

**HEREDABILIDAD PARA LA RESISTENCIA A MÚLTIPLES ENFERMEDADES
EN LINEAS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

Trabajo Final de Grado
del alumno



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 07 de octubre de 2020

**HEREDABILIDAD PARA LA RESISTENCIA A MÚLTIPLES ENFERMEDADES
EN LINEAS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

Trabajo Final de Grado
del alumno

LAZARO NAZAR

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Gerardo Vervigni
Evaluador

Susana Pistorale
Evaluador

Raquel Defacio
Evaluador

María Belén Kistner
Co-Director

Juliana Iglesias
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 18 de noviembre de 2020

INDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 4 |
| INTRODUCCION..... | 5 |
| La importancia del cultivo de maíz en Argentina y el mundo..... | 5 |
| Resistencia genética a enfermedades..... | 5 |
| Conceptos de heredabilidad..... | 7 |
| Principales enfermedades de la región maicera en Argentina..... | 9 |
| Hipótesis..... | 12 |
| Objetivo general..... | 12 |
| Objetivos específicos..... | 12 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 13 |
| Material vegetal y evaluación a campo..... | 13 |
| Tabla 1: Listado de enfermedades, localidades, provincias, épocas y años donde se realizó la evaluación fenotípica..... | 14 |
| Tabla 2: Escalas utilizadas para la medición de cada enfermedad evaluada..... | 15 |
| Análisis estadístico de los datos fenotípicos..... | 16 |
| RESULTADOS Y DISCUSION | 19 |
| Figura 1: Q-Q plots, histogramas de las frecuencias y gráficos de dispersión de residuos sobre predichos..... | 20 |
| Tabla 3: Medidas resumen de los BLUPs genotípicos de cada enfermedad..... | 21 |
| Figura 2: Box Plots de las frecuencias de los BLUPs genotípicas para cada enfermedad..... | 22 |
| Figura 3: Histogramas de frecuencia de los BLUPs genotípicas para cada enfermedad..... | 23 |
| Tabla 4: Genotipos más resistentes para cada enfermedad con sus respectivos valores de BLUPs..... | 24 |
| Tabla 5: Valores de las varianzas para cada enfermedad junto con su nivel de significancia y valores de heredabilidad..... | 25 |
| CONCLUSIONES | 30 |
| ANEXO..... | 29 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 32 |

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es afectado por un amplio rango de enfermedades que impactan negativamente sobre su rendimiento y calidad. Es por este motivo que un objetivo del mejoramiento genético es desarrollar genotipos resistentes a enfermedades. En este sentido es de vital importancia conocer la heredabilidad de la resistencia, es decir la proporción de la varianza fenotípica debida a efectos genéticos (H^2 , heredabilidad en sentido amplio). Los datos desbalanceados, situación frecuente en los ensayos a campo, presentan una complejidad en el cálculo standard de la H^2 . El objetivo del presente trabajo fue estimar las H^2 para la resistencia a siete enfermedades importantes del maíz aplicando tres metodologías: H^2 Standard (H^2_s), H^2 Cullis (H^2_c), y H^2 Phiepho (H^2_p). Para alcanzar este objetivo, 87 líneas endocriadas de maíz pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA fueron evaluadas por su comportamiento frente a diferentes enfermedades. La evaluación fue realizada en diferentes ambientes entre las campañas 2016/17 a 2018/19, bajo infección natural y artificial. Las enfermedades consideradas fueron: roya común (*Puccinia sorghi*), estria bacteriana (*Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*), tizón foliar (*Exserohilum turcicum* y *Bipolaris maydis*), y fusariosis de la espiga (*Fusarium verticillioides*, y *Fusarium graminearum*). La respuesta de los genotipos a cada enfermedad fue analizada utilizando modelos lineales mixtos. Los valores de H^2 fueron los siguientes: roya común 0,90 (H^2_s), 0,88 (H^2_c), y 0,89 (H^2_p), estria bacteriana 0,91 (H^2_s), 0,89 (H^2_c), y 0,88 (H^2_p), tizón por *E. turcicum* 0,90 (H^2_s), 0,88 (H^2_c), y 0,89 (H^2_p), tizón por *B. maydis* 0,86 (H^2_s), 0,81 (H^2_c), y 0,83 (H^2_p), *F. verticillioides* 0,84 para todas las estimaciones, y *F. graminearum* 0,78 para todas las estimaciones. Todas las metodologías arrojaron valores de H^2 altos para todas las enfermedades. Las metodologías de Cullis y Phiepo presentaron valores levemente inferiores, siendo las más apropiadas para calcular H^2 a partir de bases de datos desbalanceadas.

INTRODUCCIÓN

La importancia del cultivo de maíz en Argentina y el mundo

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal de mayor producción mundial y es considerado indispensable para la alimentación humana y animal (García-Lara y Serna Saldívar, 2019; FAO 2020). Es una especie monocotiledónea anual, perteneciente a la familia de las Poáceas (Gramíneas) originaria y domesticada en México y América Central que actualmente está difundido por el resto del mundo. A nivel mundial se producen 1.147.621.938 tn, de las cuales el continente americano aporta el 50,4% de la producción total, seguido de Asia con 31,5%, Europa 11,2%, África 6,9%, y Oceanía 0,1% (FAO, 2020). Argentina es el cuarto productor a nivel mundial con el 3,78% y el tercero en nivel de exportaciones con el 16,6% del total comercializado (Subsecretaría de Programación Microeconómica, 2019). El 80% de la producción de maíz se concentra en el norte de la provincia de Buenos Aires, el sudeste de Córdoba y el sur de Santa Fe, zona conocida tradicionalmente como “Zona Núcleo Maicera” (Subsecretaría de Programación Microeconómica, 2019).

Resistencia genética a enfermedades

La producción de maíz se encuentra amenazada / limitada por la ocurrencia de enfermedades causadas por una gran variedad de patógenos que impactan negativamente sobre la calidad y rendimiento del cultivo (Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017). A nivel mundial, aproximadamente el 9% de pérdidas de rendimiento son debidas a enfermedades (Oerke, 2005). Sin embargo, el impacto negativo de las enfermedades puede ser mitigado a través de la utilización de diferentes medidas de manejo como, por ejemplo, la utilización de semilla certificada, tratamientos con fungicidas, siembra en épocas adecuadas, rotación de cultivos, densidad de siembra, y selección de materiales resistentes a enfermedades (De Rossi *et al.*, 2017).

La resistencia genética es la capacidad de la planta para impedir o reducir el crecimiento y desarrollo del patógeno después que ha habido contacto entre el

hospedante y el patógeno (Niks *et al.*, 2011). La utilización de resistencia genética se considera el método más efectivo y ecológico para manejar las enfermedades de maíz, pero no es una tarea fácil incorporar resistencia en el germoplasma elite (Rivero Do Vale *et al.*, 2001; Iglesias *et al.*, 2018). La identificación y utilización de líneas endocriadas resistentes son fundamentales para el desarrollo de genotipos resistentes a enfermedades (Yang *et al.*, 2010; Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017)

La resistencia genética a enfermedades puede clasificarse como cualitativa o cuantitativa. Por un lado, la resistencia cualitativa (también llamada monogénica, o vertical) se caracteriza por estar determinada por uno o pocos genes de efecto mayor. Es completa, es decir que se distinguen fenotipos resistentes (no se enferman) o susceptibles (se enferman completamente), pero presenta la desventaja de ser raza específica, es decir que solo es efectiva frente a una raza del patógeno (Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017). Eventualmente puede ser superada por el surgimiento de una nueva raza del patógenos por lo que se considera que tiene una corta duración (Vallejo y Estrada, 2002; Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017).

Por otro lado, la resistencia cuantitativa (también denominada poligénica u horizontal) es controlada por muchos genes de efecto individual pequeño y es fenotípicamente incompleta (Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017), es decir, reduce, pero no impide completamente la colonización de patógenos del tejido vegetal. La resistencia cuantitativa se considera una resistencia duradera y estable en el tiempo, ya que es efectiva frente a todas las razas del patógeno evitando seleccionar una raza que pueda quebrar la resistencia. Sin embargo, su naturaleza cuantitativa controlada por muchos genes, dificulta su introgresión en el germoplasma. De todos modos, este tipo de resistencia tiene una amplia difusión y es el tipo de resistencia predominante en maíz (Ali y Yan, 2012; Yang *et al.*, 2017).

Conceptos de heredabilidad

El éxito de un programa de mejoramiento depende en gran medida de que el germoplasma utilizado ofrezca una amplia variabilidad que permita seleccionar un carácter de interés, por ejemplo, una resistencia a una enfermedad. A su vez, es importante que la proporción de esa varianza pueda transmitirse a las siguientes generaciones, es decir que sea heredable (Dudley y Moll, 1969; Hallauer y Miranda, 1988).

El punto de partida en un programa de mejoramiento es conocer la variabilidad fenotípica disponible. Con ese objetivo, se llevan adelante ensayos donde se colecta información fenotípica del carácter de interés a partir de la cual se determinará la varianza fenotípica (Yang *et al.*, 2010; Schmidt *et al.*, 2019). La varianza fenotípica tiene un origen genético, pero también ambiental y por lo tanto el valor observado puede partitionarse en componentes de origen genético o ambiental, lo que permite estimar la importancia relativa de cada uno de ellos. Dicha varianza puede expresarse mediante la siguiente formula:

$$\sigma_F^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2,$$

donde σ_F^2 corresponde a la varianza fenotípica, σ_G^2 a la varianza genotípica, σ_E^2 a la varianza ambiental.

La varianza genética total se puede subdividir en varianza aditiva (varianza debida al efecto promedio de los alelos) que es aquella que será heredable a la siguiente generación (Rossi *et al.*, 2018)., varianza dominante (varianza debida a la interacción entre alelos) y varianza epistática (varianza debida a la interacción entre dos genes) (Falconer y Mackay 1996). Dicha varianza genética se expresa mediante la siguiente formula:

$$\sigma_G^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_I^2,$$

donde σ_A^2 corresponde a la varianza aditiva, σ_D^2 a la varianza de dominancia y σ_I^2 a la epistasis.

La heredabilidad puede ser definida como heredabilidad en sentido amplio (H^2) y heredabilidad en sentido estricto (h^2). La heredabilidad en sentido amplio indica la proporción de la varianza fenotípica total que es atribuible a la varianza genotípica, mientras que la heredabilidad en sentido estricto se refiere a la proporción de la varianza fenotípica que es debida a la varianza aditiva, sin tener en cuenta los componentes de varianza de dominancia y epistática que conforman la varianza genotípica (Falconer y Mackay 1996). La H^2 puede tomar valores entre 0 a 1: una alta H^2 (valores cercanos a 1) se debe a una alta proporción de varianza genética, mientras que una baja H^2 (valores cercanos a 0) se explica por un fuerte efecto ambiental que no se transmitirá a la siguiente generación. En este trabajo nos centraremos en la heredabilidad en sentido amplio. Dicha estimación suele utilizarse como una medida para cuantificar y, finalmente, comparar la precisión de los ensayos de cultivos agrícolas, y / o para estimar la respuesta a la selección en los ensayos de fitomejoramiento. (Schmidt *et al.*, 2019). La H^2 varía entre las poblaciones, dado que no es una propiedad del carácter únicamente, sino que también lo es de la población y de las circunstancias ambientales a las que están sujetos los individuos (Falconer y Mackay 1996).

El cálculo de heredabilidad supone datos balanceados (igual número de observaciones para todos los genotipos evaluados) (Piepho y Möhring, 2007; Schmidt *et al.*, 2019). Generalmente, un gran número de genotipos es evaluado en ensayos que involucran bloques incompletos. Además, algunas parcelas se pierden por diferentes motivos (problemas de siembra, malezas, anegamiento, entre otros motivos) o porque son descartadas debido al proceso de selección. También nuevos genotipos pueden ser incorporados en la evaluación. Esta situación genera datos desbalanceados lo que representa una dificultad adicional para el cálculo de la heredabilidad. En base a este problema se han propuesto varios métodos alternativos de estimación de H^2 , la mayoría de los cuales proponen una definición generalizada de la heredabilidad para datos desbalanceados y/o efectos genéticos correlacionados como, por ejemplo: Cullis *et al.*, (2006) y Piepho y Möhring, (2007).

Principales enfermedades de la región maicera en Argentina

Entre las principales enfermedades presentes en Argentina se destacan enfermedades foliares: roya común, estría bacteriana, tizones y enfermedades de espiga (fusariosis).

La roya común (RC), causada por *Puccinia sorghi* Schwein es una enfermedad endémica de la zona maicera núcleo argentina, que se caracteriza por la presencia de lesiones foliares (pústulas) que producen reducción del área fotosintéticamente activa, aumento de la respiración y disminución de translocación de fotoasimilados (González, 2005; Visentin, 2018). *P. sorghi* es un hongo del orden Pucciniales y es un parásito absoluto, es decir que necesita un hospedante vivo para sobrevivir. En Argentina el hongo cumple el ciclo completo, generando una notable variabilidad genética (Guerra *et al.*, 2018). La resistencia del maíz a la roya común puede ser tanto de tipo cualitativa como cuantitativa (González, 2005; Olukolu *et al.*, 2016; Kistner *et al.*, 2018). La resistencia cualitativa a RC está controlada por genes *Rp*. Un gen *Rp* es un gen mayor que interactúa con un gen específico de una raza de *P. sorghi*. Esta interacción específica entre el gen del patógeno y el hospedante, desencadena una respuesta hipersensible (HR, por sus siglas en inglés *hypersensitive response*), que es una muerte celular localizada rápida que previene la propagación del patógeno. Hasta ahora, más de 25 genes *Rp* han sido identificados en el genoma del maíz, organizados / agrupados principalmente en los cromosomas 3, 4, 6 y 10 (Olukolu *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2018). La resistencia a RC es un carácter moderadamente heredable, y diferentes autores hay reportado valores entre 0,67 y 0,75 (Lübberstedt *et al.* 1998; Brown *et al.*, 2001; Olukolu *et al.*, 2016; Visentin *et al.*, 2018)

La estría bacteriana (BLS) es causada por *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* una bacteria del orden Xanthomonadales, y es una enfermedad de reciente aparición en Argentina (Plazas *et al.*, 2017; Qiu *et al.*, 2020). La sintomatología de la enfermedad consiste en lesiones acuosas con forma de rayas estrechas, de 2 a 3 mm de ancho y color amarillo a marrón (Qiu *et al.*, 2020). El

ciclo de la enfermedad se caracteriza por tener una fase inicial biotrófica, donde la bacteria se desarrolla de manera intercelular hasta que se vuelve necrotrófica hacia el final del ciclo de infección, nutriéndose de células muertas (Iglesias *et al.*, 2018). Dado que esta es una enfermedad de reciente aparición, solamente un trabajo ha descrito la resistencia a BLS como un carácter cuantitativo con una heredabilidad moderada/baja de 0,42 (Qiu *et al.*, 2020).

El tizón foliar del norte (TFN) es causado por *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard y Suggs, un hongo del orden de los Pleosporales con un estilo de vida hemibiótrofo, es decir que emprende la colonización del hospedante de manera biotrófica e intercelular y luego cambia hacia una fase necrotrófica de mayor agresividad colonizando el espacio intracelular. TFN está ampliamente distribuido por todo el mundo y las infecciones se ven favorecidas por temperaturas entre 15 y 25 °C, períodos de rocío de al menos 4 hs y una humedad relativa alta de entre 90 a 100% (Galiano-Carneiro y Miedaner, 2017). Los síntomas son inicialmente lesiones elípticas de 2 a 30 cm de largo de color verde grisáceo que luego se vuelven marrones hacia el final de la enfermedad. Cuando no hay resistencia por parte del hospedante y persisten las condiciones óptimas de infección, estas lesiones pueden dañar toda la hoja (Galiano-Carneiro y Miedaner, 2017; Kotze *et al.*, 2018). Para esta enfermedad se conoce resistencia tanto cualitativa como cuantitativa. La resistencia cualitativa está dada por la presencia de genes *Ht* cuya activación generalmente resulta en la muerte de la célula infectada debido a una HR. Si bien existen numerosas razas en el mundo, en nuestro país la información es bastante fragmentaria al respecto y no se conoce con exactitud que razas estarían presentes. Por otra parte, la resistencia cuantitativa está gobernada por numerosos genes de efecto pequeño y varios autores han reportado heredabilidades en torno a 0,85 (Welz *et al.*, 1999; Poland *et al.*, 2011; Van Inghelandt *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2016;).

El tizón foliar del sur es causado por *Bipolaris maydis* (Y. Nisik. y C. Miyake) Zapatero (TFS) un hongo necrótrofo también del orden Pleosporales. El hongo puede sobrevivir en los restos del cultivo que permanecen sobre el suelo después

de la recolección y su crecimiento se ve favorecido por ambientes templados a cálidos (20-32°C), y con alta humedad (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas, 2020). La enfermedad produce lesiones foliares necróticas, romboides, de color amarillo a café, con contornos amarillo-verdosos y su expansión se encuentra delimitada por las nervaduras foliares (Kistner *et al.*, 2019; Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas, 2020). La resistencia a TFS es de tipo cuantitativa y los valores de heredabilidad reportados por los autores van desde 0,55, a 0,87 (Salim Shah *et al.*, 2007; Balint-Kurti *et al.*, 2007; Kump *et al.*, 2011; Zwonitzer *et al.*, 2010; Lopez-Zuniga *et al.*, 2019).

El género *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita y es endémico en la mayor parte de las regiones maiceras de todo el mundo (Mendoza *et al.*, 2003; Montenegro *et al.*, 2018; Gaikpa y Miedaner 2019). Estos patógenos causan podredumbres y contaminan el grano con diversas micotoxinas poniendo en riesgo la salud de los animales y las personas. La podredumbre por *F. verticillioides* (FV) es causada por el hongo necrótrofo *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg del orden Hypocreales. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso color salmón, blanquecino o rosado algunas veces acompañado por la presencia de rayas blancas en el pericarpio, denominadas estrías (CIMMYT, 2004). El patógeno no solo determina una disminución de los rendimientos por el deterioro de los granos, si no que también la contaminación de los mismos con micotoxinas fumonisinas (FUM) y reduce la comercialización del grano de maíz y es un riesgo para la salud de las personas y animales (Presello *et al.*, 2011; Mueller *et al.*, 2016). Los ambientes tropicales y sub-tropicales son propicios para la infección por *F. verticillioides* (Mutiga *et al.*, 2014; Parsons y Munkvold 2012; Schjoth *et al.*, 2009).

La podredumbre por *F. graminearum* (FG) es causada *Fusarium graminearum* Schwabe, un hongo hemibiótrofo del orden Hypocreales. Los primeros signos de la infección son la formación de micelios blancos, que van descendiendo desde la punta de la mazorca y dan una coloración rojiza y rosada a los granos infectados (CIMMYT, 2004). Las principales toxinas, producidas por

esta especie son el deoxinivalenol (DON) perteneciente al grupo de los tricotecenos y la zearalenona (ZEA), perteneciente a los metabolitos secundarios derivados de los poliketidos, con efectos estrogénicos y anabólicos (Pereyra y Acosta, 2014). El estado sexual del patógeno, es más común en las zonas frías y húmedas. Estudios han demostrado que para ambas especies de *Fusarium* la resistencia para podredumbre de espiga es de tipo cuantitativa y no se ha observado evidencia de resistencia cualitativa a los patógenos/enfermedades (Pérez-Brito *et al.*, 2001; Robertson-Hoyt *et al.*, 2006; Ding *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2012; Maschietto *et al.*, 2017, Giomi *et al.*, 2016). Los valores de heredabilidad varían entre 0,24 a 0,46 (Nankam y Pataky 1996; Pérez-Brito *et al.*, 2001) para FV, y de 0,50 a 0,80 para FG (Miedaner *et al.*, 2015; Kebede *et al.*, 2016).

HIPÓTESIS

La resistencia genética a las principales enfermedades de maíz presentes en la región maicera núcleo de argentina, en un panel de líneas endocriadas de maíz pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA Pergamino, es heredable.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la heredabilidad en sentido amplio de resistencia a roya común, estría bacteriana, tizón foliar del norte y del sur y fusariosis de espiga en un panel de líneas endocriadas de maíz pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA Pergamino.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Ajustar modelos estadísticos para analizar el comportamiento de un panel de líneas endocriadas de maíz frente a roya común, estría bacteriana, tizón foliar del norte y del sur y fusariosis de espiga.
- Estimar los componentes de varianza y calcular la heredabilidad en sentido amplio de los caracteres de resistencia a roya común, estría bacteriana, tizón foliar del norte y del sur y fusariosis de espiga en un panel de líneas endocriadas evaluado en múltiples ambientes en Argentina.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal y evaluación a campo

Los datos fenotípicos utilizados en esta tesis fueron obtenidos por el grupo de mejoramiento de maíz de INTA Pergamino y corresponden a un set de 87 líneas endocriadas de maíz estabilizadas pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA Pergamino. Las líneas fueron evaluadas a campo en diferentes localidades durante diversas campañas bajo infección natural y artificial por su comportamiento frente a seis enfermedades foliares y de espiga (Tabla 1). En cada localidad, el equipo evaluador aseguró un suficiente nivel de enfermedad para llevar adelante la evaluación. Para la evaluación a campo se utilizó en todos los casos el mismo diseño en bloques completos aleatorizado con dos repeticiones. La unidad experimental consistió en una parcela de dos surcos de 5 m de longitud, distanciados a 0,7 m entre sí. La densidad de siembra fue de 5 pl/m lineal de surco. Se realizaron evaluaciones visuales cuali-cuantitativas del perfil sanitario de los genotipos para cada enfermedad considerada según las escalas que se presentan en la Tabla 2. Las técnicas de evaluación utilizadas, inoculación y aislamientos fueron previamente validados por el equipo de trabajo (Iglesias *et al.*, 2010; Kistner *et al.*, 2018; Montenegro *et al.*, 2019).

Tabla 1: Listado de enfermedades, localidades, provincias, épocas y años donde se realizó la evaluación fenotípica.

| Nombre de la enfermedad | Localidad | Provincia | Época | Año |
|-------------------------|-----------|--------------|------------|---------|
| Roya común | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2016/17 |
| Roya común | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2017/18 |
| Roya común | Pergamino | Buenos Aires | tardía | 2017/18 |
| Roya común | Pergamino | Buenos Aires | temprana | 2018/19 |
| Roya común | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2018/19 |
| Estría bacteriana | Pergamino | Buenos Aires | temprana | 2018/19 |
| Estría bacteriana | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2018/19 |
| Tizón del norte | Pergamino | Buenos Aires | tardía | 2018/19 |
| Tizón del norte | Manfredi | Córdoba | temprana | 2018/19 |
| Tizón del norte | Manfredi | Córdoba | intermedia | 2018/19 |
| Tizón del sur | Leales | Tucumán | temprana | 2016/17 |
| Tizón del sur | Leales | Tucumán | temprana | 2017/18 |
| Fusarium (FG) | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2016/17 |
| Fusarium (FV) | Pergamino | Buenos Aires | intermedia | 2016/17 |

Tabla 2: Escalas utilizadas para la medición de cada enfermedad evaluada (Adaptado de Defacio *et al.*, 2018).

| Escala | Roya común | | Estria bacteriana | Tizones | | Fusariosis de espiga |
|----------|--------------------------|---|--------------------------|---|--|-------------------------------|
| | Severidad | Tipo de lesión | Severidad | Severidad | Tipo de lesión | Severidad |
| <u>1</u> | 1% área foliar afectada | ausencia de síntomas, puede haber HR | 1% área foliar afectada | infección leve | sin síntomas | Ausencia de síntomas visibles |
| <u>2</u> | 5% área foliar afectada | pústulas errumpentes, con o sin puntos necróticos | 5% área foliar afectada | número moderado de lesiones en hojas inferiores | hojas con <10 lesiones cloróticas | 1-3% de espiga afectada |
| <u>3</u> | 10% área foliar afectada | pústulas grandes errumpentes, pueden formar listas | 10% área foliar afectada | lesiones abundantes en la parte inferior, pocas lesiones en estrato medio | hojas > 10 lesiones cloróticas , pocas lesiones necróticas | 4-10% de espiga afectada |
| <u>4</u> | 20% área foliar afectada | pústulas grandes con áreas necróticas , rotura y quiebre de la hoja | 20% área foliar afectada | lesiones abundantes en hojas del estrato medio e inferior, algunas lesiones en hojas superiores | hojas con > 20 lesiones cloróticas y necróticas | 11-25% de espiga afectada |
| <u>5</u> | 50% área foliar afectada | | 50% área foliar afectada | lesiones abundantes en casi todos los estratos foliares, plantas prematuramente secas o muertas | | 26-50% de espiga afectada |
| <u>6</u> | | | | | | 51-75% de espiga afectada |
| <u>7</u> | | | | | | 76-100% de espiga afectada |

Análisis estadístico de los datos fenotípicos

Primero se visualizó la distribución de los datos mediante la construcción de histogramas de frecuencia y diagramas de caja y bigote (Box plot), para identificar valores atípicos (*outliers*). En caso de identificar algún valor atípico se inspeccionó la base de datos original, para constatar si se correspondía a un error o si había algún comentario en relación a esa parcela, que justificara remover o no el valor.

El análisis de los datos se llevó adelante utilizando modelos lineales mixtos generales univariados para cada una de las enfermedades. Todas las enfermedades se analizaron utilizando el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + E_j + G_i \times E_j + b_{kj} + \varepsilon_{ijk},$$

donde:

- Y_{ijk} : es el valor de severidad de la enfermedad del genotipo i , en el ambiente j , y bloque k .
- μ es la media poblacional.
- G_i es el efecto del genotipo i , $i = 1 \dots 87$.
- E_j es el efecto del ambiente j , $j = 1 \dots 5$.
- $G_i \times E_j$ es el efecto de la interacción genotipo-ambiente asociado con el genotipo i en el ambiente j .
- b_{kj} es el efecto del bloque k dentro de cada ambiente j , $k = 1, 2$.
- ε_{ijk} es el error asociado al genotipo i , ambiente j , y bloque k .

Un ambiente se consideró como la combinación de año, localidad y época de siembra.

Cada enfermedad se analizó considerando primero al efecto del genotipo como un efecto fijo y demás factores como aleatorios y luego considerando todos los factores como aleatorio. El primer análisis se utilizó para estimar componentes

de varianza y BLUEs (*best linear unbalanced estimator*) de los genotipos para calcular la heredabilidad a través de la metodología propuesta por Piepho y Möhring, (2007). El segundo modelo se denominará modelo con genotipo como efecto aleatorio y el objetivo fue estimar componentes de varianza y BLUPs (*best linear unbalanced predictor*) de los genotipos para calcular las heredabilidades a través de la metodología Standard (Hallauer y Miranda, 1988) y la propuesta por Cullis *et al.*, (2006).

Los residuales de cada modelo fueron inspeccionados a través de la visualización de gráficos diagnóstico, para asegurar el cumplimiento de los supuestos estadísticos: normalidad, homogeneidad de la varianza e independencia. Con ese objetivo se graficaron Q-Q plots, histogramas de las frecuencias y gráficos de dispersión de residuos sobre predichos. El supuesto de independencia se aseguró con la aleatorización de los genotipos dentro de cada bloque. Los valores de la variable severidad para TFS fueron transformados mediante el método de box-cox de manera que conduzca al cumplimiento de los supuestos.

De los modelos ajustados, utilizando el genotipo como efecto aleatorio, se obtuvieron los componentes de la varianza. La significancia de las varianzas se evaluó realizando un ANOVA del modelo completo comparándolo con el mismo modelo sin la variable a evaluar.

Se compararon tres metodologías para calcular las heredabilidades, dos de las cuales suponen una mejor estimación al utilizar datos desbalanceados.

En primer lugar, se estimó la heredabilidad mediante la metodología standard:

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{G \times E}^2}{E} + \frac{\sigma_e^2}{ER}}$$

Donde σ_G^2 es la varianza genotípica, σ_{GxE}^2 es la varianza de la interacción genotipo por ambiente, σ_e^2 es la varianza del error, E es el número de ambientes testeados y R el número de repeticiones por ambiente.

Posteriormente se estimó la heredabilidad según Cullis *et al.* (2006).

$$H_c = 1 - \frac{\overline{\vartheta BLUP}}{2\sigma_G^2}$$

Donde $\overline{\vartheta BLUP}$ es la varianza media de una diferencia de dos BLUP genotípicas.

Y además se estimó la heredabilidad según y Piepho y Möhring, (2007).

$$H_p = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\overline{\vartheta BLUE}}{2}}$$

Donde $\vartheta BLUE$ es la varianza media de una diferencia de dos BLUE genotípicas.

Todos los análisis fueron llevados a cabo mediante el software estadístico R (R Core Team 2019) a través de la función H2cal() del paquete INTI (Kistner & Lozano-Isla, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el análisis exploratorio de los datos (histograma / diagrama de caja y bigote) (Anexo, Figuras 1 y 2), permitió visualizar la calidad de datos crudos, identificando valores atípicos y verificando la distribución de las variables. Todas las variables presentaron una distribución continua. Además, se observó que el grupo de líneas evaluado mostró gran variabilidad en su respuesta para todas las enfermedades, abarcando todos los valores de las escalas de evaluación.

En primera instancia se procedió a verificar el cumplimiento de los supuestos estadísticos (distribución normal de los errores y homogeneidad de varianza) de los modelos seleccionados, pudiéndose observar en dichos gráficos que los modelos para todas las enfermedades cumplen con dichos supuestos (Figura 1).

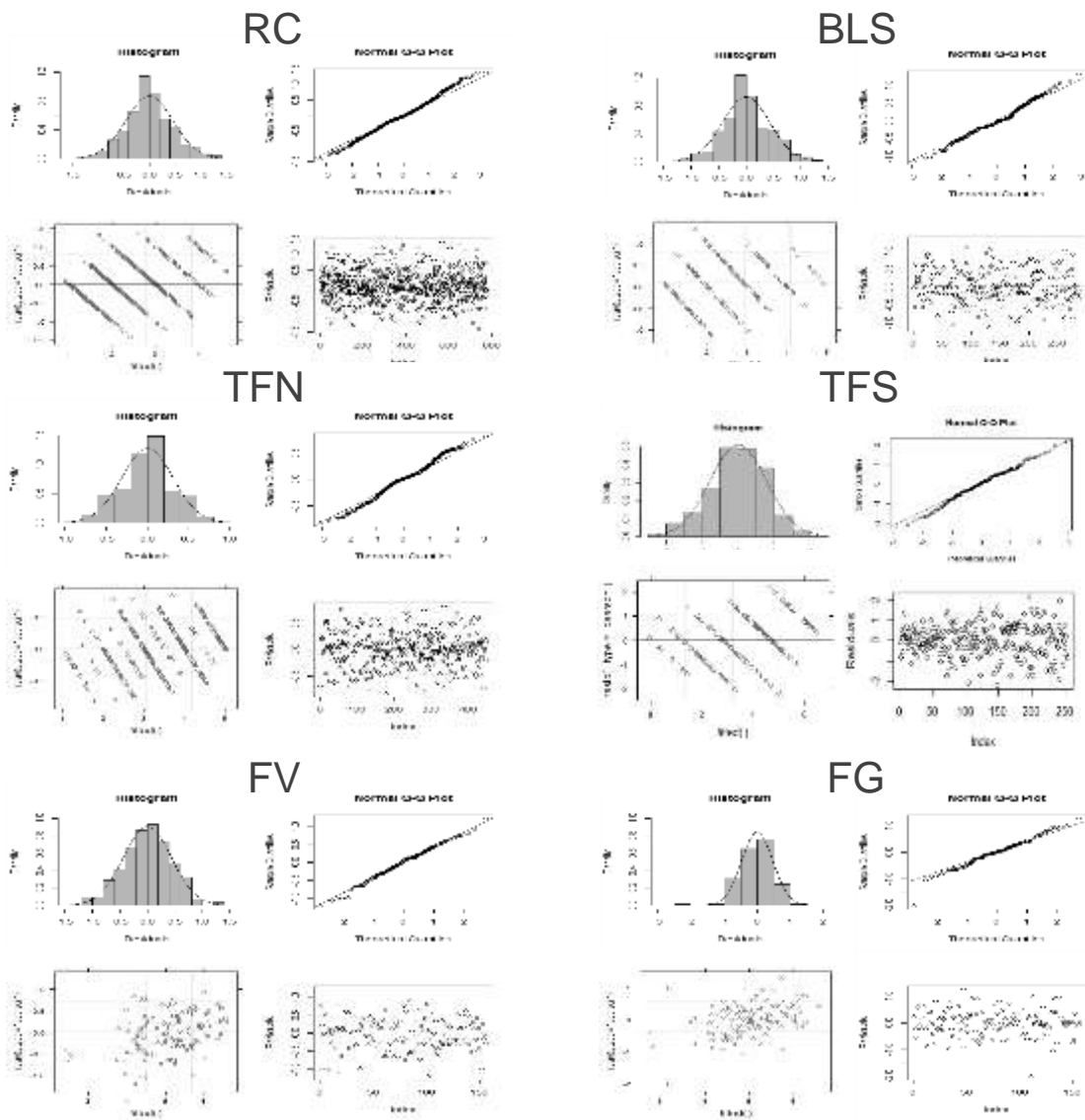


Figura 1: Q-Q plots, histogramas de las frecuencias y graficos de dispersión de residuos sobre predichos.

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

En la Tabla 3 se muestran las medidas resumen para los BLUPs genotípicos para cada una de las enfermedades evaluadas, y también pueden observarse dichos datos en las Figuras 2 y 3.

Tabla 3: Medidas resumen de los BLUPs genotípicos de cada enfermedad.

| BLUPS | RC | BLS | TFN | TFS | FV | FG |
|--------------|------|------|------|------|------|------|
| n | 87 | 87 | 87 | 82 | 79 | 78 |
| Min | 1,13 | 0,95 | 1,43 | 1,55 | 2,39 | 2,81 |
| Max | 4,39 | 4,59 | 4,86 | 4,43 | 6,58 | 6,58 |
| Mediana | 2,29 | 1,63 | 3,58 | 3,75 | 5,28 | 5,05 |
| Media | 2,35 | 1,96 | 3,56 | 3,54 | 5,15 | 5,05 |
| sd | 0,71 | 1,01 | 0,90 | 0,78 | 0,85 | 0,73 |
| σ_F^2 | 0,50 | 1,02 | 0,81 | 0,61 | 0,72 | 0,53 |

n=número de BLUPs, min=valor mínimo, max=valor máximo sd=desvió standard, RC=roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

Las enfermedades foliares (RC, BLS, TFN y TFS) se evaluaron con escalas que van de 1 a 5 puntos. En este sentido, todas las enfermedades alcanzaron niveles de infección apreciable, cubriendo completamente la escala de evaluación. La mediana de las enfermedades TFN y TFS, fue de 3,50 y 3,75, respectivamente. Estos valores indican que más de la mitad de los individuos están por encima del punto 3 de la escala (lesiones abundantes en la parte inferior, pocas lesiones en estrato medio) y por lo tanto son levemente o completamente susceptibles. Además, TFN y TFS presentaron medias que seguían la misma tendencia. Por el contrario, las enfermedades BLS y RC, en comparación con TFN y TFS, muestran valores menores con una mediana de 1,63 y 2,29 respectivamente. Aproximadamente la mitad de los genotipos tienen valores para BLS inferiores a 5% del área foliar afectada (< a 2 en la escala de 1 a 5), y RC posee valores inferiores al 10% del área foliar afectada (< a 3 en la escala de 1 a 5), es decir que la mayoría de las líneas son resistentes o moderadamente resistentes. Las podredumbres de espiga FG y FV, que fueron evaluadas con una escala de 7 puntos, muestran valores de mediana y media en torno a 5, lo cual representa que la mitad de las líneas tiene una severidad promedio de al menos entre un 26 y 50% del área de la espiga afectada, y por lo tanto siendo mayormente susceptibles a dichas infecciones.

Estas observaciones nos permiten pensar que tanto la selección natural del ambiente y el trabajo de los mejoradores ha derivado en un número mayor de líneas resistentes a roya común y estria bacteriana, que a los tizones y las infecciones por *Fusarium*. Estos resultados no son extremadamente sorprendentes, dado que la roya común es una enfermedad que es endémica en Argentina desde hace muchos años y por lo tanto es un objetivo principal de los mejoradores (González 2005). Por el contrario, TFN es una enfermedad relativamente nueva y TFS no se ha reportado en Pergamino, donde las líneas se desarrollaron (Kistner *et al.*, 2019). Sin embargo, que existan tantos genotipos resistentes a BLS si es sorprendente, ya que la enfermedad es de muy reciente aparición, lo que es un dato no menor para los mejoradores que actualmente están en la búsqueda de fuentes de resistencia. Además, las infecciones por *Fusarium* fueron las únicas inoculadas de manera artificial lo que podría explicar los altos niveles de severidad a dicha infección, y no es de esperar los mismos niveles de severidad bajo infección natural, aunque muestra el potencial de infección de dichas líneas ante un año desfavorable y el riesgo con respecto a la inocuidad alimentaria.

BLS fue la enfermedad que presentó el mayor desvío estándar (1,01) mientras que RC presentó el menor desvío estándar (0,71). Una explicación podría ser que la bacteria ingresa principalmente por heridas y aberturas naturales, favorecida por la ocurrencia de lluvias fuertes lo que podría hacernos pensar que la infección no fue tan homogénea (Qiu *et al.*, 2020).

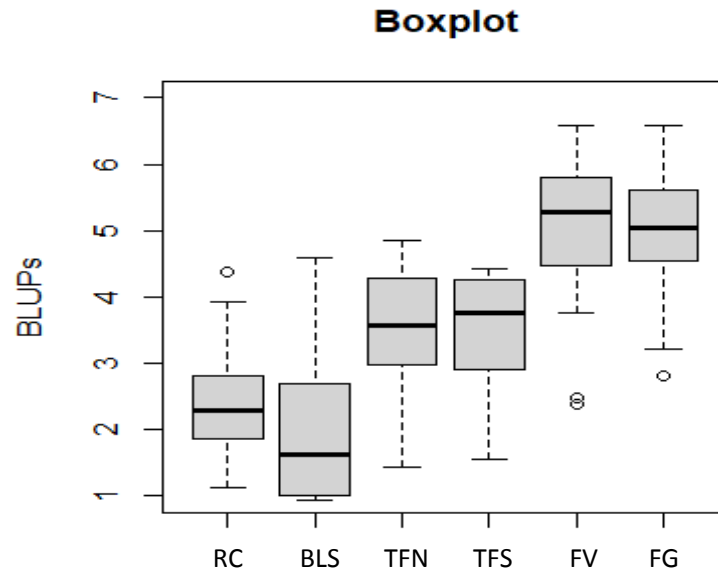


Figura 2: Box Plots de las frecuencias de los BLUPs genotípicas para cada enfermedad.

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

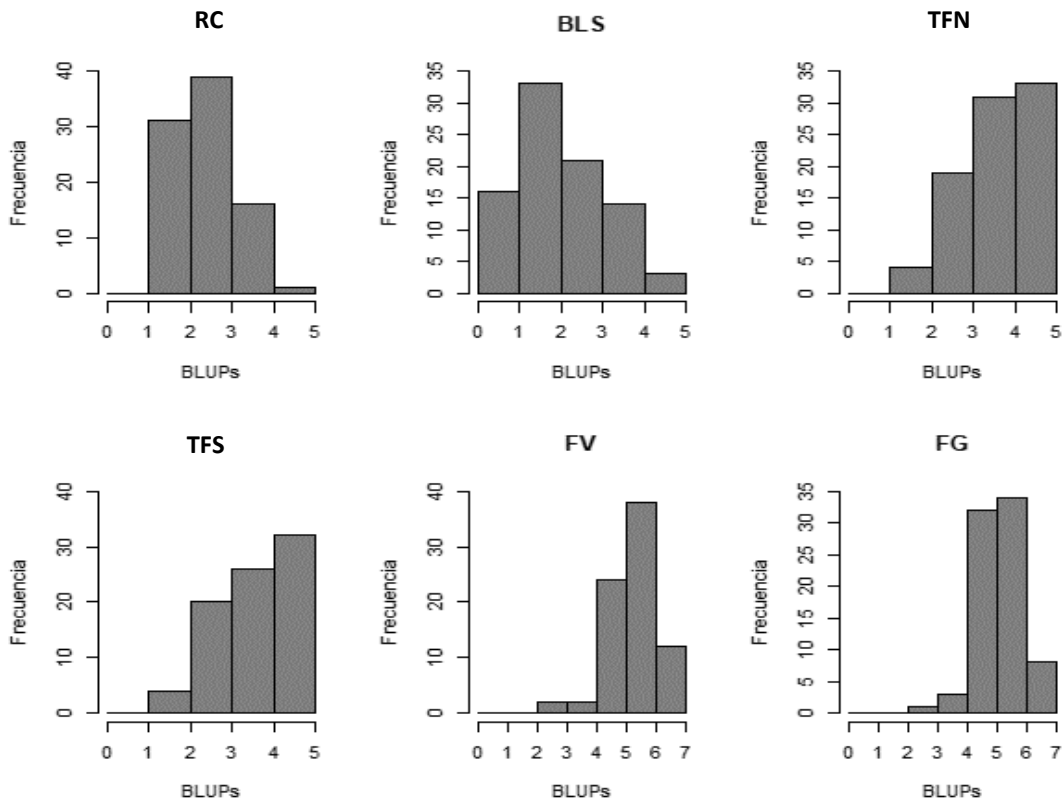


Figura 3: Histogramas de frecuencia de los BLUPs genotípicas para cada enfermedad.

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

Estas observaciones nos permiten concluir por un lado que para todas las enfermedades hay un grupo de líneas resistentes que pueden ser seleccionadas para desarrollar genotipos resistentes. A modo de ejemplo en la Tabla 4 se muestran los 10 genotipos de mejor comportamiento para cada una de las enfermedades, que podrían ser seleccionados.

Tabla 4: Genotipos más resistentes para cada enfermedad con sus respectivos valores de BLUPs.

| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Roya común</i> | | | | | | | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|--------|-------|
| Genotipo | LP125R | LP918 | LP581 | LP1996 | LP256R | LP221 | LP562 | 133 | LP521 | LP598 |
| BLUP | 1,13 | 1,13 | 1,13 | 1,2 | 1,29 | 1,356 | 1,44 | 1,445 | 1,493 | 1,493 |
| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Estría bacteriana</i> | | | | | | | | | | |
| Genotipo | B100 | LP125R | LP128 | LP147 | LP153 | LP168 | LP178 | LP199 | LP221 | LP605 |
| BLUP | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 |
| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Tizón del norte</i> | | | | | | | | | | |
| Genotipo | B100 | LP178 | LP236 | LP147 | LP221 | LP918 | LP562 | LP214 | L5605 | 53 |
| BLUP | 1,431 | 1,489 | 1,509 | 1,774 | 2 | 2,226 | 2,228 | 2,251 | 2,279 | 2,452 |
| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Tizón del sur</i> | | | | | | | | | | |
| Genotipo | LP918 | LP221 | LP236 | 67 | 9 | LP1222 | LP605 | LP562 | LP128 | LP598 |
| BLUP | 1,551 | 1,741 | 1,741 | 1,985 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,202 | 2,419 | 2,419 |
| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Fusarium verticillioides</i> | | | | | | | | | | |
| Genotipo | LP521 | LP2541 | L4637 | LP1044 | 133 | LP2 | LP4703 | LP2542 | LP3830 | LP605 |
| BLUP | 2,394 | 2,492 | 3,75 | 3,969 | 3,989 | 3,992 | 3,999 | 4,081 | 4,179 | 4,179 |
| <i>Genotipos con mejor comportamiento para Fusarium Graminearum</i> | | | | | | | | | | |
| Genotipo | L4637 | LP521 | LP2541 | LP923 | LP59 | LP2 | LP598 | AX888ITB | LP214 | LP605 |
| BLUP | 2,814 | 3,206 | 3,677 | 3,756 | 4,109 | 4,148 | 4,148 | 4,187 | 4,226 | 4,226 |

A partir de la Tabla 4 se puede observar que existen varios genotipos resistentes para más de una enfermedad, ya sea foliar (LP125R, LP918, LP221, LP562, B100, LP128, LP147, LP178, LP236), de espiga (LP2, LP2541, L4637), o para ambas (LP598, LP605, LP214, LP521).

La Tabla 5 muestra los componentes de varianza de la variable severidad en cada enfermedad junto con su nivel de significancia, pudiéndose observar que las varianzas genotípicas son significativas para todas las enfermedades, mientras que la varianza GxE solo es significativa para RC y TFN. En la tabla 5 también se muestran los valores de heredabilidades de Hallauer, Cullis, y Phiepo los cuales registraron valores elevados para todas las enfermedades. La resistencia a la enfermedad que presentó la menor heredabilidad fue para FG con valores de 0,78 para todas las heredabilidades, no obstante, este es un valor elevado y promisorio para la realización de futuros programas de mejoramiento.

Tabla 5: Valores de las varianzas para cada enfermedad junto con su nivel de significancia (Sig) y valores de heredabilidad.

| Componentes de la varianza | Varianza Genotípica | Varianza GxE | Varianza del error | H2. Standard | H2. Cullis | H2. Phiepo |
|--|---------------------|--------------|--------------------|--------------|------------|------------|
| RC | 0,56 | 0,15 | 0,31 | 0,90 | 0,88 | 0,89 |
| Sig. | *** | *** | | | | |
| BLS | 1,15 | 0,08 | 0,29 | 0,91 | 0,89 | 0,88 |
| Sig. | *** | NS | | | | |
| TFN | 0,91 | 0,21 | 0,17 | 0,90 | 0,88 | 0,89 |
| Sig. | *** | *** | | | | |
| TFS | 2,2 | 0,24 | 0,27 | 0,86 | 0,81 | 0,83 |
| Sig. | *** | NS | | | | |
| FV | 0,85 | | 0,31 | 0,84 | 0,84 | 0,84 |
| Sig. | *** | | | | | |
| FG | 0,67 | | 0,37 | 0,78 | 0,78 | 0,78 |
| Sig. | *** | | | | | |
| * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 | | | | | | |

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

Los valores de heredabilidades obtenidos para RC, BLS, y FV (0,88 a 0,9, 0,88 a 0,91, y 0,84 respectivamente) fueron superiores a los reportados previamente por los autores citados en la bibliografía (Lübberstedt *et al.* 1998; Brown *et al.*, 2001; Olukolu *et al.*, 2016; Visentin *et al.*, 2018; Qiu *et al.*, 2020; Nankam y Pataky 1996; Pérez-Brito *et al.*, 2001), mientras que los valores obtenidos para TFN, TFS, y FG (0,88 a 0,9, 0,81 a 0,86, y 0,78 respectivamente) se encontraron dentro del rango de los valores reportados previamente (Welz *et al.*, 1999; Poland *et al.*, 2011; Van Inghelandt *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2016; Salim Shah *et al.*, 2007; Balint-Kurti *et al.*, 2007; Kump *et al.*, 2011; Zwonitzer *et al.*, 2010; Lopez-Zuniga *et al.*, 2019; Miedaner *et al.*, 2015; Kebede *et al.*, 2016). Todos estos valores elevados de heredabilidad pueden ser debidos a la correcta y precisa aplicación de la metodología de trabajo, con datos que cubrían todas las escalas de evaluación. Además, los datos presentaron una alta varianza genética y bajos efectos ambientales que redundaron en altas estimaciones de

heredabilidad. Una posible explicación para las diferencias en las heredabilidades reportadas en la bibliografía puede deberse a diferencias con las metodologías de los trabajos previos como por ejemplo en el caso de Qiu *et al.* (2020), donde se utilizó la metodología de inoculación para BLS además de utilizar metodologías diferentes para cada ubicación de dicho estudio lo que pudo conducir al cálculo de heredabilidades que fueron demasiado bajas.

Todas las enfermedades fueron evaluadas en ensayos multiambientales. La estimación de la heredabilidad a través de la metodología standard fue superior a las heredabilidades calculadas con otras metodologías. Estos resultados son consistentes con la bibliografía que indica que en presencia de datos desbalanceados el método standard puede sobreestimar los valores de heredabilidad (Schmidt *et al.*, 2019). En nuestro caso las diferencias entre las metodologías fueron pequeñas, probablemente porque nuestra base de datos presentaba pocos datos faltantes.

Nuestros cálculos fueron todos realizados con paquetes y softwares de libre acceso, y en el anexo presentamos el código que utilizamos para que puedan ser aprovechados por otros autores.

El desarrollo de genotipos resistentes a enfermedades requiere de evaluaciones en múltiples ambientes para seleccionar resistencia estable (Galiano-Carneiro y Miedaner, 2017; Rivero Do Vale *et al.*, 2001). Como se refleja en este trabajo, estos ensayos involucran repeticiones y un número adecuado de genotipos con el objetivo de garantizar suficiente variabilidad para la selección. Una característica muy común es que no todos los genotipos son testeados igual número de veces, ya sea porque son descartados a través de los años o porque las parcelas se perdieron. Esto implica que los datos con los que se trabaja están desbalanceados. La heredabilidad es una medida muy importante para los mejoradores porque determina la respuesta a la selección, sin embargo, la metodología tradicional para su cálculo asume datos balanceados. En este trabajo se compararon tres metodologías para calcular la heredabilidad.

A pesar de que la metodología estándar es inapropiada para el cálculo de la heredabilidad con datos desbalanceados, es la metodología más difundida y utilizada (Schmidt et al., 2019). Probablemente las demás metodologías sean menos conocidas, y a priori parezcan más complejas y por lo tanto menos utilizadas.

En este trabajo se utilizaron modelos lineales mixtos para analizar los datos. La utilización de modelos mixtos, a diferencia del uso del tradicional modelo lineal, es una herramienta muy útil para el mejoramiento genético ya que permite trabajar satisfactoriamente con datos desbalanceados (Bernardo, 2020). A su vez, este tipo de modelos permite incorporar, además del error, diferentes fuentes aleatorias de variación (Piepho et al., 2003). Como mejora, en próximos estudios podría pensarse en la utilización de diseños de bloques incompletos ya sea para evaluar un grupo de genotipos de tamaño similar o mayor al considerado en este trabajo.

Finalmente, los resultados obtenidos son muy alentadores para continuar explotándose. En este sentido, se podría buscar marcadores genéticos asociados a la resistencia a las enfermedades, como por ejemplo a través de un estudio de asociación de genoma completo (GWAS), que permitiría alcanzar una mejor comprensión de cómo los genes contribuyen a la enfermedad y desarrollar mejores estrategias de prevención y tratamiento. Asimismo, se podrían identificar marcadores que se puedan utilizar para predecir genotipos resistentes, como por ejemplo a través de la selección genómica, que permitan optimizar el desarrollo de genotipos resistentes.

CONCLUSIONES

Todas las metodologías arrojaron valores de H^2 altos para todas las enfermedades. Las metodologías de Cullis y Phiepo presentaron valores levemente inferiores, lo cual confirma que son las más apropiadas para calcular H^2 a partir de bases de datos desbalanceadas debido a que la metodología estándar sobreestima la estimación de la heredabilidad. El uso de las metodologías alternativas, son una alternativa superadora y no presentan una mayor complejidad.

Los altos valores de heredabilidad y variabilidad estimados indican el importante potencial de estos genotipos para ser utilizados en programas de mejoramiento orientados al desarrollo de híbridos o variedades de polinización abierta resistente a diferentes enfermedades. Además, se ofrece a los mejoradores de maíz un listado de los mejores genotipos con resistencia a las principales enfermedades del maíz presentes en el país. Este listado es el resultado de la evaluación de las líneas a través de varios años y localidades, por lo tanto, representa genotipos estables que podrían ser directamente utilizados por los mejoradores.

BIBLIOGRAFIA

- Ali, F., y Yan, J. 2012. Disease resistance in maize and the role of molecular breeding in defending against global threat. *Journal of integrative plant biology*, 54(3), 134-151.
- Balint-Kurti, P. J., Zwonitzer, J. C., Wisser, R. J., Carson, M. L., Oropeza-Rosas, M. A., Holland, J. B., y Szalma, S. J. 2007. Precise Mapping of Quantitative Trait Loci for Resistance to Southern Leaf Blight, Caused by *Cochliobolus heterostrophus* Race O, and Flowering Time Using Advanced Intercross Maize Lines. *Genetics*, 176(1), 645-657.
- Bernardo, R. 2020. Reinventing quantitative genetics for plant breeding: Something old, something new, something borrowed, something BLUE. *Heredity*.
- Brown, A. F., Juvik, J. A., y Pataky, J. K. 2001. Quantitative trait loci in sweet corn associated with partial resistance to Stewart's wilt, northern corn leaf blight, and common rust. *Phytopathology* 91:293-300.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2004. *Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo*. Cuarta edición. México, D. F. 118 p.
- Chen, J., Ding, J., Li, H., Li, Z., Sun, X., Li, J., Wang, R., Dai, X., Dong, H., Song, W., Chen, W., Xia, Z., y Wu, J. 2012. Detection and verification of quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* ear rot in maize. *Molecular Breeding* 30:1649–1656.
- Chen G., Wang X., Long S., Jaqueth J., Li B., Yan J., y Ding, J. 2016. Mapping of QTL conferring resistance to northern corn leaf blight using high-density SNPs in maize. *Molecular Breeding* 36:1–9.
- Cullis, B. R., Smith, A. B., y Coombes, N. E. 2006. On the design of early generation variety trials with correlated data. *Journal of agricultural, biological, and environmental statistics*, 11(4), 381.

- Defacio, R. A., Iglesias, J., Kistner, M. B., Canteros, F. H., Parrado, J., y Ferrer, M. E. 2018. Las poblaciones locales de maíz como fuente para la resistencia a enfermedades. *Revista de tecnología agropecuaria* 10(38):18-21.
- De Rossi, R. L., Giménez Pecci, M. D. L. P., Guerra, F. A., Plazas, M. C., Brücher, E., Guerra, G. D., Torrico, A. K., Camiletti, B. X., Maurino, M. F., Barontini, J., Ferrer, M., Lucini, E., y Laguna, I. G. 2017. Capítulo 09 Enfermedades del maíz de siembra tardía causadas por hongos. En *El mismo maíz, un nuevo desafío: Compendio primer congreso de maíz tardío*. Borrás, L., Uhart, S. (Eds). 1a edición compendiada. San Isidro: Dow Agrosiences. Argentina.
- Ding, J. Q., Wang, X. M., Chander, S., Yan, J. E., y Li, J. S. 2008. QTL mapping of resistance to *Fusarium* ear rot using a RIL population in maize. *Molecular Breeding* 22: 395–403.
- Dudley, J. W., y Moll, R. H. 1969. Interpretation and use of estimates of heritability and genetic variances in plant breeding. *Crop Science* 9(3):257-262.
- Falconer, D. S., y Mackay, T. F. C. 1996. *An Introduction to Quantitative Genetics*, Ed. 4. Prentice Hall, London.
- FAO, 2020. Consultado en agosto de 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Gaikpa, D. S., y Miedaner, T. 2019. Genomics-assisted breeding for ear rot resistances and reduced mycotoxin contamination in maize: methods, advances and prospects. *Theoretical and Applied Genetics*, 1-19.
- Galiano-Carneiro, A. L., y Miedaner, T. 2017. Genetics of resistance and pathogenicity in the maize/*Setosphaeria turcica* pathosystem and implications for breeding. *Frontiers Plant Science*. 8: 1490.
- García-Lara, S., y Serna-Saldivar, S. O. 2019. Corn history and culture. In *Corn* (pp. 1-18). AACC International Press.
- Giomi, G. M., Kreff E. D., Iglesias, J., Fauguel C. M., Fernandez, M., Oviedo, M. S., y Presello, D. A. 2016. Quantitative trait loci for *Fusarium* and

Gibberella ear rot resistance in Argentinian maize germplasm. *Euphytica* 211(3): 287-294.

- González, M. 2005. Roya común del maíz: altos niveles de severidad en la zona maicera núcleo (campana 04/05). *Revista Agromensajes FCA-UNR*. Vol.15 Consultado octubre 2018. Disponible en <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/15/2AM15.htm>
- Guerra, F. A., De Rossi, R. L., Brücher, E., Vuletic, E., Plazas, M. C., Guerra, G. D., y Ducasse, D. A. 2018. Occurrence of the complete cycle of *Puccinia sorghi* Schw. in Argentina and implications on the common corn rust epidemiology. *European Journal of Plant Pathology*, 154(2), 171-177.
- Hallauer, A. R., y Miranda, J. B. 1988. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Iglesias, J., Presello, D. A., Botta, G., Lori, G. A., y Fauguel, C. M. 2010. Aggressiveness of *Fusarium* Section *Liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. *Journal of plant pathology*, 205-211.
- Iglesias, J., Kistner, M. B., Canteros, F. H., Parrado, J., Ferrer, M. E. y Defacio, R. A. 2018. Diversidad para la resistencia a enfermedades en un grupo de poblaciones locales de maíz. In XI Congreso Nacional de Maíz. 21-24 de agosto, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Kebede, A. Z., Woldemariam, T., Reid, L. M., y Harris, L. J. 2016. Quantitative trait loci mapping for *Gibberella* ear rot resistance and associated agronomic traits using genotyping-by-sequencing in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 129:17–29.
- Kistner, M. B., y Lozano-Isla, F. 2020. Broad-sense heritability in plant breeding. <https://flavjack.github.io/inti/articles/heritability.html>
- Kistner, M. B., Videla, M. E., Parrado, J., Canteros, F. H., Bruno, C., e Iglesias, J. 2018. Evaluación de líneas endocriadas de maíz frente a múltiples enfermedades. In XI Congreso Nacional de Maíz. 21-24 de agosto, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

- Kistner, M. B., Lavilla, M. A., Montenegro, L., Zelada, V. D., e Iglesias, J. 2019. Leaf blights that affect maize: a short guide for identification and differentiation.
- Kotze, R. G., van der Merwe, C. F., Crampton, B. G., y Kritzinger, Q. 2018. A histological assessment of the infection strategy of *Exserohilum turcicum* in maize. *Plant Pathology*, 68(3), 504-512.
- Kump, K. L., Bradbury, P. J., Wisser, R. J., Buckler, E. S., Belcher, A. R., Oropeza-Rosas, M. A., Zwonitzer, J. C., Kresovich, S., McMullen, M. D., Ware, D., Balint-Kurti, P. J., y Holland, J. B. 2011. Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics*, 43(2), 163-168.
- Lopez-Zuniga, L. O., Wolters, P., Davis, S., Weldekidan, T., Kolkman, J. M., Nelson, R., Hooda, K. S., Rucker, E., Thomason, W., Wisser, R., y Balint-Kurti, P. 2019. Using maize chromosome segment substitution line populations for the identification of loci associated with multiple disease resistance. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(1), 189-201.
- Lübberstedt, T., Klein D., y Melchinger, A. 1998. Comparative QTL mapping of resistance to *Ustilago maydis* across four populations of European flint-maize. *Theoretical and Applied Genetics* 97:1321–1330.
- Maschietto, V., Colombi, C., Pirona, R., Pea, G., Strozzi, F., Marocco, A., Rossini, L., y Lanubile, A. 2017. QTL mapping and candidate genes for resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in maize. *BMC Plant Biology* 17:20.
- Mendoza, E. M., López, B. A. O., Oyervides, G. A., Martínez, Z. G., De León, C., y Moreno, M. E. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca de maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 267–271.
- Miedaner, T., Han, S., Kessel, B., Ozunova, M., Schrag, T., Utz, F.H., y Melchinger, A.E. 2015. Prediction of deoxynivalenol and zearalenone concentrations in *Fusarium graminearum* inoculated backcross populations

of maize by symptom rating and near-infrared spectroscopy. *Plant Breeding* 134:529–534.

- Montenegro, L., Buzzetti, G., Tesei, I., Zelada, V., Videla M. E., Kistner, B., Bruno, C. e Iglesias, J. 2018. Evaluación de líneas endocriadas de maíz frente a podredumbres de espiga, causadas por *Fusarium* spp y *Ustilago maydis*. In XI Congreso Nacional de Maíz. 21-24 de agosto, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Montenegro, L., Kistner, M. B., Defacio, R., e Iglesias, J. 2019. Caracterización de conidios y desarrollo de inóculo de *Exserohilum turcicum* del maíz. Abstract and poster presentation. VI Jornada de Jóvenes Investigadores de la UNNOBA. Pergamino, Buenos Aires, Argentina. 11th April 2019.
- Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Allen, T. W., Bergstrom, G. C., Bosley, D. B., Bradley, C. A., Broders, K. D., Byamukama, E., Chilvers, M. I., Collins, A., Faske, T. R., Friskop, A. J., Heiniger, R. W., Hollier, C. A., Hooker, D. C., Isakeit, T., Jackson-ziems, T. A., Jardine, D. J., Kelly, H. M., Kinzer, K., Koening, S. R., Malvick, D. K., McMullen, M., Meyer, R. F., Paul, P. A., Robertson, A. E., Roth, G. W., Smith, D. L., Tande, C. A., Tenuta, A. U., Vincelli, P., y Warner, F. 2016. Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. *Plant Health Progress* 17(3):211–22.
- Mutiga, S. K., Were, V., Hoffmann, V., Harvey, J. W., Milgroom, M. G., y Nelson, R. J. 2014. Extent and drivers of mycotoxin contamination: inferences from a survey of Kenyan maize mills. *Phytopathology* 104(11):1221–31.
- Nankam, C., y Pataky, J. K. 1996. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in sweet corn inbred IL125b. *Plant Disease* 80:593-598.
- Niks, R. E., Parlevliet, J. E., Lindhout, P., y Bai, Y. 2011. Breeding crops with resistance to diseases and pests. Wageningen Academic Publishers.

- Oerke, E. 2005. Centenary review crop losses to pests. *J. Agric. Sci.*144,31–43.
- Olukolu, B. A., Tracy, W. F., Wisser, R., De Vries, B., y Balint-Kurti, P. J. 2016. A Genome-Wide Association Study for Partial Resistance to Maize Common Rust. *Phytopathology*, 106(7), 745-751.
- Parsons, M. W., y Munkvold, G. P. 2012. Effects of planting date and environmental factors on *Fusarium* ear rot symptoms and fumonisin B1 accumulation in maize grown in six North American locations. *Plant Pathology* 61:1130–42.
- Pérez-Brito, D., Jeffers, D., Gonzáles de Leon, D., Khairallah, M., Cortes-Cruz, M., Velazquez-Cardelas, G., Azpíroz-Rivero, S., y Srinivasan, G. 2001. QTL mapping of *Fusarium moniliforme* ear rot resistance in highland maize, Mexico. *Agrociencia* 35:181–196.
- Pereyra, S. y Acosta, Y. 2014. Guía para el manejo de la Fusariosis de la espiga en trigo. Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria La Estanzuela.
- Piepho, H. P., Buchse, A., y Emrich, K. 2003. A Hitchhiker’s Guide to Mixed Models for Randomized Experiments. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189(5), 310-322.
- Piepho, H. P., y Möhring, J. 2007. Computing heritability and selection response from unbalanced plant breeding trials. *Genetics* 177: 1881-1888.
- Plazas, M. C., De Rossi, R. L., Brücher, E., Guerra, F. A., Vilaró, M., Guerra, G. D., Wu, G., Ortiz-Castro, M. C., y Broders, K. 2017. First Report of *Xanthomonas vasicola* pv. *Vasculorum* Causing Bacteria Leaf Streak of Maize (*Zea mays*) in Argentina. *Plant Disease*, 102(5), 1026-1026.
- Poland, J. A., Bradbury, P. J., Buckler, E. S., y Nelson, R. J. 2011. Genome-wide nested association mapping of quantitative resistance to northern leaf blight in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (17) 6893-6898.
- Presello, D. A., Pereyra, A. O., Iglesias, J., Fauguel, C. M., Sampietro, D. A., y Eyherabide, G. H. 2011. Responses to selection of S 5 inbreds for

broad-based resistance to ear rots and grain mycotoxin contamination caused by *Fusarium* spp. in maize. *Euphytica*, 178(1), 23-29.

- Qiu, Y., Kaiser, C., Schmidt, C., Broders, K., Robertson, A. E., y Jamann, T. M. 2020. Identification of quantitative trait loci associated with maize resistance to bacterial leaf streak. *Crop Science*, 60(1), 226-237.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ribeiro do Vale, F. X., Parlevliet, J. E., y Zambolim, L. 2001. Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, 26(3), 577-589.
- Robertson-Hoyt, L. A., Jines, M. P., Balint-Kurti, P. J., Kleinschmidt, C. E., White, D. G., Payne, G. A., Maragos, C. M., Molnár, T. L., y Holland, J. B. 2006. QTL mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science* 46:1734–1743.
- Rossi, E. A., Ruiz, M., Ratto, M., Visentin, D., Di Renzo, M., y Bonamico, N. 2018. Variabilidad fenotípica y genotípica en líneas de maíz. In XI Congreso Nacional de Maíz. 21-24 de agosto, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Salim Shah, S., Hidayat-Ur-Rahman., Iftikhar Hussain Khalil., y Muhammad Iqbal. 2007. Recurrent selection for maydis leaf blight resistance and grain yield improvement in maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 3632-3637.
- Schjoth, J. E., Visconti, A., y Sundheim, L. 2009. Fumonisin in maize in relation to climate, planting time and hybrids in two agroecological zones in Zambia. *Mycopathologia* 167:209–19.
- Schmidt, P., Hartung, J., Rath, J., y Piepho, H.-P. 2019. Estimating Broad-Sense Heritability with Unbalanced Data from Agricultural Cultivar Trials. *Crop Science*, 59(2), 525-536.
- Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas. Consultado en febrero de 2020. Disponible en: <https://www.sinavimo.gov.ar>
- Subsecretaria de Programación Microeconómica de Argentina. Informes productivos. Consultado en noviembre 2019. Disponible en

https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspmicro_cadenas_de_valor_maiz.pdf

- Vallejo, F., Estrada, E. 2002. Mejoramiento genético en plantas. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. 404.
- Van Inghelandt, D., Melchinger, A. E., Martinant, J-P., Stich, B. 2012. Genome-wide association mapping of flowering time and northern corn leaf blight (*Setosphaeria turcica*) resistance in a vast commercial maize germplasm set. BMC Plant Biology 12(56).
- Visentin, D., Ruiz, M., Rossi, E. A., Ratto, M., Di Renzo, M., y Bonamico N. C. 2018. Variabilidad fenotípica de la reacción a roya y a carbón, en un grupo de líneas de maíz evaluadas en el sur de la provincia de Córdoba, Argentina. In XI Congreso Nacional de Maíz. 21-24 de agosto, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Wang, H., Xiao, Z. X., Wang, F. G., Xiao, Y. N., Zhao, J. R., Zheng, Y. L., y Qiu, F. Z. 2012. Mapping of HtNB, a gene conferring non-lesion resistance before heading to *Exserohilum turcicum* (Pass.), in a maize inbred line derived from the Indonesian variety Bramadi. Genetics and Molecular Research 11:2523–2533.
- Welz, H. G., Xia, X. C., Bassetti, P., Melchinger, A. E., y Lübberstedt, T. 1999. QTLs for resistance to *Setosphaeria turcica* in an early maturing dent x flint maize population. Theoretical and Applied Genetics 99:649–655.
- Yang, X., Yan, J., Shah, T., Warburton, M. L., Li, Q., Li, L., Gao, Y., Chai, Y., Fu, Z., Zhou, Y., Xu, S., Bai, G., Meng, Y., Zheng, Y., y Li, J. 2010. Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. Theoretical and Applied Genetics 121:417-431.
- Yang, Q., Balint-Kurti, P., y Xu, M. 2017. Quantitative disease resistance: dissection and adoption in maize. Molecular plant 10(3): 402-413.
- Zheng, H., Chen, J., Mu, C., Makumbi, D., Xu, Y., y Mahuku, G. 2018. Combined linkage and association mapping reveal QTL for host plant

resistance to common rust (*Puccinia sorghi*) in tropical maize. *BMC Plant Biology* 18(1).

- Zwonitzer, J. C., Coles, N. D., Krakowsky, M. D., Arellano, C., Holland, J. B., McMullen, M. D., Pratt, R.C., y Balint-Kurti, P. J. 2010. Mapping resistance quantitative trait loci for three foliar diseases in a maize recombinant inbred line population—Evidence for multiple disease resistance?. *Phytopathology*, 100(1), 72-79.

ANEXO

Tabla 1: Medidas resumen de los datos en crudo de cada enfermedad.

| <i>Enfermedades</i> | RC | BLS | TFN | TFS | FV | FG |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|
| n total | 884 | 348 | 522 | 348 | 166 | 166 |
| n | 773 | 291 | 447 | 253 | 156 | 156 |
| Min | 1 | 1 | 1 | 1 | 1.77 | 1.2 |
| Max | 5 | 5 | 5 | 5 | 7 | 7 |
| Median | 2 | 2 | 4 | 4 | 5.2 | 5 |
| Mean | 2.36 | 2.13 | 3.53 | 3.47 | 5.16 | 5.05 |
| sd | 1.01 | 1.25 | 1.13 | 1.09 | 1.08 | 1.02 |
| NA's | 111 | 61 | 75 | 95 | 10 | 10 |

n total=número de entradas, n=número de entradas evaluadas, min=valor mínimo, max=valor máximo sd=desvío standard, NA's=valores faltantes, RC= roya común, BLS=estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

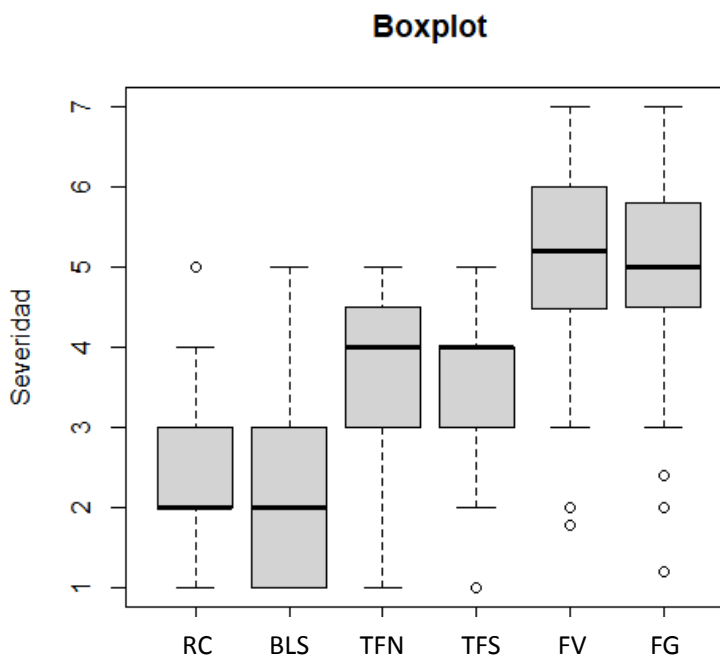


Figura 1: Box Plots de las frecuencias de los valores de severidad para cada enfermedad.

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

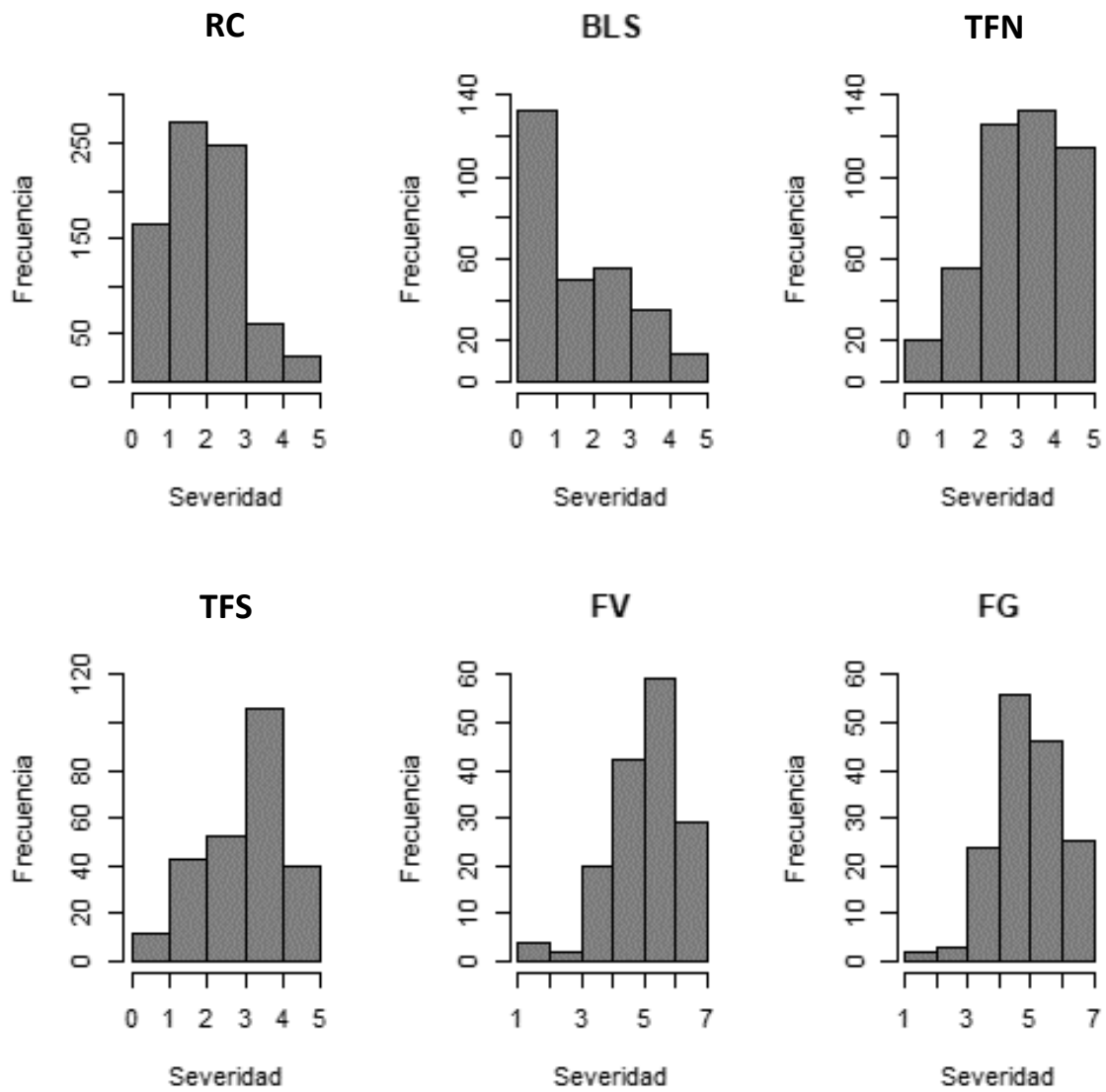


Figura 2: Histogramas de las frecuencias de los valores de severidad para cada enfermedad.

RC= roya común, BLS= estría bacteriana, TFN= tizón foliar del norte, TFS= tizón foliar del sur, FV= *Fusarium verticillioides*, FG= *Fusarium graminearum*.

Paquetes y script utilizado para el cálculo de las heredabilidades, BLUPs, y BLUEs en R.

Paquetes: tidyverse, emmeans, lme4, lmerTest, inti, y agridat.

Script:

```
H2<- H2cal(data = ...
  ,effects = T
  , blues = T
  , trait = "... "
  , gen.name = "genotype"
  ,loc.name = "Env"
  ,loc.n = ...
  , rep.n = ...
  , fix.model = "genotype + (1|Env) + (1|block:Env) + (1|genotype:Env) "
  , ran.model = " (1|Env) + (1|block:Env) + (1|genotype) + (1|genotype:Env)"

H2$tabsmr %>% knitr::kable(., caption = "Heritability summary", digits = 2)
H2$blups %>% web_table(caption = "BLUPs", digits = 3)
H2$blues %>%knitr::kable(., caption = "BLUEs")
```