

Validación del gen de resistencia a “escaldadura” Rrs2 en los cultivares de cebada cervecera con mayor difusión en Argentina

GONZÁLEZ, G.A.¹; MOREYRA, F.¹; CONTI, V.A.¹; VALLATI, A.¹; GIMÉNEZ, F.J.¹

RESUMEN

La “escaldadura” es una enfermedad importante en el cultivo de cebada. En la literatura se han descrito genes que confieren resistencia genética (Rrs) a esta enfermedad. En Argentina, más del 80% del área sembrada de cebada corresponde a las variedades Shakira, Andreia y Scarlett. La primera porta alelos de resistencia para el gen Rrs2, los cuales pueden ser identificados por técnicas moleculares. Sin embargo, no existen reportes de la respuesta fenotípica de estos cultivares en zonas de producción agrícola de cebada en Argentina. El objetivo de este trabajo fue validar el gen Rrs2, involucrado en la resistencia para “escaldadura” en las variedades de cebada más difundidas en Argentina y determinar si el marcador desarrollado sobre dicho gen puede ser aplicado en selección asistida en programas de mejoramiento. Para ello, se utilizaron los cultivares Scarlett, Andreia y Shakira y una población biparental RIL de 158 individuos derivada del cruzamiento de Andreia y Shakira. Los genotipos fueron caracterizados fenotípicamente a campo en las localidades de Bordenave, Balcarce y Coronel Suárez. Además, se caracterizaron molecularmente por la presencia (Rrs2+) o ausencia (Rrs2-) de alelos de resistencia. Los resultados muestran que los genotipos parentales Shakira y Andreia presentan respuestas altamente contrastantes en los tres ambientes de evaluación. Las líneas derivadas de este cruzamiento mostraron diversas respuestas frente al patógeno. Se observó que no existen diferencias significativas entre las líneas que portan el alelo de resistencia (Rrs2+) y la variedad Shakira. Tampoco se encontraron diferencias significativas al analizar la respuesta de las líneas que portan el alelo de susceptibilidad (Rrs2-) y la variedad Andreia. Sin embargo, ambos grupos de líneas difieren significativamente entre sí, de la misma manera que lo hacen las variedades usadas como parentales. Tanto la variedad Shakira como las líneas portadoras de Rrs2+ presentaron buena respuesta frente a la enfermedad. Esto indica que dicho alelo sería el responsable de la resistencia frente al patógeno para estos genotipos. En contraste, la variedad Andreia y las líneas Rrs2- mostraron alta presencia de síntomas de la enfermedad, lo cual confirma que estos genotipos carecen de genes de resistencia efectivos para dicha enfermedad. Además, el marcador molecular desarrollado sobre el gen Rrs2 mostró ser eficaz en la selección de líneas derivadas del cruzamiento entre ambos cultivares. Esto indica que dicho marcador podría ser utilizado en planes de mejoramiento que utilicen fondos genéticos derivados de la variedad Shakira para la selección de individuos que porten alelos de resistencia a la enfermedad. Por último, este trabajo representa la primera caracterización a nivel fenotípico y molecular de cultivares de cebada cervecera utilizados ampliamente en sistemas de producción agrícola en las principales zonas agroecológicas de Argentina.

Palabras clave: cebada cervecera, *Rhynchosporium secalis*, Rrs2, marcadores moleculares.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bordenave, Mejoramiento y calidad vegetal, Ruta Provincial 76 km 36,5 (8187) Bordenave, Buenos Aires. Correo electrónico: gonzalez.ga@inta.gob.ar

ABSTRACT

"Scald" is an important disease in barley cultivation. In the literature, genes responsible for resistance (*Rrs*) have been described, which are present in barley cultivars. In Argentina, more than 70% of the area planted with barley corresponds to the *Shakira* and *Andreia* varieties. *Shakira* carries resistance alleles for the *Rrs2* gene which can be identified by molecular techniques; however there are no reports of the response of these materials in agricultural production areas of barley in Argentina. The objective of this work was to validate the *Rrs2* gene as a carrier of resistance alleles for "scald" in the most widespread varieties of barley in Argentina and to determine if the molecular marker developed on said gene can be applied in assisted selection in breeding programs. For this purpose, we used a biparental population RIL of 158 individuals derived from *Andreia* and *Shakira*. The materials were phenotypically characterized to field in the localities of Bordenave, Balcarce and Coronel Suárez. In addition, they were characterized molecularly by the presence (*Rrs2*+) or absence (*Rrs2*-) of resistance alleles. The results show that the parents *Shakira* and *Andreia* present highly contrasting responses in the three evaluation environments. The lines showed different responses to the pathogen, it was observed that there are no significant differences between the lines carrying the resistance allele (*Rrs2*+) and the *Shakira* variety, not were significant differences found when analyzing the response of the lines carrying the allele susceptibility (*Rrs2*-) and the variety *Andreia*. However, both groups of lines differ significantly from each other, in the same way that the varieties used as parental do. Both, the *Shakira* variety and the *Rrs2* + lines showed good response to the disease, indicating that the allele would be responsible for the resistance to the pathogen for these materials. In contrast, *Andreia* and *Rrs2*- lines showed high presence of symptoms, indicating that these materials lack effective resistance genes for this disease. In addition, the molecular marker developed on the *Rrs2* gene was shown to be effective in selecting lines derived from the crossing of both materials, indicating that this marker could be used in breeding programs that use genetic backgrounds derived from the *Andreia* and *Shakira* varieties for the selection of individuals carrying alleles of resistance to the disease. Finally, this work represents the first phenotypic and molecular approximation of brewing barley materials widely used in agricultural production systems in the main agroecological zones of Argentina.

Keywords: Malting barley, *Rhynchosporium secalis*, *Rrs2*, Molecular markers.

INTRODUCCIÓN

La "escaldadura" es una enfermedad foliar de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) y de otros miembros de la familia de las Poáceas, causada por el hongo *Rhynchosporium secalis* (Lehnackers y Knogge, 1990; Shipton, 1974; Zaffarano *et al.*, 2006). En ambientes y años húmedos y frescos la "escaldadura" representa un factor de alta importancia económica en dicho cultivo (Beer, 1991; Shipton, 1974), ya que no solo disminuye el potencial de rendimiento, sino que afecta significativamente el calibre del grano de cebada con la consecuente pérdida de calidad comercial del grano, que en casos severos queda excluido del estándar de comercialización como grano cervecero. Esto origina, además, una disminución del valor económico de este. En Argentina, esta enfermedad puede producir daños de hasta un 10-15%. Su presencia está más limitada al sur de la región pampeana y el avance de los síntomas se produce casi exclusivamente hasta el estado de encañazón. Sin embargo, en años fríos y en variedades susceptibles la "escaldadura" puede avanzar hasta la hoja bandera (Carmona *et al.*, 2011) y afectar una importante área de producción.

Los primeros estudios de herencia de la resistencia de cultivares de cebada frente a *R. secalis* fueron realizados hace 80 años por Mackie (1929). Desde entonces varios

genes de resistencia (genes *Rrs*) han sido identificados y mapeados. Existen cuatro loci mayores para resistencia, el complejo *Rrs1* sobre el cromosoma 3H que cuenta con, al menos, 11 alelos conocidos (Bjørnstad *et al.*, 2002), el locus *Rrs2* sobre el cromosoma 7HS (Schweizer *et al.*, 1995), el *Rrs13* sobre el cromosoma 6HS (Abbott *et al.*, 1995; Genger *et al.*, 2003b) y el locus *Rrs15* sobre el 2HS (Schweizer *et al.*, 2004). El mapeo fino del *Rrs2* mostró que dicho gen se encuentra dentro de un intervalo de 0,8 cM entre los marcadores 693M6_6 y P1D23R sobre el extremo distal del cromosoma 7HS de cebada. Estos estudios se realizaron utilizando una población F₂ de mapeo biparental conformada por las variedades Atlas (resistente) y Steffi (susceptible). Hanemann *et al.* (2009) realizaron estudios de secuenciación sobre el gen *Rrs2* en poblaciones de mapeo con las variedades Atlas y Steffi. En dichos estudios encontraron ocho SNPs (Single Nucleotide Polimorfism) asociados con el fenotipo de resistencia para "escaldadura", los cuales fueron convertidos en marcadores moleculares para el diagnóstico de las respuestas frente a *Rhynchosporium secalis*; algunos de estos marcadores están desarrollados para técnicas de pirosecuenciación y otros como marcadores CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence). Aplicando las técnicas mencionadas dichos autores caracterizaron molecularmente 30 variedades de cebada entre

las que se encontraban Abyssinian (Rrs2-), Atlas68 (Rrs2-), Hudson (Rrs2-), Pioneer (Rrs2-), Triton (Rrs2-), Digger (Rrs2+), Escaldadura15 (Rrs2+), Forrest (Rrs2+), Ossiris (Rrs2+), Pewter (Rrs2+), entre otras. Si bien en este grupo de genotipos se correlacionó la presencia de los alelos de resistencia con una respuesta favorable, ninguna de estas variedades se encuentra difundida en la zona de producción agrícola de cebada de Argentina.

Durante la campaña 2015 en Argentina se sembraron 1.467.421 ha con cebada cervecera (SIIA, 2016) de las cuales el 39% fueron ocupadas por el cultivar Andreia, el 34% por el cultivar Shakira y el 10% por el cultivar Scarlett (Cattáneo, 2016). Sin embargo, hasta la campaña 2012 casi el 90% de la superficie sembrada con cebada correspondía al cultivar Scarlett, lo cual generaba un alto riesgo a nivel sanitario (Cattáneo, 2013). En los últimos años, la superficie sembrada con los cultivares Shakira y Andreia fue aumentando, en desmedro de la superficie ocupada por Scarlett (SIIA, 2016). Entre las razones que fundamentan su incremento vale mencionar que ambos cultivares poseen altos potenciales de rendimiento, alta estabilidad en relación con el tamaño del grano y un excelente desempeño en la industria maltera (Moreyra *et al.*, 2015). Las variedades Shakira y Andreia son de origen belga y fueron inscriptas en el Registro Nacional de Cultivares de Argentina en el año 2007 y 2011, respectivamente (INASE, 2016). La variedad Shakira proviene del cruzamiento de los cultivares Pewter (Rrs2+) x Prestige (INASE, 2016), mientras que la variedad Andreia proviene del cruzamiento de ((MarniexCetac1/42)xBarke)xLOCH.1992 (Cattaneo, 2017).

Teniendo en cuenta lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo fue validar el gen Rrs2 involucrado en la resistencia para la enfermedad "escaldadura", utilizando las variedades Shakira y Andreia ampliamente difundidas en Argentina; y determinar si el marcador desarrollado sobre

dicho gen puede ser aplicado en selección asistida en los programas de mejoramiento de cebada donde se utilicen dichos fondos genéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Este estudio se inició con la generación de una población de 158 líneas endocriadas recombinantes (RIL). Esta población deriva del cruzamiento de las variedades comerciales Andreia y Shakira, las cuales presentan respuestas contrastantes frente a la enfermedad "escaldadura". La variedad Andreia es susceptible a dicha enfermedad, mientras que Shakira es resistente. Además, Shakira posee el alelo de resistencia para el gen Rrs2, mientras que Andreia posee el alelo de susceptibilidad para dicho gen. Sin embargo, ambos materiales comparten ciertas características como nivel de rendimiento elevado y óptima calidad comercial e industrial.

El cruzamiento artificial entre Andreia y Shakira fue realizado durante la campaña 2011. Las líneas segregantes fueron estabilizadas genéticamente mediante el método de selección de semilla única (SSD). Se completaron dos ciclos de cultivo por año para lograr un alto nivel de endocria de las líneas en un período corto. Una vez estabilizadas las líneas fueron caracterizadas fenotípicamente según su nivel de resistencia a "escaldadura" y genotípicamente para el gen Rrs2.

Caracterización fenotípica del material vegetal

Las 158 líneas endocriadas y sus genotipos parentales Andreia y Shakira fueron evaluados bajo condiciones de campo durante la campaña 2014 en las localidades de Bordenave (S 37° 45' 39.78" O 63° 03' 39.70"), Coronel Suárez (S 37°



Figura 1. Escala de tres valores utilizada para la caracterización fenotípica de la población objetivo y sus parentales.

35° 45.13'' O 62° 05' 12.04'') y Balcarce (S 37° 45' 45.84'' O 58° 18' 6.45'') pertenecientes a la región pampeana sur de Argentina, donde la "escaldadura" es una enfermedad endémica. Se sembraron surcos de 1,5 m de largo espaciados a 30 cm entre sí donde se dispusieron 20 g de semilla en cada uno. Los parentales Andreia y Shakira fueron sembrados cada 50 surcos de líneas, es decir, que en cada ambiente se sembraron 3 surcos de cada parental. Las fechas de siembra para las localidades de Bordenave, Coronel Suárez y Balcarce fueron: 20/06/2014, 27/06/2014 y 17/06/2014 respectivamente. La infección con el patógeno *R. secalis* se realizó de forma natural sin la aplicación de inóculo artificial.

La caracterización de la respuesta frente a la enfermedad escaldadura para cada línea, incluidos los parentales, fue realizada en el estadio de encañazón del cultivo, mediante una exhaustiva observación de la reacción de los genotipos frente al patógeno. Dicha respuesta fue cuantificada mediante una escala del 1 al 3, donde 1 eran líneas que no presentaban síntomas de la enfermedad, 3 eran líneas que presentaban síntomas en la mayoría de las hojas, cubriendo un elevado porcentaje de estas y 2 eran casos intermedios donde las líneas presentaban síntomas, pero menos severos que en el caso anterior (figura 1). Esta escala se basa en una combinación entre la incidencia y la severidad de los síntomas generados por la enfermedad y es utilizada de rutina en los programas de mejoramiento de cebada cervecera en INTA.

Caracterización molecular del material vegetal

Se realizó la extracción de ADN total de las 158 líneas y de ambos genotipos parentales siguiendo el método de Dellaporta modificado (Dellaporta *et al.*, 1983). Para tal fin se sembraron 10 semillas de cada material en macetas de 2,5 L con tierra fértil. Estas fueron mantenidas en condiciones de invernáculo hasta su germinación. Posteriormente, se tomaron hojas de 5 plántulas para utilizar como material de partida para la extracción de ADN.

La caracterización molecular se realizó aplicando el marcador CAPS desarrollado por Hanemann *et al.* (2009). Se amplificó mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) un fragmento del gen *Rrs2* de 428 pares de bases (pb) utilizando los siguientes oligonucleótidos: PRrs2 Forward (ACGAAC TCAAGGTGGTGGAC) y PRrs2 Reverse (TGTTGAGCTCCTGGCTTTCT). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un volumen final de 25 µL, los cuales contenían 100 µM de cada dNTPs (Inbio, Highway), 200 nM de cada oligonucleótido, 50 ng de ADN genómico, 1,5 mM de MgCl (Inbio, Highway), 1 unidad de Taq polimerasa (Inbio, Highway) y 1x de buffer (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, pH 8,4). La amplificación enzimática fue realizada con un termociclador marca Biorad, modelo MyCycler y consistió de una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 30 ciclos de: 94 °C durante 30 segundos, 56 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 30 segundos. Posteriormente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

La secuencia del fragmento amplificado sobre el gen *Rrs2* consta de un polimorfismo de nucleótido simple

(SNPs) el cual discrimina el alelo que confiere resistencia a "escaldadura" (Hanemann *et al.*, 2009). Este cambio en la secuencia del fragmento amplificado forma parte de un sitio de corte para la enzima de restricción BcnI la cual reconoce el sitio de corte en el alelo que no confiere resistencia frente a la enfermedad. Es decir, los fragmentos de 480 pb, provenientes del alelo de susceptibilidad, tratados con la enzima BcnI, se dividen en dos fragmentos (128 bp y 352 bp); mientras que los fragmentos de 480 pb, provenientes del alelo de resistencia, no son reconocidos por dicha enzima (Hanemann *et al.*, 2009).

Las reacciones de restricción se llevaron a cabo en un volumen final de 20 µL que contenían 15 µL del producto de amplificación, 3 unidades de la endonucleasa BcnI (Fermentas, St. Leon-Rot, Germany) y 1x del buffer de reacción. Las muestras fueron incubadas durante 2 h a 37 °C. Los fragmentos amplificados y digeridos fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa (Conda, Pronadisa Agarose D1 Low EEO) 1%, TAE 1x, teñidos con el colorante SybrSafe (Invitrogen, Molecular Probes) y visualizados bajo luz ultravioleta. De esta manera se registró, para cada muestra, la presencia o ausencia de los alelos de resistencia (*Rrs2+*) o susceptibilidad (*Rrs2-*) para el gen *Rrs2* de cebada.

Análisis estadístico de los datos

Se realizó un test de Chi cuadrado (χ^2) al 5% de significación para corroborar que la segregación observada de los alelos del gen *Rrs2* en la población RIL no se desviaba significativamente de la segregación esperada para un gen mayor en este tipo de población (segregación = 1:1).

Para determinar el efecto de ambos alelos (*Rrs2+* y *Rrs2-*), la respuesta promedio de las líneas con el alelo de resistencia frente a "escaldadura" se comparó con la respuesta promedio de las líneas con el alelo de susceptibilidad, dentro de cada ambiente y entre ambientes. Para cada ambiente se promediaron las respuestas de los parentales en los tres surcos de evaluación. Se realizó un análisis de la varianza simple (ANAVA) cumpliendo con los supuestos de este tipo de análisis univariado y para comparar las medias de los tratamientos se utilizó el método de la mínima diferencia significativa (MDS), solo cuando la prueba F del análisis de varianza indicó diferencias significativas. En todas las pruebas se utilizó un nivel de significancia de 5%. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016).

RESULTADOS

El marcador CAPS sobre el gen *Rrs2* resultó polimórfico entre los parentales Shakira y Andreia (figura 2). Shakira presentó el alelo de resistencia del gen *Rrs2* mientras que Andreia presentó el alelo de susceptibilidad. Analizando la caracterización molecular de las 158 líneas pertenecientes a la población RIL, se observó que 85 líneas portaban el alelo de resistencia para el gen *Rrs2* (*Rrs2+*), mientras que

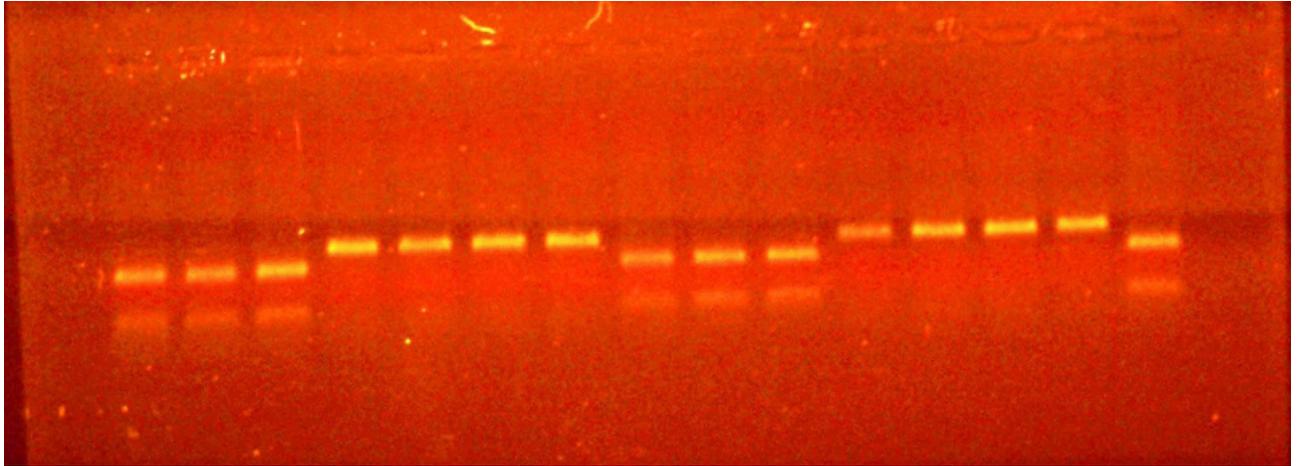


Figura 2. Perfil molecular del marcador CAPS sobre el gen Rrs2.

| | Rrs2+ | Rrs2- | Test $\chi^2_{1:1}$ gl. 1 |
|------------|-------|-------|---------------------------|
| Shakira | + | - | |
| Andreia | - | + | |
| 158 Líneas | 85 | 73 | $p > 0,3$ |

Tabla 1. Caracterización de los materiales según presencia del alelo de resistencia (Rrs2+) y susceptibilidad (Rrs2-) para el gen Rrs2.

| | Alelos | Ambiente | | | N.º Líneas |
|----------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|------------|
| | | Bv | Bc | Cs | |
| Pob. Ril | Rrs2 + | 1,17 ^a | 1,08 ^a | 1,26 ^a | 85 |
| Pob. Ril | Rrs2 - | 2,48 ^b | 2,26 ^b | 2,40 ^b | 73 |
| Shakira | Rrs2 + | 1,23 ^a | 1,00 ^a | 1,25 ^a | |
| Andreia | Rrs2 - | 3,00 ^b | 2,75 ^b | 2,75 ^b | |

Tabla 2. Caracterización promedio por ambiente (Bv: Bordenave, Bc: Balcarce, Cs: Coronel Suárez) de las líneas portando los alelos de resistencia y susceptibilidad para el gen Rrs2.

las restantes 73 líneas portaban el alelo de susceptibilidad para dicho gen (Rrs2 -) (tabla 1). La distribución alélica del gen Rrs2 en la población se ajustó a la correspondiente segregación esperada ($p > 0,3$).

En la caracterización fenotípica, los parentales Shakira y Andreia presentaron respuestas altamente contrastantes en los tres ambientes de evaluación. Las líneas mostraron diversas respuestas frente al patógeno, sin embargo, fue posible ubicar a cada línea dentro de las categorías 1, 2 o 3, según el nivel de síntomas de escaldadura que presentaban en cada uno de los tres ambientes. La tabla 2 muestra los resultados promedio obtenidos en la caracterización fenotípica tanto de los parentales como de las líneas que

presentaron el alelo Rrs2+ y Rrs2- para cada ambiente de evaluación.

Por un lado, al analizar la varianza de los valores promedio de respuesta para los tres ambientes, se determinó que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las líneas que portan el alelo de resistencia (Rrs2+) y la variedad Shakira. Por otro lado, tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) al analizar la respuesta de las líneas que portan el alelo de susceptibilidad (Rrs2-) y la variedad Andreia. Sin embargo, ambos grupos de líneas difieren entre sí, de la misma manera que lo hacen las variedades usadas como parentales (figura 3).

DISCUSIÓN

En publicaciones anteriores se ha comprobado que el gen Rrs2 confiere resistencia a la enfermedad “escaldadura” en el cultivo de cebada (Hanemann *et al.*, 2009; Bi-Fu, 2012; Walters *et al.*, 2012). Sin embargo, estos trabajos se han llevado a cabo utilizando materiales que no han sido difundidos en Argentina. De la misma manera, dichos trabajos han sido realizados en ambientes con condiciones agroecológicas diferentes a las que poseen las principales zonas de producción de Argentina. Estas cuestiones hacen necesaria la evaluación de materiales elite frente a dicha enfermedad.

En el presente trabajo se evaluaron las dos variedades más difundidas en Argentina según su comportamiento frente a “escaldadura”, las cuales resultaron ser ampliamente contrastantes en los tres ambientes explorados en este estudio. Utilizando como genotipos parentales a dichas variedades se creó una población RIL de 158 líneas puras las cuales fueron caracterizadas fenotípica y molecularmente. Por una parte, según el test de χ^2 los alelos del gen Rrs2, en dicha población, segregan con la frecuencia esperada para un gen simple (segregación 1:1). Tanto las líneas caracterizadas como Rrs2+ como la variedad

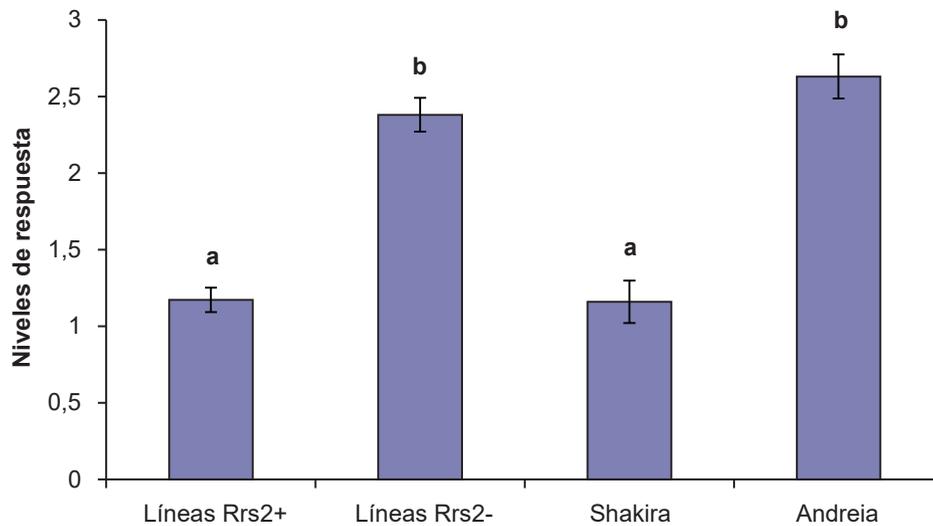


Figura 3. Niveles de respuesta promedio de los genotipos evaluados para los tres ambientes de caracterización fenotípica. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Shakira (la cual presenta el alelo de resistencia del gen Rrs2) presentaron valores fenotípicos bajos (1,08–1,17) y además, similares entre sí en los tres ambientes de evaluación. Estos resultados indican que dicho alelo sería el responsable de la resistencia frente al patógeno *Rhynchosporium secalis*, para los genotipos estudiados. Por otra parte, los individuos caracterizados como Rrs2- y la variedad Andrea (la cual presenta el alelo de susceptibilidad) presentaron valores elevados dentro de la escala fenotípica (2,26–2,48), lo cual indica que estos genotipos carecen de genes de resistencia efectivos para dicha enfermedad.

Estos resultados indican que el gen Rrs2 de cebada sería responsable de conferir resistencia frente a escaldadura en el cultivar Shakira, uno de los más difundidos en Argentina.

La principal aplicación de los marcadores moleculares en el mejoramiento vegetal está asociada directamente con la eficiencia de selección de genotipos con caracteres deseables. La identificación de marcadores asociados a caracteres de importancia agronómica es el primer paso en el desarrollo de la selección molecular, pero existen varios requisitos que hacen efectiva la real utilización de estos marcadores en planes de mejoramiento (Langridge *et al.*, 2001). Es importante destacar que el marcador debe ser capaz de detectar polimorfismos entre y dentro de las líneas o variedades utilizadas en dichos programas. En este sentido, el marcador CAPS desarrollado sobre el gen Rrs2 (Hanemann *et al.*, 2009) fue polimórfico entre las variedades elite Shakira y Andrea; y mostró ser eficaz en la selección de líneas derivadas del cruzamiento entre ambos materiales. Estos resultados, indican que dicho marcador podría ser utilizado en planes de mejoramiento que utilicen fondos genéticos derivados de la variedad Shakira para la selección de individuos portando alelos de resistencia a la enfermedad “escaldadura”. Además, este tipo de marcadores es de fácil aplicación, co-

dominante y altamente objetivo con un costo relativamente bajo. Estas características lo convierten en una herramienta interesante para los programas de mejoramiento de cebada que cuenten con la asistencia de laboratorios de selección asistida por marcadores moleculares.

Por último, este trabajo representa la primera caracterización a nivel fenotípico y molecular de genotipos de cebada cervecera utilizados ampliamente en sistemas de producción agrícola en las principales zonas agroecológicas de Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- ABBOTT, D.C.; LAGUDAH, E.S.; BROWN, A.H.D. 1995. Identification of RFLPs flanking a scald resistance gene on barley chromosome 6. *Journal Heredity*, 86:152-154.
- BEER, W.W. 1991. Leaf blotch of barley. *Zentralbl Microbiology*, 146:339-358.
- BI-FU, Y. 2012. Population-based resequencing analysis of wild and cultivated barley revealed weak domestication signal of selection and bottleneck in the Rrs2 scald resistance gene region. *Genome*, 55(2): 93-104.
- BJØRNSTAD, A.; PATIL, V.; TEKAUZ, A.; MARØY, A.G.; SKINNES, H.; JENSEN, A.; MAGNUS, H.; MACKEY, J. 2002. Resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*) in barley (*Hordeum vulgare*) studied by nearisogenic lines: I. markers and differential isolates. *Phytopathology*, 92:710-720.
- CARMONA, M.; BARRETO, D.; ROMERO, A.M. 2011. Enfermedades del cultivo, importancia, síntomas y manejo integrado. Capítulo 6. Cebada Cervecera, Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 284 p.
- CATTANEO, M. 2013. El cultivo de cebada en Argentina. IV Congreso Latinoamericano de Cebada. Bahía Blanca. (Disponible: <https://congresocebada.files.wordpress.com/2012/10/30-10-13-1-presenta-mario-cattc3a1neo.pdf> verificado: 07 de julio de 2017).

- CATTANEO, M. 2016. Evolución del cultivo de cebada en Argentina. VIII Congreso Nacional de Trigo. VI Simposio de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. II Reunión del Mercosur. Pergamino – Septiembre 2016. (Disponible: <http://www.congresodetrigo.com.ar/presentaciones/dia1auditorio/CATTANEO-CN.pdf> verificado: 07 de julio de 2017).
- DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. 1983. A plant DNA miniprep: version 11. *Plant Molecular Biology Report*, 1:19-21.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; ROBREDO, C.W. 2016. Infostat. Versió 2016. Grupo Infostat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- GENGER, R.K.; WILLIAMS, K.J.; RAMAN, H.; READ, B.J.; WALLWORK, H.; BURDON, J.J.; BROWN, A.H.D. 2003. Leaf scald resistance genes in *Hordeum vulgare* and *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*: parallels between cultivated and wild barley. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54:1335-1342.
- HANEMANN, A.; SCHWEIZE, G.F.; COSSU, R.; WICKER, T.; RÖDER, M.S. 2009. Fine mapping, physical mapping and development of diagnostic markers for the Rrs2 scald resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 1507-1522.
- KNOGGE, W.; VAN'T SLOT, K.A.E.; STEINER-LANGE, S. 2003. Recognition and response—the barley scald model. *Proceedings of the 11th Australian barley technical symposium*.
- LANGRIDGE, P.; LAGUDAH, E.S.; HOLTON, T.A.; APPELS, R.; SHARP, P.J.; CHALMERS, K.J. 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 52(12): 1043-1077.
- LEHNACKERS, H.; KNOGGE, W. 1990. Cytological studies on the infection of barley cultivars with known resistance genotypes by *Rhynchosporium secalis*. *Canadian Journal of Botany* 68:1953-1961.
- MOREYRA, F.; GONZÁLEZ, G.A.; CONTI, V.; GIMÉNEZ, F. 2015. Jornada del cultivo de cebada. Red Nacional de Cebada Cervecera. Campaña 2014. Unidad Integrada INTA Balcarce.
- SCHWEIZER, G.; BAUMER, M.; DANIEL, G.; RUGEL, H.; RÖDER, M. 1995. RFLP markers linked to scald (*Rhynchosporium secalis*) resistance gene Rh2in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 920-924.
- SCHWEIZER, G.; HERZ, M.; MIKOLAJEWSKI, S.; BRENNER, M.; HARTL, L.; BAUMER, M. 2004. Genetic mapping of a novel scald resistance gene Rrs15 Cl8288 in barley. *Proceedings of the 9th international barley genetics symposium, Brno, Czech Republic*, 258-265 pp.
- SHIPTON, W.A. 1974. Scald of barley. *Review of Plant Pathology* 53: 839-861.
- SIIA. 2016. Sistema Integrado de Información Agropecuaria del Ministerio de Agroindustria de la Nación. (Disponible: http://www.siaa.gov.ar/sst_pcias/estima/estima_1.php verificado: 07 de julio de 2017).
- WALTERS, D.R.; AVROVAIAN, A.J.; BINGHAM, F.J.; FOUNTAINE, B.J.; HAVIS, N.D.; HOAD, S.P.; MARK, G.H.; OXLEY, L.S.J.P.; RENWICK, A.; TOPP, C.F.E.; NEWTON, A.C. 2012. Control of foliar diseases in barley: towards an integrated approach. *European Journal of Plant Pathology* 133(1): 33-73.
- ZAFFARANO, P.L.; MCDONALD, B.A.; ZALA, M.; LINDE, C.C. 2006. Global hierarchical gene diversity analysis suggests the fertile crescent is not the center of origin of the barley scald pathogen *Rhynchosporium secalis*. *Phytopathology*. 96: 941-950.