



**Universidad Nacional del Sur**

Tesis de Doctorado en Agronomía

Evidencias genéticas y epigenéticas  
del control de la apomixis en  
*Eragrostis curvula*

Ing. Agrónoma Jimena A. Gallardo

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2023

## PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctora en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre el 3 de abril de 2018 y el 10 de abril de 2023, bajo la dirección de la Doctora Viviana Echenique y la co-dirección del Doctor Diego Zappacosta.

Ing. Agr. Jimena A. Gallardo



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el ..../..../..... , mereciendo la calificación de .....(.....)

**Agradecimientos:**

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haberme otorgado esta Beca para realizar mis estudios de doctorado y permitir realizarme como profesional.

A mi directora, la Dra. Viviana Echenique, por haber confiado en mí desde el primer momento y permitirme formar parte de su grupo de trabajo, por su tiempo y motivación constante, por ayudarme a crecer y formarme como profesional y sobre todo por su calidad humana, su cariño y apoyo.

A mi codirector, Dr. Diego Zappacosta, por brindarme sus conocimientos, por su orientación y sugerencias durante la realización de esta tesis.

A todo el grupo de trabajo Apomixis por sus aportes, buena predisposición y por toda la colaboración que me brindaron.

A todas las personas que contribuyeron a la realización de esta tesis y también a mi formación, en el Instituto Cerzos, en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, en Rosario el grupo del Dr. Juan Pablo Ortiz, en Perugia-Italia el equipo del Dr. Emidio Albertini y del Dr. Fulvio Pupilli.

A mis compañeros de la sala de becarios, por los gratos momentos compartidos y por hacer del lugar de trabajo un ambiente divertido. Gracias por su compañerismo y por darme ánimo cuando más lo necesitaba.

A mis padres, Guillo y Chispy, que son mi ejemplo e inspiración. Les agradezco por todo el amor que nos han dado a Guille y a mí, por guiar nuestro camino e inculcarnos sus valores. Les dedico este logro y los llevo dentro mío siempre.

A mi hermana, Guille, por su amor infinito e incondicional. Por ser mi orgullo y darme la fuerza necesaria para salir adelante. Por su amistad y por hacer de mí una mejor persona.

A mi novio, Mauro, por su amor y apoyo constante. Por ser mi soporte y estar a mi lado para contenerme. Por acompañarme a cumplir todo lo que me proponga, con estímulo y entusiasmo.

A Pili, mi hija del corazón, por estar a mi lado siempre y por llenar mi vida de alegría con su amor inmenso y puro.

Al resto de mis seres queridos, mi familia y amigos, que siempre estuvieron para escucharme, aconsejarme y por tener siempre tendida su mano.

A todos, muchas gracias!

## Resumen

La apomixis es una forma de reproducción clonal, donde no ocurre ni meiosis ni fecundación para la formación de la semilla. Existe una estrecha relación entre la apomixis y el nivel de ploidía, dado que en la mayoría de las especies que presentan el carácter los genotipos diploides son sexuales y los poliploides son apomícticos y con un grado variable de sexualidad (facultativos). Aunque se sabe que el carácter es regulado por una o más regiones del genoma, se han hallado numerosas evidencias de mecanismos epigenéticos que regulan su expresión. Conocer los factores que determinan la apomixis tendría un gran impacto en la agricultura.

*Eragrostis curvula* (“pasto llorón”) es una gramínea forrajera originaria de Sudáfrica, que incluye genotipos con diferentes niveles de ploidía (2X hasta 8X, con  $X = 10$ ), que pueden ser sexuales o apomícticos (facultativos u obligados). Nuestro grupo de trabajo realizó numerosos estudios, sobre todo en el carácter apomixis, tanto a nivel de genética estructural como funcional.

El objetivo de esta tesis fue contribuir a la dilucidación de las bases genéticas y epigenéticas que regulan uno de los componentes de la apomixis (apomeiosis) en *E. curvula*.

Se desarrolló una población de mapeo segregante para el carácter apomixis a partir del cruzamiento entre dos genotipos tetraploides, uno sexual (OTA-S) y otro apomíctico facultativo (Don Walter). La genotipificación se realizó con marcadores DArT-SNP y el fenotipado mediante citoembriología y un marcador molecular dominante. El mapa de ligamiento quedó conformado por 20 grupos de ligamiento (GL), con el posicionamiento del APO locus en el GL1, donde también se ubicaron tres marcadores SNP 100 % ligados al carácter apomeiosis. La secuencia de los SNP 100 % ligados tienen homología con proteínas anotadas en bases de datos, que podrían estar relacionadas al modo reproductivo. Se realizó un análisis de sintenia entre los GLs del mapa consenso y el genoma de referencia de la especie (cv. Victoria) que permitió asociar todos los GLs a alguno de los contigs y hallar los GLs que corresponderían potencialmente a cada uno de los genomas del alotetraploide (homeólogos). Para la validación de los marcadores se

diseñaron y evaluaron cinco primers KASP que permitieron discriminar entre los alelos de los individuos sexuales y apomícticos.

En el segundo capítulo se analizaron diferentes resultados obtenidos por el grupo de trabajo que evidencian la influencia de la epigenética sobre el carácter apomixis en plantas de *E. curvula*. Para analizar la participación de mecanismos de metilación del ADN en la regulación de la apomixis bajo condiciones de estrés hídrico, se realizó un ensayo en el cual muestras de ADN de inflorescencias fueron evaluadas mediante la “Estimación del contenido de metilación por doble corte con enzimas de restricción sensibles” (MCSeEd). En las regiones diferencialmente metiladas se lograron encontrar genes vinculados al modo reproductivo, como BABYBOOM, ubiquitinas, FBox y subtilisinas. Podría afirmarse que tanto el estrés interno como externo ejerce una gran influencia sobre el modo reproductivo de *E. curvula*, modificando la expresión del carácter apomixis en plantas apomícticas facultativas.

## **Abstract**

Apomixis is a type of clonal reproduction, where neither meiosis nor fertilization occurs in seed formation. There is a close relationship between apomixis and ploidy level, since in most of the apomictic species diploid genotypes are sexuals and polyploids are apomictics. Usually, apomictic plants are facultative, being some of the seeds sexuals in origin. Although it is known that this trait is regulated by one or more genomic regions, numerous evidences of epigenetic mechanisms that regulate its expression have been found. Knowing the factors that determine apomixis could have a great impact on agriculture.

*Eragrostis curvula*, commonly known as weeping lovegrass, is a forage grass native to southern Africa, which includes genotypes with different ploidy levels (from 2X to 8X, with  $X = 10$ ) and that can be sexuals or apomictics (facultative or obligate). Our work group carried out several studies on this model species, especially related with the apomixis character, both at the structural and functional genetic level.

The objective of this thesis was to contribute to the elucidation of the genetic and epigenetic bases that regulate one of the components of apomixis (apomeiosis) in *E. curvula*.

A segregating mapping population was generated for the apomixis trait from the cross between two tetraploid genotypes, one sexual (OTA-S) and the other one facultative apomictic (Don Walter). Genotyping was performed with DArT-SNP markers and phenotyping using cytoembryological techniques and a dominant molecular marker. The linkage map was made up of 20 linkage groups (LGs), with the apomeiosis locus (APO locus) located on GL1, where three SNP markers 100 % linked to the APO locus were also located. All of this 100 % linked SNPs have homology with proteins, two of these annotated in databases. A synteny analysis was performed between the GLs of the consensus map and the *E. curvula* reference genome (cv. Victoria), which allowed all the GLs to be associated to any of the contigs and to find the GLs that would potentially correspond to each allotetraploid genome (homeologs). For the validation of the markers, five KASP primers were design and performed, allowing to discriminate between the sexual or apomictic alleles of the individuals of the mapping population.

Furthermore, in a second chapter, several results obtained by the work group were evaluated, demonstrating an influence of epigenetic regulation on the apomixis trait in *E. curvula*. To analyze the involvement of DNA methylation mechanisms in the regulation of apomixis under water stress conditions, DNA samples of inflorescences under different stress conditions were evaluated, using the “Methylation content sensitive enzyme double-digest restriction-site-associated DNA” (MCSeEd) method. Some of the genes identified in the differentially methylated regions were found to be related to the reproductive mode, such as BABYBOOM, ubiquitin, F-box and subtilisin genes.

It could be proposed that stress, both internal and external, has a significant influence in the reproductive mode of *E. curvula*, modifying the expression of the trait in facultative apomicts.

## Publicaciones generadas durante el desarrollo de esta tesis

### Publicaciones en revistas científicas:

**Gallardo J**, Díaz M, Carballo J, Garayalde A, Echenique V. “Phytolith Content Negatively Affects Forage Quality of *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees”. *Agronomy* 2023. 13(3):924. DOI: 10.3390/agronomy13030924. 2023.

Pasten MC, Carballo J, **Gallardo J**, Zappacosta D, Selva JP, Rodrigo JM, Echenique V, Garbus I. “A combined transcriptome - miRNAome approach revealed that a kinesin gene is differentially targeted by a novel miRNA in an apomictic genotype of *Eragrostis curvula*”. *Frontiers in Plant Science* 2022. 13:1012682. DOI: 10.3389/fpls.2022.1012682. 2022.

Carballo J, Zappacosta D, Marconi G, **Gallardo J**, Marsico M, Gallo CA, Caccamo M, Albertini E, Echenique V. “Differential Methylation Patterns in Apomictic vs. Sexual Genotypes of the Diplosporous Grass *Eragrostis curvula*”. *Plants* 2021. 10(5):946. DOI: 10.3390/plants10050946. 2021.

Selva JP, Zappacosta D, Carballo J, Rodrigo JM, Bellido A, Gallo CA, **Gallardo J**, Echenique V. “Genes modulating the increase in sexuality in the facultative diplosporous grass *Eragrostis curvula* under water stress conditions”. *Genes* 2020. 11(9):969. DOI:10.3390/genes11090969. 2020.

Zappacosta DC, **Gallardo J**, Carballo J, Meier M, Rodrigo JM, Gallo CA, Selva JP, Stein J, Ortiz JPA, Albertini E, Echenique V. “A high-density linkage map of the forage grass *Eragrostis curvula* and localization of the diplospory locus”. *Frontiers in Plant Science* 2019. 10:918. DOI: 10.3389 / fpls.2019.00918. 2019.

### Publicaciones en revistas de divulgación:

Pasten MC, Achili AL, **Gallardo J**. “Semana de la Ciencia: La genética de las plantas”. *Boletín electrónico del CERZOS*. Año 2022, N°35. ISSN 2422-7447. Junio 2022.

**Gallardo J**, Gallo CA, Zappacosta DC, Echenique V. “Algoritmos de aprendizaje automático para la predicción del modo reproductivo de *Eragrostis curvula* en base a marcadores moleculares”. Boletín electrónico del CERZOS. Año 19, N°34. ISSN 2422-7447. Mayo 2020.

**Gallardo J**, Zappacosta D, Carballo J, Rodrigo JM, Gallo C, Selva JP, Echenique V. “Construcción del mapa genético de pasto llorón”. Revista AGROUN N° 31. Año XVI, ISSN 1668-5946. Junio 2019.

**Gallardo J**. “¿Sabía usted para qué sirven los mapas genéticos?”. Boletín electrónico del CERZOS. Año 18, N°33. ISSN 2422-7447. Marzo 2019.

**Gallardo J**. “Genotipado por secuenciación en Pasto Llorón”. Boletín electrónico del CERZOS. Año 17, N°32. ISSN 2422-7447. Marzo 2018.

#### **Capítulos de libro:**

Echenique V, **Gallardo J**, Selva JP, Zappacosta DC, Carballo J, Bellido A, Rodrigo JM. “El pasto llorón: aspectos generales de su biología y modo reproductivo”. Libro: Pasto llorón: Avances en estudios genéticos y utilización. EDIUNS. ISBN: 978-987-655-315-5, Cap. 2, pág. 29-47, 2022.

Zappacosta DC, Selva JP, Carballo J, Gallo CA, **Gallardo J**, Pasten MC, Garbus I, Echenique V. “Recursos genómicos para el estudio del modo reproductivo y otros caracteres de interés”. Libro: Pasto llorón: Avances en estudios genéticos y utilización. EDIUNS. ISBN: 978-987-655-315-5, Cap. 3, pág. 49-63, 2022.

**Gallardo J**, Díaz ML, Garayalde A, Echenique V. “La producción de fitolitos en pasto llorón y su relación con la calidad forrajera”. Libro: Pasto llorón: Avances en estudios genéticos y utilización. EDIUNS. ISBN: 978-987-655-315-5, Cap. 5, pág. 87-95, 2022.



**Presentaciones a congresos:**

Zappacosta D, Rodrigo JM, Meier M, **Gallardo J**, Echenique V. “Herencia del carácter apomixis en pasto llorón”, XI Simposio Nacional de Biotecnología. REDBIO. Bahía Blanca. Septiembre 2017.

Selva JP, Zappacosta D C, Carballo J, Rodrigo JM, Bellido A, Gallo CA, **Gallardo J**, Echenique CV. “Water stress, apomixis and gene expression in the diplosporous grass *Eragrostis curvula*”. Plant and Animal Genome Conference. San Diego CA, Estados Unidos, Enero 2020.

**Gallardo J**, Carballo J, Zappacosta DC, Marconi G, Di Marsico M, Gallo CA, Cáccamo M, Albertini E, Echenique VC. “Efectos de las diferencias en metilación del ADN de inflorescencias en el modo reproductivo de *Eragrostis curvula*”. XIII Simposio Nacional de Biotecnología, REDBIO. Argentina 2021 VIRTUAL. Junio 2021.

Carballo J; Zappacosta D; **Gallardo J**; Selva JP; Gallo CA; Garbus I; Albertini E Caccamo M; Echenique V. “Caracterización de la región genómica ligada a la apomixis en *Eragrostis curvula*”. XIII Simposio Nacional de Biotecnología, REDBIO. Argentina 2021 VIRTUAL. Junio 2021.

**Gallardo J**, Gallo CA, Zappacosta DC, Carballo J, Selva JP, Simón D, Chemin Genova CA, Echenique VC. “Reproductive mode assessing of *Eragrostis curvula* using specific sequences”. RAFV 2021: XXXIII Argentinian Meeting of Plant Physiology. Septiembre 2021.

Carballo J, Zappacosta D, Marconi G, **Gallardo J**, Di Marsico M, Gallo CA, Caccamo M, Albertini E, Echenique VC. “An epigenetic approach to disclose apomixis in *Eragrostis curvula*”. RAFV 2021: XXXIII Argentinian Meeting of Plant Physiology. Septiembre 2021.

Chemin Genova C, Simón D, Carballo J, Selva JP, Zappacosta D, **Gallardo J**, Echenique V. “Characterization of EcROS1-like, a putative gene indirectly involved in apomixis in *Eragrostis curvula*”. RAFV 2021: XXXIII Argentinian Meeting of Plant Physiology. Septiembre 2021.

## Financiamiento

H2020-MSCA-RISE-2014. ID 645674. Plant Reproduction for Crop Improvement (PROCROP). Research and Innovation Staff Exchange (RISE) H2020-MSCA-RISE-2014. Proyecto de Cooperación Internacional financiado por la UE. IR: Emidio Albertini, UNIPG, Perugia, Italia. Nodos Participantes: Italia (UNIPG, UNIMIL, Polo GGB), Francia (IRD), Argentina (UNR/ICAR, CERZOS). Nodo CERZOS: IR Viviana Echenique.

PGI Código 24A/233 (2017 – 2020) Secuenciación del genoma de *Eragrostis curvula* a fin de identificar genes relacionados con el modo reproductivo y calidad del forraje. SECyT. Universidad Nacional del Sur. IR: Viviana Echenique.

PICT Raíces 2017 - 0879. Genómica estructural para acceder a la región condicionante de la apomixis en *Eragrostis curvula*. IR: Viviana Echenique (CERZOS) y Mario Cáccamo (NIAB, Inglaterra).

H2020-MSCA-RISE-2019. ID: 872417. Mechanisms of Apomictic Development (MAD). Proyecto de Cooperación Internacional Financiado por la UE. IR: Olivier Leblanc, IRD Montpellier Francia. Nodos Participantes: Italia (UNIPG, UNIMIL, UNIPAD, CNR), México (CINVESTAV), Reino Unido (NIAB), Australia (University of Adelaide), Suiza (Universitat). Nodo CERZOS: IR Viviana Echenique.

H2020-MSCA-RISE-2019. ID: 101007438. The polyploidy paradigm and its role in plant breeding (POLYPLOID). Proyecto de Cooperación Internacional financiado por la UE. IR: Emidio Albertini UNIPG, Italia. Nodos participantes: SEQUENTIA BIOTECH SL, España; UNIVERSITA DEGLI STUDI DI MILANO y UNIVERSITA DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II, ambas de Italia; UNIVERSITY OF CALIFORNIA (UCDAVIS), Estados Unidos; NATIONAL UNIVERSITY OF IRELAND GALWAY, Irlanda; KEYGENE NV (Holanda); y LINCOLN UNIVERSITY, de Nueva Zelanda. Nodo CERZOS: IR Viviana Echenique.

PIP 11220200101905CO, CONICET. Estudio de la región determinante de la apomixis en *Eragrostis curvula* utilizando herramientas de secuenciación de última generación. SECyT. Universidad Nacional del Sur. IR: Diego Zappacosta.

PGI - UNS 24/A261 (2022 – 2025). Estudio de las bases genéticas y epigenéticas asociadas a la apomixis en *Eragrostis curvula* (Shrad.) Nees. SECyT. Universidad Nacional del Sur. IR Viviana Echenique.

## Indice

Introducción general .....	14
Hipótesis y objetivos.....	28
Hipótesis .....	28
Objetivo general .....	28
CAPÍTULO 1. Construcción de un mapa genético de alta densidad para la localización del locus condicionante de la diplosporía en pasto llorón .....	29
Introducción.....	29
Objetivos específicos .....	35
Materiales y métodos.....	35
<i>Material vegetal y cruzamientos</i> .....	35
<i>Siembra de las semillas y establecimiento de las plantas F1</i> .....	36
<i>Caracterización fenotípica de las plantas obtenidas de la cruce OTA-S x Don Walter</i> .....	37
<i>Extracción de ADN de las plantas derivadas del cruzamiento OTA-S x Don Walter</i> .....	37
<i>Genotipado de alto rendimiento utilizando el método DArT-Seq™</i> .....	39
<i>Filtrado de SNPs</i> .....	40
<i>Construcción del mapa de ligamiento</i> .....	40
<i>Análisis de sintenia</i> .....	41
<i>Diseño de primers KASP</i> .....	41
Resultados .....	43
<i>Desarrollo de la población de mapeo y fenotipado F1</i> .....	43
<i>Herencia del carácter apomeiosis</i> .....	44
<i>Selección de DArT-Seq-SNPs</i> .....	47
<i>Construcción del Mapa de Ligamiento Genético</i> .....	47
<i>Análisis sinténico para identificar grupos homeólogos</i> .....	52
<i>Análisis de las secuencias de los SNPs ligados a la apomeiosis</i> .....	55
<i>Validación de Marcadores DArT-Seq SNPs asociados al APO locus</i> .....	57
Discusión.....	59
Conclusiones.....	64
CAPÍTULO 2: Evidencias de control epigenético sobre la regulación de la apomeiosis en <i>Eragrostis curvula</i> . Rol de la metilación.....	65
Introducción.....	65
<i>Concepto de Estrés</i> .....	66
<i>El estrés en las plantas</i> .....	67
<i>Evidencias de regulación epigenética sobre la apomeiosis de pasto llorón</i> .....	69

<i>Regulación mediada por microARNs</i> .....	72
<i>Elementos Repetitivos</i> .....	73
<i>Expresión de apomixis e hibridación</i> .....	75
<i>Expresión de apomixis y cambios de ploidía</i> .....	77
<i>Apomeiosis, estrés y transcritos diferencialmente expresados</i> .....	77
<i>Metilación del ADN y técnicas para su estudio</i> .....	78
Objetivo .....	81
Materiales y Métodos.....	81
<i>Material vegetal</i> .....	81
<i>Tratamientos de sequía</i> .....	82
<i>Contenido relativo de agua (CRA)</i> .....	82
<i>Extracción de ADN</i> .....	82
<i>Construcción de bibliotecas y secuenciación (Análisis de metilación del ADN)</i> .....	83
<i>Genes Diferencialmente Metilados (DMGs)</i> .....	85
<i>Genes Diferencialmente Expresados</i> .....	85
Resultados .....	86
<i>Contenido relativo de agua (CRA)</i> .....	86
<i>Posiciones (DMP) y Regiones Diferencialmente Metiladas (DMR)</i> .....	86
<i>Identificación de Genes Diferencialmente Metilados (DMGs)</i> .....	88
<i>Genes Diferencialmente Metilados y su Expresión en genotecas de RNA-Seq</i> .....	89
Discusión.....	91
Conclusiones.....	95
Conclusión general .....	96
Referencias .....	98
Apéndice .....	118

## Introducción general

La apomixis es una forma de reproducción asexual donde se evitan los procesos de meiosis y fecundación y se forman semillas clonales, idénticas al genotipo materno (Xiong et al., 2023). El término "apomixis" proviene del griego "apo", que significa "falta" o "ausencia" y "mixis", que significa "unión" o "mezcla", haciendo referencia a la falta de unión o mezcla de los gametos de origen sexual.

Las especies apomícticas han desarrollado mecanismos para evitar las vías sexuales:

- apomeiosis: formación de gametofitos funcionales sin meiosis
- partenogénesis: formación de embriones sin fecundación
- formación de un endosperma funcional.

Este último puede ocurrir de forma completamente autónoma en algunas especies, pero en otros casos es necesaria la fecundación de los núcleos polares, proceso denominado pseudogamia (Koltunow y Grossniklaus, 2003).

De acuerdo a algunos autores, la apomeiosis no es un carácter independiente, sino que ocurre debido a una desregulación temporal o espacial de los genes que controlan la vía de reproducción sexual (Sharbel et al., 2009; Baubec et al., 2010), que puede desencadenarse por la poliploidía, ya que la gran mayoría de las plantas apomícticas naturales son poliploides. No obstante, la sexualidad también es común en plantas poliploides, por lo tanto, la poliploidía en sí misma no es suficiente para desencadenar la apomixis, aunque puede alterar globalmente los patrones de expresión génica (Chen, 2007). La apomeiosis y la partenogénesis podrían resultar muy probablemente de mecanismos epigenéticos, como el silenciamiento de vías de la reproducción sexual por un grupo de genes, los cuales serían heredados como una unidad (Grimanelli, 2012).

Como se mencionara anteriormente, la manifestación de la apomixis depende fuertemente del nivel de ploidía, tanto que los genotipos diploides (por ejemplo, en *E. curvula*  $2n = 2x = 20$ ) son generalmente sexuales y los poliploides ( $2n = 4x = 40$  o mayores) son apomícticos (Asker y Jerling, 1992). Sin embargo, la apomixis es común en plantas diploides con embriogénesis adventicia, tales como *Citrus*, *Nothoscordum*, *Sarcococca* y *Euphorbia* (Gustafsson, 1946). La descripción de algunos diploides con apomixis

gametofítica parece ser la excepción a la regla y se pueden encontrar algunos ejemplos de ello en especies de los géneros *Boechera* (Kantama et al., 2007), *Paspalum* (Norrman et al., 1989; Siena et al., 2008; Delgado et al., 2014), *Potentilla* (Asker y Jerling, 1992) y *Brachiaria* (Naumova et al., 1999).

Existe una gran diversidad en los mecanismos de formación de una semilla apomítica: por un lado la embriogénesis adventicia, encontrada en 148 géneros y por el otro, la apomixis gametofítica que se diferencia entre la aposporía, representada en 110 géneros y la diplosporía, presente en 68 (Hojsgaard et al., 2014). En todos los mecanismos de apomixis conocidos y en todos los genotipos estudiados en profundidad, se ha observado que, en su mayoría, las plantas conservan cierta sexualidad remanente, por lo que deberían ser consideradas como facultativas. Los verdaderos apomíticos obligados son los que forman sólo semillas apomíticas y son muy raros en la naturaleza (Asker y Jerling, 1992).

Se ha observado que generalmente la hibridación y la poliploidía representan dos procesos importantes en la evolución de la apomixis en las angiospermas. Carman (1997) propuso la “teoría de la hibridación” que indica que la hibridación de dos especies con diferentes caracteres reproductivos puede contribuir a la inducción de la apomixis. El híbrido contiene dos sets de genes parentales que están involucrados en el desarrollo del saco embrionario y la embriogénesis. La expresión asincrónica de estos genes duplicados genera conflictos tanto en el lugar como en el momento de la iniciación de procesos embriológicos, ocasionando que los procesos sexuales no puedan realizarse y la planta se reproduce alternativamente por apomixis.

Algunas particularidades de las plantas apomíticas es que estas, en su mayoría, son perennes y poseen otros mecanismos de reproducción asexual, tales como estolones, rizomas o bulbos. Además son, en general, apomíticas facultativas, con un grado variable de sexualidad residual (Spillane et al., 2001), lo cual desde un punto de vista evolutivo posibilita la creación de nuevas combinaciones genotípicas en poblaciones naturales. Esta sexualidad residual encontrada en algunas poblaciones tetraploides puede ser utilizada

como fuente de variabilidad en el mejoramiento genético de especies forrajeras (Sartor et al., 2011).

Desde una perspectiva evolutiva, la apomixis puede haber evolucionado a partir del mismo marco molecular que sustenta la reproducción sexual (Hand y Koltunow, 2014). Cuando falla la reproducción sexual como consecuencia de la mutación de los genes correspondientes, aparece la apomixis para superar la infertilidad (Xu et al., 2022). En *Arabidopsis* se ha informado una serie de mutantes que presentan fenotipos con características similares a la apomixis, como *ago9* (Olmedo-Monfil et al., 2010) y *swi1* (Boateng et al., 2008), que participan en la remodelación de la cromatina; *spo11-1/2* (Grelon et al., 2001; Hartung et al., 2007), *mtopVIB* (Vrielynck et al., 2016), *dfo* (Zhang et al., 2012), *prd1* (De Muyt et al., 2007) y *rad50* (Gherbi et al., 2001; Vannier et al., 2006), que están involucrados en la formación de rupturas de doble cadena; *dmc1* (Couteau et al., 1999), *msh4* (Higgins et al., 2004) y *asy1* (Caryl et al., 2000), que son esenciales para la sinapsis cromosómica; *rec8* (Watanabe et al., 1999), *scc3* (Chelysheva et al., 2005) y *ahp2* (Schommer et al., 2003), que están involucrados en la primera división meiótica; *osd1* (Cromer et al., 2012) y *tam* (Magnard et al., 2001; Wang et al., 2004), que están relacionados con la transición de meiosis I a meiosis II; *tdm1* (Cifuentes et al., 2016), que controla el final de la meiosis; *msi1* (Guitton et al., 2005), que es capaz de iniciar el desarrollo partenogénico; *cenh3* (Ravi et al., 2010), que puede inducir haploidía; y *fie* (Ohad et al., 1999) y *fis* (Chaudhury et al., 1997), que pueden inducir el desarrollo del endosperma sin fertilización.

Los primeros estudios sobre la herencia de la apomixis (Nogler, 1984) demostraron que la apomixis está bajo control genético, aunque su expresividad puede verse afectada por modificadores genéticos o condiciones ambientales (Savidan, 2001). El estudio de los factores genéticos involucrados en la apomixis se complica por la naturaleza poliploide de la mayoría de las especies apomícticas, la disponibilidad adecuada de plantas sexuales compatibles y las dificultades para clasificar la progenie, particularmente porque los componentes de la apomixis pueden segregar. En cítricos y mango se ha propuesto la herencia de la apomixis esporofítica a través de un locus único dominante (Aron et al., 1998; Kepiro et al., 2010), mientras que en alguna especie apomíctica diplospórica los loci genéticos que controlan los procesos clave de la apomixis (apomeiosis, partenogénesis y



desarrollo autónomo del endosperma) son independientes entre sí. Por ejemplo, se han identificado dos loci independientes que controlan la diplosporía y la partenogénesis en especies de *Erigeron* y *Taraxacum* (Vašut et al., 2014, Noyes et al., 2000). La aposporía y la partenogénesis están determinadas por dos loci diferentes en *Hypericum* (Schallau et al., 2010), *Poa* (Albertini et al., 2001) y *Cenchrus* (Conner et al., 2013). En *Hieracium*, se han descubierto tres loci independientes, *LOA*, *LOP* y *AutE*, que controlan la aposporía, la partenogénesis y el desarrollo autónomo del endosperma, respectivamente (Catanach et al., 2006; Ogawa et al., 2013). Basados en datos de segregación, los genes que controlan la apomixis parecen ser pocos en número, aunque existe falta de recombinación en las regiones cromosómicas determinantes del carácter, como el locus determinante de la aposporía (ASGR, apospory-specific genomic region).

A pesar del descubrimiento de múltiples loci relacionados con la apomixis en diversas especies, sigue siendo difícil identificar los genes específicos que la controlan, ya que los loci relacionados suelen estar inhibidos para la recombinación y ubicados en regiones repetitivas (Xu et al., 2022). Hasta ahora, se han identificado unos pocos genes que están involucrados en diferentes componentes de la apomixis. En *Boechera* se han identificado dos genes candidato diferentes, *APOLLO* que está relacionado con el locus de la apomixis y *UPGRADE2* relacionado con el desarrollo del grano de polen no reducido (Corral et al., 2013; Mau et al., 2013). La expresión de *APOLLO* y *UPGRADE2* está fuertemente correlacionada con la formación de óvulos y de polen apomeióticos, respectivamente. En *Tripsacum*, se propone que *AGO104*, que está involucrado en la metilación del ADN, es necesario para la correcta condensación de la cromatina durante la meiosis (Singh et al., 2011). En *Oryza sativa*, se identificó el gen *PAIR1* como el que desempeña un rol esencial en la sinapsis cromosómica en la primera fase de la meiosis (Nonomura et al., 2004). Para la aposporia se ha sugerido al gen *QUI-GONJINN (QGJ)* que codifica una MAP3K en *Paspalum notatum*, como esencial para la formación del saco embrionario (Mancini et al., 2018). En *Brachiaria brizantha*, el patrón de expresión específico de *GIBBERELLININSENSITIVE DWARF1 (GID1)* sugiere su función en la diferenciación de la célula inicial para formar el saco embrionario apospórico (Ferreira et al., 2018). En el apomictico *Hieracium*, la disminución transitoria de la expresión de un gen de identidad de órgano floral (*DEFICIENS*) en la región calazal se asocia con la formación de células

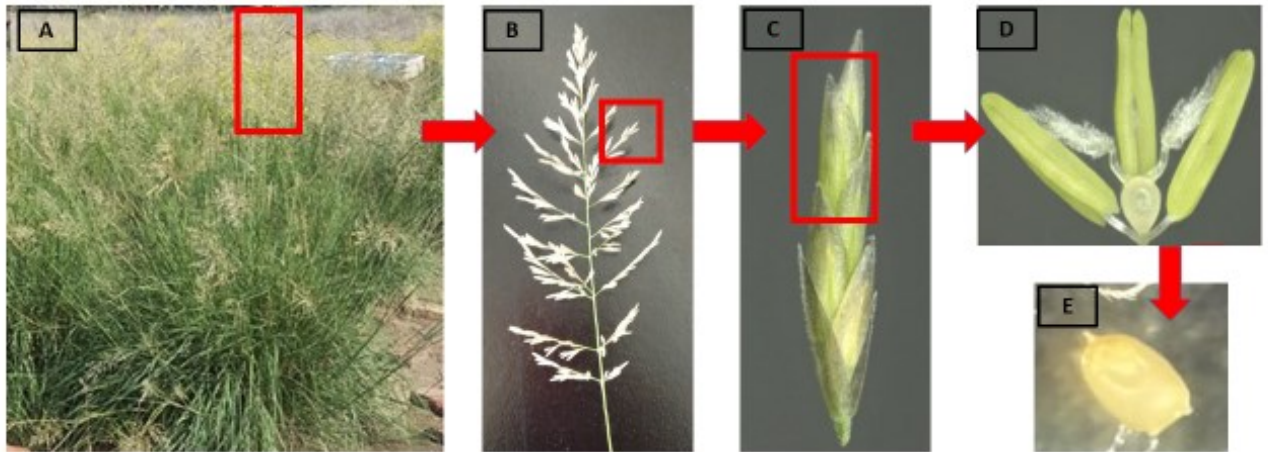
iniciales apospóricas (Guerin et al., 2000). De manera similar, en *P. notatum*, se propuso que *PnTgs1-like* juega un papel importante en el destino de las células nucelares, ya que su expresión reducida está asociada con la iniciación de la vía apospórica (Siena et al., 2014). En *Poa pratensis*, se propone que *PpSERK* es responsable de la formación de la célula inicial apospórica y el desarrollo del saco embrionario asexual (Albertini et al., 2005). Para la formación autónoma del endosperma, se demostró que *ORC3* y *FIE* son genes candidato vitales. La expresión precisa de *ORC3* en las líneas celulares germinales determina el desarrollo del endosperma en el apomictico *Paspalum simplex* (Siena et al., 2016). En *Malus hupehensis*, *FIE* participa en la regulación de la formación de semillas asexuales (Liu et al., 2012). La expresión ectópica de *MhFIE* en tomate produce frutos partenocárpicos (Liu et al., 2012). Para la partenogénesis, se demostró que *ASGR-BBML* de *Pennisetum squamulatum* es el gen candidato más prometedor. Este gen se expresa en óvulos no fertilizados y la transformación del mijo perla sexual con el gen *ASGR-BBML* puede desencadenar la partenogénesis (Conner et al., 2015; Akiyama et al., 2011). Recientemente, se aisló el gen *Parthenogenesis (PAR)* del diente de león, que puede inducir estructuras similares a embriones sin fertilización en lechuga (Underwood et al., 2022). Además, la mutación de una fosfolipasa específica del polen, *MTL1*, puede inducir la eliminación del genoma paterno y la obtención de embriones haploides en maíz y arroz (Kelliher et al., 2017). Para la embriogénesis adventicia, también se han informado varios genes candidato. El gen *CitRWP* fue identificado en cítricos por análisis genético de poblaciones segregantes y se demostró que está asociado con la formación de embriones nucelares. En otra planta apomíctica esporofítica típica, *Zanthoxylum bungeanum*, la expresión de *AGL11* se correlaciona con el desarrollo de embriones nucelares y su expresión ectópica puede llevar al desarrollo anormal de flores y simular fenotipos apomícticos en *Arabidopsis* (Fei et al., 2021).

En relación a la especie en estudio, *Eragrostis curvula* (Schrader) Nees, vulgarmente llamada pasto llorón, es una gramínea originaria del sur de África, perteneciente al género *Eragrostis* Wolf, tribu Eragrostideae. En Argentina, fue introducida entre las décadas de 1930 y 1940 y actualmente es cultivada en una superficie superior a las 270.000 has (INDEC 2018), principalmente en la zona semiárida templada del país, donde es utilizada como forrajera y para fijar y conservar suelos arenosos y/o de poca fertilidad (Figura I.1).



**Figura I.1.** Plantas de *E. curvula* al costado de la Ruta Nacional N°3.

*Eragrostis curvula* constituye un grupo morfológicamente diverso, por lo que no se encuentra bien clasificado y suele denominarse “complejo *E. curvula*” o *E. curvula sensu lato* (Voigt et al., 2004). Las características morfológicas incluyen una lígula pilosa y aurícula vestigial, inflorescencia en panoja de 15 a 40 cm de longitud y con un gran número de espiguillas multifloras (6 a 12 flores) basítonas (la maduración comienza en las basales). Las flores tienen de 1 a 3 estambres (3 con mayor frecuencia) y el pistilo posee 2 estilos con estigmas plumosos (Figura I.2). Las semillas son ovoides, de color castaño a rojizo y muy pequeñas (0,5 a 1,7 mm de longitud) (Voigt et al., 2004).



**Figura 1.2.** A) Planta de *E. curvula* con el detalle ampliado de B) panoja, C) espiguilla, D) flor con 3 estambres y 2 estilos con estigmas plumosos y E) semilla.

*Eragrostis curvula* es una especie de crecimiento estival que requiere temperaturas que superen los 12 °C como media anual, y aunque comienza a brotar tempranamente en el mes de septiembre, no es afectada por heladas tardías. Con respecto a sus requerimientos hídricos, puede sobrevivir adecuadamente con lluvias de entre 250 a 350 mm anuales (Kent, 2019).

La forma particular de las hojas de *E. curvula*, que emergen verticalmente y luego se curvan hacia abajo, genera una apariencia “triste” o “decaída” de la planta, por lo que se la conoce como “pasto llorón”. Presentan anatomía foliar con estructura *Kranz*, específica de aquellas plantas con proceso de fijación de CO<sub>2</sub> del tipo C4 (Ellis, 1984), lo que implica una utilización más eficiente de los recursos necesarios para la fotosíntesis y la fijación de dióxido de carbono. Además, posee ceras epicuticulares y la capacidad de enrollamiento foliar en respuesta a sequía, lo que le permite mayor crecimiento y producción de biomasa durante su ciclo vegetativo, aún en suelos con escasa humedad (Echenique y Curvetto, 1986). Se ha observado que esta especie mejora la estructura del suelo e incorpora materia orgánica. Presenta una respuesta rápida a la fertilización con nitrógeno, especialmente en las etapas tempranas del crecimiento (Voigt et al., 2004).

Con respecto a su utilización como forrajera, es notable la pérdida de calidad a lo largo del ciclo de crecimiento (Luciani et al., 2012; Gallardo et al., 2023) y a medida que las

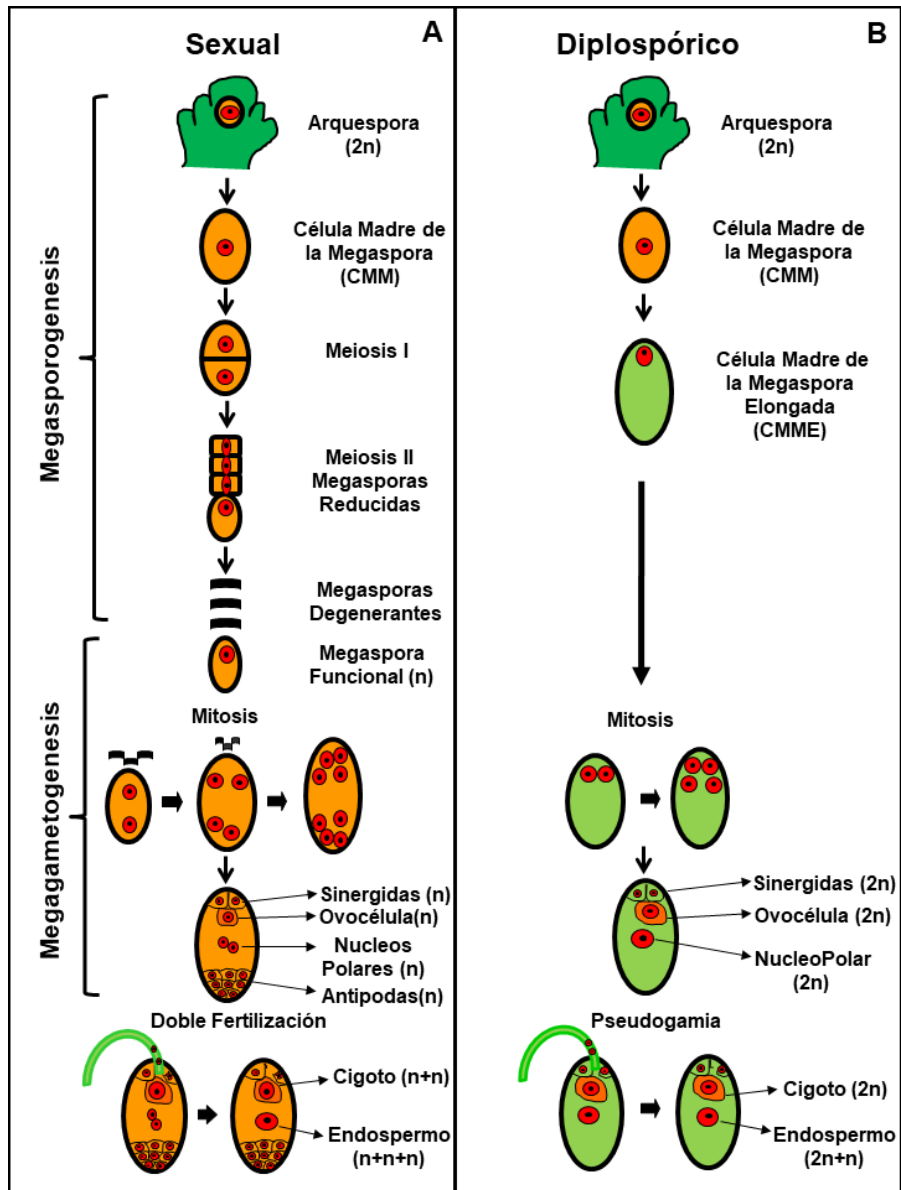
temperaturas disminuyen. Sin embargo, su hábito de crecimiento erecto, la capacidad de producir forraje verde hasta avanzado el otoño y su rebrote primaveral, sumado a la gran adaptación que posee en zonas marginales con escasas precipitaciones y suelos poco fértiles, la convierten en una forrajera imprescindible para la zona semiárida de nuestro país.

*E. curvula* incluye genotipos de diferente ploidía que van desde los 2X hasta 8X ( $X = 10$ ), aunque los diploides son raramente hallados en la naturaleza y la mayoría son poliploides, existiendo además formas aneuploides. Los diploides se reproducen sexualmente mediante polinización cruzada ya que son autoincompatibles, mientras que los poliploides se reproducen por apomixis y pueden autopolinizarse por ser autocompatibles. No se han encontrado variedades sexuales tetraploides en la naturaleza, y solo se conoce un genotipo obtenido experimentalmente (OTA-S) a partir de la cruce de dos genotipos diploides (Voigt, 1976). Dentro del complejo *E. curvula*, los materiales par-poliploides parecen ser mucho más abundantes que los impar-poliploides (Poverene, 1988) y la persistencia de estos últimos y de aneuploides se debe a la reproducción apomíctica. Sin embargo, la inestabilidad meiótica que los caracteriza necesariamente debe representar una desventaja adaptativa (Poverene y Curvetto, 1991).

Los primeros estudios sobre el sistema reproductivo del pasto llorón lo describen como apomíctico obligado (Brown y Emery, 1958; Leigh, 1960). Streetman (1963) concluyó que el tipo de apomixis presente en *E. curvula* es la diplosporía y la polinización es necesaria para la formación de la semilla (pseudogamia). El descubrimiento de apomixis facultativa en *E. curvula* (Voigt y Bashaw, 1973, 1976; Brix, 1974) demostró que el sistema reproductivo del pasto llorón es sumamente complejo. Voigt y Burson (1992) consideran que probablemente la mayor parte de las líneas son apomícticas facultativas, con una baja frecuencia de reproducción sexual. En estudios más recientes (Meier et al., 2011; Rodrigo et al., 2017) realizados sobre distintos genotipos de pasto llorón, se encontraron evidencias de que varios de ellos son facultativos, otros apomícticos obligados y algunos sexuales.

La formación del saco embrionario en pasto llorón ha sido descrita por varios autores (Streetman, 1963; Voigt y Bashaw, 1972, 1976; Brix, 1974; Stalker y Wright, 1975; Vorster y Liebenberg, 1984; Rabeau et al., 1986). Tanto en procesos sexuales como apomícticos, la secuencia se inicia cuando la célula arquesporial se diferencia a partir de una célula hipodérmica de la nucela. En el sexual (Figura I.3A) esta célula, llamada célula madre de las megásporas (CMM), se expande poco a poco hasta iniciar la primera división meiótica. Inmediatamente le sigue la segunda división meiótica, donde la célula calazal y la micropilar se dividen transversalmente dando una tétrada lineal o bien, excepcionalmente, la célula micropilar se divide perpendicularmente formando una tétrada en T. Poco después de la formación de la tétrada las tres megásporas micropilares sufren apoptosis, quedando sólo la megáspora calazal, que dará origen al saco embrionario. El saco sexual, de tipo Polygonum (Vorster y Liebenberg, 1984), finaliza su formación tras tres divisiones mitóticas dando una ovocélula, dos sinérgidas, dos núcleos polares y tres antípodas. Estas últimas pueden dividirse y formar un promedio de 15 células en el polo calazal (proliferación de antípodas). Cuando el tubo polínico penetra en el saco embrionario se produce una doble fecundación: un núcleo del grano de polen se fusiona con el núcleo de la ovocélula para formar el cigoto, mientras que otro se fusiona con los núcleos polares y se convierte en el endosperma que proporciona nutrientes para el desarrollo del embrión.

En el caso de los apomícticos diplospóricos, la célula nucelar también comienza a agrandarse, pero no sufre meiosis y la vacuola calazal, que es la que más crece, se torna dominante y empuja al núcleo hacia el polo micropilar. La vacuola continúa creciendo hasta que su tamaño es similar al saco embrionario sexual bi o tetranucleado. Luego, ésta megáspora elongada (CMM), tras dos divisiones mitóticas sucesivas, forma el saco embrionario tetranucleado, tipo Eragrostis (Crane, 2001), que se compone de una ovocélula, dos sinérgidas y un núcleo polar (Figura I.3B). Cuando es penetrado por el tubo polínico, ocurre solamente la fecundación del núcleo polar (pseudogamia). En ningún caso se ha observado actividad de las células nucleares, por lo que se ha descartado la aposporia como mecanismo reproductivo en pasto llorón (Streetman, 1963; Voigt y Bashaw, 1972).



**Figura I.3.** Megagametogénesis en pasto llorón. A: Proceso sexual y B: Proceso apomítico diplospórico tipo *Eragrostis*. Tomado de Meier et al., 2008.

La apomixis de tipo *Eragrostis* tiene características particulares que lo convierten en un modelo único e interesante para la transferencia de apomixis, especialmente para cultivos como el maíz, que son muy sensibles a los cambios en la relación de ploidía entre el embrión y endosperma, que debe ser igual a 2 : 3. En pasto llorón, esta relación es la misma tanto en la semilla sexual (2 : 3) como en la apomítica (2 : 3). Esta es una diferencia importante con respecto a otros modelos apomíticos en los que la situación es variable y relajada (el endosperma se puede desarrollar bajo una amplia gama de relaciones)

(Hojsgaard, 2018). La relación de ploidía embrión : endosperma es estrictamente 2 : 3 en varias especies modelo porque en las primeras etapas del desarrollo del embrión y del endosperma muchos alelos se silencian (imprinting), dependiendo de su origen materno o paterno. Cualquier desviación en la dosis resultará en la detención del desarrollo del endosperma y el aborto de la semilla (Brukhin, 2017).

A pesar de los estudios realizados hasta el momento, las bases genéticas y moleculares que condicionan la apomixis no han sido completamente dilucidadas. Conocer los factores que determinan la apomixis podría tener un gran impacto en la agricultura, habiéndose estimado que sus beneficios superarán en gran medida a aquellos de la revolución verde (Grossniklaus et al., 1998).

En las últimas décadas, se han realizado muchos estudios sobre la apomixis y su control genético y, principalmente en la forma de transferir la reproducción apomíctica a los principales cultivos económicos. Se ejecutaron numerosos intentos de transferir el carácter sobre todo a cereales cultivados, sin embargo, esta transferencia no ha sido exitosa principalmente porque los genes involucrados aún no han sido identificados (Kumar et al., 2017). Uno de los principales objetivos de manipular la apomixis se relaciona con la posibilidad de fijar la heterosis en F1 para los rasgos de interés (Miles, 2007; Kumar et al., 2017). Se espera que estos híbridos apomícticos mantengan su potencial y su constitución multigénica compleja durante sucesivas generaciones a través de la propagación por semilla. También, facilitaría la tecnología de transgénicos, ya que una vez introducido un transgén en un fondo genético apomíctico no sería necesario realizar retrocruzas para que sea heredado de manera uniforme por la progenie. Recientemente se informaron los primeros eventos exitosos de obtención de plantas apomícticas en arroz obtenidas mediante edición génica de genes identificados en mutantes de *Arabidopsis* y especies apomícticas como *REC8*, *PAIR1*, *OSD1* y *BBM1* o *MTL* (Khanday et al., 2019; Wang et al., 2019; Xiong et al., 2023). Estos logros muestran la posibilidad de introducir/modificar los componentes clave para desarrollar un sistema apomíctico artificial que permita la multiplicación de combinaciones heteróticas de alelos a través de semillas. Sin embargo, la eficiencia de este sistema para generar semillas clonales dista



bastante de la de los sistemas apomícticos naturales y necesita ser mejorado. Para ello es crucial dilucidar el mecanismo que controla el carácter y las vías metabólicas involucradas.

Tradicionalmente, el estudio de los mecanismos y genes involucrados en el control de la apomixis se realizó de dos maneras. Una de ellas fue el estudio de la herencia y los marcadores vinculados al carácter y, por otro lado, encontramos enfoques funcionales utilizando especies apomícticas naturales o mutantes de plantas sexuales modelo (revisiones Ozias-Akins y van Dijk, 2007; Xu et al., 2022). Ambos enfoques están fuertemente interrelacionados y contribuyeron al progreso en la investigación de la apomixis.

Nuestro grupo encaró proyectos en ambas direcciones tendientes a identificar los determinantes del carácter, obteniendo resultados en ambos casos. Se generaron a partir de cultivo *in vitro* y tratamiento con colchicina, una serie de plantas emparentadas (Cardone et al., 2006), que facilitaron el estudio de cambios morfológicos, genéticos y de expresión génica, relacionados con las diferencias en ploidía y modo reproductivo, y que permitieron realizar análisis con marcadores moleculares, análisis de estado de metilación del ADN, análisis de expresión diferencial, etc. (Mecchia et al., 2007; Cervigni et al., 2008; Ochogavia et al., 2009; Selva et al., 2012; Romero et al., 2016).

Con el ADNc de estas plantas, se generaron genotecas de inflorescencias y de hojas, y se llevó a cabo un análisis de expresión basado en la secuenciación de ESTs (expressed sequence tags), permitiendo la identificación de genes expresados diferencialmente con respecto a la ploidía y/o al modo reproductivo (Cervigni et al., 2008). El estudio de estas bibliotecas, junto con análisis de display diferencial (Selva et al., 2012) realizados con estos genotipos, tanto en hojas como en inflorescencias, permitió obtener otro grupo de potenciales genes.

La cantidad de genes que se logró secuenciar con este tipo de técnicas fue muy baja y por ello, se decidió utilizar la tecnología de pirosecuenciación Roche 454, con el fin de obtener, mediante un ensamblado *de novo*, un transcriptoma de referencia de la especie (Garbus et al., 2017). El ARN utilizado para la secuenciación se obtuvo a partir de dos accesiones

tetraploides de *E. curvula*, el cv. Tanganyika (PI234217, USDA) totalmente apomítico y el cv. OTA-S (PI574506, USDA) sexual. Los transcriptos con potencial importancia comprendían unos 100 genes revelados por estudios de display diferencial, alrededor de 180 mediante el análisis de genotecas de ESTs y aproximadamente unos 9.000 obtenidos a partir del análisis de las genotecas secuenciadas mediante la tecnología Roche 454. Para unificar esta información y lograr un análisis más detallado, se tomaron dos grupos de los transcriptos (los ESTs y todas las secuencias obtenidas mediante Roche 454) y se diseñó de un microarreglo SurePrint G3 1x1M (Agilent), siendo hibridado con ARN de inflorescencias de cuatro genotipos con reproducción sexual y cuatro con reproducción apomítica.

Paralelamente al estudio de los genes candidato se llevó a cabo un proyecto de secuenciado del genoma de la especie. Se logró obtener un ensamblado *de novo* del genoma de *E. curvula*, mediante el secuenciado de 602 Mb de un diploide (cv. Victoria), utilizando una estrategia que combinó la secuenciación de fragmentos largos mediante la tecnología PacBio, con las tecnologías de ensamblado Chicago® y Hi-C de Dovetail™ (Carballo et al., 2019). A su vez, con el objetivo de localizar una región genómica que contenga el locus correspondiente a la herencia del carácter apomixis, se construyó una población de mapeo de 61 híbridos, a partir de la cruce del genotipo tetraploide sexual OTA-S y un apomítico facultativo Don Walter INTA ( $2n = 4X = 40$ ) como donante de polen. Se logró construir un mapa genético saturado de *E. curvula* donde se detectó un locus responsable de la apomeiosis (Zappacosta et al., 2019).

La posibilidad de que la apomixis esté regulada epigenéticamente es una hipótesis atractiva con un apoyo creciente de estudios en plantas sexuales, donde las mutaciones en las vías epigenéticas conducen a fenotipos similares a la apomixis. Estudios realizados en plantas sexuales como *A. thaliana* y maíz revelaron alteraciones en las vías de metilación del ADN y de pequeños ARNs en mutantes con fenotipos similares a la apomixis (García-Aguilar et al., 2010; Olmedo-Monfil et al., 2010; Singh et al., 2011; Hernández-Lagana et al., 2016), dando respaldo a que mutaciones en ciertos reguladores epigenéticos conducen a la inducción de elementos de apomixis en plantas sexuales. Otros estudios

muestran un mayor nivel de metilación de citosinas en *Paspalum notatum* y *P. simplex* en la región determinante de la apomixis (ASGR) y el tratamiento con desmetilantes tiene poco efecto sobre la aposporía y reduce significativamente la partenogénesis (Podio et al., 2014). En *E. curvula* se encontró expresión diferencial de metiltransferasas de ácidos nucleicos entre plantas sexuales y apomícticas (Selva et al., 2017) y se encontraron regiones diferencialmente metiladas en genotipos sexuales, apomícticos facultativos y apomícticos obligados (Carballo et al., 2021). Una de las principales evidencias halladas en este último trabajo fue la postulación del gen *ROS1*, que en *Arabidopsis* desmetila más de 5000 genes (Qian et al., 2012) como desrepressor putativo de las vías conducentes al aumento en la frecuencia de la sexualidad en genotipos apomícticos facultativos sometidos a condiciones de estrés (Rodrigo et al., 2017; Selva et al., 2020).

## **Hipótesis y objetivos**

### **Hipótesis**

- La apomeiosis en pasto llorón (*Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees.) está determinada por uno o más locus, posibles de mapear con marcadores moleculares en una población segregante para el carácter.
- La frecuencia de apomeiosis en genotipos apomícticos facultativos de pasto llorón se modifica bajo condiciones de estrés y se encuentra sujeta a un fuerte control epigenético, donde intervienen vías de metilación del ADN.

### **Objetivo general**

El objetivo general de esta tesis es contribuir a la dilucidación de las bases genéticas y epigenéticas que regulan uno de los componentes de la apomixis (apomeiosis) en la especie *E. curvula*. Para ello se plantea:

- Mapear la región determinante de la apomeiosis en *Eragrostis curvula* utilizando una población segregante para el carácter.
- Dilucidar la regulación epigenética de la apomeiosis a través del análisis de diferentes situaciones de estrés interno y externo que conducen a cambios en el porcentaje de sacos sexuales y apomícticos en individuos facultativos.
- Determinar la relación entre la metilación del ADN en condiciones de estrés hídrico y el incremento en sacos sexuales en un genotipo apomíctico facultativo.

# **CAPÍTULO 1. Construcción de un mapa genético de alta densidad para la localización del locus condicionante de la diplosporía en pasto llorón**

## **Introducción**

El mapeo genético consiste en posicionar los loci a lo largo de los cromosomas y ordenarlos unos en relación a otros. El ordenamiento se realiza estimando la frecuencia de los quiasmas, que son las zonas donde se produce el intercambio de material genético entre cromosomas homólogos durante la profase I de la meiosis (Collard et al., 2005).

La construcción de un mapa de ligamiento requiere de tres requisitos fundamentales. En primer lugar, es necesario realizar el cruzamiento de padres contrastantes en el carácter de interés y así generar una población segregante. En segundo lugar, se debe realizar la caracterización genotípica, a través de marcadores moleculares, de los individuos que conforman esta población de mapeo y, finalmente, determinar su fenotipo a través de rasgos morfológicos, fisiológicos o de comportamiento (Collard et al., 2005). Luego, utilizando programas informáticos adecuados se pueden establecer relaciones entre el genotipo y el fenotipo de manera de identificar los genes y regiones genómicas que controlan el carácter investigado.

Cuanto mayor sea la cantidad de marcadores utilizados y el número de individuos que conforman la población de mapeo, mejor será la resolución del mapa, ya que se logrará una mayor cantidad de eventos de recombinación (Collard et al., 2005). El tamaño de las poblaciones en estudios preliminares se encuentra generalmente en el rango de 50 a 250 individuos (Mohan et al., 1997; Xu, 2010).

El estudio de genes o regiones genómicas asociadas a rasgos de interés es posible gracias a la existencia de polimorfismos nucleotídicos, que se detectan utilizando marcadores genéticos (también llamados marcadores moleculares). Los marcadores son segmentos de ADN que muestran los polimorfismos en las secuencias entre individuos dentro de una especie, que pueden provenir de modificaciones en la secuencia de ADN o de la longitud

de fragmentos por inserciones, deleciones o acumulación de copias (secuencias repetitivas). Estos polimorfismos son ubicuos y abundantes en todos los organismos vivos y segregan, la mayoría de las veces, de manera mendeliana (Collard et al., 2005).

El desarrollo de marcadores moleculares, su imputación a los individuos de la población de mapeo y el análisis de su segregación ha sido tradicionalmente un proceso de alto costo con muchas etapas laboriosas y que consumen mucho tiempo. Los marcadores moleculares basados en ADN son los métodos más efectivos para desarrollar variedades de cultivos deseables en el fitomejoramiento moderno.

Se han desarrollado numerosos métodos de genotipado utilizando marcadores genéticos, basados en la reacción de PCR, como las repeticiones de secuencia simple (SSR) y los polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), que han contribuido en gran medida a nuestra comprensión actual de la organización del genoma y la variación genética, pero están limitados por su dependencia de la electroforesis en gel, lo que resulta en un bajo rendimiento. Además, todos los métodos basados en la separación por tamaños de múltiples fragmentos de ADN tienen dificultades para correlacionar con precisión las bandas en los geles con las variantes alélicas.

En los últimos años se han desarrollado técnicas de secuenciación de última generación (NGS), que detectan las variaciones en la secuencia del genoma que afectan a una sola base de ADN y que se conocen como SNP por sus siglas en inglés (Single Nucleotide Polymorphism). Una de estas variaciones debe darse al menos en un 1 % de la población para ser considerada como un SNP (Rafalski, 2002). Si el valor es menor, sólo se lo considera una mutación puntual. Si bien son muy exitosos, los SNPs requieren información previa de la secuencia, lo que los hace costosos, especialmente para genomas complejos o especies poliploides. Otros marcadores que también pueden obtenerse por secuenciación son los derivados de inserciones-deleciones (InDels) (Steglich y Nubel, 2017).

Años atrás, surgió una estrategia denominada genotipado por secuenciación (Genotyping By Sequencing, GBS) (Elshire et al., 2011; Poland et al., 2012) que utiliza el concepto de

representación reducida del genoma, que se logra usualmente mediante la utilización de enzimas de restricción que generan una serie de fragmentos comparables entre los individuos de la población. Además, estas enzimas de restricción son sensibles a la metilación, por lo que evitan regiones repetitivas del genoma y permiten realizar una secuenciación más eficiente de fragmentos únicos o con menor número de copias (Elshire et al., 2011). Luego, mediante el uso de secuencias cortas características (código de barras o “barcodes”) se marcan los ADNs provenientes de cada uno de los individuos, se agrupan en un pool y se secuencian en conjunto reduciendo los costos de la secuenciación. Esta técnica ha permitido lograr mapas de ligamiento de alta densidad a bajo costo en cebada, trigo, arroz y alfalfa, entre otros cultivos (Poland et al., 2012; Spindel et al., 2013; Li et al., 2014).

Recientemente nuestro grupo de trabajo construyó el primer mapa de ligamiento de *E. curvula*, utilizando una población de mapeo obtenida de la cruce entre un progenitor femenino sexual (OTA-S) y uno masculino apomítico facultativo (Don Walter) (Zappacosta et al., 2019). Esta población fue genotipada con la tecnología GBS, la cual permitió obtener marcadores de tipo SNPs para construir los mapas de ligamiento correspondientes a cada uno de los genotipos parentales. También se utilizaron marcadores de tipo AFLP y SSR. El bajo número de individuos que integraba la población (61), no fue suficiente en esa oportunidad para lograr un mapa consenso y por lo tanto, se realizó un mapa de ligamiento para cada uno de los progenitores y, en el mapa paterno (cv. Don Walter) fue posible delimitar una región ligada a la apomeiosis en el grupo de ligamiento 3 (GL3).

Posteriormente al GBS, surgió una tecnología llamada Diversity Array Technology (DArT-Seq), que permite realizar una caracterización genética detallada y precisa, en poco tiempo y a bajo costo, ya que realiza la secuenciación de muchas muestras simultáneamente. De esta manera se pueden identificar decenas a centenas de miles de marcadores moleculares a partir de representaciones genómicas reducidas, valiéndose de plataformas de secuenciación de última generación (Vikram et al., 2016). Los marcadores DArT-Seq son de tipo SNPs (variaciones en la secuencia de ADN que afectan a una sola base) e InDels o también llamados Silico-DArT (variaciones debidas a la incorporación o

deleción de un segmento de ADN) y pueden proporcionar un análisis profundo de la diversidad genética, un perfil del genoma completo y un mapeo de alta densidad de características complejas, contribuyendo significativamente a la mejora de varias especies de cultivos. Esta técnica tiene múltiples ventajas sobre otras técnicas similares como el GBS, ya que genera datos más confiables, por el sistema de análisis informático y por las enzimas de restricción de alta fidelidad utilizados y por el sistema intrínseco de muestras duplicadas. Al ser más estandarizado, se pueden incorporar nuevas muestras sin necesidad de volver a secuenciar las ya secuenciadas, permitiendo agregar nuevos individuos a muestras ya analizadas.

La tecnología DArT-Seq consta de varias etapas, que se pueden resumir de la siguiente manera:

- 1) Extracción de ADN de las muestras de interés. Es necesario que el ADN sea de muy buena calidad, por lo que se suele utilizar tejido foliar joven.
- 2) Digestión del ADN genómico con enzimas de restricción sensibles a la metilación. Se utiliza una combinación de enzimas de corte frecuente y otra de corte raro (por ejemplo: *PstI* y *NspI*) que generan fragmentos de diferentes tamaños. Estas enzimas permiten la obtención de aquellas regiones en el ADN que son más probables de contener información de genes activos, separándolas de las regiones repetitivas del ADN dentro del genoma.
- 3) Ligación de los fragmentos digeridos de ADN a un adaptador y a un barcode a través de sus extremos cohesivos, de tal manera que la construcción sea extremo cohesivo de corte de *PstI*-adaptador-barcode y en el otro extremo solo se unirá el adaptador. Los barcodes son secuencias de ADN, con 6 a 9 nucleótidos combinados de manera aleatoria, de modo que la secuencia resultante sea única e inequívoca para representar a cada uno de los genotipos.
- 4) Amplificación de los fragmentos de ADN utilizando cebadores específicos para los adaptadores ligados a los fragmentos específicos.



5) Generación de un “pool de targets” o conjunto de blancos, donde cada target o blanco está representado por los fragmentos amplificados de cada muestra, los cuales contienen los adaptadores integrados, las secuencias de los primers y el barcode. Los targets calificados como de buena calidad se mezclan en un solo tubo Eppendorf para realizar una librería. En el caso de que se procese más de una placa, como fue nuestra situación, se realiza un super pool, del que se toma también una muestra representativa de cada pool que se ha generado por cada placa. Una vez que la librería está lista se realiza su cuantificación precisa, para esto se toman varias lecturas del pool y se saca un promedio para saber la concentración de ADN presente en la librería.

6) Secuenciación de los fragmentos amplificados utilizando secuenciadores automáticos de alta capacidad de lectura. En este caso se realizó en el equipo NovaSeq6000, que realiza una secuenciación por síntesis y se basa en terminadores reversibles, donde en cada ciclo se incorpora una base fluorescente “marcada” y esta es identificada por excitación láser.

7) Realización de un ensamblado *de novo*, que sirve como representación genómica de referencia. Al comparar las muestras con estas representaciones genómicas se obtienen los marcadores SNPs e InDels.

8) Identificación de los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) y los sitios de presencia/ausencia (InDels) entre las muestras, a través del análisis bioinformático de los datos de secuenciación. Se realiza un filtrado de las secuencias, utilizando varios parámetros de calidad para eliminar los errores de secuenciación y se clasifican según los barcodes. De esta manera, se obtienen decenas o centenas de miles de polimorfismos por cada tipo de marcador (InDels y SNPs) y por cada muestra analizada.

La construcción de mapas de ligamiento de especies poliploides resulta más complicada que en el caso de las diploides. El mapeo de poliploides presenta problemas característicos respecto a diploides, ya que los métodos estadísticos para el estudio de la segregación son mucho más complejos y se necesitan poblaciones de mapeo con mayor cantidad de individuos para obtener estimaciones fiables de distancia genética (Aversano et al., 2012). La herencia de las especies autoploides es polisómica, es decir, los cromosomas

homólogos dentro de un mismo grupo se aparean al azar durante la meiosis. Por otro lado, las especies aloploidoides presentan herencia disómica y por ello su genética es similar a la de los diploides, excepto por los múltiples genomas que los componen. En esta tesis se estudia la especie *E. curvula*, considerada como aloploidioide, aunque se ha registrado la formación de multivalentes en algunos genotipos poliploides, como Tanganyika y Don Eduardo (Poverene, 1988; Vorster y Liebenberg, 1977) habiéndosela clasificado como aloploidioide segmental (Poverene 1988).

Con respecto al método para realizar el fenotipado de la apomeiosis en *E. curvula*, es necesario considerar que los procesos sexuales y apomícticos presentan determinadas características que tienen que ser tomadas en cuenta a la hora de elegir el método más adecuado. Si bien en la Introducción General fueron detalladas las principales características de ambos procesos, para el análisis citoembriológico hay que analizar las principales diferencias en la megasporogénesis y megagametogénesis entre pistilos sexuales y apomícticos. En el proceso sexual se observa la célula madre de la megáspora sin elongación y la ocurrencia de meiosis con una tétrada y/o con las megásporas degenerantes. En el proceso apomictico la célula madre de la megáspora se observa claramente elongada y no hay rastros de meiosis. Los sacos embrionarios, muestran distinta posición de los núcleos y en el proceso sexual, durante las divisiones meióticas los sacos pueden ser bi o tetranucleados, con 2 o 4 núcleos que se posicionan en los polos opuestos, respectivamente, mientras que en el proceso apomíctico los sacos también pueden ser bi o tetranucleados, pero los núcleos se observan agrupados sobre el polo micropilar. Por último, los sacos embrionarios sexuales, cuando están maduros tienen 8 o más núcleos (proliferación de antípodas) y los apomícticos sólo tienen 4 núcleos (sin antípodas).

En función de todo lo expuesto, se consideró que era necesario mejorar la definición del mapa de ligamiento de *E. curvula*, de manera de alcanzar mayor precisión en el mapeo del locus determinante de la apomeiosis y obtener marcadores moleculares ligados al carácter. Por ello, el objetivo de este Capítulo de la tesis fue incrementar el tamaño de la población de mapeo mediante la realización de nuevos cruzamientos de los mismos

parentales usados en la población previa (OTA-S x Don Walter), genotipar los individuos de ambas poblaciones (previa y nueva) con marcadores DArT-Seq y fenotipar los nuevos individuos mediante citoembriología y marcadores moleculares ligados al carácter.

### **Objetivos específicos**

1- Ampliar el tamaño de la población de mapeo existente mediante cruzamientos entre el genotipo sexual OTA-S y el apomíctico facultativo cv. Don Walter.

2- Fenotipar la población de mapeo con técnicas citoembriológicas y con marcadores moleculares.

3- Genotipar la población de mapeo completa con marcadores SNPs obtenidos por DArT-Seq.

4- Desarrollar un mapa de alta densidad, consenso entre los parentales identificando la/s región/es condicionantes de la apomeiosis.

5- Correlacionar la/s región/es asociadas a la apomeiosis con el genoma de referencia de la especie correspondiente al cv. Victoria.

6- Comparar la región asociada a la apomeiosis obtenida en el mapa consenso con el grupo de ligamiento 3 del mapa genético previo del genotipo parental apomíctico facultativo (cv. Don Walter).

### **Materiales y métodos**

#### ***Material vegetal y cruzamientos***

Para la obtención de la población de mapeo se seleccionaron parentales contrastantes en el carácter a evaluar (modo reproductivo) y sus panojas fueron encimadas y ensobradas para favorecer la polinización. El genotipo sexual OTA-S (USDA accesión PI574506,  $2n = 4X = 40$ ) se cruzó con el apomíctico facultativo Don Walter (INTA,  $2n = 4X = 40$ ) como donante de polen. Las plantas se encontraban en macetas de 5L, en un invernáculo con fotoperiodo

natural y a una temperatura de 25 +/- 3 °C, en la ciudad de Bahía Blanca (38°43'0"S, 62°16'0"O). En la estación invernal, durante unos 15 o 20 días, las macetas eran retiradas del invernadero y llevadas a la intemperie, ya que son pastos de altura y necesitan vernalizarse para florecer.

La población de mapeo fue lograda en dos etapas. La primera población estaba integrada por 61 individuos (Zappacosta et al., 2019) de los cuales sobrevivieron sólo 48 al momento de realizar el presente estudio. Debieron realizarse nuevos cruzamientos entre los parentales a fin de aumentar el número de híbridos y darle más robustez al mapa de ligamiento. Esta etapa resulta muy laboriosa en pasto llorón debido a que el reducido tamaño de las espiguillas hace imposible la emasculación, haciendo que una gran parte de las semillas logradas sean producto de autopolinización materna.

### ***Siembra de las semillas y establecimiento de las plantas F1***

Las semillas provenientes de los cruzamientos, fueron almacenadas en heladera a 4 °C, durante unas 2 - 3 semanas. Luego se sumergieron en alcohol 70 % por 1 min, lavandina al 50 % por 3 min, seguido por tres lavados en agua destilada estéril. Finalmente se sembraron *in vitro* en placas de Petri (aproximadamente unas 50 semillas/placa) con medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog, 1962), compuesto de 4,33 gr de sales MS (Sigma), 30 gr de sacarosa, 8 gr de agar y 1 mg de vitaminas MS (Sigma) en 1 L de agua destilada. Estas placas se llevaron a cámara de cultivo a 25 °C, en oscuridad durante la primera semana y luego se expusieron a la luz a razón de 12 hs de luz y 12 de oscuridad. Pasados 30 días o cuando las hojas de las plántulas alcanzaron 1 cm de largo aproximadamente, se transplantaron a macetas plásticas con suelo arenoso en invernáculo, con un fotoperíodo natural de 15 h de luz en el período de floración de primavera. Durante la aclimatación se produce una elevada mortandad de plántulas y es por ello que los primeros 15-20 días del trasplante, a fin de evitar la deshidratación, se colocó una cubierta transparente sobre las macetas.

Finalmente, se obtuvieron 265 nuevos descendientes que fueron evaluados para confirmar su origen híbrido.

### ***Extracción de ADN de las plantas derivadas del cruzamiento OTA-S x Don Walter***

Para la extracción del ADN se utilizó un protocolo que brinda una excelente calidad de ADN, tanto en las relaciones de absorbancia 260 / 280, como en la integridad del mismo. Se tomaron hojas basales, frescas y jóvenes (zona cercana al tallo), que se cortaron en pequeñas porciones con tijera y se colocaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contenían 2 bolitas de acero de 3 mm cada una. Los tubos se sumergieron en nitrógeno líquido y luego se colocaron en un lizador TissueLyser II (Qiagen, EE.UU.) donde se aplicaron 3 pulsos de 45 seg con una frecuencia de 25,5 movimientos por segundo. Inmediatamente después se agregaron 0,8 ml de buffer de extracción (100 mM Tris HCl pH 8; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA pH 8; 2 % (p/v) CTAB y  $\beta$ -mercaptoetanol 0,5 ml / 100 ml de buffer) y se incubaron durante 30 min a 65 °C, invirtiéndolos regularmente. Luego se agregaron 0,4 ml de cloroformo, se dejaron 15 min a temperatura ambiente y se centrifugaron a 12.000 RPM durante 10 min. El sobrenadante (fase acuosa) se traspasó a un nuevo tubo Eppendorf de 1,5 ml y el ADN se precipitó con 0,64 ml de isopropanol a temperatura ambiente. Inmediatamente después se centrifugó 1 min a 12.000 RPM y el pellet se lavó primero con etanol 70 % y luego con etanol absoluto. Luego de secar el pellet a temperatura ambiente en flujo laminar durante 1 hora, el ADN se resuspendió en 50  $\mu$ l de agua ultrapura conteniendo 20  $\mu$ g / ml de ARNasa. La concentración y calidad del ADN se analizó en geles de agarosa al 1,5 % (p/v) y con un espectrofotómetro DS-11 Series (DeNovix®).

Para la elaboración del nuevo mapa de ligamiento aquellos individuos identificados como nuevos híbridos se sumaron a los sobrevivientes de la primera etapa. Dicha identificación se realizó con marcadores moleculares (DArT-SNPs) en base a un análisis de componentes principales (PCA).

### ***Caracterización fenotípica de las plantas obtenidas de la cruce OTA-S x Don Walter***

La caracterización fenotípica se realizó a través de dos metodologías. Primeramente se realizó por citoembriología, a través de la observación de pistilos donde se buscaron estructuras típicas de procesos apomícticos y sexuales. Para ello, las panojas se colectaron en el momento de presentar los primeros signos de antesis, tiempo en el cual es posible encontrar todo el rango del desarrollo del saco embrionario, desde la célula arqueosporica

hasta la posible fertilización (Meier et al., 2011). Las espiguillas primero fueron fijadas en Farmer (25 % ácido acético glacial, 75 % alcohol absoluto) y luego de 48 hs se pasaron a etanol 70 %.

Se eligió la técnica de clarificación con salicilato de metilo siguiendo el protocolo descrito por Young et al. (1979) con pequeñas modificaciones. Esta técnica de clarificación tiene varias ventajas por sobre las técnicas histológicas tradicionales de inclusión, corte con micrótopo y coloración en las que todo el proceso abarca varios días. En la técnica de clarificación con salicilato de metilo el tiempo que se necesita entre la colecta del material y la observación del mismo bajo microscopio es relativamente corto. Brevemente, las espiguillas en etanol 70 % se incubaron en agitación a temperatura ambiente en las siguientes soluciones: etanol 95 % (60 min); etanol 95 % con eosina 2 % (30 min), etanol 100 % (60 min); etanol / salicilato de metilo 75 % / 25 % (60 min); etanol / salicilato de metilo 50 % / 50 % (60 min), etanol / salicilato de metilo 25 % / 75 % (60 min) y salicilato de metilo 100 % (24 hs). Por último, se diseccionaron las espiguillas bajo una lupa Leica S8APO para extraer los pistilos y anteras y se montaron en un portaobjeto con salicilato de metilo para su observación. Los óvulos y anteras se observaron con un microscopio Leica DM2500 LED equipado con un sistema de contraste de interferencia diferencial (DIC) y una cámara digital (Leica MC170 HD).

No todas las plantas lograron alcanzar la etapa reproductiva, por lo tanto el resto de los individuos debieron clasificarse mediante un marcador molecular. Este marcador fue desarrollado en base a trabajos previos de nuestro grupo de trabajo y se utilizó también para validar los resultados obtenidos por citoembriología, ya que es un marcador dominante, asociado al carácter apomixis. La confección de este marcador fue posible gracias a que se realizó un transcriptoma de referencia de la especie *E. curvula* (Garbus et al., 2017). La secuencia del marcador por el momento es confidencial, ya que está en proceso de patentamiento.

Para la amplificación la mezcla de reacción (20  $\mu$ l) incluyó 100 ng de ADN, 10X buffer Taq polimerasa (Pegasus, PBL), 50mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5 mM de cada dNTP, 5  $\mu$ M de cada primer y 0.8 U Taq polimerasa (Pegasus, PBL). El programa de PCR de la amplificación fue: 3 min a

94 °C, seguido de 35 ciclos de 15 seg a 94 °C, 20 seg a 58 °C y 20 seg a 72 °C y por último 5 min a 72 °C. Las muestras se corrieron en geles de agarosa al 1 % con EcoGel y se visualizaron en un transiluminador DyNA Light™ UV (Labnet).

### ***Genotipado de alto rendimiento utilizando el método DArT-Seq™***

Las muestras de ADN de 265 descendientes del cruzamiento realizado entre los dos progenitores contrastantes para el modo reproductivo (OTA-S x Don Walter-INTA), junto con tres réplicas de cada uno de estos parentales y los 48 híbridos de la población de mapeo previa, fueron enviadas al Servicio de Análisis Genético para la Agricultura del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (SAGA-CIMMYT, México), donde fueron procesadas (cuantificación, elaboración de las librerías, secuenciado y análisis bioinformático).

Para este estudio se siguieron los siguientes pasos (Sansaloni et al., 2011): 1) Las muestras de ADN se procesaron en reacciones de digestión/ligación de acuerdo a Kilian et al. (2012), pero reemplazando un único adaptador compatible con *Pst*I con dos adaptadores diferentes, correspondientes a dos enzimas de restricción. El adaptador compatible con *Pst*I se diseñó para incluir la secuencia de unión de la celda de flujo Illumina, la secuencia del cebador de secuenciación y la región del código de barras, de longitud variable, similar a la secuencia informada por Elshire et al. (2011). El adaptador inverso contiene la región de unión de la celda de flujo y la secuencia compatible con *Mse*I. 2) Se amplificaron efectivamente por PCR sólo los "fragmentos mixtos" (*Pst*I-*Hpa*II) utilizando las siguientes condiciones de reacción: 1 min a 94 °C para la desnaturalización inicial; 30 ciclos de 20 s a 94 °C, 30 s a 58 °C y 45 s a 72 °C y finalmente un paso de extensión de 7 min a 72 °C. 3) Se tomaron cantidades equimolares de productos de amplificación de cada muestra, se purificaron y se secuenciaron en una plataforma Illumina Novaseq6000. 4) Las secuencias generadas a partir de cada muestra se procesaron utilizando *pipelines* analíticos (flujo de comandos específicos) desarrollados para DArT. Los archivos FASTQ se procesaron primero para filtrar secuencias de baja calidad, aplicando criterios de selección más estrictos a la región del código de barras en comparación con el resto de la secuencia. Luego, las secuencias idénticas colapsaron en archivos "fastqcall". Estos archivos se usaron

en el *pipeline* secundario para los algoritmos de búsqueda de SNP (SNP call) que son específicos para DArT (DArTsoft14).

### ***Filtrado de SNPs***

Los SNPs obtenidos mediante DArT-Seq, fueron filtrados para determinar el origen híbrido de los nuevos hijos mediante el siguiente procedimiento: en primer lugar, se eliminaron todos aquellos marcadores cuyos alelos en las réplicas de los parentales de la población fueran disidentes. Es decir, para cada marcador se verificó que cada parental contuviera los mismos alelos en cada réplica, eliminando aquellos marcadores que no respetaron esta condición. Posteriormente, se eliminaron todos los marcadores donde ambos parentales presentaron alelos homocigotas. Finalmente, se eliminaron los marcadores con más del 50 % de datos faltantes en las réplicas de los parentales, o con más del 30 % de datos faltantes en los datos de la progenie.

### ***Construcción del mapa de ligamiento***

Los marcadores heterocigotas en sólo un progenitor y con una proporción de segregación de 1 : 1 (heterocigota : homocigota) en la descendencia, se clasificaron como marcadores de alelos de dosis única (SDA) y se utilizaron para la construcción del mapa. Adicionalmente, también se utilizaron marcadores heterocigotas en ambos progenitores, llamados marcadores biparentales, a fin de poder vincular los marcadores de los grupos de ligamiento (GL) resultantes de cada progenitor y formar el consenso del mapa.

Respecto de la construcción del mapa, existen varios *pipelines* específicos para poliploides como polymapR (Bourke et al., 2018a) y TetraploidSNPMap (Hackett et al., 2017), pero están diseñados para procesar marcadores con valores de dosis alélica, que no están disponibles para los datos de SNPs obtenidos a partir de DArT-Seq. Por esta razón, se decidió seguir el enfoque tradicional de un modelo de marcador de dosis única como en otros trabajos realizados con aloploiploides (Li et al., 2014; Thaikua et al., 2016; Worthington et al., 2016). Los marcadores de dosis única tienen varias ventajas sobre otros tipos de segregación, principalmente en especies poliploides no exploradas para las cuales el modo de herencia es incierto. Los marcadores simplex permiten crear un mapa



de ligamiento "sin suposiciones" y utilizar software diseñado para diploides (Bourke et al., 2018b). De esta manera se construyó el mapa de ligamiento genético consenso entre OTA-S y Don Walter, utilizando el software JoinMap 4.1 (Van Ooijen, 2006) con la opción de población completa de hermanos cruzados (CP). El análisis de agrupamiento se llevó a cabo utilizando un umbral de puntuación LOD (logaritmo de probabilidades) de 6 o superior. Dentro de cada GL se utilizó el algoritmo de mapeo de ML (Maximun Likelihood) con opciones predeterminadas.

### ***Análisis de sintenia***

La conservación del orden de los genes dentro de bloques cuando se comparan dos cromosomas se denomina sintenia, es decir, dos genomas evolutivamente cercanos son más sinténicos que uno que no lo es (Stein et al., 2013).

En este caso, las posiciones físicas de los marcadores DArT-Seq se buscaron por homología utilizando BLAST 2.7.1 (Altschul et al., 1990) contra el genoma de referencia que disponemos de la especie correspondiente al cv. Victoria (Carballo et al., 2019) con un  $Evalue < e^{-10}$  como criterio. Estas posiciones se utilizaron para asignar cada GL a un contig. Adicionalmente, dado que el genoma de referencia utilizado para establecer relaciones sinténicas está disponible como haplotipo, se intentó identificar grupos de homeólogos.

### ***Diseño de primers KASP***

Para la validación del mapa obtenido se seleccionaron SNPs y en base a la secuencia que los rodea se desarrollaron primers de tipo KASP. El método de PCR específico de alelo competitivo o KASP (Kompetitive allele specific PCR) permite una genotipificación homogénea, basada en fluorescencia. Se utilizan tres cebadores no marcados: dos específicos del alelo y un cebador inverso común. Cada uno de los cebadores específicos de alelo alberga una secuencia de cola única que se corresponde con un "cassette" FRET (transferencia de energía resonante de fluorescencia) universal y están uno etiquetado con el fluoróforo FAM y el otro con HEX. En la primera ronda de PCR, el cebador específico se une únicamente al SNP de interés, es decir, a la secuencia que presenta el polimorfismo a detectar, lo que permite que la ADN polimerasa agregue el resto de los nucleótidos

complementarios. Durante este tiempo se produce la elongación y se une la secuencia de la cola única a la hebra recién sintetizada. En el segundo ciclo de PCR, se genera la secuencia complementaria a la cola específica del alelo y en el tercer ciclo se une el “cassette” que contiene el fluoróforo al ADN y emite fluorescencia.

Para el desarrollo de los primers fue necesario identificar aquellos SNPs que permitían diferenciar entre individuos y se buscaron las regiones más adecuadas para el diseño de los marcadores KASP. Se utilizó el programa Primer3Plus y se diseñaron los primers con “colas” específicas para cada uno de los alelos FAM y HEX, para los alelos paterno y materno, respectivamente. Las secuencias seleccionadas para el diseño de los primers KASP se presentan en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1.** Secuencia de los primers diseñados para la validación de SNPs por KASP. La primera columna indica el nombre del primer, en las columnas dos y tres se indican las secuencias específicas de los alelos materno y paterno, respectivamente y en la columna cuatro la secuencia del primer común. En la última columna puede verse el nucleótido específico que pertenece a los individuos sexuales y permite distinguirlos de los apomícticos.

Primer	Alelo 1	Alelo 2	Primer común	Sex
100477277 F 0-6:C>T-6:C>T	CATACCTCGTCGCTGCAGTT	CATACCTCGTCGCTGCAGTC	GACCACCCATCCGCCAGT	T
100477277V2 F 0-6:C>T-6:C>T	CCAGTGACGTAACAATGGCA	CCAGTGATGTAACAATGGCG	GACCTCACATACCTCGTCGC	A
100502388 F 0-17:A>T-17:A>T	TGAACCTGCAGTCTATTGATTGA	TGAACCTGCAGTCTATTGATTGT	TTTGGGACACGGGGTATTGG	A
100503486 F 0-31:G>A-31:G>A	TCTGGATCAGAATGCTGCGT	TCTGGATCAGAATGCTGCGA	AAGATCGACTCGCCGTTTCC	T
100503486V2 F 0-31:G>A-31:G>A	GCCGTTTCCTCGCGAGAC	CCGTTTCCC CGCGAGAT	CATCTGGATCAGAATGCTGCG	C

Las amplificaciones de los marcadores KASP se realizaron siguiendo el protocolo descrito por He et al. (2014) y el revelado en un equipo PHERAstar Plus en las instalaciones del laboratorio Genetyc (CERZOS-CONICET). Para la reacción se utilizaron 50 ng de ADN, 5 µl de Master mix (contiene fluoróforos, dNTPs y Taq polimerasa), 0,14 µl de Assay mix

(contiene dos cebadores específicos y el cebador común), en un volumen final de reacción de 10  $\mu$ l. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo de la siguiente manera: 1 ciclo de 94 °C por 15 min, 10 ciclos de 94 °C por 20 seg, 61 °C por 60 seg y 72 °C por 60 seg y 26 ciclos de 94 °C por 20 seg, 55 °C por 60 seg y 72 °C por 60 seg.

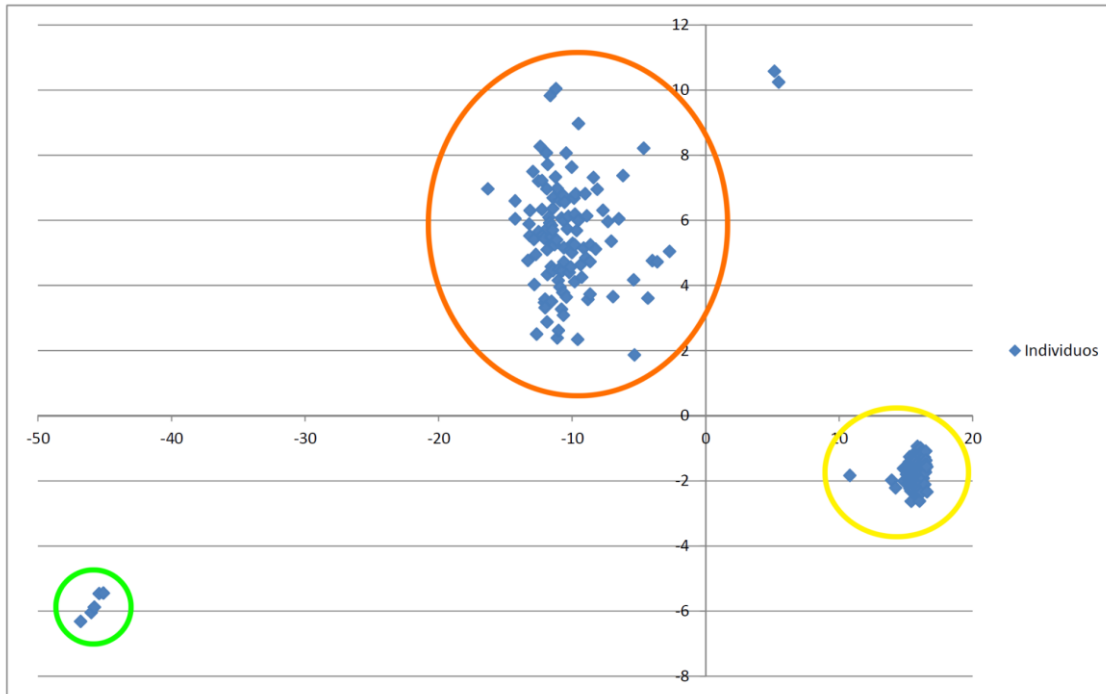
Para todos los análisis bioinformáticos se contó con la colaboración de los Dres. José Carballo y Cristian A. Gallo, Bioinformáticos del grupo Apomixis del CERZOS.

## **Resultados**

### ***Desarrollo de la población de mapeo y fenotipado F1***

Como se mencionara anteriormente, fueron enviados al servicio de secuenciación del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), los ADNs de 265 descendientes derivados del cruzamiento realizado entre los dos progenitores contrastantes para el modo reproductivo (OTA-S x Don Walter-INTA), junto con tres réplicas de cada uno de los progenitores y de los 48 individuos sobrevivientes de la población de mapeo previa.

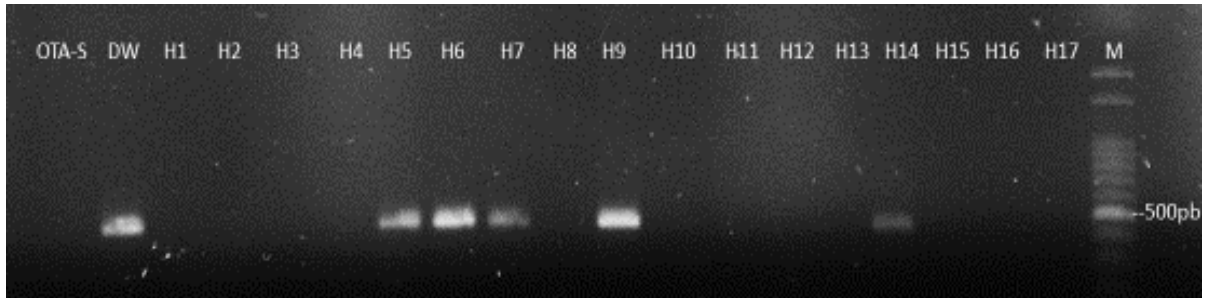
Los nuevos híbridos se seleccionaron utilizando los marcadores SNPs obtenidos. Para ello, se realizó un análisis de PCA con la totalidad de los individuos y marcadores, filtrando únicamente aquellos SNPs con un porcentaje de datos faltante mayor al 30 %. La Figura 1.2 muestra el gráfico de PCA de las dos principales componentes, que representan el 60 % de la varianza total, construido con el software TASSEL. En base a este análisis se seleccionaron 109 individuos híbridos, que correspondieron a los 48 individuos de la población previa y a 61 nuevos híbridos. Se detectaron dos individuos que no se agruparon con el resto de los híbridos (Figura 1.1), ni con los parentales, y por lo tanto no fueron incluidos en la nueva población de mapeo.



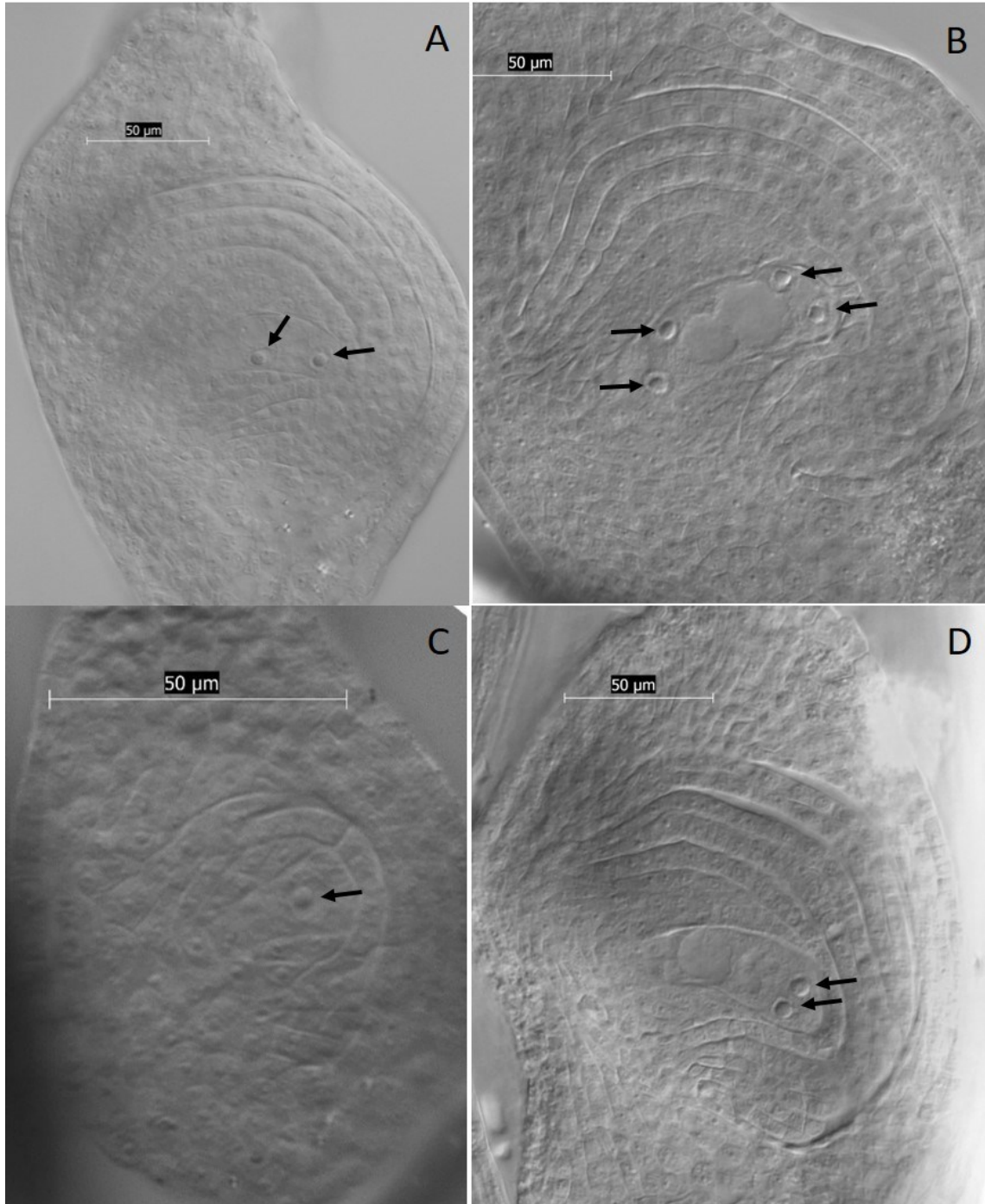
**Figura 1.1.** Gráfico de componentes principales que muestra la distribución de todos los individuos secuenciados mediante DArT-Seq. Circulo amarillo: muestras de OTA-S y autofecundadas. Circulo verde: muestras de Don Walter. Circulo naranja: híbridos verdaderos producto de la cruce OTA-S x Don Walter.

### ***Herencia del carácter apomeiosis***

El fenotipado para apomeiosis de los individuos de la población de mapeo previa (48 plantas) fue realizado por citoembriología, mientras que los de la nueva población lo fueron por un marcador molecular 100 % asociado al carácter. Con el fin de corroborar los resultados obtenidos con el marcador molecular, algunos de los nuevos individuos (5) fueron fenotipados por citoembriología, coincidiendo los resultados de ambos análisis. En la Figura 1.2 se puede observar un gel de agarosa con la amplificación del fragmento de 450 pb presente solo en los genotipos apomícticos (parental masculino e híbridos apomícticos) y ausente en los genotipos sexuales (parental femenino e híbridos sexuales). En la Figura 1.3 se observan procesos apomícticos y sexuales que corresponden al fenotipado por citoembriología.



**Figura 1.2:** Patrones de amplificación del marcador dominante ligado al carácter apomixis, en 17 individuos de la población de mapeo derivada del cruzamiento entre OTA-S y Don Walter, revelado en un gel de agarosa al 1 %. Calle 1: genotipo materno sexual (OTA-S), calle 2: genotipo paterno apomítico (DW), calles 3 a 19: híbridos (H1 a H17) y calle 20: marcador de peso molecular 100 pb (M).



**Figura 1.3.** Observaciones al microscopio mediante DIC de procesos sexuales (A-B) y apomícticos (C-D) de *E. curvula*. A: Saco embrionario binucleado, B: Saco embrionario tetranucleado, C: célula madre de la megaspore y D: Saco embrionario binucleado. Con una flecha se indican los núcleos. La barra representa 50 µm.

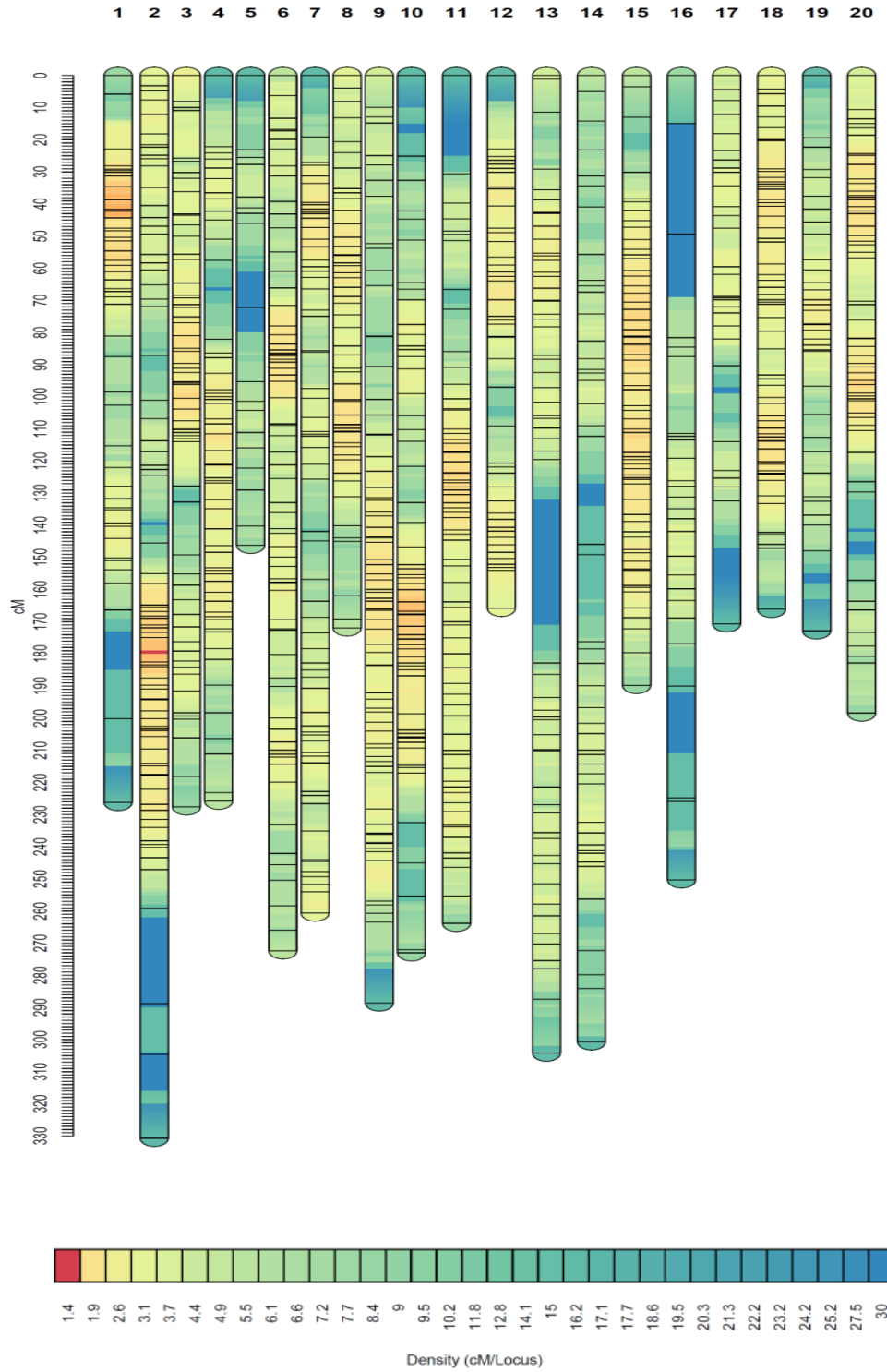
### ***Selección de DArT-Seq-SNPs***

El *pipeline* de DArT-Seq arrojó un total de 120.349 SNPs. Sin embargo, 110.208 SNPs, es decir, más del 91 % de los marcadores SNPs obtenidos resultaron ser homocigotas en ambos padres, por lo cual no son de utilidad a la hora de construir el mapa de ligamiento. Posteriormente, luego de filtrar aquellos marcadores con alelos inconsistentes en las réplicas de los parentales y de aplicar el filtrado por datos faltantes, quedaron 2.522 marcadores, de los cuales 1.148, 993 y 381 resultaron ser marcadores paternos, maternos y biparentales, respectivamente.

### ***Construcción del Mapa de Ligamiento Genético***

El mapa de ligamiento consenso se construyó utilizando los marcadores paternos, maternos y biparentales por medio del software JoinMap 4.1. Como primer paso, se eliminaron aquellos marcadores cuyo test de segregación tuviera un ji-cuadrado ( $\chi^2$ ) mayor a 10,91 en el caso de los marcadores maternos y paternos y un  $\chi^2$  mayor a 15 en el caso de los marcadores biparentales. Posteriormente, se formaron 20 grupos de ligamiento (GL) con un LOD mayor o igual a 6 y se generó el mapa consenso para cada grupo utilizando el método de Maximun Likelihood. La Figura 1.4 muestra el mapa en versión de gráfico de densidad de marcadores, mientras que la Figura 1.5 muestra los 20 GLs obtenidos en la representación clásica, que incluye los nombres de cada marcador.

El mapa consenso resultante contiene un total de 1.132 marcadores, de los cuales 587 son marcadores paternos (nnxnp), 514 son marcadores maternos (lmxll) y 31 son marcadores biparentales (hknk). El largo total del mapa es de 4.605 cM, con un promedio de 230 cM por GL. La Tabla 1.2 muestra el largo en cM de cada GL conjuntamente con el tipo de marcadores que los conforman. El orden, la posición exacta y la secuencia de cada marcador en cada GL se muestran en el apéndice (Tablas S1 a S20).



**Figura 1.4:** Mapa de ligamiento genético consenso del cruzamiento OTA-S x Don Walter. Se muestra la densidad de marcadores en cada uno de los 20 GLs por medio de un heatmap.



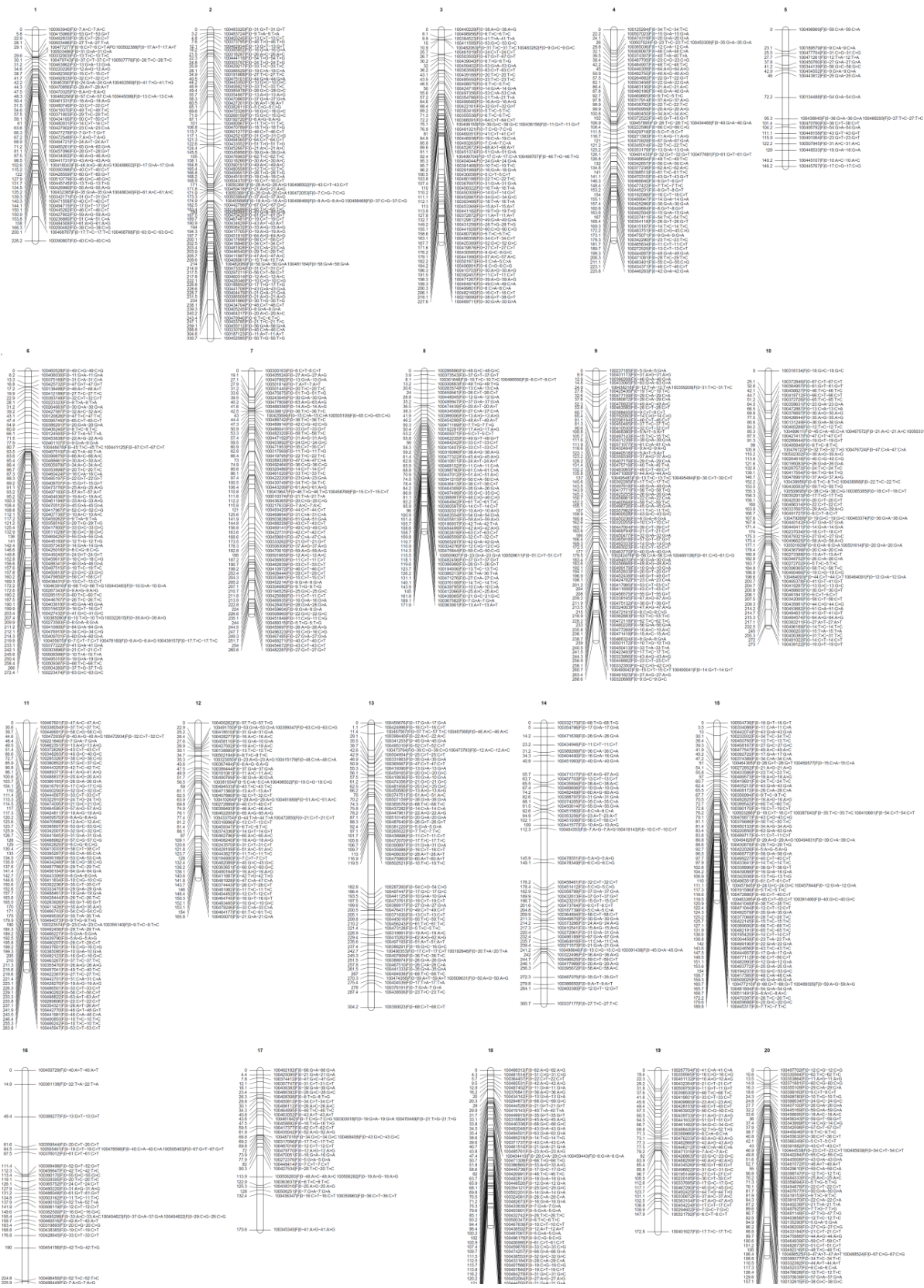


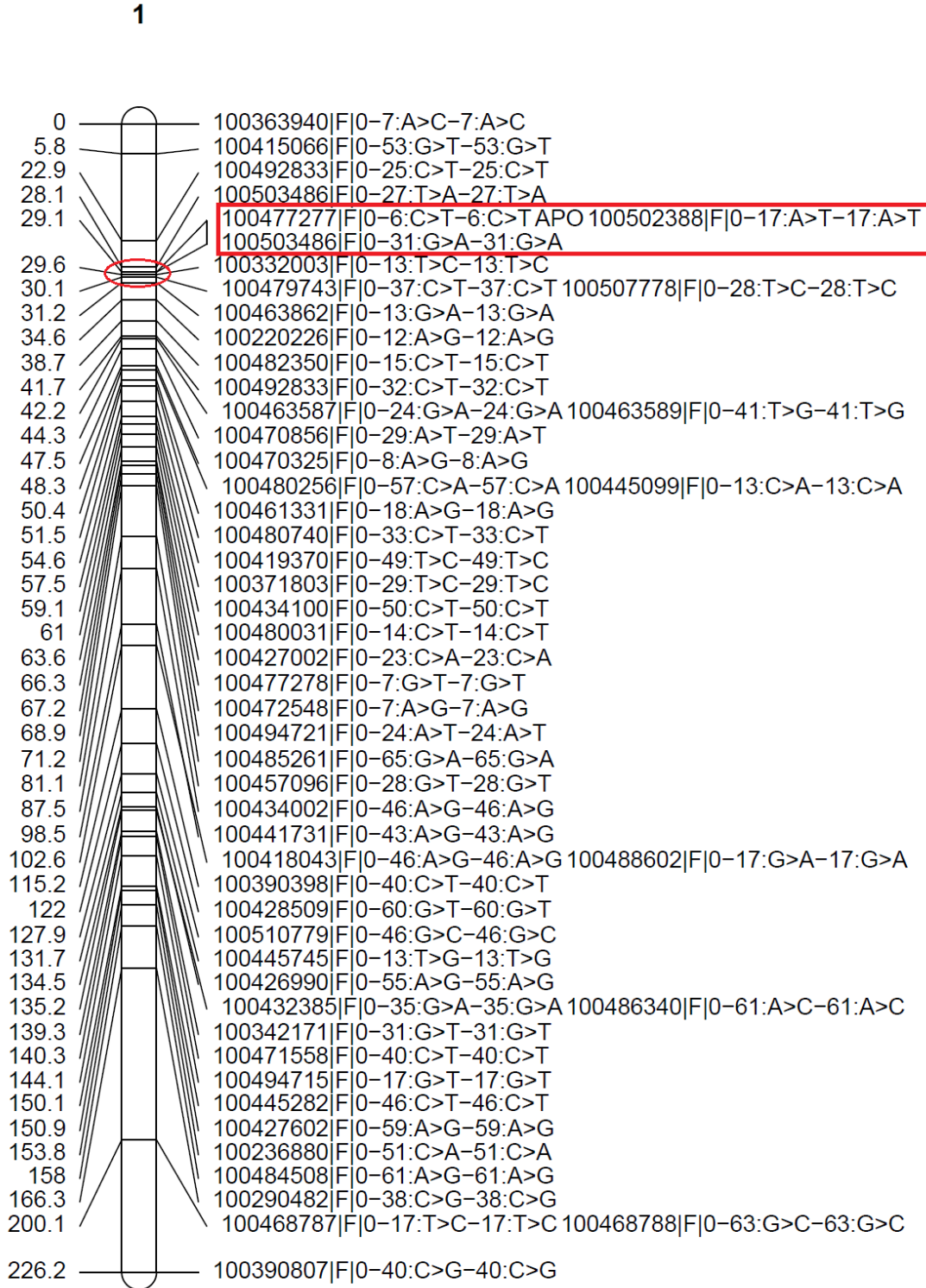
Figura 1.5. Mapa de ligamento genético consenso de la cruz OTA-S x Don Walter. Se

muestran los 20 GLs obtenidos y los marcadores presentes en cada uno de ellos.

**Tabla 1.2.** Resumen de los 20 GLs obtenidos en el mapa de ligamiento genético consenso de la cruce OTA-S x Don Walter.

Grupo de Ligamiento	SNPs	Largo en cM	SNPs Paternos	SNPs Maternos	SNPs Biparentales
GL1	55	226	32	20	3
GL2	82	330	50	30	2
GL3	64	227	19	44	1
GL4	58	225	26	31	1
GL5	19	146	8	9	2
GL6	73	272	49	23	1
GL7	65	260	32	31	2
GL8	55	171	23	30	2
GL9	78	288	50	27	1
GL10	68	272	60	7	1
GL11	71	263	32	38	1
GL12	49	165	36	12	1
GL13	61	304	17	41	3
GL14	48	300	13	34	1
GL15	71	189	31	38	2
GL16	30	250	5	22	3
GL17	34	170	29	4	1
GL18	60	166	32	27	1
GL19	34	172	12	21	1
GL20	57	198	31	25	1

El locus de la apomeiosis (locus APO) fue mapeado en el GL1 del mapa consenso, que contiene otros 54 marcadores (Figura 1.6). Este locus está 100 % ligado con tres marcadores DArT-Seq SNPs de origen paterno, con una frecuencia de recombinación de cero y es flanqueado por otros marcadores, también de origen paterno, con muy baja frecuencia de recombinación (ver Tabla Suplementaria S1).



**Figura 1.6.** Mapa consenso del GL1 donde fue mapeado el APO locus. En rojo se muestra el lugar del locus APO, conjuntamente con los tres marcadores DArT-Seq SNPs vinculados.

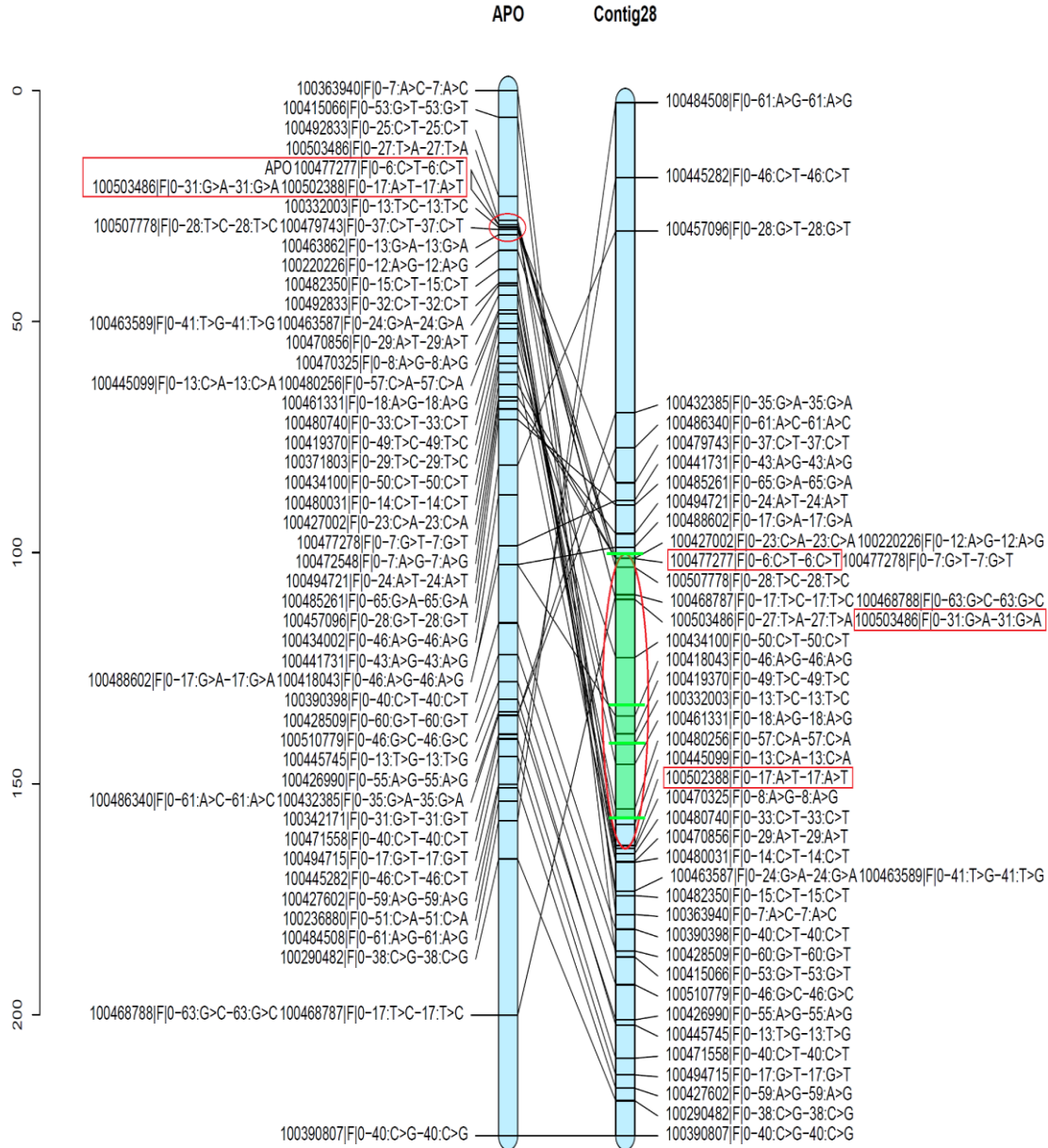
### ***Análisis sinténico para identificar grupos homeólogos***

Para identificar grupos homeólogos en el mapa de ligamiento, se mapearon las secuencias de los marcadores DArT-Seq SNPs contra el único genoma completo disponible de la especie, ensamblado correspondiente al cv. Victoria (Carballo et al., 2019). Este cultivar es un diploide sexual, proveniente del tetraploide apomíctico facultativo Tanganyika INTA (Cardone et al., 2006). El mapeo utilizando a este cultivar como referencia mostró que el 86,6 % de todos los marcadores del mapa consenso mapearon en alguno de los contigs del ensamblado (mejor coincidencia) en las condiciones mencionadas anteriormente (Tablas Suplementarias S1 a S20).

El análisis de sintenia muestra que los marcadores de cada GL tienden a agruparse en el mismo cromosoma (Tabla 1.3). Como ejemplo, podemos mencionar el GL1 que se corresponde principalmente con el cromosoma Contig28 de Victoria (Figura 1.7). En dicha Figura se resaltan en rojo los marcadores asociados al locus APO y la región que delimitan. En el caso del Contig28 de Victoria, la región delimitada entre el marcador 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T y el marcador 100502388|F|0-17:A>T-17:A>T es de 11.322.729 pb. En la misma Figura también se puede observar el locus APO y los marcadores 100 % ligados al mismo (en color verde) determinados en el mapa previo de pasto llorón (Zappacosta et al., 2019), delimitando una región de 10.492.321 pb. En la Tabla 1.4 se observa la sintenia entre los GLs del mapa consenso con los contigs mayores del ensamblado del cv. Victoria, con su respectivo tamaño.

**Tabla 1.3.** Análisis de sintenia entre los GLs del mapa de ligamiento y el genoma de referencia (cv. Victoria). Se muestra el mayor porcentaje de marcadores de cada GL que mapean en un único contig de Victoria.

Grupo de Ligamiento	Contig mayoritario en Victoria	% Representación
GL1	Contig28	81,82
GL2	Contig10	74,39
GL3	Contig3	76,56
GL4	Contig3	75,86
GL5	Contig8	68,42
GL6	Contig12	56,16
GL7	Contig50	49,23
GL8	Contig30	72,73
GL9	Contig38	75,64
GL10	Contig1	60,29
GL11	Contig8	76,06
GL12	Contig10	77,55
GL13	Contig12	57,38
GL14	Contig1	39,58
GL15	Contig25	80,28
GL16	Contig25	56,67
GL17	Contig12	52,94
GL18	Contig6	68,33
GL19	Contig8	82,35
GL20	Contig6	75,44



lmsed by LinkageMap/lsr

**Figura 1.7.** Sintenia entre el GL1 del mapa consenso, el Contig28 del ensamblado genómico del cv. Victoria y la región APO del mapa de ligamiento previo (Zappacosta et al., 2019). En rojo se resaltan los marcadores asociados al locus APO y la región que delimitan en el mapa consenso. En verde se señalan los cuatro marcadores y la región APO que delimitan en el mapa de ligamiento previo.

**Tabla 1.4.** Contigs mayores del ensamblado del cv. Victoria, con su respectivo tamaño y los GLs del mapa consenso relacionados por sintenia.

Nombre del Contig	Largo en pb	Grupos de Ligamiento
Contig10	59.696.155	GL2, GL12
Contig12	57.091.500	GL6, GL13, GL17
Contig38	57.060.119	GL9
Contig6	55.809.479	GL18, GL20
Contig3	45.712.337	GL3, GL4
Contig1	43.444.889	GL10, GL14
Contig28	42.455.315	GL1
Contig30	29.802.391	GL8
Contig8	28.838.055	GL5, GL11, GL19
Contig50	26.185.977	GL7
Contig25	23.821.556	GL15, GL16

#### ***Análisis de las secuencias de los SNPs ligados a la apomeiosis***

Como sucede en el caso del GBS, se dispone de las secuencias asociadas a los SNPs generados con DArT-Seq. En este caso se obtuvo una secuencia de 69 pb para cada uno de los tres marcadores 100 % ligados a la apomeiosis, que se utilizó para buscar el contexto que rodea la secuencia en el ensamblado del genoma del cv. Victoria y en el borrador del genoma del cv. Don Walter (Carballo et al., en preparación). Este análisis permitió determinar que los tres marcadores se encuentran sobre secuencias que codifican genes (dos de ellos con anotación y uno sin ella), señalando a dichos genes como potenciales candidatos involucrados en la apomeiosis.

El marcador 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T presenta homología con una E3 ubiquitina ligasa (Score: 988.63 (1095), E value: 0, Identity: 579/600 (96.5 %), Gaps: 0/600 (0 %)), mientras que el marcador 100503486|F|0-31:G>A-31:G>A presenta homología con una D-aminoácido transaminasa (Score: 1618.01 (1793), E value: 0, Identity: 946/979 (96.6 %), Gaps: 0/979 (0 %)). En el caso de la E3 ubiquitina se encontró que existen dos secuencias (posiblemente alelos), ambas presentes en el parental masculino (Don Walter), pero solo una de ellas está presente en el parental femenino (OTA-S). En las Figuras 1.8 y 1.9 se presentan las secuencias halladas para ambos genes y el SNP marcado.

```

Score: 988.63 (1095), E value: 0, Identity: 579/600 (96.5%), Gaps: 0/600 (0%), Strand: + / +
Query      1 ATGATTCGTGTTCTCTGACTGGGCCTTTGAGGCCGTTGGCCTGGAAATGAGAGGGATGGGCCAAGATACTGCATATCATCCAGGCCTTTAT 90
          |||
Subject    565 ATGATTCGTGTTCTCTGACTGGGCATTTGAGGCCGTTGGCCTGGAAATGAGAGGGATGGGCCAAGATACTGCATATCATCCAGGCCTTTAT 654
Query     91 TTAAC TGCTGC TCAGAGAGAAGCAGTTGAGGCACAGATTCAAGAAATTTCCAAAATTCAGACTGAAAGCTGTTCCGACTGACTGCAGTGAA 180
          |||
Subject    655 TTAAC TGCCGCTCAGAGAGAAGCAGTTGAGGCAGTATTCAAGAACTTCCAAAATTCAGGCTGAAAGCTGTTCCGACTGACTGCAGTGAA 744
Query    181 TGCCCTATCTGCCTTGAAGAATTTTCATGTTGGCAATGAGGTCCTGGGCTGCCATGTGCGCACAAATTCATGTGGAGTGCATCGACCAA 270
          |||
Subject    745 TGCCCTATCTGCCTTGAAGAATTTTCATGTTAGCAATGAGGTCCTGGGCTGCCATGTGCGCACAAATTCATGTGGAGTGCATCGACCAA 834
Query    271 TGGCTCCGGCTAAATGTCAAGTGCCCTTCGGTGCCGGTGCTCCGCTTCCCAATCTAGACCTGAGTGCCTCAACAATTCCTCGTCCGACT 360
          |||
Subject    835 TGGCTCCGGCTGAATGTCAAGTGCCCTTCGGTGCCGGTGCTCCGCTTCCCAATCTAGACCTGAGCGCGCTCAACAATTCCTCGTCCGACT 924
Query    361 GGTGAGCTGGACACCCATCCGCCAGTGATGTAACAATGGCGACTGCAGCGACGAGGTATGTGAGGTCACAGCTCGCGGGGACAGAGCTAC 450
          |||
Subject    925 GGTGAACTGGACACCCATCCGCCAGTGACGTAACAATGGCAACTGCAGCGACGAGGTATGTGAGGTCACAGCCCGCGGGACAGAGCTAC 1014
Query    451 CTGGTCCGGCTGCAGGGGCTGCTCCTCGCCGGTCCGGCATGAGAGTGTGGAGAATGTTGGTGAAGCTGGGGTCCGAAACAGCTCGGTG 540
          |||
Subject   1015 CTGGTCCGGCTGCAGGGGCTGCTCCTCGCCGGTCCGGCAGAGAGTGTGGAGAATGTTGGTGAAGCTGGGGTCCGAAACAGCTCGGTG 1104
Query    541 GGCCCTGAGGAGCTGCCAGCATAGTGATCGACGATGGCCATCAGCTGCTGATCGCTGA 600
          |||
Subject   1105 GGCCCTGAGGAGCTGCCAGCATAGTGATCGACGATGGCCATCAGCTGCTGATCGCTGA 1164

```

**Figura 1.8.** Análisis por Blastn de la secuencia del SNP 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T que presenta homología con una E3 ubiquitina ligasa.

```

Score: 1618.01 (1793), E value: 0, Identity: 946/979 (96.6%), Gaps: 0/979 (0%), Strand: + / +
Query      48 AGGAGAAGATGACCGAGTGCCGGTGTATGCGTCAGGCTCCAGGTA CTTCAAAAGCTTCAAGAGAAATGAAATCCACCAAAACAAGATA 137
          |||
Subject     6 AGGAGAGGATGGCCAGGTTCCGGTGTATGCGTCAGGCTCCAGGTA CTTCAAAAGCTTGAAGAGAAATGAAATCCACCAAAACAAGATA 95
Query    138 CCCGGCCATGTA CTCCAGTGTCATTGGTGGCATCATACTTGATCCATGTATGATGATCATCCCATGGACGATACATGGTTTCATAGAGG 227
          |||
Subject    96 CCCGGCCATGTA CTCCAGTGTCATTGGTGGCATCATACTTGATCCATGTATGATGGTCATCCCATGGACGATACATGGTTTCACAGAGG 185
Query    228 ACATGGCATCTTCGACACTGCTACGATTTAGATGGATGTTGTACGA ACTGGATTCACATCTGGACCGGTTCC TAGTATCTGCATCCAA 317
          |||
Subject   186 ACATGGCATCTTCGACACTGCTACGATTTAGATGGATGTTGTACGA ACTGGATTCACATCTGGACCGGTTCC TAGTATCTGCATCCAA 275
Query   318 AGCAAAGATCGACTCGCGTTTCCCGCGAGATGCTTCGCAAGCATTCTGATCCAGATGACTGCAGCCTCCGGATGCAAGAACGGCTCGAT 407
          |||
Subject   276 AGCAAAGATCGACTCGCGTTTCTCGCGAGACGCTACGCAAGCATTCTGATCCAGATGACTGCAGCCTCCGGATGCAAGAACGGCTCGAT 365
Query   408 CAAGTACTTTCTGACAGCTGGCCAGGCGATTTTCATGCTCTCACAAAGGGCTGCACAGGGCTCGCTTCTATGCCGTCGTACCCGCCAC 497
          |||
Subject   366 CAAGTACTTTCTGACAGCTGGCCAGGCGATTTTCATGCTCTCACAAAGGGCTGCACAGGGCTCGCTTCTACGCTGTCGTACCCGCCAC 455
Query   498 CGCCTCCTCCTCAGCAGCCTTCGACCAAGGAGGGCGTCAAAGCCATCACATCCACTGTGCCAATGAAACATCCATTTTTCGCGGGCAT 587
          |||
Subject   456 CGCCTCCTCCTCAGTCGCTTCGACCAAGGAGGGCGTCAAAGCCATCACATCCACTGTGCCAATGAAACATCCATTTTTCGCGGGTAT 545
Query   588 GAAGAGTGTGGATTACCTTCCAAATGTGCTGGCCATGATGGAAGCAGAAGAGAGAGTGGTGCCTACGTGTCGGTGTGGTCCGACGATGAGGG 677
          |||
Subject   546 GAAGAGTGTGGACTACCTTCCAAATGTGCTGGCCATGATGGAAGCAGAAGAGAGAGGTGCGTACGCGTCCGGTGTGGATCGACGACGAGGG 635
Query   678 GTACATCGCCGAGGGACCGATGATGAACGTGGCATTATCACC AAAATCCGGCGAGCTGGTGTGCGGGCTTCGACAAGATACTCAGCGG 767
          |||
Subject   636 GTACGTGCGCCGAGGGACCGATGATGAACGTGGCATTATCACC AAAATCCGGCGAGCTGGTGTGCGGGCTTCGACAAGATACTCAGCGG 725
Query   768 ATGCACAGCGAAGCGAGTGCTCGCGTTGGCGCCAAAGTTGGTTGAAGCTGGACTTTTGAAGAGTGTCAAGGCTGCAAGAATTTCTGCGCA 857
          |||
Subject   726 ATGCACGCGAAGCGGGTGTGCTCGCGTTGGCGCCAAAGTTGGTTGAAGCTGGACTTTTGAAGAGTGTCAAGGCTGCAAGAATTTCTGCGCA 815
Query   858 CGAGGCCAGGCAGTGCAGCGAGATGATGTTCTGGCGAGTGGGCTTCAGTGCTGCTGTTGTTGAGTGGGACGGGACGCCGTTGGTGA 947
          |||
Subject   816 TGAGGCCAGGCAGTGCAGCGAGATGATGTTCTGGCGAGTGGGCTTCAGTGCTGCTGTTGTTGAGTGGGACGGGACGCCGTTGGTGA 905
Query   948 TGGGCAAGTTGGCCAAATAAGTCTTGGCGTGTATGATTGCTCCGGCATGATTA AACTCTGGTCCAGATAGGATTCCA 1026
          |||
Subject   906 TGGGCAAGTTGGCCAAATAAGTCTTGGCGTGTATGATTACTCCGGCATGATTA AACTCTGGTCCAGATAGGATTCCA 984

```

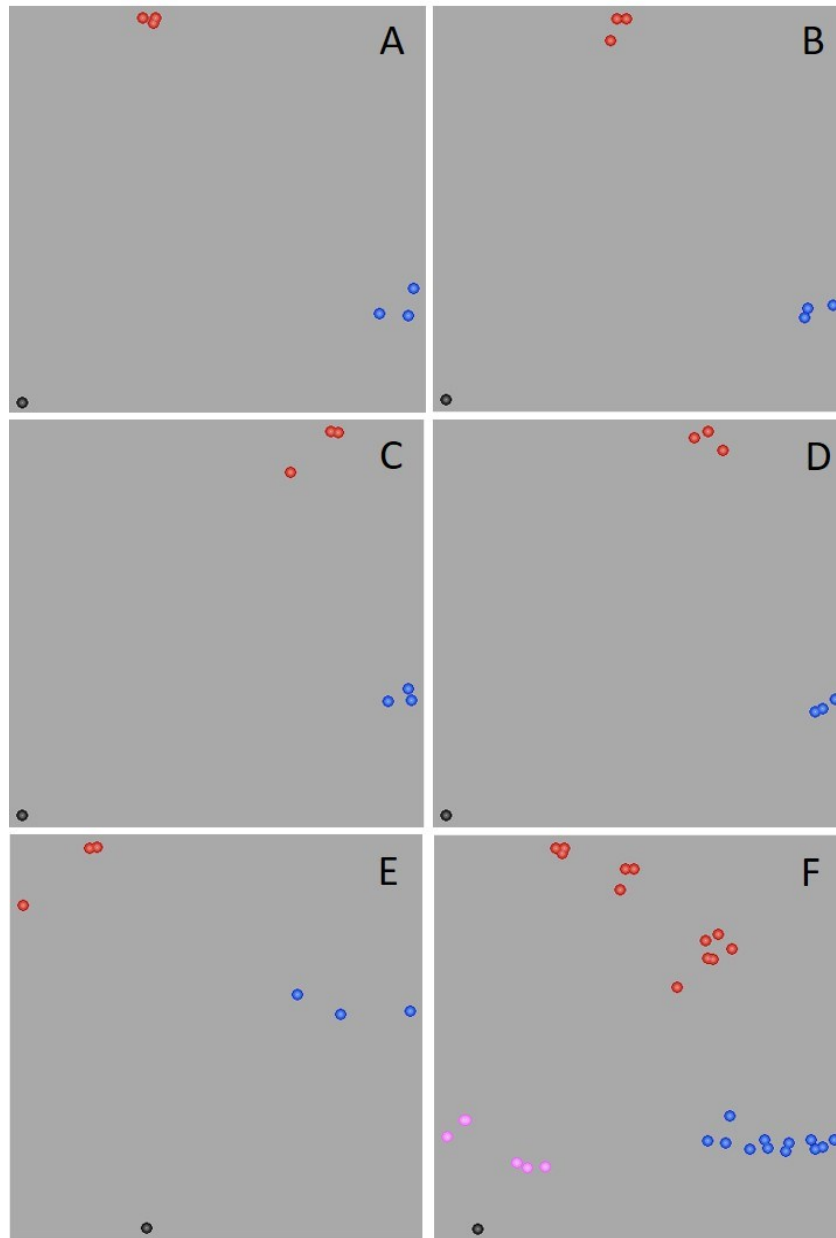
**Figura 1.9.** Análisis por Blastn de la secuencia del SNP 100503486|F|0-31:G>A-31:G>A que presenta homología con una D-aminoácido transaminasa.



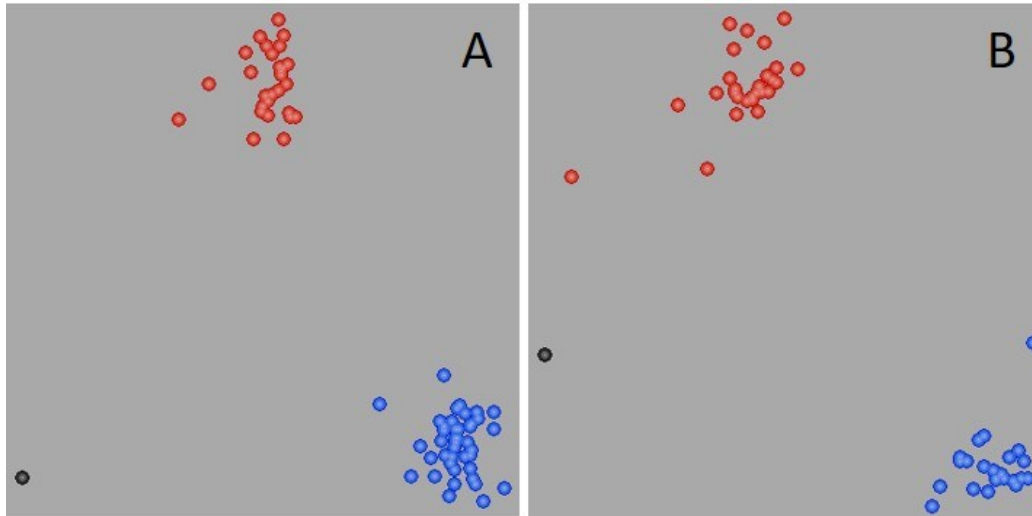
**Validación de Marcadores DArT-Seq SNPs asociados al APO locus**

Los cinco sets de primers KASP diseñados amplificaron en las plantas control (parentales de la población, OTA-S y Don Walter), logrando discriminar perfectamente ambos genotipos (Figuras 1.10 A, B, C, D y E). En el caso del último primer (100502388|F|0-17:A>T-17:A>T), aunque las réplicas de ambos genotipos se agruparon correctamente, la separación entre ambos grupos no fue tan clara como lo fue con los otros primers. En la Figura 1.11, donde se muestra la distribución de puntos correspondientes a la amplificación con todos los primers en su conjunto, se puede observar que las muestras correspondientes al primer 100502388|F|0-17:A>T-17:A>T se hallan muy cerca del control negativo, demostrando una baja eficiencia de amplificación (esa podría ser la razón de que no se logró una buena discriminación entre las muestras de ambos genotipos en la Figura 1.10E).

En base a su buena eficiencia, se seleccionó el primer 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T y se lo utilizó en todos los individuos de la población de mapeo. En la Figura 1.11 se observa el agrupamiento de los individuos apomícticos junto con las muestras de Don Walter y de los individuos sexuales junto con las réplicas OTA-S. El 100 % de los resultados obtenidos con el primer KASP 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T coincide con el fenotipado realizado previamente, validando los datos obtenidos *in silico* y demostrando un correcto funcionamiento de la técnica y de los primers diseñados.



**Figura 1.10.** Gráficos de coordenadas correspondientes a la amplificación con los sets de primers de KASP. A: 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T, B: 100477277V2|F|0-6:C>T-6:C>T, C: 100503486|F|0-31:G>A-31:G>A, D: 100503486V2|F|0-31:G>A-31:G>A, E: 100502388|F|0-17:A>T-17:A>T y conjunto de primers evaluados. El punto negro corresponde a la muestra control, los puntos rojos a las muestras del cv. Don Walter y los azules a OTA-S. En el gráfico E, se representan en rosa las muestras amplificadas con el primer 100502388|F|0-17:A>T-17:A>T.



**Figura 1.11.** Gráficos de coordenadas correspondientes a la amplificación con el conjunto de primers de KASP 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T de todos los individuos de la población de mapeo (A: nueva población de mapeo, B: población de mapeo previa). El punto negro corresponde a la muestra control, los puntos rojos a las muestras del cv. Don Walter y los híbridos apomícticos y los azules a OTA-S y los híbridos sexuales.

## Discusión

Los nuevos cruzamientos realizados entre los genotipos tetraploides OTA-S y Don Walter permitieron obtener 61 híbridos que, sumados a los 48 sobrevivientes de la población previa (Zappacosta et al., 2019), conformaron la nueva población de mapeo constituida por 109 individuos.

De acuerdo con el análisis fenotípico, del total de la población resultaron 48 híbridos apomícticos y 61 sexuales, representando una proporción cercana al 1:1 ( $\chi^2 = 1,55$ ,  $gl = 1$ ). Previamente se había propuesto un modelo genético simple para la herencia de la apomeiosis en pasto llorón (Voigt y Burson, 1992; Zappacosta et al., 2019), donde la apomeiosis es dominante sobre la sexualidad y es controlada por un solo gen. La nueva evidencia, con un mayor número de plantas evaluadas, sigue respaldando este modelo, pero no se trata de un solo gen sino una región con baja recombinación que contiene un bloque de genes ligados. Nuestra hipótesis es que la sexualidad es el modo básico de

reproducción y que la apomixis es derivada y puede suprimir, pero no eliminar la sexualidad. También existirían otros genes que controlan el nivel de expresión de la apomixis en plantas que contienen la región determinante del carácter, ya que el porcentaje de procesos sexuales y apomícticos en una misma planta puede cambiar en distintas floraciones y ante situaciones de estrés, dando la posibilidad a una regulación externa (por fuera de la región APO) o por mecanismos epigenéticos.

Para la elaboración del nuevo mapa de ligamiento se decidió utilizar marcadores DArT-Seq por su mayor confiabilidad y precisión (Vikram et al., 2016). Es una técnica que permite analizar simultáneamente muchas muestras, generando cientos a miles de marcadores y que realiza una identificación de los SNPs *de novo*, independientemente de cualquier genoma de referencia (Sansaloni et al., 2020, 2011). Gracias a la mayor cobertura alcanzada con la metodología DArT-Seq, se logró construir el primer mapa genético consenso de la especie *E. curvula*, con el posicionamiento del APO locus en el GL1.

Con respecto a la población de mapeo, la conformación de la misma resultó una etapa muy laboriosa y difícil de lograr con las plantas de *E. curvula*, debido a diversos factores tales como el complejo modo reproductivo de esta especie, la incapacidad para realizar la emasculación debido al tamaño y morfología de las espiguillas y la alta frecuencia de autopolinización en el único genotipo materno (OTA-S). A lo anterior, se sumó la gran mortandad de las plántulas en la etapa de aclimatación. Trabajos de referencia como el de Wu et al. (1992), mencionan que las poblaciones deben tener un tamaño mínimo de 75 individuos. En esta tesis, el aumento en el número de individuos de la población de mapeo nos permitió conseguir un mapa consenso entre los parentales para *E. curvula*, situación que no se alcanzó previamente y se habían formado dos mapas por separado para cada parental. Otra modificación, con respecto al mapeo anterior, fue la construcción de solo 20 GLs, en lugar de 40, que corresponden al número haploide de cromosomas de los parentales. El nuevo mapa tiene 4.605 cM de largo total y quedó conformado por 1.132 SNPs, siendo 514 maternos, 587 paternos y 31 biparentales.

Al incorporar el carácter apomeiosis al mapa este se ubicó en el GL1 con tres marcadores SNP 100 % ligados (DArT-SNPs 100477277|F|0-6:C>T-6:C>T, 100502388|F|0-17:A>T-

17:A>T y 100503486|F|0-31:G>A-31:G>A), es decir que no se produce recombinación entre los marcadores y el carácter. Dicha situación está en acuerdo con informes previos de una región de baja recombinación que controla el rasgo en otras especies (Ozias-Akins y van Dijk, 2007; Albertini et al., 2010; Ortiz et al., 2013; Zappacosta et al., 2019).

La identificación de una región en el mapa de ligamiento que coincide con el orden en los ensamblados de los genomas secuenciados da indicios de que alguno de los componentes de la apomixis estaría regulado por los genes dentro de la región delimitada, como fuera informado para *Pennisetum* y *Cenchrus* (Conner et al., 2008). En otras especies diplospóricas se demostró que los distintos componentes que controlan la apomixis (apomeiosis, partenogénesis y endosperma autónomo o pseudogamia) están físicamente separados, aunque estas regiones se heredan como un único locus (*T. dactyloides*) o en forma independiente (*E. annuus*) (Grimanelli et al., 1998; Noyes et al., 2007). En *E. curvula*, aún se desconoce si la expresión de este carácter se basa en una sola región o en regiones relacionadas que co-segregan, siendo esta última hipótesis la más probable (genes que co-segregan). Queda pendiente la evaluación de la partenogénesis, componente necesario para la obtención de semillas apomícticas.

En el mapa consenso, la región delimitada por los marcadores 100 % ligados a la apomeiosis (APO locus) corresponde a 11.322.729 pb en el Contig28 del genoma de referencia (cv. Victoria) y en el mapa previo a 10.492.321 pb (Zappacosta et al., 2019). Aunque esta región ligada al carácter es muy extensa y contiene cientos de genes, en otras especies modelo de apomixis se han encontrado resultados similares, incluso regiones de mayor tamaño. La recombinación suprimida entre caracteres y marcadores moleculares vinculados es un tema recurrente en los mapas genéticos de las especies apomícticas, particularmente dentro de la familia Poaceae. Esta falta de recombinación se evidencia al comparar los marcadores asociados al locus determinante de la aposporía (ASGR, apospory-specific genomic region) con regiones equivalentes de maíz y arroz, encontrándose en las plantas apomícticas distancias genéticas muy reducidas y grandes distancias físicas en las especies sexuales de referencia. En *Pennisetum squamulatum* y en especies del género *Paspalum*, el locus determinante de la ASGR muestra falta de recombinación, formando un bloque extenso de 50 Mpb en *P. squamulatum* (Akiyama et

al., 2004), que representa aproximadamente una cuarta parte de un cromosoma, que se hereda por completo asegurando así la herencia concurrente de todos sus componentes (Ozias-Akins et al., 1998; Labombarda et al., 2002; Stein et al., 2007). Dado el gran tamaño físico estimado, una conclusión lógica es que múltiples genes pueden ser requeridos para la apomixis y un mecanismo evolutivo para asegurar su transmisión intacta sería agruparlos en un bloque. Tales patrones evolutivos tienen precedentes, como la autoincompatibilidad en *Brassica* (Boyes et al., 1997). Varios mecanismos podrían estar operando para reducir la recombinación y mantener el desequilibrio de ligamiento, como divergencia en la secuencia de los alelos, reordenamientos cromosómicos, translocaciones e inversiones y la remodelación de la cromatina.

Varios autores han informado la presencia de elementos repetitivos, pseudogenes y regiones heterocromáticas en la ASGR. Koltunow y Grossniklaus (2003) plantearon la hipótesis de que las secuencias repetitivas actúan como un sumidero para secuestrar factores involucrados en la vía de reproducción sexual, alterando así la expresión de los procesos de reproducción sexual y posiblemente causando apomixis. Más recientemente, Kotani et al. (2013) informaron que las extensas estructuras de secuencias repetitivas asociadas con el locus de aposporía en *Hieracium* no son necesarias para la apomixis. Por lo tanto, es posible que estas características estructurales y la divergencia de alelos ocurran como consecuencia de la reproducción asexual y la recombinación suprimida, que podría haber evolucionado para mantener los elementos genéticos necesarios para la apomixis.

En *Taraxacum* se demostró que varios elementos independientes (apomeiosis, partenogénesis y endosperma autónomo) controlan la diplosporía (Záveský et al., 2007). Estudios citoembriológicos han revelado que la diplosporía está caracterizada por una alteración en el tiempo de desarrollo de la esporogénesis y del embrión (Grimanelli et al., 2003). Las plantas que exhiben este modo reproductivo muestran un fenotipo heterocrónico, resultado de una alteración temporal en la progresión del proceso sexual (Grimanelli et al., 2003; Sharbel et al., 2009).

El análisis de sintenia entre los GLs del mapa consenso y el genoma del cv. Victoria (Carballo et al., 2019) permitió asociar todos los GLs a alguno de los contigs y hallar los GLs que corresponderían potencialmente a cada uno de los genomas del alotetraploide (homeólogos). Para cumplir esa hipótesis se tendrían que haber encontrado dos GLs para los principales contigs del genoma del cv. Victoria. Aunque esto no fue posible en todos los casos, se cumplió para la mitad de los GLs y en el resto se agruparon tres GLs en un contig o un solo GL quedó asociado a un contig.

La secuencia de los SNPs 100 % ligados a la apomeiosis presentaron homología con proteínas anotadas en bases de datos. Una de ellas fue con una proteína E3 ubiquitina ligasa, que al igual que otras proteínas de tipo RING participa en la degradación de proteínas dependiente de ubiquitina del proteasoma 26S. Tales proteínas RING están involucradas en la regulación de numerosos procesos celulares, tales como la transcripción, transmisión de señales, recombinación y progresión del ciclo celular. La vía de la ubiquitina ha sido reportada varias veces como diferencial entre apomixis y sexualidad en diferentes especies, como *E. curvula* (Selva et al., 2020; Carballo et al., 2021), *Paspalum notatum* (Bocchini et al., 2018), *Hieracium praealtum* (Okada et al., 2013), *Hypericum perforatum* (Galla et al., 2017), *Boechera* spp. (Zühl et al., 2019), entre otras. Este resultado muestra la importancia de esta vía en la regulación en la expresión de genes a través de la degradación de proteínas. A su vez, la presencia de dos secuencias (posiblemente alelos) de la E3 ubiquitina ligasa en el genotipo apomíctico, pero sólo una de ellas en el genotipo sexual, permite suponer que sea una diferencia clave para la manifestación del carácter apomixis.

Otro de los marcadores 100 % ligados a la apomeiosis presenta homología con una D-aminoácido transaminasa, que es una enzima importante para la síntesis de aminoácidos no esenciales y para la degradación de la mayoría de aminoácidos. La secuencia de esta transaminasa a su vez, es similar a los folatos, cuya función radica en donar o aceptar unidades de carbono durante la síntesis de purinas, timidilato, metionina, pantotenato y formil-metionil-tRNA, así como en la interconversión serina-glicina y catabolismo de histidina y la deficiencia de folatos en las plantas, esta relacionada con severas

alteraciones en su desarrollo (Reyes-Hernández et al., 2015). Se demostró de una manera indirecta como el contenido de folatos en el desarrollo de las plantas podría modificarse a través de la metilación de ADN y proteínas (Zhang et al., 2012; Zhou et al., 2013). Sin embargo, aun no se tiene evidencia contundente sobre ello y son necesarios más estudios para entender el papel y mecanismo de acción de los folatos en la fisiología y el desarrollo vegetal.

### **Conclusiones**

1-Se construyó una población de mapeo a nivel tetraploide de *E. curvula*, generada del cruzamiento entre parentales contrastantes para el modo reproductivo, con un número de individuos tal, que permite mayor robustez en futuros estudios de la apomixis y otros caracteres.

2- Se logró construir el primer mapa de ligamiento genético consenso de la especie *Eragrostis curvula*, posicionando el locus responsable de la apomeiosis (APO).

3- El análisis fenotípico realizado con el marcador molecular dominante desarrollado por nuestro grupo de trabajo, permitió discriminar entre individuos sexuales y apomícticos en la población de mapeo, coincidiendo con el análisis citoembriológico, convirtiéndose en un elemento preciso para futuros fenotipados para modo reproductivo.

4- Se desarrollaron marcadores KASP, para validar los marcadores 100 % ligados a la región APO. Dichos marcadores son codominantes y resultan tan confiables como el marcador dominante desarrollado previamente.

5- Las secuencias correspondientes a los marcadores SNPs 100 % ligados a la apomeiosis presentaron homología con genes (transaminasa, E3 ligasa y proteína hipotética) señalando a dichos genes como potenciales candidatos para la regulación del modo reproductivo.



## **CAPÍTULO 2: Evidencias de control epigenético sobre la regulación de la apomeiosis en *Eragrostis curvula*. Rol de la metilación.**

### **Introducción**

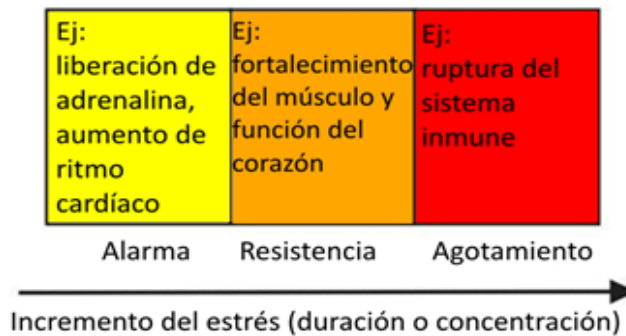
La epigenética se ha convertido en un factor clave para comprender los mecanismos y vías involucrados en la regulación de la frecuencia, tasa o grado de expresión génica cuando no hay cambios en la secuencia de ADN. Cuando la epigenética comenzó a conocerse como mecanismo regulador, fue descrita como “cambios heredables en la función génica que no podían explicarse por cambios en la secuencia de ADN” (Russo et al., 1996). Sin embargo, las definiciones modernas incluyen alteraciones a largo plazo en el potencial transcripcional de una célula que no son necesariamente heredables (Chadwick, 2012). Específicamente en las plantas, la epigenética es un reflejo de la historia evolutiva, ya que pueden exhibir una plasticidad fenotípica notable que es esencial para colonizar, crecer y reproducirse en entornos terrestres impredecibles (Bräutigam y Cronk, 2018). Los mecanismos epigenéticos también son factores clave durante la fina regulación temporal y espacial de la expresión génica, lo que permite a las plantas sobrevivir y reproducirse con éxito en diferentes entornos (Pikkard y Scheid, 2014). Los límites entre la regulación epigenética y genética son difusos y la discusión del alcance de cada una aún están en curso. Sin embargo, hay un consenso en que la metilación del ADN, la modificación de histonas y el silenciamiento génico mediado por ARN son parte de la maquinaria epigenética. La modificación de histonas y la metilación *de novo* del ADN son mecanismos dependientes de ARN interferente (ARNi); sin embargo, existe una interacción continua entre las modificaciones de histonas y la metilación (Sudan et al., 2018). Estos mecanismos están fuertemente influidos por el ambiente y los estreses internos y externos juegan un rol esencial.

### ***Concepto de Estrés***

Las plantas están constantemente expuestas a múltiples condiciones ambientales adversas como sequía, calor, frío, salinidad, deficiencias de nutrientes, entre otros. Estos factores o estresores tienen efectos perjudiciales sobre el crecimiento y la productividad de las mismas.

Una característica muy importante de las plantas es que deben enfrentar todas estas situaciones en el mismo lugar, sin la posibilidad de escapar, como lo hacen los animales, puesto que son organismos sésiles. Por esa razón, las plantas han desarrollado diferentes mecanismos para responder a los estresores, que van desde cambios en la expresión génica hasta cambios en su fisiología, arquitectura y metabolismo primario y secundario (Boyer, 1982; Madlung y Comai, 2004). Estos cambios les permiten tolerar y/o adaptarse a condiciones adversas a través de diferentes respuestas cuya complejidad y magnitud puede estar además influenciada por la duración e intensidad del estrés, el genotipo de la planta, la combinación de diferentes estresores, el tejido y el tipo de célula expuestos y la etapa fenológica en la que las plantas perciben el estrés. La reproducción es una etapa muy importante de la vida de las plantas y los estresores internos y externos también la afectan de diferentes maneras.

Un concepto de estrés comúnmente aceptado en las ciencias es el de 'Síndrome General de Adaptación', introducido por el endocrinólogo Hans Selye (1936), que comprende tres fases (Figura 2.1). Cuando se identifica o se percibe un estresor, el individuo entra en un estado de 'alarma'. Si el estrés persiste, el organismo entra en la fase de 'resistencia', donde intenta hacer frente al estrés utilizando mecanismos de protección y defensa contra el mismo. En la fase de 'agotamiento', los recursos del organismo se acaban y, eventualmente, el organismo no puede mantener las funciones normales.



**Figura 2.1.** Síndrome General de Adaptación'. Adaptado de Selye (1936).

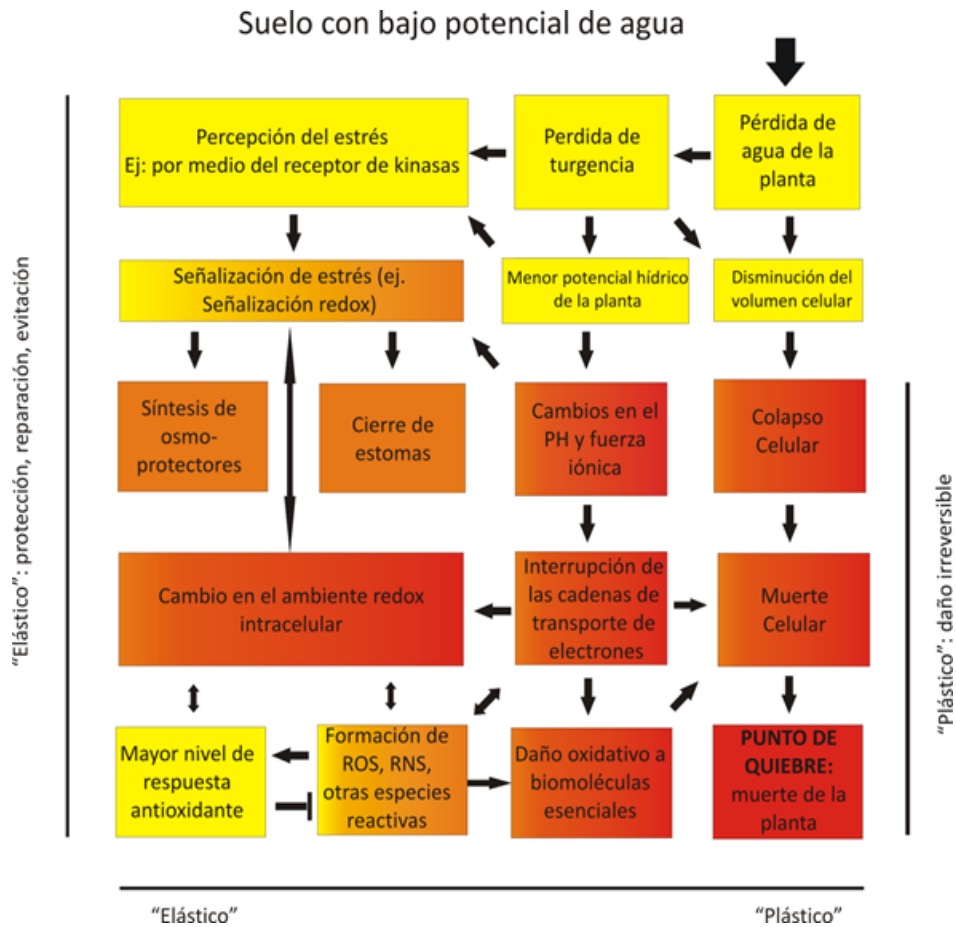
### ***El estrés en las plantas***

Los conceptos mencionados anteriormente pueden también aplicarse a las plantas, teniendo en cuenta las diferencias que existen entre las mismas y los mamíferos. En la Figura 2.2 se muestra un ejemplo de las intrincadas respuestas de una planta a la privación de agua, donde el bajo potencial de agua del suelo representa el estrés inicial. Por analogía con la mecánica, una "respuesta elástica" implicaría un daño reversible que puede ser reparado, de modo que se mantiene la función y la viabilidad, mientras que una "respuesta plástica" puede comprender un daño irreversible como resultado de la falla de los mecanismos de reparación, alcanzando el punto de quiebre que representaría la muerte de la planta.

El estrés también puede ser interno o externo. A su vez, el externo es causado por factores bióticos o abióticos (Kranner et al., 2010). Los factores bióticos están constituidos por organismos vivos, como microorganismos e insectos que atacan a las plantas. Los estreses abióticos resultan de factores no vivos, como sequías, temperaturas extremas, salinidad y contaminantes, como por ejemplo metales pesados (Kranner et al., 2010). Además, los estreses pueden ser a corto o largo plazo (persistente). En el primer caso, pueden ser parcialmente compensados por aclimatación, adaptación y reparación, y en el segundo pueden causar daños considerables y pueden llevar a la muerte celular y de la planta.

Los estreses internos se deben a fenómenos causados por procesos que se dan normalmente en la naturaleza, como la hibridación o la poliploidización, que inicialmente

provocan choques genómicos que comprenden el movimiento de elementos móviles y conducen a la reestructuración de los genomas.



**Figura 2.2.** Respuestas de una planta a la privación de agua. Adaptada de Kranner et al. (2010).

En relación a la reproducción y el estrés, diferentes trabajos indican que en organismos que pueden reproducirse tanto sexual como asexualmente el estrés juega un papel importante en determinar el modo reproductivo que va a utilizarse (Merchan et al., 2001). Diferentes especies de hongos, incluidos *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa* y *Candida albicans*, inducen la esporulación sexual bajo condiciones de deficiencia de nitrógeno (Gimeno et al., 1992; Springer, 1993). En las algas *Volvox carteri* y *Chlamydomonas reinhardtii*, la reproducción sexual se desencadena en respuesta al estrés abiótico (Nedelcu y Michod, 2003; Treier et al., 1989). El modo reproductivo de las gramíneas también responde a condiciones ambientales, como fotoperiodo, salinidad, sequía, altas temperaturas, entre otros factores (Evans y Knox, 1969; Quarin, 1986;

Guonaris et al., 1991; Lutts et al., 1994). Estos trabajos indican que la expresión de la apomixis se ve afectada por situaciones estresantes internas y externas, como las mencionadas más arriba.

La mayoría de las especies que presentan apomixis gametofítica son facultativas, lo que significa que producen sacos embrionarios tanto sexuales como apomícticos con frecuencias específicas que dependen del genotipo y, a veces, del ambiente (Asker y Jerling, 1992; Carman et al., 2011).

### ***Evidencias de regulación epigenética sobre la apomeiosis de pasto llorón***

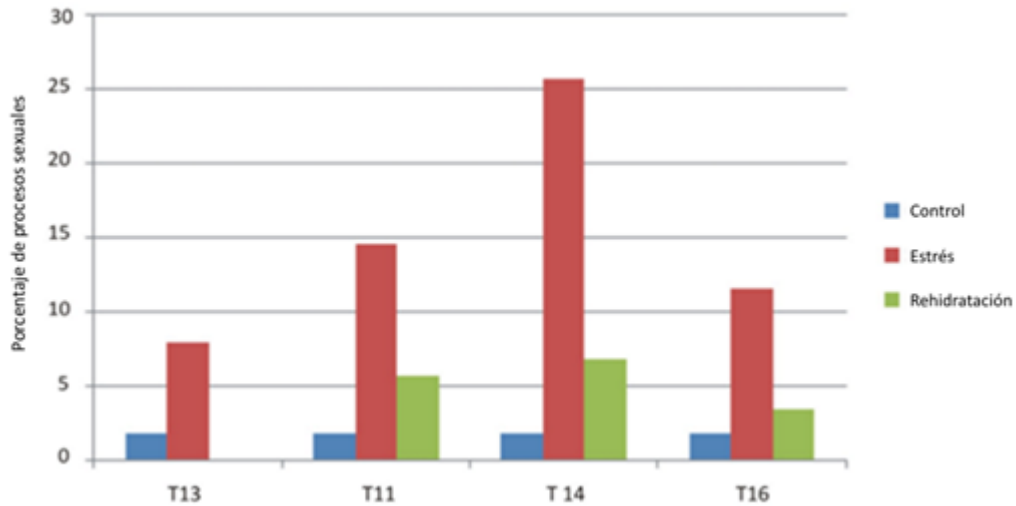
Además del control genético analizado en el Capítulo anterior, nuestro grupo fue encontrando distintas evidencias de que el carácter se encuentra regulado por distintos mecanismos epigenéticos. Las primeras evidencias acerca de los efectos del estrés sobre la reproducción del pasto llorón fueron obtenidas por el grupo de trabajo y se encuentran plasmadas en la tesis del Dr. Pablo Polci (2000). La misma se basó en la obtención de variación somaclonal a través del pasaje de inflorescencias por cultivo *in vitro* con una etapa de callo. En ese momento se obtuvieron unas pocas plantas con mayor nivel de ploidía que el correspondiente al cultivar de partida, el cultivar tetraploide apomíctico Tanganyika ( $2n = 4x = 40$ ), otras con menor nivel y otras que producían semillas con progenie variable. Respecto de estas últimas la hipótesis fue que hubo una disrupción del modo reproductivo apomíctico hacia la sexualidad, debido al efecto del “choque genómico” producido por el estrés del cultivo *in vitro*. Pasado un tiempo considerable, las plantas, que son perennes, volvieron a producir progenie uniforme. En ese momento no se contaba con las facilidades de realizar estudios citoembriológicos y tampoco el grupo trabajaba en la temática, pero estas fueron las primeras evidencias, intuitivas, de la presencia de un control epigenético sobre el carácter.

Más tarde, esta situación se pudo analizar con mayor profundidad, contando directamente el número de sacos embrionarios producidos. El porcentaje promedio de sacos embrionarios sexuales en el cultivar apomíctico facultativo Tanganyika en

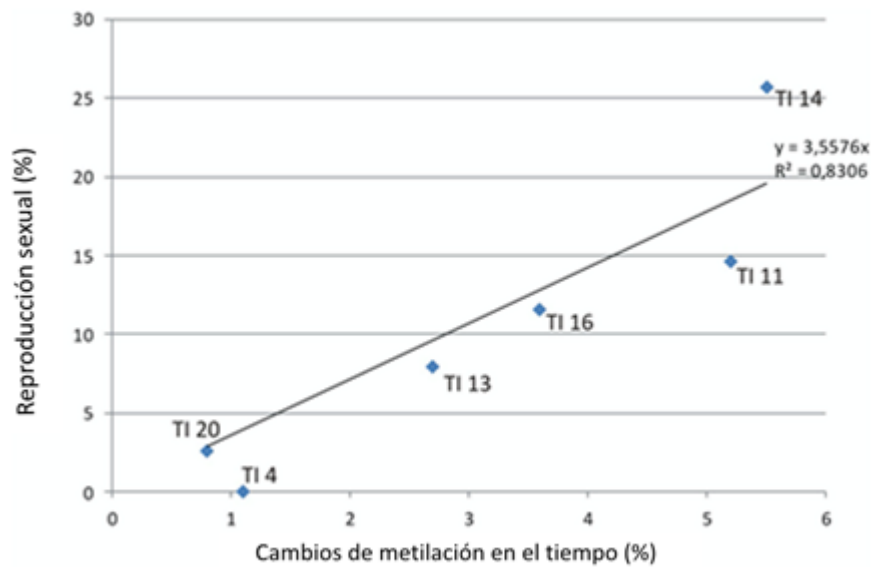
condiciones estables (invernáculos) es cercano al 2 % (Rodrigo et al., 2017). Después de un período de cultivo de tejidos, el porcentaje para el mismo cultivar fue del 33 %.

En el mismo artículo de Rodrigo et al. (2017) se informó el efecto de un estrés hídrico controlado y la posterior rehidratación, sobre el porcentaje de sacos apomícticos del facultativo cv. Tanganyika INTA. Se trabajó con plantas clonales para evitar diferencias que no fueran exclusivamente debidas a los tratamientos. Se observó que el porcentaje de sacos embrionarios sexuales en este caso alcanzó aproximadamente el 15 %, con un Contenido Relativo de Agua (CRA) promedio de 49 % (Tabla 2.3). Algunos meses después de la liberación del estrés, el porcentaje disminuyó (5 %) pero no al nivel basal (2 %). En la Figura 2.3 (Rodrigo et al., 2017) se muestra como la sequía estimula el aumento de sacos embrionarios sexuales, lo cual se correlaciona bien con cambios en la metilación del ADN de inflorescencias, como se aprecia en la Figura 2.4. Si bien estos cambios en metilación fueron consistentes, no se observó una tendencia clara hacia metilaciones o desmetilaciones. En dicha oportunidad se utilizó la técnica de MSAP, con una limitada cobertura del genoma, no pudiéndose determinar la especificidad de los cambios, aunque se secuenciaron varias bandas. Estos resultados nos inducen a pensar que los cambios en metilación debidos a estrés pueden ser globales y azarosos y que el cambio que lleva al aumento de la sexualidad se debe a un cambio inespecífico en la metilación que conduce a un cambio en algún gen regulador o estructural que es específico de la vía.

Rodrigo et al. (2017) analizaron perfiles de marcadores AFLP y MSAP y realizaron la siguiente comparación: ADN de plantas estresadas por sequía y de plantas control (hojas recolectadas durante el estrés y después del período de rehidratación). En plantas control y estresadas por sequía, siete combinaciones de cebadores AFLP produjeron un total de 294 marcadores monomórficos. Por lo tanto, no se detectaron cambios genéticos entre las plantas clonales durante y después del tratamiento de sequía.



**Figura 2.3.** Porcentaje de procesos sexuales en plantas normalmente regadas y sometidas a estrés por déficit hídrico de pasto llorón cv Tanganyika. Tomado de Rodrigo et al. (2017).



**Figura 2.4.** Cambios en metilación vs porcentaje de sacos embrionarios sexuales en plantas control (TI4 y T20) y estresadas de pasto llorón (TI11, TI13, TI14 y T16). Tomado de Rodrigo et al. (2017).

Se colectaron semillas de las plantas control y sometidas a estrés hídrico y se realizaron pruebas de progenie utilizando marcadores RAPD. Los resultados indicaron un nivel más bajo de lo esperado de variación dentro de cada progenie en función del número de sacos embrionarios sexuales observados por citoembriología, lo que sugiere que no todos los

sacos embrionarios sexuales conducen a la producción de plantas viables, sobre todo bajo condiciones de estrés. Resultados similares fueron obtenidos por Rebozzio et al. (2011) en *P. notatum* y por Carman et al. (2019) en *Boechea* en plantas no sometidas a estrés.

Informes recientes en plantas modelo resaltan el rol de la metilación del ADN en la regulación de la transición somático - reproductivo en el óvulo, sugiriendo que la apomixis probablemente se debe a una regulación negativa de la vía de la metilación del ADN dependiente de ARN (RdDM) (García-Aguilar et al., 2010). Selva et al. (2017) analizando el transcriptoma de referencia de *E. curvula* (Garbus et al., 2017), identificaron homólogos de tres genes candidato cuyas mutaciones en Arabidopsis y maíz mimetizan apomixis (*AtAGO9/ZmAGO104*, *AtCMT3/ZmDMT102/ZmDMT105*, y *AtDDM1/ZmCHR106*). Se hallaron patrones de expresión contrastantes al analizar la expresión temporal en genotipos sexuales y apomícticos de *E. curvula*. La hibridación *in situ* permitió corroborar estos resultados para dos de los candidatos, *EcAGO104* y *EcDMT102* y reveló un patrón inesperado para el gen *EcAGO104* durante la diferenciación de la línea germinal en plantas apomícticas. Estos resultados sugieren que más que una disrupción de la vía de la RdDM en el óvulo, se requiere una localización alterada de la expresión de *EcAGO104* para que se manifieste la diplosporía en *E. curvula*. Estudios recientes han resaltado el rol de pequeños ARNs interferentes (siRNAs) en el desarrollo apomíctico, mostrando como la disminución de la vía de RdDM, específicamente en óvulos, promueve un desarrollo reproductivo asexual (Grimanelli, 2012), sustentado por análisis transcriptómicos en varias especies como *Boechea gunnisoniana* (Schmidt et al., 2014), *Hypericum perforatum* (Galla et al., 2015; Galla et al., 2017) y *Hieracium spp.* (Rabiger et al., 2016).

Entonces, como se viene observando hasta ahora, diferentes factores de estrés arrojan resultados similares en cuanto al incremento de sacos sexuales en plantas apomícticas facultativas.

### ***Regulación mediada por microARNs***

Otro resultado interesante surge del hecho de haber encontrado que la expresión de dos genes está reprimida en el genotipo sexual, lo que fue asociado a la expresión específica de microARNs (Garbus et al., 2019). Uno de estos genes codifica para un factor de



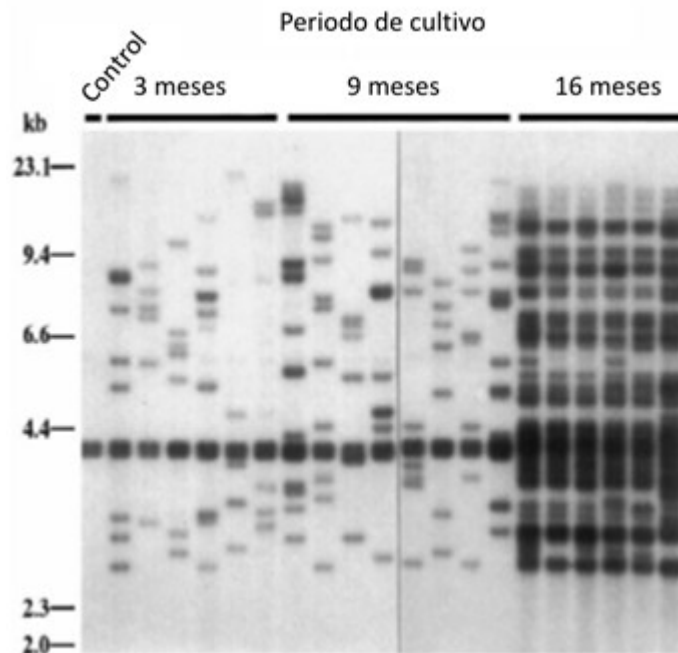
transcripción de tipo MADS-box y el otro es un transposón. Estos resultados sugieren fuertemente que los miRNAs están involucrados en la expresión de la apomeiosis en *E. curvula* a través de sus efectos represivos sobre la expresión de genes específicos.

Posteriormente, en el trabajo de Pasten et al. (2022) se caracterizaron siete miRNAs diferencialmente expresados en relación al modo reproductivo. Se encontró que un gen de kinesina, reprimido en el cultivar apomítico Tanganyika, es regulado por un nuevo miRNA que se encontró sobreexpresado en este genotipo, lo que sugiere alguna relación con el modo reproductivo. Este trabajo proporcionó evidencia adicional de la contribución de la regulación epigenética de apomixis en *E. curvula*.

### ***Elementos Repetitivos***

Los elementos transponibles (TE), también conocidos como transposones, son secuencias repetitivas de ADN capaces de moverse de una ubicación a otra dentro de un genoma. Se ha determinado que los genomas vegetales varían en su contenido de estas secuencias y que este se encuentra correlacionado positivamente con el tamaño del genoma (Lee et al., 2014).

La transposición de estos elementos parece estar regulada a nivel de transcripción y se ha encontrado que el nivel de transposición incrementa ante diferentes situaciones de estrés (Echenique et al., 2002). En tabaco y en arroz se demostró una correlación entre transcripción y transposición para los retrotransposones *Tto1* y *Tos17* con el tiempo de cultivo *in vitro* de callos (Hirochika, 1993; Hirochika et al., 1996). La Figura 2.5 muestra el incremento de la transposición de un transposón de arroz a medida que incrementa el tiempo de cultivo *in vitro* (Hirochika et al., 1996). Este mecanismo también podría estar involucrado en el incremento de sacos sexuales en los individuos apomíticos facultativos ante condiciones de estrés.



**Figura 2.5.** Aumento en el movimiento de un transposón de arroz a medida que incrementa el tiempo en cultivo *in vitro* (Tomado de Hirochika et al., 1996).

En *E. curvula* se encontraron diferentes porcentajes de TEs en genotipos con diferentes niveles de ploidía y modos reproductivos (Romero et al., 2016), observando que el porcentaje de elementos repetitivos en hojas era casi el doble que en inflorescencias, siendo los retrotransposones los más representados. También se encontró que siete ARNm que contenían transposones de ADN tipo *MuDR* y retrotransposones tipo *Gypsy* y *Copia*, estaban diferencialmente representados según el tejido, el modo reproductivo o la ploidía. En ese momento se postuló que probablemente un transposón que está silenciando un gen involucrado en la sexualidad en plantas apomícticas abandona su sitio y el gen puede ser activado nuevamente, retomándose la vía sexual.

Posteriormente, cuando se dispuso del primer genoma de referencia de la especie (Carballo et al., 2019), el análisis del genoma diploide permitió detectar un 28,7 % de elementos repetitivos, principalmente retrotransposones de tipo LTR (Long Terminal Repeats), mientras que en la actual versión del genoma tetraploide de la que disponemos, el porcentaje de estos elementos se elevó a un 48 % (Carballo, comunicación personal).

### ***Expresión de apomixis e hibridación***

Para obtener una población de mapeo en pasto llorón para estudiar la herencia de la apomixis y obtener marcadores moleculares ligados al carácter se realizaron varios cruzamientos. Uno de los primeros intentos fue utilizando como parentales a los genotipos OTA-S x Tanganyika USDA. De las casi 3.000 semillas obtenidas del cruzamiento solo se obtuvieron seis plantas híbridas. En su primera floración (año 2010) se analizó el modo reproductivo de los híbridos por citoembriología y se clasificaron cuatro plantas como sexuales y dos como apomícticas (Tabla 2.1). De las dos plantas apomícticas, una de ellas generó un 46,2 % (#39) de sacos embrionarios diplospóricos y la otra un 85,6 % (#105) (Rodrigo, 2014).

**Tabla 2.1.** Clasificación por modo reproductivo de híbridos obtenidos de la cruce entre OTA-S x Tanganyika USDA en su primera floración (año 2010). Apo: procesos apomícticos típicos, Sex: procesos sexuales.

Híbrido número	Pistilos analizados	Número de pistilos		Porcentaje	
		Apo	Sex	Apo	Sex
39	91	42	49	46,2	53,8
52	103	0	103	0	100
60	123	0	123	0	100
76	120	0	120	0	100
93	104	0	104	0	100
105	97	83	14	85,6	14,4

En la siguiente floración (2011/12) solo sobrevivieron dos de estas seis plantas, una sexual (#60) y una apomíctica (#105). En el análisis citoembriológico en el segundo período de floración (de enero a marzo), el híbrido #60 presentó sólo ovarios sexuales (Tabla 2.2) y el híbrido #105 mostró una gran disminución en el porcentaje de sacos embrionarios apomícticos (del 88 % al 29,7 %). En la siguiente temporada de floración (2012/13), el híbrido #105 mostró una frecuencia del 45±65 % de reproducción apomíctica (Tabla 2.3). Sorprendentemente, el híbrido #60, previamente clasificado como sexual, produjo tres sacos embrionarios diplospóricos de 68 pistilos analizados.

**Tabla 2.2.** Híbridos de la cruce entre OTA-S x Tanganyika USDA en su segunda floración (2011). Apo: procesos apomícticos típicos, Sex: procesos sexuales.

Híbrido número	Pistilos analizados	Número de pistilos		Porcentaje	
		Apo	Sex	Apo	Sex
60 (6/10/11)	108	0	108	0	100
60 (2/3/12)	123	0	123	0	100
105 (6/10/11)	108	95	13	88	12
105 (2/3/12)	101	30	71	29,7	70,3

**Tabla 2.3.** Híbridos de la cruce entre OTA-S x Tanganyika USDA en su tercera floración (2012). Apo: procesos apomícticos típicos, Sex: procesos sexuales.

Híbrido número	Pistilos analizados	Número de pistilos		Porcentaje	
		Apo	Sex	Apo	Sex
60 (06/10/12)	94	0	94	0	100
60 (08/11/12)	107	1	106	0,9	99,1
60 (05/05/13)	68	2	66	2,9	97,1
105 (04/10/12)	76	48	28	63,2	36,8
105 (08/11/12)	88	52	36	59,1	40,9
105 (07/05/13)	65	28	37	43,1	56,9
105 (10/05/13)	88	49	39	55,7	44,3
105 (20/05/13)	116	76	40	65,5	34,5

El análisis de inflorescencias en diferentes temporadas del híbrido #105 mostró que la frecuencia de reproducción apomíctica frente a sexual permaneció errática y cercana al 50 %. Dichas fluctuaciones podrían deberse al estrés producido por la interacción de genomas parentales divergentes. Se observó previamente que la hibridación puede llevar a reorganizaciones genéticas y cambios epigenéticos. Aunque se trata de dos cultivares de *E. curvula*, el bajo número de híbridos obtenidos es indicativo de algún tipo de incompatibilidad entre los mismos. Una posibilidad sería que los genomas híbridos aún

estén en estado de reorganización o adaptación luego del estrés por la hibridación y que esto también esté afectando la frecuencia de procesos sexuales, tal vez al estar restaurando los patrones de metilación y de movimiento de elementos móviles.

Se analizó la estructura genética y epigenética de los híbridos #60 y #105 (año 2010) y tres años después de la hibridación (año 2013) utilizando marcadores AFLP y MSAP. Siete combinaciones de cebadores AFLP solo revelaron marcadores monomórficos (243) en el híbrido #60, mientras que el híbrido #105 mostró 295 marcadores monomórficos y 16 marcadores polimórficos (durante este período, aparecieron diez nuevas bandas y desaparecieron seis). A nivel epigenético (MSAP), se identificaron un total de 254 y 287 marcadores MSAP (6 combinaciones de cebadores) en los híbridos #60 y #105, respectivamente. La gran mayoría (92 % y 94 %) de estos marcadores fueron monomórficos con el tiempo. El híbrido #105 mostró cambios genéticos, junto con una variación mucho mayor en la frecuencia de reproducción sexual, que el híbrido #60, que también mostró mayor estabilidad (entre el 97 y el 100 % de los sacos embrionarios sexuales) durante el período analizado.

### ***Expresión de apomixis y cambios de ploidía***

Nuestro grupo también evaluó el efecto de los cambios de ploidía recientes sobre la expresión de la apomixis utilizando una serie euploide de plantas de pasto llorón previamente informada por Cardone et al. (2006). Utilizando marcadores AFLPs y MSAP se detectaron modificaciones genéticas y epigenéticas a través del tiempo, con incrementos en el nivel de metilación en el poliploide reciente que mostró en principio altos niveles de sacos sexuales y luego un alto porcentaje de sacos apomícticos (Zappacosta et al., 2014). La mayoría de las secuencias de AFLP mostraron similitud con genes codificantes de proteínas y casi la mitad de las secuencias MSAP mostraron similitud con retrotransposones *Gypsy* o *Copia*.

### ***Apomeiosis, estrés y transcriptos diferencialmente expresados***

Más recientemente Selva et al. (2020) trabajando con plantas del cv. Don Walter sometidas a estrés hídrico trataron de asociar el incremento de sacos embrionarios

sexuales bajo condiciones de estrés hídrico con genes que se expresan de manera diferencial. Se encontró que el porcentaje de sacos sexuales se incrementó de 4 a 24 % y 501 transcritos de un total de 201.011 fueron diferencialmente expresados entre plantas control y plantas sometidas a estrés por déficit hídrico. Los resultados señalan como candidatos a genes involucrados en metilación, ubiquitinación, hormonas, vías de transmisión de señales, reguladores de la transcripción y biosíntesis de la pared celular. Algunos de estos genes actúan en respuesta general al estrés y otros son específicos de vías relacionadas a la reproducción. Un candidato muy interesante cuya expresión se vio incrementada por estrés es una glicosilasa de ADN denominada *EcROS1-like*. Se trata de un transcripto que presenta homología con el represor de silenciamiento *ROS1A*, que elimina citosinas metiladas. En *Arabidopsis* se ha encontrado que este gen puede desmetilar hasta 5.000 genes diferentes. Por esta razón se torna un candidato atractivo, dado que además coincidiría con lo observado por Rodrigo et al. (2017), quien indica que probablemente cambios inespecíficos de metilación/desmetilación puedan actuar sobre genes específicos desreprimiendo la sexualidad en plantas apomícticas facultativas de pasto llorón.

### ***Metilación del ADN y técnicas para su estudio***

La metilación del ADN en plantas es un mecanismo dinámico, ya que los procesos de metilación y desmetilación ocurren continuamente en relación con el entorno y el desarrollo (Zhang et al., 2018). La adición de grupos metilo a la cadena de ADN afecta la estructura de la cromatina y limita la transcripción de la información genética (Zhang et al., 2018). Este mecanismo es esencial para la homeostasis y el desarrollo, ya que su alteración produce anomalías como la falla en la maduración en tomate, la disminución de la dominancia apical, la reducción del tamaño de la planta en *Arabidopsis thaliana* y la producción de plantas morado oscuro en *Zea mays* (Lang et al., 2017; Finnengan et al., 1996; Madzima et al., 2011). Cuando se activan los mecanismos de desmetilación, la cadena de ADN vuelve a estar disponible para la transcripción y el desarrollo normal; si la interrupción no es extremadamente grave, puede recuperarse (Iwasaki y Paszkowski, 2014).

La metilación del ADN en las plantas se ha estudiado predominantemente en los contextos de citosina, donde tiene lugar en el residuo de carbono C5. El objetivo de metilación más común es en los sitios CG, mediado por las metiltransferasas de la familia MET1 (Cokus et al., 2008; Jones et al., 2001). También es posible la metilación no CG en los contextos CHG y CHH (H describe residuos no guanina). La metilación CHG y CHH es mediada por las metiltransferasas de la clase CMT3 y CMT2, respectivamente (Lindroth et al., 2001). La metilación *de novo* parece ser principalmente dirigida por ARN y requiere de la familia de genes de la vía del DdRM (metilación del ADN dependiente de ARN) (Cao et al., 2003). El proceso de desmetilación puede lograrse activamente a través de ROS (Kim et al., 2019), DME (Park et al., 2016) y DML (Ortega-Galisteo et al., 2008) glicosilasas o pasivamente por la falta de metilación del ADN durante la replicación. La posición de las marcas de metilación sobre regiones codificantes o no codificantes del genoma es otro factor fundamental para comprender el papel de la epigenética sobre la regulación génica. Las marcas en el cuerpo del gen pueden reprimir o desreprimir la expresión génica según el contexto (CG, CHG o CHH) y la especie (Bräutigam y Cronk, 2018). Un patrón común en *Arabidopsis thaliana* y *Oryza sativa* es la correlación positiva entre la expresión y la metilación dentro del cuerpo del gen en contextos CG. La represión generalmente ocurre cuando las marcas de metilación (todos los contextos) están ubicadas en los límites del sitio de inicio de la transcripción (TSS) y el sitio de terminación de la transcripción (TTS) (Li et al., 2012). Este patrón de metilación en el contexto CG probablemente es compartido por todas las angiospermas, ya que un estudio de 34 especies diferentes mostró resultados similares (Niederhuth et al., 2016). La expresión génica cuando hay marcas CHG y CHH presentes dentro del cuerpo del gen parece depender de la especie (Li et al., 2012), aunque se necesitan estudios más profundos para definir esto.

La metilación de la sexta posición del anillo de adenina (6mA) es una de las modificaciones de ADN más abundantes. Aunque la evidencia de esta marca epigenética se conoce desde hace mucho tiempo (Niederhuth et al., 2016), los trabajos de investigación centrados en este tema han tenido un gran impacto en los últimos años, en parte debido al desarrollo de tecnologías capaces de detectar las modificaciones de 6mA (Liang et al., 2018; Marconi et al., 2019; Zhou et al., 2018). Las consecuencias de las modificaciones de 6mA sobre la

expresión génica no han sido aún completamente dilucidadas; sin embargo, en arroz y *Arabidopsis* muestra un efecto aditivo a la metilación CG, ya que reprime la expresión génica cuando la marca de metilación está alrededor del TSS y promueve la expresión génica cuando la marca de metilación está sobre el cuerpo del gen (Liang 2018; Zhou et al., 2018).

Se han desarrollado muchas tecnologías para detectar las marcas de metilación tanto de adenina como de citosina en los genomas. Probablemente, el análisis de secuenciación genómica con bisulfito sea una de las técnicas más utilizadas para detectar la metilación en los contextos de citosina, dado que permite evaluar el estado de metilación en todas las citosinas de un genoma. Sin embargo, la cobertura necesaria para realizar un análisis de alta calidad (al menos 5-10 veces) hace que la técnica sea costosa y laboriosa, especialmente en estudios con genomas grandes y múltiples muestras (Kurdyukov y Bullock, 2016). Para superar el daño al ADN producido por la técnica del bisulfito, se desarrolló el método Enzymatic Methyl-seq (EM-seq), que requiere cantidades más bajas de ADN y requiere menos cobertura (Vaisvila et al., 2020). Otras técnicas se basan en endonucleasas sensibles a la metilación, como la digestión y secuenciación sensible a la metilación (MRE-seq), la variación EpiRADseq de Double digest RADseq (ddRADseq) y el nuevo método MCSed (methylation content sensitive enzyme double-digest restriction-site associated DNA) (Marconi et al., 2019).

El método MCSed, desarrollado recientemente en la Università degli Studi di Perugia, es una extensión muy simple, altamente escalable y rentable del protocolo original de ddRADseq, con algunas variantes. La técnica implica una doble digestión de las muestras combinando una enzima sensible a metilación y una insensible, una posterior ligación de adaptadores a los fragmentos generados que son seleccionados por tamaño y por último secuenciados. La ventaja principal de la técnica es se utilizan enzimas sensibles que detectan cambios en la metilación del ADN para los tres contextos de citosina (CG, CHG y CHH) y los contextos de 6mA en loci genómicos, a un costo que no es excesivamente elevado. El recuento de la frecuencia de fragmentos detectados en cada muestra permite determinar la metilación relativa de cada secuencia. Es decir, que la muestra que presente



mayor frecuencia de un fragmento determinado presentará menor nivel de metilación que la muestra que presente menor frecuencia de ese fragmento. Además, esta técnica no requiere necesariamente de la presencia de un genoma de referencia (Marconi et al., 2019).

Todos los elementos indicados en esta sección son indicativos de control epigenético sobre el carácter en *E. curvula*. A continuación, se presentan los experimentos realizados tendientes a detectar cambios en los patrones de metilación en el genoma de plantas del cv. Don Walter sometidas a estrés hídrico mediante la técnica de MCS<sub>Se</sub>Ed y asociar los mismos con el incremento de sacos sexuales.

## **Objetivo**

Dadas las evidencias mencionadas más arriba, que llevaron a identificar a la metilación con un rol clave en el control de la apomixis, el objetivo de este capítulo fue encontrar una asociación entre niveles de estrés, porcentaje de sacos sexuales y niveles de metilación del ADN. Para ello, se utilizó la técnica de doble digestión con enzimas sensibles a metilación (MCS<sub>Se</sub>Ed).

## **Materiales y Métodos**

### ***Material vegetal***

Se utilizaron tres plantas del cultivar Don Walter (INTA) ( $2n = 4X = 40$ ), apomítico facultativo. Las mismas se clonaron de manera de tener seis plantas idénticas de cada una, que fueron cultivadas en macetas de 3 lts en invernáculo bajo condiciones controladas con un fotoperíodo de 15 h de luz / 9 h de oscuridad durante el período de floración de primavera (Bahía Blanca, Argentina; 38°42' S, 62°16' W). Todas las muestras fueron tomadas de plantas similares (mismo tamaño, edad y condiciones de crecimiento) para descartar efectos ambientales o de crecimiento que pudieran influir en el estado de metilación.

### ***Tratamientos de sequía***

Las plantas fueron expuestas a condiciones de estrés hídrico tres meses antes del inicio y hasta el final de la floración, con un riego semanal de 50-80 ml por maceta de 3 lts, con refuerzos periódicos en la época estival. Durante el periodo de floración se colectaron inflorescencias al comienzo del periodo de antesis a fin de establecer para analizar el porcentaje de procesos apomícticos y sexuales por citoembriología. Como control se utilizaron plantas en el mismo estado de desarrollo que fueron mantenidas en condiciones óptimas de riego.

### ***Contenido relativo de agua (CRA)***

El estado hídrico de las plantas se determinó mediante el contenido relativo de agua (CRA) (Fritz, 1976). Para ello se colectaron tres muestras de hojas completamente expandidas de cada planta una vez cada quince días durante el periodo de floración y, tras las determinaciones del peso fresco, se hidrataron en tubos con agua destilada durante 3 hs a temperatura ambiente (aprox. 25 °C) en oscuridad, a fin de determinar el peso turgente, que se registró después de secar suavemente la superficie de las hojas con papel absorbente. Luego, las hojas fueron secadas en estufa a 75 °C durante 72 hs y se volvieron a pesar para obtener el peso seco. El CRA se calculó utilizando la fórmula:

$$\text{CRA} = (\text{peso fresco} - \text{peso seco}) \times (\text{peso turgente} - \text{peso seco})^{-1} \times 100$$

### ***Extracción de ADN***

El ADN genómico se extrajo de panojas frescas que se congelaron y molieron hasta convertirlo en polvo en nitrógeno líquido utilizando un TissueLyser II (Qiagen). Para cada muestra se incubaron 100 mg de tejido a 65 °C en buffer de extracción precalentado que contenía 100 mM de Tris HCl pH 8, 1,4 M de NaCl, 20 mM de EDTA pH 8, 2 % de CTAB (p/v) y 0,5 % (v/v) de  $\beta$ -mercaptoetanol. Posteriormente se agregó cloroformo en una proporción de 2 : 1 (buffer : cloroformo) y se recolectó la fase acuosa después de la centrifugación. El ADN se precipitó con un volumen de isopropanol y se lavó con etanol al 70 % (v/v). El pellet se secó al aire y se resuspendió en 50  $\mu$ L de agua Milli-Q que contenía 20  $\mu$ g/mL de ARNasa. Todas las muestras se cuantificaron utilizando un fluorómetro Qubit

(Thermo-Fisher Scientific, Waltman, EE. UU.) y la calidad del ADN se determinó en base a su integridad en geles de agarosa.

### ***Construcción de bibliotecas y secuenciación (Análisis de metilación del ADN)***

Se utilizó la técnica de MCSeEd (Marconi et al., 2019) utilizando inflorescencias de plantas del cv. Don Walter cultivadas bajo condiciones de sequía (estrés) y normalmente regadas (control). Las bibliotecas se construyeron de acuerdo a Marconi et al. (2019). Las enzimas seleccionadas para inferir los contextos de metilación de CG, CHG, CHH y 6mA fueron *Acil*, *PstI*, *EcoT22I* y *DpnII*, respectivamente, en combinación con *MseI*. Para cada biblioteca se digirieron 250 ng de ADN con las cuatro combinaciones de enzimas siguiendo el protocolo informado por Marconi et al. (2019) y Di Marsico et al. (2020). Luego, las bibliotecas se combinaron y purificaron utilizando bolitas magnéticas (Agencourt AMPure XP, Beckman Coulter, EE. UU.). Luego se realizó una selección por tamaño de fragmentos de ADN mediante electroforesis en gel y purificación con kits de extracción de gel QIAquick (Qiagen) para fragmentos en el rango de 250 pb a 600 pb. Las bibliotecas seleccionadas por tamaño se cuantificaron utilizando un fluorómetro (Qubit, Life Technologies), y se amplificó una cantidad normalizada de ADN (15 ng) con un iniciador que introdujo un índice de Illumina (en el sitio del adaptador común Y) para la demultiplexación. Luego, las muestras se amplificaron utilizando iniciadores con índices particulares, se combinaron y se enriquecieron por PCR de acuerdo a las condiciones especificadas por Marconi et al. (2019). Las muestras obtenidas se secuenciaron en Novogene (Reino Unido), utilizando la plataforma Illumina con lecturas single-end de 150 pb.

La calidad de las lecturas se verificó utilizando el programa FastQC ([www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/)) empleando un *pipeline* desarrollado por Novogene. Las secuencias de los adaptadores, las secuencias duplicadas, las lecturas que contenían N > 10 % (donde N representa la base que no se puede determinar), las lecturas ambiguas y de baja calidad (con un recuento de bases de Phred valor < 20) fueron eliminadas utilizando el programa TrimGalore ([https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim\\_galore](https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore)). Las lecturas crudas de la secuenciación de las bibliotecas en los contextos CG, CHG, CHH y 6mA se analizaron

siguiendo el protocolo y el *pipeline* descritos por Marconi et al. (2019). Las lecturas se normalizaron y se filtraron descartando todos los sitios con un valor de co-logaritmo del coeficiente de variación mayor que -0,35. Los niveles relativos de metilación en cada sitio se calcularon siguiendo el procedimiento de Marconi et al. (2019) y las posiciones de metilación diferencial (DMP, por sus siglas en inglés) se llamaron siguiendo el manual del paquete R methylKit (Akalín et al., 2012). El mapeo de los puntos diferencialmente metilados (DMP) se realizó con el procedimiento de elegir la mejor ventana y las regiones diferencialmente metiladas (DMR) se identificaron como se informara en Marconi et al. (2019). En resumen, el primer paso fue maximizar el número de DMR en un conjunto de ventanas adyacentes para identificar la mejor longitud de ventana para cada contexto. Por lo tanto, se probaron diferentes rangos de ventanas, desde 100 hasta 2.000 pb. Para ello, cada ventana potencial (es decir, 100 pb) se examinó en busca de DMP que estuvieran significativa y diferencialmente metilados (tasa de falsos positivos,  $< 0,05$ ). El final de la ventana se registró en la posición del DMP para que comience en el lugar correspondiente. Se incluyeron DMP adicionales que mapearon dentro de la ventana re-posicionada (es decir, 100 pb) en el clúster, siempre que se cumplieran las siguientes condiciones: (i) la dirección del cambio de metilación estaba de acuerdo con el DMP previo incluido en el clúster; y (ii) los DMP que se incluyeron fueron llamados con un umbral de significancia dado (tasa de falsos positivos,  $< 0,05$ ). Después de incluir los DMP en el clúster, se registró el inicio de la ventana en la posición del extremo 3' más alejado de los DMP incluidos y el procedimiento se repitió tal como se describe. Si no se identificaron DMP adicionales basándose en las condiciones descritas, se reinició el procedimiento de escaneo hasta que se identificara uno. Los clusters que estaban compuestos por más de 2 DMP se analizaron mediante regresión logística para identificar y definir los DMR. Una vez obtenido el dato para cada longitud de ventana, se eligió la mejor longitud, es decir, la que maximizaba el número de DMR por ventana. En este punto, el script se reinició para cada contexto utilizando la ventana adyacente de la longitud elegida en pb (1.000 para CG, 900 para CHG, 900 para CHH y 600 para 6mA).

### ***Genes Diferencialmente Metilados (DMGs)***

Para analizar el modo en que los patrones de metilación típicos de las regiones génicas podrían afectar la expresión del modo reproductivo se analizaron las distribuciones de DMP y DMR en relación a las secuencias genómicas codificantes y reguladoras (Cuerpos Extendidos de Genes, EGB). Las regiones diferencialmente metiladas que contienen posiciones que mapean en genes se analizaron desagregando los EGB en cuerpo del gen (5' y 3' UTR, intrones y exones), 2 kb aguas abajo y 2 kb aguas arriba. Las tres regiones en los cuatro contextos (CG, CHG, CHH y 6mA) se analizaron por separado en función de la correlación entre la expresión génica y la posición metilada. Estas regiones se filtraron si en la misma región tenían posiciones metiladas y no metiladas en la misma comparación con respecto al modo reproductivo.

Para evaluar la distribución de las posiciones metiladas en los EGBs, se trazó el conjunto completo de genes diferencialmente metilados en cada contexto utilizando una ventana de 100 pb. Los cuerpos de los genes se trazaron a 2.000 pb desde el inicio y hasta el final de los modelos de genes para tener una resolución óptima de la distribución.

### ***Genes Diferencialmente Expresados***

Se realizó un análisis comparativo con los genes diferencialmente expresados de un trabajo previo comparando transcriptomas de plantas control y sometidas a estrés hídrico (Selva et al., 2020). De esta manera, se realizó una comparación cruzada para detectar los genes expresados diferencialmente en el experimento de RNA-seq y diferencialmente metilados en el análisis MCSed, con el fin de detectar genes regulados por metilación que estén sobreexpresados o reprimidos.

Para el análisis bioinformático se contó con la asistencia de los Dres. José Carballo y Cristian A. Gallo, Bioinformáticos del grupo Apomixis del CERZOS-CONICET.

## Resultados

### ***Contenido relativo de agua (CRA)***

Se realizó el promedio de las mediciones de los valores de CRA determinados durante la duración del ensayo para las plantas del cultivar Don Walter de *E. curvula*. El valor calculado para las plantas sometidas a estrés fue de 61,21 % y para las plantas control de 77,62 %.

### ***Posiciones (DMP) y Regiones Diferencialmente Metiladas (DMR)***

Para asociar el comportamiento reproductivo de *E. curvula* en condiciones de estrés hídrico con regiones diferencialmente metiladas del genoma se recurrió a la técnica MCS<sub>Ed</sub> (Marconi et al., 2019) utilizando inflorescencias de plantas del cv. Don Walter cultivadas bajo condiciones de sequía (estrés) y normalmente regadas (control). Para ello se construyeron seis bibliotecas de MCS<sub>Ed</sub> mediante doble restricción-ligación, con *MseI* en combinación con una de las cuatro enzimas sensibles a metilación *Acil*, *PstI*, *EcoT22I* y *DpnII* para los contextos CG, CHG, CHH y 6mA, respectivamente (Tabla S21).

Se obtuvo un promedio de 6.599.544 de lecturas de 150 pb para cada muestra y contexto (Tabla S21). Estas lecturas se alinearon con el ensamblado de referencia preliminar del genoma de *E. curvula* cv. Don Walter y solo se retuvieron las lecturas que se alinearon en posiciones genómicas con hasta cuatro alineamientos, ya que el genotipo en estudio es tetraploide. Para la comparación se identificaron 110.899 loci que contenían citosinas diferencialmente metiladas (42.381 para CG, 31.606 para CHG y 36.912 para CHH) y 35.805 loci que contenían adeninas diferencialmente metiladas (6mA).

Los loci de MCS<sub>Ed</sub> fueron normalizados, filtrados y analizados con el paquete R MethylKit (Akalin et al., 2012). En la comparación control vs estrés (Tabla 2.4) se identificaron 12.196 (para CG), 8.672 (para CHG), 9.786 (para CHH) y 11.796 (para 6mA) posiciones con niveles de metilación significativamente diferentes (Posiciones Diferencialmente Metiladas, DMPs) (FDR < 0,05).

**Tabla 2.4.** Posiciones Diferencialmente Metiladas (DMPs) en los contextos CG, CHG, CHH y 6mA al comparar las muestras control vs estrés.

Contexto	DMPs	Met	Desmet
	Estrés vs Control		
<b>CG</b>	12.196	5.319	6.877
<b>CHG</b>	8.672	4.620	4.052
<b>CHH</b>	9.786	5.106	4.680
<b>6mA</b>	11.796	5.594	6.202

Además de los DMPs, se identificaron regiones con metilación diferencial (DMRs). Se trata de regiones genómicas donde se encontraron al menos dos DMPs con el mismo patrón de metilación (desmetilados o metilados) dentro de una misma ventana específica. Un total de 692 DMRs se detectaron en el contraste entre muestras control vs estrés hídrico. De estos DMRs, 326 resultaron diferenciales en los contextos CG, 125 en CHG, 136 en CHH y 105 para el contexto 6mA (Tabla 2.5). En la Tabla 2.5 las DMRs de los distintos contextos se discriminan según su posición con respecto a regiones génicas: cuerpo del gen, previo a la secuencia codificante (2 kb aguas arriba) o posteriores a la secuencia codificante (2 kb aguas abajo). Las regiones previas y posteriores al cuerpo del gen corresponden a regiones potencialmente regulatorias y en conjunto forman el Cuerpo Extendido del Gen (EGB).

**Tabla 2.5.** Regiones con Metilación Diferencial (DMRs) en los contextos CH, CHG, CHH y 6mA. Se muestra el número de regiones que mapearon sobre secuencias codificantes y reguladoras del genoma (Cuerpos Extendidos de Genes, EGB).

		2 kb aguas arriba		Cuerpo de gen		2 kb aguas abajo	
		Met	Desmet	Met	Desmet	Met	Desmet
<b>Contexto</b>	<b>DMRs</b>	<b>Estrés vs Control</b>					
<b>CG</b>	326	49	76	68	87	49	61
<b>CHG</b>	125	17	14	46	22	29	17
<b>CHH</b>	136	23	27	28	15	11	19
<b>6mA</b>	105	16	18	16	19	20	4

### ***Identificación de Genes Diferencialmente Metilados (DMGs)***

Para entender la manera en que los patrones de metilación de las regiones génicas afectan la expresión de los genes, se analizó la distribución de los DMPs a lo largo de las DMRs teniendo en cuenta su posición en las secuencias codificantes y reguladoras (Cuerpos Extendidos de Genes, EGB). Cuando se compararon los patrones de metilación sobre estas secuencias en plantas control y sometidas a estrés hídrico, se encontró un total de 206 regiones 2 kb aguas arriba, 266 regiones en el cuerpo de genes y 186 regiones 2 kb aguas abajo que contenían al menos una citosina diferencialmente metilada. De las 105 DMRs metiladas en 6mA, 34 se encontraban en regiones 2 kb aguas arriba, 35 en el cuerpo de genes y 24 en regiones 2 kb aguas abajo (Tabla 2.5).

La comparación de patrones de metilación entre ambas condiciones experimentales (control y estrés hídrico) en todos los contextos de metilación arrojó un número similar de genes metilados y desmetilados.

Cuando se analizó el estado de metilación en los genes presentes en estas DMRs, se encontraron 587 que estaban representados en el ensamblado del cv. Don Walter con al menos una región metilada 2 kb aguas arriba, 2 kb agua abajo o en el cuerpo del gen. De estos, solo 368 presentan homología con proteínas conocidas en la base de datos String



(Szkłarczyk et al., 2019). En la Tabla 2.6 se muestran 4 genes pertenecientes a la familia de BabyBoom, ubiquitinas, Fbox y SBT subtilisina. Además, se seleccionaron un conjunto de 30 genes diferencialmente metilados que se muestran en la Tabla Suplementaria TS 2.22, por estar involucrados en vías relacionadas a la reproducción en base a la literatura.

**Tabla 2.6:** Genes de interés diferencialmente metilados relacionados a la vía reproductiva, tomados de los 368 genes anotados. Pertenecientes desde el primero al último y respectivamente a BabyBoom, ubiquitinas, Fbox y SBT subtilisina.

Gen anotado seleccionado	Nombre	Anotación	Estado metilación
maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-54.34	BBM	AP2-like ethylene-responsive transcription factor BBM; Transcription factor that promotes cell proliferation, differentiation and morphogenesis, especially during embryogenesis	metilado CHH en 2kb aguas arriba
augustus_masked-ScA7Agc_1967-processed-gene-43.156	BPM2	BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	desmetilado CG en 2kb aguas arriba
maker-ScA7Agc_65-snap-gene-27.191	AT1G67390	F-box family protein; Contains the following InterPro domains: F-box domain, cyclin-like (InterPro:IPR001810), F-box domain, Skp2-like (InterPro:IPR022364); BEST Arabidopsis thaliana protein match is: F-box family protein (TAIR:AT3G60790.1); Has 1872 Blast hits to 1854 proteins in 24 species: Archae - 0; Bacteria - 0; Metazoa - 0; Fungi - 0; Plants - 1872; Viruses - 0; Other Eukaryotes - 0 (source: NCBI BLink)	desmetilado CHH en 2kb aguas arriba
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-149.445	SBT1.6	Subtilisin-like serine protease 2; Serine protease similar to subtilisin; Belongs to the peptidase S8 family	desmetilado CHH en 2kb aguas arriba

### ***Genes Diferencialmente Metilados y su Expresión en genotecas de RNA-Seq***

Como se mencionara previamente, una de las principales ventajas de *E. curvula* como especie apomíctica diplospórica modelo es la cantidad de herramientas genómicas desarrolladas por el grupo del CERZOS. Entre ellas se encuentra una base de datos de transcritos del mismo cv. Don Walter cultivado en condiciones de estrés hídrico y en condiciones normales de riego (Selva et al., 2020). Las lecturas de este transcriptoma se mapearon sobre los genes diferencialmente metilados para detectar genes regulados positiva y negativamente en relación a la apomixis. De esta forma, se analizó la cantidad

de lecturas del experimento de ARN-seq de los 368 genes anotados que se metilaron diferencialmente entre ambas condiciones experimentales. La Tabla 2.7 muestra los 30 genes seleccionados previamente conjuntamente con su nivel de expresión en el experimento de ARN-seq.

**Tabla 2.7.** Selección de genes diferencialmente metilados mapeados sobre las lecturas del transcriptoma en condiciones control (Control 1, Control 2 y Control 3) y de estrés hídrico (Estrés 1, Estrés 2 y Estrés 3) del cv. Don Walter (Selva et al., 2020).

Gen anotado seleccionado	Control 1	Control 2	Control 3	Estrés 1	Estrés 2	Estrés 3
maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-54.34	-	-	-	-	-	-
snap_masked-ScA7Agc_718-processed-gene-40.291	-	-	-	-	-	-
snap_masked-ScA7Agc_73-processed-gene-0.20	10.36	13.33	13.17	21.99	6.37	7.9
maker-ScA7Agc_1967-snap-gene-43.511	3.12	1.18	3.09	3	3	0
augustus_masked-ScA7Agc_1967-processed-gene-43.156	0	2	3	3	1	1
maker-ScA7Agc_1869-augustus-gene-0.131	1	1	1	0	1	1
augustus_masked-ScA7Agc_718-processed-gene-93.423	15.54	6.57	21.91	27.5	4.55	8.8
maker-ScA7Agc_65-augustus-gene-37.208	142.59	171.59	224.04	251.51	300.54	119.62
maker-ScA7Agc_1967-snap-gene-37.281	115.18	0.81	315.99	9.11	118.59	152.06
maker-ScA7Agc_253-augustus-gene-0.5	0	0	0	1	0	1
maker-ScA7Agc_718-snap-gene-22.565	465.56	455.94	517.86	475.29	456.79	503.04
maker-ScA7Agc_1012-snap-gene-47.12	0	0	15.18	14.62	0	16.24
maker-ScA7Agc_718-snap-gene-114.496	3.3	10.16	0	19.59	0	0
maker-ScA7Agc_1012-snap-gene-7.90	4.81	14.7	29.15	14.33	4.8	4.84
snap_masked-ScA7Agc_73-processed-gene-0.19	3	11	15	12	7	2
maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-49.433	5	1	4	1	1	1
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-61.571	3	4	3	9	5	5

snap_masked-ScA7Agc_1967-processed-gene-43.327	1	2	3	5	1	1
maker-ScA7Agc_718-snap-gene-80.150	11.78	8	8.57	23	14.55	10
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-76.630	440.1	364.05	318.56	313.01	336.07	461.02
maker-ScA7Agc_1267-augustus-gene-0.34	1	0	0	1	0	0
maker-ScA7Agc_65-snap-gene-27.191	0	0	27.61	8.55	0	0
augustus_masked-ScA7Agc_189-processed-gene-58.496	-	-	-	-	-	-
maker-ScA7Agc_33-snap-gene-21.285	28.34	14.97	22.22	12.07	19.67	31.06
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-149.445	0	0	0	1	0	0
maker-ScA7Agc_718-snap-gene-67.134	93.94	12.45	24.58	35.53	13.13	36.53
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-127.449	0	0	0	0	0	0
maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-132.292	21.85	14.25	32.99	26.7	21.35	28.12
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-100.147	124	136	156	135	101	95
maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-61.515	216.37	243.27	247.49	362.8	249.4	134.46

## Discusión

Luego de analizar los resultados obtenidos en este capítulo de tesis y a lo largo de los años en el grupo de trabajo, resulta evidente que el estrés interno y externo ejerce una gran influencia sobre el modo reproductivo de las plantas de *Eragrostis curvula*, sugiriendo una regulación epigenética del mismo.

Estudios de mutantes en *Arabidopsis* y otras especies permiten evidenciar una participación significativa de las modificaciones epigenéticas sobre los patrones de expresión que controlan el desarrollo reproductivo (Garcia-Aguilar et al., 2010; Olmedo-Monfil et al., 2010; Singh et al., 2011; Grimanelli, 2012). De acuerdo a los resultados obtenidos y analizados en esta tesis podría afirmarse que el modo reproductivo de *E. curvula* estaría en concordancia con estos estudios.

Algunas de las primeras observaciones relacionadas a efectos epigenéticos sobre el control de la apomixis indicaron que el locus que la controla residía en una región altamente heterocromática enriquecida en ADN repetitivo, particularmente

retrotransposones y (Calderini et al., 2006; Conner et al., 2008). Tales condiciones están correlacionadas con el estado de metilación del ADN. Por ejemplo, los análisis comparativos de pequeños ARN, modificaciones de histonas y metilación de citosina en plantas apomícticas y sexuales de *Cenchrus ciliaris* (Kumar, 2017) llevaron a la identificación de diferentes clases de retrotransposones. De los 19 probados, seis estaban preferentemente activos en plantas apomícticas y uno de ellos estaba hipermetilado en plantas sexuales (95 % versus 35 % de 5-metil citosinas en plantas sexuales y apomícticas, respectivamente).

En este capítulo se analizaron plantas apomícticas facultativas sometidas a un estrés hídrico a fin de determinar las diferencias en los niveles de metilación. La metilación del ADN es influenciada por diversos factores abióticos y bióticos, lo que resulta en una mejor adaptabilidad de las plantas a condiciones ambientales adversas. En primer lugar, se analizaron las posiciones diferencialmente metiladas entre las plantas control y estresadas. Bajo condiciones de estrés hídrico se observaron 1.29 veces más posiciones desmetiladas en CG, 1.14 veces más metiladas en CHG, 1.09 veces más metiladas en CHH, y 1.1 veces más desmetiladas 6mA, siempre en relación al control. Es decir que se encontraron más posiciones desmetiladas en los contextos CG y 6mA y más metiladas en CHG y CHH en las plantas estresadas, siendo bastante superior la cantidad de posiciones diferencialmente metiladas en los contextos de CG y 6mA. Resultados similares fueron encontrados en un estudio previo en la misma especie (Carballo et al., 2021) al comparar un genotipo sexual con un apomíctico facultativo, evidenciando una gran cantidad de posiciones diferencialmente metiladas en el contexto 6mA entre ambos genotipos.

La metilación del ADN sobre la sexta posición del anillo de adenina (6mA) es una de las modificaciones de ADN más abundantes. Los trabajos de investigación centrados en este tema han tenido un gran impacto en los últimos años en parte debido al desarrollo de tecnologías capaces de detectar las modificaciones en 6mA (Liang et al., 2018; Marconi et al., 2019; Zhou et al., 2018). Las consecuencias de las modificaciones de 6mA sobre la expresión génica aún no han sido completamente dilucidadas. Sin embargo, en *O. sativa* y *Arabidopsis* se observó un efecto aditivo a la metilación CG, reprimiendo la expresión génica cuando la marca de metilación se encuentra alrededor del sitio de inicio de la

transcripción. Esta misma combinación y promueve la expresión génica cuando la marca de metilación se encuentra sobre el cuerpo del gen (Liang et al., 2018; Zhou et al., 2018).

Con respecto a las regiones diferencialmente metiladas se observó que en el genoma de las plantas estresadas siempre había más regiones desmetiladas en el contexto CG sobre secuencias codificantes y reguladoras, mientras que siempre hubo mayor metilación en el contexto CHG. En tanto para CHH y 6mA, no se logró encontrar un patrón común.

Nuevamente, estos resultados son similares a los informados por Carballo et al. (2021) trabajando con la misma especie y cultivar.

Cuando se analizó el estado de metilación en los genes presentes en las regiones diferencialmente metiladas, se encontraron 587 genes que estaban representados en el ensamblado del cv. Don Walter con al menos una región metilada 2 kb aguas arriba, 2 kb aguas abajo o en el cuerpo del gen. De estos, solo 368 presentaron homología con proteínas conocidas en la base de datos String (Szklarczyk et al., 2019). Uno de los genes diferencialmente metilados es *BBM* (*BABYBOOM*) que se encontró metilado en el contexto CHH en la posición 2kb aguas arriba. Este gen fue encontrado en otros estudios en la misma especie diferencialmente expresado entre plantas apomícticas y sexuales (Selva et al., 2020; Carballo et al., 2021). En *Pennisetum squamulatum*, se encontró que el mismo gen, *PsASGR-BABY BOOM* (*PsASGR-BBML*), se expresa en los óvulos antes de la fertilización y puede inducir la partenogénesis y la producción de descendencia haploide (Conner et al., 2015). En *Oryza sativa* se observó que la expresión ectópica de *BABY BOOM1* (*BBM1*) en el óvulo es suficiente para desencadenar la partenogénesis (Khanday et al., 2019). En este estudio se observó que las plantas de *E. curvula* sometidas a estrés hídrico muestran un aumento en los niveles de sexualidad, lo cual nos permite suponer que el gen *BBM* se encuentra reprimido en las plantas sometidas a estrés hídrico, ya que se encuentra metilado aguas arriba en el contexto CHH.

La ubiquitinación regula casi todos los aspectos de los eventos celulares en eucariotas. El control mediado por la degradación proteosómica de reguladores clave del ciclo celular y otros objetivos influyen en las decisiones del destino reproductivo y el desarrollo de la línea germinal (Dieterle et al., 2005; Thomann et al., 2005). En este caso, se encontraron

varios genes anotados relacionados a la ubiquitinación con al menos una región diferencialmente metilada. En particular, se encontró un gen denominado *BPM2* desmetilado en CG a 2kb aguas arriba, lo cual nos indica que esta ubiquitina está siendo reprimida en condiciones de estrés hídrico, y podría estar vinculada al aumento en el número de sacos embrionarios de tipo sexual. Resultados similares fueron encontrados por Selva et al. (2020) y Carballo et al. (2021) analizando plantas de *E. curvula*, en concordancia con los resultados obtenidos en este capítulo.

Adicionalmente, se encontraron varios genes F-Box diferencialmente metilados entre las plantas estresadas y control. Las proteínas F-box participan en el reconocimiento de proteínas diana degradadas por la E3 ubiquitina ligasa y mediada por proteasoma 26S. Este resultado muestra que puede haber una correlación entre los genes a los que se dirigen las proteínas F-box y el comportamiento reproductivo.

Finalmente, las subtilisinas son proteasas que se asocian con las primeras etapas del desarrollo de semillas (D'erfurth et al., 2012) y modo reproductivo (Galla et al., 2017; Bräuning et al., 2018). Se encontraron aquí varias de estas proteasas vinculadas a al menos una RDM, y en particular una de ellas se encontró de forma desmetilada en CHH 2kb aguas arriba del cuerpo del gen. Resultados similares fueron encontrados en la misma especie y cultivar al comparar plantas control y sometidas a estrés hídrico por Selva et al. (2020). Podría suponerse que aumenten los niveles de sexualidad por la desmetilación del gen *SBT1.6*.

Respecto a la técnica implementada para determinar los niveles de metilación (Marconi et al., 2019), puede destacarse la ventaja que ofrece al analizar al mismo tiempo varios contextos de metilación, lo cual resulta interesante ya que las plantas han desarrollado mecanismos adicionales de metilación de citosinas en contextos simétricos (CHG) y asimétricos (CHH) (Matzke y Mosher, 2014), mientras que otros organismos vivos poseen solo en el contexto simétrico CG (Klose y Bird, 2006). El sistema comparativo que se utiliza en el presente trabajo incluye genotipos tetraploides con un mismo fondo genético y mismo comportamiento reproductivo (apomixis facultativa), que simplifica el análisis y refuerza los resultados obtenidos.

## Conclusiones

1-El estrés interno y externo ejerce una gran influencia sobre el modo reproductivo de *Eragrostis curvula*, modificando la expresión del carácter apomixis en plantas apomicticas facultativas. Esto afirma la hipótesis de que existe un control epigenético sobre la regulación de la apomeiosis en *E. curvula*.

2-La utilización de la técnica de MCSed permitió la identificación de secuencias diferencialmente metiladas, entre plantas apomicticas facultativas pertenecientes al mismo cv. (Don Walter) control y sometidas a estrés hídrico.

3-Se encontraron más posiciones desmetiladas en los contextos CG y 6mA y más metiladas en CHG y CHH en las plantas estresadas en relación al control y la cantidad de posiciones diferencialmente metiladas fue bastante superior para los contextos de CG y 6mA. Esto último concuerda con estudios en otras especies.

4-En las regiones diferencialmente metiladas se logró encontrar genes vinculados al modo reproductivo, como BABYBOOM, ubiquitinas, FBox y subtilisinas, en concordancia con lo encontrado en trabajos previos del grupo de trabajo.

## Conclusión general

Se logró construir el primer mapa de ligamiento genético consenso de la especie *Eragrostis curvula*, posicionando el locus responsable de la apomeiosis. Para ello se generó una población de mapeo a nivel tetraploide, a partir del cruzamiento entre los parentales contrastantes para el modo reproductivo: OTA (genotipo sexual materno) y Don Walter (apomítico facultativo). El genotipado de los individuos de la población se realizó con la tecnología DArT-SNP, que presenta mayor confiabilidad y precisión en la obtención de marcadores que otras plataformas de genotipado. El fenotipado del modo reproductivo se realizó por citoembriología y se diseñó y evaluó un primer 100 % ligado a la apomixis, que demostró ser preciso en la discriminación entre individuos apomíticos y sexuales. Este nuevo marcador desarrollado por nuestro grupo de trabajo es una herramienta invaluable para la caracterización de las plantas y futuros estudios sobre el carácter apomixis. A su vez, también los marcadores codominantes de tipo KASP desarrollados en esta tesis para validar los marcadores SNPs 100 % ligados al APO locus, demostraron su exactitud y confiabilidad para la fenotipificación.

Gracias a las secuencias correspondientes a los marcadores SNPs 100 % ligados a la apomeiosis se encontraron genes que podrían ser potenciales candidatos para la regulación del modo reproductivo y que presentan homología con otros genes informados (transaminasa, E3 ligasa y proteína hipotética).

Los resultados obtenidos nos permiten inferir que en *E. curvula* la apomeiosis está controlada por una región genómica que posee una segregación 1 : 1 y que la sexualidad está silenciada o reprimida, pero aún funcional, en las plantas apomíticas y se desreprime (parcialmente) por el estrés. La influencia del estrés sobre el modo reproductivo fue demostrada al analizar las modificaciones en la expresión del carácter en plantas apomicticas facultativas, afirmando la hipótesis de que existe un control epigenético sobre la regulación de la apomeiosis en *E. curvula*.

El análisis de los niveles de metilación mediante la técnica de MCSed en plantas del cv. apomítico facultativo (Don Walter) sometido a estrés hídrico, permitió identificar regiones diferencialmente metiladas. Cuando se analizó el estado de metilación en los



genes presentes en las regiones diferencialmente metiladas, se encontraron varios que presentan homología con proteínas conocidas, como BABYBOOM, ubiquitinas, FBox y subtilisinas, en concordancia con lo encontrado en trabajos previos por nuestro grupo de trabajo y en otras especies apomícticas modelo.

La construcción del mapa consenso de ligamiento y la población de que se dispone de la especie *E. curvula*, a nivel tetraploide, posibilitará la realización de estudios adicionales que ayuden a identificar los genes que regulan otros componentes de la apomixis, como la partenogénesis y pseudogamia. También permitirá el estudio de otros caracteres que contrastan en los genotipos parentales y que son factores limitantes para la producción de pasto llorón, como por ejemplo la calidad del forraje. Finalmente, también sería posible mapear genes que estén involucrados en la tolerancia al estrés tanto biótico como abiótico y que permitan mejorar la adaptación de esta especie, que se ha convertido en una forrajera indispensable para zonas de producción marginales.

## Referencias

- Akalin A, Kormaksson M, Li S, Garrett-Bakelman FE, Melnick A, Mason CE. (2012) MethylKit: A comprehensive R package for the analysis of genome-wide DNA methylation profiles. *Genome Biol* 13, R87.
- Akiyama Y, Conner J, Goel S, Morishige D, Mullet J, Hanna W, et al. (2004). High resolution physical mapping in *Pennisetum squamulatum* reveals extensive chromosomal heteromorphism of genomic region associated with apomixis. *Plant Physiology* 134:1733-41.
- Akiyama Y, Goel S, Conner JA, et al. (2011). Evolution of the apomixis transmitting chromosome in *Pennisetum*. *BMC Evol Biol* 11:289.
- Albertini E, Barcaccia G, Mazzucato A, Sharbel TF, Falcinelli M. (2010). Apomixis in the era of biotechnology. Pua EC, Davey MR (Eds.) *Plant developmental biology - Biotechnological perspectives*, vol 1. Springer, Berlin 405-436.
- Albertini E, Marconi G, Reale L, Barcaccia G, Porceddu A, Ferranti F, Falcinelli M. (2005). SERK and APOSTART. Candidate genes for apomixis in *Poa pratensis*. *Plant Physiol* 138, 2185–2199.
- Albertini E, Porceddu A, Ferranti F, et al. (2001). Apospory and parthenogenesis may be uncoupled in *Poa pratensis*: a cytological investigation. *Sex Plant Reprod* 14:213–7.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410.
- Aron Y, Czosnek H, Gazit S, et al. (1998). Polyembryony in mango (*Mangifera indica* L.) is controlled by a single dominant gene. *HortScience* 33:1241–2.
- Asker S, Jerling L. (1992). *Apomixis in plants*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Aversano R, Ercolano MR, Caruso I, Fasano C, Rosellini D, Carputo D. (2012). Molecular tools for exploring polyploid genomes in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 13:10316-10335.
- Baubec T, Dinh HQ, Pecinka A, Rakic B, Rozhon W, Wohlrab B, Scheid OM. (2010). Cooperation of multiple chromatin modifications can generate unanticipated stability of epigenetic states in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22:34-47.
- Boateng KA, Yang X, Dong F, et al. (2008). SWI1 is required for meiotic chromosome remodeling events. *Mol Plant* 1:620–33.

- Bocchini M, Galla G, Pupilli F, et al. (2018). The vesicle trafficking regulator PN\_SCD1 is demethylated and overexpressed in florets of apomictic *Paspalum notatum* genotypes. *Sci Rep* 8, 3030.
- Bourke PM, van Geest G, Voorrips RE, Jansen J, Kranenburg T, Shahin A, et al. (2018b). PolymapR—linkage analysis and genetic map construction from F1 populations of outcrossing polyploids. *Bioinformatics* 1:7.
- Bourke PM, Voorrips RE, Visser RG, Maliepaard C. (2018a). Tools for genetic studies in experimental populations of polyploids. *Frontiers in Plant Science* 9:513.
- Boyer J. (1982). Plant productivity and environment. *Science* 218:443-448.
- Boyes D, Nasrallah M, Vrebalov J, Nasrallah J. (1997). The self-incompatibility (S) haplotypes of Brassica contain highly divergent and rearranged sequences of ancient origin. *Plant Cell* 9:237-247.
- Bräuning S, Catanach A, Lord JM, Bicknell R, Macknight RC. (2018). Comparative transcriptome analysis of the wild-type model apomict *Hieracium praealtum* and its loss of parthenogenesis (lop) mutant. *BMC Plant Biol* 18, 206.
- Bräutigam K, Cronk Q. (2018). DNA methylation and the evolution of developmental complexity in plants. *Front. Plant Sci* 9, 1447.
- Brix K. (1974). Sexual reproduction in *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 71:25-32.
- Brown W, Emery W. (1958). Apomixis in the Gramineae: Panicoideae. *American Journal of Botany* 45:253-263.
- Brukhin V. (2017). Molecular and genetic regulation of apomixis. *Russian Journal of Genetics* 53:943-964.
- Calderini O, Chang S, de Jong H, Busti A, Paolucci F, Arcioni S, de Vries S, AbmaHenkens M, Klein Lankhorst R, Donnison I, Pupilli F (2006). Molecular cytogenetics and DNA sequence analysis of an apomixis-linked BAC in *Paspalum simplex* reveal a non pericentromere location and partial microcollinearity with rice. *Theoretical and Applied Genetics* 112:1179-1191.
- Cao X, Aufsatz W, Zilberman D, Mette MF, Huang MS, Matzke M, Jacobsen SE. (2003). Role of the DRM and CMT3 methyltransferases in RNA-directed DNA methylation. *Curr. Biol* 13, 2212–2217.

- Carballo J, Santos BACM, Zappacosta D, Garbus I, Selva JP, Gallo CA, Díaz A, Albertini E, Caccamo M, Echenique V. (2019). A high-quality genome of *Eragrostis curvula* grass provides insights into poaceae evolution and supports new strategies to enhance forage quality. *Scientific Reports*, 9:10250.
- Carballo J, Zappacosta D, Marconi G, Gallardo J, Marsico M, Gallo CA, Caccamo M, Albertini E, Echenique V. (2021). Differential Methylation Patterns in Apomictic vs. Sexual Genotypes of the Diplosporous Grass *Eragrostis curvula*. *Plants* 10(5):946
- Cardone S, Polci P, Selva JP, Mecchia M, Pessino S, Hermann P, Echenique V. (2006). Novel genotypes of the subtropical grass *Eragrostis curvula* for the study of apomixis (diplospory). *Euphytica*, 151, 263-272.
- Carman JG, Jamison M, Elliott E, Dwivedi KK, Naumova TN. (2011). Apospory appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. *BMC plant biology*, 11(1), 1-13.
- Carman JG, Mateo de Arias M, Gao L, Zhao X, Kowallis BM, Sherwood DA, Windham MD. (2019). Apospory and diplospory in diploid *Boecheira* (Brassicaceae) may facilitate speciation by recombination-driven apomixis-to-sex reversals. *Frontiers in Plant Science*, 10, 724.
- Carman JG. (1997). Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- Caryl AP, Armstrong SJ, Jones GH, et al. (2000). A homologue of the yeast HOP1 gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*. *Chromosoma* 109:62–71.
- Catanach AS, Erasmuson SK, Podivinsky E, et al. (2006). Deletion mapping of genetic regions associated with apomixis in *Hieracium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:18650–5.
- Cervigni GD, Paniego N, Diaz M, Selva JP, Zappacosta D, Zanazzi D, Landerreche I, Felitti S, Pessino S, Spangenberg G, Echenique V. (2008). Expressed sequence tag analysis and development of gene associated markers in a near-isogenic plant system of *Eragrostis curvula*. *Plant Molecular Biology* 67:1-10.
- Chadwick LH. (2012). The NIH roadmap epigenomics program data resource. *Epigenomics* 4, 317–324.

- Chaudhury AM, Ming L, Miller C, et al. (1997). Fertilization-independent seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4223–8.
- Chelysheva L, Diallo S, Vezon D, et al. (2005). AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis. *J Cell Sci* 118:4621–32.
- Chen ZJ. (2007). Genetic and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. *Annual Review of Plant Biology* 58:377-406.
- Cifuentes M, Jolivet S, Cromer L, et al. (2016). TDM1 regulation determines the number of meiotic divisions. *PLoS Genet* 12:e1005856.
- Cokus SJ, Feng S, Zhang X, Chen Z, Merriman B, Haudenschild CD, Pradhan S, Nelson SF, Pellegrini M, Jacobsen SE. (2008). Shotgun bisulphite sequencing of the *Arabidopsis* genome reveals DNA methylation patterning. *Nature* 452, 215–219.
- Collard BC, Jahufer MZ, Brouwer JB, Pang EC. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142:169-196.
- Conner JA, Goel S, Gunawan G, Cordonnier-Pratt MM, Johnson VE, Liang C, Wang H, Pratt LH, Mullet JE, DeBarry J, Yang L, Bennetzen JL, Klein PE, Ozias-Akins P. (2008). Sequence analysis of bacterial artificial chromosome clones from the apospory-specific genomic region of *Pennisetum* and *Cenchrus*. *Plant physiology*, 147(3), 1396–1411.
- Conner JA, Gunawan G, Ozias-Akins P. (2013). Recombination within the apospory specific genomic region leads to the uncoupling of apomixis components in *Cenchrus ciliaris*. *Plant* 238:51–63.
- Conner JA, Mookkan M, Huo H, Chae K, Ozias-Akins P. (2015). A parthenogenesis gene of apomict origin elicits embryo formation from unfertilized eggs in a sexual plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:11205-11210.
- Corral JM, Vogel H, Aliyu OM, et al. (2013). A conserved apomixis specific polymorphism is correlated with exclusive exonuclease expression in premeiotic ovules of apomictic *Boechera* species. *Plant Physiol* 163: 1660–72.

Couteau F, Belzile F, Horlow C, et al. (1999). Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 11:1623–34.

Crane C. (2001). Classification of apomictic mechanisms“. En: The flowering apomixis: from mechanisms to genetic engineering. (Eds) Y. Savidan, J. Carman y T. Dresselhaus, Mexico D.F., European Commission DG VI (FAIR) 3:24-43.

Cromer L, Heyman J, Touati S, et al. (2012). OSD1 promotes meiotic progression via APC/C inhibition and forms a regulatory network with TDM and CYCA1;2/TAM. *PLoS Genet* 8:e1002865.

D’erfurth I, Le Signor C, Aubert G, Sanchez M, Vernoud V, Darchy B, Lherminier J, Bourion V, Bouteiller N, Bendahmane A, et al. (2012). A role for an endosperm-localized subtilase in the control of seed size in legumes. *New Phytol* 196, 738–751.

De Muyt A, Vezon D, Gendrot G, et al. (2007). AtPRD1 is required for meiotic double strand break formation in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J* 26:4126–37.

Delgado L, Galdeano F, Sartor ME, Quarín CL, Espinoza F, Ortiz JPA. (2014). Analysis of variation for apomictic reproduction in diploid *Paspalum rufum*. *Annals of Botany* 113:1211-1218.

Di Marsico M, Cerruti E, Comino C, Porceddu A, Acquadro A, Capomaccio S, Marconi G, Albertini E. (2020). MCS (Methylation Context Sensitive Enzyme ddRAD): A New Method to Analyze DNA Methylation. In *Plant Epigenetics Epigenomics Methods in Molecular Biology*; Spillane, C., McKeown, P., Eds.; Humana: New York, NY, USA 47–64.

Dieterle M, Thomann A, Renou JP, Parmentier Y, Cognat V, Lemonnier G, Müller R, Shen WH, Kretsch T, Genschik P. (2005). Molecular and functional characterization of *Arabidopsis* Cullin 3A. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 41(3), 386–399.

Echenique CV, Curvetto NR. (1986). Efecto del déficit hídrico en cinco cultivares de pasto lloron, *Eragrostis curvula* (Schrad) Nees sens. lat. Niveles de clorofila y prolina foliar y permeabilidad de membranas celulares. *Phyton: international journal of experimental botany*.

Echenique V, Stamova B, Wolters P, Lazo G, Carollo V, Dubcovsky J. (2002). Frequencies of Ty1-copia and Ty3-gypsy retroelements within the Triticeae EST databases. *Theor Appl Genet* 104: 840–844. pmid:12582644

- Ellis RP. (1984). *Eragrostis walteri*—a first record of non-Kranz leaf anatomy in the sub-family Chloridoideae (Poaceae). South African Journal of Botany 3(6), 380-386.
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, et al. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS ONE 6:e19379.
- Evans L, Knox R. (1969). Environmental control of reproduction in *Themeda australis*. Aust. J. Bot 17, 375.
- Fei X, Shi Q, Qi Y, et al. (2021). ZbAGL11, a class D MADS-box transcription factor of *Zanthoxylum bungeanum*, is involved in sporophytic apomixis. Hortic Res 8:23.
- Ferreira LG, de Alencar Dusi DM, Irsigler AST, et al. (2018). GID1 expression is associated with ovule development of sexual and apomictic plants. Plant Cell Rep 37: 293–306.
- Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES. (1996). Reduced DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* results in abnormal plant development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 93(16), 8449–8454.
- Galla G, Vogel H, Sharbel TF, Barcaccia G. (2015). De novo sequencing of the *Hypericum perforatum* L. flower transcriptome to identify potential genes that are related to plant reproduction sensu lato. BMC genomics, 16(1), 254.
- Galla G, Zenoni S, Avesani L, Altschmied L, Rizzo P, Sharbel TF, Barcaccia G. (2017). Pistil transcriptome analysis to disclose genes and gene products related to aposporous apomixis in *Hypericum perforatum* L. Front. Plant Sci 8, 79.
- Gallardo J, Díaz M, Carballo J, Garayalde A, Echenique V. (2023). “Phytolith Content Negatively Affects Forage Quality of *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees”. Agronomy 13(3):924.
- Garbus I, Romero JR, Selva JP, Pasten MC, Chinestra C, et al. (2017) De novo transcriptome sequencing and assembly from apomictic and sexual *Eragrostis curvula* genotypes. PLOS ONE 12(11): e0185595.
- Garbus I, Selva JP, Pasten MC, Bellido AM, Carballo J, Albertini E, Echenique V. (2019). Characterization and discovery of miRNA and miRNA targets from apomictic and sexual genotypes of *Eragrostis curvula*. BMC genomics, 20(1), 1-13.

García-Aguilar M, Michaud C, Leblanc O, Grimanelli D. (2010). Inactivation of a DNA methylation pathway in maize reproductive organs results in apomixis-like phenotypes. *The Plant Cell*, 22(10), 3249-3267.

Gherbi H, Gallego ME, Jalut N, et al. (2001). Homologous recombination in plant is stimulated in the absence of Rad50. *EMBO Rep* 2:287–91.

Gimeno CJ, Ljungdahl PO, Styles CA, Fink GR. (1992). Unipolar cell divisions in the yeast *S. cerevisiae* lead to filamentous growth: regulation by starvation and RAS. *Cell*, 68(6), 1077–1090.

Gounaris EK, Sherwood RT, Gounaris I, Hamilton RH, Gustine DL. (1991). Inorganic salts modify embryo sac development in sexual and aposporous *Cenchrus ciliaris*. *Sexual Plant Reproduction*, 4, 188-192.

Grelon M, Vezon D, Gendrot G, et al. (2001). AtSPO11-1 is necessary for efficient meiotic recombination in plants. *EMBO J* 20:589–600.

Grimanelli D, Leblanc O, Espinosa E, Perotti E, González de León D, Savidan Y. (1998). Non-Mendelian transmission of apomixis in maize-*Tripsacum* hybrids caused by a transmission ratio distortion. *Heredity* 80:40-47.

Grimanelli D. (2012). Epigenetic regulation of reproductive development and the emergence of apomixis in angiosperms. *Curr Opin Plant Biol* 15, 57–62.

Grossniklaus U. (1998). A bright future for apomixis. *Trends Plant Sci* 3:415-6.

Guerin J, Rossel JB, Robert S, et al. (2000). A DEFICIENS homologue is down-regulated during apomictic initiation in ovules of *Hieracium*. *Planta* 210: 914–20.

Guitton AE, Berger F. (2005). Loss of function of MULTICOPY SUPPRESSOR OF IRA 1 produces nonviable parthenogenetic embryos in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 15:750–4.

Gustafsson A. (1946). Apomixis in higher plants. Part I. The mechanisms of apomixis. *Lunds Univ. årsskr. N. F. Avd.* 42:1-66.

Hackett CA, Boskamp B, Vogogias A, Preedy KF, Milne I. (2017). TetraploidSNPMap: Software for linkage analysis and QTL mapping in autotetraploid populations using SNP dosage data. *Journal of Heredity* 108:438-2.

Hand ML, Koltunow A. (2014). The genetic control of apomixis: asexual seed formation. *Genetics* 197:441-450.



Hartung F, Wurz-Wildersinn R, Fuchs J, et al. (2007). The catalytically active tyrosine residues of both SPO11-1 and SPO11-2 are required for meiotic double-strand break induction in Arabidopsis. *Plant Cell* 19:3090–9.

He C, Holme J, Anthony J. (2014). SNP genotyping: the KASP assay. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1145, 75–86.

Hernández-Lagana E, Rodríguez-Leal D, Lúa J, Vielle-Calzada JP. (2016). A multigenic network of ARGONAUTE4 clade members controls early megaspore formation in Arabidopsis. *Genetics* 204, 1045–1056.

Higgins JD, Armstrong SJ, Franklin FC, et al. (2004). The Arabidopsis MutS homolog AtMSH4 functions at an early step in recombination: evidence for two classes of recombination in Arabidopsis. *Genes Dev* 18:2557–70.

Hirochika H, Sugimoto K, Otsuki Y, Tsugawa H, Kanda M. (1996). Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 23;93(15):7783-8.

Hirochika H. (1993). Activation of tobacco retrotransposons during tissue culture. *The EMBO Journal* 12:2521.

Hojsgaard D, Klatt S, Baier R, Carman JG, Hörandl E. (2014). Taxonomy and biogeography of apomixis in angiosperms and associated biodiversity characteristics. *Critical Review in Plant Science* 33:414-427.

Hojsgaard D. (2018). Transient activation of apomixis in sexual neotriploids may retain genomically altered states and enhance polyploid establishment. *Frontiers in Plant Science* 9:230.

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). Censo Nacional Agropecuario 2018. Resultados preliminares. Agricultura. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Enero de 2020. ISBN 978-950-896-571-4. Enlace:

[https://www.indec.gov.ar/ftp/cuadros/economia/cna2018\\_resultados\\_preliminares\\_agricultura.pdf](https://www.indec.gov.ar/ftp/cuadros/economia/cna2018_resultados_preliminares_agricultura.pdf)

Iwasaki M, Paszkowski J. (2014). Identification of genes preventing transgenerational transmission of stress-induced epigenetic states. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 8547–8552.

- Jones L, Ratcliff F, Baulcombe DC. (2001). RNA-directed transcriptional gene silencing in plants can be inherited independently of the RNA trigger and requires Met1 for maintenance. *Curr. Biol* 11, 747–757.
- Kantama L, Sharbel T, Schranz M, Mitchell-Olds T, de Vries S, de Jong H. (2007). Diploid apomicts of the *Boechera holboellii* complex display large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes. *Proceedings National Academy of Sciences* 104:14026-14031.
- Kelliher T, Starr D, Richbourg L, et al. (2017). MATRILINEAL, a sperm-specific phospholipase, triggers maize haploid induction. *Nature* 542:105–9.
- Kent F. (2019). Forrajeras cultivadas anuales y perennes más difundidas en la provincia de La Pampa. Ediciones INTA Anguil Sep 26.
- Kepiro JL, Roose ML. (2010). AFLP markers closely linked to a major gene essential for nucellar embryony (apomixis) in *Citrus maxima* × *Poncirus trifoliata*. *Tree Genetics & Genomes* 6:1-11.
- Khanday I, Skinner D, Yang B, Mercier R, Sundaresan V. (2019). A male-expressed rice embryogenic trigger redirected for asexual propagation through seeds. *Nature* 565:91.
- Kilian A, Wenzl P, Huttner E, Carling J, Xia L, Blois H, Caig V, Heller-Uszynska K, Jaccoud D, Hopper C, Aschenbrenner-Kilian M, Evers M, Peng K, Cayla C, Hok P, Uszynski G. (2012). Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 888, 67–89.
- Kim JS, Lim JY, Shin H, Kim BG, Yoo SD, Kim WT, Huh JH. (2019). ROS1-dependent DNA demethylation is required for ABA-inducible NIC3 expression. *Plant Physiol.* 2019, 179, 1810–1821.
- Klose RJ, Bird AP. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in biochemical sciences*, 31(2), 89–97.
- Koltunow A, Grossniklaus U. (2003). Apomixis: a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology.* 54:547-574.
- Kotani Y, Henderson ST, Suzuki G, Johnson SD, Okada T, et al. (2013). The LOSS OF APOMEIOSIS (LOA) locus in *Hieracium praealtum* can function independently of the associated large-scale repetitive chromosomal structure. *New Phytologist* 201:973-981.

- Kranner I, Minibayeva FV, Beckett RP, Seal CE. (2010), What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188: 655-673.
- Kumar S. (2017) Epigenetic control of apomixis: A new perspective of an old enigma. *Advances in Plants & Agriculture Research* 7:00243.
- Kurdyukov S, Bullock M. (2016). DNA methylation analysis: Choosing the right method. *Biology* 5, 3.
- Labombarda P, Busti A, Cáceres ME, Quarín CL, Pupilli F, Arcioni S. (2002). An AFLP marker tightly linked to apomixis reveals hemizyosity in a portion of the apomixis-controlling locus in *Paspalum simplex*. *Genome* 45:513-519.
- Lang Z, Wang Y, Tang K, Tang D, Datsenka T, Cheng J, Zhang Y, Handa AK, Zhu JK. (2017). Critical roles of DNA demethylation in the activation of ripening-induced genes and inhibition of ripening-repressed genes in tomato fruit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, E4511–E4519.
- Leigh J. (1960). Some aspects of anatomy, ecology and physiology of *Eragrostis*. Tesis Ph. D., Universidad de Witwatersrand, Johannesburg, Sudáfrica.
- Li F, Pignatta D, Bendix C, Brunkard JO, Cohn MM, Tung J, Sun H, Kumar P, Baker B. (2012). MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(5), 1790–1795.
- Li X, Wei Y, Acharya A, Jiang Q, Kang J, Brummer EC (2014). A saturated genetic linkage map of autotetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) developed using genotyping-by-sequencing is highly syntenous with the *Medicago truncatula* genome. *G3 (Bethesda)* 4:1971-1979.
- Liang Z, Shen L, Cui X, Bao S, Geng Y, Yu G, Liang F, Xie S, Lu T, Gu X, et al. (2018). DNA N6-adenine methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Dev. Cell* 45, 406–416.
- Lindroth AM, Cao X, Jackson JP, Zilberman D, McCallum CM, Henikoff S, Jacobsen SE. (2001). Requirement of CHROMOMETHYLASE3 for maintenance of CpXpG methylation. *Science* 292, 2077–2080.
- Liu DD, Dong QL, Sun C, et al. (2012). Functional characterization of an apple apomixis-related MhFIE gene in reproduction development. *Plant Sci* 185–186:105–11.

- Luciani GF, Sobanski MG, Meier MS, Polci PA, Miranda R, Echenique CV. (2012). Weeping lovegrass yield and nutritional quality provides an alternative to beef cattle feeding in semiarid environments of Argentina. *Crop Sci* 52; 4; 1955-1965.
- Lutts S, Ndikumana J, Louant BP. (1994). Male and female sporogenesis and gametogenesis in apomictic *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* and F1 hybrids with sexual colchicine induced tetraploid *Brachiaria ruziziensis*. *Euphytica* 78, 19–25.
- Madlung A, Comai L. (2004). The effects of stress on genome regulation and structure. *Ann. Bot.* 94:481-495.
- Madzima TF, Mills ES, Gardiner JM, McGinnis KM. (2011). Identification of epigenetic regulators of a transcriptionally silenced transgene in maize. *G3* 1, 75–83.
- Magnard JL, Yang M, Chen YCS, et al. (2001). The Arabidopsis gene tardy asynchronous meiosis is required for the normal pace and synchrony of cell division during male meiosis. *Plant Physiol* 127:1157–66.
- Mancini M, Permingeat H, Colono C, et al. (2018). The MAP3K-coding QUI-GON JINN (QGJ) gene is essential to the formation of unreduced embryo sacs in *Paspalum*. *Front Plant Sci* 9: 1547.
- Marconi G, Capomaccio S, Comino C, Acquadro A, Portis E, Porceddu A, Albertini E. (2019). Methylation content sensitive enzyme ddRAD (MCSeEd): A reference-free, whole genome profiling system to address cytosine/adenine methylation changes. *Sci. Rep* 9, 14864.
- Matzke MA, Mosher RA. (2014). RNA-directed DNA methylation: an epigenetic pathway of increasing complexity. *Nature reviews. Genetics*, 15(6), 394–408.
- Mau M, Corral JM, Vogel H, et al. (2013). The conserved chimeric transcript UPGRADE2 is associated with unreduced pollen formation and is exclusively found in apomictic *Boechera* species. *Plant Physiol* 163: 1640–59.
- Mecchia MA, Ochogavía A, Selva JP, Laspina N, Felitti S, Martelotto LG, Spangenberg G, Echenique V, Pessino SC. (2007). Genome polymorphisms and gene differential expression in a ‘back-and-forth’ ploidy-altered series of weeping lovegrass (*Eragrostis curvula*). *Journal of Plant Physiology* 164:1051-1061.
- Meier M, Zappacosta D, Selva JP, Cervigni G, Echenique V. (2008). La apomixis, su estudio y sus posibles usos. *AgroUNS*, año V (9), pag. 10-13.

Meier M, Zappacosta D, Selva JP, Pessino S, Echenique V. (2011). Evaluation of different methods for assessing the reproductive mode of weeping lovegrass plants, *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. Australian Journal of Botany 30;59(3):253-61.

Merchan F, van den Ende H, Fernandez E, Beck CF. (2001). Low-expression genes induced by nitrogen starvation and subsequent sexual differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii*, isolated by the differential display technique. Planta 213:309-317.

Miles J. (2007). Apomixis for cultivar development in tropical forage grasses. Crop Science 47:S238-S249.

Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia CR, Sasaki T. (1997). Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. Molecular Breeding 3: 87-103.

Naumova TN, Hayward MD, Wagenvoort M. (1999). Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens*. Sexual Plant Reproduction 12:43-52.

Nedelcu A, Michod R. (2003). Sex as a response to oxidative stress: the effect of antioxidants on sexual induction in a facultatively sexual lineage. Proceeding Royal Society of London B 270:S136-S139.

Niederhuth CE, Bewick AJ, Ji L, et al. (2016). Widespread natural variation of DNA methylation within angiosperms. Genome Biol 17, 194.

Nogler G. (1984). Gametophytic apomixis. En: Johri B (ed) Embryology of Angiosperms. Springer Verlag, Berlin 475-518.

Nonomura K, Nakano M, Fukuda T, et al. (2004). The novel gene HOMOLOGOUS PAIRING ABERRATION IN RICE MEIOSIS1 of rice encodes a putative coiled-coil protein required for homologous chromosome pairing in MEIOSIS. Plant Cell 16: 1008–20.

Norrmann G, Quarin C, Burson B. (1989). Cytogenetics and reproductive behavior of different chromosome races in six *Paspalum* species. Journal of Heredity 80:24-28.

Noyes RD, Baker R, Mai B. (2007). Mendelian segregation for two-factor apomixis in *Erigeron annuus* (Asteraceae). Heredity 98:92-98.

Noyes RD, Rieseberg LH. (2000). Two independent loci control agamospermy (apomixis) in the triploid flowering plant *Erigeron annuus*. Genetics 155:379–90.

- Ochogavía AC, Cervigni G, Selva JP, Echenique VC, Pessino SC. (2009). Variation in cytosine methylation patterns during ploidy level conversions in *Eragrostis curvula*. *Plant Molecular Biology* 70:17-29.
- Ogawa D, Johnson SD, Henderson ST, et al. (2013). Genetic separation of autonomous endosperm formation (AutE) from the two other components of apomixis in *Hieracium*. *Plant Reprod* 26:113–23.
- Ohad N, Yadegari R, Margossian L, et al. (1999). Mutations in FIE, a WD polycomb group gene, allow endosperm development without fertilization. *Plant Cell* 11:407–15.
- Okada T, Hu Y, Tucker MR, Taylor JM, Johnson SD, Spriggs A, Tsuchiya T, Oelkers K, Rodrigues JC, Koltunow AM. (2013). Enlarging cells initiating apomixis in *Hieracium praealtum* transition to an embryo sac program prior to entering mitosis. *Plant physiology*, 163(1), 216–231.
- Olmedo-Monfil V, Durán-Figueroa N, Arteaga-Vázquez M, et al. (2010). Control of female gamete formation by a small RNA pathway in Arabidopsis. *Nature* 464:628–32.
- Ortega-Galisteo AP, Morales-Ruiz T, Ariza RR, Roldán-Arjona T. (2008). Arabidopsis DEMETER-LIKE proteins DML2 and DML3 are required for appropriate distribution of DNA methylation marks. *Plant molecular biology*, 67(6), 671–681.
- Ortiz JPA, Quarin CL, Pessino SC, Acuña C, Martínez EJ., Espinoza F, et al. (2013). Harnessing apomictic reproduction in grasses: what we have learned from *Paspalum*. *Annals of Botany* 112:767-787.
- Ozias-Akins P, Roche D, Hanna WW (1998). Tight clustering and hemizyosity of apomixis-linked molecular markers in *Pennisetum squamulatum* implies genetic control of apospory by a divergent locus that may have no allelic form in sexual genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:5127-5132.
- Ozias-Akins P, van Dijk PJ. (2007). Mendelian genetics of apomixis in plants. *Annual Review of Genetics*. 41:509-537.
- Park K, Kim MY, Vickers M, Park JS, Hyun Y, Okamoto T, Zilberman D, Fischer RL, Feng X, Choi Y, et al. (2016). DNA demethylation is initiated in the central cells of Arabidopsis and rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, 15138–15143.

- Pasten MC, Carballo J, Gallardo J, Zappacosta D, Selva JP, Rodrigo JM, Echenique V, Garbus I. (2022). A combined transcriptome - miRNAome approach revealed that a kinesin gene is differentially targeted by a novel miRNA in an apomictic genotype of *Eragrostis curvula*. *Front. Plant Sci.* 13:1012682.
- Pikaard CS, Mittelsten Scheid O. (2014). Epigenetic regulation in plants. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(12), a019315.
- Podio M, Cáceres ME, Samoluk SS, Seijo JG, Pessino SC, Ortiz JPA, Pupilli F. (2014). A methylation status analysis of the apomixis-specific region in *Paspalum* spp. suggests an epigenetic control of parthenogenesis. *J. Exp. Bot* 65, 6411–6424.
- Poland JA, Brown PJ, Sorrells ME, Jannink JL. (2012). Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE* 7:e32253.
- Polci P. (2000). Cultivo de tejidos para la obtención de variantes somaclonales de pasto llorón, *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur.
- Poverene M, Curvetto N. (1991). Citogenética. En: El pasto llorón, su Biología y Manejo, Eds. O. Fernández, R. Brevedan y A. Gargano. CERZOS y Dpto. Agronomía-UNS, Argentina, Cap. 3, pag. 19-38.
- Poverene M. (1988). Contribución citogenética y quimiosistemática a la taxonomía del pasto llorón, *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees s. lat (Doctoral dissertation, Ph. D. thesis, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca).
- Qian W, Miki D, Zhang H, Liu Y, Zhang X, Tang K, Kan Y, Li X, Li S, Zhu X, et al. (2012). A histone acetyltransferase regulates active DNA demethylation in *Arabidopsis*. *Science* 336, 1445–1448.
- Quarin CL. (1986). Seasonal changes in the incidence of apomixis of diploid, triploid, and tetraploid plants of *Paspalum cromyorrhizon*. *Euphytica*, 35, 515-522.
- Rabeau T, Longly B, Louant B. (1986). Unreduced-embryo sac ontogenesis in *Eragrostis curvula*. *Canadian Journal of Botany* 64:1778-1785.
- Rabiger DS, et al. (2016). Generation of an integrated *Hieracium* genomic and transcriptomic resource enables exploration of small RNA pathways during apomixis initiation. *BMC Biol* 14, 86.

- Rafalski A. (2002). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current Opinion in Plant Biology* 5:94-100.
- Ravi M, Chan SW. (2010). Haploid plants produced by centromeremediated genome elimination. *Nature* 464:615–8.
- Rebozzio RN, Sartor ME, Quarin CL, et al. (2011). Residual sexuality and its seasonal variation in natural apomictic *Paspalum notatum* accessions. *Biol Plant* 55, 391–395.
- Reyes-Hernández BJ, Díaz de la Garza RI, Dubrovsky JG. (2015). FOLATOS: SU SÍNTESIS, METABOLISMO, TRANSPORTE Y PAPEL EN EL DESARROLLO DE PLANTAS. *REB* 32(2): 39-48.
- Rodrigo JM, Zappacosta DC, Selva JP, Garbus I, Albertini E, Echenique V. (2017). Apomixis frequency under stress conditions in weeping lovegrass (*Eragrostis curvula*). *PLoS One*, 12(4), e0175852.
- Romero J, Selva JP, Pessino S, et al. (2016). Repetitive sequences in *Eragrostis curvula* cDNA EST libraries obtained from genotypes with different ploidy. *Biol Plant* 60, 55–67.
- Russo VE, Martienssen RA, Riggs AD. (1996). *Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Long Island, NY, USA.
- Sansaloni C, Franco J, Santos B, et al. (2020). Diversity analysis of 80,000 wheat accessions reveals consequences and opportunities of selection footprints. *Nat Commun* 11, 4572.
- Sansaloni C, Petrolis C, Jaccoud D, et al. (2011) Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. *BMC Proc* 5 (Suppl 7), P54.
- Sartor ME, Quarin CL, Urbani M, Espinoza F. (2011). Ploidy levels and reproductive behaviour in natural populations of five *Paspalum* species. *Plant Systematic and Evolution* 293:31-41.
- Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T. (eds) (2001) *The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering*. CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR), Mexico, D.F.
- Schallau A, Arzenton F, Johnston AJ, et al. (2010). Identification and genetic analysis of the APOSPORY locus in *Hypericum perforatum* L. *Plant J* 62:773–84.
- Schmidt A., et al. (2014). Apomictic and sexual germline development differ with respect to cell cycle, transcriptional, hormonal and epigenetic regulation. *PLoS Genet* 10, e1004476.



Schommer C, Beven A, Lawrenson T, et al. (2003). AHP2 is required for bivalent formation and for segregation of homologous chromosomes in Arabidopsis meiosis. *Plant J* 36:1–11.

Selva JP, Pessino SC, Meier MS, Echenique VC. (2012). Identification of candidate genes related to polyploidy and/or apomixis in *Eragrostis curvula*. *American Journal of Plant Sciences*. 3:403-416.

Selva JP, Siena L, Rodrigo JM, Garbus I, Zappacosta D, Romero JR, Echenique V, et al. (2017). Temporal and spatial expression of genes involved in DNA methylation during reproductive development of sexual and apomictic *Eragrostis curvula*. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.

Selva JP, Zappacosta D, Carballo J, Rodrigo JM, Bellido A, Gallo CA, Gallardo J, Echenique V. (2020). Genes modulating the increase in sexuality in the facultative diplosporous grass *Eragrostis curvula* under water stress conditions. *Genes* 11, 969.

Selye H. (1936). *The stress of life*, New York, Mc Graw-Hill 1956:15-54

Sharbel TF, Voigt ML, Corral JM, Thiel T, VarshneyA, Kumlehn J, Vogel J, Rotte B. (2009) Molecular signatures of apomictic and sexual ovules in the *Boechera holboellii* complex. *Plant Journal* 58:870-882.

Siena LA, Ortiz JPA, Calderini O, et al. (2016). An apomixis-linked ORC3-like pseudogene is associated with silencing of its functional homolog in apomictic *Paspalum simplex*. *J Exp Bot* 67:1965–78.

Siena LA, Ortiz JPA, Leblanc O, Pessino S. (2014). PnTgs1-like expression during reproductive development supports a role for RNA methyltransferases in the aposporous pathway. *BMC Plant Biology* 14:297.

Siena LA, Sartor ME, Espinoza F, Quarin CL, Ortiz JPA. (2008). Genetic and embryological evidences of apomixis at the diploid level of *Paspalum rufum* support recurrent auto-polyploidization in the species. *Sexual Plant Reproduction* 21:205.210.

Singh M, Goel S, Meeley RB, Dantec C, Parrinello H, Michaud C, Leblanc O, Grimanelli D. (2011). Production of viable gametes without meiosis in maize deficient for an ARGONAUTE protein. *Plant Cell* 23, 443–458.

Singh M, Goel S, Meeley RB, et al. (2011). Production of viable gametes without meiosis in maize deficient for an ARGONAUTE protein. *Plant Cell* 23: 443–58.

- Spillane C, Vielle-Calzada J, Grossniklaus U. (2001). APO2001: a sexy apomixer in *Como*. *Plant Cell*, 13, 1477-1490.
- Spindel J, Wright M, Chen C, Cobb J, Gage J, Harrington S, Lorieux M, Ahmadi N, McCouch S. (2013). Bridging the genotyping gap: using genotyping by sequencing (GBS) to add high-density SNP markers and new value to traditional bi-parental mapping and breeding populations. *Theoretical and Applied Genetics* 126:2699-2716.
- Springer ML. (1993). Genetic control of fungal differentiation: the three sporulation pathways of *Neurospora crassa*. *Bioessays* 15:365-374.
- Stalker H, Wright N. (1975). Reproduction of *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. *Journal of Arizona Academic Science* 10:106-10.
- Steglich M, Nubel U. (2017). The challenge of detecting indels in bacterial genomes from short-read sequencing data. *Journal of Biotechnology* 250:11-15.
- Stein J, Pessino C., Martínez EJ, Rodríguez MP, Siena L, Quarín CL, et al. (2007). A genetic map of tetraploid *Paspalum notatum* Flügge (bahiagrass) based on single-dose molecular markers. *Molecular Breeding* 20:153-166.
- Streetman L. (1963). Reproduction of the lovegrass, the genus *Eragrostis*-I. *E. chloromelas* Steud., *E. curvula* (Schrad.) Nees, *E. lehmanniana* Nees and *E. superba* Peyr. *Wrightia* 3:41-51.
- Sudan J, Raina M, Singh R. (2018). Plant epigenetic mechanisms: Role in abiotic stress and their generational heritability. *3 Biotech* 8, 1–12.
- Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, Simonovic M, Doncheva NT, Morris JH, Bork P, Jensen LJ. (2019). STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic acids research* 47(D1):D607-13.
- Thaikua S, Ebina M, Yamanaka N, Shimoda K, Suenaga K, Kawamoto Y. (2016). Tightly clustered markers linked to an apospory-related gene region and QTL mapping for agronomic traits in *Brachiaria* hybrids. *Grassland Science* 62:69-80.
- Thomann A, Brukhin V, Dieterle M, Gheyeselink J, Vantard M, Grossniklaus U, Genschik P. (2005). Arabidopsis CUL3A and CUL3B genes are essential for normal embryogenesis. *Plant J* 43, 437–448.

- Treier U, Fuchs S, Weber M, Wakarchuk WW, Beck CF. (1989). Gametic differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii*: light dependence and gene expression patterns. *Archives of microbiology* 152:572-577.
- Underwood CJ, Vijverberg K, Rigola D, et al. (2022). A PARTHENOGENESIS allele from apomictic dandelion can induce egg cell division without fertilization in lettuce. *Nat Genet* 54:84–93.
- Vaisvila R, Ponnaluri VC, Sun Z, Langhorst BW, Saleh L, Guan S, Davis TB. (2020). EM-seq: Detection of DNA methylation at single base resolution from picograms of DNA. *BioRxiv* 2019, 12.
- Van Ooijen JW. (2006). JoinMap R 4. Software for the calculation of genetic linkage map in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- Vannier JB, Depeiges A, White C, et al. (2006). Two roles for Rad50 in telomere maintenance. *EMBO J* 25:4577–85.
- Vašut RJ, Vijverberg K, van Dijk PJ, et al. (2014). Fluorescent in situ hybridization shows DIPLOSPOROUS located on one of the NOR chromosomes in apomictic dandelions (*Taraxacum*) in the absence of a large hemizygous chromosomal region. *Genome* 57:609–20.
- Vijverberg K, Van der Hulst R, Lindhout P, Van Dijk PJ. (2004) A genetic linkage map of the diplosporous chromosomal region in *Taraxacum* (common dandelion; Asteraceae). *Theoretical and Applied Genetics* 108:725-732.
- Vikram P, Franco J, Burgueño-Ferreira J, et al. (2016). Unlocking the genetic diversity of Creole wheats. *Sci Rep* 6, 23092.
- Voigt P, Bashaw E. (1972). Apomixis and sexuality in *Eragrostis curvula*. *Crop Science*. 12:843-7.
- Voigt P, Bashaw E. (1973). Facultative apomixis in *Eragrostis curvula*. *Agronomy Abstracts* 65:16.
- Voigt P, Bashaw E. (1976). Facultative apomixis in *Eragrostis curvula*. *Crop Science* 16:803-5.
- Voigt P, Burson B. (1992). Apomixis in *Eragrostis*. *Proceeding Apomixis Workshop, Atlanta, USA, USDA-ARS, ARS-104*, 8-11.
- Voigt P, Rethman N, Poverene M. (2004). Lovegrasses. En: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Warm-Season (C4) Grasses, *Agronomy Monograph* Cap. 45, pag. 1027-1056.
- Voigt P. (1976). Registration of OTA-S weeping lovegrass germplasm. *Crop Sci* 16, 886.

- Vorster T, Liebenberg H. (1977). Cytogenetic studies in the *Eragrostis curvula* complex. *Bothalia* 12:215-21.
- Vorster T, Liebenberg H. (1984). Classification of embryo sacs in the *Eragrostis complex*. *Bothalia* 15:167-174.
- Vrielynck N, Chambon A, Vezon D, et al. (2016). A DNA topoisomerase VI-like complex initiates meiotic recombination. *Science* 351:939–43.
- Wang C, Liu Q, Shen Y, Hua Y, Wang J, Lin J, et al. (2019). Clonal seeds from hybrid rice by simultaneous genome engineering of meiosis and fertilization genes. *Nature Biotechnology*, 1.
- Wang Y, Magnard JL, McCormick S, et al. (2004). Progression through meiosis I and meiosis II in *Arabidopsis* anthers is regulated by an A-type cyclin predominately expressed in prophase I. *Plant Physiol* 136:4127–35.
- Watanabe Y, Nurse P. (1999). Cohesin Rec8 is required for reductional chromosome segregation at meiosis. *Nature* 400:461–4.
- Worthington M, Heffelfinger C, Bernal D, Quintero C, Zapata YP, Perez JG, et al. (2016). A parthenogenesis gene candidate and evidence for segmental allopolyploidy in apomictic *Brachiaria decumbens*. *Genetics* 203:1117-1132.
- Wu KK, Burnquist W, Sorrells ME, Tew TL, Moore PH, Tanksley SD. (1992). The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. *Theoretical and Applied Genetics* 83:294-300.
- Xiong J, Hu F, Ren J, Huang Y, Liu C, Wang K. (2023). Synthetic apomixis: the beginning of a new era. *Current opinion in biotechnology*, 79, 102877.
- Xu Y, Jia H, Tan C, Wu X, Deng X, Xu Q. (2022). Apomixis: genetic basis and controlling genes, *Horticulture Research*, Volume 9, uhac150.
- Xu Y. (2010). *Molecular Plant Breeding*. CABI International, Wallingford, Oxfordshire.
- Young BA, Sherwood RT, Bashaw EC. (1979). Cleared-pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixis in grasses. *Canadian Journal of Botany*, 57(15), 1668-1672.
- Zappacosta D, Gallardo J, Carballo J, Meier M, Rodrigo JM, Gallo CA, Echenique V., et al. (2019). A high-density linkage map of the forage grass *Eragrostis curvula* and localization of the diplospory locus. *Frontiers in plant science*, 10, 918.

- Zappacosta DC, Ochogavía AC, Rodrigo JM, Romero JR, Meier MS, Garbus I, Echenique VC. (2014). Increased apomixis expression concurrent with genetic and epigenetic variation in a newly synthesized *Eragrostis curvula* polyploid. *Scientific reports*, 4(1), 4423.
- Záveský L, Jarolímová V, Stěpánek J. (2007). Apomixis in *Taraxacum paludosu* (section Palustria, Asteraceae): Recombinations of apomixis elements in inter-sectional crosses. *Plant Systematics and Evolution* 265:147-63.
- Zhang H, Deng X, Miki D, Cutler S, La H, Hou YJ, Oh J, Zhu JK. (2012) Sulfamethazine suppresses epigenetic silencing in Arabidopsis by impairing folate synthesis. *Plant Cell* 24:1230-1241.
- Zhang H, Lang Z, Zhu JK. (2018). Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nat. Rev. Mol. Cell Bio* 19, 489–506.
- Zhou C, Wang C, Liu H, Zhou Q, Liu Q, Guo Y, Peng T, Song J, Zhang J, Chen L, et al. (2018). Identification and analysis of adenine N 6-methylation sites in the rice genome. *Nat. Plants* 4, 554–563.
- Zhou HR, Zhang FF, Ma ZY, Huang HW, Jiang L, Cai T, Zhu JK, Zhang C, He XJ. (2013). Folate polyglutamylation is involved in chromatin silencing by maintaining global DNA methylation and histone H3K9 dimethylation in Arabidopsis. *Plant Cell* 25:2545-2559.
- Zühl L, Volkert C, Ibberson D, Schmidt A (2019). Differential activity of F-box genes and E3 ligases distinguishes sexual versus apomictic germline specification in *Boechera*, *Journal of Experimental Botany*, Volume 70, Issue 20, 15 Pages 5643–5657.

**Apéndice**

**Tabla S1.** GL1 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg	Posición	Sintenia	Secuencia
100363940 F 0-7:A>C-7:A>C	nnxnp	0	Contig28	TGCAGACCGCAGCATCAGCCTGAAGACCTAACTGAGACGTATGAAACCGACCCGAGCTTAGCAACAGCG
100415066 F 0-53:G>T-53:G>T	hxxhk	5	Contig28	TGCAGCTTGAACACAGTCCAGCATCGCTCAGGAATTGTCATTGTACATGTGGCTCCCTGCCTCCCGAT
100492833 F 0-25:C>T-25:C>T	nnxnp	22	Contig1	TGCAGTGGTCGACCCCTCTTGTGCTGTGGCGCACGGGTGTGCCTGTCGGTGAGTCGGGGGATAGCATGGC
100503486 F 0-27:T>A-27:T>A	nnxnp	28	Contig28	TGCAGTCATCTGGATCAGAATGCTGCGAAGCATCTCGCGGGGAAACGGCAGTCGATCTTTGCTTTGA
100477277 F 0-6:C>T-6:C>T	nnxnp	29	Contig28	TGCAGTTGCCATTGTTACGTACTGCGGGATGGTGGTCCAGTTCACAGTCGGACGGAGATTGTGAG
APO	nnxnp	29		
100502388 F 0-17:A>T-17:A>T	nnxnp	29	Contig28	TGCAGTCTATTGATTGTGGTACACCAATACCCCGTGTCCAAAATCATTGTGGGATATACCCGCGC
100503486 F 0-31:G>A-31:G>A	nnxnp	29	Contig28	TGCAGTCATCTGGATCAGAATGCTGCGAAGCATCTCGCGGGGAAACGGCAGTCGATCTTTGCTTTGGA
100332003 F 0-13:T>C-13:T>C	nnxnp	29	Contig28	TGCAGAGTTCATCGGAATATTGCGTAAGCATCCCTGTCTCTGGATTCCCATCTTAGGCATGCCTTG
100479743 F 0-37:C>T-37:C>T	nnxnp	30	Contig28	TGCAGTTC AACGACCTTCTACGGCTCAAGAAAGGTGGCGGTGGGCTGCCTGCGCTGTGTGTTA
100507778 F 0-28:T>C-28:T>C	nnxnp	30	Contig28	TGCAGTCGGCAGCGCTCGACGAACACGCGCCTTAGTCGGTGCACGCAACGACGGCCTCGCCTGCTA
100463862 F 0-13:G>A-13:G>A	nnxnp	31	Contig688	TGCAGTACACGGAAGTCTTGGCAAGGGCGCTTCAAGACGGTGTATCCTTTTATAAATTATGTCTGAT
100220226 F 0-12:A>G-12:A>G	nnxnp	34	Contig28	TGCAGAAGCAGAGGCTTTACAGCCTGTGAGTCTCGTCAATCTTGGCCTTAAAGTGTCTCCCTC
100482350 F 0-15:C>T-15:C>T	lmxll	38	Contig28	TGCAGTCTGCACATGGCTCATGGCAGATCCTCATACCTTCAGCTTGGAGGGCGCTGGTGGTCACT
100492833 F 0-32:C>T-32:C>T	nnxnp	41	Contig1	TGCAGTGGTCGACCCCTCTTGTGTGGCGCATGGGTGTGCCCTGCGTGAGTCGGGGGATAGCATGGC
100463587 F 0-24:G>A-24:G>A	lmxll	42	Contig28	TGCAGGTGGACATCTGCACGTACATCGGGGGGGCGCACCGAGCAGCGCCGAAAGGTTGCGCCCC
100463589 F 0-41:T>G-41:T>G	lmxll	42	Contig28	TGCAGGTGGACATCTGCACGTACATCGGGGGGGCGCACCGAGCAGCGCCGAAAGGTTGCGCCCC
100470856 F 0-29:A>T-29:A>T	lmxll	44	Contig28	TGCAGGTGGGGGAGTCATGGACAGGGGCTTGTGAGGATGATGGATTGGCAATGGTTGTGATGGCCA
100470325 F 0-8:A>G-8:A>G	lmxll	47	Contig28	TGCAGGCCGAGGTAGTTCATGTCTCATGTTCCAGTGGCCATTGAAGATGTTGTGATCTCAGAGTCCCC
100480256 F 0-57:C>A-57:C>A	lmxll	48	Contig28	TGCAGATGCACACCATTAGGACTCAGTTCTTCAATCCTGATGCAGCGAATCAACGATTGACTTGTCT
100445099 F 0-13:C>A-13:C>A	lmxll	48	Contig28	TGCAGTTGATGAAGAAATGTAAGACTTGCTGCTTGAAGGGGCTCTTATAGAGGGGCACGTGGCGA
100461331 F 0-18:A>G-18:A>G	lmxll	50	Contig28	TGCAGATGACAGATCTGTGCCATCCATAGTGCCTCAGGTGATGAGCAGAGGCTGTCCAGCAAGCTAC
100480740 F 0-33:C>T-33:C>T	nnxnp	51	Contig28	TGCAGTCAAGAACTCTATATAAAGCGGCTGTGACGCTCGACTCACCAAGCTATCCGAGTGGAGA
100419370 F 0-49:T>C-49:T>C	lmxll	54	Contig28	TGCAGTTCTGATCCAAACGAAATGAATGTGGATGGGCTGTAATAAATCGACGGACCCGATATC
100371803 F 0-29:T>C-29:T>C	nnxnp	57	#N/D	TGCAGGCAAAACAGATCGGGATGTCACGCTGAGCGTGTGTTGAGCCAGTGGCGGAGTAAAGATACAGT
100434100 F 0-50:C>T-50:C>T	lmxll	59	Contig28	TGCAGTGGACGTGACCAGCGGGGAAAAATGTTGTGTGAATCAATGGTGAACATGCTTGAATTA
100480031 F 0-14:C>T-14:C>T	nnxnp	61	Contig28	TGCAGAGCTCAGTGTCAAGGTCAACCTCATCTACTAATTCAGTGTAGCTAGTACGATGGGCGCA
100427002 F 0-23:C>A-23:C>A	lmxll	63	Contig28	TGCAGAAGAGAGCGTCCATGGCGACCCATCCGAAGTGCCTCGCATATGGGCTCCACAACCGCCGAG
100477278 F 0-7:G>T-7:G>T	nnxnp	66	Contig28	TGCAGTCTCATTGTTACATCACTGGCGGATGGTGGTCCAGCTCACAGTCGGACGGAGATTGTTGAG
100472548 F 0-7:A>G-7:A>G	lmxll	67	Contig449	TGCAGAGATCCTCACTCCCTAACGTTGCTTGGAGCATGTCAGGATGAAGACAGAACCAGGACCGG
100494721 F 0-24:A>T-24:A>T	lmxll	68	Contig28	TGCAGTTAAGGCTCATGATTGATTAGGTGGAAACCAAGCAAGAGAAAGTGACAATGTTGATTTTG
100485261 F 0-65:G>A-65:G>A	lmxll	71	Contig28	TGCAGGCTGTATAGCATGTTGCTGCTCGGGTCGCGCTGCTGCCAAAGCCATGCGTTGATGCCACTG
100457096 F 0-28:G>T-28:G>T	nnxnp	81	Contig28	TGCAGTTAACAAAGCCTCCATTCTTGTCTCCTTGTGCCAACATTGCTGTCTGCTACTATCGTCAACC
100434002 F 0-46:A>G-46:A>G	nnxnp	87	Contig25	TGCAGTGCCAGCGCGTCCCGATGACCTGCGGTGGTCTCCCTCGTTTGTCTGCTGATTCCAGTT
100441731 F 0-43:A>G-43:A>G	hxxhk	98	Contig28	TGCAGCAGAAACATGGACGGATAAAGGAGAGACAAGTGTATGAGACATTTGCAAGTTGGAGCATCTAA
100418043 F 0-46:A>G-46:A>G	nnxnp	102	Contig28	TGCAGTCCAAGACCGTGTCTACTGATGTTTCTTGGCAAGAGTCCGAAGCCGCTTGCATGAACAACG
100488602 F 0-17:G>A-17:G>A	hxxhk	102	Contig28	TGCAGATGGTAAATGCAATTGACTAATAGAAAGGTAAGCAAAGTCTGCCATAACAGGATATGTTGT
100390398 F 0-40:C>T-40:C>T	nnxnp	115	Contig28	TGCAGAGCCTGAAAATGCGCGGGCATCGGATCCGTGGCTTGGCGGTGGCGGGTTCGTCGAACAAAG
100428509 F 0-60:G>T-60:G>T	nnxnp	122	Contig28	TGCAGATTCGACGAGGTAGAAATCAACACAGGAATGTGCCATACTACGATGGCGATGTGCATTATT
100510779 F 0-46:G>C-46:G>C	nnxnp	127	Contig28	TGCAGTCCAGCGTCTCATCCACTCCGAACCTGTACTGAAACCCCAACTCCACAGCTTGTGGGTGCAA
100445745 F 0-13:T>G-13:T>G	nnxnp	131	Contig28	TGCAGTCTGATGTTGAAGTATATTGATGGAAACTACGGTCTGTGACGAAAATTGATCGCAGT
100426990 F 0-55:A>G-55:A>G	nnxnp	134	Contig28	TGCAGAAGAGAGACAGAGTATCTAAGCTTGGCATCACCTTTGGCTAGGCCAAGGAGAGATGGCCGAG
100432385 F 0-35:G>A-35:G>A	lmxll	135	Contig28	TGCAGGTGACGGATTCAGTGTGGCGGCTTCGTTGATGGGCTGATCTCGGTGCACAGATCGCCGACG
100486340 F 0-61:A>C-61:A>C	lmxll	135	Contig28	TGCAGTCTACTACTAGTGTGATGCCGCTCTCCTCGCAGGAGAGGAATGACTTTCATGTGGC
100342171 F 0-31:G>T-31:G>T	nnxnp	139	#N/D	TGCAGGATTGCACTAGCCCATGATGGTGTGTTCCATTATGTCTTGTATCCATTGATTGCTGCTG
100471558 F 0-40:C>T-40:C>T	nnxnp	140	Contig28	TGCAGTCTCAGTACGTAGCGCTCTTCAACCAATGCTTCCAAAATCGCCATGTGACGAGGTA
100494715 F 0-17:G>T-17:G>T	nnxnp	144	Contig28	TGCAGGTTAACTTCATGTACAGCGCCGACCGACTTCCAGCCGTTCAAAGCCGACTCTGCCTA
100445282 F 0-46:C>T-46:C>T	lmxll	150	#N/D	TGCAGTACAGGCTTGGTAAAGGTTGACTTAAAAACGTACACACATAGGACTGAAAACGTTGCTTTC
100427602 F 0-59:A>G-59:A>G	nnxnp	150	Contig28	TGCAGAGACGATTAGACGAGCCACTTGGTGATAAAACAAAGTTTCAGTATGGGGCGTGGGAGCAAATG
100236880 F 0-51:C>A-51:C>A	nnxnp	153	Contig804	TGCAGGAAAACTCCAATACGCATCTCTAATAAGTTTCTGTCCACATCAACAGTGTGTCATGGTCACT
100484508 F 0-61:A>G-61:A>G	lmxll	158	Contig28	TGCAGATGGGAATGGCCAGTTACAGGAGTGTAGAAGTGCATAGGGAAGATGCCATAGAGGTCCTCA
100290482 F 0-38:C>G-38:C>G	nnxnp	166	Contig28	TGCAGCATTCTAAACCTACCACGACGGGTACCATTGAGTGGCAAGGCCGCAAAAATGTTAGTTCACA
100468787 F 0-17:T>C-17:T>C	lmxll	200	Contig28	TGCAGATCGATGAGGTTCCGGAGCTTCTGGCGACCTGCGGACGGAGATGCCATCCTTCTTGAAGACG
100468788 F 0-63:G>C-63:G>C	lmxll	200	Contig28	TGCAGATCGATGAGGTTCCGGAGCTTCTGGCGACCTGCGGACGGAGATGCCATCCTTCTTGAAGACG
100390807 F 0-40:C>G-40:C>G	nnxnp	226	Contig28	TGCAGATACTGCTCGGTGCGAGCAGGGTACCAGAAAACGTTGGACGAGAAGTGGCTGAGTACGACG

**Tabla S2.** GL2 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100483320 F 0-31:G>T-31:G>T	hkxhk	0	#N/A	TGCAGGATCTCGTCTTTGGGACTGGTGTAGTGAAGCATGACGAAAGCTGCATTGGTCCG
100483724 F 0-9:T>A-9:T>A	lmxll	3	Contig10	TGCAGTGCGAAATAAGCATTTCTTTCTGTGTAATCGCATCTTCTTATACCTAAACCCG
100405245 F 0-13:C>T-13:C>T	lmxll	5	#N/A	TGCAGCCAGCGTATCCTGCACTGATTCCG
100373795 F 0-46:T>G-46:T>G	lmxll	8	Contig10	TGCAGGTGCCAGGCAGGTACACGTCGCCGTGGCCCTGGCGTGGCGGAGACGCCCTGTCTTTCA
100462934 F 0-13:G>T-13:G>T	lmxll	12	Contig10	TGCAGGACAGCAATTTGCAAGGATGATGGAACATGAAACGACTCTTCTAGCCTGTCTTCGCGT
100385852 F 0-16:G>A-16:G>A	lmxll	18	#N/A	TGCAGGTCTGACGACGAGAGAGAGACCG
100318287 F 0-26:A>C-26:A>C	lmxll	22	Contig10	TGCAGCCACACCGTACCAATGCGATCTTCTTCTTCCATCCG
100444118 F 0-54:T>G-54:T>G	nnxnp	22	Contig10	TGCAGGCGGTCAACGCGGCGAGCTGGCCAGCAGGAGGGAGGATCCTCGAGGGCCAAATCCG
100303797 F 0-24:T>G-24:T>G	lmxll	25	Contig10	TGCAGTTGGTTGAGAAGAATATCGGCACATAACAACATAATGAGATACGCCAAAGGATAGTACTTG
100429217 F 0-33:T>C-33:T>C	nnxnp	26	#N/A	TGCAGCATCCGCCCTCCACGCCGCCGCCACCCACTGCCGCCGCCGCTCACCCCGCTCAGCCTCT
100386529 F 0-19:C>A-19:C>A	lmxll	28	Contig10	TGCAGTGATCTGTAGCCTACAAAGAGCTAAGATCCG
100191668 F 0-27:T>C-27:T>C	nnxnp	35	Contig10	TGCAGTGCAAGCACCAGCTTTCTTCTCTCGTGTAGCTGCGCTTCTGAGGTGATCCG
100475101 F 0-44:G>A-44:G>A	nnxnp	40	Contig10	TGCAGATGTTGAGGTCTACTATTAGTAGACACCCAGTGCGCAGACACAATGTCGCCGTGCAATTT
100443350 F 0-10:G>C-10:G>C	lmxll	44	Contig10	TGCAGTCTCCAGTGAATACAAAGGAGGGCATACTGAAATCATGTACAATTTGGAAGTAGCTCGGT
100406821 F 0-33:T>C-33:T>C	nnxnp	47	Contig10	TGCAGGCAACAAGAGGCGATGTATGGCTCGGACACTCCGCCG
100385978 F 0-28:G>C-28:G>C	nnxnp	49	Contig10	TGCAGTTGGAAGGTGGAGGAGGGAGGAGCGCATGGCCAGGGAAGGAGGTTCCCG
100354887 F 0-13:A>G-13:A>G	nnxnp	56	Contig10	TGCAGCATATTCGTTCTACAATGAGCTGTTATGGTCAGAGGGTTCCG
100470865 F 0-37:G>A-37:G>A	nnxnp	58	Contig401	TGCAGGTGTTTCATCCCAACATCGATTCCGAGGGGCAAATGCTCTGGACATCTCAAGGAGAACTGGA
100427201 F 0-36:A>T-36:A>T	nnxnp	61	#N/A	TGCAGACAAGAAATGATGATCTGTATGACTGTGACTTGAAGAGAGGTCAGATTAGGAAAGTGAAGTGT
100382611 F 0-5:C>G-5:C>G	nnxnp	65	#N/A	TGCAGGGGACAGCGCTGCCGACGCGCCG
100472326 F 0-16:G>C-16:G>C	nnxnp	70	Contig10	TGCAGTTGTTTCCACTTCTGTCCACATCGGCACATGCGTGCTGTTTGTGCTGATTGTGTGAATC
100266159 F 0-15:G>C-15:G>C	nnxnp	72	#N/A	TGCAGATTCCAGGCCCCAGATGCGCCCG
100192720 F 0-6:A>G-6:A>G	nnxnp	87	#N/A	TGCAGGGTATGTTAAACGTGCCCG
100490067 F 0-11:T>C-11:T>C	nnxnp	101	Contig10	TGCAGTGTATCGTGGTATCTACTTTGCAGTCTCAGTTATTGAGCATCTCTCAGTCTGTCTT
100470789 F 0-18:T>G-18:T>G	nnxnp	107	Contig10	TGCAGTTGAGCAGACGACGCCCTGGGAGACCTCATGCTTGGCCGACACTTCGATTGGAAGAAGACA
100501277 F 0-46:C>T-46:C>T	nnxnp	114	Contig10	TGCAGTGCCTCAGTTGTAGCCGATCTCTGACGTTGGCGTGCAGTGGCTGGACGTGCGGCCGAG
100425210 F 0-31:C>G-31:C>G	nnxnp	117	Contig10	TGCAGTCGATCGTCTGCTGCTGCGACATGCTCTGTGGCACC
100494565 F 0-64:C>T-64:C>T	hkxhk	121	Contig958	TGCAGGTACGCGCCTCGTGGCCGCCGACCCGCTGCTCCTCGCATTCACCTGTCACCTCTTGAC
100433552 F 0-51:T>G-51:T>G	nnxnp	123	Contig756	TGCAGTGCCTTAGGAAAATGATCTTGGCGCTGAAGAAGAGCCATATCAGACCATGAACAAAGTGG
100452687 F 0-21:A>C-21:A>C	nnxnp	124	Contig10	TGCAGATGCGCGCTCTCCCGAGAGGAACGAGCAGAGGATACCACATCCCGCTGTTGTGGTACTAC
100345856 F 0-39:G>A-39:G>A	nnxnp	145	Contig10	TGCAGTTACTACACCACCTCAATAAGCTTCCAAAGACACTGCTGTAGTGCCTAGGCCACAAATAA
100476983 F 0-62:T>C-62:T>C	lmxll	155	Contig10	TGCAGTAGCATGAGTGTAGACGTTGACCCGCTGTACACTGCGCGGCTCATGTGCCACGCATCTGTGGT
100318266 F 0-30:A>C-30:A>C	nnxnp	158	Contig10	TGCAGTACTGTTCTGGGCTACTTCCATCATGCTCCG
100390191 F 0-49:A>C-49:A>C	lmxll	165	Contig10	TGCAGAGACGAGATTTGTGTTGGATTGATACGGTAGCGGCCAGTTCACTATCCATATATACAAGC
100480558 F 0-12:T>C-12:T>C	nnxnp	165	Contig10	TGCAGCATTGCTCATTGGTATTGCGCCCAAGGACTGCTGCGAGGGCCGCTGCCAAGCCGAG
100459551 F 0-28:T>G-28:T>G	nnxnp	167	Contig10	TGCAGTAGGACAGCTATGATTTGGCTGTGCTATGTGCCATAAAGTCCG
100445191 F 0-18:C>A-18:C>A	nnxnp	168	Contig10	TGCAGTAACTCATATGAGCGTGGCTGTATAGACTTCAAACATGGCTAGTGCTACGCTAAGCAC
100504370 F 0-16:C>T-16:C>T	lmxll	169	Contig329	TGCAGTTCAACGGCCTACGGGAGTCTGCCGAGGATGAAAGCCTGCGCGCTGCCACCTCGACG
100503891 F 0-28:A>G-28:A>G	nnxnp	171	Contig10	TGCAGTACAGTTGAGGAGGAGCGCTGCGCGCCGCCGAGCAGCGCCG
100498502 F 0-43:C>T-43:C>T	nnxnp	171	Contig10	TGCAGTTACATGTAATTTAGCTCCTCCGATGTGCGCACCCTGCGCCTAAGCGTAGATCAGGTCCG
100459418 F 0-21:A>G-21:A>G	lmxll	172	Contig10	TGCAGTTCTGTGTTCTCGTGTGTCAGGCGGATGAGCGCCGCTGCCG
100503891 F 0-25:G>A-25:G>A	nnxnp	172	#N/A	TGCAGTACAGTTGAGGAGGAGCGCATACGCTCCCTGAGAGGAGCCGCG
100472053 F 0-7:C>G-7:C>G	nnxnp	172	Contig10	TGCAGTTGAGGAGGAGACCAAGCAGCTCCAGCAGCAGGAGGCCAGCAATGGCACTGATCTCG
100503894 F 0-37:A>G-37:A>G	nnxnp	173	Contig10	TGCAGTACAGTTGAGGAGGAGCGCTGCGCGCCGCCGAGCAGCGCCG
100455898 F 0-18:A>G-18:A>G	nnxnp	175	#N/A	TGCAGTCAACAACATCGATAGATGAGAGCAACATCAGCATAATATTTTACTGAGTTTACATGTA
100488466 F 0-8:A>G-8:A>G	lmxll	175	Contig10	TGCAGATGTCAGCGCGCCGCCCATGGGCTCACCCACCAGTCCGCCGAGCGCTGGAGCAGGCA
100488468 F 0-37:C>G-37:C>G	lmxll	175	Contig10	TGCAGATGTCAGCGCGCCGCCCATGGGCTCACCCAGCAGCAGGAGCAGGAGCAGGCA
100442798 F 0-67:G>C-67:G>C	lmxll	183	Contig10	TGCAGTATTGGATCAGTGCATACCCACTTGGAGTAGTAGGCACTTGTCAAACAATAAGGCGTGTCT
100143499 F 0-65:T>C-65:T>C	nnxnp	183	Contig10	TGCAGGAATGATTGGAAGCGTTTTCAGGCGCAATACGGCAGATTGACAGGTGAGTACAGTACAGCA
100458994 F 0-45:G>A-45:G>A	lmxll	184	Contig10	TGCAGGCCACCGCAACTCCTGTTGCGCCAGTGGTGTACTGAGGGAACGTGAAGAATCCG
100470426 F 0-61:G>T-61:G>T	lmxll	187	Contig10	TGCAGGCGGACCTCGCGGGGCGGTGGCCGCGGCCGAGCGGGGGTACTACCGCGCTGTTG
100467481 F 0-19:C>T-19:C>T	lmxll	190	Contig10	TGCAGTCAAGCTCGTCATATAAAGCTGCTAAAAGGCATAGACAGGCCG
100434629 F 0-43:A>T-43:A>T	nnxnp	191	Contig10	TGCAGTTCTGTCTCAAATGCCACCGAAGCTCAAAGGTTGACTAAGTTTCGACAAGCACTACCGAG
100506432 F 0-33:A>G-33:A>G	lmxll	194	Contig10	TGCAGTTGCTGTCTCCAGTGGCCGAGGCGGAGGAGCAGTGGTTCAAGCAGCACCAGATC
100417705 F 0-19:A>G-19:A>G	nnxnp	194	Contig10	TGCAGTAGATAAAGAAGGATCAAAATGGTTTCAGAGTAGAAAAAGGGAGATGTCATGCTTGGATA
100451816 F 0-64:A>G-64:A>G	nnxnp	198	Contig10	TGCAGACAATTTGATTGATTGGAAACATGCTGTCATCTCTTGTTTATTAGATTTAGAACT
100417698 F 0-58:C>T-58:C>T	lmxll	200	Contig10	TGCAGTAGAAACAATCAACATCTGGTACTGGTAGCACTAACCCAGTTATCTGTCTGACCACTGCC
100418946 F 0-34:C>T-34:C>T	nnxnp	203	Contig10	TGCAGTGGCGCGCGGATGGTCTTAGAGCAAGCTCAACCGTTGACTAGAGCAATGCCTGTCAGCTT
100481928 F 0-23:C>A-23:C>A	nnxnp	203	Contig10	TGCAGTTTAGAAAATGATTAACCTCTGTGTTTCAGTAGTCTTCCAGGTTACAACCAATCGAACCC
100446540 F 0-29:T>C-29:T>C	lmxll	204	Contig10	TGCAGTTAGAAATGCACATGCGTATTCTTACATGTTGTAGCCACTGCTAATAAGAGATCAGTGTCC
100411887 F 0-47:A>C-47:A>C	nnxnp	206	Contig10	TGCAGTAGGAAGGATCGATCGAGCGCTGCTGCGAGATTGTCAGCTGTTGCAGAGACTGTCAGTAA
100408061 F 0-15:T>A-15:T>A	nnxnp	210	#N/A	TGCAGTCGGAAGATAACCTCACATGTCG
100482089 F 0-50:G>A-50:G>A	nnxnp	214	Contig10	TGCAGTCTGGTGCATGACGCTGGGTCTCTCAAGCATCAGACGGCTACGTCATGACCCGAGAT
100481164 F 0-58:G>A-58:G>A	lmxll	214	Contig10	TGCAGTCTGGTGCATGACGCTGGGTCTCTCAAGCATCAGACGGCTACGTCATGACCCGAGAT

100473324 F 0-31:C>T-31:C>T	lmxll	215	Contig10	TGCAGCTGATCGTGGAGAACGGGATCGTCGATGGCGAGGACCTGCGCGAGATGCTCCG
100297211 F 0-56:C>T-56:C>T	lmxll	218	Contig10	TGCAGGCAGGGTAGACGCATCGGTGGGTGACCTGAGCCTTCGGCAGTACTCAGAGCTAGTTTGCCATCA
100460314 F 0-12:A>C-12:A>C	nnxnp	218	Contig10	TGCAGTTTCGCGCCCGATGGTTTGCCGATCCGCATGAGCTTTTGCCTCATGGCGGCCACCTTCCCTT
100428346 F 0-10:C>G-10:C>G	lmxll	222	Contig10	TGCAGATGCTGAGGGGACGCGAGGACGTGTCTGGAGAGATGGCGTCTGGTGGAGGGCCTGGGCACC G
100188650 F 0-17:T>G-17:T>G	nnxnp	227	#N/A	TGCAGCACGCGCGTTTCGAACGAGCTTGGCTCCG
100441708 F 0-43:G>A-43:G>A	lmxll	229	Contig10	TGCAGCACTGGCGATTGCACITGGGAGCCATTGACGCATGCAATCCTTATTTCGACCAGAACTGTAT
100404479 F 0-21:G>A-21:G>A	nnxnp	229	Contig649	TGCAGATGATGGTATCGCCACACCCAGCAGCAAGCGTCCGGGGCGCCG
100386509 F 0-21:A>G-21:A>G	nnxnp	232	Contig10	TGCAGTCTGCTCGCTTCTCGAGCTGTACGCCACCGACCG
100381866 F 0-30:T>G-30:T>G	lmxll	234	Contig10	TGCAGATCGAAAAGCAGAAAGTACCACCACGGCACGCTGGCCGCCG
100434704 F 0-48:C>T-48:C>T	nnxnp	238	Contig10	TGCAGTTGAGCATAGACCAGATGTGAAACAGCAATGCCTGGACGCGTACTCACCAGCCGCTCGACC
100405245 F 0-8:G>A-8:G>A	lmxll	239	#N/A	TGCAGCCAACGTACCCTGCACTGATTCCG
100464217 F 0-20:A>C-20:A>C	nnxnp	240	Contig717	TGCAGTCAGGACACGACCGTCTCACCGTTTCAAATCATAAAGGCCGAATTGCACAGCAAGCAGGCC
100479940 F 0-6:T>C-6:T>C	lmxll	243	Contig10	TGCAGACTGGTGTGTTGAGGTTTCCATCGGCAAAAGTGGAACATCTGACGCGCGGCTGCATCGGACCACGA
100453785 F 0-21:T>C-21:T>C	nnxnp	247	Contig10	TGCAGTACTGGGGTACGGGCTCATGTACCACGCTCGGGGACCTCAACTGGACGGCCCTCCGAGA
100455712 F 0-56:G>A-56:G>A	nnxnp	259	Contig10	TGCAGTACTAATTAATCAACAATACTGGTTTTTATCCGTAGTGATCTTGTGAATAAGAAGGATATGA
100330706 F 0-46:C>A-46:C>A	nnxnp	289	Contig411	TGCAGACGAAGCATGTTTGTATGAAAAGGAAATTTGGCCCTGTTTAGACAAGTTTCTGTGAATGGGAT
100187123 F 0-11:A>T-11:A>T	nnxnp	305	Contig343	TGCAGACCAAGTATTGGACAGTGTATTGAGTAATTATGAAGCCG
100452585 F 0-50:T>G-50:T>G	nnxnp	331	Contig10	TGCAGATCTGATCGACCGCTCGGGATCCTTCCCTCCGTTGCACGGCAAGGCTCCTCTCCCTGTCTTC



**Tabla S3.** GL3 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg	Posición	Sintenia	Secuencia
100440229 F 0-38:A>G-38:A>G	lmxll	0	Contig3	TGCAGAAATGTGCAGATGACTTGTTCAGATCAACCTGGGGTCAGGGGATGCGCTCGTCTGAGCCACGAG
100498956 F 0-6:T>C-6:T>C	lmxll	8	Contig3	TGCAGACCCTGTCGAAAGGCGTCTCATCTTGCCTGACATACTCGCAACTCCG
100384523 F 0-41:T>A-41:T>A	lmxll	10	Contig3	TGCAGCTTCTGTTCTTAGCCCTCTTCTAGCGTCTCTTTCATGTCTCCG
100411595 F 0-53:G>C-53:G>C	lmxll	10	Contig3	TGCAGATCATACGCTGTATTGCATCAAAGGGAGAAGTGCAGGCTCGGATGACAAAGCTTCAAGTGACA
100482063 F 0-31:T>C-31:T>C	lmxll	11	Contig3	TGCAGTGGACATTAGCAACAAATGTCGTAGCGTGCAGCAGCTCGGTCAGAGAACTACAGTGTCTGTCTA
100483282 F 0-9:G>C-9:G>C	hkxhk	11	#N/A	TGCAGCTCCACATGCGGAGCAGGAGGCCCG
100461919 F 0-24:C>T-24:C>T	lmxll	26	Contig3	TGCAGCAGCCAAAGCTCCCAAAGTCAATGCCGTCTGGCTCTGGGCACAGCGCTGCATCGTATCCG
100503500 F 0-67:G>T-67:G>T	lmxll	27	Contig3	TGCAGTCCGACTGCGAGTGCAGCAACCGCGGAGTCCGCCGCGGATTCCACCGCCGCTGCCTTTGTC
100439040 F 0-6:T>G-6:T>G	lmxll	30	Contig3	TGCAGTGCCTGTGGAATGGAATCACATGGCTGCACCCGTTGCCACCG
100459402 F 0-53:G>A-53:G>A	lmxll	32	Contig3	TGCAGGTTCCCTTCAATGCACATTAAGCATCCAGATGTCATTTTCAGCATAAAGCTCCG
100363590 F 0-63:C>T-63:C>T	lmxll	36	Contig230	TGCAGAAGGGAGAACACAGCTGCGGGGACGATGCCCTTTCATGCTGGGTGCAGGACGTTCTGTTGTGGC
100439188 F 0-20:T>C-20:T>C	lmxll	43	Contig3	TGCAGTTTAAACTGTGTCTTCTTCAATTAACCCCG
100485550 F 0-23:T>C-23:T>C	nnxnp	43	Contig25	TGCAGTAACTTTCATTGTCATAGCTTATCTGTGTGCTGTGCATGAAAGCTTCCATGCATC
100408075 F 0-5:T>C-5:T>C	nnxnp	47	Contig3	TGCAGCCGTTGACTTCATGGAGGAGAAGCTCCG
100424718 F 0-14:G>A-14:G>A	lmxll	50	Contig3	TGCAGGTTGAGCTGCAGGCGGAGCTTGTGAGGAACGTGACCACGTACCCG
100497356 F 0-53:C>A-53:C>A	nnxnp	56	Contig3	TGCAGAAGTAGCTCAAGCCGACGCGCTCCGAGTGCAGGCGAAAGGCCAGCACATTGCTGTGCGCTGC
100354786 F 0-21:T>A-21:T>A	lmxll	57	#N/A	TGCAGCAGCGGACACGGACCATGTGCGCCG
100499585 F 0-16:A>G-16:A>G	nnxnp	65	Contig3	TGCAGCAGGGAAGCAGTGTCTCGATGACTTGTCTGTCGCGTAATAGTTGTCCGAGGCACTCCTTT
100422161 F 0-32:G>T-32:G>T	nnxnp	68	Contig3	TGCAGATGCTACCAAACGAAACGCCCAATTACTATGCTCGCCG
100383416 F 0-5:T>C-5:T>C	lmxll	69	#N/A	TGCAGCTACGATAGAGGCGCAAGCATGAGGAAGGCCG
100355538 F 0-6:T>C-6:T>C	lmxll	71	Contig3	TGCAGCTTACGATTAGCAGCAAGAAGCTGTGCTCCG
100366091 F 0-64:C>T-64:C>T	nnxnp	72	Contig22	TGCAGATTGAGTGCAGTGCACCCCTAGCATGTGCTGTACTGTCAGTAGTACTGAACTACTA
100499150 F 0-39:G>C-39:G>C	nnxnp	75	Contig3	TGCAGGCCACAGAGATGTATGTGCCCGCGCGGTTGTTGATGTTGTTGAGCACAACCCG
100436156 F 0-11:G>T-11:G>T	lmxll	75	Contig3	TGCAGAGAACTGCGCCCTTACGTAGAGCGGAGCTGAAAGGAGTGAAGGCCG
100481321 F 0-7:C>G-7:C>G	nnxnp	77	Contig3	TGCAGTGGAGATAACATGCCACGCGAGCCGATCTGCTCTCCAGCACGCTGCATGGCCGTGCAGT
100469351 F 0-41:C>T-41:C>T	lmxll	81	Contig3	TGCAGCATAGAAAAGTACAAAATGGTATCTGCAGTAGACATGAAGAATCTACAGAAAACACAGAGCC
100446938 F 0-19:C>A-19:C>A	nnxnp	85	Contig3	TGCAGTGTCTTTATCCCACTTCTTTTCTTCTTCTTCCATTCATTTATGTGGTGAGATATTGAACATCG
100493263 F 0-7:C>A-7:C>A	lmxll	86	Contig3	TGCAGATAGTGGTCTTTGCTGCTCCCAAGGTCGATCATCCCTTCCACAACCATCCG
100452872 F 0-68:A>T-68:A>T	lmxll	90	Contig3	TGCAGATTGCAGAGGATCTCTACTGAATACAGTTACACAGGAATAAGAGCAGCGCAGTGCACCTCACGT
100451374 F 0-51:G>A-51:G>A	nnxnp	91	Contig3	TGCAGATTGAGCTGTGAGGCTGTTTGTGTTAAACGAATGCATGCACAAGGCTCTGTGAGCGT
100499704 F 0-17:C>A-17:C>A	lmxll	92	Contig792	TGCAGCTGCGACTTACACGACGCGCCCGCTGTCATGATGTCGCTCTGATGTCGCGGAGCCACGCGG
100499707 F 0-46:T>G-46:T>G	lmxll	92	Contig792	TGCAGCTGCGACTTACACGACGCGCCCGCTGTCATGATGTCGCGGCTGATCCCGGAGCCACGCGG
100404044 F 0-24:G>A-24:G>A	lmxll	95	#N/A	TGCAGACGTTAATGCGCCGAGAAAGACAGACACAACC
100391468 F 0-10:T>C-10:T>C	nnxnp	96	Contig3	TGCAGATGCCCCGCTGCTCTGCCCCGGGAGGCAACAGGTTGGTCTCCAGCGCAGCGCGGAAA
100291989 F 0-16:G>A-16:G>A	lmxll	96	Contig3	TGCAGCGAAAATGAAGATTCTATGAAGTATCTCCATCGATCTCTTTGGCTCGGATAATTATCTTTTT
100430058 F 0-5:C>T-5:C>T	nnxnp	101	Contig3	TGCAGTTAAACAATAGCCAAACAACAACAAGGCTAAACGCCCCACAACCCCGAGCGCCAGG
100480188 F 0-22:T>C-22:T>C	lmxll	104	Contig3	TGCAGATCATACGCTAAGCCAGCGGGTGAAGAACATGGGGGACGGTGGTTCAACGCTAGTACGGGCAA
100367697 F 0-31:G>A-31:G>A	nnxnp	107	Contig3	TGCAGCCACGGCGGCGCTTCTGCGCTGCAACCTGATGGCGGCTCCGATACGCGTGTGATCACGCT
100458322 F 0-16:T>A-16:T>A	lmxll	110	#N/A	TGCAGCAGGCTGACACTGACCCCGG
100450309 F 0-14:G>T-14:G>T	nnxnp	110	Contig3	TGCAGTAGCTACTTCTAGTAATCAGAAGCTTGCATACGACGCGG
100452987 F 0-34:G>C-34:G>C	nnxnp	111	Contig3	TGCAGCACAACAGCAGCAAGCAAGCTGGAGCTGCTGCTGCGAACACGACGCTTCCCGAGCTGGCTCT
100303466 F 0-18:T>A-18:T>A	nnxnp	112	Contig3	TGCAGTTACATTTGCGCATACATATCCACCTTGCACCTGACCAAGCATGGACTTTGGGCAGGAACC
100453369 F 0-15:A>T-15:A>T	nnxnp	113	Contig3	TGCAGCATGTGGATTTGTGAGTATGATGCAATGCACACTATGGTCACAGCTGTGGAATAAG
100441182 F 0-19:T>G-19:T>G	nnxnp	114	Contig3	TGCAGATGAGCAGACCGGAGGAGGATCCAGATCCAGAGGAGTCCGAAACAAGACACATTTGAGGA
100372872 F 0-11:A>T-11:A>T	nnxnp	128	Contig3	TGCAGGGAATTTTGCAGACTATGCTGATTTCTGTTTCAAGACCTTTGGAGACTGTGTAAGCACTGG
100129812 F 0-49:G>A-49:G>A	lmxll	133	Contig38	TGCAGCTGCCGCTGGACGTCGAATACAAGTATGATCTCAAAAATTTCAATGGCAAGGGGGGGCCGCG
100431258 F 0-28:T>G-28:T>G	lmxll	149	Contig3	TGCAGGCACGCTCTCGAAGTCGATGGGGGAGGTTGAAGAAGGGACAGGATGTAGCAGCCGAGATC
100441928 F 0-60:C>G-60:C>G	lmxll	155	Contig3	TGCAGCAGGTCGACCGATGGATGGATGGATGGACGCGCTGCGGGTTGAAATCAGTCGACCTGCAGAT
100480708 F 0-5:T>C-5:T>C	lmxll	159	Contig3	TGCAGCGCCACAACCTCCGTAAGAGGCCACAGCAGGCTGTCGAAGCCCGCGCGCGAACCAGAGA
100488358 F 0-34:C>T-34:C>T	lmxll	163	Contig761	TGCAGAGCAAGTGTGGTTGATCCGTTCCAATTTGATGGAGCAGCAGCTTCTGTCGAACCCAGGGCGG
100425389 F 0-52:G>C-52:G>C	lmxll	168	#N/A	TGCAGTGCCAGAATGATGTCGTGATGCGGGAAGAGCGTCTCCACTTTTGTCAACCCG
100419876 F 0-27:C>T-27:C>T	lmxll	172	#N/A	TGCAGTTTTCAGAACTTGGAAATTTTGGCATTGGTTGTGTTCTGTCATAAGCAAAAACAGATAATC
100430585 F 0-9:G>C-9:G>C	lmxll	176	Contig3	TGCAGCTGTCAAAGCAGGTGACACTCTTTCAGCAGCAAAAAGGAGGCTTTGACTTCCACAGATTTGCTTCT
100441990 F 0-57:A>C-57:A>C	lmxll	179	Contig3	TGCAGATCCGTCGACGACTGTTTGGGACCGTCTTATCGTCTTCCCTCCCTGGCTGCTG
100501873 F 0-5:C>A-5:C>A	lmxll	182	Contig3	TGCAGAACATCTGCGGGGAGGGGCTGATCCGATCGAGATGCCAGATGCGTGTGATGATCC
100406891 F 0-6:C>G-6:C>G	lmxll	184	#N/A	TGCAGGGCAAACGATCTACGACGCCG
100415703 F 0-30:A>G-30:A>G	lmxll	186	Contig3	TGCAGGCAACCCCTTGGTTTCTTGTGCAGATCGGACGCGCCACGTAATTAACCAAGTGCAGGAGAT
100392457 F 0-11:C>T-11:C>T	lmxll	192	Contig3	TGCAGCAGCGATGACGACGACAGCGGCGCTGCGACCCAGCGCTAGACGAAGCAGGAGCGCGG
100471267 F 0-39:A>G-39:A>G	lmxll	198	Contig3	TGCAGTCACTGACTGCTCGGTTCTCATCTCAAAGTCAACTTTGTCACCAAGTTTCAACGGGT
100464974 F 0-49:C>A-49:C>A	lmxll	199	Contig3	TGCAGTTCACCTTTCGAGCTACTTGTCTTGTATAGCATGATATTAGAAGACACGGATCGTGT
100499801 F 0-8:C>A-8:C>A	lmxll	200	Contig3	TGCAGGCAACGACGCGCCACAGCTGTGTCGCGCAGCTGTTGTCGACTGCGGTCCGCGCTATGTCGCGCGG
100482160 F 0-16:C>T-16:C>T	lmxll	206	Contig3	TGCAGTTAACAATTTGCTGTCACAAGCAGTATGTTCTGTTCCCAACGCGGAGAGCTAGCAGA
100219090 F 0-38:G>T-38:G>T	lmxll	218	Contig3	TGCAGCCTTGACCTTACCAGCAGTGTATGCTACTGATGCTTAAACAGTGTGCTGTTACTATTG
100469711 F 0-30:G>A-30:G>A	lmxll	228	Contig3	TGCAGCTACAGGACATCAGGTTGCCATGACCTCCGTTGGAGGAGACAGGTTGAGGAATGTCAA

**Tabla S4.** GL4 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100125284 F 0-34:T>C-34:T>C	nnxnp	0	Contig3	TGCAGCCCCTCACCGATCAGCTTCCAGCTGCTTCGAATGTTGGCAGGATTGCTTCGGATTATTTTT
100507023 F 0-15:G>A-15:G>A	nnxnp	22	Contig3	TGCAGCAAATGGGGCAACTGCATCGATCGCGTCTCATGGAGACGACAACCG
100474319 F 0-20:G>A-20:G>A	nnxnp	24	#N/A	TGCAGTAGAGATGAAAAAGGAGAGATAAGGTTGAGTGAGGAAAGACACTGACAAAAAGGCCACAAAA A
100507024 F 0-23:T>C-23:T>C	nnxnp	26	Contig3	TGCAGCAAATGGGGCAACTGCATCGATCGCGTCTCATGGAGACGACAACCG
100450309 F 0-35:G>A-35:G>A	nnxnp	26	Contig3	TGCAGTAGCTACTAGTAGTAATCAGAAGCTTGACACATACGCAGCCG
100385036 F 0-12:C>A-12:C>A	nnxnp	29	#N/A	TGCAGGCAACGGAGCGTACCCTCGACCACCCTCTCCG
100408067 F 0-46:C>A-46:C>A	nnxnp	32	Contig3	TGCAGTCGGTCTCCTGCTCCTCCGCTCTTTCCCTGCCACCAGCAGCCG
100374307 F 0-40:T>A-40:T>A	nnxnp	37	#N/A	TGCAGTAAAGGATGCATGTATGATGGCGGTGTGATCTCCACATTCGGATTTCATCAAGCGATGGCAC
100487705 F 0-23:C>G-23:C>G	nnxnp	38	Contig686	TGCAGGTTTTCGATCAATAATTTGGAATCAAGCCGAAAAATGCTGCTCCG
100484907 F 0-48:T>C-48:T>C	nnxnp	42	Contig3	TGCAGCTGAGGAATCTCCTGGGGTACTTCGAAACATGATGTGTACACGGTGCAGAATACTCGGTAA
100446309 F 0-64:A>G-64:A>G	nnxnp	45	Contig3	TGCAGTGGAACTCTGAGTACTGTAATAAAAAATGGGAAGAAAAAGTAAAGGGATGTTGAGAGA G
100492755 F 0-40:A>G-40:A>G	nnxnp	51	Contig3	TGCAGTGAAGCGAGCCAAAAGCAGAGCTATCTATAGGAGGAGGTTTCAGCTCTGATGTCGCCACTTG
100264882 F 0-22:G>T-22:G>T	nnxnp	58	#N/A	TGCAGAAGGGGAAGAGCAAGCGTGGTGTGCCG
100503458 F 0-22:G>A-22:G>A	lmxll	82	Contig3	TGCAGTGGTTTTCTTCTTACAATAGGGGCAAGAACAAAGGGGGGAAAAAGTAAATGCTTCCCGTCCG
100463130 F 0-21:A>C-21:A>C	nnxnp	86	Contig3	TGCAGGCAACAAGTTTTCAGTGCAATCATAGGGGATCAGCCACCAGAACCTAACAAAATAAACTGCTT
100480186 F 0-40:G>A-40:G>A	lmxll	88	Contig3	TGCAGATCATACTGTAAGCCAGCGGTTGAAGAATGCGGAAAGCGTTGGTTCACGCTAGTACGGGCAA
100469865 F 0-5:T>C-5:T>C	lmxll	93	Contig3	TGCAGCTGCTTCTCGGCTGTGCTGAAGAGTGCAGCCTGGATGCACCTCTGCCGCGCATGCTCGGA
100317914 F 0-37:A>G-37:A>G	nnxnp	98	Contig3	TGCAGCATCCAGCAATTTGAAACATACCATACTGGGTATATCCG
100438782 F 0-22:T>C-22:T>C	lmxll	99	Contig3	TGCAGTGAAGAACTCGAGCGTCCGCCGAGAATCGGCAGGCCCTCGACCCCG
100456959 F 0-20:A>G-20:A>G	lmxll	100	Contig3	TGCAGTTGATCATGAGAAGGGAGTAGCCAATGGCTAACAGCTGAAGCTGCTGATAGGCATAGCTATGCCT
100480450 F 0-34:A>C-34:A>C	lmxll	101	Contig3	TGCAGCAGAAGCGCAACAGAGTATAAACACACACGCGGGGAGGAGATCCAAAGCGGCACGCGGAGTC C
100372522 F 0-45:G>T-45:G>T	lmxll	102	Contig3	TGCAGGCGGTGCCCGTCTGATGAGTGATGAAGTGTACGATCATTACGCTGTTGCTTTGATGAACCG
100457895 F 0-28:T>C-28:T>C	lmxll	107	Contig189	TGCAGACTCCCTGTCTCTGCTTCCCTCACTTCTCTGCCG
100434468 F 0-40:G>A-40:G>A	lmxll	107	Contig3	TGCAGTCAAACAAAAAACACTCCCTGGTTCAGGGTTCGAAATTCAGCGCATGTATGGGGCGGCTT
100222586 F 0-66:C>G-66:C>G	nnxnp	108	Contig3	TGCAGAGGAGATCTCTCCATGGTGCTGACCAAGATGAGGGAGATCGCCGAGGCCTACCTCAGCACGAG
100429718 F 0-5:C>T-5:C>T	lmxll	111	Contig3	TGCAGTGCATGATTCACGATTTTCTAACGTTCCAGTCTGAGTCTGCTGTGACATACCTTGAGAGAC
100271393 F 0-11:A>G-11:A>G	lmxll	117	#N/A	TGCAGGCGCGGAACATAGGGGACGAGGCCG
100470929 F 0-67:G>A-67:G>A	lmxll	121	Contig3	TGCAGGTTCTGCCATATCATGGTCCAGCACACGCCACGATGCTACCACCACCGCCTGACCAAAC
100345014 F 0-22:T>C-22:T>C	nnxnp	121	#N/A	TGCAGTGCAGAGACTCAGGACCCTAATTTGTTGATGTATAGGGCATAATATAGGCGCGCAGGCC
100353179 F 0-13:G>A-13:G>A	nnxnp	125	Contig3	TGCAGACAGTGAACACGACGAGGAGACATCACGGACATGCATGGAACAAGAATAAACCG
100491433 F 0-32:G>T-32:G>T	nnxnp	126	Contig3	TGCAGTCTGTTATCTGTCGCCGTGAGCGGCGCTTCTACTCGGCATAGTTATTTCTGCACTGATCACG
100477681 F 0-61:G>T-61:G>T	nnxnp	126	Contig3	TGCAGTTCACCGCTATCCTCACCTGCGTGAAGTCTGAGGATTGAGCTCCCGCGCCGCTTATCTCTCT
100496604 F 0-49:T>C-49:T>C	lmxll	127	Contig3	TGCAGTGATGCTAACCTGTTGACCATAAACTGCTGCTTCTTGGGAGCTGGTCTTTCTGCTTC
100342657 F 0-50:C>A-50:C>A	nnxnp	132	Contig3	TGCAGGTGCGTCTTACCACGACGCGGGGTACAGCGCCGCGGACACCCAGAGAAAGGCGCCGCGCC G
100377238 F 0-62:A>C-62:A>C	lmxll	135	Contig3	TGCAGTTCAACCCGCTGCTTAAATAAATACGTTTCGATTTCCCTCCAGCCTTCCCTGCCCCAGC
100398513 F 0-61:T>C-61:T>C	nnxnp	141	Contig3	TGCAGGTTAGCTGCGCTCGAACATCATTAAACAGGCTTGACATGTATCAGTAGCATCGCACATGAA
100470310 F 0-43:G>T-43:G>T	lmxll	141	Contig3	TGCAGGCATGTCGACCCGAATACTGGCGGAACGAGACAGGCACTGGATGCGGCTGTTGACACCTGGGCAA
100466640 F 0-6:G>T-6:G>T	lmxll	146	Contig3	TGCAGCTACTGCTACCTTCCCTCCGCGGAAATGTGGGTTCCAGC
100477422 F 0-7:T>C-7:T>C	lmxll	148	Contig3	TGCAGTGCACTGAGGTAGGGGATGTTTCCAGTGACGCCAGTAAATGCACCTCAGGGTGGCGTACAG
100445231 F 0-8:G>T-8:G>T	lmxll	153	Contig3	TGCAGTAATATCAGCACTGTGAGATCACACATTTGGTGTGACTGAAATGACTGATTTTGGGGGACT
100192588 F 0-18:C>T-18:C>T	nnxnp	154	#N/A	TGCAGGAGCTCCTCTCTCTCCATACCCCG
100499947 F 0-14:G>A-14:G>A	lmxll	155	Contig203	TGCAGTAGACTAGCATCATCCTTCCCTGTTTGTGAACTGTTGATATTTGAGCAGAGGAGCTCAT
100425286 F 0-30:G>A-30:G>A	lmxll	157	Contig3	TGCAGTCTGTTGATGTTTTTGCAACTGGAAGTATTATCTGAAACAACCG
100449884 F 0-8:G>T-8:G>T	lmxll	161	#N/A	TGCAGGCTGTAGCTCATCCTCTCTCTCCG
100492504 F 0-15:G>A-15:G>A	lmxll	164	Contig3	TGCAGTACGTGTACTAGTCCAATGGGAGGGAGAGGAGAACCCGAGCCTTGACAACAAGCAGTGCCCG
100337411 F 0-54:T>C-54:T>C	lmxll	167	Contig3	TGCAGTAAGATTTTGAATGCGTAGTAATAATAGATGCACTAGCTGTAATGCTTTTTCTCTTAA
100354118 F 0-26:G>T-26:G>T	nnxnp	168	#N/A	TGCAGATGTGAAACAGCGGCGGAAAGTCTCCCG
100415187 F 0-14:T>C-14:T>C	lmxll	169	Contig3	TGCAGCTTGGTTGCAATCTATCCCGCTTTACAGCTGGGAAGCAGCGCCAAATCCTCTGACGCTGA
100483751 F 0-45:C>G-45:C>G	nnxnp	172	Contig3	TGCAGTGTCTTCTGCTCTCTTGGAGCAAATGAGCAGCAGTACAGCATGCCCCG
100475071 F 0-9:G>A-9:G>A	lmxll	173	Contig3	TGCAGATGTATGCCAACCCTTGTGCCAGTAGGACACCAGGGCGGTGAGGAGCATTATGATCAGGC
100342290 F 0-23:T>C-23:T>C	nnxnp	178	Contig3	TGCAGGTCAGATCACTTTGTGCGCTGATGGCTTAGCTGTTGATACGAAAAAGGGCGTGGAAAGC
100485834 F 0-11:C>T-11:C>T	lmxll	182	Contig3	TGCAGTCTCATTCACTAGCTAGTGGCTACAAAATTTGATCGGCCTTTTACACGTTTAGCTTTCTT
100272525 F 0-13:C>T-13:C>T	lmxll	190	#N/A	TGCAGGTGGTCTTCTCTCCGCGCCG
100444887 F 0-49:G>A-49:G>A	lmxll	198	Contig3	TGCAGGTGCGGGTCCATCTTTGTGACAGATGTTTATGACTATTTAACAGAAGCCAAAGGAGTCTG
100471081 F 0-29:T>C-29:T>C	lmxll	206	Contig3	TGCAGTATATGATGTGACGAGCTACCCTGCCAGAGGGCTCATGCAATGCAGTGAACGCCACCAGTG
100483401 F 0-55:C>G-55:C>G	lmxll	211	Contig4	TGCAGGCGCGGCGCACACTAGCTGACGGCGCAATGCCGCTTTGTAACGAAAGGGGTGGCCG
100434371 F 0-46:C>T-46:C>T	hxhkh	223	Contig3	TGCAGTGTGTTCTCATTTATGCTGTGAACCGAGACAGGAAATGTTTAGGCTTCTGCTTGTGTAACC
100446283 F 0-42:G>A-42:G>A	lmxll	226	Contig3	TGCAGTGTGGTCTCTACTCTGAGCTGCTCGCTCAAGGACGCGCTCATCTATGCGCTGATAT

**Tabla S5.** GL5 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100496869 F 0-59:C>A-59:C>A	hkxhk	0	Contig8	TGCAGTCCGCATGTGCGCGGTTACGGCTCGGCCACAAATCAAAGATTAGCGCGTATTAAAGAACTGAT
100189579 F 0-9:C>A-9:C>A	nnxnp	23	#N/A	TGCAGCCCAGATCCGCTCGCTCGATCCG
100477704 F 0-31:C>G-31:C>G	nnxnp	25	Contig8	TGCAGTTCAGGGCTTCGAGCGGCTACTTGAGGCCATCTCGAGACGCAAGTGCACGCACAACCCAGTC
100471261 F 0-12:T>A-12:T>A	nnxnp	28	Contig8	TGCAGTCAAACAAGGACAGCGGGAAAGGGAACCTGAGGATGAGCACCGAGGACGTCATCGAGGAGTGC A
100450760 F 0-27:G>A-27:G>A	nnxnp	38	Contig8	TGCAGTTAAGTTGCCATTCACCTGGAATAACAAAGTCAATGTGCATGGTAGTCCCCCG
100344139 F 0-56:G>C-56:G>C	nnxnp	41	#N/A	TGCAGTCATGACGCAACAGTACATCAAGATTTCCGCATTGGAACCGAGCAAACCTCGTAGGAGTATGT
100454552 F 0-9:G>A-9:G>A	nnxnp	43	Contig8	TGCAGGCAAATCGTCGCACTCAGAACTTACTACTCAATCTAATCCAATCTAATCTAGTGTACAAATAG
100443812 F 0-25:G>A-25:G>A	nnxnp	46	Contig8	TGCAGGCACACGGCGCGTGACGGCAAGGCACCACCTCGTCCACTCGTGCGCCGCTCCTAACCGAGATCG
100134488 F 0-54:G>A-54:G>A	nnxnp	72	Contig8	TGCAGGGCGCTGTACCACGGTGACGTAAGCTTGAGCGCATGAGGCTCGGACAGCAAGTCAACCACAGCG
100438840 F 0-36:G>A-36:G>A	hkxhk	95	Contig8	TGCAGTGCCTGAGGGGGCGGGGAGGTGGTACCTGGAAGGCGCCCGC
100468293 F 0-27:T>C-27:T>C	lmxll	95	Contig8	TGCAGAAGACAGAATTAATAGACTATACGACAGGCATAAACTGACAGGCTGACTGAGATACCAAGAAGG
100470760 F 0-38:C>T-38:C>T	lmxll	101	Contig396	TGCAGGTGCCTGCGTGAGAGTTGAGACGCAGGTCAGCCTGTGCTGGTGCAGGTATCGGTTCCGAGATCG
100495792 F 0-54:G>A-54:G>A	lmxll	104	Contig396	TGCAGTTCGCTTGATTGGCAGCGGAGCGTGAGGTCATCCGCTGTGCATCAACCG
100448158 F 0-43:G>T-43:G>T	lmxll	111	Contig8	TGCAGACCGAACAATTGGCGCCTCATGTCCATCGTTTCAAGATTTGGCATTCCG
100491064 F 0-23:G>T-23:G>T	lmxll	116	Contig8	TGCAGTCCGTGGCGCCAGGAATATGCTCCCAGGAACGCGCCG
100507945 F 0-31:A>C-31:A>C	lmxll	122	Contig8	TGCAGATCTTGCACTGATGAGCGGCGGAGCTCTTATGCGGGAGGACCTTGTCTCACGGACGGGCA
100448533 F 0-18:G>A-18:G>A	lmxll	129	#N/A	TGCAGATGTTTACGCGCAGGCGTGGGGCCG
100445107 F 0-10:A>C-10:A>C	lmxll	140	Contig98	TGCAGGTTGCCGTGCACTATCTTAAAGTTATGGAAGATTGCAAAGGACCCAATTGTTCCAAGCCAGTT
100445767 F 0-17:C>G-17:C>G	lmxll	146	Contig8	TGCAGTCGATGGAGCTGGTATTATAATCCCCTGAAACTGACCTGTAGTCTCTGTTGCTCCGAAGCTG

**Tabla S6.** GL6 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100460528	F 0-49:C>G-49:C>G	0	Contig12	TGCAGAAGCAGACCTAAACGCTGTGATGTCGCTGTGCATGGAAGGACGGGGCGATCAGCTCGGCATACG
100406030	F 0-11:G>A-11:G>A	6	Contig12	TGCAGCTAGCGATAATAAAGCATAACAATCAATGTCGCGCGGGCGCTCCG
100375168	F 0-31:C>A-31:C>A	13	#N/A	TGCAGTCCCTGGTCGCGCACCTGTGGCAACGACGTATGGTCGCCGAGCCGAGGCGCTCGATCGCCGCG
100425732	F 0-47:G>T-47:G>T	17	Contig12	TGCAGTTGGCCCATCTGATCGATTCCTCTTGTATAAATACGTCACTCCG
100138488	F 0-48:A>T-48:A>T	17	Contig12	TGCAGTGGATGAAGATTCGTGACTAGCAGCTGGTAGCATTGATGAAATGTCAATATGCAAGGAACAG
100412189	F 0-27:T>C-27:T>C	20	Contig12	TGCAGCAACAGTAGAAAAGCTCTCCGCGTAGAACTCCGTGTCGCCACAGCCTGACCTCCCTTTCTTT
100383748	F 0-32:C>T-32:C>T	23	Contig544	TGCAGCGGCGCCCGGAGGAGCTTCGTGCTTACGCTGGAGCCG
100223323	F 0-9:T>A-9:T>A	28	Contig12	TGCAGTCAAATTAATATAGCAGTCAGGCCATTTTGTCTGAAGTGTCTCAGAAACAGCACCCATA
100264663	F 0-30:G>A-30:G>A	31	Contig12	TGCAGAAATACTCAGATGATGAACGTGTACATACCG
100427587	F 0-32:A>C-32:A>C	39	Contig1048	TGCAGAGAATAACAGAAATGTACGGGCTGCCAAGAACGGGAAATCGAGAGTTTTGGAAGTACGG
100120826	F 0-47:T>C-47:T>C	43	Contig12	TGCAGAGTCTCTCAGCTGCCTCCAGGACACCATCGACGCTGCTCCCAACTCGTAACCTTGCATTG
100395745	F 0-65:C>T-65:C>T	47	Contig12	TGCAGCTTTCCAGATGAACGATCCAGTAACTCGGAGGAAACGGGAGAGGGATAGCCGCGCAATGGG
100386291	F 0-20:G>A-20:G>A	55	#N/A	TGCAGTACTGCAGCGGCAAAACATGGCCG
100406240	F 0-8:T>C-8:T>C	61	#N/A	TGCAGCTCAGTGGAAGCTCCG
100124593	F 0-57:T>A-57:T>A	66	Contig12	TGCAGCATTGCAAAATCGAGGAAAAAGTTAGACGACATTGCAGTGAGGTCCATGAAAATGGAGTGGG
100453838	F 0-22:A>G-22:A>G	72	Contig12	TGCAGCTCAAGATTCCTTCTGTACTGTGCAAGATACTTCCGCGCTGGAGCTTGCAGCAGACAGC
100461107	F 0-9:G>A-9:G>A	78	Contig12	TGCAGATAGAATGAGGGGACGATCATCTTTGCCATCTGGAGTAAGAGTAGACAGAAGGCACGTCCAC
100448478	F 0-45:T>C-45:T>C	81	#N/A	TGCAGATGCAAAATACACATGTGACTACAACAAGTGTAGTGGACCCG
100441125	F 0-67:C>T-67:C>T	81	Contig12	TGCAGATCTCGAAGCCGAGGAAGACGCGCTGGCGTTCGAGGTCGAAAGTGAAGCGGTGTCGACCTGTG
100467510	F 0-40:T>A-40:T>A	84	Contig12	TGCAGTCTGCACTAACCTTTGATGGCTTTCGAGCTGATATGCCG
100399875	F 0-66:A>C-66:A>C	84	Contig12	TGCAGTGAAGGATCTCACGCTGGCTGGTACCGATGATGGCAATGCGATCGAGGAGCAGCGGAACTCTG
100488661	F 0-30:A>C-30:A>C	85	Contig12	TGCAGTTGTACTCATCTTGGAGCAGCTTGGCGAGCTTGGGAAAGGAGCCTGCCAGGGCACCCGTGGCG
100505979	F 0-34:A>C-34:A>C	86	Contig12	TGCAGTTGAGTGGGACACATGGAATTATGACCACACCATATGCCCGCACCATATAATGAGTCCGAGA
100353899	F 0-20:T>C-20:T>C	87	#N/A	TGCAGATCCCTCGCCCTGGCCCTCATCCG
100460424	F 0-18:C>A-18:C>A	87	Contig12	TGCAGAACACCAGCGAGAGCAAGCTCGTCTCTGCCAGTAAGATACCGAGAGTGGGTGCCAG
100485197	F 0-22:G>T-22:G>T	88	Contig12	TGCAGGCGACGGGGAAGGAGGCTCGGGCCTGTACAACGTCGGCAAGCGGAGGGGCTGACAATGTGG T
100408707	F 0-15:G>T-15:G>T	89	Contig565	TGCAGTTTGTGAAATTCCTCGGCAGCTGCTTTTTCCATCCTGCATACATTCCG
100473776	F 0-25:A>G-25:A>G	91	Contig565	TGCAGTACCAGCAATGATGTCGCGCAATTCAGGGTGTCCG
100497193	F 0-57:A>T-57:A>T	93	Contig12	TGCAGTTTTCCGCGTTTGCACTTGTGTTTACATCACTAATCTGTTGATTAAGCATCTTGTCAACTGCC
100464636	F 0-19:A>C-19:A>C	95	Contig12	TGCAGTGCAAGATCAACCCAGCGGGTATATGCCATGGCCCTGCGTTATCTCCACCCGAGATCG
100461194	F 0-33:A>G-33:A>G	100	Contig29	TGCAGATCAGTAAACAAAGACATGGCGAGTCTCAGTGGTTGAAACAAGTTCGCTACTGGCCTGTGCTCC
100470512	F 0-45:G>A-45:G>A	108	Contig12	TGCAGGCTGTTTTCTTGGAGGCGCACCATCCAGGACGAGCTCATCCATAACGGGAGGAGACCAGG
100417967	F 0-52:C>G-52:C>G	109	Contig12	TGCAGTCAACGAAACAGGCGCTCTGTTGCCCTGCAAGAAATCCCGATCCAGGAAGCCA
100407730	F 0-10:A>C-10:A>C	112	Contig1119	TGCAGTAAACGATGATCGGTGACACAGACGTGTCTGGATGACGTGAGTTCGCCG
100459262	F 0-9:T>A-9:T>A	117	#N/A	TGCAGGTCAACTGCTGTGTGCCCCG
100358516	F 0-29:T>G-29:T>G	121	Contig12	TGCAGGTCACTACACCGTTCCAAATGAGCAAAGCATACTAGTTATCCCG
100417800	F 0-33:G>C-33:G>C	125	Contig901	TGCAGTAGTAGCAGAAACGGTATCAACGCTCCACCATTGACCCCTGTCAAAATCGGCTTGCAGCA
100511029	F 0-36:G>C-36:G>C	133	Contig166	TGCAGTAGGGTCTTCTGTCACGCACTGTGGGTGGAACCAACATTGCAGGCTGTGGTGTGGGTGTGCC
100469425	F 0-55:G>A-55:G>A	136	Contig12	TGCAGCCAAAGTAGGACAATATGACCGTCAAAGCTTCGGCAACTGGATTCAATTAACCGTGAGAGGTTA
100445193	F 0-12:T>G-12:T>G	141	Contig713	TGCAGTAAAGATGACACCACCATGCTCAGCTCAAGCCTAGAGGAAAAGGACCAGCTGTTAAAAAAA
100357343	F 0-14:G>A-14:G>A	142	Contig340	TGCAGGAGAGGAAAGGAGACTACAGTGGCCG
100425016	F 0-8:C>G-8:C>G	147	Contig12	TGCAGTAGGGATGTGCACCCGCTGTGCTGTCTGCTCATCAATGCCG
100449240	F 0-24:G>T-24:G>T	150	Contig12	TGCAGTACGAGAAAATTTGAAAATGACAGCAGTACCGCTCCTCATGAAGGCCG
100459613	F 0-18:C>G-18:C>G	153	#N/A	TGCAGTCAGCGTCCGCGCCATCCGATCCGCCG
100488341	F 0-46:G>A-46:G>A	157	Contig144	TGCAGACGAGAGCATGCTGACGAACGCTATCTCAGACAACTATCATGCTGATCCCGAGATCGG
100487515	F 0-19:T>C-19:T>C	158	#N/A	TGCAGGCGAGCTTCAACGTCACCAGCGGGTCCG
100450813	F 0-23:G>C-23:G>C	158	Contig12	TGCAGTTCTCAGGCCGACGCCCTCAGGCGGACGCTCGGCGCATGGACGCGGAGGTTCCG
100479850	F 0-58:C>T-58:C>T	160	Contig12	TGCAGACTACCAGGAGGACAATACAGCTTTCGTACGATATCATCTTGTAGCTAGTTGGGATATGGT
100438431	F 0-13:C>T-13:C>T	169	Contig946	TGCAGGTTGCAGGTAGGCGGGCGTCAACAGGCCG
100463916	F 0-68:T>G-68:T>G	172	#N/A	TGCAGTACTACGACGACCATGACAGTACGAGGACTGTTGTCTATCTCTCTTTGTCAGTAAAG
100443483	F 0-10:G>A-10:G>A	172	Contig29	TGCAGGAAAGCAAAAGTTGGGGTCAACAGGCCG
100267343	F 0-9:A>G-9:A>G	173	#N/A	TGCAGCCAGCCGTTGGCAACCG
100285151	F 0-60:T>C-60:T>C	180	Contig38	TGCAGACAGGGATATTACGAAAGACGCTGAAAGTAAAAGGACCAACCTTATTCATCGAATGTC
100446767	F 0-26:T>C-26:T>C	188	Contig12	TGCAGTTCTCAGCAGCACCATCAACCGCAGTAATAAAATTTGGTGGAGGGGGGAGAGGATGTCGA
100403618	F 0-45:G>A-45:G>A	190	Contig1121	TGCAGAACCTGTCTCTCAAAATGCACCATGCAGATTGATTTAATGGTTCCTTCCG
100315632	F 0-16:G>T-16:G>T	200	#N/A	TGCAGAAAGCAAAAGTTGGGGTCAACAGGCCG
100427432	F 0-41:G>C-41:G>C	203	Contig12	TGCAGACGCGCTCGTTAACTGATGTACGCGCTCTGTTATCAGGCTTGGTGACGAAGCCGTTGA
100385090	F 0-10:T>G-10:T>G	207	Contig12	TGCAGTACGCGGAGAGGCGTGCATGAGGGTGTGGCTCACATCAAGGGAAGAACCCG
100322615	F 0-39:A>G-39:A>G	207	Contig12	TGCAGGTCTCTGCTATTTTTGCAGGATGCTGCGCGCAACCTCTCCG
100273583	F 0-8:G>A-8:G>A	210	#N/A	TGCAGTGTATGATGTTGGTGGCCAGCCG
100410800	F 0-64:G>A-64:G>A	211	#N/A	TGCAGACGGCAGCAGAGGGGAGCCGATGACGTGGGTGAAAGACAGTGTGTCAGCTGCGACCAACTCT
100476915	F 0-34:C>G-34:C>G	212	Contig12	TGCAGTACGAGAAAGCACCTCCCGCGCTGTCAGTACAGCCACAGCGGCAAGACCGTCTCCAGG
100409701	F 0-60:G>A-60:G>A	214	Contig655	TGCAGCCAAAGTAGGAGGCGGGGGTAACCTCAGATCAATGTTGTTGGATGGGAATGAGCAG
100455675	F 0-7:C>T-7:C>T	220	Contig1121	TGCAGTATGATCCGTCACGCAACGCTACACTGCTGAGCTCTGCATACTCCGCTTGGCAGCCGAGATC

100478180 F 0-8:A>G-8:A>G	hkxhk	220	Contig12	TGCAGCTCGAACTCAACCACCATGAGTGGCTCGTTGGGGGCTCGTCGGAGCAGGCAGATCTCCATCGGG
100439157 F 0-17:T>C-17:T>C	nnxnp	220	Contig12	TGCAGTTTGCTAAACTACAAATCCTATTGCATTGTGAGAATAAGGGACAAGCAAGCCG
100377222 F 0-41:G>A-41:G>A	nnxnp	233	Contig655	TGCAGTTTATATTCGGGACTACTAGTTGTTCTTGGTACATGAACITGTGTGGTCCAAATAGCCGAGATC
100303896 F 0-21:C>T-21:C>T	nnxnp	242	Contig901	TGCAGTTCTGCTTCTTTCTTCCTCTCTTTCTTGTGAGTTTTGGCTTGAGGTCCTCGAGGCGTCGT
100506599 F 0-10:T>A-10:T>A	nnxnp	246	Contig12	TGCAGTTTCCACTGACGGTCTTGAAGAAGCTGGACGGCGCAGAAGCTTGCCG
100495310 F 0-19:G>A-19:G>A	nnxnp	250	Contig12	TGCAGTTTGCCAGTGACAAACAACTCGCTTGCAACTACAGGCCACTAATCTCAGCGTTCGAGATCGG
100509387 F 0-68:T>C-68:T>C	nnxnp	258	Contig12	TGCAGGCACGCCGATCCGACGAGCTCGATGCGCAAGAGAATTCCTAACACTTCAATCAGTGTATCCGC
100504260 F 0-37:T>G-37:T>G	nnxnp	266	Contig12	TGCAGTATAAAGAATGGGCACGCAACAAGGATTCTGTCACTTTCACACCCAAACATGGAAGCTAGGCT
100223474 F 0-63:G>C-63:G>C	nnxnp	272	Contig12	TGCAGATCCAGCCCAGTGTGCTCTACAGCAATTGCATGGGCAATCTAATTAAGCTGGGACGCCGATC



**Tabla S8.** GL8 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100286886 F 0-48:G>C-48:G>C	lmxll	0	Contig30	TGCAGAGTGAATCAACAGGATATTGGAATCTCTGTTTGGAGTATTGACAAGTTGGGTTGGACGCCAC
100373543 F 0-37:G>T-37:G>T	lmxll	4	Contig30	TGCAGGTCGCCGCTAACGAGAAGCTCAGGGAGCTCATTGGCGACTCTCCGACGACACACTCGCGGTGA
100301648 F 0-10:T>C-10:T>C	lmxll	8	#N/A	TGCAGTCCCCGAAAAGGTAATAGTATCTGCTTTCAAGTTTCAACTGCTCGAGTTTTGTTCACTTGGT
100498550 F 0-8:C>T-8:C>T	hxhkh	8	Contig30	TGCAGTACTGTAGCTTAAGGAACAGTACGTTCCAGTCCAAGCGGAAAACAGATGCTTTCCACTGTCCGGAG
100330663 F 0-49:T>G-49:T>G	lmxll	13	Contig30	TGCAGACCGCCTTGATCGCACTCTACGGCTGAAGAGCTAGCGAGGCGAGGCGTTGTGTGAGAAGCCGAT
100283574 F 0-13:C>A-13:C>A	lmxll	21	Contig30	TGCAGAAAATTATAAAGGTAATTATGCGTGCACCTTCAGTATAATGAGAAAATTAACATATCATCACCGA
100459561 F 0-26:C>T-26:C>T	lmxll	24	Contig30	TGCAGTAGTGGCTCTCCGCCTCCGCTAGCGTCGAAACCCG
100448045 F 0-12:G>A-12:G>A	hxhkh	29	#N/A	TGCAGAACTGCACATGAGGAACTTAGAGTTCCCG
100499947 F 0-37:G>A-37:G>A	lmxll	35	Contig203	TGCAGTAGACTAGCGTATCACCTTCCCCTGTTTATGATAAACTGTTGATATTTTGTAGCAGAGGAGCTCAG
100474439 F 0-20:A>T-20:A>T	lmxll	37	Contig30	TGCAGAAAGCGCACTCGTCTGTGTCTCAGTCCATTCTGCTCGCCGCGCTTGCAGAGAGGATCCACTGGC
100434508 F 0-27:C>A-27:C>A	lmxll	38	#N/A	TGCAGTTCAGGGATGGCGGTGACCTCATCCCTCCCAACCTCAGTCTCCGTCTCCGTTCCCTGCGCC
100399006 F 0-13:A>G-13:A>G	lmxll	42	Contig30	TGCAGTAGCCAGCGCGTAACTATATCTTTCTCGGTTCTCTTCTTGAATGCGGGCAGGAAGCAG
100454298 F 0-48:A>T-48:A>T	lmxll	46	Contig30	TGCAGTTCTGATTGCGCTGAGAAGCTGACGGCTTTGTGCGCTCAAATCATTTCAGGTGGGACGGGAA
100471169 F 0-7:T>G-7:T>G	nnxnp	50	Contig30	TGCAGTAGATTTCTGTTACTAAAAGAACTAAAGAACATCAGTTCGTTATTTGAATGAAAAGGTG
100192291 F 0-17:A>G-17:A>G	lmxll	50	Contig493	TGCAGGACAAAGAGCGCGGCGCTGTGCCGAGTCGGCAACAGCCCCG
100405071 F 0-5:C>T-5:C>T	nnxnp	53	Contig30	TGCAGTAGTTATACTAATGGCGCATTCAGTCTCCG
100462235 F 0-49:G>T-49:G>T	lmxll	56	Contig30	TGCAGCCGAGACAGAACATAAAGATTGGGCTTGGGCTAACCGTTAGTATCACAGAAGGAGGCCCGCA
100484242 F 0-33:C>T-33:C>T	nnxnp	56	Contig30	TGCAGAGCTCAGTCTGTTCACCAACAGGGATTGATGCTCGCCGCTGTGAGGACACTGAAATTTTC
100410407 F 0-33:C>T-33:C>T	lmxll	58	#N/A	TGCAGATAAAGACGCTGACAGTCTTATTATGACTTTTTTTTACACGATGCTAATGAGAGAAAGGTAG
100316066 F 0-38:A>G-38:A>G	lmxll	59	Contig30	TGCAGACTATCATTTTCTGACAAATGGGTCAGAAAAGTAGCACCCG
100477322 F 0-45:A>G-45:A>G	lmxll	61	Contig30	TGCAGTCGTGTGATGAATTGACCAGTGTTCACCTGGATATATAGTCAAGTATACATGCTGTCTATCT
100410611 F 0-24:A>T-24:A>T	nnxnp	63	Contig30	TGCAGACATCCCAAAAGCTGAATCATCTTTGCAATTGCAATGGCGAGCTGCTTTGCGGAGGAAT
100468152 F 0-11:C>A-11:C>A	lmxll	66	Contig30	TGCAGCAGCAACTATGCTTACATATACAGGACATGATCCATCTCTGGAGAGTGATGATTGGACGGT
100398790 F 0-61:C>A-61:C>A	nnxnp	69	Contig30	TGCAGTACCCGCTACATCACGACGATGGTTAAACTCTGCTCCATCCAAAGCAAGCAACAAGTGG
100447012 F 0-51:A>C-51:A>C	lmxll	71	Contig30	TGCAGTTACTGTCCAGAGCAGGATAAGTTTACCTCTCGATTACAAGTTCACACTGTCACGCTGC
100341215 F 0-50:C>A-50:C>A	lmxll	75	Contig30	TGCAGGCTGCAACTTGAGCCATGCTAAAATGTTAGTTGAAAGACTAGGACAAAATATAACAGCCACA
100436413 F 0-36:C>T-36:C>T	lmxll	78	Contig30	TGCAGACTGTGGATCAGGGGAAAATAAAAAGGGTCCATGACCCG
100464309 F 0-26:G>A-26:G>A	lmxll	84	Contig30	TGCAGTCCAAAGCATCAGCGATGGCGAGGAGGCTCATCTCCCCGAGCACTGCTCTCTGCTCTGCTC
100497499 F 0-35:G>C-35:G>C	nnxnp	87	Contig30	TGCAGATGTACTCAACTGTCCAACAACATTTCCAAGGCCGATCCCCCG
100398997 F 0-46:C>G-46:C>G	lmxll	91	Contig884	TGCAGTAGCATCAACCGAGTGTACGTTTTTCGATTTGAGAAGCTTCAAGGCTGCTCCATGTCCGAGA
100464942 F 0-61:T>C-61:T>C	nnxnp	92	Contig30	TGCAGTACTGGACCTCGGCAACAACACGCTCCGCGGCGCATCCGAGGCGCTCTGCAACTGTCCGG
100300587 F 0-14:C>T-14:C>T	nnxnp	96	Contig30	TGCAGTAATCCCTTGCCTCAAGATCGAGTTTTTTTTCAGGATCTTGGCTCGGAATCTGTGTAAACCTC
100330331 F 0-10:A>G-10:A>G	lmxll	96	Contig30	TGCAGACAAAGATGCTTGGAGATTATGGCTCACTAGAGTTAGTTCTGATGGATCGTGGAGATTATA
100483554 F 0-54:G>A-54:G>A	nnxnp	101	Contig385	TGCAGGTGGGTTCCGATGCTTTCTGCTGGGGTGAACAAGAAGACGTACGAGCTATCCG
100455813 F 0-59:A>G-59:A>G	lmxll	101	Contig30	TGCAGTAGCTCTGAAAATTGGGCCAAACTAAACAATTTTCAACTGGCAATTTACACTTACGGCATGTTT
100186937 F 0-42:T>A-42:T>A	lmxll	106	Contig30	TGCAGAAAGGGAGAGAGGTTGGACGGGCTTAGTTGTCTCATCTGGGCCG
100494489 F 0-42:A>G-42:A>G	lmxll	109	Contig30	TGCAGGCATGGGTGGACATCAAAATTTTCATTTGTCTGTTATGTTTCCCTTCAATAGGCCGAGATCGG
100302618 F 0-63:C>T-63:C>T	nnxnp	109	Contig30	TGCAGTGCCAAAATGGATTTAACGAGGAGCAGCTACTTATCTTCTTCTGTGAGGAGATTGATC
100486559 F 0-32:C>T-32:C>T	nnxnp	110	Contig30	TGCAGTTTCTCGGGGTCTGCGCCACAGCGGTCGCGCAGCATGCGCAACAAGAAAAGGAGCGTTGAG
100505297 F 0-42:G>A-42:G>A	nnxnp	111	Contig30	TGCAGGTGATAGCTAGGAGGCGCTAGTCTGCTACGCGTGCACCCTGGGTGCTCCG
100324276 F 0-12:C>G-12:C>G	lmxll	111	#N/A	TGCAGATGACGAGATGCCACATCATGTGCCGCCG
100475844 F 0-50:C>G-50:C>G	lmxll	114	Contig566	TGCAGCTGAGAGAAAGCGAAGAGGACAGACCCGACGCTTCGTTCAAGCTGGCGTCTCGGCCATGTCG
100509607 F 0-23:G>A-23:G>A	nnxnp	116	Contig30	TGCAGATATCAATGAATGATCAATAAACCATGCCCTCAGGTGGCGTTTGTACAACAACAATAGGAGG
100509611 F 0-51:C>T-51:C>T	nnxnp	116	Contig30	TGCAGATATCAATGAATGATCAATAAACCATGCCCTCAGGTGGCGTTTGTACAACAACAATAGGAGG
100482456 F 0-37:G>T-37:G>T	lmxll	118	Contig146	TGCAGTTGATGTTCCAGTCTTGTCTATGAGTATGTTCCAAAACAAAACACTACAGTGTCTAATCCATT
100386988 F 0-26:G>T-26:G>T	nnxnp	120	Contig573	TGCAGTTCGGGTACATCGGGAGATTCTGTTTCCGTGAGCAAAACCCGATCCACCCG
100194936 F 0-13:T>C-13:T>C	nnxnp	124	#N/A	TGCAGTCTGATCCGAGAAGCTGGGAGTTTCAGACCCG
100386213 F 0-36:T>A-36:T>A	lmxll	126	Contig175	TGCAGTAACTACATTCTGAGCAAGCATGAACCTTATAAGAATATTGTTGGAGACCCG
100471276 F 0-27:C>A-27:C>A	nnxnp	131	Contig30	TGCAGTCAAGCAGATGAAGGTAACATAAAGAAAATGCGTCCAGAATATTGTTGATGCGTTACTGAA
100376108 F 0-14:T>C-14:T>C	nnxnp	140	Contig30	TGCAGTCTTGGAAACCTGGACTTTGTCTCAACCAACAATATGTGTATCCCTATCAACTCTACTCCGAG
100439795 F 0-10:C>A-10:C>A	nnxnp	144	Contig30	TGCAGAAAAAATAAACAAGGTTCCCGTCAGGCCCGCTGAATCGATCGCAATACATGCGTTCCGAGA
100412066 F 0-25:A>C-25:A>C	nnxnp	145	Contig30	TGCAGGTTCCACAGGCTATGTGCTCCAGCGGGCTTGCATGTAGCACGCCCAACAATAAAGGTGCA
100438065 F 0-21:G>C-21:G>C	nnxnp	162	Contig30	TGCAGTCTGTTTTGGACTTTTCAGCTGAGCGGGGAAAAGGAAAAGAGCCG
100367582 F 0-7:G>A-7:G>A	nnxnp	169	Contig392	TGCAGCAACAAGTGTACACAAGGCTAGCAAGTTTTCTGGTGGTTGGATGTGAGGAAAGATACTAT
100363901 F 0-13:A>T-13:A>T	nnxnp	172	Contig30	TGCAGACAAATTTCAAAACCTGACTCAATATATGATGGAATAAATAAAGTTTCAAGGCCG

**Tabla S9.** GL9 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100237185 F 0-5:G>A-5:G>A	nnxnp	0	Contig38	TGCAGAGATTGCTGGCACAAGCCATTATTCTGCACTAGGCTCTCGTAAGTAGCACTGCACTG
100431173 F 0-31:A>G-31:A>G	nnxnp	10	Contig38	TGCAGGCAAAAGGCGCGTCGCCGCGGGCCGCTCGCTATCTTCCAGCAGCACCAAGCTGCCA
100386208 F 0-46:G>A-46:G>A	nnxnp	13	Contig985	TGCAGTAACCGCGCGCGCGCTCGATTCTCCCAAGCTCAGAACGCCG
100433065 F 0-63:G>A-63:G>A	nnxnp	15	Contig293	TGCAGTAGTCAGAAATCATGAGGTTCTTTTTTCAGAGAACGGGAGTACTGATATCTTTTTCATCAC
100438218 F 0-12:T>A-12:T>A	nnxnp	25	Contig38	TGCAGGTACGTGATCAAGATTATGGTCTCCAGTACTCCG
100359209 F 0-31:T>C-31:T>C	nnxnp	25	Contig38	TGCAGTAGTTGGTCCCGCTCTTGCAATGACAGAAAGCCG
100425436 F 0-19:T>C-19:T>C	nnxnp	28	Contig38	TGCAGTCTGGCCTTCGGCGGAAGATTCTGGTTGAGTTCGGCAGGCCG
100477159 F 0-29:C>A-29:C>A	nnxnp	33	Contig38	TGCAGTCAGTGCACATTGCCGATCGTTGACGCTCGGAATTCCAGTACTCCACTGTTCCACTCACAA
100380872 F 0-29:C>A-29:C>A	nnxnp	38	Contig407	TGCAGAAATGCCAACCAAGTGCAGTGCACGAGAAAATTGAGCCCG
100476820 F 0-49:A>C-49:A>C	nnxnp	52	Contig38	TGCAGGTTGATAGGCGCAGACAGCGCTGGCCGAGGAAGTAGTGGCGTCTTCTCCACGTACGTA
100483580 F 0-28:C>T-28:C>T	nnxnp	54	Contig38	TGCAGTACTACTCAAGACGTGCCCAATGTTGGAGCAGCTCGTCCG
100388455 F 0-9:C>T-9:C>T	nnxnp	61	#N/A	TGCAGCCCTGACGCGGAAGCCG
100192050 F 0-14:C>G-14:C>G	nnxnp	65	Contig721	TGCAGCTTGCGCATGAGCTCCACTCTGTTCCG
100296194 F 0-46:C>T-46:C>T	lmxll	81	Contig38	TGCAGGACGCGCGCTGGAGTCGACCCCGCAGGCGCCCGCACCCTGTCCGCGAGGAGTACTCGAC
100450485 F 0-37:T>C-37:T>C	nnxnp	81	Contig38	TGCAGTCCGCGCAGTGGTGTACCGCTTCTCCGACTTCCCGTGGCCG
100410530 F 0-32:C>T-32:C>T	nnxnp	91	Contig38	TGCAGACACACAATGGAAAAGAAGTCTCCAGGTTGAGATAATCACTCCACCTGATGGTCTGTATAAT
100468380 F 0-5:A>T-5:A>T	nnxnp	101	Contig576	TGCAGTCAAACCTTGGAGCAGTACTTACAGGTTCCAGAAACACAACTGTTTACCATTCTCATTTT
100497143 F 0-15:T>C-15:T>C	nnxnp	106	Contig38	TGCAGTTACAGTTGCTTCTTGTGATGTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
100431239 F 0-39:G>A-39:G>A	lmxll	112	Contig38	TGCAGGCCAGTCTGCTCTGTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
100371077 F 0-61:C>A-61:C>A	nnxnp	112	Contig38	TGCAGTTGTTGCTGAGGTTACGTTTGTAGGGTTACCAAGGTTGATGAGCTTGAGAGTAGTAGGGT
100430484 F 0-9:A>G-9:A>G	nnxnp	119	Contig38	TGCAGTGCAGCATCTGCATGTGGCAGCCGTGTGGAAAACCGATGGCAGTTTCACTACTCGAGCGAG
100440518 F 0-5:A>T-5:A>T	lmxll	123	Contig38	TGCAGTCGCTGTTCTTTGAGGCTCTCTCTGTAATGTAATGTAATGTAATGTAATGTAATGTAATGTAAT
100359336 F 0-37:A>G-37:A>G	nnxnp	123	#N/A	TGCAGTCCAGGGTAAATGGTGTGATTGAAACCTGTGTTTACATGACC
100407179 F 0-29:C>A-29:C>A	nnxnp	128	Contig153	TGCAGCTTCAAGTACTCGAAGAATGACTAGTGTCTCTGTGGCCCG
100475719 F 0-40:T>A-40:T>A	nnxnp	131	Contig38	TGCAGTACGAGCAGGACGCGATTGAATCAACGCGACGAAGCCGTCACCCCGAGTGCAGGAGCG
100483065 F 0-49:C>T-49:C>T	lmxll	132	Contig38	TGCAGCCCTCAATCAGCCTCTCTTCTTCTTCTGAGCTGCTCTTCTTGGCTTTCCCG
100471006 F 0-44:A>G-44:A>G	nnxnp	136	Contig38	TGCAGTAAAGTCAATCTATGAATGTGCCCAACGACGACCAAGTGTCCAAAAGAAAGTAAACTGAT
100495483 F 0-13:T>C-13:T>C	lmxll	137	Contig866	TGCAGAGGATGCGCAGGCACTTGCAACCAGTGAAGTGAAGTGAAGGACCG
100495484 F 0-30:C>T-30:C>T	lmxll	137	Contig866	TGCAGAGGATGCGCAGGCACTTGCAACCAGTGAAGTGAAGTGAAGGACCG
100392295 F 0-17:T>C-17:T>C	nnxnp	141	Contig38	TGCAGCAGAGTACTCCACGCTCAGAAGCTACACGCGTCTCCGCTGACGCGCTTCCAAACGGCG
100497818 F 0-49:G>A-49:G>A	nnxnp	143	#N/A	TGCAGTGCAGCGCTCAAGCAAGTGAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
100417771 F 0-58:T>G-58:T>G	lmxll	144	Contig38	TGCAGTAAAGTGTGCACTGCTCTCCTGATCATCTGTAAGGATTAGCAGGAAATGGAAGAAGCATGGG
100425255 F 0-26:G>A-26:G>A	nnxnp	145	Contig38	TGCAGTCAATTTTATCCGAGCCAGCAGCAGGACCG
100458981 F 0-22:C>A-22:C>A	lmxll	151	Contig38	TGCAGGCAAGCAGCTTCCACCAAGCTTGGGGTTTCTTCTCTCCCTCCG
100460568 F 0-59:T>C-59:T>C	nnxnp	152	Contig38	TGCAGAAGCTTCAAGCAACCAAGCTGTTATAAAGGGCAGCCAAGTTGCTATCAACCCGACTGAGACT
100496726 F 0-45:G>A-45:G>A	lmxll	155	Contig281	TGCAGTAGCAAGATATGCATACATTTGGTCTAGAGCTCAGCAAGTCTCGGAGAACCCGAGATCGG
100357982 F 0-11:T>C-11:T>C	nnxnp	157	Contig38	TGCAGGCGCGGCGCGCGGGAACCTGAACTGAACTGAACTGAACTGAACTGAACTGAACTGAACT
100400528 F 0-43:G>C-43:G>C	nnxnp	160	Contig38	TGCAGTGTACTCTCTGTTATGTCGTATGAAGGGCTACATCTCATGTGATGAACCAGGCTGCTCGCG
100450236 F 0-8:G>A-8:G>A	nnxnp	161	#N/A	TGCAGGTTATCCACTGCGCACGATCAGCATCCCGCCG
100320255 F 0-10:C>T-10:C>T	lmxll	163	#N/A	TGCAGTGCATTGCTGCAGCAATGTGACCCG
100447004 F 0-39:C>T-39:C>T	nnxnp	163	Contig38	TGCAGTAAAGTGTGCACTGCTCTCCTGATCATCTGTAAGGATTAGCAGGAAATGGAAGAAGCATGGG
100469794 F 0-21:C>T-21:C>T	lmxll	164	Contig38	TGCAGTCTCTCTGGAGCCGCTCGATCTCTCTCTCAGCTTGGTGTGAAACAGCTGCGCCGATGTTG
100450477 F 0-32:G>A-32:G>A	nnxnp	166	#N/A	TGCAGTCGACAGCTCCACGGAGATAGTTGGATCCG
100365918 F 0-57:G>T-57:G>T	lmxll	166	Contig38	TGCAGATGTATAAACAATGTCCAGGTAATGCTCGCGACAACTGCTGCTGGTGTGATGGAAGCCCTGG
100492333 F 0-14:G>A-14:G>A	nnxnp	169	Contig38	TGCAGGTATAAATGACGCTCTCCATGGATGACAAGATGAAGATCCGCTCGCGCGGCAAGGGCT
100493023 F 0-10:C>T-10:C>T	lmxll	172	Contig38	TGCAGTTCTGGCGCGGATCGAAGGAATAATGACGATCTGTTATCGGTTCTGGCGCTGCTGCTGC
100463770 F 0-40:G>A-40:G>A	lmxll	177	Contig38	TGCAGTTGCTACTGCTCTGTTGAGGACCAAGATGGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTAG
100242478 F 0-56:C>A-56:C>A	nnxnp	179	Contig38	TGCAGTGTGCTCGATATACTGCAAGACTGCGACCTGAACTCATCTGCTAGTGTCCCGCCA
100469138 F 0-61:C>G-61:C>G	nnxnp	179	Contig38	TGCAGCAGAGTCGAGCATATGGTCTGTTGTTGAGACAAGCGACAGATTTGGATATCAGGGATGACG
100494870 F 0-30:G>A-30:G>A	lmxll	183	Contig38	TGCAGTATCCCTTGGTGGTGAAGTCGAACACCGTGGCGGGGGCCGCACTCTTGACCCAGTTCACC
100456668 F 0-49:A>G-49:A>G	nnxnp	184	Contig38	TGCAGTTAACATCAGGAACAGGCGAGCATTGATTTCTGATCAGCGAACTAAAATGCTCAAGAAG
100499179 F 0-10:G>A-10:G>A	lmxll	192	Contig38	TGCAGGCGGAGTGCGGCGGAGCTGTGGCGGATGAAAGACGCGGAAGGCAAGGCGCCG
100452833 F 0-20:G>T-20:G>T	nnxnp	194	Contig38	TGCAGATCCAGGCGCCATCTTCAAAATCTCGATCAGCAGCAATAACCATAGCTTAAACAACA
100452438 F 0-49:G>T-49:G>T	nnxnp	197	Contig38	TGCAGATTTCTTGTGCTCTCCGCTCCTGATGATGTAAGTGTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
100424782 F 0-23:C>A-23:C>A	lmxll	198	Contig38	TGCAGTGGCAATAAGCCGCGCAGCCGAGCGGATGGAAGCCG
100417985 F 0-53:C>T-53:C>T	nnxnp	201	Contig38	TGCAGTCCAGGATCGGAGAAATCAGAAATCAAGAAGGCGATATAAATGGAATGGAAGAGAAAGGA
100411656 F 0-43:C>T-43:C>T	lmxll	204	Contig38	TGCAGATCCTCAGCCAGCAGCCGATCTCAGTAACTGGAATCAGGTCAGCATCTCTTTCGCTGG
100456575 F 0-55:G>T-55:G>T	nnxnp	208	Contig38	TGCAGTGTCCGTTGGTACCAGCCTTTGTGGCTTGGTGTCCGCGAGCAAGCCCTCTTCCGAGATC
100338165 F 0-67:A>G-67:A>G	lmxll	209	Contig38	TGCAGTGTATCATCTCCATTTCAATTTCTTCTGTTCTGTTCTGTTCTGTTCTGTTCTGTTCTGTTCT
100475132 F 0-38:G>T-38:G>T	nnxnp	212	Contig38	TGCAGATTTCCAGCAGCGCAACGAAGTCAAGTTCACACACATACACACTGGCAGGCAAAAG
100324003 F 0-47:A>G-47:A>G	nnxnp	213	Contig38	TGCAGTTGATTTGACCAAGCTGGAAACACAGCAGCTGAACTGAGCCG
100472161 F 0-8:C>G-8:C>G	nnxnp	215	Contig38	TGCAGTGTGAATAATTTCTCATATATGTGACCTGCGAGTAAGGAGGAAATCCACCTGAGCTT
100362883 F 0-53:T>C-53:T>C	lmxll	217	Contig38	TGCAGTTAGTCTTAAAGCTCTAATGACCAACGATTACGTTGAAAGGCACTACATCCGAGATCG



100472118 F 0-62:T>C-62:T>C	nnxnp	228	Contig38	TGCAGTTGAAAGCGATCGATCAAGCAAGCGAGCGAGGGAGCCGAGCTCCACAGTCTCCACCCCGCCTC
100480228 F 0-56:G>A-56:G>A	nnxnp	233	Contig38	TGCAGATCTGCATGGATGGCTATGCATTGGTCAGAGAGCTGTCATCTCGCTGCCCCACCGTTGGTTAAT
100477269 F 0-10:A>C-10:A>C	nnxnp	236	Contig466	TGCAGTCGACCGTCAGGAACCCCAAGTTCTGGCTCCAGCGTGGTGCGCCCACTCTGCGTGTACAGG
100471419 F 0-15:A>C-15:A>C	lmxll	236	Contig38	TGCAGTCCGTTTTGCTCCTTCAGGCAGTGAGCTAGTGACATGGACGAGCTGCTGTGCGCGTACTCCTTCT
100466324 F 0-8:G>A-8:G>A	nnxnp	239	Contig874	TGCAGATGAACAGGAAGTGAAGCGGAGCCG
100501172 F 0-10:T>G-10:T>G	lmxll	239	Contig38	TGCAGTACACGGGCATCGCGGTCTTCGTGCGCCATCGTCTTCTACGTCGTGCTCCACTACAGCCGAGATC
100450413 F 0-33:T>A-33:T>A	nnxnp	241	#N/A	TGCAGTCCAGCGAGGACAGAGCAGGTCTCCAGAATCTAGAAACGACCTGGAACCCG
100423493 F 0-17:T>C-17:T>C	nnxnp	241	Contig38	TGCAGGTGAGCTTAATACTGGTACTGTAGCACTTACCG
100323956 F 0-43:A>G-43:A>G	nnxnp	244	Contig38	TGCAGTTGATAACTTTGAATCATAGTAATACGCAATCAAAAGTGATCCG
100448882 F 0-23:C>T-23:C>T	lmxll	257	Contig38	TGCAGCATCCTCATCTGCATCTGTTTCGGCGCCAAGATCCCCGACGACCTCATCCG
100332350 F 0-42:C>G-42:C>G	lmxll	258	Contig38	TGCAGATCCAAAGCTACTAGTAGCTGAGATGATGGTTACTGAGACGATTCCGCTGGAAACCGTTGCGCC
100490042 F 0-15:C>T-15:C>T	lmxll	261	Contig38	TGCAGTCGGAGTCGTTGCAGGCCTCGCAGCAGACGACGACGACACACCACCGCGCACTGCGCGTCATCCA
100490041 F 0-14:G>T-14:G>T	lmxll	261	Contig38	TGCAGTCGGAGTCGTTGCAGGCCTCGCAGCAGACGACGACGACACACCACCGCGCACTGCGCGTCATCCA
100491823 F 0-27:A>G-27:A>G	lmxll	263	Contig38	TGCAGCACAAAGTTCCACAGGTCGGCAGGTAAGTCTCGGCCGCAAAGGCCTTTTCGATACGTCCTGCGGACG
100320698 F 0-9:G>C-9:G>C	hkxhk	289	#N/A	TGCAGCTTTCAGGCAGGCCTAACCG

**Tabla S10.** GL10 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100316134 F 0-18:G>C-18:G>C	nnxnp	0	Contig1	TGCAGAGAAGCACCACAGCTCCAGTACATTTCCCG
100372846 F 0-67:C>T-67:C>T	nnxnp	25	Contig1	TGCAGGGAAGAAAATGGGGTGATGACTGCTGTGCCACAGTGCCTTCTCTATAATGAGAATTTACTG
100364957 F 0-61:G>T-61:G>T	nnxnp	33	#N/A	TGCAGAGGCTGGCTCAGCAACCGGTAGAGCCGTCAGTGGTGAAGAGTAGCGCTTTCTGTTGT
100450627 F 0-46:T>C-46:T>C	nnxnp	42	Contig1	TGCAGTGCAGAGCTCCGACACCTTATGACGATGTTGTCTGCTGCCCAAGTACCG
100418712 F 0-66:C>T-66:C>T	nnxnp	45	Contig1	TGCAGTCCCCTCGCGAAAAGATGAACACAAAAGGGAAGAAAAGTTTCAGAACAAAATCGATACTAG
100372726 F 0-65:T>C-65:T>C	nnxnp	51	Contig1	TGCAGGCTGCGCCGAAGAAGATGAGCAACTGATAAATCATTAAAGGAATACCTCATTATTTTCGAA
100359631 F 0-23:G>A-23:G>A	nnxnp	65	#N/A	TGCAGTGCATTGTGCATAAAACAAAATCGATTCTGCTCCG
100472887 F 0-13:C>A-13:C>A	nnxnp	66	Contig1	TGCAGATCTTCACTCAAGCTCAGCAACCTGCCAACACATCAGCCG
100376697 F 0-30:A>G-30:A>G	nnxnp	70	Contig1	TGCAGTTCCAGTTTGTCTACGGCGGATCAGGCTACCAGAAAAGTCTGAGCACCCATCCATCATGAAG
100426644 F 0-35:A>G-35:A>G	nnxnp	77	Contig10	TGCAGTCCCTTGGATCTCTATTGACAGAACTGTAATGATCTATAGCATGACTAATGTAGAAGCAT
100131249 F 0-36:G>A-36:G>A	nnxnp	81	#N/A	TGCAGGAATCGGCCAGAGAACCCTTCTAGACAGAGAGATGAATCCAGCATGGGGAGACTAAAGCT
100465288 F 0-12:T>C-12:T>C	nnxnp	84	#N/A	TGCAGTTTACAGCGTGTATCTTTGCTTGTATCCAGGGGATTGACAGATCATGCTTGTAGTCAGTCAG
100489611 F 0-45:C>A-45:C>A	nnxnp	85	#N/A	TGCAGGTGTGAACGAAACAGAACTTGATTGAGAGTGTAGTGGGGGAACAGCGCGTGAAGCAGAGTAATG
100467572 F 0-21:A>C-21:A>C	nnxnp	85	Contig25	TGCAGTGCAGAGACGATGACTATATGCTCAGTGCAGGCCCCCTGCCATCCG
100503317 F 0-12:A>T-12:A>T	nnxnp	85	#N/A	TGCAGGTGAGATTCGCGGTGATGGCGTCCGCGTTTGGTTCGGGGCAGAGTCCATGCCCCCGCAGATCG
100427417 F 0-47:C>T-47:C>T	nnxnp	88	Contig1	TGCAGACGATGGAAGCTGGAAGCCACCTCGGCATACATACCCCAATTGCTCTGCCCGTCTCCGAGAT
100285644 F 0-19:G>T-19:G>T	nnxnp	91	#N/A	TGCAGACGTGAGACCGACTTAGATGGCGTGTGCATCACTCGGTGTAGACGTGAGCCCTCGAGCTCTAG
100485846 F 0-8:T>C-8:T>C	nnxnp	99	Contig1	TGCAGTCCCTTTTAGGAGAATCAAAATCTTTTCTTTTCTTTTGTGATGGTGCATCTCTTTTACTC
100476722 F 0-32:T>G-32:T>G	nnxnp	106	Contig1	TGCAGGTTACATATTCAAAGACGCGTATATAGTCTGCTTCCGTCATGAGGCAGTACAAAATATCTGGTC
100476724 F 0-47:C>A-47:C>A	nnxnp	106	Contig1	TGCAGGTTACATATTCAAAGACGCGTATATAGTCTGCTTCCGTCATGAGGCAGTACAAAATATCTGGTC
100502302 F 0-39:A>G-39:A>G	nnxnp	110	Contig1	TGCAGGTGTGAACGAAACCGGGTCTCTCATTGAGAGTGTAGTGGGGGAACAGCGCGTGAAGGAGAAGAAAAC
100264616 F 0-40:C>G-40:C>G	nnxnp	114	Contig1	TGCAGAAACCGAGAAACAGAGCACGTCGTCAAGATCCATCGGATTCAAGCCG
100195083 F 0-26:G>A-26:G>A	nnxnp	122	#N/A	TGCAGTGCATGAACCTAAGCTTATTCTTTCCG
100287572 F 0-24:T>C-24:T>C	nnxnp	133	Contig1	TGCAGATCTGCATCAATAATCAGACGCATTTTCATTGTAAAAAAGTTTTGATTTGTTTATGCTTTGCAG
100417554 F 0-64:T>G-64:T>G	nnxnp	139	Contig1	TGCAGTACTAACAGAAGCATGTACAGAAGCCGTTTCATCTTTGGCAATTAGTAGACCCAAGTGT
100478991 F 0-37:A>G-37:A>G	nnxnp	147	Contig1	TGCAGCCACGGCGCCACGTGACGCGCTGATGAGACGGCAACGGCCG
100438956 F 0-8:T>C-8:T>C	nnxnp	152	#N/A	TGCAGTGTCCCTGTGACCTTCATCTCTGCTCCG
100438958 F 0-22:T>C-22:T>C	nnxnp	152	#N/A	TGCAGTGTCACTCCGACCCCTCACTTCTGCTCCG
100430583 F 0-59:T>G-59:T>G	nnxnp	153	Contig1	TGCAGCTGTAGTAAGTGTAGGACTTGGTACACTTGTGCATGTTCCCTTTCCAGCGGGTGTTCAGT
100500695 F 0-38:C>G-38:C>G	nnxnp	155	#N/A	TGCAGTCTTGGACCTGTCTGCCAGCCAGTGTGGAAGACGCGG
100365385 F 0-18:C>T-18:C>T	nnxnp	155	#N/A	TGCAGATCAGACTTGAATCCCAATTAATGGCTGCGGGTGGTCTTGCCTGAGGACCAGGTTGGTCTAT
100352913 F 0-17:T>G-17:T>G	nnxnp	156	Contig1	TGCAGAGAAGCTCAGAAACCGGGTGGAGAACCCTTTGACCTTTGTACAGGTTCCG
100425301 F 0-20:C>T-20:C>T	nnxnp	158	Contig1	TGCAGTCTTTTACCATGAATACTTGTACTAGCAGACAGAGATTTTCCCTTGGCCG
100486314 F 0-22:C>T-22:C>T	nnxnp	160	Contig1	TGCAGTCCGCTTTCCATGCGATCCCACTGCTCCCGCATGCAGAACAGTACCAAAACAAGCGAGC
100337697 F 0-29:A>G-29:A>G	nnxnp	164	#N/A	TGCAGTCCAAAGTAACTGGGAGATGACGCGCTGGGAGACATTGGCGGCTCGAGGCTTGTGTCACCG
100491727 F 0-8:C>T-8:C>T	nnxnp	167	Contig1	TGCAGATGTGTAAGTATGCTGCTTGGTGCCTGCGCGGTTTCCAGGAGTGGATGAATGTTGCCAGTGTTC
100479268 F 0-19:G>C-19:G>C	nnxnp	168	Contig1	TGCAGTCCGCGGCTGCGCCCTTTTCAGGCGCCCG
100463374 F 0-36:G>A-36:G>A	nnxnp	168	Contig6	TGCAGGCTACCTCGCCGTGGACACGCTCACCTCCGAGGCGCTCGTTCCTGGCATCACGTTCCGGTG
100440142 F 0-57:G>A-57:G>A	lmlxll	168	Contig1	TGCAGAAAGTTTCGAGGACGCAACCAAGTGGATTGGGTACAGTTGCAATTTGATGTACAGGTTAGGGCA
100440411 F 0-14:G>A-14:G>A	nnxnp	171	Contig1	TGCAGACCAGAAGGAGGCGCATGGGCCAGGCTCTCCGCCGCGCTCGGGTGGCGTGGAGCCCTCATC
100237034 F 0-18:C>T-18:C>T	lmlxll	174	#N/A	TGCAGGGAGAAAGAAACATGCGCGGTGACGCGCGGCAAGTCCACACAAACTGTTGGAGGGAGGA
100479321 F 0-27:G>C-27:G>C	nnxnp	175	Contig1	TGCAGTCCAGCGGGTGGCGAGCACGCGCCGCGCACTCGGCG
100496625 F 0-58:A>G-58:A>G	lmlxll	175	Contig1	TGCAGGTGGTGGCTGGGTACCAAGGCGGCTCCACGAGGCGCCATCTCTGTCATGTCACGCGCGA
100501609 F 0-8:G>A-8:G>A	nnxnp	177	Contig1	TGCAGATAACACGGCGCGGAAGAGGAGGCGGGCAGCGCCG
100501614 F 0-20:G>A-20:G>A	nnxnp	177	Contig1	TGCAGATAACACGGCGCGGAAGAGGAGGCGGGCAGCGCCG
100436799 F 0-20:C>A-20:C>A	nnxnp	178	#N/A	TGCAGCATGAATCAGATTAAGCTGAAAGGCCAGCACGATGCAATCGGGCCG
100273388 F 0-13:A>T-13:A>T	nnxnp	181	#N/A	TGCAGTGCAGAGTTTGGAGCCCTGGAGCCTCCG
100346752 F 0-26:C>A-26:C>A	nnxnp	183	Contig1	TGCAGTTTGGCTGGGACGGAGGAGTACTTCCCTTCCCAACAGGAAAACAACAGAGAGCGCTTCTT
100272702 F 0-5:T>C-5:T>C	nnxnp	184	Contig1	TGCAGCAAAAATCAACAAACTGGGTCACCCCTGACGATTTGACCG
100398365 F 0-58:T>C-58:T>C	lmlxll	185	#N/A	TGCAGGTTTACATACGTGGCATTGGAGCTCTCAACATTGGGATGTTGGACCCCTGACGCGCAAGA
100460466 F 0-19:C>G-19:C>G	nnxnp	187	Contig1	TGCAGAACTCAACCATTTGGTCACTTAGGCTATGTGCATGTTCTTCCCTCCCAAGTGGAGGCGCT
100464093 F 0-44:C>T-44:C>T	nnxnp	199	Contig1	TGCAGTATGAAGAACGGGACGCAACAAGCTTCTTTCACTTCACTCAACAACATGGAAGTGGCT
100464091 F 0-12:G>A-12:G>A	nnxnp	199	Contig1	TGCAGTATGAAGAACGGGACGCAACAAGCTTCTTTCACTTCACTCAACAACATGGAAGTGGCT
100465378 F 0-41:G>T-41:G>T	nnxnp	204	Contig1	TGCAGTTTGCAGAGCGTGGAGACATGCCACCCTTCCGCTTGAAGCATCAACATGATGTGATCAA
100418287 F 0-13:G>C-13:G>C	nnxnp	205	#N/A	TGCAGTCCGAGTACGCGACGGCGTCTTCTGATCAATCTCCCAATATGCTGACCTTCCGAGATCGG
100489665 F 0-30:G>T-30:G>T	lmlxll	206	Contig1	TGCAGTCTTCTGGTGGGCAACAACGTTAAAGTGTGAAGTGAAGTGGGATGGGAACTCCCTGCC
100461841 F 0-5:C>T-5:C>T	nnxnp	206	Contig44	TGCAGTAGACGTACTCCACGTTTTCCCGTGCAGCGCTGGCGGCACTCCACGAGGAGTGTGATG
100342095 F 0-58:C>T-58:C>T	nnxnp	207	Contig1	TGCAGGTAGAGTTGCAACTAGTAGTACTTATAAGTGGAGCCGCGGATGTACTAACTCAATACCTCG
100435881 F 0-44:C>G-44:C>G	nnxnp	209	Contig545	TGCAGAAAGCCCGCAAACTCAAGCAAGATCTTTCTCCGCTCGGTTGGTTGACCG
100453682 F 0-51:G>A-51:G>A	nnxnp	214	Contig1	TGCAGCGTAAAGCGTGGGGTGCAGCGGACGCGCTGCTTCCGCGCGGGAACGAGTTGACGTCGAT
100484631 F 0-41:G>T-41:G>T	lmlxll	215	Contig1	TGCAGCAGACTACTTCCACGTTTTCCCGTGCAGCGCTGGCGGCACTCCACGAGGAGTGTGATG
100484574 F 0-64:A>G-64:A>G	nnxnp	215	Contig1	TGCAGCAAAAAGCGTGGGATGACGAGCAACAGCGCACCTTCCGCGGAGCGGATGACGTCGGGCCC
100383211 F 0-27:A>T-27:A>T	lmlxll	217	#N/A	TGCAGCTATATCTGTAATGATGATGCTCCG
100496189 F 0-14:T>C-14:T>C	nnxnp	232	Contig1	TGCAGATGATCGCCGCTGTGAAACTGAGCTTTGCTTGGCGCACTGCTCCTCAAGATTGACGTCGT
100360203 F 0-15:T>A-15:T>A	nnxnp	245	#N/A	TGCAGTTTGTGAGGAACCGCTTGTACATATGTTTACTTGCCG

100400380 F 0-31:T>C-31:T>C	hkxhk	255	Contig1	TGCAGTGGCCCTGCTATGTTTCGTGATAGAAGCTCACAGGCAGCTGCATGGTGGTCACTCGTGCCGATTC
100481022 F 0-14:C>T-14:C>T	nnxnp	272	Contig10	TGCAGGCAAGCGGATGCAGCGCCAAGCCGTGGGTGCCAAACGACTGGAGCCGCGCCGTGTGCGAGCCG
100439122 F 0-19:G>T-19:G>T	nnxnp	273	Contig12	TGCAGTTGGCCGCTCTGCTCTTAATACCGCTCTACGAGTTACCAGGTACCG

**Tabla S11.** GL11 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100467601 F 0-47:A>C-47:A>C	hkhk	0	Contig25	TGCAGTGCCTGTGCGCTCAGCAGACATGCTTGATGCAGCGCCCGCGCTATCCG
100338054 F 0-37:T>C-37:T>C	lmxl	31	Contig311	TGCAGCTCTTTCGATTTATCAAGTGAAGCAATAAATCTGACATCATCAACTGCAGTTCTTGTTCG
100446691 F 0-58:C>G-58:C>G	lmxl	40	Contig8	TGCAGTTCGCGGTCCAGATCCGGAGATCGAGACGGTGGTACGGTACGTACAGTAGAGTCCCTCTG
100472935 F 0-40:A>G-40:A>G	lmxl	45	Contig8	TGCAGATGGCGTGGGCTCCTCTCTCTCTGTTGGTCCGCGAGATTTGTAAACCCG
100472934 F 0-32:C>T-32:C>T	lmxl	45	Contig8	TGCAGATGGCGTGGGCTCCTCTCTCTCTGTTGGTCCGCGAGATTTGTAAACCCG
100221840 F 0-7:G>A-7:G>A	lmxl	48	Contig8	TGCAGAGAAGGTTGCGGGTAAGGGCTGGATCTTGCCATTGAAAGGGTGCAGAACTGTTGTTCTTG
100372629 F 0-43:C>T-43:C>T	lmxl	51	Contig8	TGCAGGCTCAACCAACCACTAGGTTTCTACAGCTCACATACCACTCAACTCAGGCCCCCG
100348263 F 0-40:G>C-40:G>C	lmxl	67	Contig8	TGCAGTGTGCGGACCACTCTCCGCGCCCGCTCTTTCGTTTGCGGCCCTCTCCCTCCGCTC
100380852 F 0-37:G>C-37:G>C	lmxl	86	Contig25	TGCAGAAAGCGATTTGGCTCGACATCCAAATCCTCTCTCATCTTAACACACCCG
100489371 F 0-41:A>G-41:A>G	lmxl	96	Contig25	TGCAGGCGAGAGGAAAACCAACCCGTGGCTCACGAGGGGAAAAAAGATGTGACCATCCATCACC
100488837 F 0-20:A>G-20:A>G	lmxl	101	Contig174	TGCAGCATCAACTCAGTTAGATCTTCTGTATGTCTTTTGTGCAACGCTTCTGTAATTTTGTAGA
100416791 F 0-17:C>G-17:C>G	lmxl	104	Contig882	TGCAGTAGGCGTGGAGACGACCAGCCGCTGCAACCCATCGCGGCGCATGCAGCGAGATCGG
100450250 F 0-32:G>C-32:G>C	lmxl	110	Contig8	TGCAGTAATCAGGCAAGGGTGGGCGAAGCTTTGCCG
100322910 F 0-24:T>G-24:T>G	lmxl	113	Contig8	TGCAGTACCAGAAGTTGTTCTGTGGAAGTCTTGACCCG
100464595 F 0-57:A>G-57:A>G	lmxl	117	Contig8	TGCAGTGACACAAAAAGGCGCAACATATGATGTTTCTCTCAGCTGTAACCGAATGACTCAACCAG
100395607 F 0-53:G>C-53:G>C	lmxl	124	Contig8	TGCAGCTGTATGCTGGCGATGGCCTTGGCAGCACCTCGCGGAGTATGTGTCGCATCGAGCGACG
100441945 F 0-31:G>A-31:G>A	lmxl	127	Contig8	TGCAGCATCAAGGAGACATGCATATGCACAATGTAATAATGGCCGTGCGAGCAACGATCAGC
100488982 F 0-57:C>G-57:C>G	lmxl	128	Contig8	TGCAGCGTTGAATAATGATGGGAGCATCAGATTTCTCGGCGACGCTAGTTAGGTGCGAGCAGATCCC
100502825 F 0-8:C>G-8:C>G	lmxl	129	Contig8	TGCAGTAGGCCGTCTCCTCGCGTTGGGCTCGGCAACAGCCG
100395287 F 0-65:C>A-65:C>A	lmxl	133	Contig94	TGCAGTGGCGCCAGCAATGTCCCTCCAGGAGCAGCACTTTTTCCCTCGAGCGGCTTCTTAAGG
100434248 F 0-38:C>G-38:C>G	lmxl	136	Contig8	TGCAGTGTGAACGAAATCTGGCGAGCGGTTCTGGCACCACTTTTTTTCGATTTGATCCAATCCG
100443309 F 0-8:G>A-8:G>A	lmxl	143	Contig8	TGCAGTTATGGCCAGACATGCTCCGCTGACGTGACGACCCGTGACGATGTGCGAGCGCGCGCGCC
100333475 F 0-29:G>A-29:G>A	lmxl	153	Contig8	TGCAGCACTTAGGCGAATGACTGTTGACTTTTGCTTTCAGAGAAAAAAGACTGCTAAATTTAGT
100283928 F 0-65:G>T-65:G>T	lmxl	166	Contig8	TGCAGAACACAGTAATCTATCATTTATGTCAAAACACAGCTACTGTACGTGTTACTGATATTTCTTT
100499535 F 0-35:T>A-35:T>A	lmxl	175	Contig8	TGCAGATGCTGACCACTCGTCCACGAGGAGATCTGCTTCTCTGTTACTGCAAGAAGCTTGGTG
100494073 F 0-9:T>G-9:T>G	lmxl	180	Contig8	TGCAGATAGCCAAAGGGGAGGAGGCAACAGCGGTGAAGATAACGCGTCAACGGACAAAACAGCTGT
100492458 F 0-29:T>A-29:T>A	lmxl	184	Contig8	TGCAGTAAACACGCTAACACTAGTAAAATGAAACAGGGCCTGCAACGGACAACACACGACCACA
100466227 F 0-5:G>A-5:G>A	lmxl	189	Contig415	TGCAGAGAATGCTGCGACATGTAACGTTGGACAGGTCGAGATTTCTGAGAACCG
100480207 F 0-28:C>T-28:C>T	lmxl	196	Contig785	TGCAGATCTCCGCTGTGGCGACGCGTGGCAGGGCCGAAACGCGCTCATCTCCCTCAGCAGCTTCC
100437601 F 0-16:C>G-16:C>G	lmxl	199	Contig8	TGCAGCATGCGGAGGCTCGACGAGCGGCTCTCGCCCTG
100492123 F 0-16:G>C-16:G>C	lmxl	205	Contig8	TGCAGTGTGGGCTGACTGTGCTGTAAGCGCGCAAGGAGGCCGAGGCCGCGCCACAGGACTG C
100463267 F 0-37:T>C-37:T>C	lmxl	210	Contig5	TGCAGGCTTCCGCTATATATGCGTGGCGGTGCAAGAAGCTGTAGTACAGAAATGCAATGAAG
100457041 F 0-40:T>C-40:T>C	lmxl	216	Contig8	TGCAGTTGGAGAGAGGGGAAAGCGTCATGGTGAAGGCTGGAGGAGCGTGCATCTGTGGAGATG A
100422367 F 0-27:T>C-27:T>C	lmxl	220	Contig6	TGCAGCAGCGCGGATACGAAGCGACTATTAGACGATTGACCCG
100442701 F 0-31:C>A-31:C>A	lmxl	221	Contig956	TGCAGCTACAAAAATAGCGTGTAGTAGACCACTGCGTGTGTTGAAAAGCAGCCTACCACGGGTC
100486501 F 0-33:C>T-33:C>T	lmxl	226	Contig8	TGCAGTTGTAAGTGAAGATCTTCTGATGATGAGAGCCGCGAGCCGAGCCATGCTAGGGAG
100490282 F 0-56:C>T-56:C>T	lmxl	229	Contig8	TGCAGTTCTACTTACTGGCATTAGCAACAGTGTGGCCATGGCGTCTCCAGTATCCCAATCC
100289806 F 0-22:C>T-22:C>T	lmxl	234	Contig8	TGCAGCAGCTGTTGTTGCTTCTGGAGAAGTTGTTGACAGACGAGGACGCGTTGGCGTGTAGTCT
100441981 F 0-46:C>A-46:C>A	lmxl	243	Contig8	TGCAGCATCGAAGCAGAGCGTGAAGACAAAAGGAGGACGTCGCGGTTACGATGCTGTGCGAGCCGAT
100462351 F 0-13:A>G-13:A>G	nnxnp	50	Contig25	TGCAGCTTGGCTGTTGCTGGTGGAGGAGGTTGACCACTTGGCTTGGTGAAGGAGCATTCTG
100285326 F 0-38:C>G-38:C>G	nnxnp	73	Contig8	TGCAGACCCGCGCATTGATGACTCTTCTTCCGAGCTTCTTGAAGCGGTTGCGTGAAGTGA
100444325 F 0-42:T>C-42:T>C	nnxnp	91	Contig8	TGCAGGCTTTTTCTTATTCCGCTTTTGGATGCCAGAAAGAACGAGGGGCTCAAGCTCTTGTATCTC
100366183 F 0-26:G>A-26:G>A	nnxnp	104	Contig8	TGCAGATTTACAATGTGATGATATTAGATGGGCGGCGATGGCTGAGCAACTCCTACTCGAGATTT
100444587 F 0-33:C>T-33:C>T	nnxnp	111	Contig8	TGCAGGATTTGTGACCAAGCGCGGGTGTAGGTTCAAGCAGAAGAAAGCTATTGACAGCAAAAGTAC
100474005 F 0-21:G>C-21:G>C	nnxnp	115	Contig8	TGCAGTTAATGGACCGTACTCCCTGAATGTTCTGAAAACCTGTTGATTGACCCG
100424811 F 0-19:A>G-19:A>G	nnxnp	117	Contig8	TGCAGTGGCGCGGAGTGCATGCTGCTGACCC
100459570 F 0-8:A>G-8:A>G	nnxnp	120	Contig8	TGCAGTATGAAACAATTAGTAGCTTAATCTGTTGTGACTTTCCACTTTGTGCCG
100470589 F 0-12:A>C-12:A>C	nnxnp	124	Contig8	TGCAGTAAGGCCCGCTGCGGTTGATGGGGCTGTGCATCTGCGGCCAGCTGGAATACGTTGCGA
100342007 F 0-32:G>C-32:G>C	nnxnp	126	Contig8	TGCAGGTAATCCCTTTTCTTGGGGGGAAGCTACCAGCAGCGGCGCAATTAAGCCGAGATCGG
100413033 F 0-38:C>T-38:C>T	nnxnp	130	Contig8	TGCAGCAAAAACCATGATGCTTGGAGCCCAAAAAATTGCCATGAGACCTCACCCTGCGCCGTTGGT
100456189 F 0-53:C>A-53:C>A	nnxnp	134	Contig8	TGCAGTCTGGTGTGATTTGCTGTTGCGCCCCACCGTGAGCGCGCCCTCAAAGTGAAGCCGAGAT
100487788 F 0-29:T>C-29:T>C	nnxnp	138	Contig8	TGCAGTCTCGCTGCAAGATGATCTGCGCGCAGCTCCG
100456104 F 0-64:G>A-64:G>A	nnxnp	141	Contig6	TGCAGTGGCGCCACATAGCCCGACCCCTCCAGTGTCTTATGGAAGGATGCATCGACATTC
100411834 F 0-10:C>G-10:C>G	nnxnp	145	Contig8	TGCAGATGCAGTTTACTAAGATGATTTCTGACCTGGATGCGAAGCTGCATGTGAAGCAAAACAC
100302236 F 0-35:C>T-35:C>T	nnxnp	151	Contig8	TGCAGTGAACAGCGGGGCTAGCTGTTGGGGCGAGTTTATGAGGTTTGTCTTTCTGTTCCGTTCCG
100488461 F 0-19:G>A-19:G>A	nnxnp	158	Contig577	TGCAGATCATACTAGGAATACCTAGCATGCCAGATGTGCCACCCCTACCGAGCATACGATAGG
100428444 F 0-26:T>C-26:T>C	nnxnp	164	Contig8	TGCAGATTATCATGTTTCTGTTTACAGACGATGGTTTACGACAGTTTTACGAACCAATAACAAGTT
100411428 F 0-35:A>G-35:A>G	nnxnp	170	Contig8	TGCAGATAATTTAGTGTGTCAGAGATCCATCTGAAAACAACCTGCAAAAGAACAAATTTCTAGTG
100466743 F 0-54:C>G-54:C>G	nnxnp	171	Contig8	TGCAGTCACTGTGCTAGTGTGCTGCTGCTGTGTCACCTCCACCGACAGAAGCCG
100323574 F 0-23:C>A-23:C>A	nnxnp	180	Contig415	TGCAGTGCTACATCGCCATAGGTAGTTGGCACCCG
100355140 F 0-9:T>C-9:T>C	nnxnp	180	Contig6	TGCAGCCAGCGCAGGAGTGTCCACCAGCTGCGCCG
100439790 F 0-5:A>G-5:A>G	nnxnp	192	Contig8	TGCAGGAAAAAACAAGTTTTCGATGGGCACTCCCACTTCTGGCCAGCCAGGAGCGGTTTACA
100385095 F 0-10:G>A-10:G>A	nnxnp	199	Contig8	TGCAGGACGAGCGAGGTGATGGAGCTATTGACCCG
100355470 F 0-26:A>G-26:A>G	nnxnp	211	Contig8	TGCAGTCTCTGTGGCGGCGGAGCGGAGCTGACGCTCCG

100428270 F 0-19:A>G-19:A>G	nnxnp	223	Contig8	TGCAGATGAGAGTAAGAGGGACCTGTCCTTGGAGAATGTTAAGATTCCATCGTGTCGCCGCGATGATGA
100498822 F 0-63:A>T-63:A>T	nnxnp	233	Contig8	TGCAGTTCTGAATGTTCTTTTGCCCGTACTTGCGCCATTGGTAACCATCCTTGCTGTGGGGCGTGGGTG
100354321 F 0-26:A>T-26:A>T	nnxnp	237	Contig8	TGCAGCAAGTGCCGCACGCCATCCGTGGTACGCGTTCCG
100442770 F 0-46:G>T-46:G>T	nnxnp	242	Contig8	TGCAGCTAGCGATGGCCAGCTGAGCAGGACGGCGTGGTGGCGCTTTTGGTCGTTGCCCTGGTGGTGG
100400853 F 0-10:T>C-10:T>C	nnxnp	246	Contig8	TGCAGTTCAGCGCATTGGCGGTATCTCTGCTTTTCGGTCAGGAATATAATGAGAGGAGCCTGAAAGCTA
100466242 F 0-10:T>C-10:T>C	nnxnp	255	Contig8	TGCAGAGCTTCGTACTGTTAATTACGTGGTTCTCCACGTGAGACACGCCGCTCCG
100445947 F 0-53:C>T-53:C>T	nnxnp	264	Contig8	TGCAGTCTGCAAAGCACTGAAGCAGAGTTTACATGTTTGTCAACGGTGCGGTATGTGGAGCCGCCAGTC

**Tabla S12.** GL12 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100400262 F 0-57:T>G-57:T>G	hkxhk	0	Contig10	TGCAGTGTCTGGAGTAGTACTATGCAAAATGAAAAAATTGCGTTGCGTGTCTATGGAGATAGATCTG
100491750 F 0-53:G>A-53:G>A	lmxll	23	Contig10	TGCAGATTAAGAGAGTTGACATGATTACATATGTTACTATGAATTGACTCTAAGACAGGCCGAGATCG
100399347 F 0-63:C>G-63:C>G	nnxnp	23	Contig10	TGCAGTCCAAGACTTTTCAGCAAAACAAGGGACAAAAAGAAATCTTGTGAAGAAGAAGAGGGGATCA
100418510 F 0-31:G>A-31:G>A	nnxnp	25	Contig10	TGCAGTGAAGAAAGTTGAAGACTGAGTGCGGCATCAAAACCATACACTCCACAGAATCAAAGCCACAAG
100428277 F 0-16:A>C-16:A>C	nnxnp	26	Contig10	TGCAGATGATGCTTTGCGATTAGTCTTAGCCACGTGTCCGCAATAGGATAAGGTCTTTTAGATGCATG
100458110 F 0-10:G>A-10:G>A	nnxnp	28	Contig12	TGCAGATGAAAAAGAACTTGCCACGCGCGTTCAGCGTGTGCGGTTCATTGCGG
100427502 F 0-19:A>C-19:A>C	lmxll	29	Contig10	TGCAGACTAGCTGCCACAGCGACGTGTCAACTGCGACGACGTGATCTGATCCTTAATGGTCCGAGCG
100138885 F 0-13:T>C-13:T>C	nnxnp	30	#N/A	TGCAGTGTGGGCGGTGTGCGCCTGGACGACGCGCGCGCCTCATGCGGCTAGAGCTATTCTTGG
100502184 F 0-8:T>C-8:T>C	lmxll	35	Contig10	TGCAGTCTCGCGGTACTTGGGCGGCTGTTGCTGCTCTCGCCGCGCTGGCTGAGCACGTACGGC
100323050 F 0-23:A>G-23:A>G	nnxnp	35	#N/A	TGCAGTCAACATAGGGAGGATGATAAAAATACCG
100415179 F 0-48:C>A-48:C>A	nnxnp	35	Contig10	TGCAGTCTTCTCTCCCACTCGCAAGGTATATCGTCTCTAGATCACCAATGCTCTCAGTAGTATAGTAC
100367484 F 0-6:A>G-6:A>G	lmxll	41	Contig10	TGCAGCTGGACAAAAGATCGCATCTTTTAGAGAACAAGAGACGCGCCGCTTACCACGGGATTTTTA
100386444 F 0-37:G>A-37:G>A	lmxll	47	Contig10	TGCAGTGTGGGCGGTGTGCGCCTGGACGACGCGCGCGCCTCATGCGGCTAGAGCTATTCTTGG
100191061 F 0-11:A>C-11:A>C	nnxnp	49	#N/A	TGCAGCGTCCCGCCACGCGCGCTCCG
100490769 F 0-30:G>A-30:G>A	lmxll	52	Contig8	TGCAGCAACACCTGCAAAATTTTTCATAGAGACAAGTCCG
100381554 F 0-5:C>A-5:C>A	lmxll	56	Contig10	TGCAGAGCCCGTACGCGCGCGGAGGCGCGGTTCCGGGAAGGACCAGGACGCGG
100496502 F 0-19:C>G-19:C>G	lmxll	56	Contig10	TGCAGCGGTGGAAGCGCACGGCCATCTTCCGACCCGTTCAACTTACGCAACTGGTCCGAGATCG
100494533 F 0-43:T>C-43:T>C	lmxll	59	Contig10	TGCAGGCTCGATCAATCAATGAACGACTGCGGGATATATCGTGCACCTTGCAGGGGTCTCGATCAATC
100471360 F 0-13:A>T-13:A>T	nnxnp	61	Contig10	TGCAGTCCAGTGTCTCAAGTTTGTGACATGGCCTTAGCTCGCTGTGCTCAACAAGGCTTCGCCGA
100407880 F 0-32:C>T-32:C>T	nnxnp	63	Contig10	TGCAGTCAATCTGCTTTGGGGATCATGCAATGTCCG
100410264 F 0-29:A>G-29:A>G	lmxll	64	Contig10	TGCAGAAGACGTACGGTACGGAGATGATGGAGAGAAGAATGTGGCGGAGCTGGAGAGATGGCCAGCTG C
100481889 F 0-51:A>C-51:A>C	nnxnp	64	Contig10	TGCAGTCTCGCTCCGTCAGTAGTGTGCTGAAAAACGAGGAGAGTGAACACTACCGACCGAGTCTC
100272889 F 0-40:C>T-40:C>T	nnxnp	70	#N/A	TGCAGTAGTAAACAAGTTAGCTACACTTGTGCTGCGTGGCCTCCG
100399493 F 0-46:A>C-46:A>C	nnxnp	75	#N/A	TGCAGTCTTTGATTTTTGTATGCTTATTTCCCATCTCTCTCCCTTACCCCGCTCCACCCGAGA
100462205 F 0-65:A>G-65:A>G	lmxll	76	Contig10	TGCAGCCCGTGGACGCTGAGTACTTGGATGATGTGAAGAAGAGCAGCTGCGTAAGCCCCGCGCCGAAG
100433754 F 0-44:T>A-44:T>A	nnxnp	77	Contig10	TGCAGTCTTCTATCTTCCAGTTGCAAGGTGACCTGCGTAAAAAATACACGCGCCACATCTCGGAAGG
100472850 F 0-21:C>T-21:C>T	nnxnp	77	#N/A	TGCAGTCAAAAGTATAGTTTGTAGTGGCATAACAACCCG
100316896 F 0-13:C>T-13:C>T	nnxnp	81	#N/A	TGCAGATGCGGCTTTTTTGTCTCTCATCTGGCCG
100459347 F 0-6:T>C-6:T>C	lmxll	81	Contig10	TGCAGGCGGCTTTGCGGCGAGTGAAGAAGAAGACGAGCCCG
100374336 F 0-14:G>T-14:G>T	nnxnp	88	Contig10	TGCAGTAACACAGATCTCTCCATTCTTTTCCAGGAAAGAAAACGCTGGCTTCACTTTAGCTATGGA
100462796 F 0-65:A>C-65:A>C	nnxnp	97	Contig10	TGCAGCTGTGGTTGTGCTGCGCACTGTAGCAACCAAGACTTGGTTGCTTACATTGTACAGCCCGAG
100408240 F 0-18:A>G-18:A>G	nnxnp	109	Contig10	TGCAGTCCACGCTCTGTGCTTGAAGCAGACAAGATAGTGGTGGCG
100243570 F 0-31:C>T-31:C>T	nnxnp	121	Contig10	TGCAGTTTCTCCGTTCTTGTACTTCTTCTCGAGCAACCAAGAAACCAAGCAAGCTCTT
100428109 F 0-51:A>C-51:A>C	nnxnp	122	Contig375	TGCAGTCTTAGAAAATGATTACCCCTTGGTTTCAGTAGTCTTCAAGGTTACAACCAATCGAACCC A
100443627 F 0-11:T>C-11:T>C	nnxnp	124	Contig10	TGCAGGAGAAGCAGCCACCCGCTCGCACCGTCCATCCCTAAAACAGCGCCACGTCCCGCCACCCCAA
100194800 F 0-7:C>T-7:C>T	nnxnp	128	#N/A	TGCAGTCTGATTCTGCACGACCCG
100482089 F 0-45:G>C-45:G>C	nnxnp	132	Contig10	TGCAGTGGCGGTTCCCAACGCGCATGGAAGAAGGCAATGGCCCCCGCCCTCCGCGCCGAGGTGA
100363651 F 0-60:G>C-60:G>C	nnxnp	136	Contig10	TGCAGAAGTGCTTCTGCGCTAGAATACCTGCACATGCTTGGAGTGGTCTACAGAGACTCAAGCCGAG
100490164 F 0-16:A>G-16:A>G	nnxnp	138	Contig10	TGCAGTGAATGCGTCCGAGGAAGGCGCACGCAATGAAATCCAGCCAGAGAATTAGCGTGAACCC
100411887 F 0-42:T>G-42:T>G	nnxnp	141	Contig10	TGCAGATGGAAGGATTCGATCGACGGCTGCGTGCAGTAGTTGAGTAGTTGAGAGACTTGCAGTAAA
100481928 F 0-47:C>A-47:C>A	nnxnp	142	Contig10	TGCAGTCTTAGAAAATGATTACCCCTTGGTTTCAGTAGTCTTCAAGGTTACAACCAATCGAACCC
100374443 F 0-28:C>T-28:C>T	nnxnp	144	Contig10	TGCAGTACAGCATATGACTATAACTGAATCTTGTTCATGCACTCAATCAGGGGATGAGGACTGTAA
100481982 F 0-11:T>C-11:T>C	nnxnp	146	Contig10	TGCAGTGCACGACGTACGTACAGCTCGACAGAGATCTCGGCGAGGAGGAGGATGTCGGCGCAGG
100404452 F 0-12:C>T-12:C>T	nnxnp	148	Contig10	TGCAGATCTGCGTGGACAGGCTCTGCGGCGACTGGAGAGGCGTGTTCG
100464745 F 0-16:G>T-16:G>T	nnxnp	150	Contig10	TGCAGTGCCTTACTTGTGCGGGTACACATAACGCGCATCGATGCTGCAGCTCTACGTACGT
100483485 F 0-10:G>C-10:G>C	nnxnp	152	Contig10	TGCAGGTGCCACGCTCAAGAGCTGCGACTTACGCGGCTTACTCCG
100479246 F 0-33:C>A-33:C>A	nnxnp	153	Contig10	TGCAGTCCATTATTTGACATGATTGATCAGACAACACTTGGTACCCG
100464177 F 0-61:T>C-61:T>C	nnxnp	154	Contig10	TGCAGTCCGCTGAACGCTTGGCCGCTAGTCTGCGCGTACTTGGCGACCTTGGTCCACGTAACCG
100400075 F 0-21:G>A-21:G>A	nnxnp	166	Contig10	TGCAGTGCAGTTATACCGCAAGCTCTTCTCTCACTTCCCTCCCTCGACGCGCTGGCGCTCCCT

**Tabla S13.** GL13 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100455676 F 0-17:G>A-17:G>A	hkhk	0	Contig1121	TGCAGTAGACTCCCGTCACGCAACGCTACATTGCTGAGCTCTGCATACTCCGCGTTGGCAGCCGAGATC
100424996 F 0-16:C>T-16:C>T	hkhk	1	#N/A	TGCAGTAGAGGCGAGCTCCAACAAGATCCG
100467567 F 0-57:T>C-57:T>C	lmxll	11	Contig12	TGCAGTGAAGGAATGTTACAGCCCTGACCTCAACATGGCCATGTTCTCAGCTGCGACCCG
100467566 F 0-46:A>C-46:A>C	lmxll	11	Contig12	TGCAGTGAAGGAATGTTACAGCCCTGACCTCAACATGGCCATGTTCTCAGCTGCGACCCG
100398440 F 0-22:A>C-22:A>C	nnxnp	29	Contig12	TGCAGTTGATGATCTTCTCCCGCGCCGCCATGGTCAGTGGTTGGTACCTCGCCCTCCGAGATC
100341253 F 0-45:G>A-45:G>A	lmxll	35	Contig12	TGCAGGCTGCTTCTCGGGTGCAGATTTAATGCAGGATCGACGCACAGGATGACAGGCGGCAACTTGC
100495310 F 0-52:C>T-52:C>T	nnxnp	39	Contig12	TGCAGTTGCGAGTGAACAAGAACTCGCTTGAACACTACAGCCACTGATCTGGCGTTCCGAGATCCG
100473794 F 0-39:C>G-39:C>G	nnxnp	43	Contig12	TGCAGTCCCGTGCCTCGTGGTTCATGCCTTGGAGTGTGGCCAGCTGCCCG
100473793 F 0-12:A>C-12:A>C	nnxnp	43	Contig12	TGCAGTCCCGTGCCTCGTGGTTCATGCCTTGGAGTGTGGCCAGCTGCCCG
100504954 F 0-25:C>T-25:C>T	lmxll	43	Contig540	TGCAGTACAAGGATTTTGAATCATTAGAAGGATCAACATGCATTGCTGACCTTTTCGATTTCCACAAC
100331663 F 0-35:G>A-35:G>A	lmxll	47	Contig12	TGCAGAGGACCCCGATCCGTCGACCATCGCCATTCACATTTCCAATTAAGTACCAGTTGTTGATACA
100365567 F 0-47:C>T-47:C>T	lmxll	51	#N/A	TGCAGATCTAAACCGTCCAATGTCAGATGAAAGGGCCAGATAAACTTTTATGCTCCACGCGCTT
100419390 F 0-13:G>A-13:G>A	lmxll	55	Contig12	TGCAGTTGAGGTAAACCGGACATGCCGACGCTGCAACACGAATGAAAGTTGAGGTTCTTCCCTCC
100459165 F 0-20:G>C-20:G>C	lmxll	56	#N/A	TGCAGGCTCTGCGGCTGCCTTGATGCGGCCG
100418936 F 0-10:G>A-10:G>A	nnxnp	57	Contig713	TGCAGTGGGAGGATCGTTAGCATTGACTTCTCGTAGCACAGCTGATTGAGGTGATCATTTGCTT
100474356 F 0-21:G>C-21:G>C	lmxll	61	Contig12	TGCAGAAAAATGCCATCACCTCGAGCAACCCCAATAACAGCTCTGTCAAGCAAGAGCTAAAGAGGAACA
100481858 F 0-25:G>C-25:G>C	nnxnp	62	#N/A	TGCAGTCGGAGTAAGCCACGGCGTGCCTTTTCAACCCGCCAGACGCTCACCCGCCGAGATCCG
100450580 F 0-13:A>G-13:A>G	lmxll	66	#N/A	TGCAGTGAAGGCGGCGCACCACTCGACAGCCCG
100374751 F 0-51:A>C-51:A>C	lmxll	70	Contig12	TGCAGTAGCTCCAAAGCTGCAACGGGTTTGCGGCGACGGTAGATCCAGCCGCACATGCGACGCGTG
100507159 F 0-38:G>A-38:G>A	nnxnp	70	Contig12	TGCAGTGGAGAGTTGAGGTGACGAGGACTCAGGGAGGAAGTCCG
100365576 F 0-68:T>C-68:T>C	lmxll	74	Contig12	TGCAGATCTATCGCTTCAACATCAATTTGGTGAACCTGCTCCAATGAATCAGAGCCTTTAGAAC
100437282 F 0-14:C>A-14:C>A	nnxnp	76	Contig12	TGCAGCTCCACCCACGTCGCGGCTGCTCTCCCGTTCCG
100447961 F 0-22:A>G-22:A>G	lmxll	78	#N/A	TGCAGAACAGAGCAAAAAGTGAAGCTCGGGCGGTTGGTGTCCACCCCGCGGATCCG
100510145 F 0-20:G>A-20:G>A	lmxll	87	Contig12	TGCAGCATGTGCCACGCGCTAAGCTGCTCTGAGCGACATGGGCGTAACGCCCGCTCCACGAGCTA
100487640 F 0-26:G>T-26:G>T	lmxll	88	Contig3	TGCAGGTCACAGATCCAGCAAAATATGCTTCCCTCCTCACCG
100381220 F 0-5:G>A-5:G>A	lmxll	92	Contig30	TGCAGATCCCTACTTCAATGAGACGGAGATATTTCTAGAGCAGGGAACAATCTCCCG
100265522 F 0-7:T>C-7:T>C	lmxll	97	#N/A	TGCAGAGCGCCGCCAGCAACCCG
100438998 F 0-11:C>T-11:C>T	lmxll	102	Contig12	TGCAGTTAGGATGCATGGAGACTACCACCAGAAAGTGCACCCATATGAGTTCCG
100472070 F 0-17:T>C-17:T>C	lmxll	106	Contig12	TGCAGTTCTGCATCACTCTGAAGAAACACGGTTAGTACTTTGATTGGAGCTCTGAAGAATTGACGC
100390897 F 0-31:G>A-31:G>A	lmxll	107	Contig12	TGCAGATATTTGCTCGCAGCGAGCGGAGGATAATTTACGCGGAGTGGGGACGCCAACCGGACCA
100435988 F 0-16:C>T-16:C>T	lmxll	110	#N/A	TGCAGAACTCGCGCTGCGGCGGGATCCCG
100406030 F 0-28:A>T-28:A>T	lmxll	113	Contig12	TGCAGTAGCGGTAATAAAGCATAACATTCAATGTCGCGCGGCGCGCTCCG
100475960 F 0-60:A>T-60:A>T	lmxll	117	Contig943	TGCAGCTTCTGTCTCTCATGTTGACCTCTATCATCCAGTAATCACTGGTGTCTCCAACCTCTCAAC
100502521 F 0-10:T>C-10:T>C	lmxll	119	Contig12	TGCAGTGTCCGTTGGCAATCTCCAGGCGGAGGAGACGGCGTTGGCGTGGAGGTCAAGGTTGACGC
100287260 F 0-54:C>G-54:C>G	nnxnp	183	Contig12	TGCAGATCAAGTATCGCTCTCGCGTCAACGCCACAAGGTACATCACTTTTTCGAGTAGGATGCTTGT
100497447 F 0-17:G>C-17:G>C	nnxnp	186	Contig12	TGCAGACATGACGCAACCCGCTGTGAGGAGACCCG
100441125 F 0-10:G>A-10:G>A	nnxnp	194	Contig12	TGCAGATCTCAAAGCCGAGGAAGACGGGTTGGCGTCGAGGTCGAAGGTGAAGCGGTGTCGACTGCG
100473761 F 0-19:C>T-19:C>T	lmxll	197	#N/A	TGCAGTATTGGGGCGCCCTGCATGTTGACGGAATGCTCGCTCCG
100386917 F 0-27:G>A-27:G>A	nnxnp	200	Contig12	TGCAGTGTGCGTTTTGTCCGTGCTGAAAAGAAATGGAACCG
100476431 F 0-49:C>T-49:C>T	lmxll	200	Contig12	TGCAGGTACGCAACATGTCGTTGAGCAAGCGCGCTCGGGGACGCGTGTACATGACGGCCGAGATC
100371830 F 0-13:C>T-13:C>T	lmxll	205	#N/A	TGCAGGCAATGCATGGCGCATCGCTCACTTCTGTTACATAATCAAGACTTTCGAGGCAATGCAATGCA
100445016 F 0-50:T>C-50:T>C	lmxll	210	Contig655	TGCAGGTTATACGGGACTACTAGTTGTTCTTTGGTAGTGGAGCTGCGTGTCCAACCTAGCCGAG
100456243 F 0-61:T>C-61:T>C	nnxnp	210	Contig66	TGCAGTGAATCTCGATCTGAGTCTGACAGAAGCCGTACGTCTCGATTTGAGGTTTGGCGCGGCCAT
100473128 F 0-5:T>C-5:T>C	lmxll	221	Contig12	TGCAGCCCAATGCATATATCGACAGCGCTACGTCGCCG
100319991 F 0-19:A>C-19:A>C	nnxnp	227	#N/A	TGCAGCTCCGCAAGAACGCTTCTCCG
100415262 F 0-62:A>G-62:A>G	lmxll	229	Contig12	TGCAGGACAGCGCGAGTGTCCGAGCATTGGGCGCGCTGCTGCTGCCAAGGTGCTTCCGTGGTTG
100497193 F 0-51:A>T-51:A>T	lmxll	236	Contig12	TGCAGTTTTCCGCCGTTGCAATGTTGTTTACATCACTAATCGTTTATTATGATCATGCAACTGCC
100386291 F 0-16:G>C-16:G>C	nnxnp	237	#N/A	TGCAGTACTGCACGCCAAAGCATGGCCG
100490353 F 0-17:C>T-17:C>T	nnxnp	243	Contig12	TGCAGTTGAGTTGGGGATACATGGGTTCTGACACCATATGCCCGCACCATATAATGAGTCCGAGATC
100192846 F 0-20:T>A-20:T>A	lmxll	243	#N/A	TGCAGGATTATCCCGTTTTACAACCG
100407909 F 0-36:T>C-36:T>C	nnxnp	245	Contig12	TGCAGTATCCGAGTGAACCCACACGCGTGGAGCTCTCTCCATCCG
100388974 F 0-26:G>A-26:G>A	lmxll	252	#N/A	TGCAGAAAGATTTTTCCTTGTCTTACAATGAAATGATGGAAGTCTTATGATCAGAGAGAACTAAT
100467510 F 0-26:C>A-26:C>A	lmxll	258	Contig12	TGCAGTCTGCATCACTTATGATGAGCTGAGCTGATCTGGCCG
100441333 F 0-35:G>A-35:G>A	lmxll	262	Contig12	TGCAGATGTGATCATCATCAATGAATCACTAGATATGAATCTCTCTCGTTTGTGCTGGCAATGGC
100494938 F 0-68:T>C-68:T>C	lmxll	267	Contig19	TGCAGTCAGTGGGCAATGACAGCATCTCGTTCACTACGCTGTAGAGAATGTGCATGTTCTGCTGCC
100474356 F 0-59:A>T-59:A>T	lmxll	270	Contig12	TGCAGAAAAATGACATCACTCGAGCAACCCCAATAACAGCTCTGTCAAGCAAGAGCTATAGAGGAACA
100509631 F 0-50:A>G-50:A>G	lmxll	270	Contig12	TGCAGTCGTTGGGTCGGCCGTTTGTGTCATTAATCGCGCTGATCAATCGGGGCGAGCTGCCACGT
100404539 F 0-17:T>A-17:T>A	lmxll	275	Contig12	TGCAGATGGATGGCAAAATGTTGAGGTTGATGATGAGAGGCGCTTTGACCG
100376191 F 0-7:G>A-7:G>A	lmxll	278	Contig21	TGCAGTGACCCATGACGGTGTGCTGTTCAAAGCCCTTGCACAGCGTACTGCTGACCCGCACAC
100438506 F 0-23:T>C-23:T>C	hkhk	287	#N/A	TGCAGTACAAGAAAGGCTGGCAAGTAGGGCCGTCG
100390023 F 0-68:C>T-68:C>T	lmxll	304	Contig1119	TGCAGACGGGCTGCCGAAGAAAATTCATCTCTATAAAAGAGCTCGAGTGTGCGCACGCCCGCTCT

**Tabla S14.** GL14 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100332173 F 0-68:T>G-68:T>G	lmxll	0	Contig3	TGCAGATAGGCCAAGCGGGTAGTGGCCTGGTGGGGGATAAGGTAAGGTAGAGTAGCTGGCAGCTGGG
100354786 F 0-17:G>A-17:G>A	lmxll	5	#N/A	TGCAGCAGCGGACACGAACCTTGTGCGCCG
100471639 F 0-26:G>A-26:G>A	lmxll	14	Contig3	TGCAGTGATTAGTCTGTCATGCATCAGTCTCAGTACTTGTCCACGCATCAGCCGCTTGTGCACGGGC
100434946 F 0-11:C>T-11:C>T	lmxll	23	Contig3	TGCAGTTTCTTTTACACCGAAACACAGTTCATTTGCATGCACATGCATCCCTCCACATAAGAACC
100389268 F 0-36:C>A-36:C>A	lmxll	31	Contig3	TGCAGAAAGCAGAACGAAGTGAAGTTGACGCTGCCGACGGCAGCAGATCGTCCGCGCGGTGCGGTAGC
100404490 F 0-16:G>A-16:G>A	lmxll	34	#N/A	TGCAGATGCGGCCGCTAGGAGCACCGTGC
100451993 F 0-40:G>A-40:G>A	lmxll	41	Contig842	TGCAGAGCTGAGGCATCTGTACGACATGAAACAATGGATAAGCAAAAAGCTGACATCCTTTCTCTGTGA
100471317 F 0-67:A>G-67:A>G	lmxll	56	Contig3	TGCAGTCAGTTTGGAGTTTACGACGAGCAACACATGCCAAGGCATGGACATGGTGACGAATGAGCCCG
100457703 F 0-13:C>T-13:C>T	lmxll	64	Contig230	TGCAGAAATGCTATTAGAAGCAAAGGAATAGGAGTAGAAAGGAACACGCCACTTACCG
100435894 F 0-38:A>C-38:A>C	lmxll	66	Contig3	TGCAGAACACGGCAGCGGAAATGCAGATGGATTCTACTCTACTCCG
100489606 F 0-10:G>A-10:G>A	lmxll	67	Contig3	TGCAGGTGCAACCGTTTGTCCGCTGCACATGGACGAACGGGACCGTGGACGAGAACGCGCAGAGGGCG
100482469 F 0-60:A>G-60:A>G	lmxll	74	Contig6	TGCAGTTTGTGTAATGAACATCAACCCAGAGTTGAGGTTGATGAACGCCATGCATTGTATGTGGT
100388797 F 0-31:G>A-31:G>A	lmxll	83	Contig3	TGCAGTCATCGTATCTGTTCTGAACGGCTATTACAAAATTTGCAGGGACAAGGTGGCGGCTGCCG
100374205 F 0-35:C>A-35:C>A	lmxll	88	Contig3	TGCAGGTTTATCGTGACGAAATTTGCCATTTGTAAATCTCCCTGTTGCCCTTTGGACGTACGCAAGT
100450614 F 0-55:G>A-55:G>A	lmxll	91	Contig267	TGCAGTGCACAGGCTGTGGCCGAGACAGGCATCTTCTCCACGAGGCCAGCTGCATCCG
100451580 F 0-8:C>A-8:C>A	lmxll	93	Contig1	TGCAGAACAAATGCCTGCTACTAAAACCTCCACCGTATCTACATGCCTGGAGATTGAGTTGGGCCA
100353256 F 0-23:A>T-23:A>T	lmxll	95	Contig267	TGCAGACCTGAATTTACATAAAATGCCATGAAGTGGGTGCCG
100451936 F 0-56:C>T-56:C>T	lmxll	102	Contig1	TGCAGACGAATCAAAGTAATTTGTATCAGAGTCTTGTACTTTACCGAATCGGTTTCTCACATAAAA
100441577 F 0-10:A>G-10:A>G	lmxll	109	Contig1	TGCAGCACAGCTCAAACAGCTGAAAACCTATACGTGGAGCACCTACTAATAGCAAGTTGATAAATGC
100404353 F 0-7:A>G-7:A>G	lmxll	112	Contig8	TGCAGATGTCGATTTGGCGCCATGCCATGGATCGGCGGCCGCG
100418143 F 0-10:C>T-10:C>T	lmxll	112	#N/A	TGCAGTCTATTATCTTCTCTCTAGTGGTGGAGCAGTGTTCACCGATGATCCAATTATCAATCAC
100478551 F 0-5:A>G-5:A>G	lmxll	146	Contig1	TGCAGGTTATGTCGCCTTTCCCGCTCAGGCTTATACCG
100478349 F 0-6:C>G-6:C>G	lmxll	149	Contig53	TGCAGAGAGCGAGAGGACACAGGAGTAGGATTTTACCCCG
100458461 F 0-32:C>T-32:C>T	lmxll	176	Contig44	TGCAGCATGAGGAGGACGGGTCGTCGAGGTTCCG
100451412 F 0-5:C>G-5:C>G	lmxll	178	Contig1	TGCAGGTGCGGCTACATTTGGCATGTCTACGCCACAAAATGGCCGCAACAACTATCTTGTCTCACGCT
100358788 F 0-37:G>A-37:G>A	lmxll	183	#N/A	TGCAGTGGAAATTTATTCGCAACAAGGGGAAAGGTAATTTTTGTCCCG
100432613 F 0-37:G>T-37:G>T	lmxll	190	Contig1	TGCAGGTGATACATGCATGACTGTCTAGATCACTTCAAGTGTAAACAAACCTTCTCGTGTTAGCAGCAG
100423231 F 0-15:G>T-15:G>T	lmxll	197	#N/A	TGCAGTACGGTGGCTTGAATTTCTACCG
100473764 F 0-6:C>T-6:C>T	lmxll	202	#N/A	TGCAGTTAAGCGCAGCAACACACCAACCG
100187739 F 0-5:C>A-5:C>A	nnxnp	205	#N/A	TGCAGAGGCGGGGGCGGCGCGGCGGACGCCG
100364894 F 0-58:C>T-58:C>T	lmxll	210	Contig1	TGCAGAGGAGGTCAAGGGCATGGCCTCCCTGCTCAACCTTCTCCGTGTCACACGTCGTCGACGAAAA
100449870 F 0-30:G>A-30:G>A	nnxnp	211	Contig1	TGCAGGCTCGAGTACTGGCGGAGCAGGACAGCACCTGAGCCG
100373266 F 0-24:A>G-24:A>G	nnxnp	214	#N/A	TGCAGGTAATTTGTTGTTGTCGCTGCGGTTACTTCCCAATCCCATGCCAGTGGCATGGAAGCCGCTC
100410541 F 0-15:A>G-15:A>G	lmxll	217	#N/A	TGCAGACATTCACGAGTCAACAGACTCACAACCGCATACACATTCTTCCAAGGCAGTAACATAGCAAG
100272961 F 0-31:G>A-31:G>A	nnxnp	220	Contig1	TGCAGTCAAGCTCCACGTTCCGCTGGCACCCACCG
100496189 F 0-67:G>A-67:G>A	nnxnp	232	Contig1	TGCAGATGATGCGCTGCTGTGAAACTGAGCTTTGTTTGGCGCACTGCCTCCTCAAAGATTGACGTCAT
100464916 F 0-11:C>A-11:C>A	nnxnp	236	Contig1	TGCAGTTAATATGTCCTTTCGATCCGCGTGAATGGAGACGCGACGGTACCAGCAGCGCGGCAAGTT
100271573 F 0-21:G>A-21:G>A	lmxll	239	#N/A	TGCAGGCTTAGTGTGATGATGATTCCG
100498646 F 0-15:C>G-15:C>G	nnxnp	241	Contig1	TGCAGTCCATATCTGTGCTATCAAATTTTATCTATCCGATGCCTTTTATCGTGTAAATGGTCAATGCT
100391438 F 0-45:G>A-45:G>A	nnxnp	241	Contig1	TGCAGATGGAGTGAATCATACTACTTGCAGCCTCCACATGCTTCAAGACTTCTCTCTTTTCCAGGGACT
100322496 F 0-36:A>G-36:A>G	lmxll	242	Contig1	TGCAGGTCGCTCCGGCAAGCTCCCTGTCTGTGTCGGCGCGTATGAAGATCGCCCG
100496625 F 0-59:C>T-59:C>T	lmxll	245	Contig1	TGCAGGTGGTGCATGTGGGTACCAGGGCGCGTCCACAGGGCGCCATTCGTCCATGATCACCGCCGA
100477989 F 0-20:A>G-20:A>G	nnxnp	246	Contig50	TGCAGTTTCTTTTGGATTTCTGTCGCCCAAAATGCACGAAGGAAGAAAGCAAAAAGCCGTTTTTTTCA
100395672 F 0-58:A>C-58:A>C	nnxnp	256	Contig1	TGCAGCTTGACTCCCTCGGGCGCTTGAAGTAGGCTTGAAGCCCGCCCGCGGCGCCGCGCCG
100487075 F 0-35:G>T-35:G>T	hkxhk	272	Contig1	TGCAGATTTGGTTCACGAGGACCATGACCAGTATGCGCCCG
100386650 F 0-9:A>T-9:A>T	nnxnp	280	#N/A	TGCAGTGCATCAATCGCTTTGCTGAAGTGAAGTAGTGTTC
100400380 F 0-12:G>T-12:G>T	nnxnp	284	Contig1	TGCAGTGGCCCTTATGTTCTGTGATAGAAGCTCACAGGCAGCTGCATGGTGGTCACTCGTCCGATT
100337177 F 0-27:T>C-27:T>C	nnxnp	301	Contig1	TGCAGCGTCAAGGACGACGAGGCATGATGTCGCCCTGAAGCTCTGGGCGGTTTCACTGTCCTAT



**Tabla S15.** GL15 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100504738 F 0-16:G>T-16:G>T	hkhk	0	Contig25	TGCAGATCCTTCTACATAACTCGCAGTTTGTAAACAGGATTAATACCTGACATAGAAAGTCCGCGAGAT
100334088 F 0-11:C>A-11:C>A	nnxnp	3	Contig25	TGCAGCAGAAAATGGGAAGGTGGTGTGCAACTCGGAGAGCCTTACTCCGACGCTCGCAGGTGGACGG
100442074 F 0-43:G>A-43:G>A	hkhk	13	Contig25	TGCAGCATTGTATTCTGTTGGTCCAGGGTCCGCTCTTAATAAGAAAATCGCGGTGGTTGGCTCAAT
100232932 F 0-34:T>C-34:T>C	nnxnp	30	Contig25	TGCAGCTTACAAGATGCTTGAAAAAGTTTAGCTAACCCGCCACCACCCGAGCAGCTTTGTTGCCGAGAT
100450765 F 0-13:T>C-13:T>C	nnxnp	38	Contig25	TGCAGTTAATCTACTGATGTTTGGAACTCTGTACCCTTCCG
100458167 F 0-27:G>C-27:G>C	nnxnp	39	Contig25	TGCAGATGCTACAGAAATTAGCCTTTGCTATTGATTTATCTGTGTAGAGGAAGGAGGTCAACC
100477547 F 0-40:A>C-40:A>C	lmxll	42	Contig25	TGCAGTGGTCCGCTCGCTCTATTTATGACGCGCTCAGTCGCTCATCTTCTCCCTTCCCGTGGGA
100392722 F 0-17:G>A-17:G>A	nnxnp	45	Contig250	TGCAGCATCAAAATCGAAAAAACAACAGGGAGGCGCAGAAAGAAATAAGAGTCAAGCTGAATTAACGTTGAT
100374389 F 0-34:C>A-34:C>A	lmxll	47	Contig25	TGCAGTAATCAACATGCAATAATAGCACACTCATGTAATAAAGTAAAGAGCCACCTACCTCGGTTGA
100464305 F 0-28:G>T-28:G>T	nnxnp	51	Contig25	TGCAGTCCATCGTCCGAGCGGATGGCTCAGGCCGTCAGAAAGGAGCCGCGATGGGGCCCTCATCC
100450577 F 0-15:C>A-15:C>A	nnxnp	51	Contig25	TGCAGTAAAGATCGACGAGCTTCGAGCGAAGCACCCCG
100272852 F 0-21:A>G-21:A>G	lmxll	54	Contig38	TGCAGTAGCATTCTGGCTCGGTGCGCCG
100433586 F 0-23:T>C-23:T>C	nnxnp	56	Contig25	TGCAGTCGGTTTTGATTTTTCTCCGCTCGATTGGTTGCAAAACAGGGAGCTCGCAGGGGCTTCTC
100499573 F 0-18:A>G-18:A>G	lmxll	57	Contig28	TGCAGCAGACTCTCCCGCTCAGAAAGCTACACGCTCCCTCCGCTAACGGCCCTGCAACGGCG
100419601 F 0-24:T>C-24:T>C	nnxnp	61	Contig67	TGCAGTTGCTCCTGCTGATCTGAGCCAAGCAAGCGGTAGAAAGCTGATCTCTGCTGAAACGAAACGGC
100435213 F 0-43:G>A-43:G>A	lmxll	62	Contig250	TGCAGGTGCGAGCGGGATCCAGAGCGCCATCGCGACTGCAACGCTCGTTCAACGCGTCCAAAGGTA
100408172 F 0-28:C>A-28:C>A	nnxnp	66	Contig25	TGCAGTGAAGCGCCCTCTCTCTCTGGAACACCATGGCCCCGCGC
100356994 F 0-9:T>C-9:T>C	lmxll	68	Contig25	TGCAGTCTCTGAACCGCCCAACGATTCCG
100492825 F 0-16:A>G-16:A>G	lmxll	71	Contig25	TGCAGTGTACACATGCATACCTCTGTGCTGCACAAATCTTCCGACACTTGAGGCGTGTGAGATC
100399542 F 0-60:T>C-60:T>C	nnxnp	73	Contig25	TGCAGTCGCAAAATGCAACATCTTCTGCTTCCACGTAACCTCAAAATAGGTGCTCCCTCCACT
100390170 F 0-19:C>T-19:C>T	lmxll	73	Contig25	TGCAGAGAATGAAGATGGATAAGGCTCGGAGCATGTTCAAAGTTCAAGGCTTGTGTGAGCA
100503286 F 0-18:C>T-18:C>T	lmxll	76	Contig25	TGCAGGATGCCATACCATGCCATCCGATTCTCCGCTACATGTTTTGCACAGAAAACAGTTCGTCTG
100387043 F 0-35:T>C-35:T>C	lmxll	76	Contig25	TGCAGTTGGGAGAGCACTCTGCCTCCCGTGCACAGCACCG
100410681 F 0-54:C>T-54:C>T	lmxll	76	Contig25	TGCAGACAGTTGGCGACGGCGGCTCCATGCTGTGGGGTTGCCGCTGTACTTTCTGTCGGCTCTGC
100476877 F 0-43:C>G-43:C>G	lmxll	79	Contig458	TGCAGTACAGTACAGCTTTCTTTGAGTCTTCTGAGTACCAGTGGCATTGCTGACAGCTGCAGGG
100376688 F 0-30:T>C-30:T>C	nnxnp	81	Contig25	TGCAGTTCAGAAATCTTCATGCTACGTAGCTACGTGCGCATGTATGGCCACGCTCACGGCTCTGCA
100450133 F 0-34:A>G-34:A>G	lmxll	81	Contig25	TGCAGGTGCGGGTCTGTGTCGGGGGAGGGGGGGGGCTTATAGTGGGGCTCCG
100220850 F 0-63:G>A-63:G>A	nnxnp	83	Contig25	TGCAGACAAAGCAGCTGATCATAGTCTTTCTTTTACCAGTCGTTGAAAGATCTGAGAAATCAT
100499717 F 0-11:C>T-11:C>T	lmxll	84	Contig25	TGCAGTCCGTTGAAAGGAGAAAGCGGAAATCGAATGTCGCTCCAGCAAGGCAACCCGACTTCCA
100494829 F 0-29:A>G-29:A>G	nnxnp	87	Contig25	TGCAGTAGTGCACTGTAGACTGATTGGCTCGTGTCTATGGGCGCTCATATGTAGCATGCGCATA
100494831 F 0-39:C>A-39:C>A	nnxnp	87	Contig25	TGCAGTAGGTGACCTGTAGACTGATTGGCTCGTGTCTATGGGCGCTCATATGTAGCATGCGCATA
100430678 F 0-29:T>G-29:T>G	lmxll	89	Contig25	TGCAGTCTTCACTTGTGATAGTCTAAAGCGAGGGTATGATAGAAATTATTACCTGTATTATTATC
100422028 F 0-5:A>G-5:A>G	nnxnp	93	Contig25	TGCAGGTATGACACGGCAACGGCGGATCCG
100468773 F 0-58:G>A-58:G>A	nnxnp	96	Contig25	TGCAGATCCGAATGATCTTCTATGCCCTACTGCTGTGTGTCAGCGGCCATGTTACCCGAGATCG
100499227 F 0-40:C>T-40:C>T	nnxnp	98	Contig25	TGCAGTGAATGGGACAAACGAAAGGCTCAAATCGCATATGTACAGGACGGCGCCCG
100433641 F 0-14:T>C-14:T>C	lmxll	98	Contig28	TGCAGTCTAAGCTTCTCTCATCTTTTTCATATCACTTGTCTGTTCTTTAGCTTTGCTCCATCTT
100338899 F 0-38:G>T-38:G>T	nnxnp	103	Contig25	TGCAGCTTGAATACGGCTTCCGCTCCTGATGCTCTGTCGAAAGCGCTACGGGTGATGGCTCTCC
100439088 F 0-16:G>A-16:G>A	lmxll	104	Contig25	TGCAGTTGAGGCTTAGACCAATTGATGCTATGCGACAAGCTCTGTGGGCCG
100342938 F 0-13:T>G-13:T>G	nnxnp	107	Contig25	TGCAGTCCGCTGGGTGCGGGCGGAGGAGGGGTAGGAAGGGGAAAGCGGGGAGGTGGTTGGTTATA G
100496351 F 0-61:C>T-61:C>T	lmxll	110	Contig25	TGCAGCTCGGCACCTTTTGCAGAGGGTACGTACGAGAGCTTCTGTCGCGACGCTTTTCTGAAAGC
100457845 F 0-24:G>C-24:G>C	nnxnp	111	Contig25	TGCAGACACAGAATCCAGCGGGTCCGATCGCCG
100457844 F 0-12:G>A-12:G>A	nnxnp	111	Contig25	TGCAGACACAGAATCCAGCGGGTCCGATCGCCG
100191586 F 0-5:T>C-5:T>C	nnxnp	117	Contig25	TGCAGCTTCAAATAGCAACAGCCG
100472880 F 0-40:C>T-40:C>T	lmxll	119	Contig25	TGCAGATCTGTTGATCGACAGGGAGGTCGCTCTTCACTGCGCTTCCAGCCG
100463395 F 0-65:C>T-65:C>T	lmxll	120	Contig25	TGCAGGCTCGGTTCCGAGATGCCAATGACGAGAGAAAGGATGAGGACGGAGGAGTACCTGTG
100391466 F 0-40:G>C-40:G>C	lmxll	120	Contig826	TGCAGATGGCGCCTGCACGGATGACGCGGTATGCTGTCTTTAGGTACTTCTACGTGATAAGTAT
100441048 F 0-38:T>C-38:T>C	nnxnp	121	Contig25	TGCAGATCATGTATAAATAGAGGAACTCAAAGTATGCGGTACGAGATTAGCCATGTCTCACATGG
100471044 F 0-12:C>T-12:C>T	lmxll	122	Contig25	TGCAGTACAAGTTGAGTCACTGGCTAGATCTAGCTGAGCCCGCTGCTCTGCTGCTCTGCTTCCCA
100492579 F 0-35:G>A-35:G>A	lmxll	124	Contig25	TGCAGTATATCATGGCTCCGAGCTTGTCTCTTCAATGTTCTCTGCTGAGCGCCTTGTCTTAC
100377068 F 0-28:T>C-28:T>C	lmxll	125	Contig25	TGCAGTTGAGGTTGGCGGTGACGACTCTCCGCGGGGGCTCCGTCGCTTGCAGTTGATAGGAAAGA
100422145 F 0-15:T>C-15:T>C	nnxnp	126	Contig25	TGCAGTCCGAAATGCAAGTTTCTTCTGTCACCG
100389600 F 0-68:T>C-68:T>C	lmxll	127	Contig25	TGCAGACAACAGCAGTGAAGATTATCATAGTCTCTTCTTCTTCCAGTCCGTTGAAAGATCC
100482191 F 0-65:T>C-65:T>C	lmxll	132	Contig25	TGCAGTTAGCTTGTGATGATCTTGGCTGTTCCGCTGCTTCTGTCATCAGGAGACTGCAAGGACGAG
100195420 F 0-14:C>T-14:C>T	nnxnp	137	Contig25	TGCAGTTAGGAGCATTAGATCTGGCCG
100304458 F 0-23:T>A-23:T>A	lmxll	139	Contig25	TGCAGTTGGTTGGCGCGTCTGATTTCTTTGGCTAGCTCGCAGCGGGCATGTTGAGTAGTAG
100499190 F 0-22:G>A-22:G>A	lmxll	142	Contig25	TGCAGGCTCAGCTCCGTGACGAGCCCGCGGCTGCGACGACAGCCCTTCCACCG
100424656 F 0-43:T>C-43:T>C	nnxnp	144	Contig8	TGCAGGTGCGCTCGCTCGTGGCTTCCCTTCCGCTTCCAGCAACGTTGCCCCG
100444857 F 0-17:G>A-17:G>A	nnxnp	148	Contig8	TGCAGGTGCGCTCCAGCATGGCGGAGCAGCTGCTTCCCCCAAGCCGTGCTCCAGGGCCCTACGCT
100477112 F 0-56:C>T-56:C>T	lmxll	149	Contig25	TGCAGTCAAGAGTGAAGTCAAAAAGTGGGAGATGAGAGGGAGCCCTCCGCTTCTGCCAGCAGCT
100482993 F 0-12:G>A-12:G>A	nnxnp	151	Contig8	TGCAGCATCTTCACTCCGACGCG
100403772 F 0-25:G>A-25:G>A	lmxll	154	Contig25	TGCAGAAGCGCGCAGATGGGATCAACGCTCAGCCG
100194237 F 0-53:G>C-53:G>C	nnxnp	154	Contig8	TGCAGGTGCGCGGACGGCGGCGCATGGCGATGAGAAAGTGGTGAAGTGGCCCG
100417385 F 0-48:C>A-48:C>A	lmxll	159	Contig25	TGCAGGTTCCGCTTGGTGGCGGGGAGGAGGGGGTAGGAAGGGGAAAGAGGGAGGTTGTTGTTAT A
100509025 F 0-45:G>A-45:G>A	nnxnp	159	Contig8	TGCAGCATCTTACCCCGACGCCGTTGTCGGGACATGGTATCAACAGTACAAGTCCGCGCCGAC

100477210 F 0-68:G>T-68:G>T	lmxll	161	Contig25	TGCAGTCCCACCGCAGCACAGCACGCATCCTTCCCTCCTCCGCTCCTCTCTCCCTCGACAGCCACCGCT
100489305 F 0-59:A>G-59:A>G	lmxll	161	Contig25	TGCAGGCATGGACGGCACGGGTGGAGGTAAGAGCTGTGGGTGGATGTACATGGTGCACGTGGATCAGC
100481804 F 0-54:G>A-54:G>A	lmxll	166	Contig25	TGCAGTCCTCTGCGCCCTGGTGGCGGTCCAGGCGGCGGTGCTCCTCGCCTCCGTATCGTCGGCGCAGGC
100511491 F 0-8:A>C-8:A>C	lmxll	169	Contig25	TGCAGGCCCTGCACCTCGTTGACGTGGAGAAGCAGCGTCAGGCCGCAGGCGTCGGTGTGTGGCGACAGG
100470397 F 0-26:T>C-26:T>C	lmxll	172	Contig25	TGCAGGCGGAGCTGCTCGTAGAAGCTCTTGATGAAGTTGGTTGCCTTGGCGTCCACGCGCTCGTCGACG
100459688 F 0-20:G>C-20:G>C	lmxll	180	Contig402	TGCAGTCGGAGGAGGACCACCCGCTCAAGGAGGAGCCCG
100445317 F 0-7:T>C-7:T>C	lmxll	190	Contig25	TGCAGTACGCAGGTCCCAACGAGTCATCGCACTTCGCAAAACACGGATAAATATGATTATTGGAGCA

**Tabla S16.** GL16 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100450729 F 0-40:A>T-40:A>T	hkxhk	0	Contig25	TGCAGTGGGCCACGAAGAGCGCTGAGGGGAAAACGCGGTAGGAACCCG
100381138 F 0-22:T>A-22:T>A	hkxhk	15	#N/A	TGCAGAATCAATAGCATTAGCAATGCGCACCG
100389277 F 0-13:G>T-13:G>T	hkxhk	49	Contig25	TGCAGAAGCATATTGTTGTTTTGTGGTGTGATCTTATCTGACAACCTCGTTGCGTAAGGGATTCAACGA
100359544 F 0-20:C>T-20:C>T	nnxnp	82	Contig3	TGCAGTGACCGCGCTCCGTTTTGCCGACCCGCGCTCCG
100505461 F 0-19:C>T-19:C>T	nnxnp	84	Contig3	TGCAGATAAAGAGAGCAGATGTAGTAGTATTAGTATGGCCACCTCGGTATCATGCACTGCTATGCTC
100478566 F 0-40:C>A-40:C>A	nnxnp	84	Contig38	TGCAGCACACGAGAGTCTGCCCGCGCTTACGGGCTGAGCTCCG
100505463 F 0-67:G>T-67:G>T	nnxnp	84	Contig3	TGCAGATAAAGAGAGCAGATGTAGTAGTATTAGTATGGCCACCTCGGTATCATGCACTGCTATGCTC
100376012 F 0-61:C>T-61:C>T	nnxnp	88	Contig3	TGCAGTGCAGCTTGAGCACAGCCCTTAGGCGGAAGCTAACATCCAGAGACGCTGTGGATGCGCAGC
100399498 F 0-52:G>T-52:G>T	lmxll	111	Contig285	TGCAGTCGAAGTCTCTCCCTCTCCCTCTACCTCTCACACGCTCCCTCTCGCGTCTACGTCT
100456647 F 0-42:T>C-42:T>C	lmxll	112	Contig25	TGCAGTGTGTGCTCATGAACGTGGGTGATCAGTGTACCGTCTCGTACGCTCTCCGTTTTCCGC
100390170 F 0-55:G>C-55:G>C	lmxll	113	Contig25	TGCAGAGAATGAAGATGGACAAGGCTGCTCGGAAGCATGATTTCAAAGGTTACAACCTTGTGTGAGCA
100329305 F 0-20:T>C-20:T>C	lmxll	119	Contig25	TGCAGAAAACGATTTGACCCCGCTTTCCGAAACTGCCAGTTTAATTTAACTACGATGCAATTTTGT
100365752 F 0-24:C>T-24:C>T	lmxll	126	Contig25	TGCAGATGCCAATCAGCCGAAACTGAAGTGTGATGCACGTACACCAACAGTACTGTATTAATTATA
100480220 F 0-31:A>G-31:A>G	lmxll	128	Contig25	TGCAGATCGTGGTCAGGAAGTAGGACACTGCACGCTGTTTCGCGTTGAATTCACAGCTCCATCCTC
100486048 F 0-61:G>T-61:G>T	lmxll	131	Contig25	TGCAGTGCAGCTTTGCGCACGCGCTTCCGTTCCGCAACCCGCAAGTCCGCGCCACCGCTCTCTGGC
100503162 F 0-11:T>C-11:T>C	lmxll	135	Contig25	TGCAGCTCCAACGCGCGGTGACAGCCGCACTGTCGCGTCCACCTCTCTAGCTTCTTACCACCTCC
100490102 F 0-52:T>A-52:T>A	lmxll	138	#N/A	TGCAGTGCACATTTGACAGAGACGAGAGTGTCTAAACTGGATGCCCTGCAAGGCTAGCTGCCTTT
100506119 F 0-12:C>T-12:C>T	lmxll	142	Contig361	TGCAGCTGTGTTTTATGCCAGTTGATCGTGTGGTGTGTAGCAATAACCG
100382500 F 0-16:G>C-16:G>C	lmxll	150	Contig25	TGCAGCAGCATCGCTCCGTTGGCGATCTGCCG
100495299 F 0-33:A>C-33:A>C	lmxll	155	Contig25	TGCAGTTCCGCGCTGCACTGCCGTGACGTAGCCGACGAAGCCGACGACAACGGTATGAGCCCCAGG
100404623 F 0-37:G>A-37:G>A	lmxll	155	Contig25	TGCAGATTGTATGTAGCTTTCTTTATGTAGCCTCATGCTGTTGCACGTACCG
100404622 F 0-29:C>G-29:C>G	lmxll	155	Contig25	TGCAGATTGTATGTAGCTTTCTTTATGTAGCCTCATGCTGTTGCACGTACCG
100460516 F 0-42:A>T-42:A>T	lmxll	160	Contig25	TGCAGAAGATGGTATGATCCAGATCGGAAGAGGTGACGATGGGGAACACTCCCTCCGCTCCGCT
100319893 F 0-20:C>G-20:C>G	lmxll	163	#N/A	TGCAGCTCAATCGTTGACGGGTTCTCCAGGGCCG
100438365 F 0-19:C>T-19:C>T	lmxll	169	Contig25	TGCAGGTGGACAGGTTTGTGAGGGCGTGTGGAACAGCTACTTCGGCCG
100428645 F 0-33:C>T-33:C>T	lmxll	177	Contig25	TGCAGCAAAGAGAGGAGCTCCGCGCAACTCTTGGTAACCATGAGAGGCGGAGTCTGTTGCCCTCAACGT
100454156 F 0-42:T>G-42:T>G	lmxll	190	Contig826	TGCAGCTGGTGCAGAACTCGAAAGTCGATCGGTGGACAAAAGACGATCTGGTAATCGGTGCCGACGG
100496450 F 0-52:T>C-52:T>C	lmxll	225	Contig887	TGCAGGCGAACTGAACTTGAGGATTGTTGCGCACGGTTGCATTGCCATCGCCGACTCCGACCGAGATC
100496449 F 0-7:A>G-7:A>G	lmxll	226	Contig887	TGCAGGCGAACTGAACTTGAGGATTGTTGCGCACGGTTGCATTGCCATCGCTGACTCCGACCGAGATC
100399775 F 0-53:C>G-53:C>G	lmxll	250	Contig25	TGCAGTCTGCCAGAGAGGAAACATGTCCAAGTTGAACTCACGACGTGCGTTGGGTGACGATCTATG

**Tabla S17.** GL17 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100492182 F 0-68:G>A-68:G>A	nnxnp	0	Contig502	TGCAGGCAAATTCATATGGCAAGCAAATATCTCATGTCTAGTACTGGCCGTGCATCTTCATGTTTGGAA
100425095 F 0-21:G>A-21:G>A	nnxnp	4	Contig12	TGCAGTCAGCAGGCAGAAAATACCGAGACATGTATTTCAGACCCGCCG
100374412 F 0-47:G>C-47:G>C	nnxnp	8	Contig12	TGCAGTACAACAGTGGAGGAGCAGTGCAGCGGTGGAAGCGAACCGACGCGTCTCCCTGTT
100357747 F 0-31:C>T-31:C>T	nnxnp	12	Contig502	TGCAGGCCAATTCATATGGCAAGCAAATGTCTCATGTGTAGTACCGCCCG
100436383 F 0-39:G>A-39:G>A	nnxnp	18	Contig12	TGCAGATCGCGGCAGAACAAACAGGAACGAGCGGGTTGAGCTCCG
100486392 F 0-28:G>C-28:G>C	nnxnp	23	Contig12	TGCAGTTCTGTTTATGCAATAATTCATACAGTCACTCACTCGTCAATTTATGAGGACCTAAGTTGGATG
100408308 F 0-8:T>G-8:T>G	nnxnp	26	Contig1134	TGCAGTGCCTGTTTCCATGTCTGGGCAGCAGAAGAAATGGAGATCGAGACCG
100450813 F 0-34:C>T-34:C>T	nnxnp	29	Contig12	TGCAGTTCTCAGGCCGACGCCCTCAGGCGCATGTGCGGCCATGGACGCCGAGGTCCG
100496112 F 0-26:A>C-26:A>C	nnxnp	30	Contig12	TGCAGATACATGATACTGTATAACCCCAATACATAGCAAAGATCGATTTCAGGCGTTCAATTGAGAAACA
100464895 F 0-46:T>C-46:T>C	nnxnp	34	#N/A	TGCAGTGTGGGGCTCAGTGTGGAAAGAAAGATTGTTTCAGGCACCGTTTCAAGCATAGGTCTCACA
100463052 F 0-43:A>T-43:A>T	nnxnp	41	Contig12	TGCAGGAGGGGATTTCATCGGTTCAAGAAAAGAAATTCAGACGGTGGGAGATGTATGCAAGTATGCCGAG
100461842 F 0-7:C>G-7:C>G	nnxnp	44	Contig44	TGCAGCAGACGTAACCCAGTTCCTCCGTCGACGCGTGGCGGCCATCCAGGAGGAGTGTGTTAGT
100303918 F 0-19:G>A-19:G>A	nnxnp	44	Contig139	TGCAGTTCTGTAGAGTTCACCCGACAACCTGTGACAGCGGCAACACTTGAGCTCTGTGAGGATGTGGT
100470449 F 0-21:T>G-21:T>G	nnxnp	44	Contig765	TGCAGGCTAGCTCATATTTAGGCTAAGTCAATGATACAAATGTTGCGATTGCTATAAACGGGCTGAAG
100458892 F 0-16:T>G-16:T>G	nnxnp	47	Contig12	TGCAGTTGGACGGGTGCACGGTGACACGCACGCCG
100417377 F 0-62:C>T-62:C>T	nnxnp	60	Contig12	TGCAGTTTCAATTTTGTGAGGGTGTCTGGAAGCTGACATCTTATGTCAGGTCTGGTCTCTATTTTT
100435042 F 0-52:A>G-52:A>G	lmxll	62	Contig12	TGCAGTTTTGGAGCAAGCACTCGTGACAGACAGTACAAGAGCACAAAATTCGGGGTGAAATAACGAACG
100487018 F 0-34:G>C-34:G>C	lmxll	69	Contig12	TGCAGATGCTGACCATGGACGTGAGGGTACCGTCCAAGCCAACCTCGAGTTTTACCCG
100468458 F 0-43:G>C-43:G>C	lmxll	69	Contig12	TGCAGACATTTCCCTGTTCAAATGCTGTAGCTCGCAGACGGAACCTACTTGTGTAACCTGTAACCTT
100317056 F 0-17:T>C-17:T>C	nnxnp	69	#N/A	TGCAGATTTTCCAGACAAGATGAAAATGCCAAACCG
100487016 F 0-12:C>T-12:C>T	lmxll	70	Contig12	TGCAGATGCTGATCATGGAGTGGGGTACCGTCCAAGCAACTTCGAGTTTTACCCG
100479770 F 0-12:A>G-12:A>G	nnxnp	72	Contig12	TGCAGTCGGTTAGGCTCATGCTTCTACGCGCAATGGTACCCTGACGCGTAGCATGCGAACGAAGA
100470051 F 0-16:G>A-16:G>A	nnxnp	74	Contig12	TGCAGGAAAAGTCAATAACTGAGCTGGAAGTATAAGAGAGAATGAGAGATTGTAGTCGGCGACAGAGAC
100272376 F 0-5:G>A-5:G>A	nnxnp	78	#N/A	TGCAGATGACCAAGGATCTAGCTGACAACCTGCCG
100448414 F 0-7:C>T-7:C>T	nnxnp	82	Contig12	TGCAGATTACGGCTCCAGAAGCAGTGTAAATTTGTTCATCAGCAGACCG
100427534 F 0-20:T>C-20:T>C	hkxhk	90	#N/A	TGCAGACTGCAACCGAGCGCGTCAAGAACTCAAACTCAAGGCTCACAAAGCTCTGCTGTGCTGCCACCAC
100506283 F 0-48:A>C-48:A>C	nnxnp	114	Contig943	TGCAGTCGGGGTCTGCGCCGTAGAACCACGACGTGGATGCGCTCGAACACGCCCGTTCAGCGCCTGCT
100506282 F 0-19:A>G-19:A>G	nnxnp	114	Contig943	TGCAGTCGGGGTCTGCGCCGTAGAACCACGACGTGGATGCGCTCGAACACGCCCGTTCAGCGCCTGCT
100363637 F 0-8:T>C-8:T>C	nnxnp	123	#N/A	TGCAGAAGCGATTATATGGCTGAACTAATTCGTTACCATCCTTAGGATAGAACAACAATTGCAGCTGT
100438310 F 0-25:A>G-25:A>G	nnxnp	125	Contig12	TGCAGGTGACGGTGTTCGAGGGCAGGTTCCGGTACGTGCCGCCG
100506251 F 0-7:G>A-7:G>A	nnxnp	128	#N/A	TGCAGGTACGTCAGCGACGCCG
100436347 F 0-16:C>T-16:C>T	nnxnp	132	Contig12	TGCAGATCACGCATTTTGAACCTCGTAAATGGAGGGTATAAAACCCG
100359963 F 0-36:C>T-36:C>T	nnxnp	132	Contig929	TGCAGTCCGACTTCTAAACATATACTGACTGTTGTTGATAATTTCAGTTCCG
100345345 F 0-41:A>G-41:A>G	nnxnp	171	Contig573	TGCAGTGGAGCGAGGTGGCTGGACCAAAATTCAGGAGCGCGCCATGGCTGTGGCTGTGAGGAAA



**Tabla S19.** GL19 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100287704 F 0-41:C>A-41:C>A	hxxhk	0	Contig415	TGCAGATGAGTGTGGCAAGTGTGCAATATAATAATTTATCTGATGCAGAACCTTCTCCAATTG
100359565 F 0-16:C>G-16:C>G	nnxnp	19	Contig8	TGCAGTGTCTGCTCGGCATCTGCTAGTACAAGACCAGCCAGCCAGCCG
100451132 F 0-10:A>G-10:A>G	nnxnp	22	#N/A	TGCAGTGGCCGTTCCCAAAGCCG
100432354 F 0-21:C>T-21:C>T	nnxnp	29	Contig8	TGCAGGTCTGCTCCCCGCTCTCACTCCACTTTCTTGAGATCTTTGGGTTTTCTGGCATGTGGATG
100509750 F 0-11:G>T-11:G>T	lxxll	32	#N/A	TGCAGGTGCGTGTGGCTCACTACCTGAGGCCG
100398530 F 0-68:T>C-68:T>C	lxxll	38	Contig481	TGCAGTTTTCTGGCTGGCGCTTTGGGCCACGGCAAGGCAAGGCATGCAGTCCGCAGAGCATGCAGC
100419831 F 0-33:C>T-33:C>T	nnxnp	42	Contig8	TGCAGTTTGGTGTGCCTAGAGCATAACGCATGTGCATTGATCATCGCTTGGCCCTTTTGTGATACC
100409860 F 0-23:A>C-23:A>C	lxxll	46	Contig8	TGCAGCCCAAGGACCAGCGCGCCGCGCCTCGACTCCCGTCTCTCGCGTCCAATCCCCGCCGCGCCG
100428153 F 0-40:C>T-40:C>T	lxxll	49	Contig8	TGCAGATCCGAGATAATGAAAGCATCTACCGAGACCAGCTGAGGATCGGCCGTTCAACCGTGGCGTGC
100463932 F 0-50:C>G-50:C>G	lxxll	57	Contig8	TGCAGTACTCAAAGTAAAGTTTCATTGCAAAATCAAATTAACGGTGCATGATAGTATATCTGGACAT
100439733 F 0-31:A>G-31:A>G	lxxll	60	Contig8	TGCAGTTAGCACCCATATATGGACATTTCCGCGTCTACCTGGTGTCTGATTGTAATCCGTTGGCATTTC
100441632 F 0-51:G>T-51:G>T	nnxnp	64	Contig8	TGCAGCAGATCTCCACCAGGTTGTACGGGATCTTCTCACCTGGTCTTCCCGTATCGCCGTTG
100461492 F 0-34:G>C-34:G>C	lxxll	67	Contig8	TGCAGATTAAGAAAGAACCAACCGAATACGCGCCAGTTCCAATATTCCGGACAGATATTCTCCGA
100488430 F 0-52:T>G-52:T>G	lxxll	70	Contig8	TGCAGATAATTGGACCGAGTAATTGGAGCACAAGTTAATTAACCAAGAGGCGCGGACGTCACGAAGCCG
100389966 F 0-6:C>A-6:C>A	nnxnp	71	Contig8	TGCAGCAGCCGAATCCAAGGGTGCCTACTACATCAGCCAGCTGCTCTGTGCGGACAAAGTATCCGTC
100476233 F 0-63:A>G-63:A>G	lxxll	73	Contig8	TGCAGGCGAGGACAGAGGCTTCTTCTGAGGAGCAGATGGCGTGGCAGCAGTACGGGCAGCAAAGACCAG
100482866 F 0-43:A>G-43:A>G	nnxnp	77	Contig8	TGCAGATGAAGTCCATCGCGTGGCCGCTACTGCTGCGCCACTCGGTGGAGCTCGTCCCG
100446212 F 0-46:C>A-46:C>A	lxxll	77	Contig8	TGCAGTGCCTTGTCTGATTATCTCTAAAACCAAAACACATACAATTTCCAGAAAATGAAAGGCC
100471315 F 0-7:A>C-7:A>C	nnxnp	79	Contig8	TGCAGTCCGTTGTTAAGTCCCTGTTGTAATAGTTACCTATACTAGTAGCATGAGTAATCCATTGATCC
100426863 F 0-23:G>C-23:G>C	nnxnp	82	Contig8	TGCAGAACAGGCAATCAGGCGGCCGAGCCAGCCCGACACCACCCGACCCGACACGCCTTCCCGCTGC
100488299 F 0-40:A>G-40:A>G	nnxnp	84	Contig8	TGCAGACAATGTTGCACCACCGTTGAGCACAATGTTGAAGTCTTGGTCTCGAAAGGAACTCTTCT
100434526 F 0-60:G>T-60:G>T	lxxll	85	Contig8	TGCAGTTCACGCCAAGACGGGCGACTCTACATCGCCAGCGTACCACGGGCTCATGCTGTGGGCC
100498822 F 0-31:G>C-31:G>C	nnxnp	86	Contig8	TGCAGTCTGAATGTTCTTTGCCCGTACTTCCGCCATTGGTAACCATCTTGTGTGGGCGGAGGATG
100195149 F 0-27:C>T-27:C>T	lxxll	97	Contig8	TGCAGTGGTGGGGCGGCTAGAGTCTGCGCGCCGCGCCG
100220185 F 0-30:C>T-30:C>T	lxxll	106	Contig8	TGCAGAGATGAATGAATCGAACTAATAACTCAAGAACGCGAAAGTACTGAAAGGCTACCACGAGCA
100337695 F 0-17:G>C-17:G>C	lxxll	113	Contig8	TGCAGCTCAATTTCTCCGTCGTTATGCAGATTGGTTCGAGCTCGTGAAGTCTTGTGAAATCTCATTGA
100467290 F 0-45:G>C-45:G>C	lxxll	117	Contig8	TGCAGGTCGAGCGTGAGTGTGCTGGTGGCCGTTCAACCCGTTTTCTCACGAGGCCACCG
100492425 F 0-44:T>G-44:T>G	lxxll	124	Contig8	TGCAGGTTGAGCGTGTATACGGCGCATTGGGCTGGAGATTATCGCGAGCTGCAGAAATCCTTGTCTCGCA
100330872 F 0-37:A>C-37:A>C	nnxnp	131	Contig915	TGCAGACGGCCACCAAGATCGTGGCAGCCTCTGGCCCCACAGGAGAGCCGCAAGAGGACCAGCAGC
100363104 F 0-47:A>G-47:A>G	lxxll	133	Contig25	TGCAGAAAGAAATCAGGCCCTTCGTTGAGATATAGAATCGAAAAGGACGCTACTCCCTGTGTTTCATCAC
100454224 F 0-17:C>T-17:C>T	lxxll	137	Contig8	TGCAGCTTCTGAAGTTGTTCTGGAATGTCTTTCAAAGCATTGCCGCGAGTAGCTTTGCGCAGTTGT
100294602 F 0-7:G>C-7:G>C	lxxll	140	Contig8	TGCAGTCCACTGCCTCTCGCTCCGACGCGGACGACGCGCCATGTCGCCAAGGAGAAGTCTGAGC
100321792 F 0-6:C>T-6:C>T	lxxll	148	Contig8	TGCAGGTGGGTCGCTGCTGCTGCTCCCTGAGCCG
100401627 F 0-17:T>C-17:T>C	lxxll	173	Contig8	TGCAGTTTTACGCCCATACGGGGCCAGCTCGCAAATGTCCCGTAACGTAACAGCTTTAATTAG

**Tabla S20.** GL20 del mapa consenso. Se muestra el nombre de cada SNP (Locus), tipo de segregación (Segreg.), la posición en cM dentro del GL, el contig del genoma del cv. Victoria donde mapea (Sintenia) y la secuencia correspondiente.

Locus	Segreg.	Posición	Sintenia	Secuencia
100497702 F 0-12:C>G-12:C>G	nnxnp	0	Contig912	TGCAGGTAGCGGGCGTGTTCGCCAGGACAATGTTGCGCTTGAGCACATAGAAGCGGCCG
100330564 F 0-62:T>C-62:T>C	nnxnp	11	Contig6	TGCAGACATTGATCATGGAGGATAAAGTACCGTTGTGGCCTAGCCAGTGACGTCCTTGCAACTACTCT
100353864 F 0-11:A>G-11:A>G	nnxnp	14	Contig6	TGCAGATCACGGCCGGTTCGGAGCAGTCGCTGGTCCG
100371881 F 0-60:C>G-60:C>G	nnxnp	15	Contig6	TGCAGGCACCGTGTGCCGCTTCAATGGCAACAGTGGCATGCGAGGACACCTTCAGTACGCCAACCC
100355109 F 0-29:C>A-29:C>A	nnxnp	16	#N/A	TGCAGCCAGCAGCTTGTGGCGCGCAGCTAGTCCG
100399160 F 0-9:C>T-9:C>T	lmxll	19	Contig6	TGCAGTATGCTTTTTTTTCCAAGTCAGATAATTTAATATGATTGAGCTTGTTCGCTTATTGGGCTT
100508780 F 0-10:T>G-10:T>G	lmxll	24	Contig6	TGCAGTCTCGCCCGCCGCTTCAACCTCTCCGAGCTCACCGCCAGCTCGCCGCAAGGGGCTCG
100399534 F 0-24:G>C-24:G>C	nnxnp	25	Contig6	TGCAGTCGATAACAGCTTCAACCTCCACTGTGTGATGTTCTCCGTAATCTTACTTCGACTT
100407100 F 0-26:G>A-26:G>A	lmxll	28	Contig6	TGCAGCGCGCTCCACTGGCCCTTAGAAGACGACGCGCGGGCGTGGCCG
100445169 F 0-59:G>A-59:G>A	nnxnp	32	Contig6	TGCAGTAAACAGCACAAACAAATATTGGTAAGACTCAGACATGAGCAGTGAGAAAAGTCAGGCAACGGC
100456695 F 0-18:A>C-18:A>C	lmxll	34	Contig6	TGCAGTACTGGGCTTGACGATCATCTGTCTAACAAGTTAGCCACCTGCTTCTCGGGCATATAAGC
100456343 F 0-59:G>T-59:G>T	nnxnp	36	Contig6	TGCAGTGCAGTTCAGTAATTTTTCAGTTCGCTACGTGCCCTCGAAAAAAGTTTTCGTTACGTGAAG
100343999 F 0-14:C>G-14:C>G	lmxll	37	Contig6	TGCAGTATTTTTAGCCCCAGAAATATGCTTAACTTAACTTAACTTAATTTTAAACAAATTCGTAGAGGG
100342598 F 0-57:G>T-57:G>T	nnxnp	38	Contig6	TGCAGGTGCCAACAAAGCACTGCTGCAACTGCCAAGAGACTGTAAGTCTTACTTTTTTCCCTCT
100445046 F 0-9:T>C-9:T>C	lmxll	39	Contig6	TGCAGGTTCCGAGCGACACTGTACAGCGTTACGTTCTGTTCCAGGAGAAGAGCGGAGTTAGCGAC
100455630 F 0-36:C>T-36:C>T	lmxll	41	Contig6	TGCAGTACAAGCGCATAAGCCGCTAGTACTATAGGCTGCACACGAGATTGACATTACATCAAAGGAAA
100366349 F 0-5:C>T-5:C>T	lmxll	42	Contig829	TGCAGTAAAGAAATGTTACGGGTCCTAATCTGTGCTCTCATGTCGCTGCAGTGCCTGGCTACGGACAT
100391882 F 0-43:C>T-43:C>T	lmxll	43	Contig829	TGCAGCAGCGCTTCATCTTCGCTGCCAGCTGCTTAAAGCTGAGGTTCCGTTGGCAGCGCGGAAAG
100444539 F 0-23:C>T-23:C>T	lmxll	47	Contig6	TGCAGGTAGATCTGGCTAGTAGTAGGCCAAACAAATCCTTGATGATGTCATAGTACGGGAACCTCG
100485939 F 0-54:C>T-54:C>T	nnxnp	47	Contig6	TGCAGTCTGCGCTCTCTCTGCTGCGCTCTGCTTGGCGTCTCTGTTAGTCCGAGTTCGACGA
100440284 F 0-55:C>G-55:C>G	nnxnp	50	Contig6	TGCAGACAAGCAGCTCAATTTTTTAACTTCCACTCATTACAGTTTACAACGTAGTTCAAGCGTC
100445008 F 0-43:G>A-43:G>A	nnxnp	52	Contig499	TGCAGGTTACACTCCCCTCAACGAAAATGCTGGAACAACCTACTACTCCAGATGCCATTACTCAGG
100481572 F 0-48:A>T-48:A>T	lmxll	53	Contig30	TGCAGTACAGTGCAGCCAGTGTGACAGCGACAGGTGTGAGCGGAGGTTCAACACAACCGATGACT
100429610 F 0-59:C>A-59:C>A	nnxnp	55	Contig6	TGCAGCTCGTTCGCGCTGCTTGGCGAGCAGAGATTGAAATGACGGTGGGATATGATTCTC
100398747 F 0-12:T>C-12:T>C	nnxnp	57	Contig6	TGCAGTACTCCCAGCAGCGCTCTGCTTTTTCTCCCCGTCAGTAAAGTAAAGTTCAAGCCGAGATC
100484333 F 0-25:A>C-25:A>C	lmxll	70	Contig6	TGCAGATAGGGAAGTAAACCCGCAACCCGACCCGCGCACAAAGACCAGCAACCGTTTGTACCATGAGCA
100359094 F 0-5:T>G-5:T>G	nnxnp	71	Contig6	TGCAGGACGCCAGCTTCCACCCGCTGAAGCCG
100494878 F 0-22:C>T-22:C>T	lmxll	76	Contig6	TGCAGTATAGTATGGTACGGTCTCTTGTTCATACGACGTTATCGTGTGGATGTCGCCACCCGAGAT
100407677 F 0-50:G>A-50:G>A	nnxnp	82	Contig858	TGCAGGTTCCGAGATTCTCCATGCCTTGAGGTTTCAATCAGATTGTACACCC
100418153 F 0-9:T>C-9:T>C	lmxll	82	Contig6	TGCAGTCTCCCCACATGATCATGTGATCATTCACTCAAATGGTGTCTCCCTCCATCATCACCTGCAG
100381870 F 0-22:C>A-22:C>A	nnxnp	84	Contig6	TGCAGATCGAAGCGCGGCTGGAAGAGCAAGCCG
100440238 F 0-21:T>A-21:T>A	lmxll	87	Contig6	TGCAGAATTCTATTGTATCATCTCCACTTCTCTTGTCCCTGTCTGATCTCTCAGCCTCCAA
100487925 F 0-7:T>G-7:T>G	nnxnp	90	#N/A	TGCAGTTGGTGGTCTGCTCCCGCAACCCG
100481148 F 0-47:T>G-47:T>G	lmxll	91	Contig6	TGCAGGCTACGCCGCTAGACGCGAGCAGCAGCAGTTCGCTGGCGACGGAGGAGGTTGGCCTG C
100403858 F 0-12:T>C-12:T>C	lmxll	93	Contig6	TGCAGACAGATCAGGATAAGGACAGACAGATTGTTGCTTTGATCTCTCCG
100135290 F 0-5:G>A-5:G>A	nnxnp	95	Contig6	TGCAGATATTCATCAAACCGAGTGTCCATGATGGAAGGAAATTCGTTGGAGTTTAGGAGGTCATA
100406209 F 0-27:C>G-27:C>G	lmxll	96	Contig6	TGCAGCTCGGTCATCTCGAACGGCCGAGGCTGCGGCACGAGGTCGCCGCCG
100433184 F 0-21:C>T-21:C>T	nnxnp	99	Contig6	TGCAGTCAAAGAAACAAACCATCAGGAGCCACACGAGTCAAATGAAACAGAAACAGAGCATCGCCG
100475988 F 0-44:A>G-44:A>G	nnxnp	100	Contig6	TGCAGCTTCTGTGCTATGGTGTAAAAGTGTGTTGGGTTGTGTTGGCGAAGTGGTTGTGGTCCAGAGT
100464939 F 0-59:C>T-59:C>T	nnxnp	101	Contig6	TGCAGTACGTTGGTAACTTTGTTTTGTTAAACATCTGTCTCCAGACAATGGGTTGATGATCATT
100482673 F 0-51:C>T-51:C>T	lmxll	101	Contig125	TGCAGTTGAGTGCAGATGGATGATACACGGGTCATGGGTTGTGAGGTTGGTTGAGCCCTCCAGGATCT
100492316 F 0-48:T>C-48:T>C	lmxll	105	Contig125	TGCAGGTACAGTGGAAACAGCAGCGCAATCAACTTGACCACCACCAACATCCAAAGGCATCCGAGAC
100488525 F 0-47:A>T-47:A>T	nnxnp	106	Contig265	TGCAGATCTCTCTTTGATCTGTGGTAAATGACATGCCATCATCAAATCACGCACACTGCACGT
100488524 F 0-67:C>G-67:C>G	nnxnp	106	Contig265	TGCAGATCTCTCTTTGATCTGTGGTAAATGACATGCCATCATCAAATCACGCACACTGCACGT
100399377 F 0-34:T>C-34:T>C	lmxll	109	Contig6	TGCAGTCCATCACATTCAGGACATCGAGTTCACAGTTGGAGAGGGTGTGCTCCATCAGCTCTTCC
100323282 F 0-44:A>T-44:A>T	nnxnp	110	Contig6	TGCAGATCCCAAAATTCAGTCTGCTGACCTGCACATCGGCAGCTGCGACCTGCTCCACGCCATGGCTA
100452337 F 0-8:C>A-8:C>A	lmxll	117	Contig6	TGCAGATAAGCGCCACCGTCAACCGCTCGTGGTCAACATGTCGGGACATACGCGAGCGTCCCGAGA
100476628 F 0-12:T>C-12:T>C	nnxnp	126	Contig6	TGCAGGTCGCGCCGCTCGAATCCGCGATCTGCTCCAGCTTGGTGGTATGTCGGTGTGCGAGCGGCAT
100370639 F 0-57:G>A-57:G>A	lmxll	130	Contig6	TGCAGCTGACTTTTTGTTTTTTTCTTGGACCTGTGTCAGCCATGATGTTTATGAGCTTAGTT
100132915 F 0-38:G>C-38:G>C	nnxnp	157	Contig6	TGCAGGCCAAAGCCATGTTGTTTTTTTGAACAGGCCAAAGCCATGTTGAGAGACTTACAGGGGGCCG
100396003 F 0-10:A>C-10:A>C	lmxll	164	Contig101	TGCAGTACCGCTGGGATACGACAGCAGGATGTTGTTCTTCTAGTGTATAGCAGTTTTATGTCAT
100386658 F 0-20:C>T-20:C>T	nnxnp	166	#N/A	TGCAGTGCACAATATGGCAATGTCCG
100486106 F 0-43:C>T-43:C>T	nnxnp	173	Contig6	TGCAGTGCTCACACATTGGGGTATGTCGTGTGCAACCTGCTATGGAGCAATTGGTGGCGTGCCTCA
100486899 F 0-24:G>T-24:G>T	nnxnp	178	Contig6	TGCAGAAGATCCAGAATTAAGCTTGGCTCGCTTGGGGTCCG
100478301 F 0-41:T>A-41:T>A	nnxnp	181	Contig6	TGCAGAAAAAGACTTTTGGTCCCTCACAGCATCACCTTATGACGAGCAGCCG
100471199 F 0-23:C>A-23:C>A	lmxll	183	Contig6	TGCAGATGCTTATAAAAAAATGCACAGCATGATGTTCTTCTAGTGTATAGCAGTTTTATGTCAT
100366032 F 0-5:A>G-5:A>G	hkhk	198	Contig6	TGCAGGTTCCAGGCTCCAGCAGTAAACGAAACCTTAGCCGCTCCCTTTTCGCAATCATTTTCCAT

**Tabla S21.** Lecturas obtenidas de la secuenciación de ADN para los contextos CG, CHG, CHH y 6mA de las 6 librerías de MCSeEd.

Contexto	Condición	Muestra	Lecturas
CG	control	aci_p7	4.538.818
	control	aci_p8	4.560.725
	control	aci_p9	4270546
	estrés	aci_p25	3300918
	estrés	aci_p26	2723856
	estrés	aci_p27	1425258
CHG	control	pstI_P1	11976190
	control	pstI_P2	11491359
	control	pstI_P3	13713767
	estrés	pstI_P7	9274007
	estrés	pstI_P8	11804537
	estrés	pstI_P9	4486793
CHH	control	eco_P10	7209734
	control	eco_P11	9304062
	control	eco_P12	9464417
	estrés	eco_P33	8140379
	estrés	eco_P34	9836931
	estrés	eco_P36	4748160
6MA	control	dpnII_P22	5867138
	control	dpnII_P23	7736523
	control	dpnII_P24	5048083
	estrés	dpnII_P37	3338573
	estrés	dpnII_P45	3451370
	estrés	dpnII_P46	676922



**Tabla S22.** Genes de interés diferencialmente metilados relacionados a la vía reproductiva, tomados de los 368 genes anotados. a) BabyBoom, b) Ubiquitinas, c) Fbox, d) SBT subtilisina

gen anotado seleccionado	nombre preferido	Anotación	estado metilación
a maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-54.34	BBM	AP2-like ethylene-responsive transcription factor BBM; Transcription factor that promotes cell proliferation, differentiation and morphogenesis, especially during embryogenesis	metilado CHH en 2kb aguas arriba
b snap_masked-ScA7Agc_718-processed-gene-40.291	BPM2	BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	desmetilado CG 2kb aguas arriba y cuerpo de gen
b snap_masked-ScA7Agc_73-processed-gene-0.20	ARI2	Probable E3 ubiquitin-protein ligase ARI2; Might act as an E3 ubiquitin-protein ligase, or as part of E3 complex, which accepts ubiquitin from specific E2 ubiquitin- conjugating enzymes and then transfers it to substrates; Belongs to the RBR family. Ariadne subfamily	metilado CG en cuerpo de gen
b maker-ScA7Agc_1967-snap-gene-43.511	BPM2	BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	metilado CG en 2kb aguas arriba y cuerpo de gen
b augustus_masked-ScA7Agc_1967-processed-gene-43.156	BPM2	BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	desmetilado CG en 2kb aguas arriba
b maker-ScA7Agc_1869-augustus-gene-0.131	AT5G66560	BTB/POZ domain-containing protein At5g66560; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	metilad CG en cuerpo de gen y 2kb aguas abajo
b augustus_masked-ScA7Agc_718-processed-gene-93.423	RHC1A	E3 ubiquitin-protein ligase RNF115/126; Probable E3 ubiquitin-protein ligase that may possess E3 ubiquitin ligase activity in vitro	metilado CG en 2kb aguas abajo
b maker-ScA7Agc_65-augustus-gene-37.208	AT3G50780	BTB/POZ domain-containing protein At3g50780; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	metilado CG en 2kb aguas arriba
b maker-ScA7Agc_1967-snap-gene-37.281	ARI8	Probable E3 ubiquitin-protein ligase ARI8; Might act as an E3 ubiquitin-protein ligase, or as part of E3 complex, which accepts ubiquitin from specific E2 ubiquitin- conjugating enzymes and then transfers it to substrates; Belongs to the RBR family. Ariadne subfamily	desmetilado CG en 2kb aguas arriba y cuerpo de gen

b	maker- ScA7Agc_253- augustus-gene-0.5	AT1G49230	E3 ubiquitin-protein ligase ATL10/75/76/77/78; RING/U-box superfamily protein; Its function is described as zinc ion binding; Expressed in 17 plant structures; Expressed during 11 growth stages; Contains the following InterPro domains: Zinc finger, RING-type (InterPro:IPR001841), Zinc finger, C3HC4 RING-type (InterPro:IPR018957); BEST Arabidopsis thaliana protein match is: RING/U-box superfamily protein (TAIR:AT1G49200.1); Has 9168 Blast hits to 9144 proteins in 279 species: Archae - 0; Bacteria - 0; Metazoa - 2452; Fungi - 610; Plants - 4926; Viruses - 41; Other Eukaryotes - 1139 (sou [...])	desmetilado CHH en cuerpo de gen
b	maker- ScA7Agc_718- snap-gene-22.565	SCE1	Ubiquitin-conjugating enzyme e2 i; SUMO-conjugating enzyme SCE1; Encodes a SUMO liagse that directs the attachment of the small protein SUMO to target proteins via an isopeptide bond. This enzyme is localized to the nucleus and plants with reduced levels of this protein show higher sensitivity to ABA in root growth inhibition assays. It has high similarity to the yeast UBC9 SUMO ligase and is sometimes referred to by that name	desmetilado CHH en 2kb aguas arriba
b	maker- ScA7Agc_1012- snap-gene-47.12	AT5G37910	Putative E3 ubiquitin-protein ligase SINA-like 9; E3 ubiquitin-protein ligase that mediates ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins. E3 ubiquitin ligases accept ubiquitin from an E2 ubiquitin-conjugating enzyme in the form of a thioester and then directly transfers the ubiquitin to targeted substrates. It probably triggers the ubiquitin-mediated degradation of different substrates	desmetilado CHG en cuerpo de gen
b	maker- ScA7Agc_718- snap-gene-114.496	NPR3	Regulatory protein npr1; Regulatory protein NPR3; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins (By similarity). Involved in the regulation of basal defense responses against pathogens	desmetilado CHG en 2kb aguas arriba
b	maker- ScA7Agc_1012- snap-gene-7.90	DDB1A	Damaged DNA binding protein 1A; Component of light signal transduction machinery. Involved in repression of photomorphogenesis in darkness by participating in the CDD complex, a complex probably required to regulate the activity of ubiquitin conjugating enzymes (E2s). Repression of photomorphogenesis is probably mediated by ubiquitination and subsequent degradation of photomorphogenesis- promoting factors such as HY5, HYH and LAF1. Plays a role in DNA repair by forming with DDB2 the UV-damaged DNA-binding protein complex (UV-DDB). Component of the CUL4-RBX1-DDB1-PRL1 E3 ubiquitin-prote [...]	desmetilado CHG en cuerpo de gen
b	snap_masked- ScA7Agc_73- processed-gene- 0.19	ARI2	Probable E3 ubiquitin-protein ligase ARI2; Might act as an E3 ubiquitin-protein ligase, or as part of E3 complex, which accepts ubiquitin from specific E2 ubiquitin- conjugating enzymes and then transfers it to substrates; Belongs to the RBR family. Ariadne subfamily	metilado CG en 2kb aguas arriba

b	maker-ScA7Agc_718-augustus-gene-49.433	AT3G26730	RING/U-box superfamily protein; Its function is described as zinc ion binding; Involved in biological_process unknown; Located in chloroplast; Expressed in 25 plant structures; Expressed during 15 growth stages; Contains the following InterPro domains: Zinc finger, RING-type, conserved site (InterPro:IPR017907), Zinc finger, RING-type (InterPro:IPR001841); Has 5292 Blast hits to 2238 proteins in 281 species: Archae - 3; Bacteria - 121; Metazoa - 1602; Fungi - 487; Plants - 437; Viruses - 6; Other Eukaryotes - 2636 (source: NCBI BLink)	metilado CHG en cuerpo de gen
b	maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-61.571	PRT6	Proteolysis 6; Ubiquitin protein ligase which is a component of the N-end rule pathway with arginine specificity, and functions with the arginyltransferases ATE1 and ATE2. Recognizes and binds to proteins bearing specific N-terminal residues that are destabilizing according to the N-end rule, leading to their ubiquitination and subsequent degradation Does not participate in degradation of proteins with N-terminal Phe or Leu. The N-end rule pathway regulates seed after-ripening, seedling sugar sensitivity, seedling lipid breakdown, and abscisic acid (ABA) sensitivity of germination. T [...]	metilado CG en 2kb aguas abajo
b	snap_masked-ScA7Agc_1967-processed-gene-43.327	BPM2	BTB/POZ and MATH domain-containing protein 2; May act as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins	metilado CG 2kb aguas arriba
b	maker-ScA7Agc_718-snap-gene-80.150	AT5G67385	Phototropic-responsive nph3 family protein; Acts as a substrate-specific adapter of an E3 ubiquitin-protein ligase complex (CUL3-RBX1-BTB) which mediates the ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of target proteins (Probable). Involved in disease resistance. Acts as a substrate adapter that recruits CAMTA3/SR1 for ubiquitination and degradation during pathogen infection. Acts as positive regulator of plant defense by removing the defense suppressor CAMTA3/SR1	desmetilado CG cuerpo de gen y 2kb aguas abajo
b	maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-76.630	UBC25	Probable ubiquitin-conjugating enzyme E2 25; Accepts the ubiquitin from the E1 complex and catalyzes its covalent attachment to other proteins; Belongs to the ubiquitin-conjugating enzyme family	desmetilado CG en 2kb aguas arriba
b	maker-ScA7Agc_1267-augustus-gene-0.34	AT4G13010	Oxidoreductase, zinc-binding dehydrogenase family protein; NADPH-dependent alpha, beta-unsaturated oxoene reductase reducing the double bond of medium-chain (C9) to long-chain (C18) reactive electrophile species deriving from poly-unsaturated fatty acid peroxides. The best substrates are 13-lipoxygenase-derived gamma-ketols, but is unable to reduce the double bond of short- chain alkenals and alkenones such as acrolein, crotonaldehyde, 3- buten-2-one, 4-hexen-3-one and trans-2-hexenal, or quinones such as duroquinone, decylubiquinone, coenzyme Q0, menadione, menaquinone and phyloquinon [...]	desmetilado CG cuerpo de gen

c	maker- ScA7Agc_65-snap- gene-27.191	AT1G67390	F-box family protein; Contains the following InterPro domains: F-box domain, cyclin-like (InterPro:IPR001810), F-box domain, Skp2-like (InterPro:IPR022364); BEST Arabidopsis thaliana protein match is: F-box family protein (TAIR:AT3G60790.1); Has 1872 Blast hits to 1854 proteins in 24 species: Archae - 0; Bacteria - 0; Metazoa - 0; Fungi - 0; Plants - 1872; Viruses - 0; Other Eukaryotes - 0 (source: NCBI BLink)	desmetilado CHH en 2kb aguas arriba
c	augustus_masked- ScA7Agc_189- processed-gene- 58.496	AT5G26960	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein; Contains the following InterPro domains: F-box domain, cyclin-like (InterPro:IPR001810), Galactose oxidase/kelch, beta-propeller (InterPro:IPR011043), Kelch repeat type 1 (InterPro:IPR006652), Kelch-type beta propeller (InterPro:IPR015915); BEST Arabidopsis thaliana protein match is: Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein (TAIR:AT1G67480.2); Has 1807 Blast hits to 1807 proteins in 277 species: Archae - 0; Bacteria - 0; Metazoa - 736; Fungi - 347; Plants - 385; Viruses - 0; Other Eukaryotes - 339 (source: NCBI BLink)	desmetilado CG en 2kb aguas abajo
c	maker- ScA7Agc_33-snap- gene-21.285	AT5G22660	FBD, F-box, Skp2-like and Leucine Rich Repeat domains containing protein; Its function is described as molecular_function unknown; Involved in biological_process unknown; Located in cellular_component unknown; Contains the following InterPro domains: FBD (InterPro:IPR013596), F-box domain, cyclin-like (InterPro:IPR001810), F-box domain, Skp2-like (InterPro:IPR022364), FBD-like (InterPro:IPR006566), Leucine-rich repeat 2 (InterPro:IPR013101); BEST Arabidopsis thaliana protein match is: F-box/RNI-like/FBD-like domains-containing protein (TAIR:AT5G22700.1); Has 2291 Blast hits to 2253 pro [...]	metilado CHG en 2kb aguas abajo
	maker- ScA7Agc_815- augustus-gene- 149.445	SBT1.6	Subtilisin-like serine protease 2; Serine protease similar to subtilisin; Belongs to the peptidase S8 family	desmetilado CHH en 2kb aguas arriba
d	maker- ScA7Agc_718- snap-gene-67.134	CHR4	Chromatin-remodeling protein that binds DNA through histones and regulates gene transcription. May specifically recognize and bind trimethylated 'Lys-27' (H3K27me3) and non-methylated 'Lys-4' of histone H3 (By similarity). Probable chromatin remodeling factor	metilado CG cuerpo de gen y 6mA en cuerpo de gen y 2kb aguas abajo
d	maker- ScA7Agc_815- augustus-gene- 127.449	SHH2	Protein sawadee homeodomain homolog 2; Sequence-specific DNA binding transcription factors;sequence-specific DNA binding; May play a role in the recruitment of Pol IV to genomic regions associated with K9 methylated histone H3 that are targets for RdDM	desmetilado CG en 2kb aguas arriba
d	maker- ScA7Agc_718- augustus-gene- 132.292	AT5G13830	FtsJ-like methyltransferase family protein; Its function is described as methyltransferase activity, nucleic acid binding, RNA methyltransferase activity; Involved in methylation, rRNA processing, rRNA methylation; Located in cellular_component unknown; Expressed in shoot apex, embryo, root, flower, seed; Expressed during petal differentiation and expansion stage, E expanded cotyledon stage, D bilateral stage; Contains the following InterPro domains: 23S ribosomal RNA methyltransferase (InterPro:IPR016448), Ribosomal RNA methyltransferase J (InterPro:IPR015507), Ribosomal RNA methyltra [...]	desmetilado CG en 2kb aguas arriba y cuerpo de gen

d	maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-100.147	DRM2	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2; Involved in de novo DNA methylation. Controls asymmetric and CpNpG methylation. Required for FWA gene silencing but not for the maintenance of SUP gene silencing. Functionally redundant to CMT3 to maintain non-CpG methylation. Involved in RNA-directed DNA methylation (RdDM). Acts as major DNA methyltransferase in the RdDM pathway, and is essential for RNA-directed de novo DNA methylation of cytosines in all sequence contexts. Associates with long non-coding RNA (lncRNA) produced by RNA polymerase V (Pol V). This association is dependent on AGO4 [...]	mentilado CG 2kb aguas arriba y cuerpo de gen
d	maker-ScA7Agc_815-augustus-gene-61.515	FDM1	Involved in de novo 2 (idn2) - like 1; Forms a complex with IDN2 and FDM2/IDNL2 that is required for RNA-directed DNA methylation (RdDM) and that functions at a downstream step of the RdDM pathway Required for de novo DNA methylation and 24 nucleotide small interfering RNA (siRNA) accumulation. Binds unmethylated but not methylated DNAs through its coiled-coil domain. May bind double-stranded RNAs (dsRNAs) with 5'-overhangs through its XS domain However, according to , FMD1 does not bind dsRNAs	desmetilado CG en 2kb aguas arriba