

Introducción

1. El Trigo

El trigo es una especie de la sub-tribu *Triticinae* dentro de la tribu *Triticeae*, perteneciente a la familia de gramíneas *Poaceae*. La sub-tribu *triticinae* es de origen reciente, y contiene aproximadamente 35 géneros incluidos *Triticum*, *Aegilops*, *Thinopyrum*, *Dasypyrum*, *Lophopyrum* y *Secale*. Los trigos cultivados pertenecen a cuatro especies del género *Triticum*, todas las cuales tienen un múltiplo del juego básico haploide (x) de siete cromosomas por gameto. La especie de número cromosómico más bajo, *T. monococcum* es normalmente diploide ($2n=2x=14$). Otras dos especies, como *T. turgidum* y *T. timopheevi*, son tetraploides ($2n=4x=28$). La especie cultivada de *Triticum* con número cromosómico más elevado, *T. aestivum*, es hexaploide ($2n=6x=42$).

De los cuatro trigos cultivados, *T. aestivum* es el de mayor importancia económica. La mayoría de sus variedades modernas caen bajo la denominación general de trigo común, cuya harina es la más adecuada para la elaboración de pan. La especie *T. aestivum* incluye más de 20.000 cultivares (variedades cultivadas), que se adaptan a un amplio rango de ambientes. El trigo pan se cultiva en todo el mundo. Del mismo modo, el trigo tetraploide *T. turgidum*, y en particular su principal variedad moderna *T. turgidum* L. var *durum* (trigo duro o trigo candeal) se cosecha ampliamente en áreas relativamente secas del mundo, tales como la cuenca mediterránea, India, Rusia y otras repúblicas ex-soviéticas, las zonas de escasa pluviometría de las grandes llanuras de Norteamérica y Australia. En cambio, el cultivo de *T. timopheevi* y el diploide *T. monococcum* es bastante limitado. *T. timopheevi* se cultiva solo en algunos lugares de la región transcaucásica de la Federación Rusa y *T. monococcum*, únicamente en algunas regiones montañosas de la ex-Yugoslavia y de Turquía, donde se utiliza sobre todo para alimentación animal (Feldman & Sears, 1981).

Aunque las especies silvestres diploides descienden de un antepasado común, han divergido bastante unas de otras, no sólo en su morfología, sino también ecológica y geográficamente. Casi todas las especies diploides tienen un genoma diferente. Las especies poliploides de *Triticum* constituyen un ejemplo clásico de evolución por anfiploidía y aunque su comportamiento es el de un aloploide, sus cromosomas se aparean como en un diploide, formando solamente bivalentes en la meiosis y su modo de herencia es disómico. Las especies tetraploides pueden haberse originado de la hibridación de dos especies diploides, seguida de una duplicación espontánea de sus cromosomas. Del mismo modo, toda especie hexaploide es producto de la hibridación

de una especie tetraploide, y otra diploide, seguida de duplicación cromosómica. Los estudios citogenéticos sugieren que *T. turgidum* (genoma AABB) derivó del cruzamiento entre *T. monococcum* (genoma AA) y *T. searsii* (genoma S^sS^s) o una especie silvestre próxima a esta última, que habría aportado el genoma B (Feldman & Sears, 1981). Por otro lado, el trigo hexaploide (genoma AABBDD) se originó sin duda a partir de un híbrido entre *T. turgidum* (probablemente la variedad cultivada *T. turgidum dicoccum* o escaña) y *Aegilops squarrosa* (*T. tauschii*, genoma DD).

Otros autores sugieren que *Aegilops speltoides* (*T. speltoides*) (genoma BB) habría contribuido al genoma B de *T. turgidum*. También se ha sugerido que el genoma A habría sido aportado por la especie diploide *Triticum urartu* Tum (genoma AA) (Johnson & Dhaliwal, 1978). En coincidencia con esto, Dvorak *et al.* (1993) sugieren que el trigo tetraploide se habría originado por hibridación del trigo diploide salvaje “einkorn” o *T. urartu* (genoma AA), con una especie muy emparentada a *Aegilops speltoides*, que habría aportado cromosomas de tipo B al genoma de trigo (Sarkar & Stebbins, 1956). De manera que, el genoma A de todos los trigos poliploides provendría de *T. urartu* y no de *T. monococcum* (genoma A^mA^m).

Ae. tauschii (*Ae. squarrosa*) y *Ae. speltoides*, han demostrado ser excelentes fuentes de resistencia a enfermedades en trigo (Dvorak 1977; Gill *et al.*, 1986). Los antecesores diploides del trigo son un recurso muy valioso para realizar estudios de la estructura genómica del trigo y su evolución. (Akhunov *et al.*, 2005). Los estudios comparativos de secuencias de ADN indican que *T. urartu* y *T. monococcum* divergieron entre 0,5 y 1,0 millones de años atrás (Huang *et al.*, 2002).

La estructura genética de las especies poliploides de *Triticum* permite una generación rápida de diversidad. La mayoría de los loci génicos están presentes en cuatro o seis copias, y la acumulación de variación genética mediante mutación o hibridación se tolera más fácilmente que en el caso de un organismo diploide. La poliploidia facilita así la diploidización genética, proceso a través del cual los genes presentes en copias múltiples y pares pueden divergir hacia nuevas funciones. Los poliploides de *Triticum* son verdaderos alopoliploides y muestran una heterosis (vigor híbrido) permanente, efecto resultante de la interacción entre ciertos genes situados en loci homólogos de diferentes genomas.

El centro de origen y el principal núcleo de diversidad del género *Triticum* se encuentra en el sudoeste de Asia. La parte sudoeste del creciente fértil (noroeste de Israel,

sudoeste de Siria y sudeste de Líbano) es el centro de distribución del trigo tetraploide silvestre *T. turgidum dicoccoides* y también el área donde se originaron las primeras variedades cultivadas de esta especie (*T. turgidum dicoccum*). Una hibridación espontánea entre *T. turgidum dicoccum* y *T. tauschii*, debió dar origen a *T. aestivum*, en tierras del oeste de Irán hace más de 8000 años, que fue cuando el trigo cultivado se introdujo en el área del silvestre (Feldman & Sears, 1981).

Si bien la variabilidad genética de los trigos domesticados ha ido acumulándose en el transcurso de 10.000 años de cultivo, se ha visto disminuida por la puesta en práctica de técnicas de mejoramiento modernas, responsables también de la elevada productividad del trigo. Las nuevas variedades, han ido reemplazando continuamente a las “variedades locales” tradicionales.

2. Trigo candeal en la Argentina

2.1 Historia

La primera referencia de *Triticum turgidum* L. var. *durum* en Argentina proviene de 1527, durante la expedición de Sebastián Gaboto (Goñi, 1968) en la actual provincia de Santa Fe. Los trigos candeales cultivados fueron poblaciones o “variedades” traídas por los inmigrantes desde sus países y en otros casos introducidos desde Chile (Di Salvo, 1969). A través de los años, se impuso el nombre común de candeal, al referirse a toda clase de *T. durum*. En muchas ocasiones, variedades seleccionadas en diferentes países fueron introducidas y probadas. Las provenientes de USA no tuvieron demasiado éxito. Desde Italia fueron introducidas las variedades Cappelli y Stampelli que, a pesar de su buena calidad, no lograron ser extensamente cultivadas. La variedad rusa “Taganrog” fue también incorporada, siendo muy apreciada durante varios años por diferentes países debido a su buena calidad.

Los primeros intentos de mejorar el cultivo fueron realizados a partir de 1912 por el mejorador G. Backhouse y desarrollados en la Chacra Experimental La Previsión (actual INTA-CEI Barrow). A partir de poblaciones de candeal, V. Brunini propagó una variedad llamada Candeal La Previsión, oficialmente reconocida en 1939 y que llegó a tener cierta importancia hacia 1957. En 1955, se registró la variedad Durumbuck obtenida por el mejorador privado José Buck en la estación experimental de La Dulce (Prov. de Buenos Aires), derivada de la cruce de Candeal x Taganrog selección.

En 1961, el mismo mejorador presentó la variedad Taganrog selección Buck (seleccionada de una población Taganrog) superior a la original. Ese mismo año, la empresa Vilela lanzó al mercado la variedad Taganrog Vilela Fideos, de muy buena calidad, desarrollada por el mejorador H. Olsen. En 1963, se lanzó la nueva variedad Taganrog Buck Balcarce, con un pedigrí bastante complicado, en el cual se incluyeron selecciones de Candéal y Taganrog más una selección del trigo italiano Cappelli. Debido a sus altos rendimientos y calidad, estas dos últimas variedades, cubrieron en aquellos años la mayor parte del área dedicada a este cultivo.

Posteriormente, la estación experimental La Previsión obtuvo otra variedad, Candéal Bonaerense 202, resistente a la roya del tallo y originada de la cruce entre Candéal La Previsión y Tremes molle, una vieja variedad portuguesa. Las primeras variedades argentinas tuvieron un origen común en el famoso trigo candéal ruso Taganrog, desde el cual evidentemente deben haber heredado la baja extensibilidad del gluten y la buena calidad de cocción (Vallega, 1974).

En las últimas décadas fueron desarrolladas las variedades: Balcarceño INTA (1974), Buck Mechongue (1979), Bonaerense Valverde (1979), Buck Candisur (1982), Thomas Ventania (1984), Bonaerense Quilaco (1987), Buck Cristal (1987), Bonaerense INTA Cumenay (1995), Buck Ambar (1995), Bonaerense INTA Facon (1997), Buck Topacio (1998), Buck Esmeralda (2000), Bonaerense INTA Carilo (2002), Buck Platino (2002) y recientemente ACA 1801 F (2007).

2.2 Áreas de Cultivo y Producción

La producción global de trigocandéal en el período 1994–2005 fue estimada en 23,76–33,09 millones de toneladas por año, con un rendimiento de 1,64–2,33 toneladas por hectárea (Patil *et al.*, 2008). Históricamente, el rendimiento del trigo candéal es un 80% en relación al del trigo pan. Esto se atribuye, en parte, a ambientes de cultivo menos favorables y prácticas de manejo. El trigo candéal sólo representa aproximadamente 6–8% de la producción mundial de trigo.

La producción de granos (cereales y oleaginosas) en la Argentina evolucionó, en los últimos 15 años, de 40 a 96 millones de toneladas por año en la cosecha 2007/08. El nuevo esquema productivo de la zona pampeana argentina se basa en una agricultura intensiva, con sistemas de siembra directa continua, donde el cultivo de trigo junto al

de la soja y el del maíz forman parte de la secuencia de cultivos preponderantes (J.T.C. 2005). La producción nacional de trigo fue de aproximadamente 14,5 millones de toneladas en la última década (**Figura 1**).

El cultivo de trigo candeal tuvo poca o ninguna importancia en nuestro país hasta fines de la década del 50, registrándose una producción máxima de 760.000 toneladas (419.700 hectáreas) en la campaña 1969/70. En aquellos años, la producción era destinada mayormente a la exportación, siendo Italia nuestro principal comprador hasta 1974, con volúmenes de compra entre 240.535 y 521.044 toneladas (Vallega, 1974). Italia se abastecía en la Argentina debido a la excelente calidad de gluten de nuestras producciones, derivada del uso de las variedades Taganrog selección Buck, Taganrog Buck Balcarce, Capella selección y en menor medida Taganrog Vilela Fideos.

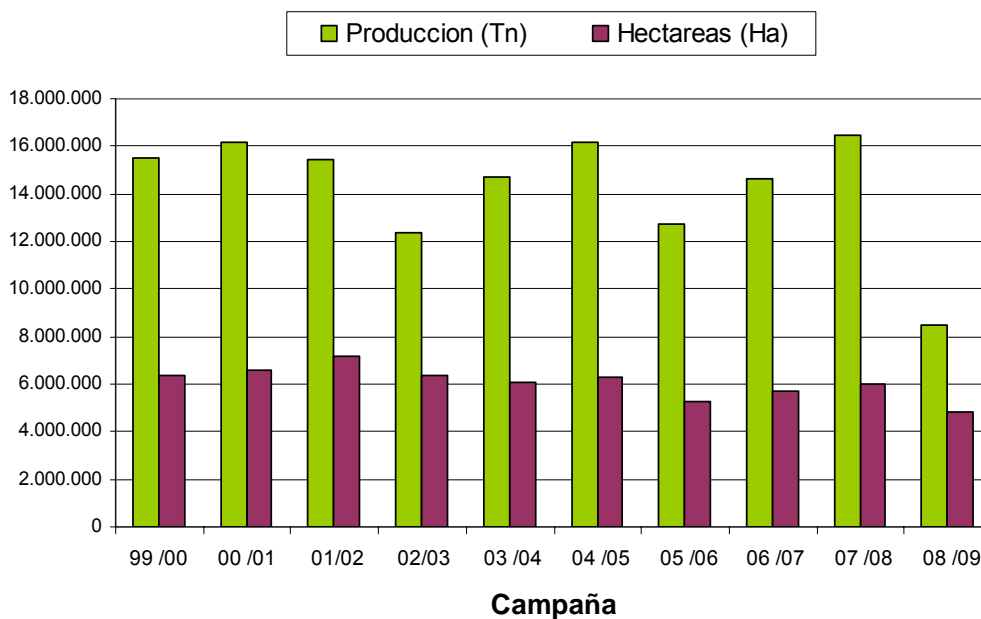


Figura 1: Siembra y producción de trigo (pan y candeal) en la Argentina. *Fuente:* SAGPyA.

La proporción de trigo candeal, como cultivo en Argentina, en el total de trigo fue disminuyendo progresivamente. En la década del 60 representaba entre un 5,9 y 10,8% del total de trigo producido, y en las décadas del 70 y 80 no superaba el 1%, manteniéndose en ese valor en la actualidad. Esta drástica disminución de la superficie sembrada se debió principalmente a la sensibilidad del cultivo a la fusariosis de la espiga. Por otro lado, el mejoramiento genético permitió obtener cultivares de trigo pan de ciclo corto y alto rendimiento, haciendo a este cultivo aún más rentable en

detrimento del candeal.

Argentina perdió así su tercer lugar como país exportador en el comercio internacional de trigo candeal. En ese período, las fábricas productoras de fideos, que son las demandantes de este producto, se vieron en la necesidad de importar materia prima. La escasez de una oferta estable en el tiempo y que reuniera los parámetros de calidad requeridos en el mercado interno, llevó a las industrias fideeras a procurarse otra vía de abastecimiento, a través del contrato directo con la producción primaria (Demarie *et al*, 1999).

El área de cultivo del trigo candeal se extiende sobre las subregiones trigueras IV y V sur (Sudeste y Sudoeste de Buenos Aires y parte de La Pampa), alrededor del paralelo 38° (**Figura 2**).

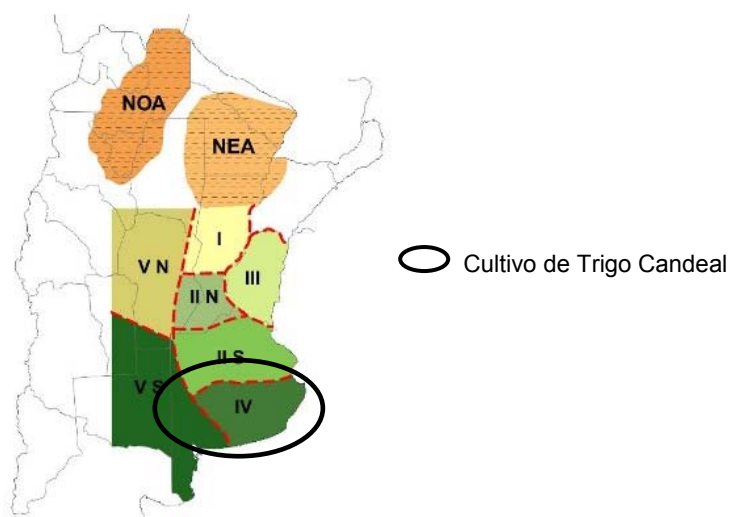


Figura 2: Zona de producción del trigo candeal en las subregiones trigueras de la Argentina

Esta región tiene como principal desventaja las lluvias que, frecuentemente antes o durante el período de cosecha, afectan la calidad de los granos por lavado. Esta situación provoca frecuentes variaciones en la calidad del grano, no habiendo consistencia en los diferentes embarques de candeal destinados a la exportación.

En los últimos diez años la producción en nuestro país se ha mantenido entre las 100.000 y 180.000 toneladas, representando una opción tradicional para un grupo interesante de productores. Durante las últimas dos décadas, la superficie sembrada con candeal fue cambiante, pasando de un mínimo de 22.700 hectáreas en 1985/86 a

un máximo de 83.200 hectáreas en 1996/97 y las actuales 78.155 hectáreas en 2008/09 (**Tabla 1**).

Tabla 1: Producción de trigo candeal en la Argentina en las últimas diez campañas.

Campaña	Área Sembrada (ha)	Área Cosechada (ha)	Producción (tn)	Rendimiento (kg/ha)
2008/09	78155	71540	135564	1895
2007/08	59417	57717	138810	2405
2006/07	48955	48825	114985	2355
2005/06	53245	52220	128580	2462
2004/05	57000	56940	179590	3154
2003/04	46900	46780	147220	3147
2002/03	42800	39420	97600	2476
2001/02	47650	47250	136160	2882
2000/01	67800	67650	187270	2768
1999/00	69800	69540	176100	2532
1998/99	73700	72780	157600	2165

Fuente: SAGPyA

El rendimiento promedio de este cultivo varía según las regiones. En las zonas Centro y Sur bonaerenses es de aproximadamente 2.360 kg/ha y en el Sudeste ronda los 4.710 Kg/ha Si bien los rendimientos favorecen notablemente a la zona del Sudeste, los altos rindes no permiten alcanzar niveles aceptables de proteína y vitreosidad (Demarie *et al.*, 1999). La mayor parte de la producción de candeal se concentra en un pequeño grupo de partidos de la provincia de Buenos Aires (**Figura 3**).

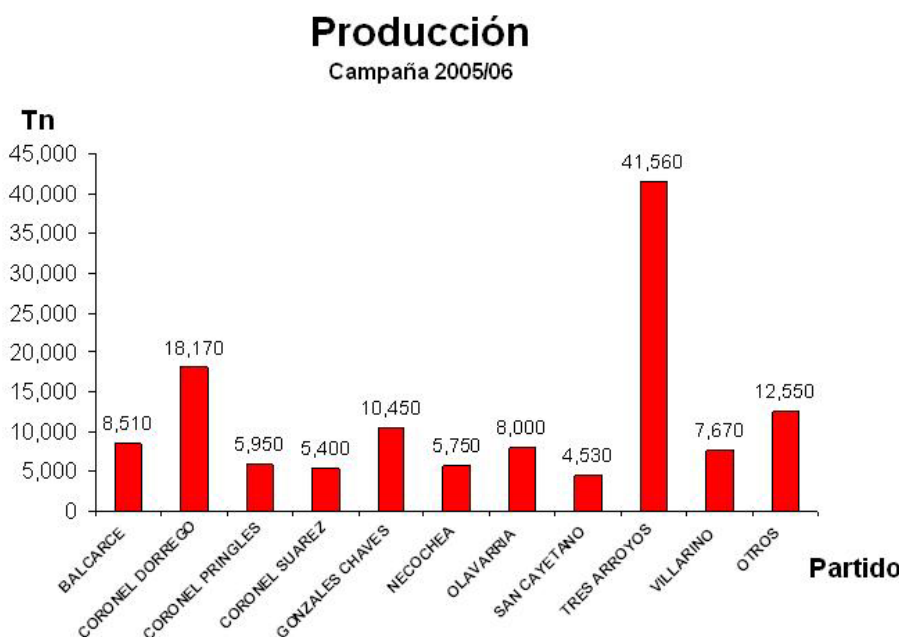


Figura 3: Producción de trigo candeal (Tn) por partido de la Prov. de Buenos Aires.

En general, los productores de candeal cuentan con un alto nivel de adopción tecnológica y un buen conocimiento de mercado, permitiéndoles optar por un cultivo exigente en la utilización de insumos. La producción de trigo candeal a través de la agricultura de contrato está ligada actualmente a las necesidades de la industria, la cual planifica la cantidad de hectáreas que requerirá contratar en cada campaña. Al no existir un mercado de trigo candeal el productor no puede sembrar sin previamente vincularse con alguna de las fábricas fideeras.

El precio del trigo candeal se determina en base al precio pizarra del trigo pan grado dos, más un porcentaje de bonificaciones por calidad. A enero de 2009, el trigo argentino cotizaba según precios FOB oficial (US\$ / Ton.) 208,90 u\$d/ton, sobre un precio de 99,29 u\$d/ton a enero del 2000 y un máximo alcanzado de 353,67 u\$d/ton sobre el mismo mes de 2006 (<http://www.cotriza.cl/mercado/trigo>). Para cada venta, si la muestra analizada presenta un porcentaje de proteínas que va entre un 10 y 11% el productor está exento de bonificaciones y rebajas. A partir del 12% por cada punto de aumento de proteína se bonifica entre un 2 a 3%. Cada firma, basada en el estándar de comercialización para trigo candeal establece el castigo o bonificación según el grado de vitreosidad que presenta la muestra (Demarie *et al*, 1999).

2.3 Usos

El trigo duro o candeal (*Triticum turgidum L. var. durum*) es utilizado principalmente para la elaboración de productos de pasta secas (vermicelli, spaghetti y macaroni) y frescas, particularmente en los países europeos y de América del Norte, mientras que en otras regiones (Medio Oriente y norte de África) se utiliza como couscous o burgol. En los países mediterráneos una gran parte de la cosecha es dedicada a la preparación de pan (Quaglia *et al.*, 1988) y de postres (Seghezzo & Molfese, 1999). La pasta, en sus diferentes formas es el producto más apreciado en todo el mundo (**Figura 4**).

Según informes oficiales, el consumo de pastas secas por habitante/año en la Argentina es de 6 Kg, incluyendo todos los tipos de pastas de origen industrial elaborados tanto con trigo candeal como trigo pan. Italia encabeza el ranking mundial con 28 Kg/hab/año, seguido por Venezuela con 13 Kg. Argentina se ubica en octavo lugar en consumo *per capita* y ocupa la posición 14 en el ranking de producción mundial de pastas.

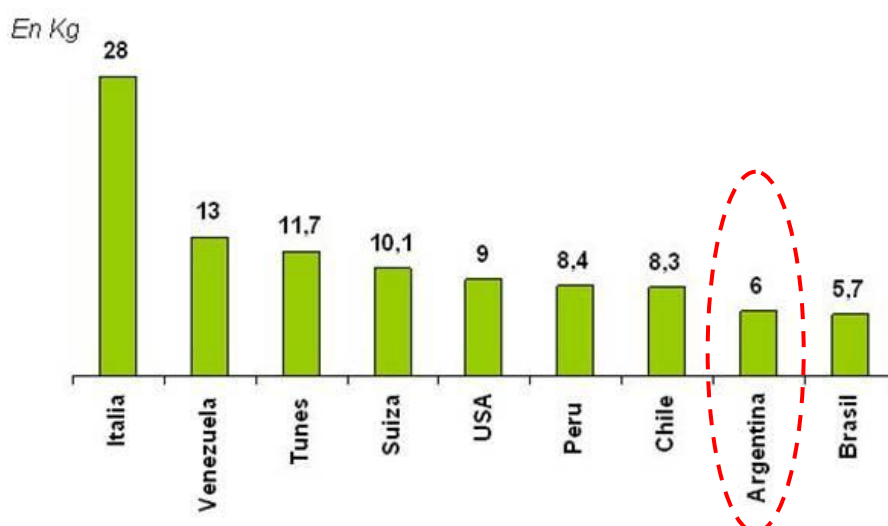


Figura 4: Consumo anual de pastas *per capita* en los principales países consumidores

De un total de 110 empresas dedicadas a la elaboración de pastas secas en nuestro país, solo tres concentran el 65 % de la producción (Kraft, Manera y Molinos del Río de la Plata), empleando en total de 2.200 personas, con una facturación anual de 300 millones de pesos. Un 8% de la harina (trigo pan) producida en nuestro país es destinada a la elaboración de pastas secas, exportándose solo el 6% de la producción, mayoritariamente a otros países del MERCOSUR (**Figura 5**). La producción de pastas secas (300.000-350.000 Tn/año) representa la mayor parte (76%) de la producción de pastas del país (Cadena de Trigo en la Región Pampeana, 2005).

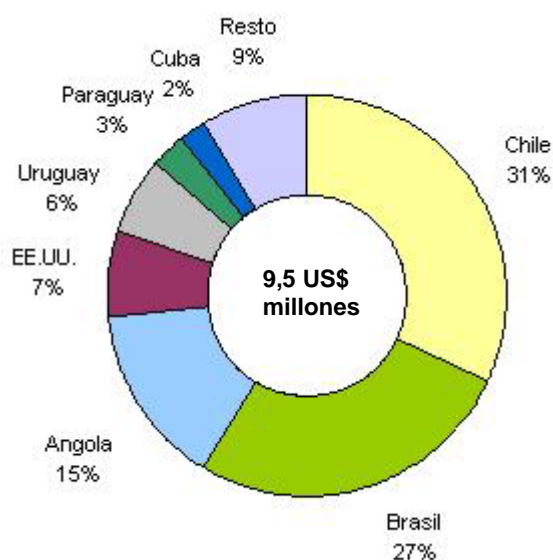


Figura 5: Exportación de pastas secas por destino, expresado en % del volumen de ventas en dólares americanos (2004)

La producción mundial de pasta es de aproximadamente 9 millones de toneladas/año, encabezada por Italia con 2,9 millones de toneladas y seguida en segundo lugar por EE.UU. con 1,15 millones. En tercer lugar se encuentra Brasil con un millón de toneladas. Dentro de Latinoamérica, el mayor productor es Brasil (10% mundial), seguido por México (4%), Venezuela (3,5%) y Argentina (3%) (<http://www.alimentosargentinos.gov.ar/farinaceos/default.asp>).

3. La calidad del trigo candeal

El trigo candeal posee características superiores para la elaboración de pasta de buena calidad. La dureza de su endosperma facilita la separación del germen de las capas externas del grano, incrementando el rendimiento de sémola. Las condiciones de la molienda tienen además marcados efectos en las propiedades de la harina y sémola (Feillet *et al.*, 2000).

Los fideos hechos con sémola de trigo candeal tienen numerosas ventajas en el proceso de elaboración con respecto a los fabricados con trigo pan. En primer lugar se requiere menos agua para formar la masa, facilitando el secado y volviendo el producto más económico. Además, presenta mayor estabilidad en la cocción, debido fundamentalmente a la calidad del complejo de proteínas de reserva denominado gluten, en cuanto a elasticidad, adhesión y apariencia general. El contenido de pigmentos carotenoides (CPC) es mayor en trigo candeal, otorgando el color amarillo característico a los fideos, muy apreciado por los consumidores.

El concepto de calidad en trigo candeal es complejo y está en permanente evolución en respuesta a avances tecnológicos de la molienda, a procesos secundarios y a las preferencias del mercado (Dexter & Marchylo, 2001). La calidad puede ser definida como la habilidad de los granos de trigo o sémola para satisfacer los requerimientos específicos de los usuarios, que serán diferentes de acuerdo al lugar que ocupen en la cadena productiva (**Tabla 2**).

En general, se considera que el contenido de proteína en el grano, la fuerza y elasticidad del gluten y el color son los principales factores involucrados en la calidad de la sémola de trigo candeal y que, en definitiva, redundan en las cualidades reológicas de la masa. El porcentaje de vitreosidad de los granos es también una característica importante (Troccoli *et al.*, 2000).

Tabla 2: Criterios de calidad en trigo candeal según el sector demandante de la cadena de valor

Calidad de Trigo Candeal para:					
Semilleros	Comercializadores de granos	Agricultores	Industria molinera	Industria Fideera	Consumidores
Pureza varietal	Contenido de Proteína	Rendimiento	Rendimiento de sémola	Contenido de Proteína	Calidad de cocción
Germinación	Peso Hectolitrico	Rendimiento de granos/ calidad y estabilidad	Contenido de ceniza	Calidad de Gluten	Aspecto visual
	Humedad del grano		Uniformidad de granos	Granulación y tamaño de partículas de sémola	Estándar de calidad del producto de pasta
	Sanidad		Peso Hectolitrico		Relación precio/calidad
			Humedad del grano	Índice de amarillo	
			Impurezas		

(Modificado de Troccoli *et al.*, 2000)

La industria fideera prefiere los granos vítreos debido a su correlación positiva con el porcentaje de proteína, el rendimiento de sémola y la calidad de cocción. Mientras que la calidad del gluten, color de la sémola y cualidades reológicas de la masa están determinadas fundamentalmente por el genotipo, el contenido de proteína y la vitreosidad, resultan más afectadas por la localidad, año de cosecha y condiciones de manejo (www.alimentosargentinos.gov.ar). Del grano de trigo candeal puede obtenerse semolin o sémola y esta última puede ser gruesa, fina o mezcla.

Los principales países exportadores de trigo candeal, como Canadá y Australia, poseen fuertes programas de mejoramiento de la calidad, asociados a una importante estrategia de marketing para sus productos. Asimismo, los países mediterráneos han intentado garantizar la calidad de su producción, promoviendo la exportación varietal y la utilización de estándares mínimos de calidad para el contenido de proteína, índice de gluten y color amarillo.

En nuestro país, no existen subclases de trigo candeal y para su comercialización se lo divide en tres grados de calidad (**Tabla 3**).

Tabla 3: Estándar de clasificación de trigo candeal según grados de calidad (Res. ex - S.A.G.yP. 1075/94 Norma XXI)

GRADO	Peso Hectolítrico kg/hl. Mínimo	Materias Extrañas %	GRANOS DAÑADOS		Granos Quebrados y/o chuzos %	Granos con Carbón %
			Ardidos y/o Dañados Calor	Total Dañados		
			% Máximo			
1	78,00	0,75	0,50	1,00	1,50	0,10
2	76,00	1,50	1,00	2,00	3,00	0,20
3	72,00	3,00	1,50	3,00	5,00	0,30

Por otro lado, se establece una bonificación o rebaja por el contenido de granos vitreos, a efectuarse sobre el precio del grado dos (2), sobre la base de un valor del cincuenta por cien (50%) libre de bonificaciones y rebajas. Además, se aplican bonificaciones y rebajas por proteínas, en función de una escala predeterminada.

El trigo pan se comercializa según estándares de calidad diseñados por la S.A.G.P.yA. (Resolución 1262/2004), existiendo también tres grados de calidad. Se ha elaborado una propuesta de clasificación no obligatoria para el trigo pan, consensuada por distintos sectores oficiales y privados, incluso por molinos de Brasil, que es promovida por la Asociación Argentina de Productores de Trigos (AAPROTRIGO) y el INTA, y que contempla tres clases de trigo (Tabla 4).

Tabla 4: Propuesta de clasificación de trigo para pan según criterios de calidad.

TDA 1 Superior (Trigo Duro Argentino 1 Superior)	TDA 2 Especial (Trigo Duro Argentino 2 Especial)	TDA 3 Standard (Trigo Duro Argentino 3 Standard)
Se define como ésta clase al grupo I de variedades. En 3 bandas de proteína entre 10.5%-11.5%, 11.6%-12.5% y más de 12%.	Se define como ésta clase a variedades del grupo I y II. Bandas de proteína 10% a 11% / 11% a 12% / y más de 12%.	Se define como ésta clase a variedades del grupo III. Tiene dos bandas de proteína 10-11% /11- 12%.
<i>Fuente: SAGPyA</i>		

Altos valores de contenido de proteína y vitreosidad en los granos son bonificados en la comercialización. Nuestro país ha colocado históricamente sus exportaciones de trigo a bajos precios, sin segregar su producción por calidad. Por el contrario, los principales países exportadores y competidores de Argentina (Canadá, EE.UU.,

Australia y la Unión Europea), clasifican su producción en diferentes tipos de calidad según su aptitud de uso y por ello, obtienen mejores precios en la comercialización.

Estados Unidos por ejemplo, posee ocho clases de trigo: Durum Wheat, Hard Red Spring Wheat, Hard Red Winter Wheat, Soft Red Winter Wheat, Hard White Wheat, Soft White Wheat, Trigo sin clase, y trigo mixto. Durum Wheat, incluye todas las variedades de *Triticum turgidum* L. var. *durum* y se utiliza para fabricar macarrones y tallarines. Esta clase está dividida en tres subclases (**Tabla 5**).

Tabla 5: Subclases de Durum Wheat en USA (trigo candeal) (*Fuente: Celentano y Montero, 2004*)

Hard Amber Durum Wheat (HADW)	Amber Durum Wheat (ADW)	Durum Wheat (DW)
Trigo duro con 75% o más de grano vítreo y duro de color ámbar.	Trigo duro con 60 - 75% de grano duro y vítreo de color ámbar.	Trigo duro con menos de 60% de grano duro y vítreo de color ámbar.

La dureza del grano de trigo determina su comportamiento en la molienda. El trigo candeal posee un endosperma muy duro que posibilita un rendimiento mayor de sémola en la molienda. Por otro lado, el trigo pan tiene un rango más amplio en la dureza de sus granos.

La fractura del grano de trigo candeal al molerse produce un tamaño de partícula grande y uniforme, mientras que la harina obtenida de trigos blandos genera un tamaño de partícula bimodal, debido a que la ruptura del contenido celular libera gránulos de almidón intactos. La dureza del grano, asociada a otros caracteres de calidad (% proteína, etc.), determina el uso final de los granos de trigo (**Figura 6**).

En la evaluación de la calidad del trigo candeal se utilizan los mismos ítems que en trigo pan, pero además se agregan las determinaciones de vitreosidad, % de molienda de sémola, Falling Number, % Gluten y Gluten Index, Color y Farinograma. (www.trigoargentino.com.ar).

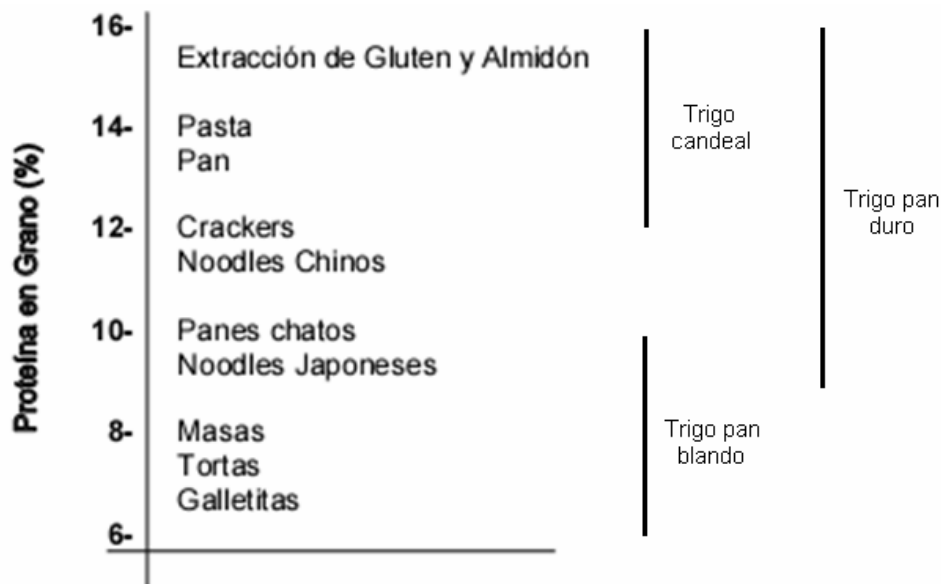


Figura 6: Destinos del trigo según el contenido de proteína de sus granos. Fuente: La Calidad del grano del Trigo. Cuaderno de Actualización Técnica N° 63. CREA, año 2000 (modificado)

En Argentina, la pasta seca se fabrica con sémola de trigo candéal, semolado de trigo, harina de trigo o harina integral. Con sémola de trigo candéal se obtiene un producto de mayor calidad culinaria. Por el contrario, la harina de trigo pan contiene más almidón y menos gluten, siendo los fideos elaborados con esta harina, más quebradizos en seco y pegajosos en el hervor. La escasa disponibilidad de sémola de candéal, el alto precio y la baja calidad del trigo candéal durante los últimos años derivaron en el agregado de harina de trigo pan en la industria de pasta seca.

Para obtener una producción de fideos secos que garantice una calidad estable, la industria fideera requiere una sémola de trigo candéal con ciertos atributos mínimos: proteína: 12-13%, fuerza de la masa (W): 180, resistencia al estiramiento (P): 110-120, extensibilidad de la masa (L): 10, relación P/L: 1.2 (W, P, L, P/L del alveograma), cenizas: menor a 1,6% en trigo ó menor a 0,75% en harina, gluten húmedo: 28-34%, color: mayor a 28 y falling number: superior a 300. Para semolines comunes de trigo pan destinados a las fábricas de fideos secos y pastas frescas sólo se requiere una humedad máxima del 14,5% y cenizas máximas del 0,44%.

En fideos secos elaborados con harina cuatro ceros, los requerimientos de calidad son los siguientes: humedad inferior al 15%, gluten húmedo 24-26%, cenizas inferior a 0,45%, falling number 300 segundos, P 100-120, L 70-85, P/L 1,3-1,8 y W 240-280. (<http://www.alimentosargentinos.gov.ar/farinaceos>). El desafío actual es desarrollar

variedades de trigo candeal de buen rendimiento y alta calidad, para satisfacer las exigentes demandas de los mercados internacionales.

4. Color, un factor de calidad

El desarrollo de cultivares con alto CPC (contenido de pigmentos carotenoides) es un objetivo importante en los programas de mejoramiento de trigo candeal (He *et al.*, 2008). El color se ha vuelto importante con el incremento de la competencia mundial en el marketing de los diferentes productos, siendo la pasta amarilla preferida por los consumidores (Troccoli *et al.*, 2000; Dexter & Marchylo, 2001). El trigo candeal tiene normalmente un grano ámbar vitroso, que produce sémola amarilla y confiere, en consecuencia, un color amarillo brillante a la pasta (Elouafi *et al.*, 2001).

El color de la pasta resulta de la combinación de dos procesos: amarillamiento y amarronamiento. Los pigmentos carotenoides, principalmente xantofilas y compuestos flavonoides, son los responsables del color amarillo del grano de trigo y sus productos de molienda (sémola o harina) (Lepage & Sims, 1968; Miskelly, 1984). Sin embargo, el color amarillo no sólo depende de la presencia de pigmentos carotenoides, sino que es influenciado por factores como la tasa de extracción de sémola o harina (Matsuo & Dexter, 1980), las condiciones de procesado (Borrelli *et al.*, 2003) y la degradación oxidativa de pigmentos por enzimas lipoxigenasas (LPX) durante el amasado (Irvine & Winkler, 1950; Irvine & Anderson, 1953; Manna *et al.*, 1998; Borrelli *et al.*, 1999). El indeseable proceso de amarronamiento es atribuido a la acción de enzimas peroxidadas (POD) y polifenol oxidasas (PPO) (Laignelet *et al.*, 1972), presentes en el grano (Kobrehel *et al.*, 1972).

El color amarillo en la pasta puede incrementarse a través del mejoramiento genético, seleccionando genotipos portadores de genes para alto CPC y baja actividad de enzimas oxidativas, aunque también puede lograrse por el agregado de otras sustancias. La incorporación de yemas de huevo a la sémola, harina o sus mezclas, da lugar a los denominados fideos con huevo o al huevo. En muchos casos se refuerza el color con el agregado de azafrán, β -caroteno natural o de síntesis, rocú o cúrcuma (www.alimentosargentinos.gov.ar).

El color amarillo en la sémola y en la pasta es una marca de calidad tradicional, más que funcional, ya que en los comienzos de la industria de la pasta, los consumidores asumieron que el color amarillo provenía del uso de trigo candeal. Recientemente este

concepto ha cambiado y no solo el color amarillo es apreciado por su aspecto puramente visual, sino que también es de importancia por el valor nutricional y beneficios para la salud de los pigmentos carotenoides que lo producen.

Por otro lado, la industria del pan prefiere específicamente harinas con un color blanco brillante (Black & Panozzo, 2004). Una harina blanca, con una baja pigmentación, es considerada un pre-requisito para la producción de pan, por lo que la harina es frecuentemente blanqueada con bezoyl peróxido antes de usarse para eliminar defectos de color (Kruger & Reed 1988).



En Japón y sudeste de Asia, se requiere una harina coloreada cremosa para la elaboración de noodles a partir de trigo hexaploide (Mares & Campbell, 2001). En la producción tradicional de esta clase de fideos (noodles) se utiliza una mezcla de sales alcalinas llamada Kansui, que favorece la disociación de flavonas desde los polisacáridos, aumentando la pigmentación amarilla y mejorando la textura del producto final (Kruger *et al.*, 1992). Sin embargo, en la producción comercial se utiliza una solución de hidróxido de sodio para incrementar el color amarillo que produce pérdida de elasticidad del gluten, resultando en una indeseable textura blanda (Terada *et al.*, 1981). Por esta razón, los programas de mejoramiento de noodles japoneses buscan incrementar los niveles de pigmento en la harina para disminuir la concentración de álcali requerida (Parker *et al.*, 1998). Por el contrario, en China los noodles se prefieren de color blanco brillante o cremoso, lo que direcciona el mejoramiento hacia la disminución del CPC en grano (He *et al.*, 2004).

Aproximadamente, el 40% de la producción china de trigo pan es usada para manufacturar distintas clases de noodles (ej., frescos, blancos secos, instantáneos, y frisados). Los noodles blancos frescos son los más populares (He, 1999), pero los noodles blancos secos y noodles instantáneos, manufacturados en líneas de ensamblado mecanizadas, tienen un mayor valor comercial.

La clase de productos elaborados para los cuales se destina el trigo (candéal o pan) determina entonces la necesidad de contar con alto o bajo contenido de pigmentos.

5. Pigmentos carotenoides

5.1 Biosíntesis, composición química y función metabólica

Entre los pigmentos más comunes e importantes encontrados en la naturaleza están los carotenoides, compuestos liposolubles sintetizados por organismos fotosintéticos (bacterias, algas, plantas) y no fotosintéticos (bacterias, hongos). Hasta el momento se han identificado más de 600 carotenoides naturales (Ong & Tee, 1992). Los vertebrados no tienen la capacidad de sintetizarlos, por lo que deben incorporarlos a través de la dieta. El principal precursor de carotenoides esenciales como el retinal, retinol (vitamina A) y ácido retinoico (Ong & Tee, 1992; Britton *et al.*, 1995) es el β -caroteno (Rosati *et al.*, 2000; Ronen *et al.*, 2000; Naik *et al.*, 2003).

Los carotenoides se clasifican en hidrocarburos (carotenos) y sus derivados oxigenados (xantofilas). Se forman de 8 unidades de isoprenos agrupados de tal manera que la posición de las unidades de isopreno es inversa en el centro de la molécula por lo que los dos grupos metilo centrales están en una posición 1,6 y los restantes grupos metilo no-terminales están en una posición 1,5. Los carotenoides son responsables de muchos colores rojos, naranjas y amarillos de hojas, frutos, y flores.

Las xantofilas y sus ésteres son los principales pigmentos presentes en trigo candeal (Markley & Bailey, 1935), y se encuentran como luteína libre (84,8%), monoéster (9,8%) y diéster (5,3%) (Lepage & Sims, 1968). También se observaron trazas de zeaxantina y β -cryptoxantina en granos (Hentschel *et al.*, 2002; Abdel-Aal *et al.*, 2002; Adom *et al.*, 2003; Panfili *et al.*, 2004; Fratianni *et al.*, 2005) (**Figura 7**). Los contenidos relativos de cada uno de estos pigmentos varían entre cultivares (Adom *et al.*, 2003, Borrelli *et al.*, 2008).

En trigo pan, la cantidad de carotenoides es significativamente menor que en candeal, siendo la luteína el principal pigmento carotenoides junto a trazas de zeaxantina, α y β -caroteno, según el cultivar (Hidalgo *et al.*, 2006; Leenhardt *et al.*, 2006). También se ha sugerido la presencia de otros pigmentos carotenoides, aún no caracterizados, en trigo candeal (Hentschel *et al.*, 2002).

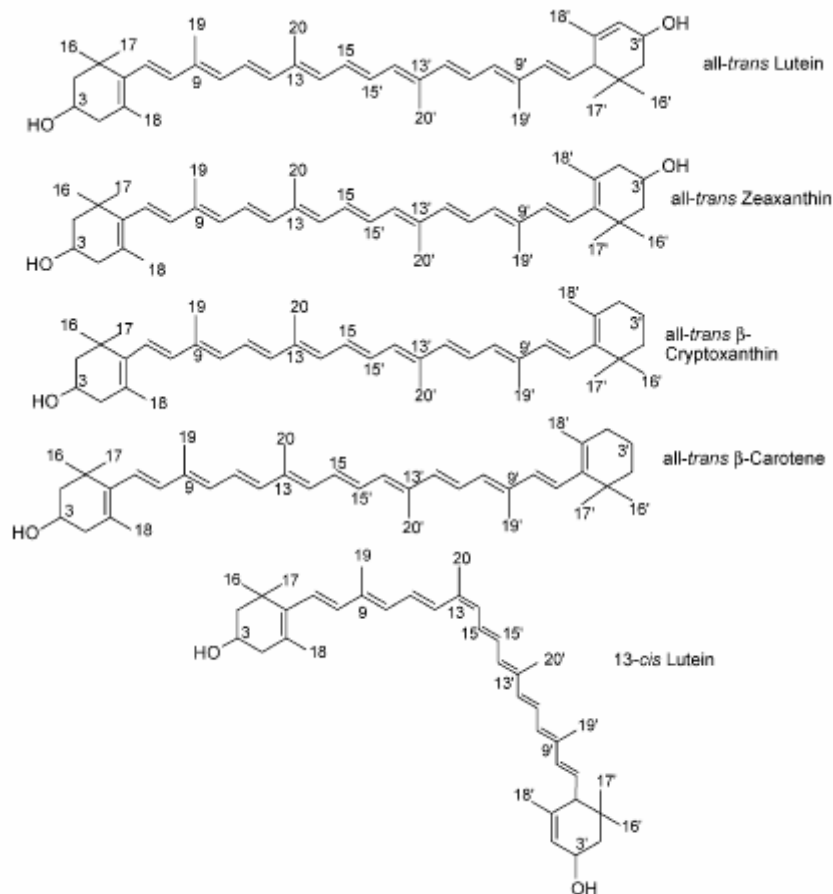


Figura 7: Estructura molecular de algunos pigmentos carotenoides (Abdel-aal *et al.*, 2007)

La función primaria del β -caroteno y la zeaxantina en las plantas es la protección contra la foto-oxidación y la disipación del exceso de energía lumínica. La luteína es el carotenoide predominante en la captación de luz, presente en los cloroplastos de la mayoría de las plantas verdes (Cunningham & Gantt, 2001).

Aunque el esquema general de la biosíntesis de carotenoides se conoce desde hace más de tres décadas, la descripción molecular solo fue posible con la identificación y clonación de los genes de las enzimas involucradas (Hirschberg, 2001). La mayoría de los genes que codifican para enzimas críticas involucradas en esta vía en plantas han sido clonados (Fraser & Bramley, 2004). También se los conoce en levaduras, bacterias y algas (Yan *et al.*, 2005). La principal vía metabólica es común para la mayoría de las especies carotenogénicas e involucra más de diez pasos (Yan *et al.*, 2005). La primera enzima involucrada es la fitoeno sintasa (PSY), que une dos moléculas de geranil-geranil pirofosfato para formar fitoeno (Cunningham & Gantt,

1998), seguida por la fitoeno desaturasa (PDS) que produce ζ -caroteno y la ζ -caroteno desaturasa (ZDS), cuyo producto es el licopeno (Albrecht *et al.*, 1995, Bartley *et al.*, 1999). El licopeno es el sustrato de dos ciclasas, la licopeno- ϵ -ciclasa (LCY ϵ) y la licopeno- β -ciclasa (LCY β), que catalizan la formación de diferentes carotenoides que, a través de subsecuentes modificaciones, dan lugar a la formación de luteína y/o carotenos (Fraser & Bramley, 2004) (**Figura 8**).

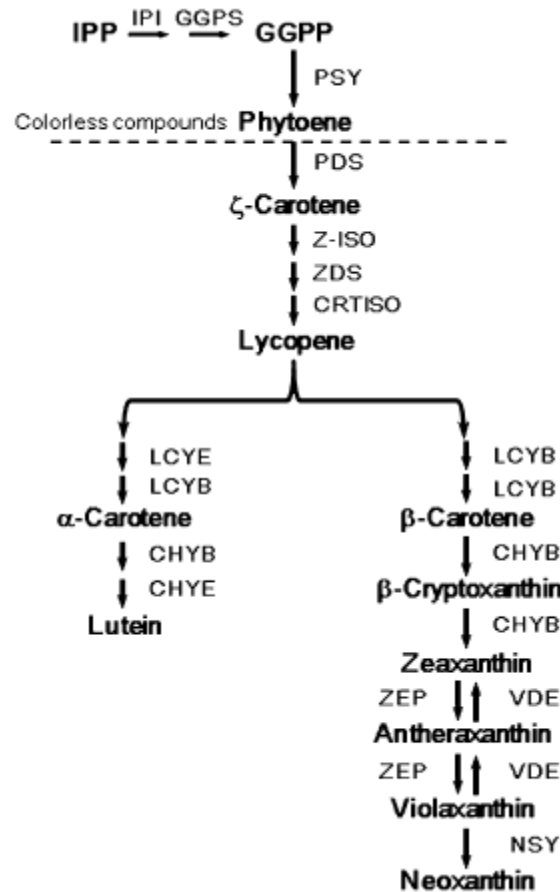


Figura 8: Esquema de la vía de biosíntesis de carotenoides en plantas. IPP, isopentenyl pyrophosphate; IPI, IPP isomerase; GGPP, geranylgeranyl pyrophosphate; GGPS, GGPP synthase; PSY, phytoene synthase; PDS, phytoene desaturase; ZDS, ζ -carotene desaturase; CRTISO, carotenoid isomerase; LCYE, lycopene e-cyclase; LCYB, lycopene b-cyclase; (Yamamizo *et al.*, 2009)

Este esquema se mantiene en todos los organismos que producen este tipo de pigmentos, con algunas modificaciones (Sun *et al.*, 1998; Arrach *et al.*, 2001; Rosati *et al.*, 2000). La enzima PSY sería el paso limitante (Lindgren *et al.*, 2003; Cunningham & Gantt, 2001; Cunningham, 2002; Naik *et al.*, 2003). Recientemente, fueron identificados en arroz (*Oryza sativa L.*), maíz (*Zea mays L.*) y trigo pan (*Triticum aestivum L.*) dos genes funcionales para esta enzima, *Psy-1* y *Psy-2* (Gallagher *et al.*, 2004). Sin embargo, sólo *Psy-1* estaría relacionado con la acumulación de

carotenoides durante la etapa de llenado de los granos. En el endosperma de maíces amarillos se han detectado mayores niveles de transcritos de *Psy-1* que en el endosperma de arroz blanco (Gallagher *et al.*, 2004).

La identificación de los genes involucrados en la síntesis de carotenoides ha posibilitado la manipulación genética de esta vía en plantas (Ye *et al.*, 2000; Dongliang *et al.*, 2007). A pesar de que se han realizado varios ensayos exitosos en la ingeniería metabólica de carotenos en plantas cultivadas, el mayor problema aún sin resolver es como incrementar el flujo de precursores metabólicos hacia la síntesis de los carotenoides, sin afectar otras vías metabólicas relacionadas (Botella-Pavia *et al.*, 2004).

5.2 Valor nutricional y efectos sobre la salud

Existe un renovado interés en el estudio de los pigmentos en plantas por razones nutricionales relacionadas con sus propiedades antioxidantes (Miller *et al.*, 1996) y su actividad pro-vitamina A (Graham & Rosser, 2000). La vitamina A es un factor esencial en procesos como la reproducción celular, el normal desarrollo del embrión y de los órganos de la visión (Zile, 1998) y su deficiencia es la mayor causa de muerte prematura en las naciones en desarrollo. Esta puede producirse a partir del β -caroteno dietario, obtenido de las frutas y vegetales (Mangels *et al.*, 1993). Otros carotenoides pro-vitamina A incluyen el α -caroteno y la criptoxantina.

Los carotenoides reducen el daño oxidativo sobre las membranas biológicas. Los simples y dobles enlaces repetidos en la cadena poliénica determinan sus propiedades antioxidantes, mientras que la presencia de grupos polares influyen su interacción con membranas celulares (Britton, 1995). Actúan secuestrando radicales peróxido que están involucrados en ciertas enfermedades humanas y en los procesos de envejecimiento (Olson & Kobayashi, 1992, Rousseau *et al.*, 1992, Van Poppel *et al.*, 1993). La luteína prevendría la degeneración de la región macular de la retina por envejecimiento, que es causa importante de ceguera irreversible en personas ancianas, y cataratas (Landrum & Bone, 2001; Olmedilla *et al.*, 2001). Otras acciones benéficas incluyen el aumento de la respuesta inmune, la inhibición de algunos cánceres (Fullmer & Shao, 2001; Hughes 2001) y la prevención de enfermedades degenerativas y cardiovasculares (Krinsky, 1994; Van den Berg *et al.*, 2000). Además, los carotenoides protegen a las células y organismos de los efectos perjudiciales de la

luz y el aire (Krinsky, 1987). Estas propiedades ayudarían también a mantener la calidad de los alimentos (Frankel, 1989).

El trigo es un alimento humano básico que aporta cantidades significativas de proteína y carbohidratos dietarios, y es también un recurso valioso de compuestos antioxidantes (Andlauer & Furst, 1998; Baublis *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2000). La concentración de carotenoides en trigo pan es baja (desde 0,1 a 2,4 mg/g), pero es más abundante en trigo candeal (1,5 a 4,0 mg/g), donde el color amarillo de la sémola y la pasta es percibido como un carácter de calidad (Hidalgo *et al.*, 2006). Por lo tanto, un aumento en la cantidad de estos compuestos en los granos de trigo aumentaría el valor nutricional de sus productos. Como ejemplo, puede citarse la incorporación de tres genes de la síntesis de β -caroteno al arroz, por transgénesis, dando origen al llamado arroz dorado que cuenta con mejores propiedades nutricionales (Ye *et al.*, 2000).

5.3 Distribución en el grano

Aunque el embrión es el lugar de mayor concentración de carotenoides en el grano de trigo, éste sólo comprende el 3-5% de la harina integral (Panfili *et al.*, 2004). El endosperma almidonoso posee una concentración menor de carotenoides pero representa el 80% del grano (Chen & Geddes, 1945; Kruger & Reed, 1988). En consecuencia, la concentración de carotenoides en el endosperma posee la mayor influencia sobre el valor total.

El tipo de pigmento también difiere en los distintos sectores del grano. El α - y β -caroteno y la zeaxantina están principalmente localizados en el embrión mientras la luteína, el pigmento más abundante, está igualmente distribuido a través del grano (Panfili *et al.*, 2004).

En los países menos desarrollados, la molienda a mano reemplaza a la molienda industrial y esto produce que partes del embrión se incluyan en la harina, incrementando la concentración de carotenoides. Sin embargo, el contenido de aceite de este tejido acelera el enranciamiento e incrementa el contenido de enzimas oxidantes, reduciendo el tiempo potencial de almacenamiento de la harina (Humphries *et al.*, 2003).

6. Genética del carácter

El color de los trigos cultivados es una característica cuantitativa (Moss, 1967) y, por lo tanto, difícil de manipular en los programas de mejoramiento debido a la influencia ambiental que sufre. Existe una gran diversidad genética para el color de la harina, donde las variaciones en el brillo se deben principalmente a factores ambientales, mientras que el amarillamiento es afectado predominantemente por el genotipo (Irvine & Anderson, 1953; <http://www.ag.ndsu.nodak.edu>)

El número y tipo de relación entre los genes involucrados en el CPC no ha sido completamente dilucidado. Uno de los primeros estudios encontró en algunas cruzas la participación de más de tres genes (Braaten *et al.*, 1962). Otros, informaron la presencia de uno o dos pares de genes mayores involucrados en la expresión del CPC en la harina (Bhatt & McMaster, 1976). Más recientemente, Clarke *et al.* (2006) informaron que el número de genes involucrados en el CPC varió entre 3 y 27, según los progenitores usados en los cruzamientos y los ambientes en que se llevó a cabo el análisis. Santra *et al.* (2005) concluyeron que la herencia del contenido de β -caroteno está gobernada por al menos dos genes mayores y dos o tres genes menores con efectos modificatorios, observándose interacciones epistáticas aditiva x aditiva, aditiva x dominante y dominante x dominante en una de las cruzas. Sin embargo, otros autores no encontraron evidencias de efectos génicos epistáticos (Lee *et al.*, 1976; Johnston *et al.*, 1983). Todos estos estudios sugieren que la concentración de pigmentos es controlada en forma poligénica.

Los valores de heredabilidad informados para el CPC y el color amarillo (Minolta CIE b*) son moderados a altos (Braaten *et al.*, 1962; Bhatt & McMaster, 1976; Johnston *et al.*, 1983; Nachit *et al.*, 1995; Parker *et al.*, 1998; Mares & Campbell, 2001; Elouafi *et al.*, 2001; Santra *et al.*, 2005; Clarke *et al.*, 2006). Se han hallado evidencias de interacción genotipo x ambiente (Braaten *et al.*, 1962; Lee *et al.*, 1976; Johnston *et al.*, 1983). Aunque existe una leve preponderancia de efectos génicos aditivos (Elouafi *et al.*, 2001; Clarke *et al.*, 2006), se observaron también efectos no aditivos sobre la concentración de pigmentos (Lee *et al.*, 1976). Algunos estudios sugieren la presencia de genes mayores sobre los cromosomas 2A y 2B (Joppa & Williams, 1988). Por otro lado, un bajo CPC fue heredado como carácter dominante en numerosas cruzas (Braaten *et al.*, 1962; Bhatt & McMaster, 1976; Matuz & Beke, 1996; Santra *et al.*, 2005).

El análisis de la distribución de frecuencias para color amarillo (CIE b*) y el CPC en las cruzas, facilita la identificación de genotipos destacados y es de utilidad en la selección fenotípica. La herencia del CPC y el color amarillo demostró ser transgresiva bidireccional en trigo candeal (Bhatt & McMaster, 1976; Johnston *et al.*, 1983; Clarke *et al.*, 2006) y trigo pan (Parker *et al.*, 1998; Mares & Campbell, 2001). También se observó herencia transgresiva negativa en ambientes estresantes (Elouafi *et al.*, 2001; Santra *et al.*, 2005; Clarke *et al.*, 2006). La segregación transgresiva se explica por la presencia de genes/QTL de efecto antagónico en ambos parentales. Se observó que el número de individuos transgresivos varía entre ambientes (Clarke *et al.*, 2006). En las cruzas donde se analizó un número elevado de descendientes se observó mayor cantidad de individuos transgresivos que en aquellas cruzas donde el número de individuos fue pequeño. Sin embargo, no está claro que estas observaciones sean debidas al tamaño de las poblaciones o a la genética de las cruzas.

Según informaron Santra *et al.* (2005), la distribución de frecuencias para el CPC en poblaciones F₂ no fue normal y estuvo orientada hacia el padre con menor valor para el carácter. Por otro lado, Clarke *et al.* (2006) identificaron cruzas que exhibieron una distribución normal. En trigo hexaploide, se encontró que la distribución del color de la harina (CIE b*) en una población de RILs fue bimodal en un ensayo y normal otros dos (Parker *et al.*, 1998). Esto indicaría que el comportamiento de estos dos caracteres depende de las cruzas y los ambientes evaluados, por lo que será necesario profundizar su estudio para lograr comprender su complejidad.

7. Efectos del ambiente

El ambiente de cultivo afecta en gran medida el CPC, los factores involucrados son muchos y por ello, algunas publicaciones son contradictorias. Se han observado mayores concentraciones en el grano en estaciones frías con alta humedad que en condiciones cálidas y secas (Mangels, 1932). También se han obtenido contenidos más elevados de pigmentos en cultivos bajo riego que en cultivos de secano (Güler, 2003). El estrés ambiental, causado por déficit hídrico o altas temperaturas durante diferentes etapas del llenado del grano podría afectar la concentración y composición de los pigmentos. Sin embargo, en otros estudios se observó que la concentración de pigmentos durante el período de llenado del grano tiene una correlación positiva débil con la temperatura media, y negativa con la precipitación (Clarke *et al.*, 2006). Las heladas ocurridas antes de la etapa de madurez fisiológica afectarían el contenido de

pigmentos, probablemente debido a una menor actividad de las enzimas que intervienen en la síntesis de los mismos (Clarke *et al.*, 2006).

En general, existe una correlación negativa entre el peso hectolítrico (PH) y el peso de mil granos (PMG) con la concentración de pigmentos (Whiteside *et al.*, 1934; Markley, 1937; Worzella, 1942; Álvarez *et al.*, 1999), probablemente, debido a un efecto de dilución por el incremento de otros constituyentes del grano, como el almidón (Clarke *et al.*, 2006). De hecho, la reducción en la concentración de pigmentos ha sido asociada a un locus ubicado en el cromosoma 5A, que está relacionado con el tamaño de los granos. Sin embargo, la pequeña correlación negativa de este estudio indica que otros factores, además del PH y PMG, también afectarían la concentración de pigmentos (Hessler *et al.*, 2002). Ambientes altamente productivos incrementan el tamaño de los granos, lo cual afectaría indirectamente el contenido de carotenoides.

La correlación entre localidades dentro del mismo año o en las mismas localidades pero en diferentes años, ha demostrado que el ambiente afecta diferencialmente la concentración de pigmentos (Clarke *et al.*, 2006). Sin embargo, este mismo estudio informó que la concentración relativa de pigmentos entre los genotipos y para las diferentes cruzas analizadas fue similar en cada ambiente, por lo que no existiría interacción cruzada genotipo x ambiente. Por el contrario, Lee *et al.* (1976) si hallaron interacción cruzada para la concentración de pigmentos a través de ambientes.

8. Pérdida del color por degradación enzimática de pigmentos

Un elevado contenido de carotenoides en la sémola no garantiza un buen color de la pasta. Durante el procesamiento se produce la pérdida de pigmentos y, por consiguiente, del color amarillo de la pasta, debido a la acción de enzimas oxidativas como las lipoxigenasas (Irvine & Winkler, 1950; Irvine & Anderson, 1953), peroxidasas y polifenol oxidasas (Kobrehel *et al.*, 1972, 1974; Taha & Sagi, 1987). Otros factores relacionados con la pérdida de color son el contenido de proteína, que produce amarronamiento de la sémola (Walsh & Gilles, 1971; Matsuo *et al.*, 1972; Dexter & Matsuo, 1977; Taha & Sagi, 1986) y el contenido de cenizas (Kobrehel *et al.*, 1974; Taha & Sagi, 1987), aunque su efecto es secundario (Borrelli *et al.*, 1999).

Se ha demostrado que existe una distribución desigual en el grano de las enzimas oxidativas que afectan el color de la sémola (Rani *et al.*, 2001). Los procesos tecnológicos de eliminación del salvado tienen un gran impacto sobre las actividades

LPX, POD y PPO, principalmente localizadas en las capas externas del grano (Borrelli *et al.*, 2008).

8.1 Lipoxigenasas

En las plantas, la vía de lipoxigenasas es uno de los cuatro sistemas enzimáticos de modificación oxidativa de ácidos grasos (Wu *et al.*, 1997). Están involucradas en la síntesis de varias moléculas reguladoras tales como ácido abscísico, ácido jasmónico y ácido traumático (Leach & Mares, 2003). Estas enzimas catalizan la adición de moléculas de oxígeno a ácidos grasos poliinsaturados que contienen el sistema *cis*, *cis*-1,4 pentadieno, produciendo hidroperóxidos conjugados *cis*, *trans*-dieno. Los lípidos de los cereales son altamente insaturados y contienen ácido linoleico, ácido graso esencial usado en la producción de prostaglandinas (Hessler *et al.*, 2002). Los radicales generados a partir de los ácidos grasos en los pasos intermedios de la peroxidación son responsables de la degradación oxidativa de pigmentos tales como β -caroteno, xantofilas y clorofilas (Siedow, 1991).

Existen diferencias significativas en la actividad LPX entre diferentes especies de trigo. El trigo pan posee una actividad 2,5 veces mayor que el trigo candeal, la que a su vez es tres veces mayor que la observada en el trigo Einkorn (*T. monococcum ssp. monococcum L.*) (Leenhardt *et al.*, 2006). La actividad LPX en la sémola de trigo candeal se relaciona con la pérdida del contenido de β -caroteno en los productos de pasta (Borrelli *et al.*, 1999). Esta relación también se observó en trigo pan y einkorn (Leenhardt *et al.*, 2006). El procesado de la pasta es la principal fase responsable de la pérdida de pigmentos, registrándose disminuciones del 16,3% en sémola, mientras que un 7,9% se pierde inicialmente en la molienda. Una alta actividad LPX también puede afectar negativamente el aroma de los productos finales. Los hidroperóxidos producidos durante el amasado se transforman en compuestos volátiles, que alteran el sabor y el olor de la pasta (Siedow, 1991).

Muchos compuestos que actúan como antioxidantes fisiológicos son capaces de inhibir la actividad LPX (Lomniski *et al.*, 1993). En sémola de trigo candeal el β -caroteno (Trono *et al.*, 1999), α -tocopherol y el L-ascorbato (McDonald, 1979; Frankel, 1989; Pastore *et al.*, 2000) inhiben la hidroperoxidación del ácido linoleico y el blanqueo del β -caroteno. Adicionalmente, la pérdida de carotenoides se relaciona de manera inversa con su contenido inicial en sémola (Trono *et al.*, 1999). También en

soja el β -caroteno evita la formación de hidroperóxidos del ácido linoleico (Serpen & Gökmen, 2006; 2007). Este pigmento interrumpe la cadena de reacción en la etapa de comienzo de la hidroxidación del ácido linoleico, manteniendo a la enzima en su forma inactiva. Por lo tanto, un incremento de la cantidad de dichos antioxidantes, por agregado externo o a través de estrategias de mejoramiento, podría ser útil para reducir la pérdida de pigmentos que se produce durante el procesado de la pasta y mejorar así su calidad (Trono *et al.*, 1999). También se produce una degradación de carotenoides en las etapas de secado de la pasta, evitable a través de modificaciones en los procesos tecnológicos de secado (Taha & Sagi, 1987; Borrelli *et al.*, 2003).

Tres isoenzimas de LPX han sido aisladas y caracterizadas bioquímicamente en trigo, LPX-1, LPX-2 y LPX-3. Los primeros estudios identificaron a las isoenzimas LPX-2 y LPX-3, activas al pH de la masa (pH \approx 6,0), como las responsables primarias de la pérdida de carotenoides durante el procesado de la pasta, mientras que LPX-1 presenta actividad de blanqueo a pH alcalino (McDonald, 1979; Hsieh & McDonald, 1984). Utilizando líneas nuli-tetrasómicas, las mismas fueron asignadas a los cromosomas 4A (*Lpx-A1*), 4B (*Lpx-B1*), 4D (*Lpx-D1*), 5A (*Lpx-A2*), 5B (*Lpx-B2*), y 5D (*Lpx-D2*) (Hart & Langston, 1977). Estudios posteriores de mapeo en trigo tetraploide (Nachit *et al.*, 2001) y hexaploide (Li *et al.*, 1999) confirmaron estas localizaciones y demostraron que los genes *Lpx* están localizados en regiones colineares de trigo y cebada, sugiriendo que son ortólogos. En cebada, la isoenzima de lipoxigenasa LOX-1 es codificada por el gen *Lox-A*, localizado en el brazo cromosómico 4HS, mientras que LOX-2 es codificada por el gen *Lox-C* mapeado sobre el brazo cromosómico 5HL y un tercer cDNA de LOX, *Lox-B*, cuyo producto no fue identificado, mapeó a 1-cM del locus *Lox-A* (van Mechelen *et al.*, 1999). Los loci *Lpx-1*, *Lpx-2* y *Lpx-3* son ortólogos a los genes *Lox-A*, *Lox C* y *Lox B* de cebada, respectivamente (Nachit *et al.*, 2001; Hessler *et al.*, 2002, Carrera *et al.*, 2007).

En granos en desarrollo de cebada, se encontró un mayor nivel de transcritos de *Lox-A* y *Lox-C* en relación a *Lox-B* que presenta mayor actividad en granos germinados (Schmitt & van Mechelen, 1997; van Mechelen *et al.*, 1999). En trigo candeal, el nivel de mRNA de *Lpx-1* mostró una correlación positiva con la actividad de LPX a pH alcalino y negativa con el contenido de β -caroteno y el CIE b* (Manna *et al.*, 1998). En cultivares que presentan una alta actividad LPX, la expresión de mRNA de *Lpx-1* y *Lpx-3* se mantiene prácticamente invariable durante el desarrollo del grano. Por otro lado, la expresión de *Lpx-1* es nula en los primeros estadios y la de *Lpx-3* disminuye en los estadios tardíos del grano, en aquellos cultivares con baja actividad LPX. No se

observaron diferencias de expresión de *Lpx-2* entre cultivares, expresándose en todos los casos, de forma temprana en el desarrollo del grano (De Simone *et al.*, 2008).

La actividad LPX fue asociada al locus *Lpx-1* ubicado en el brazo corto del cromosoma 4B, no observándose correlación entre el color de harina y actividad lipoxigenasa atribuible a dicho locus (Hessler *et al.*, 2002). Un estudio posterior realizado en nuestro laboratorio utilizando una población de RILs (*Recombinat Inbreed Lines – RILs*) obtenida de la cruce Kofa/UC1113, permitió establecer que el locus *Lpx-B1* se encuentra duplicado en UC1113 (*Lpx-B1.1* y *Lpx-B1.2*). *Lpx-B1.1* se encuentra deletado en Kofa, variedad que presenta mejor color de sémola. La actividad de LPX en las RILs que portaban el alelo deletado de Kofa fue 4,5 veces menor que la observada en las que portaban el alelo de UC1113, asociándose la delección con una menor actividad LPX observada en Kofa (Carrera *et al.*, 2007; Picca *et al.*, 2008). Este mismo estudio demostró que las líneas portadoras del alelo de UC1113 del gen *Lpx-A3* mostraron mayor color de sémola que aquellas que portaban el alelo de Kofa. La combinación de alelos positivos *Lpx-A3-UC1113/Lpx-B1.1-Kofa* se asoció con un incremento relativo del 10% en los valores de CIE b* en pasta seca, respecto de la combinación *Lpx-A3-Kofa/Lpx-B1.1-UC1113*. Esto demostró que las LPX disminuyen el color amarillo de la sémola y pasta (Carrera *et al.*, 2007).

En trigo pan, la actividad de LOX fue asociada al brazo corto del cromosoma 4B (*QLpx.ipk-4B*) y, en menor medida, al cromosoma 7B (*QLpx.ipk-7B*) en una población de RILs ITMI, derivadas de la cruce Opata-85 x línea sintética W7984 (Pshenichnikova *et al.*, 2008)

8.2 Peroxidasas

Las peroxidasas, junto con las LPX, están involucradas en la degradación de pigmentos, especialmente β -caroteno y luteína (Iori *et al.*, 1995; Fraignier *et al.*, 2000). Las PODs oxidan un gran número de compuestos a expensas del peróxido de hidrógeno (Dunford & Stillman, 1976). Están ampliamente distribuidas en plantas superiores e involucradas en muchas funciones fisiológicas (Espelie *et al.*, 1986). En los alimentos, su actividad causa un deterioro del sabor, textura y valor nutricional (Burnette, 1977), además del amarronamiento de la pasta (Fraignier *et al.*, 2000). En trigo candeal existen grandes diferencias varietales respecto de la composición y el nivel de actividad POD (Fraignier *et al.*, 2000).

La actividad POD es mayor en la fracción de salvado que en la harina del trigo pan y es muy estable durante las fases de extrusión y amasado de la pasta (Icard-Vernière & Feillet, 1999; Borrelli *et al.*, 2003). Adicionalmente, la actividad POD de trigo candeal se incrementa con el avance en el proceso de molienda, desde 1° al 3° quebrado de la sémola hasta la etapa de salvado fino y mediano. Estos datos sugieren que la capa de aleurona es particularmente rica en peroxidasas y muchas otras enzimas (Feillet *et al.*, 2000; Borrelli *et al.*, 2008). No está completamente esclarecida la participación de las POD en el color final de la pasta, fundamentalmente debido a que durante el procesado el contenido de peróxido de hidrógeno es escaso (Delcros *et al.*, 1998; Icard-Verniere & Feillet, 1999). No obstante esto, las PODs podrían tener una interesante participación en la expresión de color, al ser capaces de oxidar los pigmentos carotenoides (Borrelli *et al.*, 2003; 2008).

8.3 Polifenol oxidasas

Las polifenol oxidasas (PPO) catalizan la oxidación de compuestos fenólicos en presencia de oxígeno molecular. La actividad PPO del trigo candeal es más baja que la de otros tipos de trigo. Las enzimas PPO se encuentran activas durante el procesamiento de la pasta (Feillet *et al.*, 2000) y su actividad se incrementa con el aumento de contaminación con salvado en la molienda. Se les adjudica un rol en el amarronamiento de la pasta, particularmente cuando la sémola se encuentra contaminada con las regiones más externas del grano (Feillet *et al.*, 2000). Numerosos estudios indican que elevados niveles de PPO en el endosperma de trigo pan tienen efectos perjudiciales, causando decoloración de chapatis y noodles (Mares & Panozzo, 1999).

La actividad PPO es afectada tanto por el genotipo como por el ambiente. El análisis de este carácter reveló ser poligénica en dos poblaciones de RILs de trigo pan y monogénica en una tercera población (Demeke *et al.*, 2001). En trigo pan se localizó un gen para PPO sobre el grupo cromosómico 2 (Udall, 1997; Jimenez & Dubcovsky, 1999; Anderson & Morris, 2001). Posteriormente se sugirió la presencia de al menos 6 genes *Ppo* (Jukanti *et al.*, 2004). Dos genes *Ppo*, localizados sobre los cromosomas 2A y 2D fueron identificados y clonados y sus variantes alélicas fueron caracterizadas *in silico* y validadas experimentalmente. Un gen *Ppo* fue mapeado sobre el cromosoma 2DL (He *et al.*, 2007). Otros estudios sugieren la existencia de al menos cinco genes *Ppo* asociados al grano en trigo hexaploide, tres en el candeal (cv. Langdon) y tres en *T. monococcum* (cv. DV92) (Massa *et al.*, 2007). La homología de secuencias de los

genes *Ppo* ubicados sobre los cromosomas 2A y 2D fue más elevada (Massa *et al.*, 2007). Los niveles de transcritos *Ppo* en granos en desarrollo de varios cultivares de trigo pan fueron positivamente correlacionados con actividad PPO de granos maduros (Anderson *et al.*, 2006; Jukanti *et al.*, 2006).

Existen marcadores basados en información de secuencias (STS), asociados a los genes *Ppo* (cromosomas 2A y 2D) que se han utilizado con éxito en programas de mejoramiento asistido de trigo para noodles (Sun *et al.*, 2005; He *et al.*, 2007). En trigo tetraploide, se mapeo un gen en el brazo largo del cromosoma 2A que confiere elevada actividad PPO (Simeone *et al.*, 2002; Watanabe *et al.*, 2006).

9. Introgresión de nuevos genes

Las preferencias de los consumidores en cuanto a color de la pasta han llevado a los investigadores a buscar e identificar nuevos genes capaces de incrementar el CPC o proporcionar bajos niveles de actividad de las enzimas que los degradan. Los antecesores del trigo y las especies relacionadas de la tribu *Triticeae* constituyen una interesante fuente de genes para mejorar el CPC en trigo candeal.

La especie diploide *Hordeum chilense* Roem (2n=2x=14), extremadamente polimórfica, a nivel morfológico y bioquímico, posee un gran potencial para el mejoramiento de cereales cultivados por su alta tasa de hibridación con otros miembros de la tribu *Triticeae* (Martín *et al.*, 2000). Esta especie es nativa de América del Sur y encontrada solo en Chile y Argentina. También es una fuente de genes de resistencia a estreses bióticos y abióticos y de calidad para el mejoramiento de trigo. El alto CPC depende de genes localizados sobre el brazo alfa del cromosoma 7H^{ch}, de especial interés para ser transferidos al trigo candeal.

Los tritordeos son líneas amfiploides derivadas de la cruce entre *H. chilense* Roem. *et* *Schult.* y *T. turgidum* Desf. o *T. aestivum* (Martín & Sanchez-Monge Laguna, 1982). La línea HT621, de origen reciente y que deriva de una cruce múltiple, posee elevados niveles de carotenoides en el grano. Esta línea duplica los valores promedio encontrados en trigo candeal, con una media de 19 mg/kg (Ballesteros *et al.*, 2005), demostrando su alto potencial para el mejoramiento de este cereal a través de cruces interespecíficas.

Una estrategia que posibilitará la transferencia del brazo alfa del cromosoma 7 de *H. chilense* al trigo tetraploide es el desarrollo de un marcador CAP (basado en amplificación y corte por restricción) diagnóstico para la enzima PSY1, que permite distinguir el gen de *H. chilense* del de trigo candeal (Atienza *et al.*, 2007a, b). Es posible que *Psy1* no sea el único gen responsable de las diferencias de color entre las distintas accesiones de *H. chilense*. Sin embargo, la co-localización sobre los cromosomas 7A/7B/7Hch de *Psy1* y los QTL para contenido de pigmento amarillo, sugieren que *Psy1* jugaría un rol importante en el contenido de carotenoides en semillas de tritordeos.

Otra especie emparentada de reciente interés ha sido el trigo emmer (*Triticum dicoccon* Schrank.), con altos niveles de variabilidad, siendo útil para ampliar la base genética de los programas de mejoramiento de trigo tetraploide a través de cruza interespecificas emmer x trigo candeal (Terzi *et al.*, 2007). Debe considerarse, sin embargo que poblaciones naturales evaluadas en Italia mostraron algunas fallas de calidad a diferentes niveles (agricultores, molienda e industria de la pasta) (Galterio *et al.*, 1994). No obstante ello, luego de caracterizar extensivamente la variación de subunidades de glutenina de alto peso molecular (HMW) de 205 accesiones de emmer cultivado, Li *et al.* (2006) concluyeron que este es un recurso genético de gran valor para el mejoramiento de la calidad, aun en trigo hexaploide.

Lophopyrum ponticum es otra fuente de genes asociados a pigmentos carotenoides de utilidad en los programas de mejoramiento de trigo candeal. El segmento 7D.7E#1 de esta especie fue transferido a su homeólogo de trigo. Adicionalmente, el cromosoma 7E de *L. ponticum* porta un gen de resistencia a roya de la hoja (*Lr19*) ligado al gen Y de pigmento amarillo, que otorga elevados niveles de pigmentos. Todas las líneas que portan el segmento terminal 7EL mostraron incrementos relativos de pigmentos amarillos (52-56%) con respecto a líneas hermanas carentes del mismo. Análisis de los pigmentos carotenoides, a través de HPLC, demostraron que la presencia del segmento distal 7EL que porta el gen Y no causa la aparición de nuevos pigmentos pero si un incremento de la abundancia de los pigmentos encontrados en trigo candeal. El gen Y codificaría una enzima más eficiente en las etapas tempranas de la vía de biosíntesis de los carotenoides o un factor regulador que afecta varios pasos de la misma (Zhang *et al.*, 2005). Las nuevas líneas de trigo candeal que poseen el segmento recombinante 7EL serán útiles como parentales en los programas de mejoramiento para incrementar el color amarillo.

Einkorn es un ancestro diploide del trigo que contiene elevados niveles de proteína y pigmentos amarillos (D'Egidio *et al.*, 1993; Borghi *et al.*, 1996; Corbellini *et al.*, 1999; Abdel-Aal *et al.*, 2002). Antes de ser remplazado por los trigos poliploides más productivos, fue fundamental en la extensión de la agricultura y como recurso alimenticio importante por cientos de años (Nesbitt & Samuel, 1996). Turquía es el centro de origen del einkorn, pero actualmente se lo encuentra en muchos países del sur y sureste europeo (Abdel-Aal *et al.*, 2002). Un estudio comparativo del contenido de carotenoides en diferentes especies del género *Triticum* demostró que Einkorn posee el más alto nivel de luteína, con pequeñas cantidades de zeaxantina, isómeros de cis-luteína y β -caroteno (Abdel-Aal *et al.*, 2007), seguido por Khorasan (*T. turgidum ssp. turanicum*), Kamut (*T. turgidum ssp. turanicum*), trigo candeal, Emmer (*Triticum turgidum ssp. dicoccum*), mientras que el trigo pan presentó el menor contenido. Hidalgo *et al.* (2006) informaron el contenido de carotenoides de accesiones de einkorn. El CPC varió entre 5,33 y 13,64 mg/kg, con una media de 8,41 mg/kg, siendo la luteína el componente más común (91% en promedio), pero varios einkorns tuvieron más de 25–33% de α + β -carotenos. Einkorn también, puede ser un interesante recurso de resistencia a enfermedades y es una excelente fuente de pigmentos amarillos para trigo candeal.

10. Marcadores moleculares

Un marcador puede ser definido como cualquier característica heredable según las leyes de Mendel en una población segregante. Los primeros marcadores utilizados en estudios de genética y mejoramiento fueron los marcadores morfológicos, siendo en general, de fácil identificación visual. La construcción de los primeros mapas genéticos fue realizada utilizando esta clase de marcadores, aunque fueron relegados por su bajo número. Otra clase de marcadores son los marcadores bioquímicos o isoenzimáticos, que existen en mayor número. Las isoenzimas son un grupo de múltiples formas moleculares de la misma enzima presentes en una especie, como resultado de más de un gen codificando para cada una de las enzimas. El uso de marcadores isoenzimáticos se difundió ampliamente hace algunos años, pero con la aparición de los marcadores de ADN (o moleculares) su uso pasó a un segundo plano.

La detección de polimorfismos genéticos es usada para caracterizar y comparar secuencias de ADN de cualquier organismo vivo (Winter & Kahl, 1995; Jones *et al.*, 1997). El nivel de polimorfismos de estos marcadores es generalmente alto para cada locus (secuencia parcial de ADN con una ubicación específica dentro de un

cromosoma) y sus alelos pueden ser estudiados en poblaciones segregantes derivadas de cruzamientos específicos, lo cual posibilita la construcción de mapas genéticos (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Estos polimorfismos segregan la mayoría de las veces, de manera mendeliana, por lo que los principios básicos de recombinación y ligamiento pueden ser usados para construir mapas genéticos (Varshney *et al.*, 2004). Los marcadores moleculares son selectivamente neutros porque están usualmente localizados en regiones no codificantes de ADN y son muy útiles para revelar diferencias entre individuos de la misma o diferentes especies (marcadores polimórficos). Los marcadores polimórficos pueden separarse en dominantes o codominantes, pudiendo estos últimos discriminar entre homocigotos y heterocigotos, respectivamente. Los marcadores codominantes muestran los alelos de dos parentales como diferencias en tamaño de fragmento de ADN, pudiendo identificarse individuos heterocigotos, mientras que los dominantes muestran los alelos de dos parentales como presencia y ausencia de fragmento de ADN, no pudiendo diferenciarse individuos heterocigotos. Las diferentes formas (secuencias) de un marcador de ADN son llamadas “alelos” (Collard *et al.*, 2005).

En las últimas dos décadas la disponibilidad de marcadores de ADN creció exponencialmente (**Tabla 6**) de la mano del desarrollo de las técnicas de biología molecular. En la actualidad existen varios tipos de marcadores, como los basados en (1) *hibridación*, tales como los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (*restriction fragment length polymorphisms* - RFLPs); (2) marcadores de PCR (*polymerase chain reaction*) generados por la amplificación en cadena de la ADN polimerasa, que incluyen los polimorfismos de ADN amplificado al azar (*random amplified polymorphic DNAs* - RAPDs), los polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (*amplified fragment length polymorphisms* - AFLPs); y los microsatélites o secuencias simples repetidas (*simple sequence repeats* - SSRs); (3) retrotransposones en plantas; (4) los polimorfismos de un nucleótido (*single nucleotide polymorphisms* - SNPs), (5) marcadores derivados de micro arreglos (*Diversity array technology* - DArT) y otros (Landjeva *et al.*, 2007). DArT es una modificación del procedimiento de AFLP que utiliza una plataforma de micro arreglos (Jaccoud *et al.*, 2001) que incrementa enormemente la detección de polimorfismos. En un marcador DArT, fragmentos de ADN de una muestra son mezclados al azar y usados para detectar polimorfismos en fragmentos de otras muestras por hibridación diferencial (Wenzl *et al.*, 2004).

Todos estos marcadores moleculares detectan polimorfismos de ADN (mutaciones) a nivel de secuencia (SNPs), y/o tamaño del ADN (inserciones y/o deleciones), los

cuales son muy difundidos y abundantes en todos los organismos vivos.

Tabla 6: Clases de marcadores moleculares usados en vegetales

Nombre del marcador	Tipo de marcador	Cantidad de ADN requerido	Nivel de polimorfismos	Uso de Enzimas de restricción	Cebadores (Primers)	Producto	Visualización
RFLP	Codominante	Alta	Medio	Si	No	Fragmentos de distinta longitud	Electroforesis e hibridación de fragmentos con secuencias homologas marcadas radiactivamente
RAPD	Dominante	Baja	Alto	No	Único, corto (10 bases) y aleatorio	Fragmentos de ADN al azar	Electroforesis en geles de agarosa
AFLP	Dominante	Media	Alto	SI	Adaptadores + par de primers específicos	Subpoblación de fragmentos de distinta longitud	Electroforesis en geles de poliacrilamida / capilaridad
SSR	Codominante	Baja	Alto	No	Par de primers específicos (20-30 bases)	Secuencias repetidas en tandem de diferente longitud	Electroforesis en geles de poliacrilamida / capilaridad
STS	Codominante	Baja	Alto	No	Alelo específicos basados en secuencias	Fragmentos de distinta longitud	Electroforesis en geles de agarosa
SNP	Codominante	Baja	Alto	No	Alelo específicos	Hebras de cadena simple	Electroforesis en geles de poliacrilamida

RFLPs: *restriction fragment length polymorphisms*, RAPD: *random amplified polymorphic DNAs*, AFLPs: *amplified fragment length polymorphisms*, SSRs: *simple sequence repeats*, STS: *sequence tagged sites* SNPs: *single nucleotide polymorphisms*.

Los marcadores moleculares que han sido más utilizados en la construcción de mapas genéticos en cereales pueden ser clasificados en tres grupos, de primera generación (RFLPs y RAPDs), de segunda generación (SSRs y AFLPs) y de tercera generación (SNPs, marcadores InDels (inserción-delección) y marcadores derivados de micro arreglos - DArT®). Además de los nombrados, existen otras clases de marcadores moleculares derivados de los RFLPs, SSRs, AFLPs, como los sitios marcados por secuencias (*sequence tagged sites* - STS), los ISSRs (*inter simple sequence repeats*) y los SAMPL (*selective amplification of microsatellite polymorphic loci*), que también son utilizados con frecuencia. Más recientemente se han desarrollado marcadores basados en secuencias expresadas (*expressed sequence tag* - EST) (EST-SSRs e EST-SNPs), en los principales cereales (Sreenivasulu *et al.*, 2002).

Las diferentes clases de marcadores han sido utilizadas para la construcción de mapas genéticos de alta definición, y actualmente los esfuerzos se concentran en la construcción de mapas de SNP (Zhang *et al.*, 2008), caracterizados por ser los marcadores más abundantes del genoma y de sencilla implementación por métodos de genotipado automático, y marcadores del tipo DArT (Wenzl *et al.*, 2006; Semagn *et al.*, 2006; Hearnden *et al.*, 2007; Crossa *et al.*, 2007; Mantovani *et al.*, 2008; Peleg *et al.*, 2008), que son generados bajo licencia por Triticarte Pty. Ltd. (Canberra, Australia; <http://www.triticarte.com.au>).

11. Introducción al mapeo de QTL

11.1 Caracteres cuantitativos

Muchas de las características de importancia agronómica presentan una distribución continua de valores, esto es, dentro de una población determinada no existe una clara distinción en clases fenotípicas. La base genética de estas características fue esclarecida poco después del redescubrimiento de las leyes de Mendel, cuando Yule en 1902 propuso que esa variación era la consecuencia de la acción aditiva de muchos genes. Entre éstos se suele identificar a genes de efectos pronunciados, denominados genes mayores y genes con pequeños efectos que fueron inicialmente denominados poligenes. Sin embargo, la distinción entre poligenes y *genes mayores* (también llamados oligogenes) no resultó satisfactoria ya que el efecto de un gen depende del entorno genético, el ambiente y del alelo presente en el locus del gen. Geldermann (1975) propuso denominar a estos loci controladores de características cuantitativas como QTLs (QTLs por *Quantitative Traits Loci*). Esta nomenclatura resultó más adecuada ya que no asocia al gen con la magnitud de su efecto. Caracteres importantes como el rendimiento, factores de calidad y algunas formas de resistencia a enfermedades son caracteres cuantitativos (Collard *et al.*, 2005).

Si bien la genética cuantitativa ha propuesto y utilizado modelos biométricos con gran éxito a lo largo de la historia del mejoramiento de plantas y animales, estos modelos se basan en la estimación de los efectos genéticos y no tanto en el número de genes involucrados. Utilizando marcadores moleculares ligados a los QTLs, es posible estimar el genotipo, los efectos genéticos y tener una aproximación menos sesgada del número de genes/QTLs determinantes del carácter. La metodología de marcadores moleculares es la base de los estudios de mapeo de genes/QTL utilizando marcadores moleculares.

11.2 Poblaciones de mapeo

Los marcadores moleculares son utilizados para construir mapas genéticos sobre una población de mapeo. Pueden obtenerse muchas clases diferentes de poblaciones de mapeo a partir de cruzas que involucren a dos padres divergentes. Una población de mapeo o segregante es una mezcla de genotipos parentales y recombinantes. Una población F_2 (filial 2) o una población retrocruzada pueden obtenerse a partir de plantas F_1 a través de autopolinización o retrocruzamiento con uno de los padres. Por otro lado, las denominadas líneas recombinantes endocriadas (Recombinant Inbred Lines - RILs) pueden obtenerse mediante descendencia de una sola semilla (*Single seeds descent* - SSD) (Brim 1966), por al menos cinco o más generaciones. Las poblaciones de haploides duplicados (Double Haploide - DH) se construyen a partir de haploides obtenidos de plantas F_1 por cultivo de anteras, células huevo o hibridación interespecífica seguida de un rescate de embriones y una posterior duplicación con colchicina (Figura 9). Las más simples de estas poblaciones de mapeo son las poblaciones F_2 o las poblaciones retrocruzadas (Back Cross - BC) (Varshney *et al.*, 2004).

Para la mayoría de las especies de cereales, esta clase de poblaciones son fáciles de construir. En algunos casos, la presencia de esterilidad en algunos híbridos tal vez limita la combinación de padres, particularmente en F_1 de cruzas amplias. La mayor desventaja de usar F_2 y poblaciones retrocruzadas es que ellas son efímeras, esto es, semillas derivadas por auto-polinización de estos individuos no serán verdaderas líneas, ya que continúan segregando sus genes (Young, 2001). En cambio las RILs y las poblaciones DH son consideradas inmortales y pueden ser permanentemente mantenidas y evaluadas en experimentos repetidos.

Las RILs tienen la ventaja adicional de ser el producto de varias meiosis, por lo que cada RIL contiene una combinación diferente de bloques de ligamiento a partir de los padres. Sin embargo, la generación de RILs requiere de varios años, y algunas regiones del genoma tienden a mantenerse heterocigotas más tiempo del teóricamente esperado (Burr & Burr, 1991). Por lo tanto, en muchos proyectos de mapeo se prefiere poblaciones DH, dado que pueden ser usadas en análisis de ligamiento y mapeo con muchas de las mismas ventajas de las RILs y su producción toma menor tiempo (Heun *et al.*, 1991).

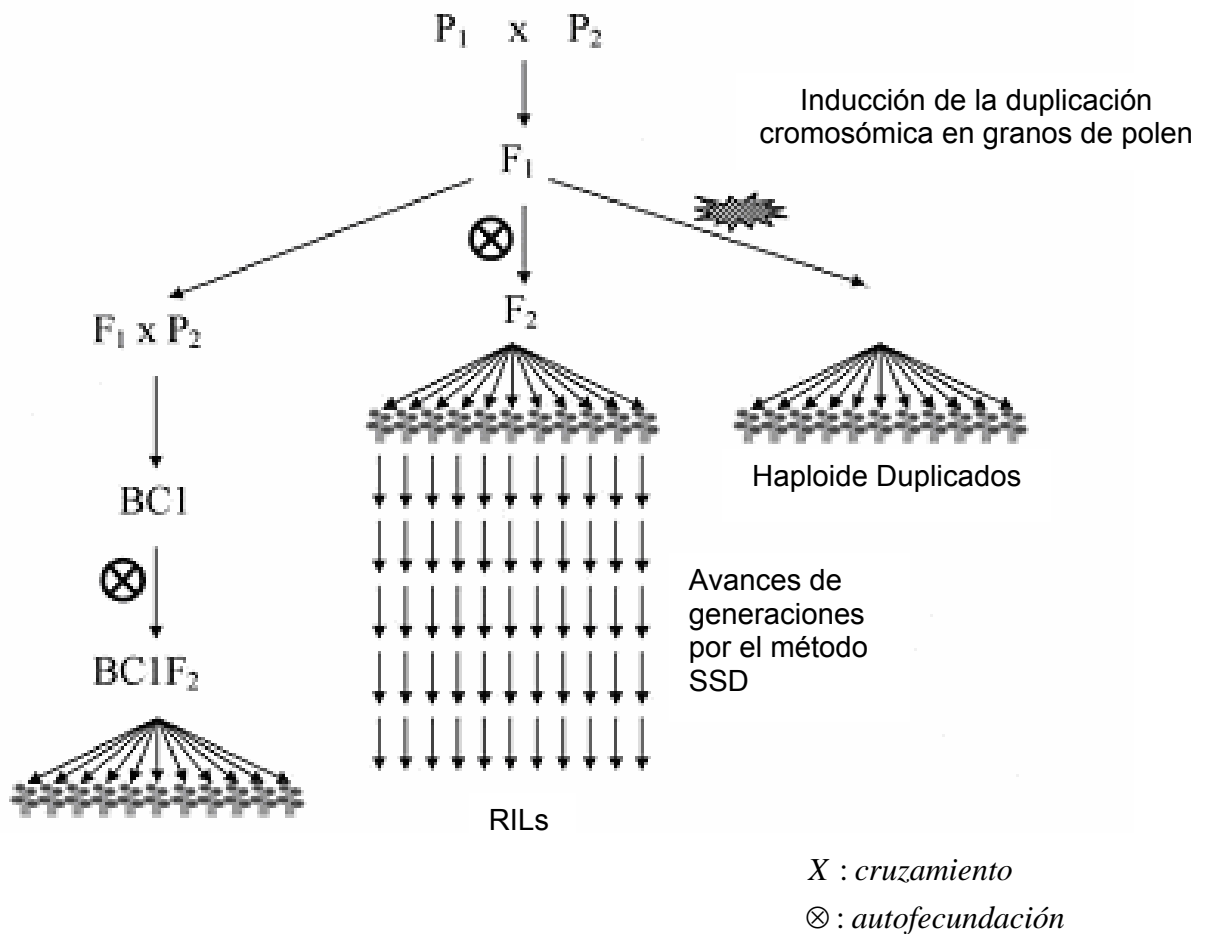


Figura 9: Método de obtención de diferentes poblaciones de mapeo: F_2 , retrocruzas (BC1, BC1F2), RILs y DHs (Modificado de Collard *et al.*, 2005).

11.3 Construcción de un mapa genético y mapeo de QTL

Además del uso en mejoramiento vegetal, los mapas genéticos y físicos son utilizados para adquirir conocimientos sobre varios aspectos de la genómica. Este tipo de mapas se han utilizado extensamente para estudios de genómica comparativa (Chen *et al.*, 1997; Dubscovsky *et al.*, 1998; Gale & Devos, 1998; Ramakrishna *et al.*, 2002; Paterson *et al.*, 2003a; Bowers *et al.*, 2003; Sorrells *et al.*, 2003; Paterson A.H., 2004; Yu *et al.*, 2004; Zhang L.Y. *et al.*, 2005; Varshney *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2006; Feltus *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2008).

Los mismos han permitido esclarecer la organización del genoma en las gramíneas en general, y en los cereales en particular, a través de mapas consenso (Karakousis *et al.*, 2003; Somers *et al.*, 2004; Sawkins *et al.*, 2004; Diab A.A., 2006; Wenzl *et al.*, 2006; Varshney *et al.*, 2007; Clarke *et al.*, 2008). Una gran ventaja del mapeo

molecular es la posibilidad de analizar un gran número de marcadores de ADN sobre una única población de mapeo. Sin embargo, la construcción sistemática de estos mapas requiere de la generación de poblaciones de mapeo y programas de computación que faciliten el análisis del elevado número de datos que se producen (Varshney *et al.*, 2004).

El proceso de construcción de mapas de ligamiento y el análisis de QTL para identificar regiones genómicas asociadas con un carácter es conocido como mapeo de QTL (“mapeo genético”, “mapeo de genes” o “mapeo del genoma”) (Lander & Botstein, 1989; McCouch & Doerge 1995; Paterson 1996 a,b; Mohan *et al.*, 1997). Para confeccionar un mapa de ligamiento es necesario amplificar un elevado número de marcadores moleculares segregantes, dependiendo este número de la utilidad que se le dará al mapa. Por lo general, un número de marcadores que generen intervalos genéticos de 7-10 cM es suficiente para su uso en el auxilio de programas de mejoramiento vegetal o MAS (*Marker assisted selection* - MAS). Por el contrario, para la construcción de un mapa destinado a estudios funcionales de genes/QTLs la saturación de marcadores debe ser mucho mayor, obteniéndose intervalos menores a 1 cM, siendo necesaria la posterior identificación física del gen/QTL.

La frecuencia de genotipos recombinantes (r) en una población de mapeo estimada entre todos los pares de marcadores es utilizada para obtener el orden inicial del grupo de ligamiento (GL). Finalmente, en el mapa genético se informa el orden final de los marcadores habiendo transformado el valor de r en distancia genética (centiMorgan – cM) mediante alguna función de mapeo (Griffiths *et al.*, 1998). Idealmente se espera obtener un grupo de ligamiento por cromosoma, aunque esto a veces no sucede por la falta de polimorfismos en algunas regiones dentro de los mismos. En algunos casos se obtiene más de un grupo de ligamiento por cromosoma y para lograr unirlos es necesario incluir un mayor número de marcadores. Los marcadores con una frecuencia de recombinación de 50% se describen como “no ligados”.

Los mapas genéticos moleculares son usados en la identificación de QTL para un gran número de características morfológicas, fisiológicas y económicas de los cultivos. Se han conducido estudios de QTL en todos los principales cereales, por ejemplo: arroz (Huang *et al.*, 1997; Pinson *et al.*, 2005; Steele *et al.*, 2007), maíz (Schon *et al.*, 1994; Melchinger *et al.*, 1998; Jampatong *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2004;), trigo (Joppa *et al.*, 1997; Kato *et al.*, 1999; Sourdille *et al.*, 2000; Campbell *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2006; Kuchel *et al.*, 2007; Leonova *et al.*, 2007; Fofana *et al.*, 2008), cebada (Teulat *et*

al., 2001; Li, *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006), sorgo (Lijavetzky *et al.*, 2000), soja (Brummer *et al.*, 1997), algodón (Paterson *et al.*, 2003b), y muchas otras especies vegetales: tomate (Mutschler *et al.*, 1996; Causse *et al.*, 2002; Foolad *et al.*, 2007), kiwi (Testolin *et al.*, 2001), poroto (Timmerman *et al.*, 1996; Timmerman-Vaughan *et al.*, 2002), pimiento (Pflieger *et al.*, 1999), pino (Claire *et al.*, 2007), castaña (Casasoli *et al.*, 2004). También se han realizado en animales, como ovinos (Siwek *et al.*, 2003), entre otros. Los QTL ayudan al mejoramiento genético utilizando marcadores ligados a QTLs de interés, pero también facilitan el estudio de los cambios que experimenta el genoma durante el mejoramiento y la selección. El análisis de QTL sobre diferentes mapas puede ser utilizado también en la identificación de genes candidatos para QTL específicos (Liu *et al.*, 2003; Causse *et al.*, 2004; Teng *et al.*, 2006; Pozniak *et al.*, 2007).

La genómica comparativa y los mapas de marcadores moleculares han generado mucha información acerca de la localización, la función, el número y en algunos casos la identidad de genes que controlan características importantes en el genoma de trigo, facilitando y acelerando su mejoramiento genético (Sorrells *et al.*, 2003; Varshney *et al.*, 2004).

11.3.1 Funciones de Mapeo

En la construcción de un mapa de ligamiento se requiere de funciones de mapeo para convertir las frecuencias de recombinación en centiMorgans (cM). La relación entre la frecuencia de recombinación y la frecuencia de entrecruzamientos (*crossing-over*) no es lineal (Kearsey & Pooni, 1996). Una unidad de mapa genético (u.m. o centiMorgan) se define como la distancia entre genes que permite obtener un producto recombinante de cada 100 meiosis. Una frecuencia de recombinación de 0,01 (o 1 por 100) se define como 1 u.m. o centimorgan (cM) (Griffiths *et al.*, 1998).

Las distancias de mapa pequeñas (<10cM) son equivalentes a la frecuencia de recombinación. Esto cambia cuando consideramos distancias mayores a 10 cM (Hartl & Jones, 2001). Las funciones de mapeo más frecuentemente usadas son la Kosambi (1944) y Haldane (1919). La diferencia básica entre ellas es el supuesto de considerar interferencia nula ($I=0$) en la función de Haldane. Por el contrario, la función de Kosambi estima el valor de I basándose en los dobles recombinantes observados y esperados.

No siempre la distancia en un mapa de ligamiento se corresponde con la distancia

física del ADN entre marcadores porque esto también depende del tamaño del genoma de la especie (Tanksley *et al.*, 1992; Paterson, 1996a; Kunzel *et al.*, 2000).

11.3.2 Métodos de Mapeo de QTL

Los tres métodos más ampliamente utilizados para detectar QTL son el análisis por marcador simple (*Single marker analysis* - SMA), el mapeo por intervalo simple (*Simple interval mapping* - SIM) y el mapeo por intervalo compuesto (*Composite interval mapping* - CIM) (Tanksley, 1993; Liu, 1998). El análisis por marcador simple, también llamado “análisis de punto simple” es el método más sencillo para detectar QTL asociados con un marcador molecular (Collard *et al.*, 2005). Para esto se puede utilizar el test-t, el análisis de la varianza (ANOVA) y la regresión lineal simple y múltiple. La regresión lineal es el método más comúnmente utilizado, generando un valor de coeficiente de determinación (R^2) para el marcador que explica la variación fenotípica debida al QTL ligado al mismo. Los programas QGene y MapManager QTX son comúnmente utilizados para realizar estos análisis (Nelson, 1997; Manly *et al.*, 2001). En muchos casos se utilizan los programas MapMaker/QTL (Lincoln *et al.*, 1993b) y Qgene (Nelson, 1997), para el análisis por SIM.

Más recientemente, el CIM se transformó en el método más utilizado para el mapeo de QTL. Este método debe su nombre a la combinación de los métodos de estimación de parámetros de máxima verosimilitud y regresión múltiple. La diferencia básica entre el CIM y el SIM es que el primero permite incorporar, como información adicional, marcadores asociados al carácter por fuera del intervalo genético que se analiza. (Jansen, 1993; Zeng, 1993, 1994; Jansen & Stam, 1994). El método CIM resulta ser más preciso en el mapeo de QTLs que los métodos de marcador simple y SIM, especialmente cuando se analizan regiones genómicas con QTL ligados. El programa QTLCartographer (Basten *et al.*, 1994, 2001) es muy utilizado para realizar el CIM y también el MapManager QTX (Manly *et al.*, 2001) o el PLABQTL (Utz & Melchinger, 1996).

11.3.3 Significancia estadística

El ligamiento entre dos marcadores se calcula utilizando la razón de las probabilidades entre la hipótesis alternativa (H_A) y la nula (H_0) de ligamiento e independencia, respectivamente. Esta razón se expresa comúnmente como el logaritmo en base 10 de la razón de las probabilidades o LOD score (Risch, 1992). Valores de LOD >3 son usados normalmente para construir mapas de ligamiento. Un valor de LOD= 3 entre dos marcadores indica que el ligamiento es 1000 veces más probable que la

segregación independiente. Un estadístico alternativo al LOD score es el LR (likelihood ratio – LR) cuya relación matemática con el LOD score es: $4,6 \times \text{LOD score}$. Los programas de computación Mapmaker/EXP (Lander *et al.*, 1987; Lincoln *et al.*, 1993a), MapManager QTX (Manly *et al.*, 2001) y JoinMap (Stam, 1993) son algunos de programas usados en la confección de mapas.

Los estadísticos LR o LOD score pueden ser utilizados indistintamente en el mapeo de QTLs (Liu, 1998). El mayor valor de LOD o LR a lo largo del cromosoma indica la posición más probable del QTL. La determinación del umbral (*thresholds value*) de significancia estadística es comúnmente realizada utilizando el test de permutaciones (Churchill & Doerge, 1994). Mientras los valores de los marcadores genéticos se mantienen constantes para cada individuo, los valores fenotípicos de los individuos de la población se asignan al azar en cada permutación. Para cada permutación, usando SIM o CIM, es simulada la posición del QTL en el genoma, almacenándose el mayor LOD score. Este proceso se repite 1.000 o 10.000 veces para establecer el nivel de corte de 5 y 1% de significancia. Estas significancias corresponden a los valores 950 y 9.500 de los valores de LOD o LR ordenados en forma decreciente, respectivamente, los cuales minimizan la razón de falsos positivos o asociación espuria entre marcador-QTL (Churchill & Doerge, 1994; Hackett, 2002; Haley & Andersson, 1997). Antes de difundirse el test de permutaciones, un valor de LOD entre 2 y 3 era comúnmente elegido y aceptado como umbral significativo. Un QTL es considerado “real” (estadísticamente significativo), cuando el mayor valor de LOD supera el umbral establecido por el test de permutaciones.

En función de la variación fenotípica explicada a través del R^2 , un QTL se describe como de efecto “mayor” o “menor”. Valores mayores al 10% indican la presencia de QTLs de efecto mayor, en caso contrario los QTL se consideran de efecto menor. Sin embargo, algunas veces aquellos QTL que son estables a través de los distintos ambientes, son considerados mayores.

11.4 Selección asistida por marcadores (MAS)

El uso de MAS (del inglés, *Marker assisted selection*) en los programas modernos de selección está principalmente restringido a loci marcadores ligados a genes/QTL de efecto mayor en fase de ligamiento consistentes a lo largo de numerosas poblaciones.

La MAS aún no se utiliza masivamente para el mejoramiento de caracteres poligénicos

porque las técnicas de mapeo de QTL resultan insuficientemente precisas y porque la información de los QTL no puede ser fácilmente validada desde una población de mapeo hacia otras poblaciones mejoradas o bancos de germoplasma. La precisión del mapeo de QTL puede mejorarse incrementando el tamaño de las poblaciones y el número de ambientes evaluados. Por lo tanto, la MAS para caracteres poligénicos se restringe a situaciones donde la selección fenotípica no puede ser fácilmente implementada. La MAS es una herramienta de amplio uso en mejoramiento genético en el mundo, como ejemplo pueden citarse los emprendimientos en trigo de Estados Unidos (*MASwheat Project*, <http://maswheat.ucdavis.edu>) y Australia (*Australian National Wheat Molecular Marker Program- NWMMP*).

Como técnica complementaria al mapeo de genes/QTL ha surgido recientemente el mapeo por asociación (MA). Este se basa en el desequilibrio de ligamiento y es conducido directamente sobre el material mejorado (colecciones de germoplasma, filiales mejoradas, etc.), evitando el tiempo necesario en generar las poblaciones de mapeo mencionadas. MA tiene la ventaja de ser aplicado en poblaciones de individuos no relacionados, encontrando un gran número de alelos por *locus* (Breseghello & Sorrells 2006b; Crossa *et al.*, 2007). Si bien el poder de resolución es menor, el MA podría tener en el futuro una gran aplicación en la selección asistida por marcadores.

12. Antecedentes de mapeo de QTL para color amarillo y pigmentos carotenoides

Los estudios del color en trigo y sus productos derivados han crecido en complejidad en los últimos años. El uso de marcadores moleculares y estrategias de mapeo de QTL han facilitado el estudio de la herencia y la forma en que el ambiente influye sobre estos caracteres. La selección indirecta, MAS, es una alternativa que evita múltiples evaluaciones de ensayos replicados en años y localidades.

Al menos una decena de trabajos de mapeo de QTL asociados a color han sido publicados hasta la fecha, la mayoría de ellos relacionados a trigo pan. En estos primeros trabajos Parker *et al.* (1998) utilizaron una población de 150 líneas F_4 derivada de trigo hexaploide ("Schomburgk" x "Yarralinka") para el análisis del carácter color de harina, expresado como valor b^* . Usando regresión simple estos autores informaron tres loci asociados a color de harina, dos de ellos localizados en el cromosoma 7A (Marcadores SSR *Xcdo347-7A* y *Xwg232-7A.1*) y el restante en el 3A (*Xbcd828-3A*). Individualmente, estos marcadores explicaron una media de 37% y 9%

de la variación fenotípica observada para color de la harina. Sin embargo, el mapeo por intervalos permitió detectar sólo el QTL ubicado sobre el 7A. El marcador más cercano al pico de mayor significancia estadística del QTL fue el AFLP *Xwua16-7A.5* (0,7 cM). La varianza fenotípica explicada por este QTL fue del 41%, correspondiente al 60% de la varianza genética basada en la estimación de heredabilidad, indicando que este QTL controla una gran proporción de la expresión del carácter. Posteriormente, un marcador AFLP ligado a este locus fue secuenciado y convertido en un marcador funcional (STS), adecuado para su uso en MAS (Parker & Langridge, 2000). Este marcador, designado *FC7* fue validado en otras poblaciones de DH ("Krichauff" × "Roblin" y "Krichauff" × "Sun245A") y actualmente es muy útil para seleccionar por color de la harina.

Un gran número de QTL asociados al color de la harina y de noodles ha sido identificado en 3 poblaciones de DH de trigo pan, Cranbrook × Halberd, Sunco × Tasman y CD87 × Katepwa (Mares & Campbell, 2001). En la primera población se detectaron QTL para CIE *b** en harina sobre los cromosomas 3B, 5D, 7A, mientras que en la segunda, dichos QTL se localizaron sobre los cromosomas 3B, 4B, 5B y 7A, explicando 20, 7, 12, y 27% de la variación fenotípica respectivamente. Las regiones identificadas sobre los cromosomas 3B y 7A en ambas poblaciones presentaron efecto aditivo y posición cromosómica similar. Según Mares & Campbell (2001), el QTL del 7A es probablemente el mismo que fuera localizado previamente por Parker *et al.*, (1998). Los QTL para CIE *b** en harina identificados en la población CD8 x Katepwa estuvieron localizados sobre los cromosomas 2D, 3A, 6A y 7B y explicaron 12, 17, 13, y 10% de la variación fenotípica, respectivamente. Aunque no se encontraron QTLs en el 7A fue mapeado un QTL en una región homeóloga del cromosoma 7B. Dos QTL fueron mapeados sobre los cromosomas 3B y 7A asociados al contenido de xantofilas en la población Cranbrook × Halberd, estos dos QTL coinciden posicionalmente con los informados para CIE *b** (Mares & Campbell, 2001).

Schmidt *et al.* (2004) identificaron dos marcadores SSR ligados a color amarillo (valor *b**) utilizando un análisis de regresión simple y en una población DH de trigo pan australiano (Kukri x Janz). El SSR *Xgwm192* en el cromosoma 4B y el *Xgdm3* en el cromosoma 3A explicaron el 1 y el 5% de la variación fenotípica, respectivamente. El brillo (valor CIE *L** del Minolta) fue asociado al SSR *barc20* el cual explicó un 5 % de la variación fenotípica. Más recientemente, Kuchel *et al.* (2006) identificaron un QTL mayor para CIE *b** sobre el cromosoma 7B en una población DH derivada de la cruce de los cultivares hexaploides australianos 'Trident' y 'Molineux'. Este QTL explicó 61 y

48% de la variación fenotípica evaluada en dos años. Esta misma región tuvo un efecto significativo sobre los valores CIE L* y CIE a* del Minolta. El carácter mostró además estar correlacionado con el contenido de proteína en la harina.

También se identificaron QTL asociados a los parámetros de color CIE L* y CIE b* de noodles alcalinos amarillos, utilizando una población DH de trigo pan (RL4452 x AC Domain) (McCartney *et al.*, 2006). Los QTL para CIE L* se mapearon en regiones homeologas de los cromosomas 5B y 5D. Un QTL mayor fue hallado para el CIE b* en el brazo largo del cromosoma 7A (7AL), coincidiendo posicionalmente con los QTL previamente informados para valor b* y CPC en poblaciones de trigo pan (Mares & Campbell, 2001).

El primer estudio de mapeo de QTL para caracteres relacionados al color en trigo candeal se realizó utilizando una población de 114 RILs obtenida de la cruce entre Omrabi5 y *Triticum dicoccoides600545*, retrocruzada con Omrabi5 (Elouafi *et al.*, 2001). Este ensayo permitió identificar tres QTL en los cromosomas 7A y 7B asociados al CPC que explicaron el 62% de la variación fenotípica total con un efecto ambiental débil. La localización de QTL sobre el grupo cromosómico 7 coincide con la obtenida en trigo pan para el carácter color amarillo (Parker *et al.*, 1998) y CPC en *Hordeum chilense* (Álvarez *et al.*, 1998). Los QTL para CPC detectados por Elouafi *et al.* (2001), mostraron que los alelos que incrementan el color fueron aportados por el progenitor Omrabi5.

Regiones genómicas asociadas a tres de las enzimas involucradas en la vía de biosíntesis de carotenoides PSY, PSD y ZDS también fueron identificadas (Cenci *et al.*, 2004). En el año 2007, Pozniak *et al.* localizaron el gen *Psy-1* en los cromosomas 7A (*Psy-1.7A*), 7B (*Psy-1.7B*) y el *Psy-2* en los cromosomas 5A y 5B. Sobre un mapa genético de 155 DH derivadas de la cruce W9262-260D3/Kofa asociaron el locus *Psy-1.7B* con la variación del color en el endosperma. El locus *Psy-1.7A* no se halló asociado al color del endosperma y podría corresponder al QTL para color amarillo identificados por otros investigadores (Elouafi *et al.*, 2001; Cervigni *et al.*, 2005). Pozniak *et al.* (2007) identificaron cuatro QTL asociados al color del endosperma sobre los cromosomas 2A, 4B, 6B, y 7B, hallando que el locus *Psy-1.7B* co-segrega con el QTL 7B. El rol que cumple la enzima PSY en la biosíntesis de carotenoides y su efecto sobre el CPC en el grano fue posteriormente confirmado en seis publicaciones, tres realizadas en trigo candeal (Zhang *et al.*, 2008; Zhang & Dubcovsky, 2008; Patil *et al.*, 2008) y tres sobre trigo pan (He *et al.*, 2008; He *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009). El

alelo de *Psy-1.7A* no mostró ser polimórfico en una población de RILs derivada del cruzamiento de UC1113 x Kofa. Sin embargo, un marcador funcional co-dominante fue desarrollado usando el polimorfismo del *Psy-1.7B* (Zhang & Dubcovsky, 2008). Los resultados de este trabajo sugieren la existencia de un locus adicional para el CPC en la región distal del cromosoma 7BL, ligado al marcador *Xbarc340-7B*.

Patil *et al.* (2008) mapearon 5 QTL para CPC en una población de 140 RILs (PDW 233 x Bhalegaon 4) sobre los cromosomas 1A, 3B, 5B, 7A y 7B en 5 ambientes diferentes. El QTL localizado sobre la parte distal del brazo largo del cromosoma 7A (QYp.macs-7A) explicó 55,22% de la variación del carácter, mientras que, los 4 QTL restantes explicaron entre 5 – 8,75% de la variación fenotípica. Los marcadores SSR y AFLP ligados al QTL QYp.macs-7A fueron convertidos en marcador SCAR, posteriormente validado en otra población de mapeo y en 38 cultivares.

También en trigo hexaploide fue desarrollado un marcador funcional para el gen *Psy-1.7A* denominado YP7A (He *et al.*, 2008). El gen *Psy-1.7A* fue secuenciado completamente, caracterizado *in silico* y validado experimentalmente. El marcador YP7A fue mapeado sobre el cromosoma 7AL utilizando una población de RIL (PH82-2/Neixing 188), un grupo de líneas de Chinese Spring nuli-tetrasómicas y una línea dítelosómica 7AS. Este marcador explicó entre el 20–28% de la varianza fenotípica para CPC y fue validado sobre 217 líneas avanzadas y cultivares chinos, demostrando su utilidad en MAS. Posteriormente estos autores desarrollaron marcadores STS para el gen *Psy-1.7B* de trigo pan, los cuales se validaron sobre las 217 líneas avanzadas y cultivares chinos y 342 cultivares adicionales de trigo primaveral del CIMMYT (He *et al.*, 2009). También dos QTL mayores fueron detectados para el contenido de pigmentos, CIE b* en harina y CIE b* en noodles sobre los cromosomas 1B y 7A (*Psy-1*) (Zhang *et al.*, 2009).

Hipótesis

El color amarillo de los granos de trigo está determinado por un número elevado de regiones genómicas, entre las que se encuentran las que codifican para la síntesis de pigmentos carotenoides.

Objetivos

El objetivo general de esta tesis fue mapear QTL asociados al contenido de pigmentos carotenoides y color amarillo en trigo candeal y encontrar marcadores moleculares ligados a los mismos.

En función de este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos particulares:

1. Caracterizar fenotípicamente la población de RILs derivada de la cruce UC1113 x Kofa para color amarillo (CIE b^*), rojo (CIE a^*), luminosidad (CIE L^*) y contenido de pigmentos carotenoides (CPC).
2. Obtener parámetros genéticos a partir de los valores fenotípicos de la población de RILs en estudio.
3. Mapear QTL asociados al CPC y color amarillo (CIE b^*) en trigo candeal.
4. Determinar la utilidad de los QTL mapeados para la selección indirecta.
5. Identificar genotipos superiores que resulten útiles de incorporar en los programas de mejoramiento.