

Revista Internacional de  
**BOTANICA**  
EXPERIMENTAL**ΦΥΤΟΝ**International Journal of  
EXPERIMENTAL  
**BOTANY**

Fundada en 1951 por                      Founded in 1951 by

Miguel Raggio & Nora Moro de Raggio  
Editor-in-Chief: Dr. Carlos A. BussoFUNDACION ROMULO RAGGIO  
Caspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina  
[www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar](http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar)  
ISSN 0031-9457

57º ANIVERSARIO

(2008) 77: 175-188

57th ANNIVERSARY

## Saturación de un mapa genético de trigo candeal y detección de QTL asociados a actividad de lipoxigenasas (Con 2 Tablas y 3 Figuras)

*Saturation of a durum wheat genetic map and detection of QTL  
associated to lipoxygenase activity*

*(With 2 Tables and 3 Figures)*

**Picca<sup>1</sup> A, P Roncallo<sup>1</sup>, A Carrera<sup>1</sup>, G Cervigni<sup>1</sup>,  
R. Miranda<sup>2</sup>, V Echenique<sup>1</sup>**

**Resumen.** Los objetivos de este trabajo fueron la saturación de un mapa genético de trigo candeal y el posterior mapeo de QTL, a fin de identificar regiones genómicas relacionadas con la actividad de lipoxigenasas. También se estimó la utilidad de los marcadores ligados a estas regiones como herramientas de selección de genotipos para mejorar el color de la pasta. Para tal fin se utilizó una población de mapeo obtenida por el método de descendencia de una sola semilla constituida por 83 líneas recombinantes endocriadas (RILs) derivadas del cruzamiento entre los trigos candeales Kofa y UC1113 (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). Se mapearon 44 AFLPs, 9 RAPDs, 2 isoenzimas y 1 proteína de reserva sobre un mapa base de 269 marcadores. La longitud total del mapa resultante fue de 1847,4 cM, con una distancia promedio entre pares de marcadores de 5,68 cM. El mapeo por el método de intervalos compuestos (CIM) indicó la presencia de un QTL mayor, en el cromosoma 4B, que explica un 58% de la variación fenotípica de la actividad de lipoxigenasas. La posición más probable del QTL (LOD=19,00) fue obtenida entre los marcadores “*ksm62*” y “*wmc617b*”. Estos resultados fueron consistentes en dos años y a dos pH diferentes.

<sup>1</sup> CERZOS (CONICET) y Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, San Andrés 800, 8000 Bahía Blanca, Argentina.

<sup>2</sup> Criadero de Cereales de Invierno, Asociación de Cooperativas Argentinas y Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, San Andrés 800, 8000 Bahía Blanca, Argentina.

Address Correspondence to: Dr. Viviana Echenique, e-mail: [echeniq@criba.edu.ar](mailto:echeniq@criba.edu.ar); fax 054-0291-4861124; Phone 054-0291-4861666.

Recibido/Received 25.VIII.2008. Aceptado/Accepted 31.VIII.2008.

**Palabras clave:** *Triticum turgidum*, color de la pasta, mapeo genético, marcadores moleculares.

**Abstract.** The aims of this work were (1) the saturation of a linkage map of durum wheat using AFLPs and RAPDs, (2) mapping of QTL related to lipoxygenase activity and (3) estimation of its usefulness in marker-assisted selection to increase pasta colour. A mapping population of 83 recombinant lines (RILs) derived from the cross between durum wheat Kofa and UC1113 (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) was evaluated for lipoxygenase activity during two growing seasons. It was used to generate a genetic map. Forty four AFLPs, 9 RAPDs, 2 isoenzymes and 1 storage protein were mapped onto a previous genetic map consisting on 269 markers. The total length of the map obtained was 1847.4 cM, with an average genetic distance between pairs of markers of 5.68 cM. The composite interval mapping (CIM) showed the presence of a major QTL explaining 58% of phenotypic variation in lipoxygenase activity on chromosome 4B. The highest LOD value (LOD=19,00) was obtained between the “*ksm62*” and “*wmc617b*” markers. These results were consistent in the two sampling years and at the two pH in which lipoxygenase activity was analyzed.

**Key words:** *Triticum turgidum*, pasta color, genetic map, molecular markers.

## INTRODUCCIÓN

La historia, tradición y requerimientos de calidad han convertido al trigo candeal (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) en la materia prima por excelencia para la producción de pastas. La pasta preparada en base a sémola obtenida de cultivares de calidad superior tiene un color amarillo brillante y mantiene, después de cocida, firmeza y ausencia de pegajosidad. Este color amarillo resulta de la presencia en el grano entero de pigmentos carotenoides, principalmente luteína (Troccoli et al., 2000) y de la actividad de las lipoxigenasas (LOX) durante el amasado (Borrelli et al., 1999).

Las LOX son enzimas oxigenasas de ácidos grasos poliinsaturados, codificadas por una amplia familia de genes en plantas y animales (Feussner y Wasternack, 2002). Catalizan la oxigenación de ácidos grasos insaturados como el linoleico, el linolénico y el araquidónico, con la subsiguiente producción de hidroperóxidos (Eskin et al., 1977; van Aarle et al., 1991). Los lípidos de los cereales son altamente insaturados y contienen ácido linoleico, que es un ácido graso esencial utilizado en la producción de prostaglandinas (Hessler et al., 2002). La oxidación del ácido linoleico en presencia de otras sustancias fácilmente oxidables, tales como beta-caroteno, xantófilas y clorofilas, puede dar como resultado la oxidación acoplada de esas sustancias y la subsecuente degradación de dichos pigmentos (Holman, 1955). La peroxidación de los lípidos insaturados es la reacción primaria, mientras que el blanqueado de los pigmentos es una reacción acoplada ocasionada por los radicales libres, productos intermedios en la peroxidación (Faubion y Hosoney, 1981).

En trigo candeal, la expresión de los caracteres que afectan el color, como contenido de  $\beta$ -caroteno, índice de amarillez y actividad de lipoxigenasas, está determinada en gran medida por el genotipo (Borrelli et al., 1999).

Existen varios mapas de trigo candeal publicados (Blanco et al., 1998; Nachit et al., 2001; Pozniak et al., 2007; Peleg et al., 2008; Zhang et al., 2008). La incorporación de nuevos marcadores a mapas preexistentes permite la saturación de los mismos e incrementa la probabilidad de localizar genes o QTL de interés agronómico.

El objetivo de este trabajo fue la saturación de un mapa de ligamiento de trigo candeal utilizando RAPDs y AFLPs y el mapeo de regiones genómicas relacionadas con la actividad de LOX. También se estimó la utilidad de los marcadores ligados a estas regiones como herramientas de selección de genotipos para mejorar el color de la pasta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** Se utilizó una población de 83 líneas recombinantes (RILs) obtenida por el método de descendencia de una sola semilla. La misma derivó del cruzamiento entre la var. Kofa (desarrollada por Western Plant Breeders, a partir de una población designada como “DICOCCUM ALPHA POP-85 S-1”) y la línea UC1113 [UCDavis, originada del cruzamiento CD52600 (KIFS// RSS/ BD1419 /3/ MEXIS-CP/4/WAHAS/5/YAV79)]. Kofa tiene óptimo color para sémola y pasta, y UC1113 es de calidad intermedia para color de pasta. Las 83 RILs y las 2 líneas parentales fueron cultivadas en Davis, USA (Sacramento Valley, 38° 32' N, 121° 46' O), en suelos francos (Yolo Loam soils) durante 2003 y 2004. El tamaño de la parcela fue de 2,5 m x 1,2 m (2003) y de 3,6 m x 1,2 m (2004). Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizados con tres réplicas. Esta semilla fue cedida por el Dr. Jorge Dubcovsky (UCDavis).

**Saturación del mapa.** Partiendo de un mapa básico consistente en 269 marcadores: 230 SSRs, 23 SNPs, 10 RFLPs, 3 STSs, 2 proteínas y 1 marcador morfológico (Zhang et al., 2008) se trató de incorporar marcadores de tipo AFLPs, RAPDs, proteínas e isoenzimas.

Para la determinaciones de AFLPs se utilizaron las enzimas de restricción *Pst*I y *Mse*I, y los experimentos se realizaron de acuerdo a la metodología propuesta por Vos et al. (1995). Para los RAPDs se utilizó la metodología informada por Williams et al. (1990). La segregación 1:1 de los marcadores fue evaluada mediante la técnica False Discovery Rate (FDR) (Benjamini y Hocheberg, 1995) (nivel de significancia global del 5%). Las distancias genéticas fueron

estimadas mediante la función de mapeo de Kosambi (1944) (valor mínimo de LOD=2, frecuencia de recombinación máxima de 35%) utilizando el programa QQMOL (Schuster y Cruz, 2004). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Microsoft Office Excel 2003. La normalidad de los datos se determinó con el test de Lilliefors (1967), programa Genes (Cruz, 2001).

**Actividad de lipoxigenasas.** Los granos fueron molidos usando un molino tipo Brabender junior de 335  $\mu\text{m}$ . La actividad de LOX se determinó de acuerdo a la técnica propuesta por Surrey (1964) con las modificaciones de McDonald (1979), ajustada para nuestros materiales. Los mismos se procesaron de la siguiente manera: se prepararon extractos crudos con 2g de sémola en 10 ml de buffer fosfato de sodio 0,1M, pH 7,0 en frío (3 °C). Sustrato: ác. linoleico SIGMA (Sigma-Aldrich.Co) 99%. Se disolvieron 0,5ml de Tween 20 en 10 ml de buffer borato 0,1M, pH 9,0, agregando 0,5ml de ác. linoleico gota a gota. La solución se ajustó a pH 4,8 y 6,6 con HCl. La reacción se llevó a cabo a 25 °C, con burbujeo continuo de oxígeno como se menciona en Carrera et al. (2007).

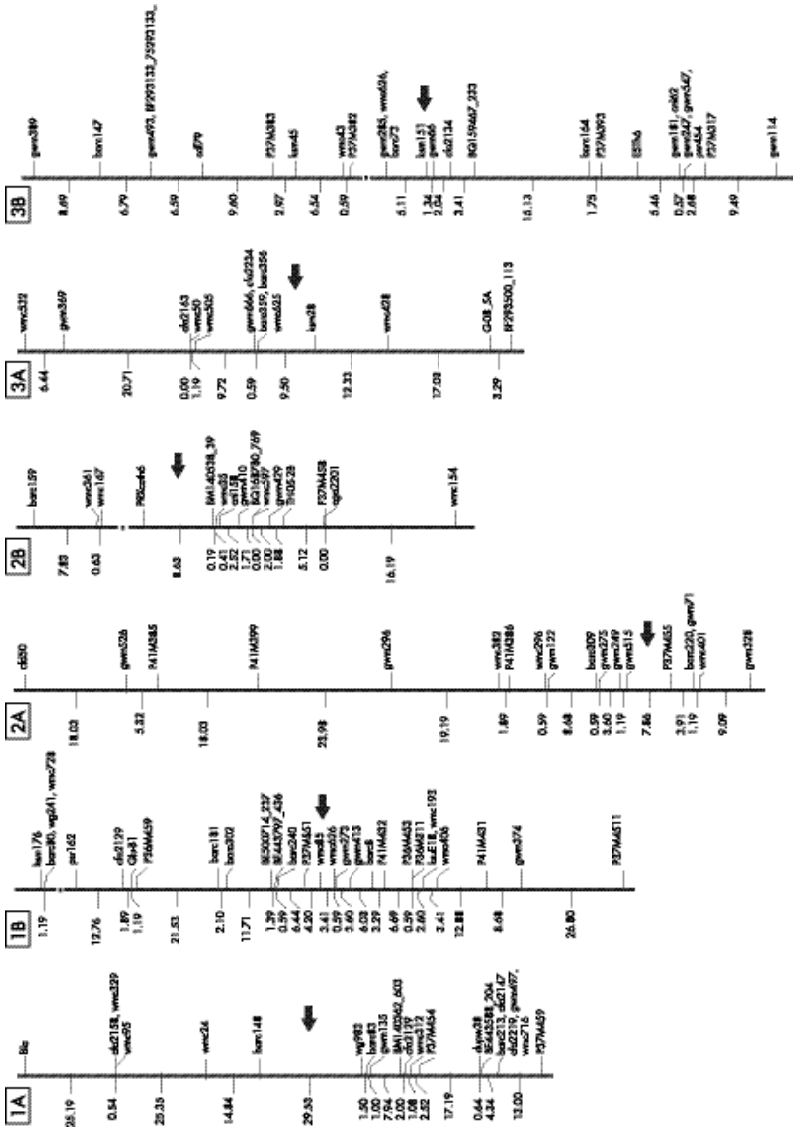
**Mapeo de QTL.** Se utilizó el programa QTL-Cartographer (Basten et al., 1999) aplicando el método de mapeo por intervalos compuestos (CIM) (Zeng et al., 1993, 1994). La posición de los QTL fue inferida cuando el punto de máxima significancia estadística superó el valor crítico de corte ( $\alpha=0,05$ ) establecido mediante 1000 permutaciones (Doerge y Churchill, 1994). La utilidad de los marcadores ligados a los QTL para selección asistida (MAS) se investigó a través del diferencial de selección (DS) estimado como la diferencia entre la media fenotípica de la población seleccionada en base a los marcadores flanqueantes de cada QTL y de la población original. La significancia de la diferencia entre las medias fue evaluada mediante el test "t" para muestras apareadas al 5% de probabilidad.

## RESULTADOS

**Saturación del mapa.** El mapa obtenido se muestra en las figuras 1, 2 y 3. De los 341 marcadores analizados, un total de 325 (230 SSRs, 44 AFLPs, 9 RAPDs, 23 SNPs, 10 RFLPs, 3 STSs, 3 proteínas, 2 isoenzimas y 1 marcador morfológico *Bla*) fueron asignados a los 14 cromosomas de trigo candeal. No fue posible encontrar un orden satisfactorio para 11 de estos marcadores (8 AFLPs: P36M431, P37M394, P37M456, P40M395, P40M439, P41M394, P41M395 y P41M43102; 2 RAPDs: G-08\_1B y F13\_3A; y 1 proteína: Glu-2) que permanecieron no ligados. Cinco marcadores AFLP (P36M455, P37M384, P37M457, P40M435, P40M4310) mostraron desviación de la proporción mendeliana esperada (1:1) y no fueron incluidos en el mapa.

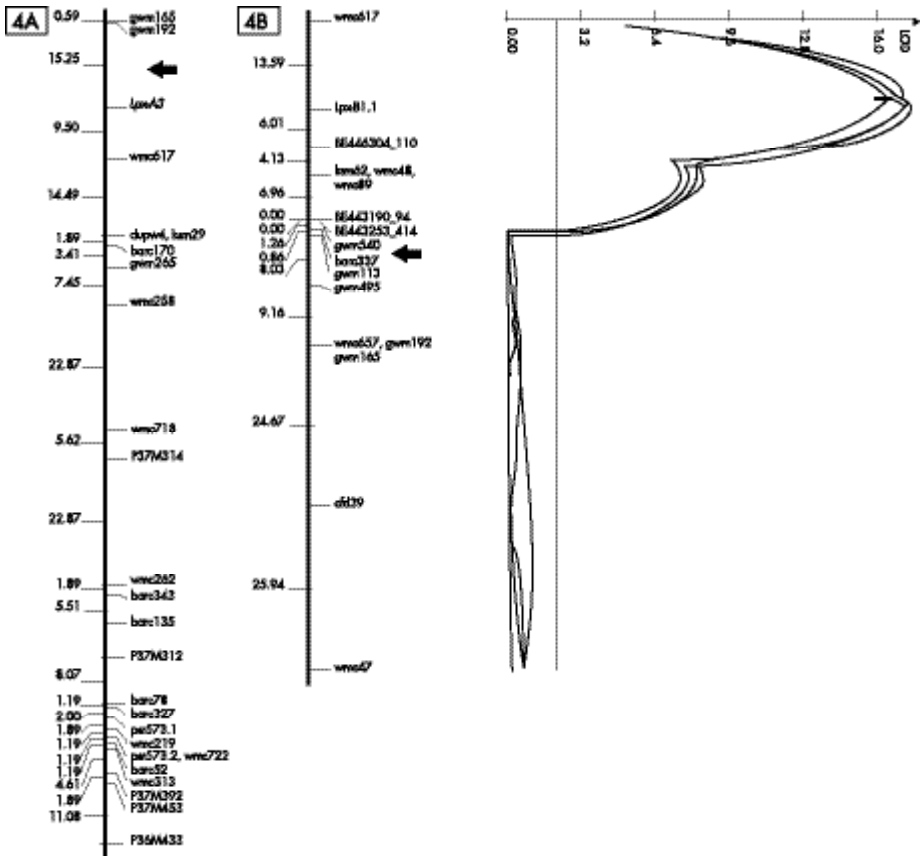
**Fig. 1.** Mapa de ligamiento de trigo candeal (cromosomas 1, 2 y 3). La ubicación aproximada de los centrómeros se indica con flechas (→).

**Fig. 1.** Durum wheat linkage map (chromosomes 1, 2 and 3). The approximate locations of the centromeres are indicated by arrows (→).



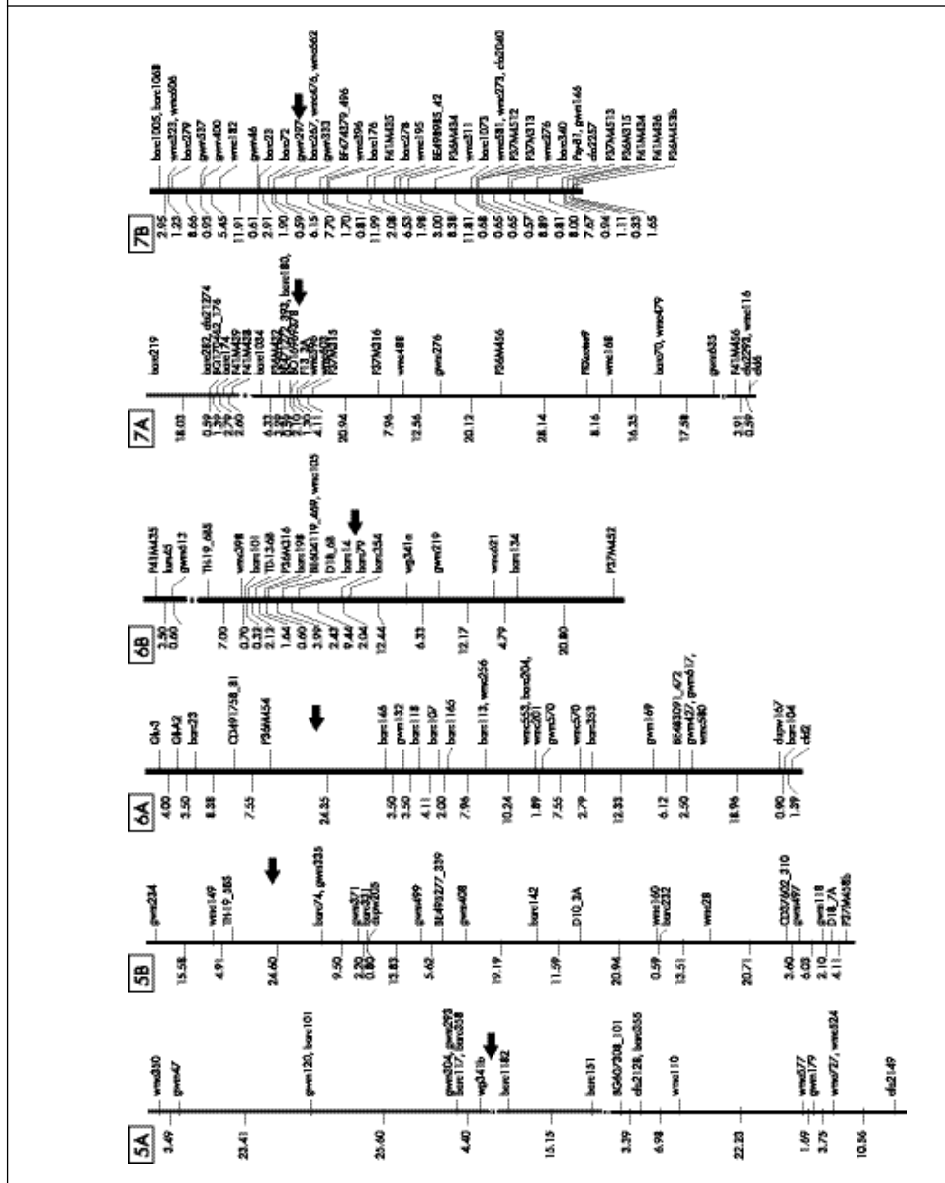
**Fig. 2.** Mapa de ligamiento de trigo candeal (cromosomas 4 A y B) y QTL para actividad de lipoxigenasas (pH 4,8 y 6,6; años 2003 y 2004). La ubicación aproximada de los centrómeros se indica con flechas (➔).

**Fig. 2.** Durum wheat linkage map (chromosomes 4A and 4B) and QTL associated to lipoxygenase activity (pH 4.8 and 6.6; years 2003 and 2004). The approximate locations of the centromeres are indicated by arrows (➔).



**Fig. 3.** Mapa de ligamiento de trigo candeal (cromosomas 5, 6 y 7). La ubicación aproximada de los centrómeros se indica con flechas (➔).

**Fig. 3.** Durum wheat linkage map (chromosomes 5, 6 and 7). The approximate locations of the centromeres are indicated by arrows (➔).



El mapa presentó una longitud total de 1847,47 cM, con una distancia promedio entre pares de marcadores de 5,68 cM. El cromosoma que presentó menor longitud fue el 2B (73,33 cM) siendo el 7B el cromosoma de mayor longitud (230 cM).

La distribución de los *loci* entre los genomas A y B fue homogénea. La mayoría de los marcadores de AFLP mapearon en los cromosomas 1B y 7B.

Nueve cromosomas presentaron más de 1 grupo de ligamiento, aún cuando se disminuyó el LOD score a un valor de 2 a fin de ver representados los 14 cromosomas de esta especie. En general, los subgrupos obtenidos contienen *loci* que mapean en los extremos de los cromosomas y seguramente podrían unirse una vez identificados marcadores adicionales.

**Actividad de lipoxigenasas y detección de QTL.** La variedad Kofa presentó menores valores de actividad enzimática que la línea UC1113 durante todo el tiempo de reacción considerado, y en ambos valores de pH (Tabla 1). El mapeo por el método de intervalos compuestos (CIM) indicó la presencia de un QTL mayor para actividad de lipoxigenasa en el cromosoma 4B (Fig. 2), flanqueado por los marcadores “*ksm62*” y “*wmc617b*”, que se expresó en ambos años y pH analizados. En el año 2003 el QTL presentó valores de LOD=18,98 y un coeficiente de determinación fenotípica ( $R^2$ ) de 68,36%. En el año 2004, el QTL explicó el 58,63% de la variación de la característica con un LOD=19,50.

**Tabla 1.** Valores medios de actividad de lipoxigenasa (pH 4,6 y 6,6) en sémola de la variedad Kofa y de la línea UC1113.

**Table 1:** Mean values of lipoxigenase activity (pH 4.6 and 6.6) in semolina of variety Kofa and line UC1113.

	UC1113-pH 4,8		Kofa-pH 4,8		UC1113-pH 6,6		Kofa-pH 6,6	
Tiempo (min)	Den. óptica	Actividad (nmol/g)*	Den. óptica	Actividad (nmol/g)*	Den. óptica	Actividad (nmol/g)*	Den. óptica	Actividad (nmol/g)*
0	0,352	0,063	-	-	0,153	0,027	-	-
2,5	0,766	0,136	0,202	0,036	0,548	0,098	0,163	0,029
5	0,265	0,047	0,142	0,025	0,674	0,120	0,043	0,008
7,5	0,821	0,146	0,068	0,012	0,915	0,163	0,085	0,015
10	1,027	0,183	0,015	0,003	1,024	0,182	0,031	0,006
12,5	1,260	0,224	0,072	0,013	1,168	0,208	0,036	0,006
15	1,356	0,241	0,251	0,045	1,137	0,202	0,033	0,006
17,5	1,440	0,256	0,225	0,040	1,440	0,256	0,034	0,006
20	1,610	0,287	0,011	0,002	1,557	0,277	0,100	0,018
22,5	1,463	0,260	0,156	0,028	1,694	0,302	0,239	0,043

\* nmoles de hidroperóxidos producidos por gramo de sémola.

\* nmol of hidroperoxides produced per gram of semolina.



**Utilidad del QTL mapeado para selección de genotipos.** La eficiencia de los marcadores flanqueantes al QTL identificado y del marcador *Lpx-B1* descrito por Carrera et al. (2007) fue evaluada a través de la magnitud del Diferencial de Selección (DS). La selección de genotipos con baja actividad de lipoxigenasa se realizó considerando los marcadores “*ksm62*” y “*wmc617b*”. Como se muestra en la Tabla 2, el alelo del QTL aportado por el progenitor Kofa disminuye el valor de actividad de LOX en aproximadamente el 35% en ambos años. La selección de genotipos con baja actividad de lipoxigenasa, considerando solo el marcador “*Lpx-B1*”, determina valores de DS aproximadamente un 15% mayores a los obtenidos previamente con la combinación de marcadores “*ksm62*” y “*wmc617b*”. Este resultado es esperado pues “*Lpx-B1*” es un marcador génico, que permite la selección de genotipos superiores con un 100% de eficiencia.

**Tabla 2.** Eficiencia de los marcadores ligados al QTL asociado a actividad LOX para la selección de genotipos en 2003 y 2004.

**Table 2:** Efficiency of markers linked to the QTL associated with LOX activity in the selection of genotypes in 2003 and 2004.

Año	Crom	Prg	Marcadores	( $\bar{X}_o$ )	( $\bar{X}_s$ )	p	DS
2003	4B	K	ksm62 - wmc617b	0,0640 (83)	0,0398 (31)	0,03	0,0242 37,84%
2004	4B	K	ksm62 - wmc617b	0,0906 (83)	0,0584 (31)	0,01	0,0322 35,51%
2003	4B	K	Lpx-B1	0,0640 (83)	0,0283 (49)	0,0003	0,0357 55,80%
2004	4B	K	Lpx-B1	0,0906 (83)	0,0494 (49)	0,0002	0,041 45,47%

**Crom:** cromosoma donde se localiza el QTL. **Prg:** progenitor portador del alelo favorable (menor actividad LOX) (K: Kofa). **Marcadores:** marcadores flanqueantes del QTL y marcador génico Lpx-B1. ( $\bar{X}_o$ ): valor medio de la población original. ( $\bar{X}_s$ ) valor medio de la población seleccionada con base en marcadores. **p:** valor de probabilidad. **DS:** diferencial de selección en valor absoluto y en porcentaje.

**Chrom:** chromosome where the QTL is located. **Prg:** parental carrying the positive (lower LOX activity) allele (K:Kofa). **Markers:** QTL flanking markers and gene marker LpxB-1. ( $\bar{X}_o$ ): mean value of the original population. ( $\bar{X}_s$ ) mean value of the selected population using markers. **p:** probability value. **DS:** selection differential as absolute value and as percentage.

## DISCUSION

**Saturación del mapa.** En el cromosoma 1A se incorporaron 2 AFLPs que mapearon en el brazo largo. Los marcadores presentaron el mismo ordenamiento que en el mapa de referencia (Zhang et al., 2008), excepto por los marcadores *wmc329* y *wmc95*, del brazo corto, y *cfa2129* y *wmc312* del brazo largo, que presentaron posiciones relativas invertidas. La región más cercana al centrómero se encontró desprovista de marcadores, constituyendo una región de 29,53 cM delimitada por los marcadores *barc148* y *wg983*. Esto puede deberse a la ausencia de polimorfismos entre los parentales. Con los parámetros de mapeo utilizados no fue posible establecer relaciones de ligamiento para el SSR *cdo393*.

El cromosoma 1B quedó conformado por 2 grupos de ligamiento. Se incorporaron 7 AFLPs que se distribuyeron a lo largo del cromosoma, conservándose el orden relativo de los marcadores preexistentes.

El cromosoma 2A presentó 2 grupos de ligamiento. La ubicación relativa de los grupos se decidió en función al mapa consenso publicado por Somers et al. (2004), permaneciendo los marcadores *efd50* y *gwm526* en el brazo corto, contraria a la presentada por Zhang et al. (2008). En este mismo brazo, los marcadores *gwm249* y *gwm515* presentaron posiciones invertidas respecto al mapa base. Fueron incorporados 3 AFLPs, 2 de ellos en el brazo corto y el restante en la zona centromérica.

Los marcadores del cromosoma 2B formaron dos grupos de ligamiento, mapeándose 2 AFLPs, 1 RAPD y 1 isoenzima. El orden de los marcadores en el grupo central, cercano al centrómero, presentó algunas inversiones respecto al mapa original considerado.

Al cromosoma 3A se incorporó 1 RAPD, ubicado en el brazo largo, sin alterar el orden de los restantes marcadores. Una región de 20,71 cM, delimitada por los marcadores *gwm369* y *cfa2163*, ubicada en el brazo corto de este cromosoma fue la que presentó la menor densidad de marcadores. El marcador SSR *cfa2193* no pudo ser asignado a ningún grupo de ligamiento.

El cromosoma 3B quedó conformado por 3 grupos de ligamiento. Fueron mapeados 4 AFLPs y 1 isoenzima, que se distribuyeron a lo largo del cromosoma sin ocasionar modificaciones en la ubicación del resto de los marcadores de acuerdo al mapa base.

El cromosoma 4A quedó formado por 2 grupos de ligamiento. Se incorporaron 5 AFLPs, que se distribuyeron principalmente en la zona terminal del brazo largo. Los marcadores *barc135* y *wmc262* ubicados en el brazo largo, presentaron posiciones invertidas en relación al mapa base.

Un total de 17 marcadores mapearon en el cromosoma 4B. La región con menor densidad de marcadores (25,94 cM) se encontró en el extremo

terminal del brazo largo, entre los marcadores *efd39* y *wmc47*. En el agrupamiento ubicado en la zona centromérica se registraron algunos marcadores con posiciones invertidas.

El cromosoma 5A quedó formado por 3 grupos de ligamiento y no mapeó en él ningún AFLP o RAPD.

El cromosoma 5B quedó formado por 2 grupos de ligamiento. Se incorporaron 3 marcadores RAPDs y 1 AFLP que se distribuyeron a lo largo del cromosoma sin distorsionar el orden de los marcadores propuesto por el mapa base.

Al cromosoma 6A se incorporaron un AFLP y una proteína de reserva (*Glu-3*). Ambos marcadores mapearon en el brazo corto de este cromosoma. La región con menor densidad de marcadores (24,35 cM) se registró en la zona centromérica, entre los marcadores *P36M454* y *barc146*.

El cromosoma 6B quedó conformado por dos grupos de ligamiento. Se incorporaron 3 AFLPs, que mapearon en las zonas terminales de ambos brazos y 3 RAPDs, que lo hicieron en la región centromérica, generando algunas inversiones en el orden de los marcadores de acuerdo al mapa base.

El cromosoma 7A quedó constituido por 3 grupos de ligamiento. Fueron incorporados 7 AFLPs, 1 isoenzima y 1 RAPD, que mapearon a lo largo de todo el cromosoma. El grupo formado por los marcadores *gwm635*, *barc70*, *wmc479* y *wmc168*, que en el mapa base mapean en el extremo del brazo corto del cromosoma 7A, en este mapa se ubicaron en el mismo orden pero en el brazo opuesto.

En el cromosoma 7B mapearon 9 marcadores AFLP, ubicados en el brazo largo. La región con menor densidad de marcadores (11,81 cM) se localizó en el brazo largo, entre los marcadores *wmc311* y *barc1073*. El orden relativo de los marcadores *barc176* y *wmc396* coincide con el presentado por Somers et al. (2004), pero inverso al mapa base. Otras inversiones en el orden relativo de marcadores muy cercanos como *wmc195* y *BE474379\_496* o *barc1073* y *wmc276* también fueron registradas.

**Actividad de lipoxigenasas y detección de QTL.** La diferencia en la actividad de lipoxigenasas existente entre ambas líneas parentales, posibilitó el mapeo de un QTL mayor en el cromosoma 4B para esta característica. Esta región genómica delimitada por los SSR *wmc617* y *ksm62* cubre aproximadamente 24 cM. El punto de mayor significancia estadística para este QTL se obtuvo sobre el marcador génico *Lpx-B1*. Un QTL de efecto mayor asociado a actividad de lipoxigenasas en el brazo corto del cromosoma 4B fue previamente informado por otros autores (Elouafi et al., 2001; Hessler et al., 2002; Leach y Mares, 2003).

En sémola de trigo candeal se aislaron y estudiaron a nivel bioquímico tres isoenzimas: LOX-1, LOX-2 y LOX-3 (Hsieh y McDonald, 1984; Manna

et al., 1998; Barone et al., 1999; Massardo et al., 2001). LOX-2 y LOX-3 tienen una actividad de lipoxigenasa óptima a pH 4,8 y de blanqueo a pH 6,6. Estas isoenzimas son activas al pH encontrado en la masa, por lo que serían las responsables principales de la pérdida de luteína durante el procesamiento de la pasta. LOX-1 tiene actividad de blanqueo y de lipoxigenasa a pH 10,2. En el presente trabajo se encontró una correlación altamente positiva para ambos valores de pH (4,8 y 6,6), tanto en el año 2003 ( $r=0,95$ ), como en el 2004 ( $r=0,91$ ), no encontrándose diferencia de medias en ninguno de los dos años. Estos resultados permitirían sugerir que las regiones mapeadas codifican para las isoenzimas LOX-2 y/o LOX-3.

## CONCLUSIONES

Este trabajo permitió la incorporación de 56 marcadores (44 AFLPs, 9 RAPDs, 2 isoenzimas y 1 proteína) a un mapa de trigo candeal. Los AFLP son marcadores útiles que permiten lograr una adecuada cobertura del genoma.

La actividad de lipoxigenasa en sémola está controlada principalmente por una región ubicada en el brazo corto del cromosoma 4B. El pico del QTL corresponde al gen *Lpx-B1*. La disponibilidad de un marcador molecular basado en PCR asociado a la actividad de estas enzimas es una herramienta de gran utilidad, ya que puede ser utilizado rápidamente en cualquier programa de mejoramiento de trigo candeal. Los futuros trabajos de investigación deben orientarse hacia la validación del QTL descrito en otros materiales y/o ambientes, como así también hacia el hallazgo de otras regiones cromosómicas asociadas a color, basados en las posibilidades que brinda la población de mapeo generada.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Dubcovsky (UCDavis), al Dr. Marcelo Helguera de la EEA Marcos Juárez y al personal de la Chacra Experimental de Barrow, por sus aportes a la realización de este trabajo. Este trabajo fue financiado por CONICET (PIP 02432/01), INTA-ANPCyT (PICTO 08-12948) y por la SECyT-UNS (PGI 24/A98).

## REFERENCIAS

- Barone, R., R. Briante, S. D'Auria, F. Febbraio, C. Vaccaro, L. Del Giudice, G.M. Borrelli, N. Di Fonzo y R. Nucci (1999). Purification and characterization of a lipoxigenase enzyme from durum wheat semolina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1924-1931.

- Basten, C.J., B.S. Weir y Z.B. Zeng (1999). QTL cartographer, Version 1.13. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. 132 p.
- Benjamini, Y. y Y. Hocheberg (1995). Controlling the False Discovery Rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society B* 57:289-300.
- Blanco, A., M.P. Bellomo, A. Cenci, C. De Giovanni, R. D'ovidio, E. Iacono, B. Laddomada, M.A. Pagnotta, E. Porceddu, A. Sciancalepore, R. Simeone y O.A. Tanzarella (1998). Extension of the messapia x dicoccoides a genetic linkage durum map. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 721-728.
- Borrelli, G.M., A. Troccoli, N. Di Fonzo y C. Fares (1999). Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. *Cereal Chemistry* 76: 335-340.
- Carrera, A., V. Echenique, W. Zhang, M. Helguera, F. Manthey, A. Scragger, A. Picca, G. Cervigni y J. Dubcovsky (2007). A deletion at the Lpx-B1 locus is associated with low lipoxygenase activity and improved pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *Journal of Cereal Science*, 45: 67-77.
- Cruz, C.D., (2001). Programa Genes: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística. Ediciones Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, Brasil. 648 p.
- Doerge, R.W. y G.A. Churchill (1994). Issues in genetics mapping of quantitative trait loci. Analysis of molecular marker data. *Proceeding ASHA/CSSA 2nd Joint Plant Breeding Symposium*, Corvallis, CAAS, Madison, Winsconsin, p. 27-32.
- Elouafi, M., M.M. Nachit y L.M. Martin (2001). Identification of microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var *durum*). *Hereditas* 135: 255-261.
- Eskin, N.A., S. Grossman y A. Pinsky (1977). Biochemistry of lipoxygenase in relation to food quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1: 1-40.
- Faubion, J.M. y R.C. Hoseney (1981). Lipoxygenase: Its biochemistry and role in breadmaking. *Cereal Chemistry* 58: 175-180.
- Feussner, I. y C. Wasternack (2002). The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology* 53: 275-297.
- Hsieh, C.C y C.E. McDonald (1984). Isolation of lipoxygenase isoenzymes from flour of durum wheat endosperm. *Cereal Chemistry* 61: 392-398.
- Hessler, T.G., M.J. Thomson, D. Benschler, M.M. Nachit y M.E. Sorrells (2002). Association of a lipoxygenase locus, Lpx-B1, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds. *Crop Science* 42: 1695-1700.
- Holman, R.T. (1955). Measurement of lipoxidase activity. En: David Glick (ed.) pp. 113-119. Methods of biochemical analysis, Vol II. Interscience Publishers Inc., New York, New York, USA.
- Kosambi, D.D. (1944). The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics* 12: 172-175.
- Leach, R.C. y D.J. Mares (2004). Quantitative trait locus associated with lipoxygenase activity in bread wheat: a tool to improve the marketability of Australian bread wheat. Proceedings of the 54th Australian Cereal Chemistry Conference and 11th Wheat Breeders Assembly, C.K. Black, J.F. Panozzo y G.J. Rebetzke (eds), Royal Australian Chemical Institute, September 21-24, Canberra, Australia, p. 130-133.
- Lilliefors, H. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of The American Statistical Association* 62: 399-402.
- Manna, F., G.M. Borrelli, D.R. Massardo, K. Wolf, P. Alifano, L. Del Giudice y N. Di Fonzo (1998). Differential expression of Lipoxygenase genes among durum wheat cultivars. *Cereal Reserch Communications* 26: 23-30.
- Massardo, D.R., A. Del Giudice, G.M. Borrelli, N. di Fonzo y L. Del Giudice (2001). Isolation of durum wheat lipoxygenase gene. Proceedings of the XLV Italian Society of Agricultural Genetics – SIGA Annual Congress, September 26-29 Salsomaggiore Terme, Italy. Session V.26.
- McDonald, C.E. (1979). Lipoxygenase and Lutein Bleaching Activity of Durum Wheat Sémola. *Cereal Chemistry* 56: 84-89.
- Nachit, M.M., I. Elouafi, M.A. Pagnotta, A. El Saleh, E. Iacono, M. Labhili, A. Asbati, M. Azrak, H. Hazzam, D. Benschler, M. Khairallah, J.-M. Ribaut, O.A. Tanzarella, E. Porceddu y M.E. Sorrells (2001). Molecular linkage map for an intraespecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Theoretical and Applied Genetics* 102: 177-186.

- Peleg, Z., Y. Saranga, T. Suprunova, Y. Rorin, M. Röder, A. Kilian, A. Korol y T. Fahima (2008). High-density genetic map of durum wheat x wild emmer wheat based on SSR and DArT markers. *Theoretical and Applied Genetics* 117: 103-115.
- Pozniak, C.J., R.E. Knox, F.R. Clarke y J.M. Clarke (2007). Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 525-537.
- Schuster, I. y C.D. Cruz (2004). *Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados*. Ediciones Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. 568 p.
- Somers, D.J., P. Isaac y K. Edwards (2004). A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1105-1114.
- Surrey, K. (1964). Spectrophotometric Method for Determination of Lipoxidase Activity. *Plant Physiology* 30: 65-70.
- Trocchi, A., G.M. Borrelli, P. De Vita, C. Fares y N. Di Fonzo (2000). Durum wheat quality: A multidisciplinary Concept. *Journal of Cereal Science* 32: 99-113.
- Van Aarle, P.G.M., M.M.J. De Barse, G.A. Veldink y F.G. Vliegthart (1991). Purification of a lipoxygenase from ungerminated barley. Characterization and product formation. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 280: 159-162.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper y M. Zabeau (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski y S.V. Tingey (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Zhang, W., S. Chao, F. Manthey, V. Echenique y J. Dubcovsky (2008). QTL analysis of pasta quality using a composite microsatellite - SNP map of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* (in press).
- Zeng, Z.B. (1993). Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 90: 10972-10976.
- Zeng, Z.B. (1994). Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.