

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**“INTROGRESION DE GENES FORANEOS PARA POTENCIAR EL
CONTENIDO DE PROTEINA EN TRIGOS
PANADEROS (*Triticum aestivum L.*)”**

Monografía presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

FRANCISCO JAVIER ACEVEDO OSSES
PROFESOR GUIA: CLAUDIO JOBET FORNAZZARI

TEMUCO – CHILE

2013

**INTROGRESION DE GENES FORANEOS PARA POTENCIAR EL
CONTENIDO DE PROTEINA EN TRIGOS PANADEROS (*Triticum
aestivum L.*)”**

PROFESOR GUIA:

CLAUDIO ROBERTO JOBET FORNAZZARI

Ingeniero agrónomo, MSc. PhD.

Departamento de producción agropecuaria

Universidad de La Frontera

PROFESOR CONSEJERO:

JUAN CARLOS GARCÍA DIEZ

Ingeniero agrónomo

Departamento de producción agropecuaria

Universidad de La Frontera

CALIFICACION PROMEDIO TESIS:

INDICE DE MATERIAS

Capitulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TRIGO EN LA ALIMENTACION	3
3	PRODUCCIÓN MUNDIAL Y MERCADO INTERNACIONAL DEL TRIGO.	4
3.1	Principales países productores	5
3.2	Principales países consumidores.	6
3.3	Principales países importadores.	7
3.4	Principales países exportadores	8
3.5	Oferta y demanda mundial de trigo.	9
4	SITUACIÓN ACTUAL DEL TRIGO: NACIONAL Y REGIONAL	11
4.1	Producción nacional	11
4.2	Consumo nacional	13
5	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE TRIGO.	14
5.1	Carbohidratos	14
5.2	Proteínas	15
5.3	Lípidos	16
5.4	Vitaminas y minerales	16
6	CALIDAD INDUSTRIAL Y NUTRICIONAL DEL TRIGO PANADERO.	17
6.1	Dureza de grano	17
6.2	Cantidad de proteína	18
6.3	Calidad de las proteínas	19
6.3.1	Gliadinas	19
6.3.2	Gluteninas	21
7	FACTORES QUE DETERMINAN LA VARIACIÓN DE LA CALIDAD PANADERA EN TRIGO	23
7.1	Factores genéticos	23
7.2	Factores ambientales	24
7.3	Factores de manejo	25

7.3.1	Fertilización	25
7.3.2	Secado artificial	25
8	CLASIFICACIÓN DE TRIGOS EN CHILE	26
9	MEJORA GENÉTICA DEL TRIGO	29
9.1	Mejoramiento convencional	29
9.2	Biotecnología	30
10	BIOTECNOLOGÍA Y MEJORAMIENTO VEGETAL	32
10.1	Marcadores moleculares	32
10.1.2	Marcadores Bioquímicos	33
10.1.3	Marcadores de ADN	34
10.2	Análisis de loci de carácter cuantitativo	37
10.3	Marcadores moleculares y mejoramiento genético de cultivos	38
10.3.1	Retrocruzamiento tradicional	39
10.3.2	Retrocruzas asistidas por marcadores	40
11	INTROGRESIÓN DE GENES PARA EL AUMENTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA EN GRANO	41
11.1	Locus relacionado al contenido de proteína	41
11.2	Introgresión del alélelo GPC B1 en cultivares modernos de trigo.	42
11.2.1	Pullman, Washington, Estados Unidos	43
11.2.2	Meerut, Ludhiana y Pantnagar, India	45
11.2.3	California, Estados Unidos	46
11.2.4	Buenos Aires, Argentina	49
11.3	Región de La Araucanía, Chile	51
11.4	Cultivares comerciales con introgresión del gen GPC-B1	51
11.5	Mecanismo propuesto para los efectos fenotípicos del locus GPC-B1	53
12	CONCLUSIONES	54
13	RESUMEN	55
14	LITERATURA CITADA	56

1 INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum* spp) es considerado el cereal más importante en el mundo y es el que posee mayor superficie cultivada. El amplio rango geográfico y climático que tiene para su producción, le permiten distribuirse prácticamente por todo el mundo. Esta adaptación a diversas condiciones ambientales se ha conseguido gracias a la gran variabilidad genética existente. Por otro lado las características nutricionales que posee el grano de trigo, hacen que tenga una importante participación en la dieta alimentaria de millones de personas.

Aproximadamente el 90-95 % del trigo producido y consumido en el mundo es *Triticum aestivum ssp vulgare* L., más conocido como trigo blando o panadero.

En Chile, el trigo es un producto de primera necesidad e importancia, prueba de ello es que somos el segundo país, después de Turquía, que más consume pan. En términos de superficie la producción se concentra en las regiones del Maule, La Araucanía, Los Ríos y de Los Lagos, las cuales en conjunto concentran sobre un 80% de la producción nacional. Debido al gran requerimiento de mano de obra que genera este rubro, el cultivo toma un rol social y laboral muy importante, sobre todo para las regiones antes mencionadas. El consumo nacional de trigo es de 150 kilos por habitante al año, lo que nos posiciona entre los más elevados del mundo. Se estima que sobre el 40% de las calorías presentes en la dieta nacional provienen de este cultivo y, por ello, es que su calidad agroindustrial es de gran importancia.

La calidad depende de diversos factores, entre los cuales destaca el contenido de proteínas almacenadas en el grano. Chile, es un país que en las últimas temporadas ha presentado un alto rendimiento promedio, pero con un contenido proteico en el grano característicamente bajo, en comparación a otros países como Argentina, Estados Unidos o Canadá. Esta limitación es una de las razones por las cuales los niveles actuales de calidad industrial de trigo son insuficientes para sustentar una funcionalidad acorde a los requerimientos de la industria molinera y claramente constituyen un factor que limita el desarrollo y comercialización de la producción nacional.

Entre las alternativas para mejorar potencialmente la calidad del grano de trigo se encuentra las herramientas biotecnológicas, como la selección asistida por marcadores moleculares (MAS), que permiten generar líneas avanzadas de trigo que adicionalmente presenten un mayor potencial en el contenido de proteínas.

En teoría el uso estos avances tecnológicos podría ser una herramienta útil para lograr satisfacer los requerimientos industriales nacionales sin la necesidad de tener que incurrir a la importación de trigos extranjeros de mejor calidad y mayor precio. Sin embargo es necesario validar estos conocimientos en la práctica y bajo las condiciones edafoclimáticas de Chile.

Objetivo general:

Reunir antecedentes sobre la introgresión de genes, para potenciar el contenido de proteína en el grano de trigos panaderos (*Triticum aestivum L.*).

Objetivos específicos:

1. Analizar las diferentes herramientas biotecnológicas para el mejoramiento genético en la calidad del trigo.
2. Analizar el efecto de la introgresión del gen GPC-B1 en cultivares modernos de trigo.

2 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TRIGO EN LA ALIMENTACION

De todos los cereales el trigo (*Triticum aestivum L.*) es considerado como el de mayor importancia comercial, debido a su utilización en la industria como materia prima para la elaboración de diversos productos entre ellos pan, pastas, galletas y pasteles. A nivel mundial, el trigo es la principal fuente de proteína vegetal en la alimentación humana, con un contenido proteínico más alto que el maíz o el arroz. Su grano en diferentes formas, es consumido por más de 1.500 millones de personas y se considera que provee más nutrientes que cualquier otra fuente de alimento (Serna-Saldívar, 1996). Además la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que el trigo confiere una quinta parte de las calorías consumidas diariamente por una persona.

Con el paso de los años el rendimiento mundial ha ido aumentando significativamente, lo cual se atribuye principalmente a la interacción del manejo y el mejoramiento (Evans y Fischer, 1999). Sin embargo, el análisis evolutivo de las ganancias en rendimiento obtenidas en las últimas décadas muestra una tendencia a reducirse e incluso a estabilizarse durante los últimos años (Calderini y Lafer, 1998; Miralles y Slafer, 2007; Fischer y Edmeades, 2010). Por otro lado la demanda mundial por este cereal crece a tasas mayores que las actuales ganancias genéticas en rendimiento de los diferentes países (Reynolds et al., 2009b), y dada la dificultad para incrementar de manera significativa nuevas áreas de producción, aumentar la productividad de las superficies presentes parece ser la solución más conveniente para mejorar los niveles de producción mundial, razón por la cual la ganancia en rendimiento potencial sigue siendo el principal componente de este progreso (Fischer, 2007b).

En la actualidad el trigo es la segunda especie más cultivada en el mundo, según datos de la FAO la producción para la temporada 2012-2013 se estima en 690 millones de toneladas. Sin embargo las necesidades de alimentación para una población mundial en aumento son aún mayores que la actual cantidad de alimentos disponibles, la demanda futura de proteínas y calorías será principalmente de tres especies: maíz, arroz y trigo, de las cuales el trigo está llamado a ser el alimento básico para todos aquellos países en desarrollo (Jobet, 2002).

3 PRODUCCIÓN MUNDIAL ACTUAL Y MERCADO INTERNACIONAL DEL TRIGO

De acuerdo al informe entregado por la FAO relativo a la producción mundial de trigo para el año 2013 se proyectan 690 millones de toneladas, lo que representa un incremento del 4,3% con respecto a la cosecha de 2012. El incremento debería de producirse principalmente en Europa, gracias a la expansión de la superficie en respuesta a los precios altos, y por una recuperación en los rendimientos con respecto a los bajos niveles obtenidos el año pasado en algunas partes.

En América del Norte, las perspectivas para Estados Unidos son menos favorables debido a la fuerte sequía que ha afectado diferentes sectores del país, en el reporte entregado por el Departamento de Agricultura estadounidense se señala que el 39% de la cosecha de trigo de invierno estaba en condiciones muy pobres, y que aunque las buenas precipitaciones recibidas en febrero han mejorado mucho las perspectivas en las zonas sembradas con trigo de invierno, probablemente sea demasiado tarde para que los cultivos afectados se recuperen del todo. Se pronostica provisionalmente que la producción total de trigo disminuirá en alrededor de un 6%.

En Asia, las expectativas para la cosecha de trigo de 2013 son más favorables. En China, el aumento de los precios mínimos de compra ha alentado a los agricultores a mantener el nivel bueno de la superficie sembrada el año pasado; las condiciones atmosféricas favorables han beneficiado a los cultivos; y los primeros pronósticos oficiales apuntan a una producción de trigo sin precedentes de aproximadamente 121 millones de toneladas en 2013. También en el Pakistán se pronostica una producción récord de trigo, gracias al aumento de la superficie plantada y a unas perspectivas de buenos rendimientos. En la India, las plantaciones giran en torno al buen nivel del año pasado, previéndose otra cosecha excelente aunque ligeramente menor que la producción anterior (FAO, 2013).

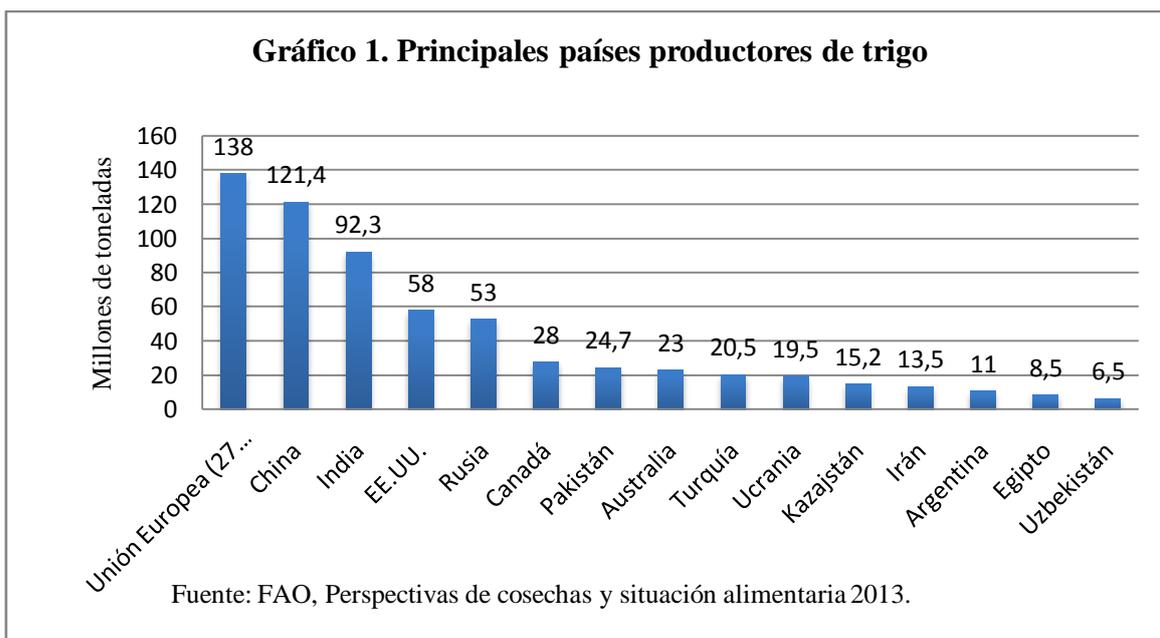
En relación al mercado mundial se pronostica que en 2012/13 el comercio del trigo (incluida la harina de trigo en equivalente de trigo) disminuirá en 8 millones de toneladas en comparación a la temporada anterior. Por su parte la fuerte disminución prevista en las

importaciones de trigo en 2012/13 se debe a la reducción de las compras de diversos países como: Afganistán, Argelia, Egipto, Kenya, Arabia Saudita, Tailandia, Turquía y Uzbekistán. Con respecto a los exportadores, se pronostica que la escasez de suministros reducirá los envíos de la Federación de Rusia, Kazajstán y Ucrania, así como de Argentina, Australia y la UE.

3.1 Principales países productores

Cuadro 1. Principales países productores de trigo		
Países	Producción proyectada 2012/13(millones de toneladas)	Participación en la producción (%) mundial
Unión Europea (27 países)	138,0	20,0
China	121,4	17,6
India	92,3	13,4
EE.UU.	58,0	8,4
Rusia	53,0	7,7
Canadá	28,0	4,1
Pakistán	24,7	3,6
Australia	23,0	3,3
Turquía	20,5	3,0
Ucrania	19,5	2,8
Kazajstán	15,2	2,2
Irán	13,5	2,0
Argentina	11,0	1,6
Egipto	8,5	1,2
Uzbekistán	6,5	0,9
Otros	56,9	8,2
Total	654,3	100

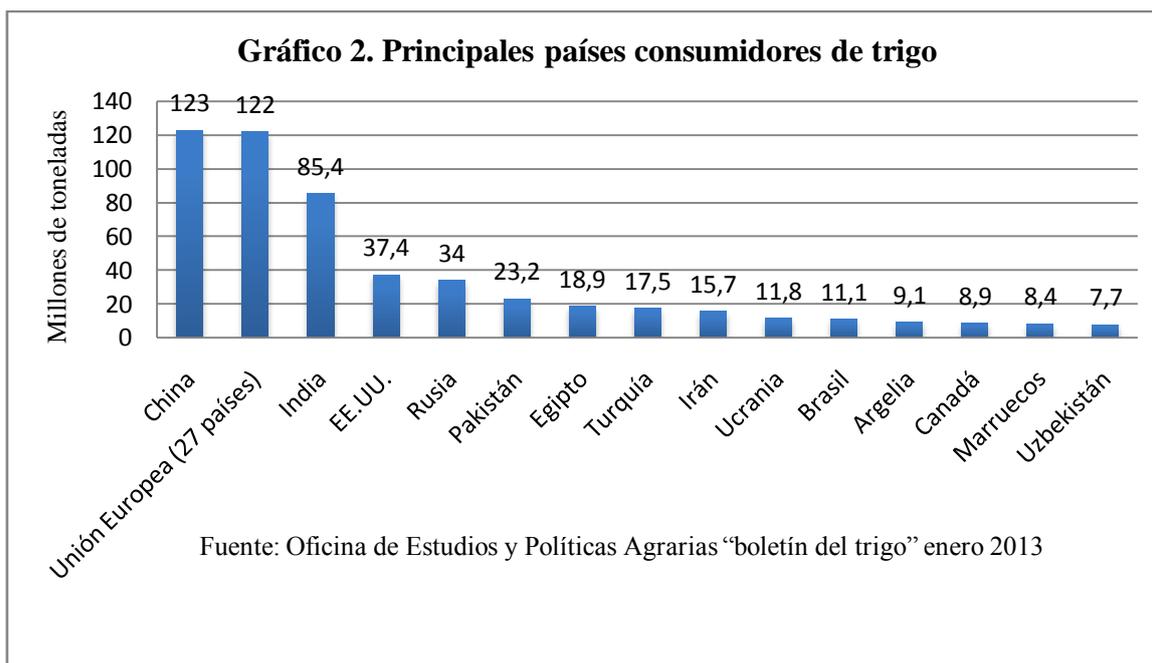
Fuente: FAO, Perspectivas de cosechas y situación alimentaria marzo 2013. Unión Europea: Austria, Bélgica, Bulgaria, Chipre, República Checa, Dinamarca, Estonia, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Países Bajos, Polonia, Portugal, Rumanía, Eslovaquia, Eslovenia, España, Suecia y Reino Unido.



3.2 Principales países consumidores.

Cuadro 2. Principales países consumidores de trigo		
Países	Consumo proyectado 2012/13(millones de toneladas)	Participación en el consumo (%)
China	123,0	18,3
Unión Europea (27 países)	122,0	18,1
India	85,4	12,7
EE.UU.	37,4	5,6
Rusia	34,0	5,0
Pakistán	23,2	3,4
Egipto	18,9	2,8
Turquía	17,5	2,6
Irán	15,7	2,3
Ucrania	11,8	1,8
Brasil	11,1	1,6
Argelia	9,1	1,3
Canadá	8,9	1,3
Marruecos	8,4	1,2
Uzbekistán	7,7	1,1
Otros	139,4	20,7
Total	673,5	100,0

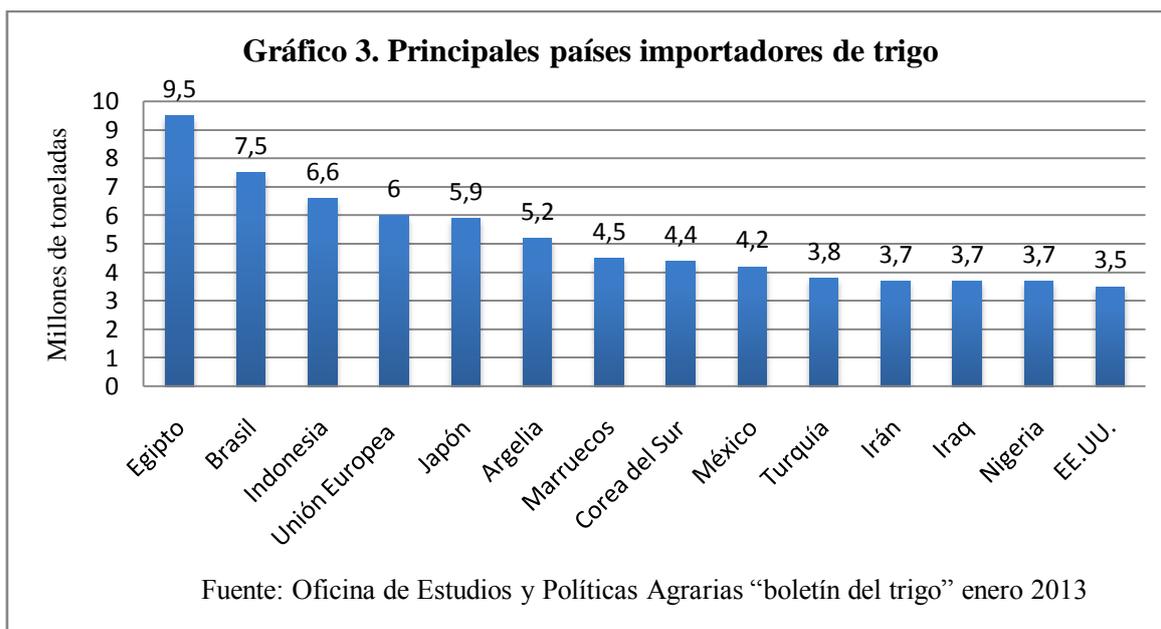
Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias “boletín del trigo” enero 2013



3.4 Principales países importadores.

Cuadro 3. Principales países importadores de trigo		
Países	Importaciones proyectadas 2012/13(millones de toneladas)	Participación en importaciones (%)
Egipto	9,5	6,8
Brasil	7,5	5,4
Indonesia	6,6	4,7
Unión Europea (27 países)	6,0	4,3
Japón	5,9	4,2
Argelia	5,2	3,7
Marruecos	4,5	3,2
Corea del Sur	4,4	3,2
México	4,2	3,0
Turquía	3,8	2,7
Irán	3,7	2,7
Iraq	3,7	2,7
Nigeria	3,7	2,7
EE.UU.	3,5	2,5
Otros	67,1	48,2
Total	139,4	100,0

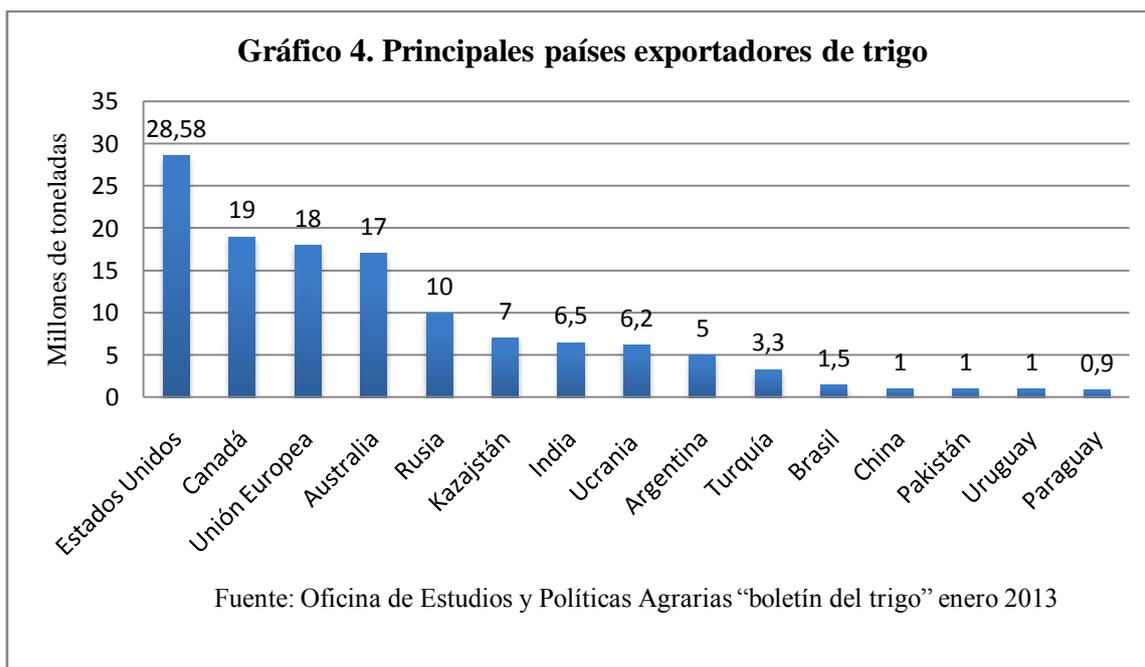
Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias “boletín del trigo” enero 2013



3.5 Principales países exportadores

Cuadro 4. Principales países exportadores de trigo		
Países	Exportaciones proyectadas 2012/13 (millones de toneladas)	Participación en exportaciones (%)
Estados Unidos	28,58	21,65
Canadá	19,00	14,39
Unión Europea	18,00	13,64
Australia	17,00	12,88
Rusia	10,00	7,58
Kazajstán	7,00	5,30
India	6,50	4,92
Ucrania	6,20	4,70
Argentina	5,00	3,79
Turquía	3,30	2,50
Brasil	1,50	1,14
China	1,00	0,76
Pakistán	1,00	0,76
Uruguay	1,00	0,76
Paraguay	0,90	0,68
Otros	6,02	4,56
Total	132,00	100,00

Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias “boletín del trigo” enero 2013



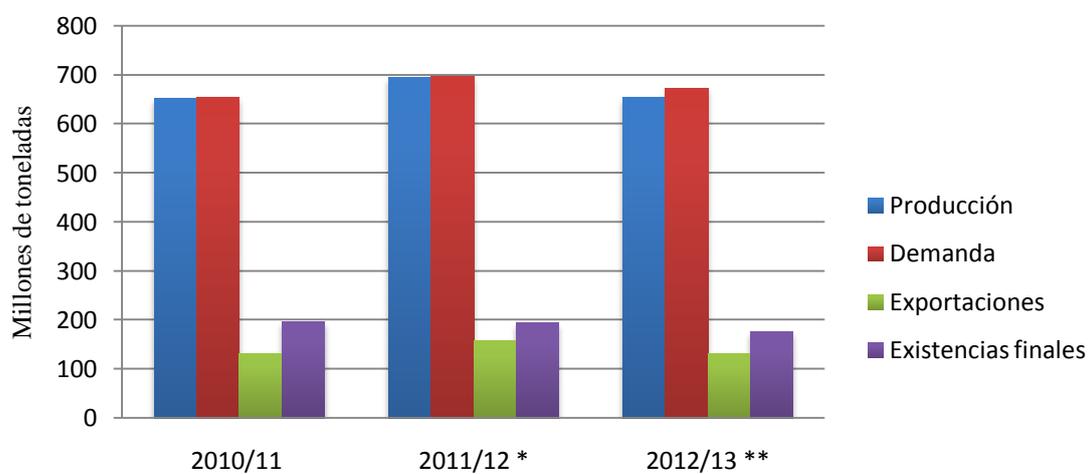
3.6 Oferta y demanda mundial de trigo.

Cuadro 5. Balance mundial de oferta y demanda de trigo en enero de 2013 (millones de toneladas)

Años	Existencias iniciales	Producción	Demanda	Comercio (exportaciones)	Existencias finales	Relación existencias finales/consumo
2010/11	200,3	652,2	654,7	132,5	197,8	30,2
2011/12 *	197,8	696,4	698,4	157,7	195,8	28,0
2012/13 **	195,8	654,3	673,5	132,0	176,6	26,2
Variación 2013/12	-1,0	-6,0	-3,6	-16,3	-9,8	-6,4

Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias “boletín del trigo” enero 2013. *Estimado.
**Proyectado.

**Gráfico 5. Balance mundial de oferta y demanda de trigo.
enero de 2013**



Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias "boletín del trigo" enero 2013

4 SITUACIÓN ACTUAL DEL TRIGO: NACIONAL Y REGIONAL.

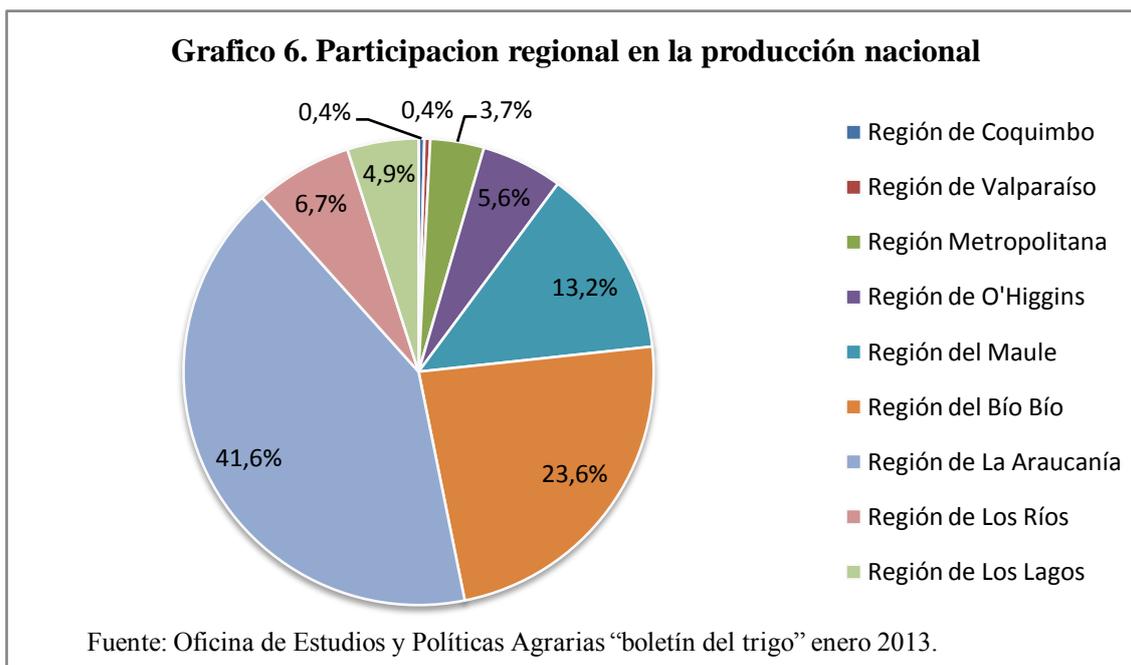
El trigo en Chile, junto con ser el cultivo más importante en términos de volumen y superficie, tiene una gran relevancia socioeconómica. Es cultivado principalmente por pequeños productores y destinado mayormente a la elaboración de pan. Existen aproximadamente 45 mil explotaciones con cultivo de trigo. De ellas, el 87% tiene menos de 50 hectáreas de superficie, ocupando el 32% de la superficie de siembra y produciendo el 22% del trigo nacional (Oficina de Estudios Públicos y Políticas Agrarias (ODEPA), 2012).

La producción se concentra principalmente entre la región del Maule y la región de La Araucanía (cuadro 6) donde el aporte en conjunto representa el 78,8 % del total nacional. En los últimos años, la región de La Araucanía ha aumentado su participación en la producción nacional, representando el 41% del total producido como país, contrariamente, se destaca la disminución en la participación de las regiones del centro, particularmente la región Metropolitana y la región del Libertador General Bernardo O'Higgins, que se explica por un aumento en el costo de la mano de obra y el valor de la tierra, lo que hacen poco rentable a este cultivo.

Cuadro 6. Superficie, producción y rendimiento regional de trigo en Chile. Temporada 2011/12

Región	Superficie (ha)	aporte en superficie	Rendimientos (qq/ha)	Producción (ton)	Aporte en producción
Región de Coquimbo	1.553	0,6%	28,5	4.426	0,4%
Región de Valparaíso	914	0,4%	52,4	4.789	0,4%
Región Metropolitana	7.669	3,1%	59,1	45.309	3,7%
Región de O'Higgins	13.167	5,4%	51,5	67.865	5,6%
Región del Maule	31.637	12,9%	50,4	159.522	13,2%
Región del Bío-Bío	60.641	24,7%	47,2	286.464	23,6%
Región de La Araucanía	106.791	43,5%	47,2	504.054	41,6%
Región de Los Ríos	13.328	5,4%	60,9	81.177	6,7%
Región de Los Lagos	9.531	3,9%	62,3	59.378	4,9%
Total	245.231	100,0%	49,5	1.212.983	100,0%

Fuente: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias "boletín del trigo" enero 2013. En este cuadro no se consideran las hectáreas del resto del país (46 ha) que generan la cifra 245.277 ha como aparece en el cuadro anterior.



Chile posee ventajas para la producción de trigo gracias a las buenas condiciones climáticas y sanitarias presentes. Por otro lado a través del tiempo el cultivo se ha visto beneficiado por la investigación y cambio tecnológico, permitiendo mejorar aspectos asociados al rendimiento principalmente.

Sin embargo el sector no es competitivo frente a los grandes jugadores de este mercado como USA, Argentina, Canadá o Australia, y por lo tanto presenta vulnerabilidad a la competencia por parte de importaciones.

La molinería constituye el principal destino de la producción nacional de trigo, con un Volumen promedio en los últimos 12 años de 1,8 millones de toneladas, la molienda se concentra en la zona central, principalmente en la región metropolitana donde en la pasada temporada 2011-2012 tuvo un 49% de participación total del país. Lo anterior conlleva altos costos de flete entre los centros de producción de trigo y las principales zonas de molienda.

4.1 Consumo nacional

En la última década la demanda aparente promedio de trigo en el país ha sido de 2.148.000 toneladas. De esta, solo se ha producido un 72% en promedio internamente y el saldo restante se ha cubierto con importaciones de tres países principalmente: Argentina, Estados Unidos y Canadá. La dependencia que posee Chile hacia los cereales importados implica que los precios de referencia para estos productos sean los costos de internación, los que dependen a su vez de los precios internacionales (ODEPA, 2012).

Según el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP, 2011) el consumo de trigo es de 140 kg per cápita al año, aportando entre un 36-46% de las proteínas, un 36-38% de la energía y un 21-71% de los minerales. La molienda de trigo es principalmente destinada a la elaboración de pan, además de masas y otros. De acuerdo a las estadísticas publicadas por Puratos Bélgica, el consumo de pan está en segundo lugar a nivel mundial, con un promedio total de 87,2 kg/pan/año, después de Turquía que se encuentra en primer lugar con un consumo de 168,2 kg/pan/año.

Dado el importante rol del trigo en nuestra alimentación, cualquier aumento en el contenido proteico que se pueda obtener en el grano, genera aspectos positivos desde el punto de vista nutricional y de calidad en general, para la dieta de nuestro país.

5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE TRIGO

El grano maduro está constituido por hidratos de carbono (principalmente almidón), proteínas, minerales, grasas y vitaminas. Estos nutrientes se encuentran distribuidos en las diferentes áreas del grano de trigo, sin embargo la mayor concentración se encuentra en el endospermo que es la parte productora de la harina (Mellado, 2007). El almidón está presente únicamente en el endospermo, la fibra cruda está reducida, casi exclusivamente al salvado y la proteína se encuentra por todo el grano. Aproximadamente la mitad de los lípidos totales se encuentran en el endospermo, la quinta parte en el germen y el resto en el salvado, pero la aleurona es más rica que el pericarpio y testa. Más de la mitad de las sustancias minerales totales están presentes en el pericarpio, testa y aleurona (Magaña, 2005).

5.1 Carbohidratos.

Alrededor del 75% del peso seco del grano está constituido por carbohidratos los que a su vez están conformados por un 60-68% de almidón, 6,5% de pentosas, del 2 al 2.5% de celulosa y el 1.5% de azúcares reductores (Quaglia, 1991). Desde el punto de vista de la composición el carbohidrato más importante es el almidón que está conformado por los polímeros amilosa (24%) y amilopectina (76%), aporta la energía y palatabilidad al pan (Mellado, 2007), además es insoluble en agua fría. Cuando se calienta con agua, la absorbe, se hincha y revienta; este fenómeno se llama gelificación (Magaña, 2005).

Las propiedades del almidón dependen en gran medida del grado de maduración al momento de la cosecha; la capacidad de hidratación depende del grado de maduración del grano, un almidón obtenido de un grano maduro es más fácil de hidrolizar por la acción enzimática, que el obtenido de un grano inmaduro, además existe un aumento en la concentración de amilasa en la medida que pasa el tiempo, por lo cual lo convierte en un grano más apto para la panificación generando un mayor volumen del pan (Quaglia, 1991).

Otro hecho relevante es que los azúcares reductores también juegan un rol importante en la panificación, puesto que son los encargados de la fermentación de la masa con la subsecuente liberación de gases. Estos azúcares son mínimos en el grano recién cosechado pero se van conformando paulatinamente durante el almacenamiento tanto del grano como de la harina (Quaglia, 1991).

5.2 Proteínas

Son el constituyente más importante del grano de trigo con relación a su principal uso: la panificación. El contenido de proteína en el grano de trigo varía entre un 8 y un 17 %, dependiendo de la variedad y de factores externos asociados con el cultivo. Osborne (1907) y Bushuk (1986) han clasificado a las proteínas del endospermo tradicionalmente según su solubilidad en:

- Albuminas, solubles en agua (15%)
- Globulinas, solubles en soluciones salinas (5%)
- Gliadinas, solubles en alcohol diluido (33%)
- Gluteninas, solubles en soluciones ácidas o alcalinas (47%)

Las gluteninas y gliadinas son los principales componentes del gluten y se denominan genéricamente prolaminas por su alto contenido en los aminoácidos prolina y glutamina. Comprenden aproximadamente el 80-85 % del total de las proteínas del endospermo del trigo.

Las prolaminas confieren propiedades viscoelásticas únicas a la masa del trigo, es por esta razón que su estructura, propiedades y genética han sido ampliamente estudiadas con objeto de poder determinar la base bioquímica y molecular de sus propiedades funcionales, para así poder mejorarlas ya sea por medio de métodos convencionales, optimización agronómica, condiciones de procesamiento e ingeniería genética. Las gluteninas son proteínas poliméricas formadas por la agregación de hasta 20 subunidades, unidas por puentes disulfuro inter e intracatenarios. Los polímeros de gluteninas están entre las

macromoléculas más grandes presentes en la naturaleza, con pesos moleculares que exceden el millón de Daltons (de Lucas, 2008).

5.3 Lípidos

Los lípidos en el grano de trigo varían en un rango de 2-4%. Del total de ellos prácticamente la mitad se encuentra en el germen (embrión del grano de trigo), una quinta parte en el endospermo y el resto se distribuye por las otras estructuras del grano principalmente en la capa aleurona. Los lípidos presentan una gran importancia, debido a que al descomponerse generan problemas de rancidez en las harinas; por lo que el germen que contiene una gran cantidad de lípidos tiene que eliminarse durante la molienda. Los lípidos del endospermo imparten blandura a los diversos productos de panificación, mejorando así su textura (Kent, 1984)

En estos últimos años variadas investigaciones ha puesto en evidencia la importancia de los lípidos en el proceso tecnológico de transformación, y en la conservación del producto final; tal importancia se debe a la propiedad tensoactiva que poseen las grasas y a su capacidad de reaccionar con las proteínas.

5.4 Vitaminas y minerales

Ambos forman menos del 1% del endospermo del trigo, la fracción mineral está constituida principalmente por los fosfatos y sulfatos de potasio, magnesio y calcio. Sin embargo se han detectado elementos de menor importancia como fierro, manganeso, zinc y cobre por mencionar algunos.

El trigo también posee cantidades apreciables de ciertas vitaminas tales como la tiamina (b1), la riboflavina (b2), la niacina, el ácido pantoténico, el ácido fólico, la biotina, la colina, el inositol, los tocoferoles y la xantofila, precursores de vitamina A; y a la vez es completamente carente en otras como las vitaminas C y D (Quaglia, 1991).

6 CALIDAD INDUSTRIAL Y NUTRICIONAL DEL TRIGO PANADERO

El trigo es utilizado por la industria de alimentos como el ingrediente principal para la elaboración de pan, pastas, galletas y productos de repostería. Sin embargo las distintas características que se requieren para la formulación y procesamiento del producto (humedad, textura, densidad y sabor), hacen que el grano requiera de propiedades específicas para cada uno de ellos, es por esta razón que las variedades consideradas aptas para la elaboración de pan, no cumplen los requisitos necesarios para ser utilizadas en la confección de galletas y otros.

Para lograr satisfacer las necesidades de la industria se requieren diversos tipos de calidades por lo que las variedades deben adaptarse al requerimiento del mercado, entre los criterios o factores que tienen mayor influencia en la definición de las características de calidad para procesamiento del trigo se destacan: dureza de grano y la cantidad y calidad de la proteína insoluble. Peña et al. (1997), establecen que el 80-85% de la proteína forma un complejo conocido como gluten que es el factor determinante de la calidad de la harina para la elaboración de productos de panificación. Ambos factores están condicionados a la estructura genética por lo cual pueden ser manipulados mediante mejoramiento genético.

6.1 Dureza de grano

La dureza o textura de grano es una de las características más importantes y que afectan la funcionalidad y determinan el uso del grano. Está determinada por el grado de adhesión entre el almidón y la matriz proteica (gluten) por lo que varía entre variedades de trigo (Piot et al 1999). Las diferencias en la dureza del grano son de gran importancia debido a que influyen significativamente en la molienda del trigo, como también en la calidad de las harinas obtenidas. Frecuentemente, es referida a la resistencia que opone el grano al ser fracturado por los rodillos del molino o a la energía necesaria para reducir el grano a harina (Peña, 2003).

La cantidad de almidón dañado presente en la harina está directamente relacionada con la absorción de agua de la harina y a la calidad de panificación de la misma. Según Peña (1997) durante la molienda la proporción de almidón que se logró dañar puede determinar la absorción de agua, las propiedades de manejo, el proceso de panificación, y los requerimientos de panificación de la masa, así como también la expansión de la masa durante el horneado, la suavidad y textura de la miga del pan y el tiempo de pérdida de suavidad.

Por otro lado, los trigos de endospermo duro requieren un mayor consumo de energía para reducir las partículas de harina a los tamaños deseados, pero a su vez producen mayores niveles de almidón dañado. Lo que se debe principalmente a que los componentes del grano están más unidos entre sí en un endospermo duro que en un endospermo suave.

6.2 Cantidad de proteína

Como se mencionó anteriormente el contenido puede variar de un 8 a 17% en base seca. La mayor parte de la proteína del endospermo es gluten, la cual es un complejo visco-elástico que se forma cuando la proteína insoluble hace contacto con el agua o soluciones salinas, se clasifican en: poliméricas o gluteninas y monoméricas o gliadinas (Shewry y Tatham, 1990). La capacidad de la harina de trigo para ser procesada en diferentes alimentos es en gran parte determinada por las proteínas del gluten (Weegels et al., 1996.), por lo tanto, el gluten es el componente del grano de trigo más determinante de la calidad del mismo.

La proteína del gluten representa entre 78 y 85% de la proteína total del endospermo de trigo por lo que cualquier cambio en el contenido de proteína es asociado al de gluten. Entonces cuanto mayor es el contenido de proteína y de gluten mayor será la calidad (fuerza) de gluten de la variedad. Por esto, el contenido de proteína es un factor importante en la comercialización del trigo.

Las proteínas del gluten han sido objeto de intensos estudios por un período superior a 250 años, analizando su estructura y propiedades con el objetivo de proporcionar una base para la manipulación y la mejora de la calidad (Shewry *et al.*, 1995).

6.3 Calidad de las proteínas

Las diferencias en las propiedades visco-elásticas de las masas de diferentes variedades no solo se determinan por el contenido de proteínas sino también por la calidad de las mismas. Por lo tanto, la calidad de la proteína del gluten es también un factor determinante.

La calidad de la proteína del gluten (propiedades visco-elásticas o fuerza de gluten) depende de dos factores principales: a) la proporción de dos componentes denominados gliadinas (proteína que confiere flujo viscoso a la masa) y gluteninas (proteína que da elasticidad y extensibilidad a la masa), b) la presencia de unidades específicas de gluteninas, conocidas como gluteninas de alto peso molecular (APM) y de bajo peso molecular (BPM), que pueden contribuir de manera positiva o negativa a la obtención de gluten fuerte y extensible (Weegels *et al.*, 1996).

6.3.1 Gliadinas

Son una mezcla de polipéptidos monoméricos (Sapirstein y Fu, 1998), solubles en soluciones acuosas-alcohol, que en la masa de harina adquieren forma globular monomérica. Confieren extensibilidad y cohesividad al gluten y a la masa de panificación.

Basándose en la electroforesis (técnica utilizada para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico) en gel de poliacrilamida ácida (A-PAGE), las gliadinas pueden ser clasificadas en: α , β , γ y ω gliadinas, respectivamente (Bushuk y Zillman, 1978). Las composiciones de aminoácidos de la α -, β -, y γ - ω -gliadinas son similares, aunque los ω -gliadinas contienen poco o nada de residuos de cisteína (Tatham y Shewry, 1995).

La influencia de las gliadinas en la calidad panadera, precisamente en la extensibilidad de la masa, fue sugerida por Sozinov y Popereya (1980, 1982) que analizaron progenies de diferentes cruzamientos para demostrar que la variación alélica de los loci Gli-1 y Gli-2 estaba asociada con la variación en las propiedades panaderas, estableciendo una clasificación en función de diferentes bloques de gliadinas.

Las diversas gliadinas, están controladas por los genes que se encuentran en los loci Gli-1 y Gli-2, localizados en el brazo corto de los cromosomas del grupo 1 y 6 respectivamente (cuadro 7). Las gliadinas de tipo γ y ω se poseen sus genes físicamente ligados a aquellos que controlan a las gluteninas de bajo peso molecular, además comparten características similares, razón por lo que su participación en la calidad de la masa no ha podido ser determinada.

Cuadro 7. Principales genes relacionados con la calidad del trigo

Característica	Locus	Cromosoma	
Dureza del grano	Ha	5CD	
Puroindolinas	Pina-D1	5CD	
	Pinb-D1	5CD	
Contenido de proteína	Pro1, Pro2	5DL, 5DC	
Proteínas de almacenamiento			
Gluteninas	Glu-1	1AL, 1BL, 1DL	
	Glu-3	1AC, 1BC, 1DC	
Gliadinas			
	ω - y γ - gliadinas	Gli-1	1AC, 1BC, 1DC
	α - y β - gliadinas	Gli-2	6AC, 6BC, 6DC
	α - y β - gliadinas	Gli-3	1AC, 1BC

En la actualidad se cree que los efectos en la calidad relacionados con las gliadinas presentes en los loci Gli-1, son el resultado de su ligamiento con los genes que codifican para las subunidades de gluteninas BPM en los loci Glu-3. Del mismo modo, las diferencias en la fuerza de la masa que fueron correlacionadas con la presencia de ciertos alelos de los loci Gli-2 (Metakovsky y col., 1997; Branlard y col., 2001) podrían estar relacionados con subunidades de gluteninas (C-BPM), las cuales han sido descritas como estrechamente ligadas a las gliadinas codificadas por genes en los cromosomas del grupo 6 (Masci y col., 2002).

6.3.2 Gluteninas

Las gluteninas son proteínas poliméricas resultantes de enlaces disulfuro intermoleculares. Después de ser sometidas a un tratamiento con algún agente reductor como el beta-mercaptoetanol o el DTT, las gluteninas se pueden subdividir en proteínas de alto peso molecular (APM) y proteínas de bajo peso molecular (BPM). Las proteínas APM, sólo representan el 5-10% de la cantidad total de proteína del grano, pero son importantes determinantes de la elasticidad del gluten (Gianibelli *et al.*, 2001; Wieser, 2007). Las BPM constituyen la mayoría de las proteínas de almacenamiento del trigo y representan aproximadamente el 40% de la fracción total de gluten de trigo y tienen su mayor efecto en la extensibilidad del mismo (Ciaffi et al, 1999).

Tanto las gluteninas APM como las BPM son proteínas solubles en soluciones diluidas de ácido. En la masa de harina interaccionan mediante puentes de disulfuro para formar una red de proteína extensa o polímera (Peña, 2003).

Los genes que controlan la síntesis de las subunidades de gluteninas de alto y bajo peso molecular se encuentran localizados en los cromosomas del grupo 1 (figura 7), en los loci denominados Glu-1 y Glu-3 (Payne y col., 1980; Lawrence y Shepherd, 1981). Cada locus Glu-1 contiene dos genes, que dan lugar a dos subunidades: una subunidad de mayor tamaño, llamada “x” (de baja movilidad en geles SDS-PAGE y menor número de residuos

de cisteína), y otra menor, llamada “y” de mayor movilidad y mayor número de residuos de cisteína (Payne y col., 1981).

Los genes que controlan la síntesis de las subunidades B y C de gluteninas de bajo peso molecular fueron localizados por Jackson y col (1983) en el brazo corto de los cromosomas del grupo 1. Como se mencionó anteriormente estos genes se encuentran junto a los genes de las ω y γ -gliadinas, en los loci Gli-1 (Payne y col., 1984). Gupta y Shepherd, 1988 determinaron la mayor parte de las subunidades B de gluteninas de bajo peso molecular son heredadas en grupo.

Cuadro 8. Proteínas presentes en el grano de trigo				
Tipo de proteínas	solubilidad	Composición	Papel biológico	Papel funcional
Albuminas	Extraíbles en agua	Principalmente monoméricas, no pertenecen al gluten	Estructural y metabólico	Variable
Globulinas	Extraíbles en sales diluidas	Principalmente monoméricas, no pertenecen al gluten	Estructural y metabólico	Variable
Gliadinas	Extraíbles en soluciones de alcohol	Proteínas del gluten, gliadinas monoméricas y polímeros de gluteninas BPM	Almacenamiento de la semilla tipo prolaminas	Viscosidad a la masa/ extensibilidad
Gluteninas	Extraíbles en ácido acético diluido	Proteínas del gluten, polímeros de gluteninas APM	Almacenamiento de la semilla tipo prolaminas	Elasticidad a la masa/tenacidad
Residuo	Sin extraer	Proteínas del gluten, polímeros de APM y proteínas no pertenecientes al gluten monoméricas (triticinas)	almacenamiento de la semilla tipo prolaminas (gluten) y tipo globulinas triticinas	variable
Fuente: Goesaert et al 2005.				

7 FACTORES QUE DETERMINAN LA VARIACIÓN DE LA CALIDAD PANADERA EN TRIGO.

La calidad de un trigo es determinada por una serie de factores que inciden en ella, tales como su genética, efectos climáticos o del ambiente (principalmente temperatura y déficit hídrico) y manejo del cultivo. El uso de prácticas que favorezca el desarrollo y crecimiento del cultivo como: fecha de siembra óptima, fertilización adecuada, buena condición hídrica, control de enfermedades, malezas e insectos y otros, tendrán una asociación directa con el rendimiento pero no así con su calidad.

Los principales agentes que determina la calidad de un trigo se describen a continuación.

7.1 Factores genéticos

Las variedades poseen diferencias que se basan en su distinta composición bioquímica, por esta razón es que los distintos cultivares de variedades comerciales son agrupados en grupos de acuerdo a la similitud en su calidad industrial.

Cada grupo posee sus propias composiciones bioquímicas en las fracciones proteicas, por lo que no todas las variedades pueden adaptarse a los diferentes productos y procesos. De acuerdo Brach, 2012 se pueden distinguir tres grandes grupos:

Grupo 1: Son aquellos trigos utilizados en panificación directa, trigos correctores (panificación industrial).

Grupo 2: Trigos para panificación tradicional (+ de 8 horas de fermentación).

Grupo 3: Trigos empleados en panificación directa (- de 8 hs de fermentación).

7.2 Factores ambientales

El clima durante el ciclo del cultivo y especialmente en floración y llenado de grano, cumple un rol muy importante en la expresión de la calidad de trigo. En floración con días de alta humedad relativa (superior a 80%) y temperaturas alrededor de los 20°C se verá favorecida la presencia de *Fusarium graminearum*, hongo causante de “fusariosis”, afectando no sólo la calidad comercial sino también panadera, debido a que este patógeno reduce el peso hectolitro y el peso de 1000 granos. Otros de los efectos de este hongo es que se produce un aumento en la proteína debido al menor número de granos, el contenido de cenizas y la acidez de la harina se incrementan, disminuyendo el rendimiento harinero y la densidad de la misma, comprometiendo el olor y color, pasando de blanco en harinas sanas a amarillento y grisáceo por otro lado la fuerza del gluten o W del alveograma se ve disminuida por efecto de las enzimas mencionadas, lo mismo que la absorción de agua de las harinas, el tiempo de desarrollo y estabilidad de las masas, que caen con el incremento del porcentaje de granos fusariosos presentes en la muestra (Martha Cuniberti, 2001).

Por su parte temperaturas superiores a los 30 °C y baja humedad relativa durante el llenado de grano, producen modificación en la composición de las proteínas y una reducción en la calidad, lo que se explica debido a que en estas condiciones la síntesis de gluteninas se reduce o interrumpe, continuando la síntesis de gliadinas y como consecuencia el grano maduro tiene una alta relación gliadina/glutenina produciendo un gluten débil y masa extensible, de menor tiempo de desarrollo. Por lo que se infiere que el estrés térmico modifica la composición y no así la cantidad de proteínas. (Brach 2012).

En conjunto, una sequía y estrés por altas temperaturas, producen una aceleración del ciclo del cultivo y una disminución del rendimiento comprometiendo así la calidad. Por otro lado, cuando el grano de trigo previo a la cosecha recibe agua lluvia, la absorbe, se hincha, pero una vez que vuelve a secarse no recobra su tamaño original, lo que provoca fracturas internas que disminuyen la densidad del grano, peso hectolitro, afectando así el rendimiento molinero. (Brach 2012).

7.3 Factores de manejo

7.3.1 Fertilización: En términos generales, los nutrientes no alteran el desarrollo sino el crecimiento del cultivo. En el caso particular del nitrógeno, está comprobado que influye positivamente en rendimiento, contenido de proteínas y de otros parámetros de calidad comercial e industrial. La acción de nitrógeno sobre el rendimiento va acompañado de una modificación en la composición bioquímica del grano, variando la proporción de almidón y de proteínas que son los constituyentes principales del trigo. En la fase de formación del grano la cantidad de nitrógeno crece rápidamente.

Las variedades de elevada calidad panadera presentan una rápida acumulación de nitrógeno en las primeras fases de desarrollo del grano, momento en que se forman las proteínas generadoras de gluten. El momento de aplicación del fertilizante nitrogenado es muy importante en la definición de calidad. El nitrógeno aplicado en siembra generalmente no es suficiente como para incrementar rendimiento y proteínas a la vez. Esto se observa particularmente en los años de altos rendimientos, con escaso suministro de nitrógeno. En situaciones como estas, los porcentajes de proteínas en grano suelen ser bajos, debido a la relación inversa que existe entre rendimiento y proteína, comúnmente llamado “efecto dilución”. Es por ello que se recomienda complementar el aporte de nitrógeno realizado a la siembra, con una nueva fertilización nitrogenada en macollaje, para así poder incrementar rendimiento y proteínas. También se puede realizar una aplicación más tardía aún, cercana a floración, debido a que las sustancias nitrogenadas son acumuladas al final de la maduración y son las formadoras de proteínas solubles (albúminas y globulinas), que tienen una acción secundaria sobre la calidad. Cabe señalar que este tipo de fertilización (tardía) prácticamente no tiene efecto sobre el rendimiento.

7.2.3 Secado artificial del grano: Cuando se requiera realizar el secado de grano, operación que generalmente se realiza con flujos de aire caliente, la temperatura no deberá exceder los 60°C (temperatura límite), de lo contrario se podría dañar a las proteínas formadores de gluten. Además temperaturas superiores a estas, provocan efectos negativos sobre la calidad industrial de las harinas.

8 CLASIFICACIÓN DE TRIGOS EN CHILE

De acuerdo a las características físico-químicas, uso final u otros parámetros solicitados por los mercados finales, es necesario oficializar un estándar de clasificación de los trigos harineros para su adecuada comercialización.

Actualmente existe una Norma Chilena Oficial (NCh 1237 Of. 2000) de carácter voluntaria que se estableció con el objetivo de dejar las bases al sector productivo, respecto a los requisitos que debe cumplir el trigo harinero comercializado en el mercado interno. En esta norma se establece que de acuerdo a las características físico-químicas del trigo, serán clasificados en tres clases: fuerte, intermedio y suave, además se considerara su valor de sedimentación y contenido de gluten húmedo en base a un 14% de humedad (Cuadro9).

Cuadro 9. clasificación del trigo harinero en Chile según características físico-químicas			
Clase	Proteína ¹ (%)	Gluten Húmedo ¹ (%)	Sedimentación Corregida
Fuerte	³ 10.5	³ 30	³ 33.0
Intermedio	9.0 – 10.4	25.0 - 29.9	27.0 – 32.9
Suave	7.0 – 8,9	18.0 - 24.9	17.0 – 26.9
Fuente: Norma Chilena Oficial. Trigo Harinero. (NCh 1237 Of 2000)			

Además dentro de cada una de estas clases, y en forma independiente, los granos serán clasificados de acuerdo a su calidad en grados: 1, 2 y 3. En donde se considera la cantidad de unidades defectuosas (agorrojados, partidos, quebrados, chupados, dañados por calor, helados, verdes o inmaduros, brotados y con puntas negras), las impurezas y el peso del hectolitro.

De acuerdo a esta norma, los molinos están adoptando paulatinamente la práctica de premiar o castigar el precio del trigo que se acerque o aleje, respectivamente, al tipo fuerte y grado 1, por la cual cualquier una mejora en la calidad significa un aumento positivo en los ingresos para los productores.

Según el análisis de Fundación Chile la actual clasificación de los trigos en nuestro país presenta limitaciones frente a las necesidades de clasificación de la industria nacional, y a su vez en el nivel de especificación de los estándares de los principales oferentes internacionales. En aquellos países un trigo denominado intermedio equivale a uno fuerte en nuestro país, además en ellos existen un mayor número de categorías para satisfacer las exigencias definidas (cuadro 10).

Cuadro 10. Clasificación de trigo en Estados Unidos y Australia en base al contenido de proteína en grano			
Estados Unidos		Australia	
Categoría	Contenido de proteína (%)	Categoría	Contenido de proteína (%)
Hard Red Winter	10,0 - 14,0	Australian Prime Hard	> 13
Hard Red Spring	12,0- 15,0	Australian Hard	> 11,5
Soft White	8.5 - 10.5	Australian Premium White	> 10
Hard White	10,0 - 14,0	Australian Standard White	< 10
Durum	12,0 -15,0	Australian Durum Wheat	> 11,5
Soft Red Winter	8.5 a-10.5	Australian Soft Wheat	> 9.5

Fuente: California Wheat Commission (Estados Unidos), Australian Wheat Board.

Los trigos fuertes permiten producir harina para panificación con piezas de gran volumen, buena textura de la miga y propiedades de conservación. Se caracterizan por tener un alto contenido de proteína. La harina de trigo fuerte puede admitir una proporción de harina floja, así la pieza mantiene su gran volumen y buena estructura de la miga, aunque lleve cierta proporción de harina floja; también es capaz de absorber y retener una gran cantidad de agua (Montoya, 2010).

Los trigos suaves se caracterizan por su bajo contenido en proteína y solo se pueden conseguir pequeños panes con miga gruesa y abierta. Son ideales para galletas y pastelería, siendo inadecuados para panificación a menos que se mezclen con harina más fuertes.

En Chile el grano de trigo presenta una gran variabilidad en el contenido de proteína, y dado que la aptitud industrial de un trigo depende en gran medida de la cantidad y de la calidad de la proteína, una modernización y oficialización a la actual norma de calidad podría potenciar el uso de cultivares que cumplan con los requerimientos que solicitan los mercados, pudiendo incluso llegar a incorporar sistemas de incentivos o castigos.

Las actuales clasificaciones de trigo a nivel mundial se basan principalmente en las características físico-químicas de contenido de proteínas y gluten húmedo. Es por esta razón que granos provenientes de dos variedades diferentes de trigo y que poseen un similar contenido de proteína, pueden tener diferencias en su aptitud panadera. Estas diferencias en aptitud panadera entre variedades son detectadas por; análisis de sedimentación y gluten, pruebas de alveograma, farinograma y otros, destacándose el índice de Calidad o Fuerza Panadera denominado W, referido a los análisis de extensibilidad y tenacidad.

Para cultivares de trigo panadero, cuando los valores de W superan los 300 son trigos llamados correctores, ya que son utilizados en mezclas con trigos de inferior calidad. Los trigos con W entre 250 y 300 son considerados para panificación directa (sin necesidad de previa corrección o mezcla con otros). Valores menores a 200 no se recomiendan para panificación o sólo en una muy baja proporción en mezclas (Fundación Chile, 2005).

9 MEJORA GENÉTICA DEL TRIGO

Hasta ahora los avances efectuados han tenido como prioridad casi exclusivamente mejorar el rendimiento de los genotipos tratados, dejando en un segundo plano las características relacionadas con la calidad (García del Moral y cols., 2005). Esta aproximación ha sido bastante eficaz para el aumento del rendimiento del trigo durante el siglo XX (Rajaram, 2001). Sin embargo, aún queda por mejorar la calidad nutritiva del grano. Para esto se ha buscado aumentar la proteína y los aminoácidos limitativos, lisina, triptofano y metionina (Duffus & Slaughter 1980) mediante el mejoramiento tradicional y el uso de la biotecnología moderna.

9.1 Mejoramiento genético convencional

El mejoramiento genético que hoy es llamado “convencional” o “clásico”, es el que se dedica a buscar y seleccionar entre la agrobiodiversidad a los mejores parentales en términos fenotípicos, con el fin de poder cruzarlos entre ellos o con variedades ya mejoradas. La selección es un proceso natural o artificial, mediante el cual se separan plantas individuales o grupos de las mismas, dentro de poblaciones que presentan variación genética, siendo esto la base de todo sistema de mejoramiento (Avendaño, 2002).

La selección se debe iniciar cuando existe población heterogénea (población en la cual se observa la variabilidad). Esas poblaciones heterogéneas se pueden formar a través de la hibridación de las variedades genéticamente distintas o presentarse de manera natural. Existen dos métodos principales de selección:

- a) Masal, la cual corresponde a la selección de las mejores plantas de la variedad (selección individual) y la reunión o mezcla de toda la semilla que producen en conjunto e individual.
- b) Selección de líneas puras corresponde a la progenie descendiente por autofecundación de una planta individual homocigota (Lelley, 1976).

Todos los demás métodos representan únicamente las variaciones o combinaciones de los métodos principales.

9.2 Mejoramiento a través de la biotecnología

Según Campos (1992), la biotecnología es una ciencia que aplica de manera integrada la bioquímica, la genética, la microbiología y el cultivo de tejidos vegetales, con el fin de identificar y manipular la información genética. Con la cual es posible incrementar la variabilidad de una especie y aumentar la cantidad de características deseadas por el mejorador.

Actualmente se utiliza en sectores tan diversos como; la salud humana y animal, agroalimentación, suministros industriales, producción de energía y protección del medio ambiente.

Por su parte la biotecnología vegetal permite la transferencia de una mayor variedad de información genética de una manera más precisa y controlada. De forma contraria al método de mejoramiento convencional, en el que para el cruce se incluían cientos o miles de genes, la biotecnología vegetal permite la transferencia selectiva de un gen o unos pocos genes deseables. Esta técnica más precisa permite que los mejoradores puedan desarrollar variedades con caracteres específicos deseables, sin la necesidad de incorporar aquellos que no lo son (Monsanto, 2013).

Una de las técnicas empleadas en la obtención de variabilidad en el mejoramiento, es la micropropagación, que además de permitir el intercambio y la conservación de germoplasma, ha servido de modelo para el desarrollo de otras herramientas para la obtención de variabilidad (Knott, 1986). Un ejemplo de esto es la inducción de mutaciones y poliploidía *in vitro*, que se caracteriza por ser más eficientes y obtener un menor porcentaje de individuos indeseados (Muñoz y Hewstone, 1995).

Una herramienta biotecnológica que favorece la rápida fijación de caracteres es la producción de dobles haploides. Debido a que estas plantas inicialmente poseen la mitad de la dotación cromosomal, la cual, luego de la duplicación con colchicina se restablecen obteniendo así el doble haploide (Avendaño 2002).

Al carecer de genotipos heterocigotos, las poblaciones doblehaploides (DH) necesarias para encontrar genotipos raros pueden ser mucho menos numerosas, especialmente en el caso de caracteres recesivos, ya que éstos no quedan enmascarados por los alelos dominantes. Las poblaciones DH, si se las compara con poblaciones segregantes, presentan mayor variación genética aditiva y ausencia de varianza genética debida a la dominancia. Es decir que cuando se utilizan poblaciones doblehaploides se eliminan las complejidades del estado heterocigoto y se facilita enormemente el análisis genético. De esta manera pueden distinguirse las mutaciones recesivas de forma inmediata, haciendo que el proceso de selección sobre una población de haploides resulte más eficiente.

Según Campos, 2000 una de las ventajas más importantes en la obtención de doblehaploides, es permitir una selección temprana de individuos genéticamente estables la cual puede realizarse de forma convencional o apoyada por marcadores moleculares (Levitus, et al. 2010).

10 BIOTECNOLOGÍA Y MEJORAMIENTO VEGETAL

El desarrollo de nuevas técnicas en biotecnología, ha permitido poder manipular de manera específica algunos genes relacionados con la calidad de las proteínas del gluten y por consiguiente también mejorar la calidad del pan (Peña, 1990).

Recientemente los avances en biología molecular, en particular en las técnicas de análisis de ADN, han abierto el campo del análisis genético en cultivos como el trigo. A través del desarrollo y aplicación de marcadores moleculares, es posible elaborar mapas genéticos completos, que al ser analizados han permitido identificar genes de interés agronómico (Kerfal, 2008).

10.1 Marcadores moleculares.

“Se define como marcador molecular a toda variabilidad de naturaleza bioquímica/molecular susceptible de ser asociada a algún parámetro morfológico agronómico” (Campos, 1995).

Otra definición más completa es propuesta por Solís (2005) en que señala que los marcadores moleculares corresponden a cualquier gen cuya expresión permite un efecto cuantificable u observable (características fenotípicas), que además puede detectarse fácilmente. Este tipo de marcadores pueden evaluarse desde que los individuos están en sus primeros estadios de desarrollo, y se pueden aplicar usando a todo el individuo o sólo parte de él.

Jobet *et al.*, (2003) señalan que los marcadores moleculares permiten analizar los efectos de mutaciones y de la deriva genética, entre otros aspectos. Y que por el contrario de otras estrategias biotecnológicas como la transgénesis, cuyo objetivo principal es generar variabilidad genética de forma dirigida, el objetivo fundamental de la aplicación de

marcadores moleculares es obtener información genética, la cual permite definir estrategias de acción.

Es preciso señalar que se habla de marcadores genéticos cuando se transmiten según las leyes básicas de la herencia mendeliana, por lo que es importante destacar que no todos los marcadores moleculares pueden considerarse como genéticos. Existen dos tipos de marcadores moleculares: los marcadores bioquímicos y los marcadores de ADN (Solís y Andrade, 2005).

10.1.2 Marcadores bioquímicos

Los marcadores bioquímicos fueron la primera generación de marcadores moleculares e incluyen a las proteínas y las isoenzimas o aloenzimas. Por su parte las proteínas son los productos primarios de los genes y se forman mediante los procesos de transcripción y traducción, por lo que el ambiente no influye mayormente en ellas (Solís y Andrade, 2005). Las isoenzimas fueron descubiertas por Hunter y Markert y corresponden a formas moleculares diferentes de un enzima, que comparten una actividad catalítica común (Market y Moller, 1959). Es decir, moléculas diferentes que catalizan la misma reacción bioquímica.

Las isoenzimas se identifican mediante el proceso denominado “electroforesis”, que consiste en someter una muestra proteica (puesta en un papel de celulosa o un gel hecho de agarosa o poliacrilamida) a un campo eléctrico durante varias horas para que se separen las proteínas de acuerdo con su tamaño o carga eléctrica. Una vez terminado este proceso, el gel es colocado en una solución química en la cual ocurre una reacción y posterior tinción del mismo, pudiendo posteriormente observar las isoenzimas en forma de bandas de color en el soporte o gel. Las diferencias en la movilidad electroforética de las isoenzimas son resultantes de las diferencias en las secuencias del ADN que codifican tales enzimas (Solís y Andrade, 2005).

Entre las ventajas que posee este tipo de marcadores moleculares se pueden mencionar; costo relativamente bajo, accesible y no destructiva debido a que utiliza pequeñas cantidades de material; gracias a su base genética codominante es posible visualizar la expresión de ambos alelos en individuos haploides; son selectivamente neutrales y están libres de efectos deletéreos (cuando los alelos tienen efectos negativos que imposibilitan la reproducción del genotipo que los posee), efectos pleiotrópicos (cuando un gen controla la expresión de más de un carácter en un individuo) y/o epistáticos (dominancia de un gen sobre otro) (Solís y Andrade, 2005).

Los mismos autores señalan que las desventajas más significativas de estos marcadores son el hecho de no permitir cubrir todo el genoma, ya que solo representan una estrecha fracción del contenido genético, baja precisión de los datos obtenidos debido al polimorfismo en el tejido de las isoenzimas y poseer polimorfismo ontogenético, lo cual implica que los resultados obtenidos serán diferentes dependiendo de la edad de la planta a la cual se le extrajo la muestra vegetal.

10.1.3 Marcadores de ADN

Según Jobet et al, 2001 un marcador basado en el ADN, se podría definir de manera restringida como un segmento de ADN de un individuo, fácil de detectar y a menudo anónimo, que está en estrecha asociación genética con alguna característica agronómicamente importante y que puede utilizarse para identificar aquellos individuos portadores de ese carácter.

Con la identificación de este tipo de marcadores asociados a loci capaces de codificar tanto para características cualitativas como para características cuantitativas (QTLs), se postula la posibilidad de realizar una selección asistida por medio de estos marcadores (MAS). Esta selección se basa en combinar la variabilidad fenotípica y genotípica como fuente de información de la variabilidad existente, y en utilizar como criterio de selección

la variabilidad genética (marcadores moleculares de ADN) asociada a la característica de estudio (Rubianes, 2007).

Autores como Jobet *et al.*, (2001) y Rubianes (2007) indican que entre las variadas ventajas de este tipo de marcadores se destacan:

- a) Cubren todo el genoma y posibilitan su evaluación en estadios muy tempranos.
- b) Requieren de muestras mínimas que no destruyen al individuo.
- c) No es necesario esperar a que la cualidad agronómica de interés se haya expresado.
- d) No son influenciadas por el ambiente y no presentan interacciones genéticas.
- e) La velocidad y capacidad analítica son mayores y por lo tanto se reducen los costos asociados.

Existen varios tipos de marcadores moleculares de ADN sin embargo se pueden dividir ampliamente en tres clases, de acuerdo al método de su detección:

- (1) Marcadores basados en técnicas de hibridación (RFLPs o Restriction Fragment Length Polymorphisms).
- (2) Marcadores basados en la reacción en cadena de polimerasa PCR (RAPDs o Randomly Amplified Polymorphic DNA, AFLPs o Amplified Fragment Length Polymorphisms y SSRs o Single Sequence Repeat, denominados microsatélites.
- (3) Marcadores basados en técnicas de detección de polimorfismos de nucleótido sencillo (SNP o Single Nucleotide polymorphisms) (Gupta et al, 1999.; Joshi et al., 1999).

En trigo, las técnicas más empleadas han sido las basadas en RFLPs, RAPDs, SSRs y AFLPs, cada uno posee ventajas y desventajas que se expresan en el cuadro 11.

Cuadro 11. Principales ventajas y desventajas de los marcadores de ADN más utilizados en trigo.		
Marcador	Ventajas	Desventajas
RFLP	Altamente repetible, codominante, disponibles en gran número, señalan regiones específicas	Técnica compleja, lenta, requiere gran cantidad de ADN y detectan bajos niveles de polimorfismos
SSR	Repetible, codominante, señalan regiones específicas, técnica sencilla	Alto costo de desarrollo
AFLP	Repetible, detectan un gran número de loci simultáneamente	Aleatorio y marcadores Dominantes
RAPD	Técnica sencilla y barata	Poco repetible y marcadores dominantes

Fuente: Rubianes, 2007 "Prolaminas y marcadores moleculares relacionados con la calidad en Trigo"

Shah y col. (2000); Paul y col. (1998); Parker y col. (2002) basándose en la capacidad de cada uno de estos marcadores, para detectar polimorfismos, llegaron a la conclusión de que los RFLPs y los SSRs son los más efectivos. Sin embargo debido a las dificultades de detección que implica el uso de RFLPs, la gran cantidad de ADN requerido y la complejidad de la técnica, los SSRs son actualmente los marcadores más ampliamente utilizados en la mejora genética del trigo (Langridge y col. 2001).

Los microsatélites son secuencias simples repetidas (Single Sequence Repeats) de entre 1 y 6 pares de bases dispersas por todo el genoma. Tal parece que son omnipresentes en los organismos superiores, aunque su frecuencia varía entre las especies. Son abundantes y muestran niveles más altos de polimorfismo que otros marcadores genéticos (Chambers y MacAvoy 2000).

Devos y col. (1995) fueron los primeros en utilizar los microsatélites como marcadores moleculares. Partiendo desde una base de datos, buscaron dos secuencias de microsatélites y las convirtieron en marcadores de PCR específicos de genomio (segmento de ADN que transporta los genes necesarios para la transposición) y con un elevado grado de variación. Plaschke y col. (1995) demostraron que la distribución de los loci microsatélites en los brazos de los cromosomas del trigo es aleatoria, siendo el genomio B el que presenta un mayor número de ellos.

La mayoría de los marcadores SSR de trigo son genoma-específico y amplifican sólo un locus determinado que contenga un SSR en el genoma A, B o D de trigo panadero (Röder et al., 1998).

10.3 Análisis de loci de carácter cuantitativo

El análisis de loci de carácter cuantitativo (QTL) se basa en el principio de la detección de una asociación entre el fenotipo y el genotipo de los marcadores. Los marcadores se utilizan para dividir la población de mapeo en diferentes grupos genotípicos basados en la presencia o ausencia de un locus marcador particular, y para determinar si existen diferencias significativas entre los grupos con respecto a la característica que se está midiendo (Tanksley, 1993; Young, 1994).

Tres métodos ampliamente utilizados para la detección de QTL son:

1) Análisis de un solo marcador: El análisis de un solo marcador es el método más simple para la detección de QTL asociados con marcadores individuales. Los métodos estadísticos utilizados para el análisis de un solo marcador incluyen pruebas t de Student, análisis de varianza (ANOVA) y de regresión lineal. La regresión lineal se utiliza más comúnmente debido a que el coeficiente de determinación (R^2) desde el marcador explica la variación fenotípica que surge de los QTLs ligado al marcador. Este método no requiere un completo mapa de ligamiento y se puede realizar con los programas básicos de software estadísticos.

Sin embargo, la mayor desventaja con este método es que, cuanto más un QTL se asocie un marcador, es menos probable que sea detectado. Esto se debe a que la recombinación puede ocurrir entre el marcador y el QTL.

2) mapeo por intervalos simples: El método de mapeo por intervalos simples (SIM) hace uso de mapas de ligamiento y análisis de intervalos entre pares adyacentes de marcadores ligados a lo largo de los cromosomas de forma simultánea, en lugar de analizar marcadores individuales. El uso de marcadores ligados para el análisis compensa para la

recombinación entre los marcadores y el QTL, y se considera estadísticamente más potente en comparación con el análisis de un solo marcador (Lander y Botstein, 1989).

3) mapeo por intervalos compuestos: Este método combina el mapeo de intervalos con la regresión lineal e incluye marcadores genéticos adicionales en el modelo estadístico, además de un par adyacente de marcadores ligados para el mapeo de intervalos (Jansen y Stam, 1994; Zeng, 1994). La principal ventaja del CIM es que es más preciso y eficaz en comparación con el mapeo de QTL único y el análisis de mapeo por intervalos, especialmente cuando están involucrados QTLs enlazados. (Utz y Melchinger, 1996).

El análisis de QTL se ha utilizado para estudiar el contenido de proteína del grano, volumen de sedimentación, dureza de grano (Zanetti et. al 2001, Turner et al. 2004), propiedades de la masa (Campbell et al. 2001).

10.3 Marcadores moleculares y mejoramiento genético de cultivos

La selección asistida por marcadores (MAS) es un proceso de selección indirecta basado en la existencia de co-segregación entre marcadores y un gen determinado. Su eficiencia depende de la distancia entre el marcador y el gen, y de la contribución de ese gen al fenotipo. En términos amplios, el marco de aplicación que brindan los marcadores moleculares comprende la introducción y seguimiento de genes o QTLs (*Quantitative Trait Locus*) de interés, así como la agilización del proceso de recuperación de homocigosis en fondos genéticos particulares. En el primer caso, la estrategia se basa en focalizar el análisis sobre el gen de interés en una población segregante mediante el uso de marcadores previamente desarrollados sobre porciones de secuencias de dicho gen, o con marcadores localizados en las regiones adyacentes que se encuentren ligados al carácter en cuestión. El segundo caso tiene que ver con que la transferencia de genes de interés se realiza comúnmente mediante cruza amplias, que requieren luego del cruzamiento inicial, una serie de retrocruzas hacia el parental elite o recurrente. El producto final es un material que posee el fondo genético original con la nueva característica incorporada. En este caso, la estrategia se basa en un análisis más amplio de la población segregante, ya que el uso de

marcadores no sólo se aplicará para la identificación del gen asociado a la característica de interés, sino que también se caracterizarán otras regiones del genomas, a fin de identificar aquéllas que provengan del parental elite. Las herramientas moleculares permiten acelerar este proceso, dado que poseen alta densidad y cubren en forma uniforme el genoma (Levitus, et al. 2010).

Los marcadores se utilizan para realizar la selección por el carácter de interés y, aún más importante, para seleccionar las plantas de modo tal de recuperar más rápidamente el trasfondo genético del padre recurrente. Para entender mejor la importancia de este método como así también su implementación, lo mejor es comenzar por analizar el método convencional o tradicional de retrocruzas

10.3.1 Retrocruzamiento tradicional

Una línea pura (el padre *recurrente*, R) de muy buenas características agronómicas, pero deficiente para un carácter, se cruza con un individuo que exhibe el carácter en cuestión (individuo *dador*, D), y se obtienen descendientes F1. Estas plantas F1 se retrocruzan con el progenitor R. La progenie obtenida se denomina “retrocruza 1” (BC1). En esta generación BC1 se seleccionan las plantas que muestran el carácter de interés y se retrocruzan con “R”, obteniéndose la “retrocruza 2” (BC2). Se repite de nuevo este proceso de selección por el carácter y retrocruzamiento con el progenitor “R” hasta llegar a una generación (usualmente la retrocruza 6, BC6) en la cual se han recuperado todas las características del progenitor R, se seleccionan los individuos que presenten el carácter de interés y se autofecundan. En la próxima generación (BC6F2) se seleccionan aquellas plantas homocigóticas para los genes que gobiernan el carácter en cuestión y se autofecundan de nuevo. De este modo, se ha obtenido la línea R original con el carácter del dador incorporado (Levitus, et al. 2010).

10.3.2 Retrocruzas asistidas por marcadores

Si para incorporar un carácter dentro del germoplasma del cultivo se tarda usualmente 6 a 7 generaciones, los marcadores moleculares permiten acortar esos plazos a 3 generaciones, por lo que el progreso genético se verá incrementado. Adicionalmente, los marcadores permiten la introgresión de tales caracteres con un mínimo de incorporación de genes provenientes del individuo dador, garantizando de ese modo, que no se reduzcan las medias poblacionales para aquellos caracteres que no están relacionados con el gen introducido. Este tipo de método de incorporación de variabilidad al germoplasma se denomina “retrocruzas asistidas por marcadores moleculares” o, simplemente, “conversiones” (MABC).

En términos generales se denomina retrocruza asistida por marcadores moleculares al proceso de introgresar un carácter controlado por uno o pocos genes desde un genotipo dador o donante a un genotipo recurrente, de tal manera de obtener el trasfondo genético del recurrente con el carácter deseado.

Para realizar una MABC se debe obtener la BC1 entre una línea recurrente y una línea dadora del gen de interés, luego se extrae el ADN de cada segregante. En primer lugar, se selecciona por el carácter de interés. Esta selección puede ser fenotípica o, más comúnmente, mediante marcadores ligados al gen/es de interés (selección asistida por marcadores). Se descartan todos los individuos que no presentan el/los alelos de interés y, a partir del ADN de los restantes individuos, se procede a amplificar los marcadores para todas las regiones del genoma para las cuales difieren los parentales D y R (o sea, para todos los marcadores polimórficos entre las líneas D y R). Luego de leer los geles, se calculan las similitudes genéticas de cada individuo segregante con respecto al padre recurrente y se seleccionan aquel/aquellos individuos con los mayores porcentajes de similitud. Esos individuos son los que se retrocruzan con el padre recurrente para obtener la generación BC2 (Levitus, *et al.* 2010).

11 INTROGRESIÓN DE GENES PARA EL AUMENTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA EN GRANO

Como se mencionó anteriormente la concentración de proteína en el grano (CPG) afecta el valor nutritivo del trigo y varios parámetros críticos para la calidad del pan. En los últimos años Estados Unidos ha comenzado una iniciativa pública denominada MASWheat, con el objetivo principal de aumentar la competitividad de los programas públicos de mejoramiento de trigo a través del uso intensivo de las tecnologías modernas de selección, principalmente selección asistida por marcadores (MAS). Este programa está a cargo del departamento de ciencias vegetales de la universidad de California en Davis y financiado por el departamento de agricultura de Estados Unidos (USDA). Esta iniciativa también ha despertado el interés a realizar prácticas similares en países como Australia, Canadá, Francia y en menor medida Alemania, España y Argentina.

En general, el mejoramiento en el CPG es difícil debido principalmente a que el componente genético es una variable de carácter pequeña en comparación con las variaciones causadas por el medio ambiente, fertilización nitrogenada y al manejo agronómico. Por otro lado también existe una correlación negativa entre GPC y rendimiento de grano por lo que se dificulta la creación de cultivares con un alto potencial de rendimiento y a la vez con elevado contenido de proteína en el grano.

11.1 Locus relacionado al contenido de proteína

El análisis genético a parientes silvestres del trigo duro, los ha mostrado como prometedores donantes de genes útiles para varios rasgos, incluyendo la resistencia a enfermedades, tolerancia a la sequía, y la calidad de la proteína de grano (Blanco et al., 2006). Específicamente un QTL asociado al contenido de proteína en grano ha sido identificado en un antepasado silvestre del trigo duro (*T. turgidum* L. var. *Dicoccoides*) (TIC), llamado QGpc.ndsu.6Bb, (Joppa et al., 1997), y se asigna como un locus mendeliano sencillo designado como GPC-B1. Además el gen fue también asociado al

aumento en el contenido de zinc y de hierro, la senescencia de las hojas y a mejorar la removilización de nitrógeno (Uauy et al., 2006).

El alelo GPC-B1 para alto CPG fue originalmente identificado en el medio silvestre de trigo espelta (*Triticum turgidum ssp. Dicoccoides*) adhesión FA15-3 (denominado DIC; Avivi, 1978). Joppa y Cantrell (1990) desarrollaron líneas de sustitución de los cromosomas DIC en el cultivar 'Langdon' (LDN) y mostraron que un locus de alta CPG estaba presente en el cromosoma 6B. Usando líneas isogénicas recombinantes y un gran número de repeticiones, Olmos et al. (2003) mapearon este QTL como un solo locus mendeliano (designado GPC-B1) dentro de una región de 2,7 cM. Una más mapa preciso fue producido por Distelfeld et al. (2004) donde saturó de marcadores la región genómica *QGpc.ndsu.6Bb*, logrando ubicar el locus *Gpc-6B1* en un intervalo de 0,3-cM flanqueado por los marcadores de PCR *Xucw79* y *Xucw71*. En la actualidad gracias a un marcador PCR llamado "Xuhw89" la distancia se ha reducido a 0,1 cM del gen GPC-B1.

11.2 Introgresión del alelo GPC-B1 en cultivares modernos de trigo.

La introgresión se define como un movimiento de genes entre especies, la cual esta mediada por un cruzamiento. También se denomina transferencia de genes entre poblaciones genéticamente distintas (Rieseberg et al., 1998). La introgresión natural se lleva a cabo en regiones en donde individuos con divergencia en su contenido genético se cruzan.

La introgresión de genes de características específicas, a través de marcadores moleculares en genotipos cultivados modernos, ha ampliado la diversidad genética y han dado nuevas alternativas a los niveles crecientes de CPG (Uauy et al. 2006a).

El alelo GPC-B1 ha sido descrito como un gen que aumenta el contenido de proteína en grano tanto para el trigo tetraploide como hexaploide. Los resultados preliminares sugieren que en diferentes orígenes este gen tiene ninguno o mínimos efectos

sobre el rendimiento de grano, la calidad de proteína y altura de la planta. (Brevis y Dubcovsky 2010).

Humphreys et al., (1998) en el cultivar de trigo "Glupro", utilizaron marcadores tipo RFLP para el retrocruzamiento e introgresión del locus GPC-B1, en dos líneas de crianza avanzada con proteína marginal. La mayoría de las líneas que llevan a GPC-B1 a partir de estos cruces tenían un 1% más CPG en relación a su padre recurrente.

11.2.1 Pullman, Washington, Estados Unidos

En los años 2006 y 2007 en Pullman, estado de Washington, Estados Unidos. Se evaluó el comportamiento del alelo GPC-B1, obtenido del cultivar de trigo Glupro, en un trigo duro-rojo de primavera, cultivar Scarlett y en un trigo rojo de primavera cultivar Tara-2002. Por medio de retrocruzamientos y con la ayuda de marcadores moleculares para confirmar la presencia del gen en las líneas desarrolladas, se logró obtener líneas con la genética deseada. El diseño de campo incluía, una línea con la presencia del alelo GPC-B1, un retrocruzamiento sin GPC-B1 y un tratamiento control, con 3 repeticiones para cada cultivar mencionado. Se evaluaron parámetros relacionados a la senescencia, altura de la planta, rendimiento de grano, contenido de proteína en grano, peso hectólitro, peso de mil granos y análisis de minerales (Mg, Ca, Fe, Cu y Zn).

Resultados:

Senescencia: en todos los ensayos las líneas Scarlett con y sin GPC-B1 no presentaron diferencias en relación al tiempo de senescencia. Las líneas Tara-2002, tampoco tuvieron distintos valores en la tasa de senescencia para el año 2006. Sin embargo, en el año 2007 las líneas con el alelo GPC-B1 cuantificaron un adelanto de 1,8 días ($p = 0,027$) en relación al ensayo de líneas sin el alelo estudiado.

Concentración de proteína en grano: En el año 2006 y 2007 los ensayos de líneas Scarlett que incluían el gen GPC-B1 no presentaron diferencia significativa en el CPG en relación a

las líneas que no presentaban el mismo gen. En 2006, líneas Tara-2002 con el alelo GPC-B1 presentaron valores promedio de 5 g/kg más de proteína que las líneas que no incluían el gen. Sin embargo, esta respuesta no fue la misma en 2007, donde ambas líneas obtuvieron el mismo valor en el CPG.

Peso del grano: En 2006, no se detectaron diferencias significativas ($P = 0,8980$), para ninguna línea de ensayo, con o sin el alelo estudiado. Por el contrario, en 2007, líneas con el alelo GPC-B1 presentaron un peso de mil granos con valores significativamente más bajos (1,6 g) que aquellos sin el alelo, tanto para Tara-2002 y Scarlett.

Rendimiento: Los rendimientos en el año 2006 fueron significativamente menores ($P = 0,0023$) para genotipos de líneas Tara-2002 que contenían el alelo GPC-B1 en comparación con aquellos que no lo presentaban. Uno de los tres ensayos de la línea Tara-2002 con el alelo GPC-B1, produjo 1.333 kg/ha menos de grano, que la media del resto de ensayos. Cuando esta línea se eliminó del análisis, no hubieron importantes diferencias de rendimiento de grano ($P = 0,1860$) para las líneas Tara-2002 con o sin GPC-B1. Los rendimientos de grano de líneas Scarlett no manifestaron diferencias significativas en ningún año.

Contenido de minerales: En el año 2007, los ensayos de líneas Scarlett con el alelo GPC-B1, tenían concentraciones de calcio significativamente mayor (8%), con respecto a líneas que no poseían el mismo alelo. En 2006 y 2007, líneas Scarlett que presentaban el alelo GPC-B1 obtuvieron un 27% y 38% menos hierro en el grano, respectivamente, que aquellos sin el alelo. Por otro lado no hubo diferencias significativas en las concentraciones de magnesio, cobre o zinc detectadas en ambos años, para las líneas Scarlett o Tara-2002.

Los resultados de los ensayos de campo que aquí se presentan se diferencian de otros informes donde el alelo GPC-B1, manifiesta un envejecimiento más rápido y un mayor aporte en el contenido de proteína, esto es explicado por los autores debido a las condiciones agroclimáticas presentes en esa localidad.

11.2.2 Meerut, Ludhiana y Pantnagar, India

Durante la temporada 2009-2010 en la India, un total de 10 genotipos de trigo harinero se utilizaron como receptores del gen GPC-B1 para ser evaluados en campo. Se utilizó como progenitor donante un genotipo de trigo hexaploide Yecora Rojo que contiene a GPC-B1 (amablemente proporcionado por Jorge Dubcovsky, Universidad de California, Davis, EE.UU.). La semilla usada se consiguió a través de múltiples retrocruzamientos y posterior selección, con lo que se consiguió una línea homocigota que contenía el gen de interés. Las pruebas de campo se realizaron en tres lugares diferentes; Meerut, Ludhiana y Pantnagar, estos tres lugares están situados en la zona norte de la llanura occidental, la principal zona productora de trigo de la India. Cada genotipo, con dos repeticiones, se sembró en una parcela de 3 m², con cinco hileras de 3m de longitud, y con una distancia entre hilera de 25 cm, a una densidad de siembra de 120 kg/ha. Se registraron los datos de cada genotipo en cada replicación en las siguientes características: altura de planta (cm), tallos por m², granos por espiga, peso de 1000 granos (g), rendimiento parcela (g), CPG (%) y el rendimiento de proteína. Los datos sobre el rendimiento de parcela (g) se convirtieron en rendimiento de grano (t/ha) para otros análisis estadísticos. El rendimiento de proteína también se calculó en t/ha.

Resultados en el contenido de proteína: los valores promedios de todos los ensayos en las 3 localidades (cuadro 12) señalan que las líneas que contenían a GPC-B1 presentaron diferencias en los rasgos evaluados incluyendo el CPG, con algunas excepciones. Por el contraste, el rendimiento de grano no tuvo un cambio significativo. Estos datos evidencian que el contenido de proteína en progenies con GPC-B1, fue mayor que en los padres que carecen de GPC- B1, y sugiere, además, que no hay pérdida significativa de rendimiento debido al aumento en el contenido de proteínas.

Por otro lado en el análisis individual, se obtuvieron un total de siete progenies con un aumento significativamente mayor en el CPG (14,83 a 17,85%) en relación a los genotipos de padres receptores y que además no tuvieron ninguna pérdida en el rendimiento.

Cuadro 12. Valores promedios de rendimiento de grano, proteína y CPG en las 3 localidades.						
Cultivar receptor	Rendimiento grano t/ha		CPG (%)		Rendimiento proteína	
	Línea parental	Progenie	Línea parental	Progenie	Línea parental	Progenie
Raj3765	7.21	6.04	12.75	14.46	0.92	0.87
K9107	5.77	5.27	14.10	15.83	0.81	0.84
PBW373	6.32	6.06	13.50	14.56	0.85	0.88
PBW343	6.33	5.82	13.72	14.76	0.87	0.86
HD2687	6.43	4.95	14.63	15.24	0.94	0.75
HI977	6.43	6.23	13.83	14.96	0.89	0.93
PBW343(Lr24)	6.87	6.19	13.85	14.55	0.95	0.90
PBW343(Lr24)	4.46	6.23	13.98	14.58	0.62	0.91
PBW343(Lr24)	6.91	6.87	13.40	14.07	0.93	0.97
HD2329(Lr24+Lr28)	6.10	5.12	13.98	15.32	0.85	0.78

Fuente: Kumar et al. 2011. Introgression of a major gene for high grain protein content in some Indian bread wheat cultivars.

El estudio concluye que la introgresión del gen GPC-B1, por medio de retrocruzamientos asistidos por marcadores en combinación con la selección fenotípica, es una estrategia útil para el desarrollo de genotipos de trigo con alta GPC (%) sin efecto adverso en el rendimiento de grano.

11.2.3 California, Estados Unidos

En experimentos de campo realizados en los años 2006 y 2007 en la Estación Experimental de la Universidad de California (Davis), y en el Desert Research and Extension Center (EL Centro), Estado de California (Estados Unidos). Se evaluó el comportamiento del alelo Gpc-B1 en la calidad panadera de líneas isogénicas, derivadas de trigo duro blanco de primavera cv. Attila, y cinco trigos duros de primavera, cultivares Anza, RSI5, Yecora, UC1037, UC1041. Las Líneas isogénicas fueron desarrollados por seis retrocruzamientos, seguido por dos ciclos de auto-polinización y utilizando como donante del GPC-B1 al cultivar hexaploide Glupro. En los experimentos se utilizó un diseño de parcelas divididas con cinco (El Centro) y diez (Davis) bloques completos al azar. La parcela principal correspondió a los antecedentes genéticos (cultivar o de la línea

de reproducción) y las subparcelas, a la presencia o ausencia del alelo GPC-B1 DIC. En Davis, los experimentos se sembraron en noviembre y se cosecharon en junio, mientras que en El Centro, la estación de crecimiento fue de diciembre a mayo. Para el análisis de calidad de cada experimento, se utilizaron cuatro muestras de 600g. Los rasgos estudiados fueron: peso hectolítrico, peso de grano, dureza del grano, y CPG. En cuanto a las características de la harina y su molienda se analizó: Contenido de proteína en la harina (CPH), el rendimiento de la harina (FY), rendimiento en la molienda (BFY), concentración de cenizas en la harina (CCH) y la puntuación de la molienda. Los rasgos de panificación medidos fueron: absorción de agua medido con un mixografo (AAM), la absorción de agua de la panificación (AAP), tiempo de mezclado de la masa y el volumen del pan. El tiempo de mezclado correspondía al tiempo requerido para mezclar la harina y otros constituyentes de la masa a la condición óptima, que juzga por un panadero con experiencia, mientras que el volumen del pan se midió mediante desplazamiento de la semilla de canola.

Resultados:

Contenido de proteína en grano: En los padres recurrentes (Control) el CPG promedio $130,8 \text{ g/kg}^{-1}$, con un rango de $121,2 \text{ g kg}^{-1}$ en el cv. Anza a $137,7 \text{ g/kg}^{-1}$ en UC1041 I. El CPG fue significativamente mayor ($p = 0,012$) en las líneas que llevan la introgresión de GPC-B1, promediando un $6,6 \text{ g/kg}^{-1}$ más de proteína que el control. En las comparaciones por pares de cultivar y respecto a sus controles, se mostraron aumentos de CPG significativos para las líneas que incluían a GPC-B1, Anza, RSI5, UC1041, y Yecora Rojo, mientras que en Attila y UC1037, las diferencias estaban en la misma dirección pero no fueron significativas. Los aumentos promedios variaron de $4,1 \text{ g/kg}^{-1}$ en el cv. Yecora Rojo a $12,2 \text{ g/kg}^{-1}$ en el cv. RSI5.

Contenido de proteína en la harina (CPH): en los padres recurrentes el valor promedió del CPH fue $114,2 \text{ g kg}^{-1}$, y varió de $105, \text{ g kg}^{-1}$ en el cv. Anza a $121,7 \text{ g kg}^{-1}$ en el UC1041. Las pérdidas de proteínas debido al proceso de molienda (CPG e CPH) fueron similares entre las líneas con GPC-B1 y el control, con pérdidas medias de $18,2$ y $16,6 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente. Las líneas que llevan el alelo GPC-B1 promediaron de $4,9 \text{ g kg}^{-1}$ más CPH que el control, pero las diferencias no fueron significativas ($p = 0,14$). Cuando los

datos se analizaron por cultivar, todos los genotipos GPC-B1 mostraron mayor CPH que su control aunque sólo en el cv. Anza mostró un aumento significativo ($p = 0,014$). La línea isogénica GPC-B1 del cv. RSI5, que tuvo el mayor incremento CPG entre los genotipos, también mostró el mayor incremento en el CPH en relación con el control, aunque esta diferencia no fue significativa. Esta falta de significancia se explica debido al mayor coeficiente de variación obtenido para CPH con relación a la del CPG.

Absorción de agua: El aumento de la CPG y CPH asociado con la introgresión del gen GPC-B1 fue acompañado de un aumento significativo en la absorción de agua, un rasgo conocido por ser altamente correlacionado con el CPG (Souza et al., 2004). El incremento medio de la absorción de agua se registró en 15 g k^{-1} que fue altamente significativa ($P < 0,01$) para ambos tipos de absorción AAM (cantidad de agua absorbida por una cantidad estándar de harina para hacer la masa de consistencia adecuada) y AAP (cantidad de agua absorbida por una fórmula de pan completo al hacer la masa de consistencia adecuada). Los análisis por genotipo mostraron aumentos consistentes en la absorción de agua asociada con la introgresión GPC-B1 en la mayoría de ellos. Todas las diferencias fueron significativas ($P < 0,05$) con la excepción de los cv. Atila, que mostraron un aumento no significativo ($p = 0,06$). Del mismo modo, la AAP fue significativamente ($P < 0,05$) más alta en todas las líneas con GPC-B1 excepto UC1037 y UC104. Los aumentos en la AAM asociados con el alelo GPC-B1 funcional variaron de $6,8 \text{ g k}^{-1}$ en la línea de cría UC1041 a $27,7 \text{ g k}^{-1}$ en el cv. RSI, similares a los valores observados en la AAP.

Un beneficio adicional asociado con el alelo funcional GPC-B1 se observó en la calidad de cocción, con un aumento significativo en el volumen del pan ($p = 0,03$). El aumento promedio mostrado por las líneas con GPC-B1 fue de $79,1 \text{ cc}$ (9,3% de incremento con respecto al control). Cuando se analizó por cultivar, todas las líneas con el gen de interés presentaron valores de volumen de pan más altos en relación al control, aunque estas diferencias fueron significativas ($P < 0,05$) sólo en tres genotipos. Entre los genotipos que mostraron significativamente mayor volumen, se encuentran los cultivares Anza y RSI5 que promediaron aumentos de 126 y 143 cc, respectivamente ($> 15\%$ de aumento en relación con el control de NIL). Por otro lado la introgresión de GPC-B1 se asoció con un aumento significativo en el tiempo de mezcla ($p = 0,002$) que era consistente

a través de los genotipos. Sólo en la línea UC1041 no se vieron diferencias significativas ($p = 0,2$).

Peso de grano: Las líneas con GPC-B1 mostraron una disminución significativa ($P < 0,01$), en el peso de grano con relación al control. Los genotipos que fueron afectados más consistentemente por la introgresión GPC-B1 fueron UC1037, UC1041 y el cv. Yecora Rojo. La introgresión GPC-B1 no tuvo ningún efecto significativo en la dureza del grano.

Rendimiento de harina en la molienda: los genotipos no se vieron afectados significativamente por la introgresión GPC-B1 ($p = 0,13$) con la excepción de la línea del cv. Yecora Rojo la cual mostró una disminución altamente significativa ($p = 0,01$) que promedió $19,3 \text{ g/kg}^{-1}$.

La concentración de cenizas en la harina (CCH), un importante rasgo de molienda adicional, no mostró ninguna variación significativa ($p = 0,2$) entre genotipos con GPC-B1 y de control. Por otro lado la puntuación de molienda fue significativamente reducida ($p = 0,007$) en líneas con GPC-B1, sin embargo se atribuye al malas condiciones de la temporada más que a una consecuencia del alelo evaluado.

11.2.4 Buenos Aires, Argentina

En un estudio realizado por el INTA en Argentina, se analizó la introducción del alelo GPC-B1 proveniente del trigo blando “Glupro”, en dos cultivares de trigo panadero de comportamiento primaveral, ProINTA Oasis y ProINTA Granar, durante el año 2005, 2006 y 2008. Se concluyó que durante los años de evaluación en ambas líneas portadoras del alelo, el contenido de proteínas en grano (CPG) fue en promedio un 6,8 por ciento mayor a los testigos. Además todas la líneas portadoras registraron una disminución en el peso y tamaño del grano, en el caso del cultivar ProINTA Granar el peso disminuyó un 9,30 por ciento y 9,6 por ciento en el tamaño, para ProINTA Oasis los valores fueron 7,1 por ciento y 7,5 por ciento respectivamente. Las diferencias en el rendimiento no fueron significativas entre las líneas. Cuando los datos se analizaron por el genotipo y el medio

ambiente, las diferencias en algunos parámetros analizados fueron encontradas, lo que indica que la expresión de GPC-B1 puede verse afectada por diferentes antecedentes genéticos y las condiciones ambientales. Estos resultados sugieren que la introgresión del alelo GPC-B1 en el germoplasma de trigos argentinos podría ser un recurso valioso para la mejora de GPC, sin perjuicio efecto en el rendimiento de grano.

Estos resultados son similares a los reportados en estudios previos por Mesfin et al. (2000) donde sus resultados mostraron aumentos CPG que van desde 9,6 a 11,5 g / kg de trigo en tres variedades hexaploides.

Chee et al. (2001) mostraron un aumento en el CPG de 15 g / kg en una población de trigo tetraploide. Blanco et al. (2002) en cruces que incluían a *T. turgidum* var. *dicoccoides* mostraron aumentos que van del 13 al 15 g / kg. En 2010, Brevis y Dubcovsky mostraron incrementos en CPG que van desde 11,9 hasta 16,3 g / kg de trigo en tres líneas tetraploides y 4,5 a 15,2 g / kg de trigo en seis genotipos hexaploides. Kumar et al. (2011) mostraron incrementos en el CPG entre 14,8 por ciento a 17,8 por ciento en siete líneas de trigo que incluían el locus GPC-B1 en comparación con sus líneas de control.

Por otro lado en un experimento realizado por Distelfeld et al (2003), donde se utilizaron líneas recombinantes con substitución de cromosomas (RSL) provenientes de DIC-6B, LDN y cruzamientos entre ellos, se estudió el efecto del locus de GPC-B1 sobre las concentraciones de micronutrientes en el grano. Las RSL que llevan el alelo GPC-B1 del *Triticum dicoccoides* acumulan en promedio 12 por ciento más alta concentración de Zn, 18 por ciento más alta concentración de Fe, 29 por ciento mayor concentración de Mn y 38 por ciento más alta concentración de proteína en el grano, en comparación con las RSL que llevan el alelo de trigo cultivado (*Triticum durum*). Por otra parte, las altas concentraciones en grano de Zn, Fe y Mn se expresaron consistentemente en cinco ambientes diferentes con una ausencia de interacción genotipo x ambiente. Los resultados obtenidos en el estudio también confirman el efecto mencionado por otros autores en relación a la senescencia temprana de la hoja bandera. Distelfeld et al (2003) afirman que el locus GPC-B1 está involucrado en la movilización más eficiente de proteínas, zinc,

hierro y manganeso desde las hojas a los granos, además de su efecto sobre la senescencia temprana de los tejidos verdes.

11.3 Región de La Araucanía, Chile

Con el objetivo de validar los efectos señalados del gen Gpc-B1, en el año 2005 en la región de La Araucanía, Chile se inicio un proyecto bajo el alero del instituto nacional de investigación agropecuaria (INIA), centro de investigación Carillanca, este trabajo se realizó bajo las condiciones de alta productividad de las zonas centro-sur y sur de Chile. La introgresión del gen en trigos elite se llevo a cabo mediante retrocruzas asistidas por marcadores (MA-BC) y genotipificación gráfica (GG). Para estos efectos, se desarrollaron poblaciones de retrocruzas entre la línea donante Yecora Rojo-Gpc-B1 y diversos cultivares. La selección de individuos portadores del gen se realizó en base a marcadores ligados a 0,1 cM del gen, y la recuperación del genoma elite se monitoreó mediante el análisis de 100 microsatélites polimórficos distribuidos a intervalos aproximados de 20 cM, en los 21 grupos de ligamiento.

Actualmente, el proyecto se encuentra en etapa de publicación de resultados, por lo que aún no existe información relacionada al mejoramiento del CPG mediante el alelo Gpc-B1, en condiciones nacionales.

11.4 Cultivares comerciales con la introgresión del gen GPC-B1

La creación de marcadores moleculares específicos para el gen GPC-B1, en conjunto con el correcto manejo del mismo para el desarrollo de genotipos de trigo con mejora de las concentraciones de GPC y micronutrientes, sin pérdida de rendimiento, han conducido a la liberación de dos cultivares de trigo hexaploide y dos cultivares de trigo duro de alta CPG para el cultivo comercial de EE.UU. Las dos cultivares de trigo hexaploide desarrollados usando GPC-B1 son las siguientes: ‘Lassik’ (desarrollado por la Universidad

de California, Davis) con 13,6% CPG y 4342 -8030 kg / ha de rendimiento de grano, valores que son más altos que los de su padre cv. Anza, con 12,2% CPG y 4.182-7.470 kg/ha de rendimiento de grano, y 'Farnum' (desarrollado en la Universidad del Estado de Washington, Pullman, EE.UU.), con 11.9 a 12.3% GPC y 2.822-3.158 kg/ha de rendimiento de grano. Del mismo modo, las variedades de trigo duro de primavera desarrolladas utilizando GPC-B1 son los siguientes: 'Westmore' (desarrollado por Arizona Plant Breeders, Inc.ABP) con 9,57 a 16,94% CPG y 6.070 a 9.262 kg/ha de rendimiento de grano y 'Desert king High Protein' (HP) (desarrollado por la Universidad de California, Davis) con mayor CPG (14,4%) que la variedad parental 'Desert King' (CPG=13,2%), pero con una disminución en el rendimiento de 3-4 %.

En Canadá, tres cultivares de trigo duro rojo de primavera (HRS) que contenían el alelo del gen deseable GPC-B1 fueron desarrollados y puestos en libertad para el cultivo comercial: 'Lillian' [desarrollado conjuntamente por el Centro de Investigación de Cereales (CRC) y Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), Winnipeg y el Centro de Investigación Agrícola Prairie Semiárido (SPARC), Swift Current, Canadá] con un rango de CPG desde 13,4% a 15,6% y con un rendimiento entre 2122-5042 kg / ha. (DePauw *et al.*, 2005). 'Somerset' (desarrollado por CRC y AAFC, Winnipeg, Canadá) con 16,1% de CPG (1% más alto que los cultivares de control) y con un rendimiento de grano entre 3.199 a 4.190 kg / ha (Fox y col. 2006). 'Burnside' (desarrollado por CRC y AAFC, Winnipeg) con 14,4% GPC (GPC superior de verificación cultivares) y rendimiento de grano que va desde 2910 hasta 3950 kg / ha (Humphreys et al. 2010).

A pesar de la liberación de los cultivares mencionados más arriba, se debate la utilidad de GPC-B1 para la mejora del CPG sin ninguna pérdida de valor para otros rasgos agronómicos (Carter et al. 2012). En gran medida dado que las condiciones ambientales y las bases genéticas parecen tener un impacto en la expresión del gen GPC-B1, con los consiguientes efectos en el rendimiento de grano y el contenido mineral. Se puede limitar la utilidad de este gen para aumentar la GPC en algunos cultivares, y especialmente en regiones con estaciones de crecimiento cortas. Por lo tanto, la mejora genética de las GPC sin ninguna pérdida de rendimiento sigue siendo un desafío en el mejoramiento de trigo.

11.5 Mecanismo propuesto para los efectos fenotípicos del locus GPC-B1

La acumulación de minerales en granos se determina principalmente por la cantidad absorbida por las raíces de suelo durante desarrollo vegetativo y más tarde por la proporción de esa cantidad removilizada al grano del vegetal tejidos durante el llenado del grano. Cabe señalar que todos los minerales transportados en el grano de trigo tienen que en algún momento pasar a través del floema debido a la discontinuidad del xilema en el tallo-grano (O'Brien et al., 1985).

Kade et al., (2005) sugirieron que el alelo GPC-B1 es responsable de la translocación más eficiente del nitrógeno disponible desde las hojas al grano, durante el desarrollo y la maduración del mismo. La mayor parte del N translocado se origina principalmente a partir de la degradación de las proteínas de cloroplastos que ocurre durante la senescencia foliar (Hortensteiner y Feller, 2002).

Otro posible mecanismo de explicación es a través del efecto del locus GPC-B1 en los procesos relacionados con la senescencia de los tejidos verdes expuestos por Uauy et al. (2006), estos procesos podrían ser influenciados por la represión de los genes de limpieza y activación de genes relacionados con la degradación del cloroplasto. En estos procesos se podrían producir niveles más altos de nutrientes, que están disponibles para la removilización de los tejidos seniles, que no están siendo utilizados y, como consecuencia se obtendría una acumulación de minerales en los granos maduros.

La influencia del locus GPC-B1 en la senescencia podría proporcionar una posible explicación para el efecto negativo de la GPC-B1 en el rendimiento observado en otros estudios. La senescencia temprana causada por el alelo GPC-B1 puede resultar en un periodo de llenado de grano más corto. Spano et al., (2003) han demostrado que sólo una diferencia de unos pocos días en senescencia puede tener efectos significativos en el tamaño de grano, rendimiento y CPG.

12 CONCLUSIONES

1. El uso de las herramientas biotecnológicas entre ellas los marcadores moleculares ha permitido la caracterización de genes específicos y de funciones variadas, permitiendo dirigir las cruces vía objetivos determinados y de una manera más precisa.
2. El aumento del contenido de proteína en grano mediante la introgresión del alelo GPC-B1 parece ser una alternativa viable para mejorar la competitividad de trigos panaderos sin comprometer el rendimiento. Sin embargo, y a pesar de la existencia de cultivares comerciales con el gen en cuestión, aun está en duda si no compromete otros parámetros asociados al rendimiento del cultivo.
3. Además de mejorar el contenido de proteína en grano, el GPC-B1 es también asociado a un aumento en el contenido de zinc y de hierro, acelerar la senescencia de las hojas y a mejorar la removilización de nitrógeno.
4. Debido a que la expresión del alelo GPC-B1 depende en gran medida de las condiciones ambientales y la base genética de los padres receptores, existen cultivares que presentaran una mayor limitación para manifestar los efectos mencionados, esta condición se verá mayormente agravada en regiones con estaciones de crecimiento cortas.
5. La introgresión genética de GPC-B1 desde especies silvestres en conjunto con la selección asistida por marcadores moleculares, podría ser también una alternativa más saludable para el medio ambiente, que los métodos tradicionales de mejoramiento en el contenido de proteína (sobrefertilización).

13 RESUMEN

El contenido de proteína en el grano de trigo (CPG), tiene una gran importancia en la nutrición humana y presenta una fuerte influencia para la calidad industrial de productos a base de harinas extraídas de trigos hexaploides (*Triticum aestivum* L.). A pesar de ser una alta prioridad en los esfuerzos de fitomejoradores, el progreso en el mejoramiento genético de este atributo ha sido muy pobre, debido a la escasa variabilidad genética de elite para este carácter y a su correlación negativa con el rendimiento. Recientemente, los investigadores han descubierto un gen asociado al contenido de proteína en grano designado GPC-B1, en antepasados silvestres de trigo duro (*T. turgidum* L. var. *Dicoccoides*) el cual ha sido también ha sido relacionado con el aumento en el contenido de zinc y de hierro, la senescencia de las hojas y a mejorar la removilización de nitrógeno.

Los marcadores moleculares han permitido la identificación y traspaso de genes con intereses específicos, por lo cual se han convertido en una herramienta rutinaria en la mayoría de los programas de mejoramiento genético. La reproducción asistida por este tipo de marcadores ha permitido la introgresión de GPC-B1 en cultivares modernos de trigo duro y blando de manera exitosa. La principal ventaja que ofrece este gen frente a otras formas de incrementar el CPG, es que no afecta el rendimiento, siendo por tanto una fuente atractiva de variabilidad genética para el desarrollo de nuevos cultivares con un alto contenido de proteína.

Debido a la falta de información sobre el tema en Chile, se investigó el efecto de GPC-B1 a través de la búsqueda de antecedentes en base a publicaciones extranjeras. Los diversos resultados expuestos sugieren que la introgresión del gen de interés parece ser una alternativa viable para mejorar la competitividad de trigos panaderos sin comprometer el rendimiento, aumentando los contenidos de proteína y de micronutrientes como: zinc, hierro y manganeso. Sin embargo, debido a que la expresión de este locus depende en gran medida de las condiciones ambientales y la base genética de los padres receptores, es posible que no tenga los mismos efectos antes mencionados para cada localidad.

14 LITERATURA CITADA

- Australian Wheat Board.** Australian Wheat. Consultado el 21 abril 2013. Disponible en <http://www.awb.com.au/customers/australianwheat/>
- Avendaño, M.** 2002. Avance genético en parámetros de calidad panadera en trigo (*Triticum aestivum* L.). Combinando mejoramiento convencional y selección asistida por marcadores moleculares en poblaciones segregantes. Tesis Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Blanco, A., Pasqualone, A., Troccoli, A., Di Fonzo, N., and Simeone, R.** 2002. Detection of grain protein content QTLs across environments in tetraploid wheats. *Plant Molecular Biology*. 48: 615–623.
- Blanco, A., R. Simeone, Gadaleta, A.** 2006. Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 112: 1195–1204.
- Brach, A.** 2012. Factores que determinan la variación de la calidad panadera en trigo. *Voces y Ecos (Argentina)*. 28: 26-28.
- Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F y Gourdon, J.** 2001. Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica*, 119: 59-67.
- Brevis, J., and J. Dubcovsky,** 2010: Effects of the chromosome region including the Gpc-B1 locus on wheat grain and protein yield. *Crop Sci.* 50, 93–104.
- Brevis, J., Morris, C., Manthey, F., and Dubcovsky, J.** 2010. Effect of the grain protein content locus Gpc-B1 on bread and pasta quality. *Journal of Cereal Science*. 51: 357-365.
- Bushuk, W y Zillmann, R.** 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams: Apparatus, method and nomenclature. *Canadian Journal of Plant Science* 58: 505-515.
- Bushuk, W.** 1986. Wheat: Chemistry and uses. *Cereal Food World*. 31 (3): 218-226.
- Calderini, D y Slafer, G.** 1998. Changes in yield and yield stability in wheat during the 20th century. *Field Crops Research*. 57:335-347.
- California Wheat Commission.** U.S. and California Wheat Classes. Consultado 20 abr 2013. Disponible en <http://www.californiawheat.org/industry/classes-of-us-wheat/>.
- Campbell, K., Finney, P., Bergman, C., Gualberto, D., Anderson, J., and Giroux, M.** 2001. Quantitative trait loci associated with milling and baking quality in a soft × hard cross. *Crop Science*, 41: 1275–1285.

- Campos de Quiroz, H.** 1992. Biotecnología Vegetal: Emergente complemento al mejoramiento tradicional de plantas cultivadas. Investigación y Progreso Agropecuario – Carillanca (Chile). 11 (2): 3-7.
- Campos de Quiroz, H.** 1995. Marcadores Moleculares: Conceptos. Agro Sur (Chile). 23(1): 68-75.
- Campos de Quiroz, H.** 2000. Biotecnología al grano. Bioplanet (Chile). 5 (3): 13-19.
- Carter, A., Santra, D., and Kidwell, K.** 2012. Assessment of the effects of the Gpc-B1 allele on senescence rate, grain protein concentration and mineral content in hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L.) from the Pacific Northwest Region of the USA. Plant Breed. 131: 62-68.
- Chambers G, MacAvoy E.** 2000. Microsatellites: consensus and controversy. Comparative Biochemistry and Physiology. 126: 455-476.
- Chee, P., Elias, E., Anderson, J., and Kianian, S.** 2001: Evaluation of a high grain protein QTL from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* in an adapted durum wheat background. Crop Science. 41, 295–301.
- Ciaffi, M., Benedettelli, S., Giorgi, B., Porceddu, E y Lafiandra D.** (1991) Seed storage proteins of *Triticum durum* spp. *dicoccoides* and their effect on technological quality in durum wheat. Plant Breeding 107: 309-319.
- Cuniberti, M.** 2001. Fusarium versus calidad del trigo. Consultado el 15 may 2013. Disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/fusarium-versus-calidad-de-trigo/>.
- De Lucas, R.** 2008. Prolaminas, proteínas waxy y puroindolinas en trigo blando: herencia, influencia e interacción en la calidad. Tesis Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Politécnica de Madrid. España. 240 p.
- DePauw, R., Townley-Smith, T., Humphreys, G., Knox, R., Clarke, R., and Clarke, J.** 2005. Lillian hard red spring wheat. Canadian Journal of Plant Science. 85: 397-401.
- Devos, K., Bryan, G., Collins, A., Stephenson, P. y Gale, M.** 1995. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. Theoretical and Applied Genetics. 90: 247-252.
- Distelfeld, A., Uauy, C., Olmos, S., Schlatter, A., Dubcovsky, J., y Fahima, T.** 2004. Microcolinearity between a 2-cM region encompassing the grain protein content locus *Gpc-6B1* on wheat chromosome 6B and a 350-kb region on rice chromosome 2. Functional & Integrative Genomics. 4: 59-66.
- Distelfeld, A., Cakmak, I., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazic, A., Budak, H., Sarangac, Y., and Fahima, T.** 2006. Multiple QTL-effects of wheat Gpc-B1 locus on grain protein and micronutrient concentrations. Physiologia Plantarum. 0: 1-9.

- Duffus, C y Slaughter, C.** 1980. *Las Semillas y sus Usos*. AGT Editor. S.A. México. 54 p.
- Evans, L y Fischer, R.** 1999. Yield potential: its definition, measurement, and significance. *Crop Science*. 39:1544-1551.
- FAO** (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2013. *Perspectivas de cosechas y situación alimentaria*. pp 5-12.
- FCh** (Fundación Chile). 2005. *Una Nueva Visión para el Sector Triguero en Chile*. pp 3-67.
- Fischer, R.** 2007b. Understanding the physiological basis of yield potential in wheat. *Journal of Agricultural Science*. 145:99-113.
- Fischer, R., Edmeades G.** 2010. Breeding and cereal yield progress. *Crop Science*. 5: 85–98 for plant breeding. *Ann. Technol. Agric (Paris)*. 29: 229-245.
- Fox, S., Townley-Smith, T., Humphreys, D., McCallum, B., Fetch, T., Gaudet, D., Gilbert, J., Menzies, J., Noll, J., and Howes, N.** 2006. Somerset hard red spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*. 86: 163-167.
- Ganal, M.** 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics (Estados Unidos)*. 149: 2007-2023.
- García del Moral, L., Rharrabti, Y., Elhani, S., Martos, V y Royo, C.** 2005. Yield Formation in Mediterranean durum wheats under two contrasting water regimes based on path-coefficient analysis. *Euphytica*. 146:213-222.
- Gianibelli M, Larroque OR, MacRitchie, Wrigley CW (2001)** Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Asian Journal of Agricultural Sciences*. 3(6): 506-515, 2011.
- Goesaert, H., Bris, K., Veraberbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K. y Delcour, J. A.** 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 12-30.
- Gupta, P., Varshney, R., Sharma, P. and Ramesh, B.** 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breed* 118: 369–390.
- Gupta, R y Shepherd, K.** 1988. Low molecular weight glutenin subunits in wheat: their variation, inheritance and association with bread making quality. De “*Proc. Int. Wheat Genet. Symp. 7th*. Miller, T. E. y Koebner R. M. D. (Eds.). Cambridge. 943-949.
- Hortensteiner, S., and Feller, U.** 2002. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *Journal of Experimental Botany (Inglaterra)*. 53: 927–937.

- Humphreys, D., Procunier, J., Mauthe, W., Howes, N., Brown, P., McKenzie, R.** 1998. Marker-assisted selection for high protein concentration in wheat. In: Fowler DB, Geddes WE, Johnston AM, Preston KR eds. Saskatoon, Canadá. 258 p.
- Humphreys, D., Townley-Smith, T., Lukow, O., McCallum, B., Gaudet, D., Gilbert, J., Fatch, T., Menzies, J., Brown, D., and Czarnecki, E.** 2010. Burnside extra strong hard red spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*. 90: 79-84.
- Instituto Nacional de Normalización (Chile).** 2000. Norma Chilena 1237-2000, Trigo harinero Requisitos. Primera Edición. 16 p.
- ISP (Instituto de Salud Pública de Chile).** 2011. Informe: Programa fortificación de harinas. Raymond, E y Carmona, P. pp 3-12.
- Jackson, E., Holt, L y Payne, P.** 1983. Characterization of the high molecular weight gliadin and low molecular weight glutenin subunits of wheat endosperm by two dimensional electrophoresis and the chromosomal location of their controlling genes. *Theoretical and Applied Genetics*. 66: 29-37.
- Jansen, R. and Stam, P.** 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447–1455.
- Jobet, C y Zuñiga, J.** 2003. Biotecnología: Mejoramiento del trigo. *Revista tierra adentro (Chile)*. 51: 34-37.
- Jobet, C.** 2002. Trigo pan, Calidad fundamental en la cadena. INIA Carillanca, consultado el día 10 de abril del 2013. Disponible en <http://www.tattersall.cl/revista/Rev192/pan.htm>.
- Jobet, C., Zuñiga, J., Campos, H., Rathgeb, F., Soto, B., Arcos, A and Marin, G.** 2001. Mejoramiento de trigo: selección molecular. *Tierra Adentro (Chile)*. 37: 16-17.
- Joppa, L., and Cantrell, R.** 1990. Chromosomal location of genes for grain protein content of wild tetraploid wheat. *Crop Science* 30: 1059-1064.
- Joppa, L., Du, C., Hart, G, y Hareland, G.** 1997. Mapping gene(s) for grain protein in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) using a population of recombinant inbred chromosome lines. *Crop Science* 37: 1586-1589.
- Joshi, S., Ranjekar, P. and Gupta, V.** 1999. Molecular markers in plant genome analysis. *Current Science (India)*. 77: 230–240. *Journal of Cereal Science*. 26: 371-373.
- Kade, M., Barneix, A., Olmos, S., and Dubcovsky, J.** 2005. Nitrogen uptake and remobilization in tetraploid ‘Langdon’ durum wheat and a recombinant substitution line with the high grain protein gene Gpc-B1. *Plant Breeding*. 124: 343–349.
- Kent, N. L.** 1984. *Technology of Cereals*. Editorial Pergamon press Ltd Headington Hill Hall. Oxford, United Kingdom. 334 p.

- Kerfal, S.** 2008. Calidad harino-panadera en trigo blando (*t. aestivum*): Influencia de las prolaminas y microsatelites relacionados. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 194 p.
- Knott, D.** 1986. Novel approaches to wheat breeding: In Genetics improvement in yield of wheat. Special publications CSSA, Crops Science Society of America.13: 25-40.
- Kumar, J., Jaiswal, V., Kumar, A., Kumar, N., Mir, R., Kumar, S., Dhariwal, R., Tyagia, S., Khandelwale, M., Prabhub, K., Prasade, R., Balyana, H., and Guptaa, P.** 2011. Introgression of a major gene for high grain protein content in some Indian bread wheat cultivars. *Field Crops Research*. 123:226–233.
- Lander, E. and Botstein, D.** 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185–199.
- Langridge, P., Lagudah, E., Holton, T., Appels, R., Sharp, P. y Chalmers, K.** 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: A review. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 1043-1077.
- Lawrence, G y Shepherd, H.** 1981. Inheritance of glutenin protein subunits of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 60: 33-37.
- Lelley, J.** 1976. Wheat breeding, theory and practice. Publishing house of the hungarian academy of Science. Akademiai Kiado, Hungría. 485 p.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., y Mroginski, L.** 2010. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Buenos Aires, Argentina. 650 p.
- Magaña B.** 2005. Caracterización del comportamiento viscoelástico de masas elaboradas de variedades de trigos suaves (*Triticum aestivum*). Tesis Ingeniero Químico. Universidad de Sonora. Hermosillo, México. 22 p.
- Market, C y Molfer, F** .1959. Multiple forms of enzymes: Tissue ontogeny and species patterns. *Proceedings of the National Academy of Science (Estados Unidos)*. 45: 753-763.
- Masci, S., Rovelli, L., Kasarda, D., Vensel, W y Lafiandra, D.** 2002. Characterization and chromosomal localization of C type low molecular weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring. *Theoretical and Applied Genetics*.104: 422-428.
- Mellado, M.** 2007. El Trigo en Chile: Cultura, Ciencia y Tecnología. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu. Chillan, Chile 684 p.

- Mesfin, A., Frohberg, R., Khan, K., and Olson, T.** 2000: Increased grain protein content and its association with agronomic and end-use quality in two hard red spring wheat populations derived from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides*. *Euphytica* 116: 237–242.
- Metakovsky, E., Felix, I y Branlard, G.** 1997a. Association between dough quality (W value) and certain gliadin alleles in French common wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*. 26: 371-373.
- Miralles, D y Slafer, G.** 2007. Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced?. *Journal of Agricultural Science*. 145:139-149.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T., Yano, M., Bhatia, C., and Sasaki, T.** 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*. 3: 87–103.
- Monsanto.** Conceptos básicos de biotecnología vegetal. Revisado 10 may 2013. Disponible en <http://www.monsanto.com/global/es/productos/pages/conceptos-basicos-de-biotecnologia-vegetal.aspx>.
- Montoya, J.** 2010. Estudio de la incidencia de incorporación de masa de papa de variedad superchola (*Solanum tuberosum*), como sustituto parcial de harina de trigo (*Triticum* spp) en el proceso de elaboración de pan. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador. 134 p.
- Muñoz, C. y Hewstone, N.** 1995. Técnicas biotecnológicas aplicadas al mejoramiento genético de plantas. *Simiente*, Chile. 65 (4). 18-25.
- O'Brien, T., Sammut, M., Lee, J., and Smart, M.** 1985. The vascular system of the wheat spikelet. *Australian Journal of Plant Physiology*. 12: 487–512.
- ODEPA** (Oficina de Estudios Públicos y Políticas Agrarias). 2013. Boletín del trigo. Chile. 34 p.
- Olmos, S., Distelfeld, A., Chicaiza, O., Schlatter, A., Fahima, T., Echenique, V., and Dubcovsky, J.** (2003) Precise mapping of a locus affecting grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 1243-1251.
- Osborne, T. B.** 1907. Proteins of the wheat kernel. Carnegie Institution of Washington. 84: 1-42.
- Parker G., Fox, P., Langridge, P., Chalmers, K., Whan, B. y Ganter, P.** 2002. Analysing the genetic diversity within Australian wheat breeding program based on molecular and pedigree data. *Euphytica*. 124 (3): 193-306.
- Paull, J., Chalmers, K., Karakousis, A., Kretschmer, J., Manning, S. y Langridge, P.** 1998. Genetic diversity in Australian wheat varieties and breedingmaterial based on RFLP data. *Theoretical and Applied Genetics*. 96: 435-446.

- Payne, P., Holt, L y Law, C.** 1981. Structural and genetical studies on the high molecular weight subunits of wheat glutenin. Part I: Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 60: 229-236.
- Payne, P., Holt, L., Hutchinson, J y Bennett, M.** 1984. Genetic linkage between endosperm storage protein genes on each of the sort arms of chromosomes 1A and 1B in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 67: 235-243.
- Payne, P., Law, C. y Mudd, E.** 1980. Control of homeologous group 1 chromosomes of the high molecular weight subunits, a major protein of wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*. 58: 113-120.
- Peña, R.** 2003. Avances y perspectivas en calidad industrial del trigo: Influencia de la textura del endospermo y la composición de las proteínas del gluten en la calidad panadera del trigo. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*. (21) 23-35.
- Peña, R. Ortiz-Monasterio, J. y Sayre, K.** 1997. Explorando altos rendimiento de trigo: Estrategias para mejorar (o mantener), la calidad panadera en trigo de alto potencial de rendimiento. *La Estanzuela, Uruguay*. pp. 287-304.
- Peña, R., Amaya, A., Rajaram, S y Mujeeb-Kazi, A.** 1990. Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science*12:105-112.
- Piot, O., Autrant, J. C. y Manfait, M.** 1999. Spatial distribution of protein and phenolic constituents in wheat grain as probed by confocal raman microspectroscopy. *Journal of cereal science*. 32: 57:71.
- Plaschke, J., Ganal, M. y Roder, M.** 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 91:1001-1007.
- Quaglia, G.** 1991. *Ciencia y tecnología de la panificación*. Segunda edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 485 p.
- Rajaram, S.** 2001. Prospects and promise of wheat breeding in the 21 st century. *Euphytica* 119: 3-15.
- Reynolds, M., Foulkes, M., Slafer, G., Berry, P., Parry, M., Snape, J y Angus, W.** 2009b (Inglaterra). Raising yield potential in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 60:1899-1918.
- Rieseberg L, Carney S.** 1998. Plant Hybridization. *Tansley. Review No. 102 New Phytologist*.140 (4): 599-624.

- Roder, M., Korzum, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M-H., Leroy, P. y Rubianes, J.** 2007. Prolaminas y marcadores moleculares relacionados con la calidad en Trigo Duro (*Triticum turgidum* L.) Tesis Licenciado en Ciencias Biológicas. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 321 p.
- Sapirstein, H y Fu, B.** 1998. Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationships to breadmaking quality. *Cereal Chemistry Journal*. 74: 500-507.
- Serna-Saldívar, S.** 1996. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. Ed. Tecnológico de Monterrey. México. 521 p.
- Shah, M., Yen, Y., Gill, K. and Baenziger, P.** 2000. Comparisons of RFLP and PCR-based markers to detect polymorphism between wheat cultivars. *Euphytica* 114: 135-142.
- Shewry, P y Tatham, S.** 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochemical Journal*. 267: 1-12.
- Shewry, P., Tatham, A., Barro, F., Barcelo, P y Lazzeri, P.** 1995. Biotechnology of breadmaking: Unraveling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Nature Biotechnology journal*. 13: 1185-1190.
- Solís, L y Andrade, A.** 2005. ¿Qué son los marcadores moleculares?. *La Ciencia y el Hombre*. 18 (1). Consultado el 10 Jun 2013. Disponible en: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num1/articulos/moleculares/>.
- Souza, E., Martin, J., Guttieri, J., O'Brien, K., Habernicht, D., Lanning, S., McLean, R., Carlson, G., and Talbert, E.** 2004. Influence of genotype, environment, and nitrogen management on spring wheat quality. *Crop Science*. 44:425-432.
- Sozinov, A y Popereilya, F.** 1980. Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding. *Ann Technol Agric*. 29:229-245.
- Spano, G., Di, F., Perrotta, C., Platani, C., Ronga, G., Lawlor, D., Napier, J., and Shewry, P.** 2003. Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *Journal of Experimental Botany (Inglaterra)*. 54: 1415-1420.
- Tabbita, F., Lewis, S., Vouilloz, P., Ortega, M., Kade, M., Abbate, P., and Barneix, A.** 2013. Effects of the Gpc-B1 locus on high grain protein content introgressed into Argentinean wheat germplasm. *Plant Breeding*. 132: 48-52.
- Tanksley, S.** 1984. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme coding genes in pepper, *Capsicum annum*. *Chromosome Science*. 89: 352-360.
- Tanksley, S.** 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics (Estados Unidos)*. 27: 205-233.

- Tatham, A y Shewry, P.** 1995. The S-poor prolamins of wheat, barley and rye. *Journal of Cereal Science* 22: 1-16.
- Turner, A., Bradburne, R., Fish, L., and Snape, J.** 2004. New quantitative trait loci influencing grain texture and protein content in bread wheat. *Journal of Cereal Science*. 40: 51-60.
- Uauy C, Distelfeld A, Fahima T, Blechi A, Dubcovsky J** .2006a. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science (Estados Unidos)*. 314: 1298-1301.
- Utz, H. and Melchinger, A.** 1996. PLABQTL: A program for composite interval mapping of QTL. *J Quant Trait Loci* 2 (1).
- Weegels, P., van de Pijpekamp A., Graveland A., Hamer, R y Schofield, J.** 1996. Depolymerisation and re-polymerisation of wheat glutenin during dough Processing: Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters. *Journal of Cereal Science* 23: 103-111.
- Wieser, H.** 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*. 24: 115-119.
- Young, N.D.** 1994. Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht / Boston / London. pp.39-57.
- Zanetti, S., Winzeler, M., Feuillet, C., Keller, B., and Messmer, M.** 2001. Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt. *Plant Breeding* 120: 13-19.
- Zeng, Z.** 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*. 136: 1457-1468.
- Zúñiga, J., Mathias, M., Soto, B., y Salvo-G. H.** 2006. Introgresión de un gen para alto contenido proteico en variedades adaptadas de trigo (*triticum aestivum* L.) mediante marker assisted backcrossing y graphical genotyping. *Revista Simiente (Chile)*. 76: 12-13.