMAN	-	Población con baja ácidos grasos saturado
83590	-	Población F2 [(LP1512xLP199)(LP453xLP58)]	SD	AMAN	-	Población con alto ácido oleico
AX888ITB	-	Población F2 (híbrido AX888IT)	F	AN	-	-
B100	-	Línea americana	D	AM	-	-
B73	-	Línea americana	D	AM	-	Genoma secuenciado y utilizado como referencia en maíz
L4637	-	Población F2 (LP561 x LP611)	F	C	-	Resistente a <i>Fusarium</i> spp.
L4674	-	Población F2 (híbrido AX924)	SD	AN	-	Susceptible a <i>Fusarium</i> spp.
L5605	-	Población F2 (P578 x LP116)	F	AN	-	-
L5632	-	Población F2 (P578 x LP116)	SD	AN	-	-
L5665	-	Población F2 (P578 x LP116)	F	ANA	-	-
LP1032	L160	Compuesto I	F	C	SE	-
LP1044	L159	Compuesto I	F	AN	E	-
LP116	L149	Compuesto “Argentino-Caribe”	F	AN	P	Susceptible a CRM
LP122	L151	Compuesto “Argentino-Caribe”	F	C	SE	-
LP122-2	L152	Población F2 (L3178xL196)	F	C	E	-
LP124	L131	Compuesto “Colorado precoz”	F	C	P	-
LP125R	L139	Población sintética “Colorada dura”	F	AN	-	Resistente a CRM
LP126	L148	Población F2 (LP125R x L196)	F	AN	SE	Susceptible a SLB
LP128	L176	Población F2 (L28 x LP521)	F	C	-	-
LP13	-	Población sintética “Colorada dura”	F	AN	SE	-
LP1411	L153	Población F2 (LP199x L3178)	F	C	SE	-
LP147	L163	Compuesto “Resistente al vuelco Paraná”	F	AMAN	P	-
LP1512	L146	Compuesto II	F	AN	P	-
LP1513	-	Compuesto II	F	AN	P	-
LP153	L161	Población F2 (A1 x L1571)	F	C	P	-
LP168	L140	Población F2 (P465 x D) selección recurrente	F	AN	P	-
LP178	L178	Suwan	F	AN	-	Resistente a NLB
LP179	L170	Suwan	F	AN	SE	-
LP197	L124	Población sintética (híbrido Pioneer)	SD	AMAN	P	-
LP199	L144	Compuesto II	F	AN	P	-
LP1996	L145	Compuesto II	F	AN	SE	-
LP2	L167	Compuesto “Argentino-Caribe”	SF	AM	P	-
LP212	L134	Argentino flint x canadiense dentado	SF	AM	E	-

LP214	L135	Argentino flint x canadiense dentado	SF	AMAN	SE	-
LP220	L136	Argentino flint x canadiense dentado	SF	AN	SE	-
LP221	L137	Argentino flint x canadiense dentado	SF	AMAN	SE	Resistente a BLS
LP223	L125	Población sintética (híbrido Pioneer)	SD	AMAN	SE	-
LP236	L133	Argentino flint x canadiense dentado	SF	AN	SE	-
LP2541	-	Compuesto “BS13”	D	AM	SE	-
LP2542	L041	Compuesto “BS13”	D	AM	SE	-
LP256-R	L164	Selección recurrente población F2 (L256 x D)	F	C	SE	Resistente a CRM
LP29	L132	Compuesto “Colorado precoz”	SF	AN	SE	-
LP299-2	L123	Población sintética (híbrido Pioneer)	SD	AMAN	SE	-
LP304	L126	Población sintética (híbrido Pioneer)	D	AM	P	-
LP311	L129	Población sintética (híbrido L100)	F	AN	P	Susceptible a NLB
LP317	L128	Población sintética (híbrido L100)	F	AM	P	-
LP32	L181	Compuesto “Colorado precoz”	SD	AN	-	-
LP3830	L143	Población F2 (B23xB87)	SF	AM	P	-
LP438	L142	Compuesto “Semidentado Precoz”	SF	AM	SE	-
LP453	-	Compuesto “Argentino-Caribe”	SD	AMAN	P	-
LP4703	L162	Compuesto Prolífico	F	C	SE	-
LP509	L141	BSSSxCuarentín	F	C	P	Susceptible a BLS
LP521	L147	Población sintética “Colorada dura”	F	AN	SE	-
LP562	L165	R49022 x M370	F	AN	SE	-
LP5708	L138	Compuesto “Argentino-Caribe”	F	C	P	-
LP579	L166	Población F2 [(5842xLP125)x(28xP1338)]	F	C	SE	-
LP580	L174	Población F2 (híbrido Cargill 280)	SD	AN	SE	-
LP581	-	Población F4 (híbrido Titanium)	F	AN	-	-
LP59	L130	Población F2 (L10612xB14)	F	AMAN	P	-
LP598	L179	(Población F2 (híbrido ACA 2000)	F	AN	-	-
LP605	L158	Población F2 [(P465 x D) Fn*x ZN6]	F	AN	E	-
LP611	L155	Selección recurrente (P465 x D)	F	AN	P	-
LP612	L156	Selección recurrente (P465 x D)	F	AN	P	-
LP613	L157	Selección recurrente (P465 x D)	F	AN	SE	-
LP661	L177	Población (LP662 x LP611)	F	AN	SE	-
LP662	L154	Población F2 (P465 x D)	F	AN	SE	-
LP818	L127	Población sintética (híbrido Pioneer)	D	AM	SE	-
LP869	L168	Población sintetica	F	AMAN	SE	-
LP915	L175	[(N28xB73) x(N28x199)]F2	SD	AN	E	-
LP916	L173	DK752xB73	SD	AN	SE	-
LP917	L172	DK752xB73	SD	AN	SE	-
LP918	L171	Población F2 (híbrido AX888)	SD	AN	E	Resistente to SLB
LP923	L182	Población F2 (híbrido comercial sin identificar)	F	AN	-	-
LPB2	L169	Población maíz blanco	F	B	SE	-
P1338	L195	Población local x germplasma exótico	F	C	SE	-
P21	L197	Población local	F	C	-	-
P465	L196	Población local	F	AN	SE	-
Z9801-A	-	Población F2 (híbrido AX888IT)	SD	AM	-	-
ZN6	L194	Población colorada	F	C	-	-

¹ La denominación se refiere al nombre dado por el mejorador al genotipo (línea endocriada de maíz).

² Codificación se refiere a la identificación con la que se encuentra el genotipo en el chip de SNP – Genotipos con codificación han sido genotipados.

³ T = Textura del grano: D = Dentado – F = Flint – SD = Semi-dentado – SF = Semi-flint.

⁴ C = Color del grano: AN = Anaranjado – AMAN = Amarillo-anaranjado – AM = Amarillo – B = Blanco – C = Colorado.

⁵ PH = Posición de la hoja: E = Erectofila – SE = Semi erectofila – P = Planofila

* La denominación de los genotipos está abreviada y la denominación completa se corresponde con las siguientes denominaciones: 9 = (R4930x3125-2)-1-9; 39 = (LP562x3584)-1-39; 53 = (LP562x3584)-1-53; 67 = (LP915x3125-2)-1-67; 91 = (7310x7266)-1-91; 133 = (7310x7266)-1-133.

Tabla A-3: Ranking de BLUP de la resistencia a enfermedades foliares por ambiente de 87 genotipos.

(a)						(b)			
Roya común del maíz						Tizón común del maíz			
Ranking	"A"	"B"	"C"	"D"	"E"	Ranking	"K"	"J"	"I"
1°	LP125R	LP125R	LP125R	LP125R	LP125R	1°	LP214	LP147	B100
2°	LP581	LP581	LP581	LP581	LP918	2°	LP236	B100	LP236
3°	LP918	LP918	LP918	LP918	LP221	3°	LP581	L5605	LP178
4°	LP311	LP221	LP256R	LP221	LP256R	4°	B100	LP178	LP147
5°	LP221	LP256R	LP133	LP1996	LP1996	5°	LP178	LP236	83538
6°	LP256R	L5632	L5632	LP147	LP133	6°	LP221	53	LP562
7°	LP1996	LP13	LP13	LP611	LP598	7°	LP562	LP221	53
8°	LP133	LP126	LP126	LP612	LP661	8°	LP918	LP918	LP221
9°	LP598	LP611	LP598	LP199	LP147	9°	LP662	LP923	LP438
10°	LP521	LP915	LP1996	LP521	LP521	10°	LP168	39	39
11°	LP199	L5665	LP521	LP5708	LP5708	11°	L5605	LP661	LP661
12°	LP562	LP521	LP562	LP562	LP562	12°	LP147	LP179	LP179

(c)			(d)		
Tizón por <i>Bipolaris</i>			Estría foliar bacteriana		
Ranking	"H"	"G"	Ranking	"E"	"D"
1°	LP918	67	1°	LP221	LP221
2°	9	LP918	2°	LP125R	LP125R
3°	LP221	LP221	3°	LP128	LP128
4°	LP236	LP236	4°	LP147	LP147
5°	LP1222	LP128	5°	LP153	LP153
6°	LP605	LP562	6°	LP168	LP168
7°	LP562	LP5708	7°	LP178	LP178
8°	LP598	LP598	8°	LP199	LP199
9°	LP662	LP662	9°	B100	B100
10°	LP923	LP923	10°	LP662	LP662
11°	LP579	LP579	11°	LP605	LP605
12°	LP923	39	12°	P465	P465

Tabla A-4: Ranking de BLUP de la resistencia a FER y GER por ambiente para 19 genotipos comunes entre experimentos

(a)

Podredumbre de espiga por <i>F. verticillioides</i>		
Ranking	"P"	"O"
1°	LP1044	LP1044
2°	P465	LP579
3°	LP611	LP915
4°	LP613	LP2992
5°	LP212	LP1222
6°	LP125R	LP662
7°	LP223	LP168
8°	LP2992	LP317
9°	LP1032	P465
10°	LP612	LP1032
11°	LP915	LP611
12°	LP168	LP562
13°	LP1222	LP612
14°	LP197	LP311
15°	LP317	LP197
16°	LP562	LP223
17°	LP579	LP125R
18°	LP662	LP613
19°	LP311	LP212

(b)

Podredumbre de espiga por <i>F. graminearum</i>		
Ranking	"P"	"O"
1	P465	LP1044
2	LP611	LP1222
3	LP1044	P465
4	LP613	LP662
5	LP317	LP197
6	LP1032	LP612
7	LP915	LP915
8	LP125R	LP562
9	LP212	LP168
10	LP197	LP2992
11	LP168	LP311
12	LP662	LP611
13	LP612	LP125R
14	LP562	LP579
15	LP223	LP317
16	LP1222	LP223
17	LP2992	LP1032
18	LP311	LP212
19	LP579	LP613

El ranking de genotipos fue armado en función de los mejores predictores lineales insesgados (BLUP) obtenidos para cada uno de los experimentos. Se utilizaron colores diferentes para resaltar genotipos a través de los experimentos.

Tabla A-5: Criterios AIC, BIC y Devianza de los MLGM utilizados para el análisis de la variable CSM.

Modelo	gl	\emptyset	A			\emptyset	B			\emptyset	C		
			AIC	BIC	D		AIC	BIC	D		AIC	BIC	D
MB	3	0,65	291	300	285	0,63	328	337	322	1,01	522	531	516
MP	3		290	300	284		332	347	322		520	536	511
ZIP	5		287	302	277		328	337	322		517	526	510
ZINB1	6		294	313	282		341	359	329		529	548	517
ZINB2	6		287	307	277		334	352	329		522	541	510
Modelo	gl	\emptyset	E			\emptyset	F			\emptyset			
			AIC	BIC	D		AIC	BIC	D				
MB	3	1,01	416	426	411	0,67	338	348	332				
MP	3		411	420	405		338	347	332				
ZIP	5		402	418	393		331	348	322				
ZINB1	6		394	413	517		331	350	319				
ZINB2	6		399	418	510		334	353	322				

MB: Modelo con distribución binomial; MP: Modelo con distribución Poisson; ZIP: Modelo con distribución Poisson inflado en cero; ZINB1: Modelo binomial negativo inflado en cero con relación lineal entre media-varianza; ZINB2: Modelo binomial negativo inflado en cero con una relación cuadráticas entre media-varianza. \emptyset : Sobredispersión del modelo. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiana. Valores más pequeños de AIC, BIC y Devianza indican mejor ajuste del modelo (indicado con gradientes de colores, donde el color verde indica valores más bajos y el color rojo valores más alto). El modelo ZIP presenta el mejor ajuste (valores resaltados en **negrita**).

Tabla A-6: Ranking de BLUP de la resistencia a CSM de 78 genotipos por ambiente.

Carbón común del maíz					
Ranking	"A"	"B"	"C"	"E"	"F"
1°	133	39	83556	83556	L5632
2°	39	83556	91	91	133
3°	53	91	L5605	L5605	53
4°	83556	L5605	LP122	LP122	83556
5°	91	LP122	LP1512	LP1512	91
6°	L5605	LP1512	LP168	LP168	L5605
7°	LP122	LP168	LP179	LP2	LP122
8°	LP168	LP2	LP2	LP214	LP1512
9°	LP2	LP2542	LP214	LP2542	LP168
10°	LP2542	LP214	LP2542	LP2992	LP2
11°	LP214	LP2992	LP2992	39	LP214
12°	LP2992	LP4703	LP4703	L5632	LP2542

El ranking de genotipos se elaboró en función de BLUP obtenidos para cada uno de los experimentos. Se utilizaron colores diferentes para resaltar a un mismo genotipos a través de los experimentos.

Tabla A-7: BLUP de la resistencia de 87 genotipos a siete enfermedades del maíz evaluados en ensayos multi ambientales en Argentina.

Genotipo	Enfermedades foliares [1-a-5]				Enfermedades de espiga		
	CRM	NLB	SLB	BLS	Podredumbres [1-a-7]		Carbones [Conteo]
					FER	GER	CSM_NT
133	1,4	3,1	4,0	1,2	4,6	4,5	1,0
39	2,2	2,6	2,9	2,4	6,4	6,3	0,2
53	1,9	2,5	3,9	3,7	4,4	4,8	0,6
67	1,9	3,4	2,0	3,7	4,8	5,4	5,5
83525	3,0	4,6	4,4	3,7	5,6	5,0	1,2
83538	3,9	2,6	4,1	1,3	4,3	6,0	0,6
83556	1,8	3,5	3,3	1,3	5,4	4,6	0,1
83590	2,3	4,0	4,3	2,4	5,5	4,4	0,8
9	2,5	4,4	2,2	2,1	5,0	5,2	0,5
91	1,7	3,3	4,2	2,8	5,7	5,7	0,1
AX888ITB	2,3	3,1	2,9	2,4	4,4	4,1	0,7
B100	2,8	1,4	3,7	1,1	5,9	5,7	2,3
B73	3,0	4,1	4,1	3,3	4,4	5,0	0,3
L4637	2,2	3,2	3,0	1,8	3,8	2,7	0,7
L4674	1,8	4,5	4,3	2,9	5,9	6,2	11,3
L5605	2,5	2,3	4,4	1,1	5,4	5,4	0,1
L5632	1,6	3,9	4,3	1,3	5,1	5,1	0,5
L5665	1,9	4,0	3,7	1,7	NA	NA	0,3
LP1032	2,2	4,5	4,3	4,7	5,6	6,1	0,2
LP1044	2,9	4,1	4,2	2,2	4,0	4,5	0,3
LP116	3,9	4,3	2,9	1,1	6,2	5,9	0,2
LP122	3,2	4,9	4,3	2,2	6,1	6,1	0,1
LP1222	1,9	4,7	2,2	1,1	4,9	4,5	0,3
LP124	1,9	4,1	4,3	4,1	5,3	4,6	0,2
LP125R	1,1	4,1	4,1	1,1	6,1	5,7	0,7
LP126	1,7	3,4	4,4	1,8	5,2	5,1	0,7
LP128	2,4	4,0	2,4	1,1	5,2	4,7	0,5
LP13	1,7	3,7	4,3	2,2	6,5	6,2	0,9
LP1411	2,2	4,3	4,0	1,1	5,1	5,5	2,3
LP147	1,5	1,8	NA	1,1	NA	NA	1,6
LP1512	1,7	4,9	4,3	2,2	NA	NA	0,1
LP1513	2,6	4,3	3,3	3,2	5,9	5,1	0,4
LP153	3,6	4,9	4,0	1,1	4,5	4,4	1,8
LP168	2,9	2,8	2,9	1,1	5,2	5,3	0,1
LP178	2,6	1,5	3,0	1,1	4,5	4,4	0,4
LP179	2,6	2,6	3,2	1,4	5,3	4,8	0,2
LP197	3,7	4,1	4,1	1,1	5,9	4,8	0,7
LP199	2,3	4,9	4,3	1,1	5,2	5,0	0,5
LP1996	1,2	3,5	2,9	1,7	5,5	5,6	0,4
LP2	3,3	4,8	4,3	2,9	4,0	4,1	0,1
LP212	2,3	2,8	2,6	2,2	6,6	6,3	1,0
LP214	1,9	2,3	3,5	2,7	4,3	4,2	0,1

LP220	2,8	4,4	3,4	3,2	5,2	5,2	1,6
LP221	1,4	2,0	1,7	1,1	6,4	6,2	0,5
LP223	2,6	3,7	3,8	1,6	6,0	6,0	0,5
LP236	2,4	1,5	1,7	2,5	NA	NA	0,4
LP2541	2,5	4,4	3,0	3,4	2,5	3,6	0,3
LP2542	2,2	3,4	3,7	1,4	4,1	5,1	0,1
LP256R	1,3	4,6	4,1	4,5	6,4	5,2	0,1
LP29	2,3	3,0	3,9	2,5	5,4	5,0	0,5
LP2992	3,5	4,0	4,1	1,3	4,9	5,4	0,1
LP304	2,5	4,0	NA	1,6	NA	NA	1,1
LP311	3,0	4,9	4,4	1,7	5,9	5,5	1,9
LP317	3,0	4,9	4,3	1,3	5,3	5,9	0,6
LP32	3,6	2,6	3,9	1,6	6,1	5,8	1,6
LP3830	2,8	3,4	2,9	2,5	4,2	4,8	0,9
LP438	3,2	2,6	3,3	1,1	5,1	5,7	0,7
LP453	2,1	3,5	4,0	1,1	5,7	4,9	1,4
LP4703	2,6	4,0	3,9	1,8	4,0	4,3	0,2
LP509	2,0	4,5	4,4	4,7	4,6	4,5	0,1
LP521	1,5	4,7	3,8	1,4	2,4	4,4	0,4
LP562	1,4	2,2	2,2	3,2	5,8	5,1	0,4
LP5708	1,6	3,6	2,8	1,1	5,3	4,4	0,4
LP579	3,1	3,2	2,6	3,4	4,3	5,9	4,7
LP580	1,9	3,1	4,3	3,8	5,3	5,0	1,1
LP581	1,1	3,1	4,3	4,1	5,0	5,0	0,8
LP59	2,7	4,5	3,7	3,1	5,9	4,1	1,8
LP598	1,5	3,1	2,4	1,3	4,5	4,1	0,4
LP605	2,3	3,5	2,2	1,1	4,2	4,2	5,8
LP611	1,8	3,1	3,5	2,2	5,7	5,6	1,0
LP612	2,3	3,8	3,5	2,7	5,9	4,8	0,2
LP613	2,0	3,0	4,2	2,9	6,1	6,6	1,2
LP661	1,9	2,5	3,7	1,4	NA	NA	0,6
LP662	3,5	2,7	2,6	1,1	5,0	4,6	0,6
LP818	2,7	4,0	NA	1,2	6,4	5,8	1,6
LP869	3,1	3,9	2,9	1,8	5,7	4,8	3,5
LP915	1,9	3,4	4,3	1,8	4,5	5,0	1,1
LP916	2,0	4,2	3,7	3,4	4,7	5,0	0,7
LP917	2,6	4,5	4,4	2,0	5,1	4,9	1,9
LP918	1,1	2,2	1,6	2,2	5,7	5,2	0,3
LP923	1,9	2,5	2,6	3,1	4,5	3,7	0,3
LPB2	2,9	3,5	4,3	3,8	5,8	4,5	0,9
P1338	2,1	3,2	NA	1,1	NA	NA	0,4
P21	4,4	4,9	NA	1,2	NA	NA	0,4
P465	3,2	3,7	4,0	1,1	5,4	4,6	0,3
Z9801A	1,9	4,3	3,5	1,2	NA	NA	0,7
ZN6	2,4	2,8	3,3	1,3	4,3	5,0	0,4

* La denominación de los genotipos está abreviada y la denominación completa se corresponde con las siguientes denominaciones: 9 = (R4930x3125-2)-1-9; 39 = (LP562x3584)-1-39; 53 = (LP562x3584)-1-53; 67 = (LP915x3125-2)-1-67; 91 = (7310x7266)-1-91; 133 = (7310x7266)-1-133.

Tabla A-8: Combinaciones de MDR existentes en el panel asociada a resistencia a entre dos y siete enfermedades.

Número de resistencias	Combinaciones de resistencias	n
2	BLS-CSM	3
2	CRM-BLS	6
2	CRM-CSM	4
2	CRM-GER	1
2	FER-CSM	1
2	NLB-BLS	1
2	SLB-FER	1
3	BLS-FER-CSM	1
3	BLS-FER-GER	1
3	BLS-GER-CSM	2
3	CRM-BLS-CSM	12
3	CRM-BLS-FER	1
3	CRM-BLS-GER	2
3	CRM-FER-CSM	1
3	CRM-GER-CSM	2
3	CRM-NLB-BLS	2
3	CRM-SLB-FER	1
3	NLB-BLS-CSM	1
3	SLB-BLS-CSM	1
3	SLB-BLS-GER	1
4	BLS-FER-GER-CSM	1
4	CRM-BLS-FER-CSM	1
4	CRM-BLS-FER-GER	1
4	CRM-BLS-GER-CSM	3
4	CRM-FER-GER-CSM	2
4	CRM-NLB-BLS-CSM	2
4	CRM-NLB-SLB-BLS	1
4	CRM-NLB-SLB-CSM	1
4	CRM-SLB-BLS-CSM	2
4	NLBLSFERCSM	1
5	CRM-BLS-FER-GER-CSM	4
5	CRM-NLB-BLS-FER-CSM	1
5	CRM-NLB-BLS-GER-CSM	1
5	CRM-NLB-FER-GER-CSM	1
5	CRM-NLB-SLB-BLS-CSM	5
5	CRM-SLB-BLS-FER-GER	1
5	CRM-SLB-BLS-GER-CSM	2
5	NLB-SLB-BLS-GER-CSM	1
6	CRM-NLB-BLS-FER-GER-CSM	1
6	CRM-NLB-SLB-FER-GER-CSM	1
6	CRM-SLB-BLS-FER-GER-CSM	4
7	CRM-NLB-SLB-BLS-FER-GER-CSM	1

Las siglas de las resistencias a las diferentes enfermedades están separadas por un guión “-”.

Tabla A-9: Correlaciones entre el ranking de genotipos con MDR seleccionados utilizando cuatro índices de selección.

	Índice MDR	Índice Elston	Índice ACP	Índice FAI- BLUP
Índice MDR	1,00	0,90	0,76	0,78
Índice Elston	0,90	1,00	0,71	0,79
Índice ACP	0,76	0,71	1,00	0,78
Índice FAI-BLUP	0,78	0,79	0,78	1,00

Gradiente de color, donde el color verde hace referencia a una correlación más alta y el color rojo a una correlación más baja entre índices.

Tabla A-10: Probabilidad de pertenencia de 63 genotipos a K subgrupos luego del análisis de estructura poblacional (STRUCTURE).

Codificación	Genotipo	K1	K2	K3 Olmos et al. (2014)	K4 Olmos et al. (2017)	Pedigrí
L041	LP2542	0,39	0,61	BS13- BSSS	MIX	Compuesto “BS13”
L123	LP2992	0,00	1,00	MIX	LP299-2	Población sintética (híbrido Pioneer)
L124	LP197	0,02	0,98	MIX	LP299-2	Población sintética (híbrido Pioneer)
L125	LP223	0,00	1,00	MIX	LP299-2	Población sintética (híbrido Pioneer)
L126	LP304	0,00	1,00	MIX	LP299-2	Población sintética (híbrido Pioneer)
L127	LP818	0,00	1,00	MIX	LP299-2	Población sintética (híbrido Pioneer)
L128	LP317	0,60	0,40	MIX	MIX	Población sintética (híbrido L100)
L129	LP311	0,67	0,33	MIX	MIX	Población sintética (híbrido L100)
L130	LP59	0,79	0,21	MIX	MIX	Población F2 (L10612xB14)
L131	LP124	0,87	0,13	MIX	MIX	Compuesto “Colorado precoz”
L132	LP29	0,00	1,00	MIX	LP299-2	Compuesto “Colorado precoz”
L133	LP236	0,80	0,20	MIX	LP299-2	Argentino flint x canadiense dentado
L134	LP212	0,00	1,00	MIX	MIX	Argentino flint x canadiense dentado
L135	LP214	0,86	0,14	MIX	MIX	Argentino flint x canadiense dentado
L136	LP220	0,73	0,27	MIX	MIX	Argentino flint x canadiense dentado
L137	LP221	0,92	0,08	MIX	MIX	Argentino flint x canadiense dentado
L138	LP5708	0,99	0,01	MIX	No incluida	Compuesto “Argentino-Caribe”
L139	LP125R	1,00	0,00	ACDS	ACDS	Población sintética “Colorada dura”
L140	LP168	0,97	0,03	P465	P465	Población F2 (P465 x D) selección recurrente
L141	LP509	0,67	0,33	MIX	MIX	BSSSxCuarentín
L142	LP438	0,93	0,07	MIX	MIX	Compuesto “Semidentado Precoz”
L143	LP3830	0,55	0,45	MIX	MIX	Población F2 (B23xB87)
L144	LP199	0,83	0,17	MIX	ACDS	Compuesto II
L145	LP1996	0,97	0,03	ACDS	ACDS	Compuesto II
L146	LP1512	0,96	0,04	ACDS	ACDS	Compuesto II
L147	LP521	1,00	0,00	ACDS	ACDS	Población sintética “Colorada dura”
L148	LP126	0,98	0,02	ACDS	ACDS	Población F2 (LP125R x L196)
L149	LP116	0,95	0,05	ACDS	ACDS	Compuesto “Argentino-Caribe”
L151	LP122	1,00	0,00	ACDS	ACDS	Compuesto “Argentino-Caribe”
L152	LP1222	0,99	0,01	ACDS	ACDS	Población F2 (L3178xL196)
L153	LP1411	0,96	0,04	ACDS	ACDS	Población F2 (LP199x L3178)
L154	LP662	0,95	0,05	P465	P465	Población F2 (P465 x D)
L155	LP611	1,00	0,00	P465	P465	Selección recurrente (P465 x D)
L156	LP612	1,00	0,00	P465	P465	Selección recurrente (P465 x D)
L157	LP613	0,53	0,47	P465	P465	Selección recurrente (P465 x D)
L158	LP605	0,97	0,03	MIX	MIX	Población F2 [(P465 x D) Fn*x ZN6]
L159	LP1044	0,92	0,08	ACDS	ACDS	Compuesto I
L160	LP1032	0,99	0,01	ACDS	ACDS	Compuesto I
L161	LP153	1,00	0,00	ACDS	ACDS	Población F2 (A1 x L1571)
L162	LP4703	1,00	0,00	ACDS	MIX	Compuesto Prolífico

L163	LP147	1,00	0,00	No incluida	No incluida	Compuesto “Resistente al vuelco Paraná”
L164	LP256R	1,00	0,00	ACDS	No incluida	Selección recurrente población F2 (L256 x D)
L165	LP562	0,75	0,25	MIX	ACDS	R49022 x M370
L166	LP579	0,99	0,01	ACDS	ACDS	Población F2 [(5842xLP125)x(28xP1338)]
L167	LP2	0,86	0,14	MIX	MIX	Compuesto “Argentino-Caribe”
L168	LP869	0,89	0,11	MIX	MIX	Población sintética
L169	LPB2	0,83	0,17	ACDS	ACDS	Población maíz blanco
L170	LP179	0,82	0,18	MIX	MIX	(Población F2 (híbrido ACA 2000)
L171	LP918	0,53	0,47			Población F2 (híbrido AX888)
L172	LP917	0,59	0,41	MIX	MIX	DK752xB73
L173	LP916	0,61	0,39	MIX	MIX	DK752xB73
L174	LP580	0,62	0,38	BS13- BSSS	BS13- BSSS	Población F2 (híbrido Cargill 280)
L175	LP915	0,56	0,44	BS13- BSSS	BS13- BSSS	[(N28xB73) x(N28x199)]F2
L176	LP128	0,96	0,04	No incluida	No incluida	Población F2 (L28 x LP521)
L177	LP661	0,96	0,04	P465	P465	Población (LP662 x LP611)
L178	LP178	0,90	0,10	ACDS	No incluida	Suwan
L179	LP598	1,00	0,00	ACDS	ACDS	(Población F2 (híbrido ACA 2000)
L181	LP32	0,00	1,00	MIX	MIX	Compuesto “Colorado precoz”
L182	LP923	0,90	0,10	MIX	ACDS	Población F2 (híbrido comercial sin identificar)
L194	ZN6	0,99	0,01	ACDS	ACDS	Población colorada
L195	P1338	0,76	0,24	No incluida	ACDS	Población local x germplasma exótico
L196	P465	1,00	0,00	P465	P465	Población local
L197	P21	1,00	0,00	No incluida	ACDS	Población local

Los valores en las columnas K1 y K2 indican la probabilidad de pertenencia a los subgrupos K1 y K2. La asignación a alguno de los grupos se consideró a partir de una probabilidad > 0,75, según lo establecido por Thurow et al. (2019). El gradiente de color indica mayor probabilidad (verde) a menor (rojo) de pertenencia a alguno de los dos subgrupos.

K3: Clasificación obtenida por Olmos et al. (2014) a través de un análisis bayesiano de estructura poblacional basado en 103 líneas endocriadas del programa nacional genotipadas con 50 microsatélites.

K4: Clasificación obtenida por Olmos et al. (2017) a través de un análisis bayesiano de estructura poblacional basado en 111 líneas endocriadas del programa nacional genotipadas con 74 microsatélites.

Tabla A-11: Listado de genes candidatos identificados a través de GWAS en un panel de 63 genotipos asociados a mecanismos de resistencia a enfermedades.

QTL	Gen	Descripción	Componente celular	Función molecular	Proceso biológico
qBLS.3.02	Zm00001eb120470	Alpha/beta-Hydrolases superfamily protein; monoacylglycerol lipase(LOC103649607)	Uncharacterized	Uncharacterized	GO:0006640: monoacylglycerol metabolic process
qMDR.3.04	Zm00001eb130730	Alpha/beta-Hydrolases superfamily protein	GO:0016020: membrane	GO:0016298: lipase activity	Uncharacterized
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126110	GDSL esterase/lipase	Uncharacterized	GO:0016788: hydrolase activity (lipase)	Uncharacterized
qSLB.3.04.2	Zm00001eb127030	Non-specific phospholipase C6	GO:0009507: chloroplast	GO:0004629: phospholipase C activity	GO:0048229: gametophyte development GO:0009395: phospholipid catabolic process GO:0048364: root development
qNLB.6.01.1	Zm00001eb267750	Serine aminopeptidase S33 domain-containing protein;	GO:0016020:membrane	GO:0016298:lipase activity GO:0052689:carboxylic ester hydrolase activity GO:0090430:caffeoyl-CoA: alcohol caffeoyl transferase activity	GO:0006979:response to oxidative stress GO:0009809:lignin biosynthetic process
qNLB.2.02	Zm00001eb072160	D-arabinono-1,4-lactone oxidase C-terminal domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0003885: D-arabinono-1,4-lactone oxidase activity	GO:0019853: L-ascorbic acid biosynthetic process
qNLB.2.02	Zm00001eb072200	Myb domain protein 58; Myb-related protein Zm1	GO:0005634: nucleus	GO:0003677:DNA binding	Uncharacterized
qBLS.3.02	Zm00001eb120590	AP2/ERF domain-containing protein	GO:0005634: nucleus	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	Uncharacterized
qBLS.3.02	Zm00001eb120430	Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein 146	GO:0005886:plasma membrane	GO:0005515:protein binding	GO:0002238:response to molecule of fungal origin GO:0006952:defense response
qBLS.3.02	Zm00001eb120650	DNA-binding WRKY	GO:0016020: membrane GO:0005634: nucleus	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity GO:0038023: signaling receptor activity	Uncharacterized
qBLS.3.02	Zm00001eb120450	Polyketide cyclase/dehydrase y lipid transport superfamily protein	GO:0005886:plasma membrane	GO:0004864: protein phosphatase inhibitor activity	GO:000973:abscisic acid-activated signaling pathway
qBLS.3.02	Zm00001eb120750	Protein BZR1 homolog (Protein BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 homolog)	GO:0005634 :nucleus;	GO:0003700:DNA-binding transcription factor activity	GO:0009742:brassinosteroid mediated signaling pathway
qBLS.3.02	Zm00001eb120600	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction

qBLS.3.02	Zm00001eb120630	Protein kinase superfamily protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qMDR.3.04	Zm00001eb130700	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126690	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase	Uncharacterized	GO:0030604: 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase activity	GO:0019288: isopentenyl diphosphate biosynthetic process, methylerythritol 4-phosphate pathway
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126150	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase SD2-5; Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004672: protein kinase activity GO:0005524: ATP binding GO:0030247: polysaccharide binding	GO:0006468: protein phosphorylation
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126140	Homeobox-leucine zipper protein ANTHOCYANINLESS 2 (Homeodomain leucine zipper family IV protein)	GO:0005634: nucleus	GO:0000981: DNA-binding transcription factor activity GO:0008289: lipid binding	Uncharacterized
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126300	MFT2-Corn MFT-like protein (Protein MOTHER of FT y TFL1) (ZCN10)	GO:0005737: cytoplasm	Uncharacterized	GO:0009737: response to abscisic acid
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126400	non-specific serine/threonine protein kinase (EC 2.7.11.1)	GO:0005886: plasma membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126440	Pectinesterase inhibitor domain containing protein	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0004857: enzyme inhibitor activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126450	Pectinesterase inhibitor domain-containing protein	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0004857: enzyme inhibitor activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126470	Pectinesterase inhibitor domain-containing protein	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0004857: enzyme inhibitor activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126670	Protein kinase superfamily protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.1	Zm00001eb126590	Protein PIN-LIKES 7	GO:0016020: membrane	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	GO:0009734: auxin-activated signaling pathway GO:0080162: endoplasmic reticulum to cytosol auxin transport
qSLB.3.04.3	Zm00001eb127520	Glycerol-3-phosphate acyltransferase 1	GO:0016020: membrane	GO:0090447: glycerol-3-phosphate 2-O-acyltransferase activity	GO:0010143: cutin biosynthetic process

qSLB.3.04.3	Zm00001eb127600	Pectinesterase inhibitor domain-containing protein	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0004857:enzyme inhibitor activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.3	Zm00001eb127580	Protein kinase domain-containing protein; Protein kinase superfamily protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding GO:0008270:zinc ion binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.3	Zm00001eb127620	Protein NBR1-like protein	GO:0016020:membrane	GO:0043130:ubiquitin binding GO:0046872:metal ion binding GO:0004714: transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity	GO:0016236:macroautophagy
qSLB.3.04.3	Zm00001eb127570	Receptor-like protein kinase ANXUR1	GO:0005886: plasma membrane		GO:0046777: protein autophosphorylation
qSLB.3.04.5	Zm00001eb129030	CO(2)-response secreted protease	Uncharacterized	GO:0008233:peptidase activity	GO:0006508:proteolysis
qSLB.3.04.5	Zm00001eb129010	Duplicated homeodomain-like superfamily protein (MYB-related transcription factor)	Uncharacterized	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	GO:0006355: regulation of DNA-templated transcription
qSLB.3.04.6	Zm00001eb129120	Type III polyketide synthase B	Uncharacterized	GO:0016747: acyltransferase activity, transferring groups other than amino-acyl groups	GO:0009813: flavonoid biosynthetic process GO:0030639: polyketide biosynthetic process GO:0000226: microtubule cytoskeleton organization GO:0005200: structural constituent of cytoskeleton GO:0052386:cell wall thickening
qSLB.3.04.7	Zm00001eb129360	Tubulin beta-5 chain (Beta-5-tubulin);	GO:0005874: microtubule	Uncharacterized	
qSLB.3.04.7	Zm00001eb129420	Vegetative cell wall protein gp1	GO:0005618:cell wall	Uncharacterized GO:0140825: lactoperoxidase activity	GO:0006979: response to oxidative stress
qSLB.3.04.8	Zm00001eb129890	Peroxidase (EC 1.11.1.7)	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0046872: metal ion binding GO:0004601: peroxidase activity	
qSLB.3.04.8	Zm00001eb129900	Plant heme peroxidase family profile domain-containing protein	Uncharacterized	GO:0046872: metal ion binding GO:0004601: peroxidase activity	GO:0006979: response to oxidative stress
qSLB.3.04.9	Zm00001eb130160	Beta expansin10c (EXPB10)	GO:0005576: extracellular region	Uncharacterized	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.9	Zm00001eb130150	Beta expansin10d	GO:0005576: extracellular region	Uncharacterized	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.11	Zm00001eb130450	Dual specificity protein phosphatase PHS1	Uncharacterized	GO:0008138: protein tyrosine/serine/threonine phosphatase activity	GO:0043622: cortical microtubule organization GO:0009737: response to abscisic acid GO:0006470: protein dephosphorylation
qSLB.3.04.11	Zm00001eb130510	Ethylene-responsive transcription factor RAP2-2	GO:0005634: nucleus	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	GO:0009873: ethylene-activated signaling pathway

qSLB.3.04.1 1	Zm00001eb130480	Pectinesterase (EC 3.1.1.11)	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0016787: hydrolase activity GO:0052793: pectin acylesterase activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1 1	Zm00001eb130500	Pectinesterase (EC 3.1.1.11)	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0016787: hydrolase activity GO:0052793: pectin acylesterase activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1 1	Zm00001eb130540	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.1 2	Zm00001eb130550	Bidirectional sugar transporter SWEET	GO:0005886: plasma membrane	Uncharacterized	GO:0008643: carbohydrate transport
qSLB.3.04.1 2	Zm00001eb130600	Protein DETOXIFICATION (Multidrug y toxic compound extrusion protein); Multidrug and toxic compound extrusion4	GO:0016020: membrane	GO:0042910: xenobiotic transmembrane transporter activity	GO:1990961: xenobiotic detoxification by transmembrane export across the plasma membrane
qSLB.3.04.1 3	Zm00001eb130740	Myb/SANT-like DNA-binding domain-containing protein	GO:0005634: nucleus	GO:0003677: DNA binding	Uncharacterized
qSLB.3.04.1 3	Zm00001eb130750	Pectin acylesterase (EC 3.1.1.-)	GO:0009505: plant-type cell wall	GO:0016787: hydrolase activity GO:0052793: pectin acylesterase activity	GO:0071555: cell wall organization
qSLB.3.04.1 3	Zm00001eb130820	Protein kinase domain-containing protein; BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated receptor kinase 1 (Putative receptor-like protein kinase)	Uncharacterized	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0009742: brassinosteroid mediated signaling pathway GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.1 4	Zm00001eb131660	Adenylate isopentenyltransferase 5, chloroplastic	Uncharacterized	GO:0016765: transferase activity	GO:0009691: cytokinin biosynthetic process
qSLB.3.04.1 4	Zm00001eb131620	Respiratory burst oxidase homolog protein B	GO:0016020: membrane	GO:0050664: oxidoreductase activity, acting on NAD(P)H, oxygen as acceptor GO:0004601: peroxidase activity	GO:0098869: cellular oxidant detoxification
qSLB.3.04.1 5	Zm00001eb134680	Serine protease (EC 3.4.21.-); Protease Do-like 9	Uncharacterized	GO:0008236: serine-type peptidase activity	GO:0006508: proteolysis
qSLB.3.04.1 5	Zm00001eb134690	Serine/threonine-protein phosphatase (EC 3.1.3.16)	GO:0005634: nucleus	GO:0046872: metal ion binding GO:0017018: phosphatase activity GO:0004722: protein serine/threonine phosphatase activity	GO:0009742: brassinosteroid mediated signaling pathway
qSLB.3.04.1 6	Zm00001eb135570	Auxin-responsive protein	GO:0005634: nucleus	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	GO:0009734: auxin-activated signaling pathway GO:0006355: regulation of DNA-templated transcription

qSLB.3.04.1 6	Zm00001eb135610	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qSLB.3.04.1 7	Zm00001eb141570	cytokinin dehydrogenase (EC 1.5.99.12); Cytokinin dehydrogenase 1 FAD/cytokinin binding domain-containing protein	GO:0005615: extracellular space	GO:0016491: oxidoreductase activity (cytokinin dehydrogenase activity)	GO:0009690: cytokinin metabolic process
qSLB.3.04.1 8	Zm00001eb149160	Absciscic acid receptor PYL5 (Pyrabactin resistance-like protein)	GO:0005634: nucleus GO:0005737: cytoplasm	GO:0010427: abscisic acid binding GO:0080163: regulation of protein serine/threonine phosphatase activity	GO:0009738: abscisic acid-activated signaling pathway
qSLB.3.04.1 8	Zm00001eb149060	Gibberellin receptor GID1	Uncharacterized	GO:0010331: gibberellin binding	GO:0009740: gibberellin acid mediated signaling pathway GO:0009739: response to gibberellin
qSLB.3.04.1 8	Zm00001eb149240	Laccase (EC 1.10.3.2) (Benzenediol:oxygen oxidoreductase) (Diphenol oxidase) (Urishiol oxidase)	GO:0048046: apoplast	GO:0005507: copper ion binding GO:0052716: hydroquinone:oxygen oxidoreductase	GO:0046274: lignin catabolic process
qBLS.3.09.1	Zm00001eb162680	MYB transcription factor	GO:0005634: nucleus	GO:0003677: DNA binding	Uncharacterized
qBLS.3.09.1	Zm00001eb162660	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
qNLB.6.01.1	Zm00001eb267770	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein	Uncharacterized	GO:0046872: metal ion binding	GO:1900150: regulation of defense response to fungus GO:0098754: detoxification
qSLB.6.03.1	Zm00001eb277060	ABC transporter A family member 7; ABC transporter domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0140359: ABC-type transporter activity	GO:0006869: lipid transport
qSLB.6.03.1	Zm00001eb276990	Auxin-responsive protein	GO:0005634: nucleus	GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	GO:0009734: auxin-activated signaling pathway GO:0006355: regulation of DNA-templated transcription
qSLB.6.03.1	Zm00001eb276950	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction

qSLB.6.03.1	Zm00001eb277050	Protein kinase Kelch repeat:Kelch	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:2000762: regulation of phenylpropanoid metabolic process GO:0080037: negative regulation of cytokinin-activated signaling pathway GO:0007165: signal transduction
qSLB.6.03.1	Zm00001eb276870	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein; serine-threonine kinase receptor-associated protein-like	Uncharacterized	GO:0010427: abscisic acid binding GO:0038023: signaling receptor activity	Uncharacterized
q.SLB.9.02	Zm00001eb404260	Homeobox-leucine zipper protein REVOLUTA	GO:0005634: nucleus	sGO:0008289: lipid binding GO:0003700: DNA-binding transcription factor activity	Uncharacterized
q.SLB.9.02	Zm00001eb403940	Protein kinase domain-containing protein	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
q.SLB.9.02	Zm00001eb404190	Protein Kinase interacting protein isoform 1	GO:0016020: membrane	GO:0004674: protein serine/threonine kinase activity GO:0005524: ATP binding	GO:0006468: protein phosphorylation GO:0045087: innate immune response GO:0007165: signal transduction
q.SLB.9.02	Zm00001eb403800	Remorin C-terminal domain-containing protein; Remorin family protein	Uncharacterized	Uncharacterized	GO:1901700: response to oxygen-containing compound
q.SLB.9.02	Zm00001eb403910	Subtilisin-like protease SBT1.2	Uncharacterized	GO:0004252: serine-type endopeptidase activity	GO:0006508: proteolysis

Fuente: <http://www.maizegdb.org>, <https://www.ebi.ac.uk/interpro/>, <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>

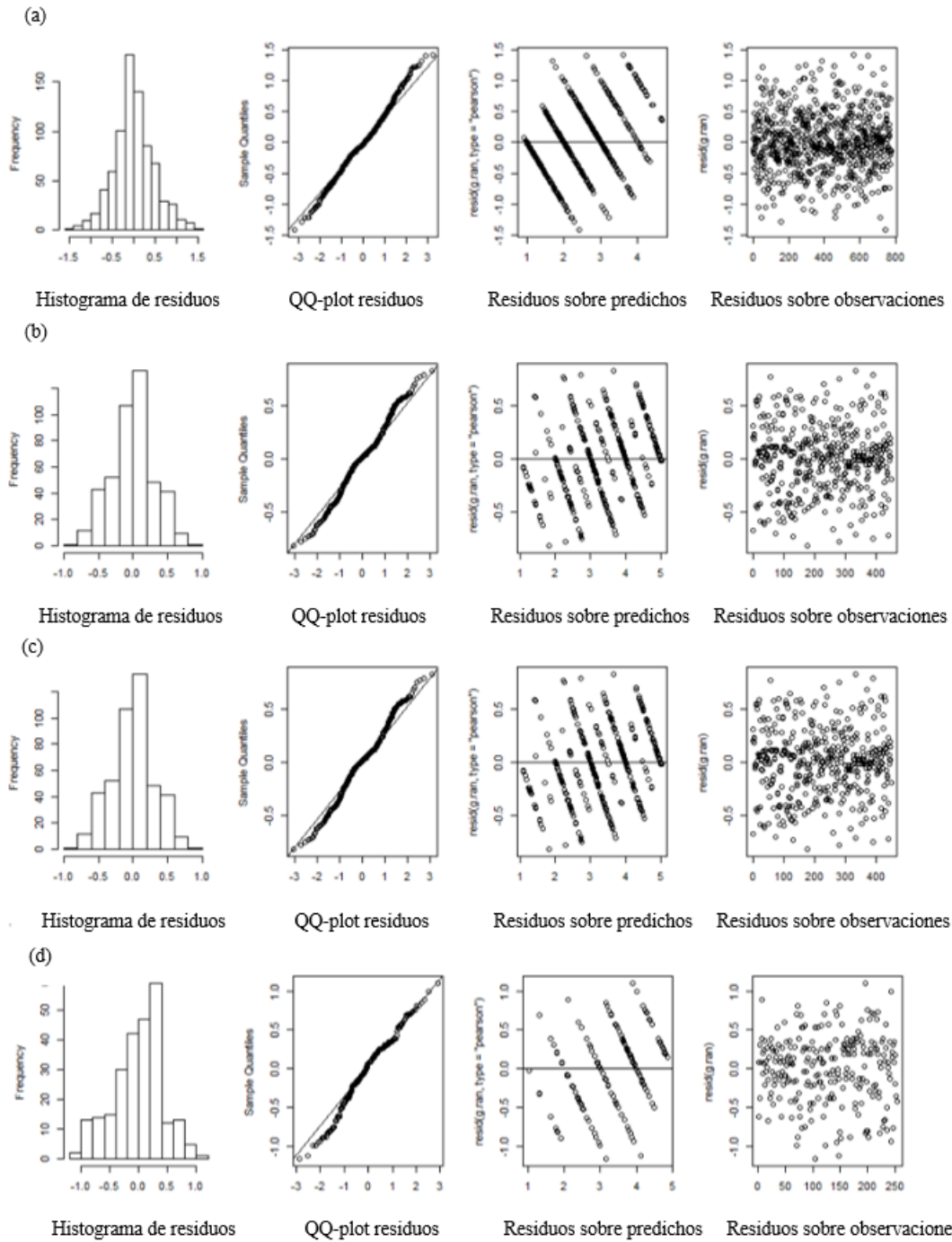


Figura A-1: Gráficos diagnóstico de los MLM utilizados para el análisis de (a) CRM, (b) NLB, (c) SLB y (d) BLS.

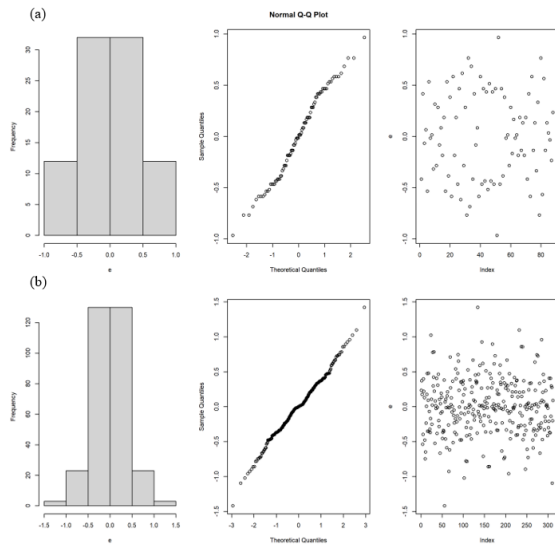


Figura A-2: Gráficos diagnóstico de los MLM utilizados para el análisis de (a) FER y (b) GER.

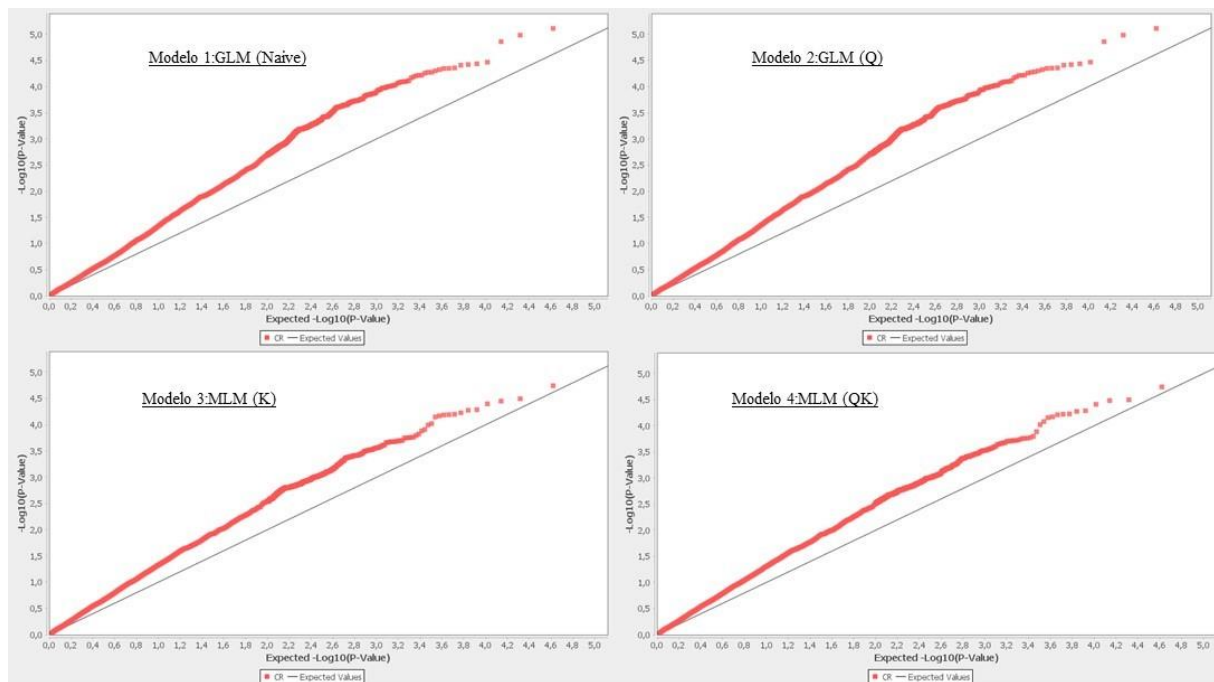


Figura A-3: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para CRM. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

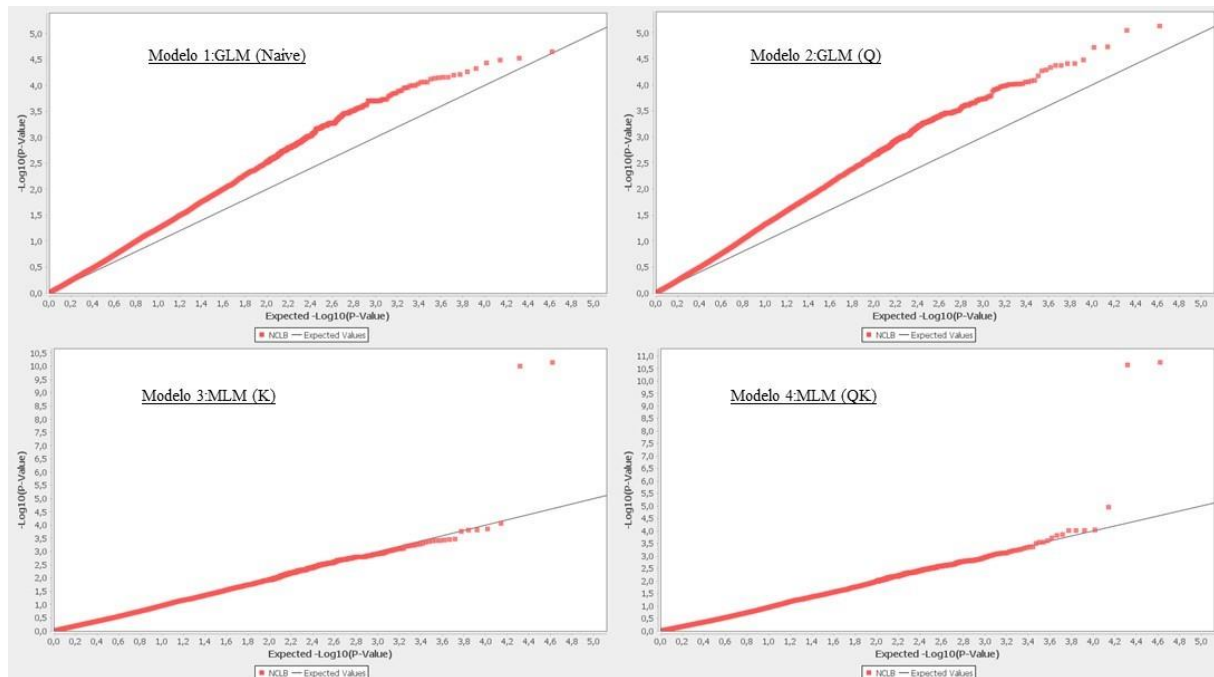


Figura A-4: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para NLB. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

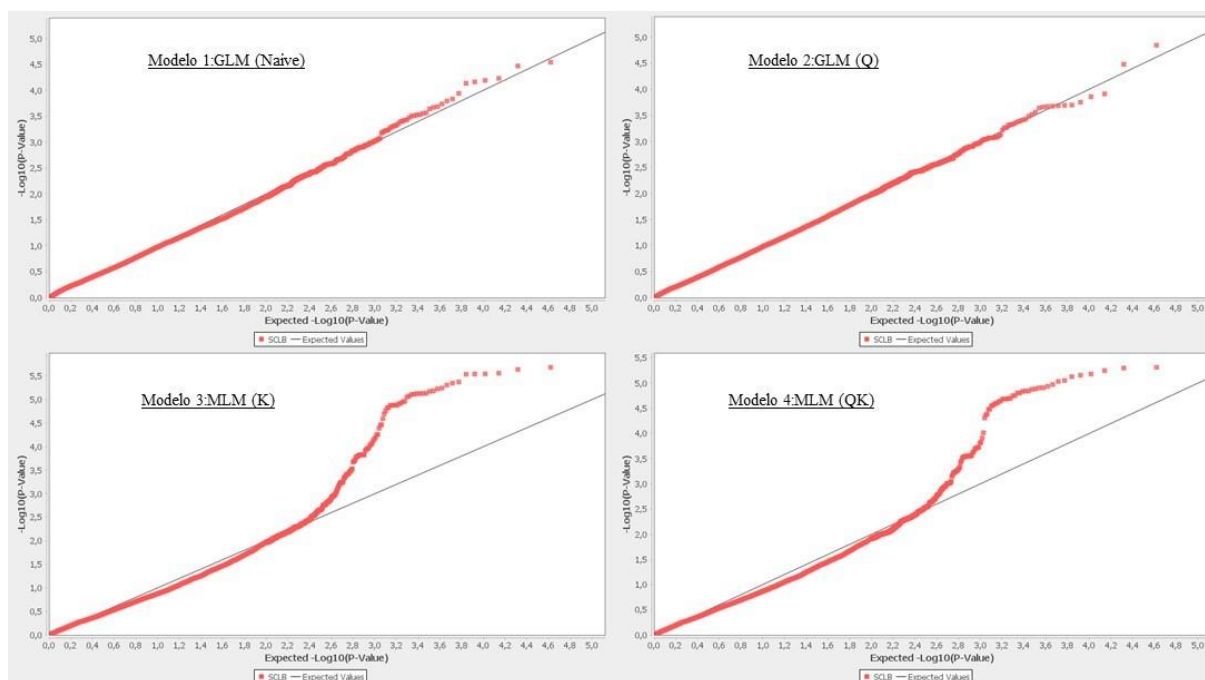


Figura A-5: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para SLB. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

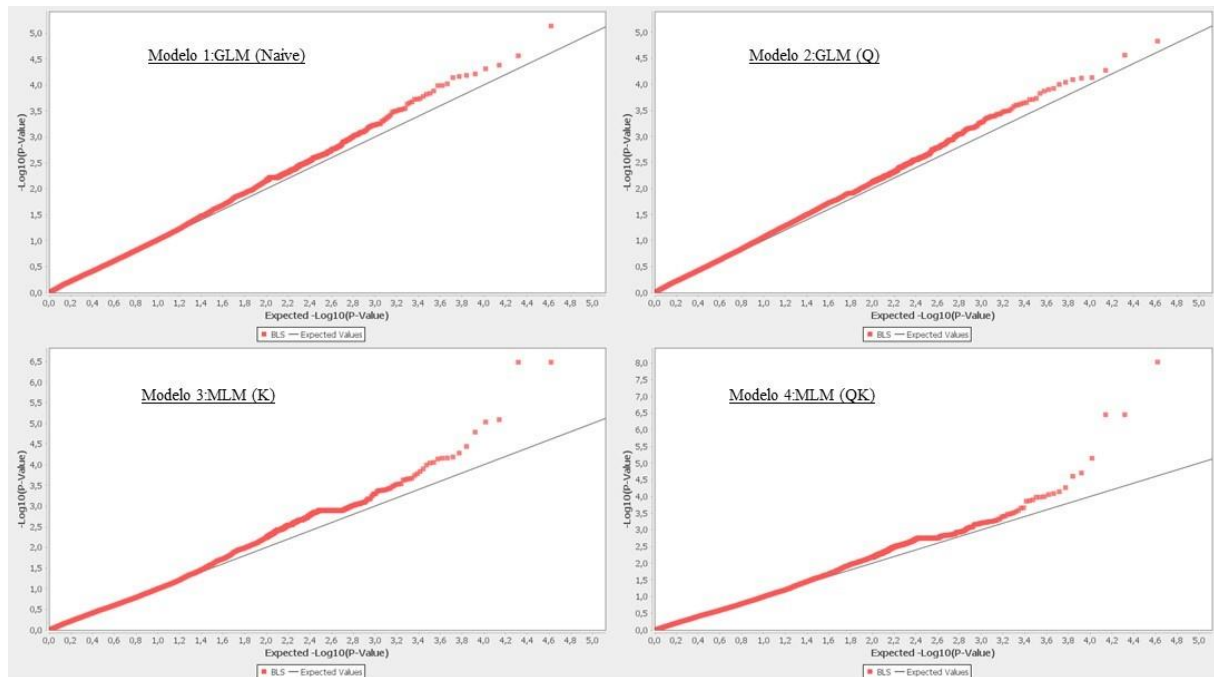


Figura A-6: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para BLS. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

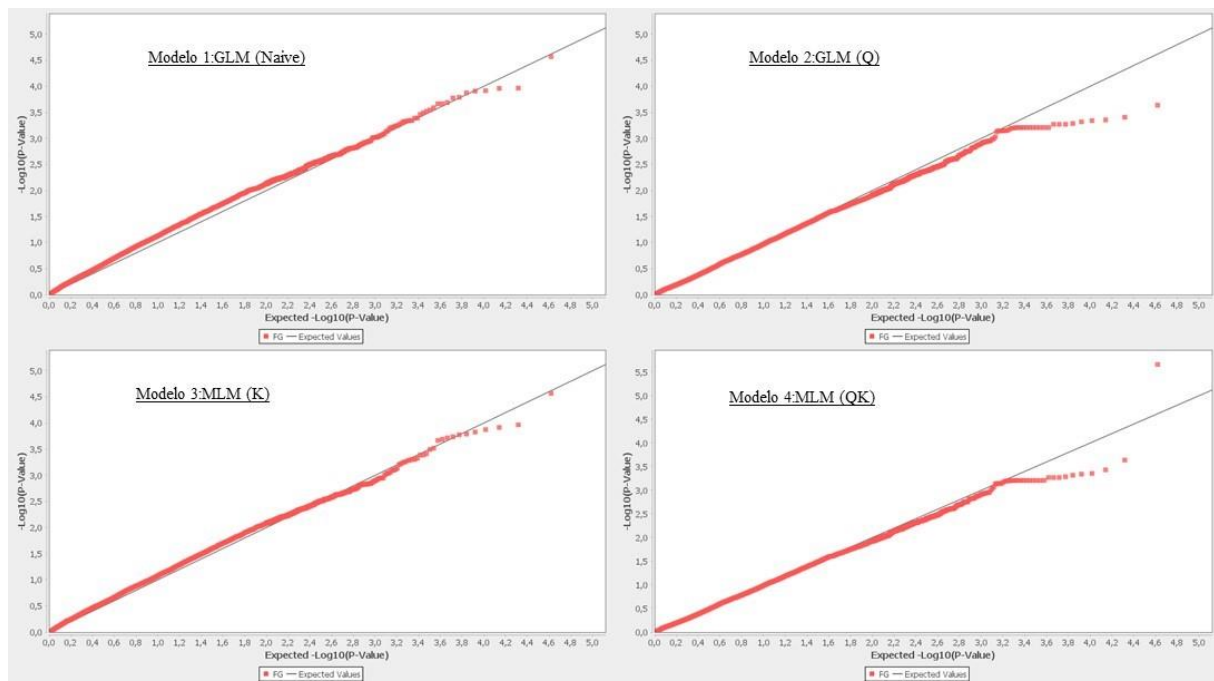


Figura A-7: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para FER. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

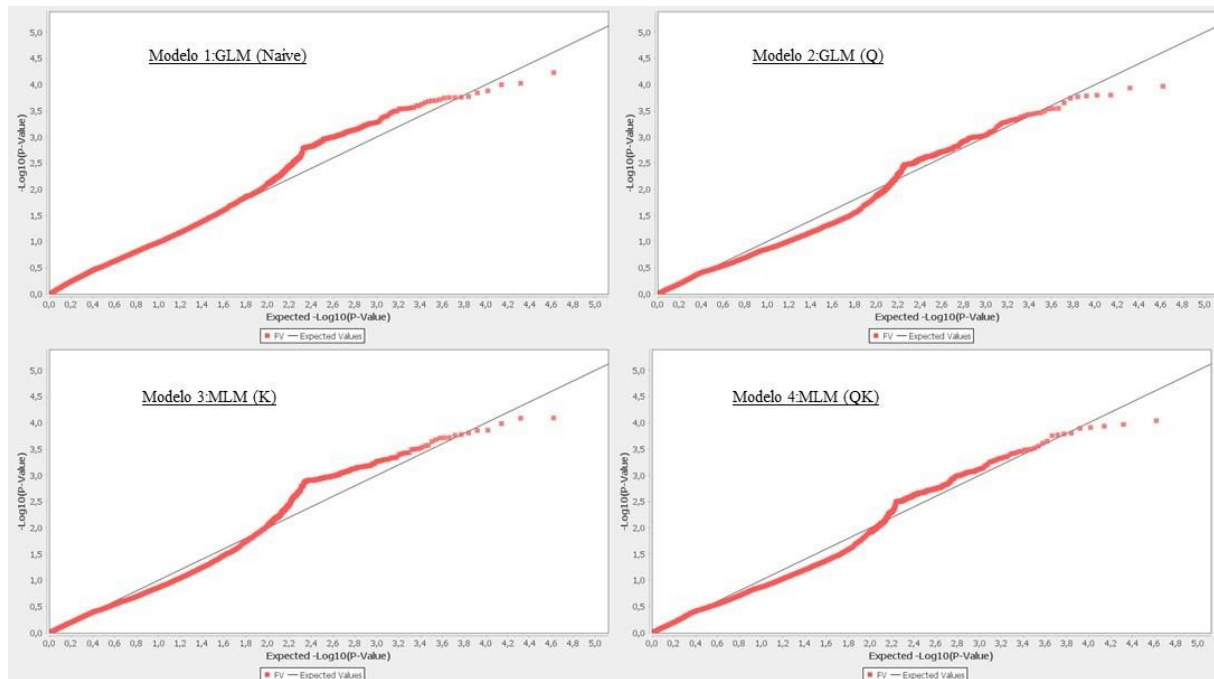


Figura A-8: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para GER. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.

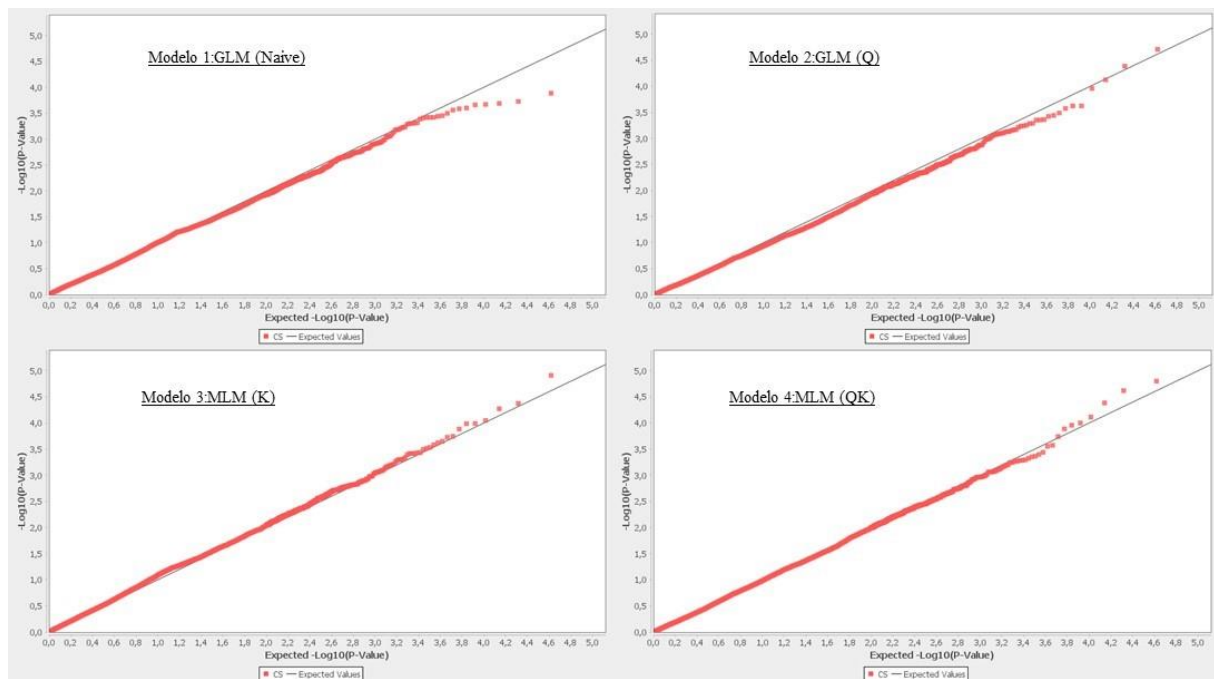


Figura A-9: Gráfico Q-Q entre $-\log_{10}$ (valores p observados) y $-\log_{10}$ (valores p esperados) derivados de cuatro modelos GWAS para CSM. La curva gris representa la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no asociación y la curva roja la distribución observada.