



universidad  
de león



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**

**MEJORA GENÉTICA DEL TRIGO PARA EL  
AUMENTO DE LA RESISTENCIA A LOS ESTRESSES  
BIÓTICOS Y ABIÓTICOS**

**WHEAT BREEDING FOR INCREASING  
RESISTANCE TO BIOTIC AND ABIOTIC STRESSES**

Autor: Francisco Paniagua Gallego

**GRADO EN BIOLOGÍA**

**Julio, 2020**

# ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>2</b>
	2.1. Objetivo principal .....	2
	2.2. Objetivo secundario .....	2
<b>3.</b>	<b>Metodología.....</b>	<b>2</b>
<b>4.</b>	<b>Desarrollo del contenido .....</b>	<b>3</b>
	4.1. Evolución del trigo.....	3
	4.2. Historia del cultivo.....	5
	4.3. Brecha de rendimiento .....	6
	4.4. Contextualización de las pérdidas y de la situación futura .....	7
	4.5. Mejora genética vegetal .....	8
	4.5.1. Limitaciones legislativas y sociales .....	9
	4.5.2. Complejidad del genoma .....	9
	4.6. Resistencia o tolerancia frente a los estreses .....	10
	4.7. Estreses bióticos.....	10
	4.7.1. Resistencia frente a los estreses bióticos .....	10
	4.7.2. Hongos.....	12
	4.7.2.1. La fusariosis o el tizón de la cabeza de <i>Fusarium</i> .....	12
	4.7.2.1.1. Contextualización .....	12
	4.7.2.1.2. Micotoxinas .....	12
	4.7.2.1.3. Infección .....	13
	4.7.2.1.4. Estrategias del fitomejoramiento .....	13
	4.7.2.1.4.1. Primera estrategia: loci <i>Fhb</i> .....	13
	4.7.2.1.4.1.1. Locus <i>Fhb1</i> .....	14
	4.7.2.1.4.1.2. Locus <i>Fhb7</i> .....	15
	4.7.2.1.4.2. Segunda estrategia: ARN interferente.....	16
	4.8. Estreses abióticos .....	18
	4.8.1. Estrés por sequía .....	18
	4.8.1.1. Contextualización.....	18
	4.8.1.2. Fisiología de la planta en respuesta al estrés por sequía .....	19
	4.8.1.3. Estrategias del fitomejoramiento .....	20
	4.8.1.3.1. Primera estrategia: reducción de la densidad estomática ...	20
	4.8.1.3.2. Segunda estrategia: factores de transcripción NAC .....	21
	4.8.1.3.3. Tercera estrategia: factor de transcripción TaWRKY2 .....	22
	4.8.1.3.4. Cuarta estrategia: tecnología HB4.....	23
<b>5.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>24</b>
	<b>Referencias.....</b>	<b>25</b>

## RESUMEN

El trigo (*Triticum* sp.) es uno de los principales cultivos agrícolas y un alimento esencial para gran parte de la población mundial, por ello se hace de vital importancia el desarrollo de variedades con una resistencia incrementada a los estreses bióticos y abióticos a los que se ve sometido, pues estos son causantes de una gran reducción en su productividad, y debido al cambio climático, su frecuencia y magnitud aumentan cada año. De entre todos ellos, la fusariosis causada por el hongo *Fusarium graminearum* y la sequía, son los dos estreses de mayor prevalencia en el cultivo de trigo y en los cuales se centrará el presente trabajo, llevando a cabo una revisión bibliográfica exhaustiva acerca de los avances más prometedores en la mejora genética para el desarrollo de variedades con una resistencia incrementada. Con respecto a la fusariosis, destaca la transferencia estable de los loci *Fhb* y genes que codifican para ARN interferentes, y en cuanto al desarrollo de variedades tolerantes al estrés por sequía, las líneas que manipulan y transfieren los genes *NAC*, *WKRY*, *EPF* y *HaHb4*. Dichos avances son producto de la optimización de las técnicas moleculares de análisis y de edición genética, pero debido a las restricciones legislativas y el rechazo social hacia los organismos modificados genéticamente, estos logros están siendo menoscabados, por lo que es necesario un cambio en la legislación y en la mentalidad existente.

**Palabras clave:** Fusariosis, Mejora genética vegetal, Rendimiento, Resistencia, Sequía, Trigo.

## ABSTRACT

Wheat (*Triticum* sp.) is one of the main agricultural crops and essential food for much of the world's population, so it is of vital importance to develop varieties with increased resistance to biotic and abiotic stresses to which it is subjected, as these are causing a large reduction in productivity, and due to climate change, its frequency and magnitude increase every year. Among all of them, the most prevalent stresses in wheat are *Fusarium* head blight, caused by the fungus *Fusarium graminearum*, and drought, on which this work will focus, carrying out an exhaustive bibliographic review about the most promising advances in plant breeding for the development of more resistant varieties. Regarding the *Fusarium* head blight, what stands out is the stable transfer of *Fhb* loci and genes coding for RNA interference, and with respect to the development of varieties tolerant to drought stress, the lines that manipulate and transfer the *NAC*, *WKRY*, *EPF* and *HaHb4* genes are noteworthy. These advances are the result of the optimization of molecular techniques of analysis and genetic editing, but due to legislative restrictions and social rejection of genetically modified organisms, these achievements are being undermined, so it is necessary to change legislation and existing mentality.

**Keywords:** Drought, *Fusarium* head blight, Plant breeding, Resistance, Wheat, Yield.

## ABREVIATURAS

- ARNds: ARN bicatenario o de doble cadena.
- ARNi: ARN interferente.
- ARNm: ARN mensajero.
- D3G: deoxinivalenol-3- $\beta$ -D-glucósido.
- DON: deoxinivalenol.
- EPF: factores del patrón epidérmico.
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FHB: tizón de la cabeza de *Fusarium* o fusariosis.
- *HaHB4*: *Helianthus annuus* homeobox 4.
- HRC: proteína de unión a calcio rica en cisteína.
- OMG: organismo modificado genéticamente.
- pb: pares de bases.
- QTL: locus de rasgo cuantitativo.
- ROS: especie reactiva de oxígeno.
- UGT: enzima uridina difosfato glucuronil transferasa.
- Ya: rendimiento actual.
- Yg: brecha de rendimiento.
- Yp: rendimiento potencial.

## 1. Introducción

El trigo (*Triticum* sp. L.) es una planta autógama anual de uso agrícola destinada a la alimentación humana y ganadera, cuyo cultivo en el año 2019 fue el segundo más importante en cuanto a producción, pues alcanzó las 735 millones de toneladas, y el más extenso en cuanto a superficie cultivada, con más de 215 millones de hectáreas (Mattera, 2017; Kumar Singh *et al.*, 2020; Food and Agriculture Organization, 2020).

Se trata de un cereal cuyo principal insumo son sus semillas de tipo cariósipide, las cuales se desarrollan a partir de las flores reducidas que conforman las inflorescencias de tipo espiga compuesta situadas en el extremo distal del tallo tipo caña, emergiendo del mismo también unas hojas lanceoladas unidas íntimamente a través de la vaina que, mediante la lígula, se une al limbo, la parte más distal (Shewry, 2009; Hernández Barrera, 2017). Dichas semillas, denominadas comúnmente como granos, presentan un gran valor nutricional y calórico, pues son una fuente importante de carbohidratos, proteínas, minerales y vitaminas, y contienen 327 kilocalorías por cada 100 gramos, proporcionando por ello el 20% de las calorías ingeridas diariamente por los humanos, siendo el alimento base para más del 30% de la población mundial, lo que hace del trigo el cereal más consumido en el mundo con un promedio de 65,43 kilogramos por persona y por año (International Wheat Genome Sequencing Consortium, 2014; United States Department of Agriculture, 2020).

El cultivo de trigo se encuentra distribuido por todo el mundo, pues presenta una enorme diversidad que se estima en más de 25.000 variedades distintas, como consecuencia de su compleja historia evolutiva y su gradual expansión por todos los continentes (Shewry, 2009; Abbate *et al.*, 2017). Esta gran diversidad se engloba dentro del género *Triticum* L. 1753, el cual pertenece a la Tribu Triticeae, Subfamilia Pooideae, Familia Poaceae, Orden Poales, Clase Liliopsida y División Magnoliophyta. Pese a dicha pluralidad, el 90-95% del cultivo se corresponde con el trigo hexaploide, *Triticum aestivum* L., también conocido comúnmente como trigo blando o trigo panadero; seguido del trigo tetraploide, *Triticum turgidum* L., llamado también trigo duro o trigo emmer; quedando una pequeña porción del cultivo dedicado a los trigos diploides einkorn, espelta y club, entre otros (Shewry, 2009; Mattera, 2017; Kumar Singh *et al.*, 2020).

Esta monopolización del cultivo de trigo supone un gran riesgo frente a los diferentes estreses abióticos y bióticos a los que se ve sometido, pues su homogeneidad genética conlleva una baja plasticidad fenotípica y consecuentemente una adaptabilidad evolutiva muy limitada,

por lo que, ante cualquier alteración, las pérdidas en términos de productividad son inmensas (Dwivedi *et al.*, 2017). Esto, sumado a la necesidad de incrementar su producción con el objetivo de asegurar los recursos alimenticios para la población futura, conlleva la exigencia intrínseca de desarrollar nuevos cultivares de trigo con una productividad incrementada mediante el aumento de la tolerancia a los estreses bióticos y abióticos (Hatfield y Beres, 2019; Senapati y Semenov, 2020).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo principal**

El objetivo principal del presente trabajo es llevar a cabo una exhaustiva revisión bibliográfica a cerca de los avances más importantes y significativos en la mejora genética vegetal del cultivo de trigo, enfatizando en el desarrollo de variedades novedosas con una resistencia a los estreses bióticos y abióticos acrecentada con el objetivo final de aumentar la productividad. Cabe justificar que, debido al gran número de estreses diferentes, se tratarán únicamente aquellos de mayor prevalencia en el cultivo de trigo.

### **2.2. Objetivo secundario**

Dicho trabajo también tiene como propósito mencionar la importancia del cultivo de trigo, así como la relevancia de la mejora genética vegetal en el futuro de la humanidad.

## **3. Metodología**

En el presente trabajo de tipología bibliográfica, se ha llevado a cabo una exhaustiva revisión del conocimiento recopilado en artículos y revisiones de revistas científicas, tesis doctorales, y libros especializados, así como la información disponible en portales web de organizaciones científicas y gubernamentales.

Dicha información se ha obtenido en bases de datos científicas de carácter electrónico, como Pubmed, Dialnet, Scopus preview, Google Scholar, Scencedirect, Elsevier, Springer, además de páginas web oficiales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno de España.

Las palabras claves utilizadas en las búsquedas bibliográficas fueron: “wheat” “*Fusarium*” “biotic stress” “abiotic stress” “plan breeding” y “drought”. Los operadores

booleanos empleados en estas búsquedas específicas de información fueron: “AND” y “OR”. También se han utilizado operadores de posición como: “SAME” “WITH” y “NEAR”.

De la información resultante en las bases de datos anteriormente citadas mediante los criterios de búsqueda descritos, únicamente se emplearon los documentos de interés y con los siguientes requisitos: antigüedad igual o inferior a los 10 años y alta rigurosidad científica, siendo para ello publicadas en revistas de prestigio contrastado o bajo alguna credencial que acredite su rigurosidad y veracidad. Se establecieron también criterios de preferencia por autores de mayor renombre e influencia en el campo del conocimiento a tratar y también por la información más novedosa y fiable.

## **4. Desarrollo del contenido**

### **4.1. Evolución del trigo**

El trigo presenta una historia evolutiva muy compleja, en la cual, se han sucedido múltiples eventos de hibridación, tanto interespecíficas como intergenéricas, que han dado lugar a la naturaleza poliploide presente en los trigos cultivados mayoritariamente hoy en día (International Wheat Genome Sequencing Consortium, 2014).

Actualmente se conocen 31 especies de trigo dentro del complejo *Triticum* sp.-*Aegilops* sp., dos géneros taxonómicamente distintos, pero filogenéticamente muy relacionados, lo cual desemboca en que sean tratados de forma indistinta y conjunta en algunos casos (Shewry, 2009). De esas 31 especies, 13 son diploides, denominándose comúnmente como trigos “einkorn” ( $2n = 14$  cromosomas), mientras que las 18 especies restantes presentan dos grados diferentes de alopoliploidía, siendo o bien tetralopoliploides, denominándose trigos “emmer” (BBAA;  $2n = 4x = 28$  cromosomas), o bien hexalopoliploides, como las diferentes subespecies y variedades de *T. aestivum* L. (BBAADD;  $2n = 6x = 42$  cromosomas) (Dwivedi *et al.*, 2017; Kumar Singh *et al.*, 2020). Todas ellas tienen en común la presencia de un genoma dominante que ha permanecido inalterado desde su origen, el subgenoma “A”, el cual determina los caracteres morfológicos básicos de manera estable, pero que se ve influenciado por los diversos subgenomas extras que pueden acompañarle, siendo estos últimos más susceptibles a los factores ambientales del entorno y los responsables de la diversidad fenotípica característica de este cultivo (El Baidouri *et al.*, 2016).

Dicho subgenoma “A”, se originó hace unos 7 millones de años a partir del mismo ancestro común, aún por determinar, del cual divergió también el genoma “B” (Marcussen *et*

al., 2014). El genoma “A” únicamente se encuentra en la actualidad de forma no alopoliploide en los trigos diploides *T. monococcum* L. (syn. *T. monococcum* subsp. *monococcum*) (A<sup>m</sup>A<sup>m</sup>) y *T. urartu* Thumanjan ex Gandyljan (A<sup>u</sup>A<sup>u</sup>), los cuales divergieron hace un millón de años. El genoma “B” por su parte, presenta dos variantes genómicas distintas en la actualidad. Por un lado, *Aegilops speltoides* Tausch presenta un genoma “B” presuntamente invariante, ancestral, que difiere sustancialmente del subgenoma “B” presente en los trigos alopoliploides, lo cual sugiere su origen polifilético como resultado de múltiples hibridaciones entre distintas especies primitivas de *Aegilops* sp., denominadas “ancestros S”, tal y como se muestra en la Figura 1 (El Baidouri *et al.*, 2016).

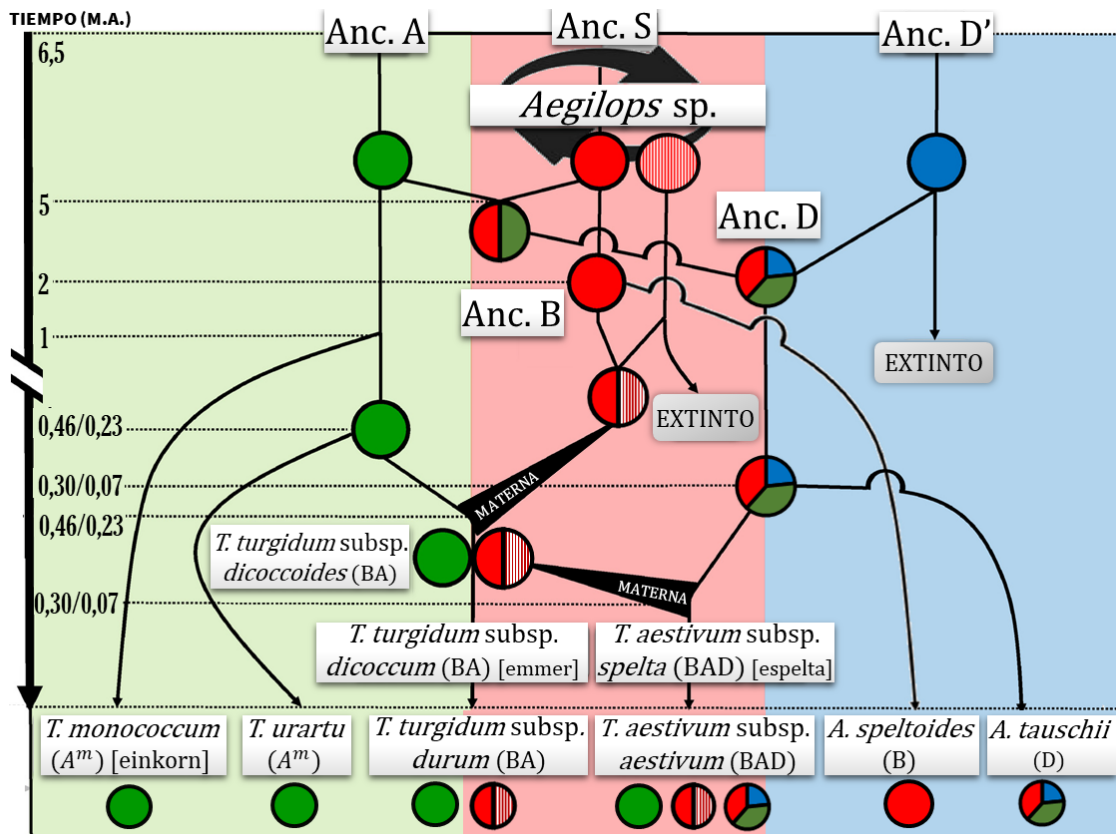
El primer evento de alopoliploidización se produjo hace 500.000 años, y en él estuvieron implicados un ejemplar de *T. urartu* y una especie aún desconocida próxima a *A. speltoides*, la cual presentaba un genoma diploide del subgenoma B polifilético (Rasheed *et al.*, 2018). El resultado de dicha hibridación, en la que el subgenoma A se transmitió vía paterna y el subgenoma B vía materna, fue un trigo tetraploide (BBAA) llamado escanda, *Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* (Körn.) Thell, del cual derivó primeramente el farro, *T. turgidum* subsp. *dicoccum* L. y más tarde el trigo duro actual, *T. turgidum* subsp. *durum* L., tal y como se puede observar en la Figura 1 (Haas *et al.*, 2019).

El segundo evento de alopoliploidización se cree que tuvo lugar hace 10.000 años, entre las especies *A. tauschii* Coss (DD) y *T. turgidum* subsp. *dicoccoides* (BBAA), dando lugar al trigo hexaploide, *Triticum aestivum* L. (BBAADD), más concretamente al trigo espelta, *T. aestivum* subsp. *spelta* L., aunque existe una gran controversia en el origen de dicha subespecie, pues hay indicios de que pudo surgir a partir de la hibridación entre un trigo hexaploide ya existente, *T. compactum* Host, y un trigo emmer (Wang *et al.*, 2013; International Wheat Genome Sequencing Consortium, 2014; Balfourier *et al.*, 2019; Haas *et al.*, 2019).

Independientemente de cual fuese el primer trigo hexaloploide, el subgenoma “D” que portan se encuentra exclusivamente en ellos, y de forma no alopoliploide en *A. tauschii*. Se cree que dicho subgenoma se originó tras dos hibridaciones interespecíficas de carácter homoploide, pues dichas hibridaciones no implicaron una alteración del número de cromosomas, sino una mezcla de estos. La primera hibridación tuvo lugar hace 5 millones de años, entre el genoma “A” y “B”, y la segunda 3 millones de años más tarde con un organismo extinto portador del genoma “D” ancestral (Marcussen *et al.*, 2014; El Baidouri *et al.*, 2016).



Los eventos de hibridación anteriormente citados ocurrieron de forma azarosa en las poblaciones naturales, siendo las formas resultantes las seleccionadas por el hombre tras la aparición de la agricultura, produciéndose por ello cambios en las frecuencias génicas y la aparición de las especies domesticadas actuales (Shewry, 2009).



**Figura 1.** Representación esquemática del origen y evolución de los diversos genomas presentes en los trigos actuales, con escala de tiempo en millones de años (M.A.). Genoma ancestro A (Anc. A, círculo verde), genoma ancestro B (Anc. B, círculo rojo; derivado de la hibridación entre distintas especies del género *Aegilops* sp. indicado por flechas negras gruesas) y el genoma ancestro D (Anc. D, círculo azul). Las líneas anchas y negras de las dos últimas alopolidizaciones indican el genoma que fue transmitido vía materna, lo cual determina el orden de las iniciales que designan el genoma (El Baidouri *et al.*, 2016).

#### 4.2. Historia del cultivo

El trigo es considerado uno de los cultivos más primigenios, pues contribuyó a la “revolución neolítica” ocurrida hace 12.000 años, en la cual se produjo la aparición de la agricultura y la transición de la vida nómada hacia los primeros asentamientos sedentarios que fueron desarrollándose hasta la actual sociedad (Hernández Barrera, 2017).

Mediante estudios paleogenéticos se ha demostrado que el trigo se cultivó por primera vez en la Media Luna Fértil, concretamente en los territorios de la actual Turquía. Dichos cultivos ancestrales consistían en variedades locales silvestres, las cuales de forma paulatina y

premeditada fueron domesticándose según caracteres agronómicos de interés para el hombre, dando lugar al llamado “Síndrome de Domesticación”, pues supuso el detrimento de su potencial ecológico en el estado silvestre (Balfourier *et al.*, 2019).

Su cultivo se expandió inicialmente por Europa, llegando a la Península Ibérica hace 7.600 años, y de forma paralela, pero más lenta, por África y Asia, arribando hace 3.000 años en China, región en la cual se distingue un gran núcleo de especiación (Balfourier *et al.*, 2019). En el Nuevo Mundo, el trigo fue introducido a través de México en el año 1529 por colonizadores españoles y portugueses, 300 años antes que en Oceanía, continente en el cual el cultivo fue introducido con las primeras expediciones inglesas (Olmstead y Rhode, 2011).

Desde el siglo XIX, el trigo ha sido uno de los principales cultivos en los que se ha centrado la mejora genética vegetal (Mcgoverin *et al.*, 2011). Durante el siglo XX, fue objeto de numerosos programas de fitomejoramiento en el marco de la llamada “Revolución Verde”, desarrollándose variedades de alto rendimiento, con un rango ambiental de cultivo más amplio y con unas características agronómicas mejoradas (Mattera, 2017).

#### **4.3. Brecha de rendimiento**

La brecha de rendimiento ( $Y_g$ ) se define como, la diferencia entre el rendimiento promedio actual de un cultivo en una región geográfica concreta ( $Y_a$ ) y el rendimiento potencial que podría alcanzar ese mismo cultivo con técnicas agrícolas apropiadas ( $Y_p$ ). Dicho de otra forma, este concepto estima las pérdidas evitables en los cultivos debido a los estreses bióticos y abióticos, pues hace referencia a la gestión deficiente de dichas alteraciones (Van Ittersum *et al.*, 2013; Hatfield y Beres, 2019; Senapati y Semenov, 2020).

Cerrar esta brecha de rendimiento es imposible, pues lograr rendimientos máximos implica un manejo del cultivo excepcional, lo cual no siempre es factible, económicamente viable o medioambientalmente deseable, debido a que el aumento del rendimiento a los insumos aplicados deja de tener una relación lineal positiva al sobrepasarse un rendimiento potencial umbral del 75-85%, lo cual quiere decir que por más que se fertilice o se apliquen herbicidas o plaguicidas, lo único que se produce es un derroche de recursos y una degradación del medio natural (Lobell *et al.*, 2009; Hatfield y Beres, 2019).

Esto justifica la importancia de la mejora genética vegetal en el desarrollo de nuevas variedades con características agronómicas superiores, pues se ha demostrado que al incrementar el  $Y_p$  de un cultivo mediante la modificación de su genotipo, se produce un

aumento del Ya y una reducción del Yg (Fischer *et al.*, 2014). Al discernir este aumento del rendimiento en los cultivos debido al fitomejoramiento, se ha empezado a hablar de una nueva brecha, la brecha de rendimiento genético, la cual se define como la diferencia entre el rendimiento potencial estimado de un cultivo con genotipo ideal y el rendimiento actual de dicho cultivo (Ya) (Senapati y Semenov, 2020). Según datos de la FAO, el Ya del cultivo de trigo en Europa el año 2019 fue de 4 toneladas por hectárea, y se ha estimado que el Yp de un trigo con genotipo ideal sería de 12 toneladas por hectárea, existiendo por lo tanto un gran margen de incremento del rendimiento mediante su mejora genética (Food and Agriculture Organization, 2020; Senapati y Semenov, 2020).

Para obtener estas variedades de genotipo ideal, con un fenotipo de mayor resistencia a los diferentes estreses a los que se ve sometido el cultivo, se debe hacer uso de la diversidad genética presente en los ancestros silvestres y en las landraceas, siendo entendidas estas, como variedades tempranamente domesticadas muy adaptadas a las condiciones climáticas de una región concreta (Pascual *et al.*, 2020; Senapati y Semenov, 2020). Por ello, se requiere una caracterización genética exhaustiva de todas las especies vegetales potencialmente interesantes, ya que albergan multitud de genes que pueden ser de gran utilidad y cuya conservación debe ser tarea prioritaria (Mattera, 2017).

#### **4.4. Contextualización de las pérdidas y de la situación futura**

Las plantas están sometidas constantemente a los estreses bióticos y abióticos causados respectivamente por los organismos vivos y por las alteraciones de las condiciones climato-edáficas del entorno (Dwivedi *et al.*, 2017). Se estima que dichos estreses causan pérdidas en la productividad de los cultivos de entorno al 50% en el caso de los estreses abióticos y de entre el 26-40% en el caso de los estreses bióticos (Food and Agriculture Organization, 2018; Wulff y Dhugga, 2018).

Esta situación se ve agravada por el cambio climático, pues cada vez son más frecuentes los fenómenos atmosféricos extremos y las explosiones de plagas y patógenos, siendo ejemplo de ello la actual plaga de langostas que está asolando los cultivos del África Oriental, y los diversos estudios que confirman la correlación lineal positiva entre los niveles de ozono y el estrés por sequía que padecen los cultivos, estimándose un incremento de las pérdidas de trigo de entre el 2-6% para el año 2030 debido a ello (Fischer *et al.*, 2014; Food and Agriculture Organization, 2018; Li *et al.*, 2019b). Según las predicciones, la Península Ibérica será una de

las regiones más afectadas por el cambio climático, estimándose una reducción de la productividad del 20% para finales de este siglo (Ciscar *et al.*, 2014).

Estos efectos devastadores, sumado a la exigencia de aumentar en un 70% la producción de trigo para cubrir la demanda mundial futura ante una población de 9 mil millones de personas, hace prioritario el desarrollo de cultivares de trigo novedosos con una resistencia y rendimiento incrementado, lo cual es competencia de la mejora genética vegetal (Wulff y Dhugga, 2018; Borisjuk *et al.*, 2019).

#### **4.5. Mejora genética vegetal**

La mejora genética vegetal, también llamada fitomejoramiento, es la ciencia que, a partir de la variabilidad genética preexistente o inducida, lleva a cabo la optimización del fenotipo de una planta de interés económico mediante la modificación de su genoma con el objetivo final de aumentar su rendimiento (Hernández Barrera, 2017). Dicha ciencia ha ido evolucionando a lo largo del tiempo, y hoy en día se pueden distinguir dos metodologías diferentes.

La mejora genética vegetal clásica, o tradicional, se basa en el cruzamiento dirigido entre plantas seleccionadas por sus caracteres agronómicos, lo cual provoca la transferencia de genes no deseados contraproducentes y se ve limitada al uso de los recursos genéticos existentes (Rasheed *et al.*, 2018). En el caso del trigo, dicha compatibilidad sexual viene determinada por el sistema regulador de la recombinación homóloga *Ph1-Ph2*, un mecanismo de aislamiento reproductivo postzigótico consecuencia de los eventos de poliploidización que ha padecido esta planta, pues su función es asegurar el apareamiento meiótico entre cromosomas homólogos y no entre homólogos de distintos subgenomas (Mattera, 2017; Rasheed *et al.*, 2018). Dichos loci son causantes de la imposibilidad de integrar ciertos genes foráneos en el genoma del trigo, pues detectan los cromosomas homeólogos en los que se ha integrado, impidiendo su recombinación con el cromosoma homólogo que le correspondería (Wulft y Moscou, 2014).

Mediante la supresión del locus *Ph1* ubicado en el cromosoma 5B, se ha facilitado la transferencia estable de los genes foráneos, lo cual, junto con la optimización de las técnicas de secuenciación y genotipado, y el desarrollo de los marcadores moleculares de alto rendimiento, han permitido acelerar e incrementar la eficiencia de esta metodología, pero aun así, este enfoque resulta insuficiente para lograr los objetivos demandados en el futuro (Wulft y Moscou, 2014; Dwivedi *et al.*, 2017).

Por otra parte, el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, las herramientas de ingeniería génica y las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos, han dado lugar a la mejora genética vegetal molecular, en la cual son inexistentes las limitaciones anteriormente citadas, pues permite llevar a cabo la modificación de genes concretos preexistentes en la planta mediante mecanismos como CRISPR-Cas9 y TALENs, entre otros, o bien, la introgresión de transgenes mediante la biobalística o el empleo de *Agrobacterium*, sin ningún tipo de limitación en cuanto a compatibilidad sexual. El resultado de esta metodología son organismos modificados genéticamente (OMG), plantas transgénicas portadoras de la modificación génica pertinente pero con el fondo genético inalterado (Keller *et al.*, 2018; Borisjuk *et al.*, 2019).

Esta permisividad en el empleo de material genético exótico mediante la transgénesis, fundamenta la importancia de conservar la variabilidad genética presente en los cultivares élites, las landraceas y los parientes silvestres, pues constituyen la base del fitomejoramiento (Rasheed *et al.*, 2018; Senapati y Semenov, 2020).

Por lo tanto, mientras que el acervo genético aprovechable por el fitomejoramiento convencional se limita al contenido en las especies compatibles en la fecundación, el fitomejoramiento molecular permite el empleo de los recursos genéticos presentes en especies filogenéticamente distantes, pero presenta algunas limitaciones en el cultivo de trigo que se verán a continuación (Rasheed *et al.*, 2018; Wulff y Dhugga, 2018; Hatfield y Beres, 2019).

#### **4.5.1. Limitaciones legislativas y sociales**

Las restricciones legislativas y el rechazo social hacia los OMG, provoca que los esfuerzos para el desarrollo de nuevos cultivares se centren en técnicas de mejora tradicionales (Messmer *et al.*, 2015). En Europa, donde el trigo es el cultivo más importante, la directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo prohíbe el cultivo de plantas transgénicas, a excepción del maíz Bt, mientras que en Estados Unidos o China, donde las restricciones son más débiles, el trigo es un cultivo minoritario y su mejoramiento queda relegado a un segundo plano (Wulff y Dhugga, 2018).

#### **4.5.2. Complejidad del genoma**

Como se ha visto anteriormente, el trigo presenta un enorme genoma alopoliploide, lo cual sumado a la existencia de múltiples genes parálogos de acción coordinada para la determinación de los caracteres cuantitativos de interés agronómico, hace que su caracterización y posterior empleo en los programas de fitomejoramiento sea tarea compleja

(Wulff y Dhugga, 2018; Pascual *et al.*, 2020). La reciente secuenciación del genoma completo de *Triticum aestivum* var. *Chinese Spring*, con 17 gigabases y 85% de ADN repetitivo, y el de otros trigos, han supuesto un hito para el avance en la mejora genética de este cultivo, pues facilita la comprensión de las distintas redes génicas y permite el desarrollo de marcadores moleculares de alto rendimiento (International Wheat Genome Sequencing Consortium, 2018).

#### **4.6. Resistencia o tolerancia frente a los estreses**

Las plantas presentan diversas estrategias morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para hacer frente a los diferentes estreses. Aunque algunos autores distinguen entre la tolerancia, como la capacidad de padecer un estrés mayormente abiótico sin reducir el rendimiento, y la resistencia, como un mecanismo activo para contrarrestar el efecto dañino de estreses principalmente bióticos, resulta muy difícil distinguir entre ambas estrategias, ya que las plantas exhiben un patrón mixto de ambos mecanismos (Sivasankar *et al.*, 2012; Stout, 2013; Mitchell *et al.*, 2016). Por ello, se hablará indistintamente de resistencia y tolerancia.

#### **4.7. Estreses bióticos**

Los estreses bióticos hacen referencia a cualquier organismo biológico activo capaz de alterar el estado fisiológico o morfológico normal de la planta, siendo estos: malas hierbas, herbívoros, insectos y fitopatógenos. En el caso del trigo, los esfuerzos del fitomejoramiento se centran en los fitopatógenos, dentro de los cuales se incluyen los hongos, protozoos, bacterias y virus, organismos capaces de parasitar la planta y dar lugar a enfermedades que implican la muerte total o parcial de la misma (Levitus *et al.*, 2010).

En respuesta a ello, las plantas activan los mecanismos de defensa, los cuales presentan tres etapas principales: el reconocimiento del patógeno mediante receptores de este o del daño asociado, la transducción de la señal y la respuesta de defensa (Dinh *et al.*, 2020). La incapacidad de reconocer el patógeno o la defensa insuficiente frente al mismo, desemboca en una interacción compatible planta-patógeno y en la consecuente enfermedad, mientras que si dicha interacción es incompatible, la planta resulta resistente al patógeno, inhibiendo su crecimiento o eliminándolo (Levitus *et al.*, 2010).

##### **4.7.1. Resistencia frente a los estreses bióticos**

La resistencia frente a los estreses bióticos se puede definir como la capacidad de una planta para inhibir o erradicar el desarrollo de un patógeno, pudiendo ser inespecífica, basal o innata, cuando es debida a fuertes barreras estructurales o compuestos tóxicos de amplio

espectro; o específica, cuando está determinada por la combinación génica “gen a gen”, según lo cual, cuando la planta expresa un gen de resistencia dominante y el patógeno presenta un gen de avirulencia dominante complementario, se produce una respuesta de hipersensibilidad que ocasiona una necrosis rápida y localizada que impide la propagación del patógeno (Levitus *et al.*, 2010).

El control genético de dicha resistencia es variable, y previamente al inicio de un programa de fitomejoramiento debe ser caracterizado para su modificación pertinente e integración exitosa en un cultivar. Según Levitus y colaboradores (2010), existen 4 tipos de resistencias, tal y como se muestra en la Tabla 1. La resistencia monogénica, o de hipersensibilidad, está determinada por un solo gen, siendo de corta duración y específica para ciertas razas del patógeno, igual que la resistencia oligogénica, pero en esta intervienen un mayor número de genes. La resistencia poligénica, o cuantitativa, está determinada por varios loci de rasgos cuantitativos (QTL), y a diferencia de las anteriores, genera una resistencia inespecífica y duradera. Por último, la resistencia citoplasmática, determinada por genes extranucleares de los cloroplastos y mitocondrias, ha sido poco estudiada, pero su relevancia parece ínfima.

**Tabla 1. Tipos de resistencias en función de su control génico.**

	<b>GENES</b>	<b>TIPO</b>	<b>DIANA</b>
<b>MONOGÉNICA</b>	Uno	Específica	Todo
<b>OLIGOGÉNICA</b>	Varios	Específica	Hongos y nematodos
<b>POLIGÉNICA</b>	QTL	Inespecífica	Insectos, virus y bacterias
<b>CITOPLASMÁTICA</b>	ADN cloroplastidial y mitocondrial de herencia materna		

En la actualidad, el único tratamiento frente a los estreses bióticos es la aplicación de plaguicidas o herbicidas, compuestos tóxicos cuya eficiencia es muy baja, pues por ejemplo en el caso de los fungicidas contra la fusariosis, la efectividad es únicamente de entre el 15-30% (Stokstad, 2020; Dinh *et al.*, 2020). En cambio, la mejora genética vegetal permite el desarrollo de plantas con una resistencia intrínseca, siendo un método económicamente más rentable y ecológicamente sostenible (Li *et al.*, 2019a).

Dicha resistencia transferida debe de ser de carácter poligénico, pues aquellas de carácter monogénico u oligogénico resultan insuficientes y lábiles, debido a la alta capacidad adaptativa de los patógenos para eludir dichas resistencias al generar nuevas razas con mecanismos patogénicos diferentes (Wulff y Moscou, 2014; Wulff y Dhugga, 2018). Por ello, lo que persigue el fitomejoramiento es la introgresión de múltiples genes de resistencia de acción no redundante y coordinada, proporcionando de esta manera una resistencia eficiente e ineludible

para el patógeno (Wulff y Moscou, 2014; Borisjuk *et al.*, 2019). Esto se consigue mediante la construcción por ingeniería genética de casetes génicos, o mediante la piramidación de genes, lo cual consiste en la acumulación de genes de resistencia en la variedad élite a mejorar, pero sin que entre ellos exista ningún tipo de ligamiento que asegure la segregación conjunta, cosa que sí ocurre con los casetes génicos (Guo *et al.*, 2015; Wulff y Moscou, 2014). Por lo tanto, el enfoque a seguir ya no es únicamente determinar el gen con mayor efecto, sino dilucidar que combinación de ellos es la más efectiva, lo cual precisa de un mejor entendimiento de las redes génicas implicadas en los mecanismos de resistencia a la patogenicidad (Borisjuk *et al.*, 2019).

#### **4.7.2. Hongos**

De los múltiples patógenos que afectan al cultivo de trigo, los hongos son los de mayor prevalencia, pues enfermedades como la roya, la fusariosis, la septoriosis y el moho polvoriento, ocasionan más del 70% de las pérdidas bióticas en este cultivo (Duba *et al.*, 2018).

##### **4.7.2.1. La fusariosis o el tizón de la cabeza de *Fusarium***

La fusariosis, también llamada el tizón de la cabeza de *Fusarium* (FHB), es una enfermedad micótica devastadora causada, mayormente, por el hongo ascomicota *Fusarium graminearum*, en el cual se centrará este trabajo (Kamran Khan *et al.*, 2020). Se trata de un hongo hemibiotrófico, pues es capaz de parasitar la planta en cualquier estadio del desarrollo (fase biotrófica) y persistir en los tejidos muertos (fase necrotrófica) (Duba *et al.*, 2018). Además, presenta un ciclo de vida con una etapa asexual y una etapa sexual, lo que le otorga una gran adaptabilidad fenotípica y patogénica (Kamran Khan *et al.*, 2020).

##### **4.7.2.1.1. Contextualización**

El FHB causa unas pérdidas anuales del 5-10% en la productividad mundial de los cultivos de trigo, y en países como China se estima que entre el 20-40%, pudiendo llegar incluso al 100% si las condiciones climáticas son idóneas para el hongo (Cheng *et al.*, 2012).

En Europa y América del Sur las pérdidas son menores y se localizan en áreas concretas, pero cada año la extensión de su incidencia aumenta debido al cambio climático, estimándose unas pérdidas futuras de entre el 50% y el 70% respectivamente (Singh *et al.*, 2016).

##### **4.7.2.1.2. Micotoxinas**

Las micotoxinas, o toxinas fúngicas, son metabolitos secundarios tóxicos producidos por el hongo que actúan como factores de patogenicidad en la infección de la planta (Perochon *et al.*,



2019). En el caso de *F. graminearum*, se trata de epoxi-sesquiterpenos y tricotecenos, los cuales reprimen la síntesis de proteínas en las células al inhibir la actividad peptidiltransferasa de la subunidad ribosomal 60S. También se ha observado que actúan inhibiendo la muerte celular programada, anulando la resistencia por hipersensibilidad al disminuir la expresión de los genes *F-box* del complejo ligasa ubiquitina E3 e incrementar los niveles de la enzima oxidasa alternativa (Chetouhi *et al.*, 2016). Dentro de la enorme variedad de micotoxinas, cabe destacar el deoxinivalenol (DON) y el nivalenol (Mandalà *et al.*, 2019).

#### **4.7.2.1.3. Infección**

La infección se inicia con la germinación de las ascosporas sobre las inflorescencias del trigo, momento en el cual comienza a captar el alimento del interior de las células al degradar su pared celular mediante la secreción de celulasas, xilanasas y pectinasas (Xu y Nicholson, 2009). Esto activa la resistencia Tipo I, la cual consiste en la síntesis de  $\beta$ -1,3-glucanasas y quitinasas, enzimas que degradan la pared celular de los hongos (Eldakak *et al.*, 2018). También se ha observado que, las células vegetales con paredes celulares ricas en compuestos fenólicos e hidroxiprolina ofrecen una mayor resistencia (Duba *et al.*, 2018).

Si el hongo resiste, que es lo normal, comienza su expansión por los tejidos adyacentes mediante la síntesis de DON, codificado por el gen *Tri5*, iniciándose entonces la resistencia Tipo II, la cual se basa en la glicosilación detoxificante de DON en posición 3 mediante la enzima uridina difosfato glucuronil transferasa (UGT), codificada por el gen *HvUGT13248*, generándose DON-3- $\beta$ -D-glucósido (D3G) (Mandalà *et al.*, 2019; Perochon *et al.*, 2019). El resultado son unas espigas de color blanquecino y carentes de granos, o si los contiene, estos son pequeños, arrugados y no aptos para el consumo por la presencia de micotoxinas (Wang *et al.*, 2020).

#### **4.7.2.1.4. Estrategias del fitomejoramiento**

Esta resistencia Tipo II es de carácter poligénica, siendo por ello la más efectiva y estable, y en la cual se centran los programas de mejora genética vegetal (Kamran Khan *et al.*, 2020).

##### **4.7.2.1.4.1. Primera estrategia: loci *Fhb***

En el genoma del trigo hexaploide se han identificado numerosos QTLs implicados en la resistencia contra el FHB, los cuales están distribuidos por todos los cromosomas a excepción del 7D (Zhu *et al.*, 2020). De todos ellos, únicamente siete, los denominados loci *Fhb* que se observan en la Tabla 2, han sido estudiados y caracterizados (Kamran Khan *et al.*, 2020). Estos

loci *Fhb* presentan diversas funciones, pero la principal es la regulación de la expresión de la enzima UGT, pues existe una correlación lineal positiva entre la presencia o ausencia de dichas regiones con la acumulación de D3G, además de observarse una reducción del 20-50% en la patogenicidad del hongo con su sobreexpresión (Mandalà *et al.*, 2019).

A continuación, se hablará de los loci *Fhb* más prometedores y utilizados en la actualidad para el desarrollo de variedades de trigo resistentes al FHB.

**Tabla 2. Loci *Fhb* caracterizados o introducidos en el trigo hexaploide.**

LOCUS	CROMOSOMA	FUENTE	REFERENCIA
<i>Fhb1</i>	3B	<i>T. aestivum</i> var. <i>Sumai 3</i>	Cuthbert <i>et al.</i> , 2006
<i>Fhb2</i>	6B	<i>T. aestivum</i> var. <i>Sumai 3</i>	Cuthbert <i>et al.</i> , 2007
<i>Fhb3</i>	7A	<i>Leymus racemosus</i>	Liu <i>et al.</i> , 2006
<i>Fhb4</i>	4B	<i>T. aestivum</i> var. <i>Wangshuibai</i>	Qi <i>et al.</i> , 2008
<i>Fhb5</i>	5A	<i>T. aestivum</i> var. <i>Wangshuibai</i>	Xue <i>et al.</i> , 2010
<i>Fhb6</i>	1A	<i>Elymus tsukushiensis</i>	Xue <i>et al.</i> , 2011b
<i>Fhb7</i>	7E / 7B	<i>Thinopyrum elongatum</i> / <i>Thinopyrum ponticum</i>	Wang <i>et al.</i> , 2020 / Guo <i>et al.</i> , 2015

#### 4.7.2.1.4.1.1. Locus *Fhb1*

El *Fhb1* está localizado en el cromosoma 3B de numerosos cultivares chinos de trigo (Zhao *et al.*, 2018; Hao *et al.*, 2020). Fue descubierto en la variedad *Sumai 3*, siendo hasta el momento el locus *Fhb* más empleado, habiéndose introducido mediante cruzamientos dirigidos en 20 variedades comercializadas a nivel mundial (Cuthbert *et al.*, 2006; Lagudah y Krattinger; 2019; Zhu *et al.*, 2020). Aunque su eficacia ante el FHB es indiscutible, de los 13 genes putativos que se distinguen en esta región, es decir, secuencias codificantes cuya función aún es desconocida, no se ha determinado cuál de ellos tiene un efecto mayor, pero existen varias hipótesis que se exponen a continuación (Hao *et al.*, 2020).

En 2016, Rawat y colaboradores propusieron que el gen con efecto mayor se corresponde con el de una secuencia codificante similar a la del gen que codifica la toxina formadora de poro, siendo denominada por ello como gen *Pft*. Esta hipótesis ha sido refutada, pues dicho gen ha sido identificado en numerosos cultivares susceptibles al FHB (He *et al.*, 2018).

La reciente clonación exitosa del *Fhb1* ha permitido su estudio exhaustivo y fruto de ello se ha propuesto como factor clave de la resistencia a la proteína de unión a calcio rica en cisteína (HRC), un polipéptido nuclear de señalización (Lagudah y Krattinger, 2019). Dicha proteína es codificada por un gen adyacente al *Pft*, el gen *His*, el cual ha sufrido una delección de unas 800 pares de bases (pb) con respecto a su alelo plesiomórfico, existiendo actualmente dos hipótesis acerca de su función (Lagudah y Krattinger, 2019; Hao *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2020).

Li y colaboradores han propuesto que dicho alelo apomórfico es de carácter dominante negativo, pues concluyen que su presencia otorga a *Fhb1* una nueva función que genera la resistencia frente al FHB, ya que observaron que la delección controlada del alelo *His* de los cultivares susceptibles provoca un aumento de la resistencia ligada a un incremento de los niveles de HRC (Li *et al.*, 2019a).

Su y colaboradores en cambio, concluyen que la resistencia al FHB es fruto de una pérdida de función del *Fhb1* como consecuencia de la delección del gen *His*, pues observaron que, al silenciar el alelo *His* de los cultivares susceptibles, se produce una disminución de los niveles de HRC, y con ello una reducción del daño de *F. graminearum* (Su *et al.*, 2019).

Esta discrepancia tan rotunda en la función del gen *His* ha sido tratada por Lagudah y Kraitting en el año 2019, los cuales propusieron un nexo conciliador entre ambas hipótesis basado en un efecto dominante negativo. Parten del hecho de que en el trigo hexaploide hay otros dos genes *His* similares al del *Fhb1*, uno en el cromosoma 3A (*His-3A*) y otro en el cromosoma 3D (*His-3D*), por lo que, según ellos, es posible que las proteínas codificadas por estos tres genes actúen de manera conjunta al combinarse para formar una proteína heteromultimérica, la cual es reclutada por *F. graminearum* para estabilizar la infección y aumentar la patogenicidad. En base a esto, Lagudah y Kraitting concluyen que el gen *His* apomórfico del *FHB1* codifica una proteína que tiene la capacidad de unirse a las proteínas de *His-3A* y/o *His-3D*, bloqueando el sitio catalítico o inactivando el complejo heteromultimérico, evitando de esta forma su uso por parte de *F. graminearum*, disminuyendo su patogenicidad. En conclusión, el locus *Fhb1* forma parte de una compleja red génica en la que están implicados genes ajenos a dicha región (Hao *et al.*, 2020).

Aunque se han desarrollado múltiples variedades altamente resistentes al FHB mediante la introgresión de *Fhb1* por fitomejoramiento tradicional, también se produce el arrastre de genes indeseados que disminuyen la productividad o dan lugar a otros caracteres contraproducentes (Stokstad, 2020; Zhu *et al.*, 2020). Esclarecer las redes génicas en las que está implicada esta región debe ser tarea prioritaria, pues con ello se determinarían los genes esenciales de dicha resistencia que permitiría el desarrollo de casetes génicos que confiriesen una mayor resistencia específica frente al FHB (Hao *et al.*, 2020).

#### **4.7.2.1.4.1.2. Locus *Fhb7***

El locus *Fhb7* fue descubierto por primera vez en el cromosoma 7B de la especie *Thinopyrum ponticum*, una gramínea silvestre (Guo *et al.*, 2015). Dicho locus codifica para una

glutathiona-S-transferasa, la cual detoxifica el DON, y otras micotoxinas, al insertarlas un glutatión en el carbono 13, confiriendo de esta forma resistencia a varios hongos (Wang *et al.*, 2020). Dicho gen es exclusivo del género *Thinopyrum* dentro del reino vegetal, pues solo se encuentra en animales y hongos, por lo cual se cree que su presencia en este grupo de plantas se debe a un fenómeno de transferencia horizontal desde el hongo endofítico *Epichloë aotearoae*, pues sus secuencias codificantes presentan un 97% de similitud (Stokstad, 2020).

Este mismo año, un grupo de investigación chino ha conseguido clonar e integrar de manera estable en la región distal del cromosoma 7D de *T. aestivum* el locus *Fhb7* presente en el cromosoma 7E de la especie *Thinopyrum elongatum*. Las plantas resultantes tras la introgresión presentaban una resistencia al FHB ligeramente superior a la ofrecida por *Fhb1*, tanto en condiciones *in vitro*, como *ex vitro*, sin tener ningún efecto adverso sobre el rendimiento del grano (Wang *et al.*, 2020).

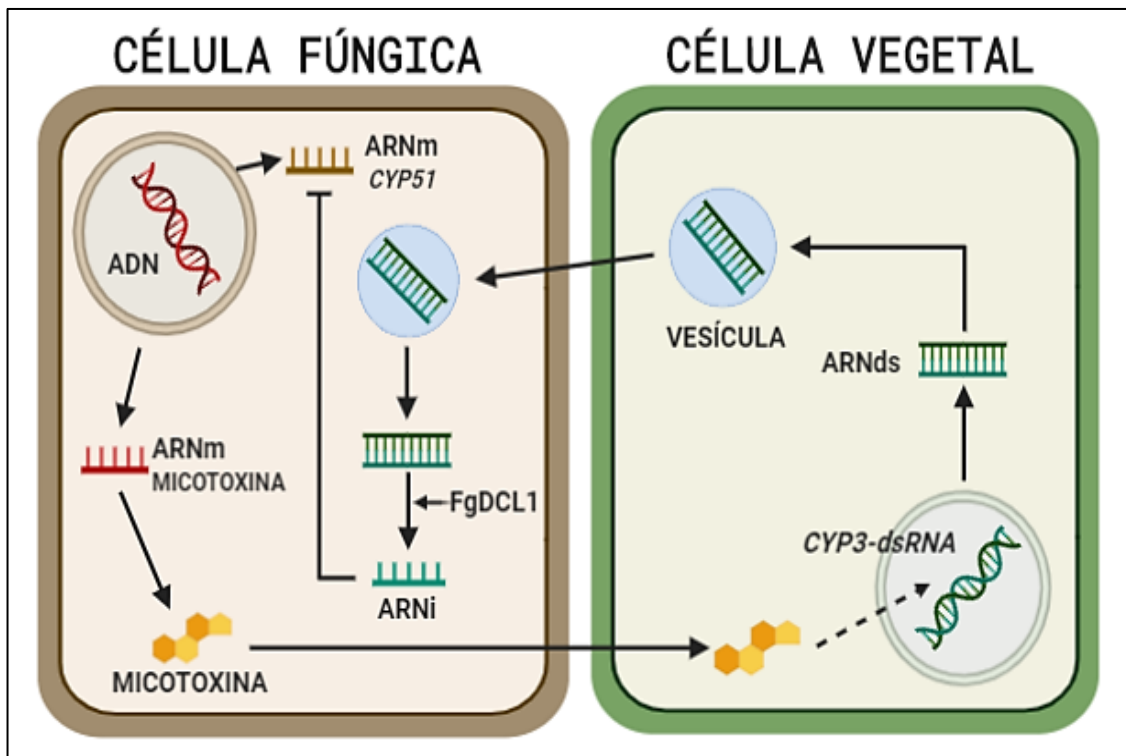
Este cultivar será comercializado en los próximos años y se cree que en el futuro se podrá desarrollar variedades portadoras de los loci *Fhb1* y *Fhb7*, pues los primeros indicios que se están obteniendo son muy prometedores (Stokstad, 2020).

#### **4.7.2.1.4.2. Segunda estrategia: ARN interferente**

El silenciamiento génico inducido por la planta huésped, es otra de las líneas de mejora genética prometedoras para el desarrollo de trigos resistentes al FHB (Koch *et al.*, 2018; Kamran Khan *et al.*, 2020; Koch *et al.*, en prensa). Consiste en un mecanismo de silenciamiento génico postranscripcional basado en la inactivación del ARN mensajero (ARNm) mediante un ARN interferente (ARNi) producido por la propia planta, el cual se une por complementariedad a dicho ARNm, marcándolo para su degradación, inhibiendo de manera indirecta la expresión del gen que lo codifica (Duba *et al.*, 2018).

En 2013, Koch y colaboradores diseñaron el gen *CYP3-dsRNA* mediante ingeniería genética, a partir de los genes *CYP51-A*, *CYP51-B* y *CYP51-C* de *F. graminearum*, los cuales codifican para la enzima lanosterol-14 $\alpha$ -desmetilasa, una enzima del citocromo P450 implicada en la síntesis del ergosterol, componente esencial de la pared celular de los hongos. Dicho gen *CYP3-dsRNA* codifica para un ARNds (ARN bicatenario) de 791 pb, un ARNi que actúa inhibiendo los genes fúngicos *CYP51*, como se observa en la Figura 2, provocando el colapso del hongo. Fue transferido mediante técnicas transgénicas a *Arabidopsis thaliana* (L.), Heynh y *Hordeum vulgare* L., observándose una disminución de entre el 70-80% de la patogenicidad de *F. graminearum*, tanto en condiciones *in vitro* como *ex vitro* (Koch *et al.*, 2013).

En 2016, Koch y colaboradores observaron que la aplicación pulverizada de estos ARNs sobre plantas de trigo disminuía también el efecto del FHB, pues este es captado del medio por el hongo, procesándolo posteriormente hasta el ARNi monocatenario mediante la enzima FgDCL1, una ribonucleasa de la familia “Dicer-like-1” codificada por el gen *FgDCL1*, tal y como se observa en la Figura 2. Esto abrió la puerta al desarrollo del silenciamiento de genes inducido por pulverización, un método basado en fungicidas de ARNs, los cuales presentan una mayor efectividad y especificidad que los fungicidas clásicos, y una menor toxicidad (Koch *et al.*, en prensa).



**Figura 2. Representación esquemática general de la interacción entre la célula fúngica y la célula vegetal transgénica portadora del gen *CYP3-dsRNA*.** La célula vegetal, en respuesta a la micotoxina, inicia la transcripción del gen *CYP3-dsRNA* generándose el ARNs (ARN bicatenario), el cual es transferido de forma pasiva a la célula fúngica, donde tras convertirse en el ARNi (ARN interferente) por acción de la enzima fúngica FgDCL1, inhibe la expresión de los genes *CYP51* al unirse a su ARNm (ARN mensajero).

En febrero de este mismo año, Koch y colaboradores desarrollaron un gen *CYP3-dsRNA* más pequeño que codifica para un RNAs de 100 pb. Dicho transgén fue introducido en plantas de *A. thaliana* proporcionando una resistencia similar a la del RNAs de 791 pb, lo cual, sumado al conocimiento actual sobre el genoma del trigo, facilitará su introgresión estable. Además, descubrieron que la transmisión de los ARNs desde *A. thaliana* a *F. graminearum* se llevaba a cabo mediante vesículas extracelulares que eran depositadas sobre las superficies de las hojas, tal y como se observa en la Figura 2 (Koch *et al.*, en prensa).

Pese al impacto que supondría la integración de este mecanismo en los trigos, las restricciones sobre los OMG lo están menoscabando, pues los esfuerzos de los investigadores se dirigen al desarrollo de fungicidas de ARNds para su aplicación exógena, lo cual sigue suponiendo una labor dependiente del agricultor y restringe su uso a los países más desarrollados (Koch *et al.*, 2016; Duba *et al.*, 2018).

#### **4.8. Estreses abióticos**

Los estreses abióticos hacen referencia a cualquier condición climática o edáfica del entorno que resulta perjudicial para el desarrollo óptimo de un organismo, pues alteran la fisiología y morfología de la planta causando enfermedades (Fang y Xiong, 2015). Los organismos vegetales al ser inmóviles están sometidos a múltiples tensiones abióticas, tales como el estrés térmico, osmótico, mecánico, nutricional e hídrico, entre otros, provocando unas pérdidas anuales en los cultivos de trigo de entorno al 29% (Daryanto *et al.*, 2016). De todos ellos, el estrés por sequía es el de mayor prevalencia y relevancia en los cultivos agrícolas, motivo por el cual este trabajo se centra en él, exponiendo los avances más prometedores de la mejora genética vegetal en el desarrollo de cultivares de trigo con una tolerancia incrementada a dicho estrés (Hu y Xiong, 2014).

##### **4.8.1. Estrés por sequía**

El estrés por sequía es debido a periodos climáticos de bajo nivel de precipitación, donde la disponibilidad de agua en el suelo es insuficiente y se produce un déficit hídrico en los tejidos de la planta al presentar una tasa neta de pérdida de agua (Sallam *et al.*, 2019). Esto provoca alteraciones morfológicas, fisiológicas y moleculares que resultan en una disminución de la productividad y del crecimiento de los cultivos (Fang y Xiong, 2015).

##### **4.8.1.1. Contextualización**

El trigo es un cultivo de secano, pues sus recursos hídricos proceden únicamente de las precipitaciones estacionales, lo cual provoca que su rendimiento sea muy dependiente de las condiciones ambientales del entorno (Fang y Xiong, 2015). Se estima que el estrés por sequía afecta a más de 65 millones de hectáreas de trigo, provocando unas pérdidas anuales de entorno al 21% en su productividad, siendo por tanto su estrés más dañino y cuya incidencia aumenta cada año debido al incremento de la frecuencia y la intensidad de los periodos de sequía ligados al cambio climático (Daryanto *et al.*, 2016; Sallam *et al.*, 2019).

Cabe añadir que, aunque en el cultivo de trigo sea minoritario, para determinadas variedades y regiones concretas donde las precipitaciones son insuficientes, se hace uso de las técnicas de riego para asegurar el aporte hídrico, lo cual supone para la totalidad de los cereales un consumo de agua dulce del 27% (Hoekstra *et al.*, 2012; Dunn *et al.*, 2019).

Dado que el trigo es el cultivo más extendido, resulta de vital importancia desarrollar nuevas variedades con requerimientos hídricos menores, con el objetivo de asegurar la producción y reducir el consumo agrícola de agua dulce en el futuro (Khan *et al.*, 2019).

#### **4.8.1.2. Fisiología de la planta en respuesta al estrés por sequía**

El estrés por sequía afecta a cualquier etapa del crecimiento y sus efectos dependen de su duración e intensidad (Sallam *et al.*, 2019). Dichos efectos van desde la disminución de la tasa de germinación, la inhibición de la fotosíntesis debido al cierre estomático y la degradación de la clorofila por el estrés oxidativo, hasta el desequilibrio del potencial hídrico irreversible en los casos más extremos. Esto supone una reducción del crecimiento vegetativo y un retraso o supresión de la etapa reproductiva, lo cual en los cereales provoca una reducida o nula productividad. En respuesta a ello, las plantas presentan diversos mecanismos de resistencia a la sequía. Dichos mecanismos se basan en escapar de la sequía, recuperarse de la sequía, evitar la sequía y tolerar la sequía, siendo estos dos últimos los más eficientes (Lawlor, 2013; Hu y Xiong, 2014; Fang y Xiong, 2015).

El mecanismo de escape de la sequía consiste en la sincronización del ciclo vital de la planta con las condiciones ambientales, para evitar de esta manera su desarrollo en las estaciones secas, mientras que la recuperación de la sequía es la capacidad de reanudar el crecimiento tras una sequía severa que paraliza el ciclo vital de la planta (Luo, 2010). Evitar la sequía por su parte, permite paliar el déficit hídrico leve disminuyendo la pérdida de agua a través del cierre de estomas, el enrollamiento foliar y la acumulación de ceras epidérmicas, y aumentando la captación y el acopio de la misma mediante un mayor enraizamiento y número de vacuolas (Fang y Xiong, 2015). Por último, la tolerancia a la sequía se basa en mecanismos de carácter molecular que proporcionan a la planta una gran tolerancia a los déficits hídricos severos mediante la síntesis de moléculas osmoprotectoras y enzimas antioxidantes, como las catalasas o las peroxidasas, lo cual disminuye los daños producidos por los estreses osmótico y oxidativo ligados al déficit hídrico, pues mantiene el equilibrio osmótico e inhiben las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Fang y Xiong, 2015; Sallam *et al.*, 2019).

#### **4.8.1.3. Estrategias del fitomejoramiento**

Los mecanismos citados anteriormente implican numerosos genes de compleja actuación, a lo cual hay que añadirle el hecho de que un estrés suele llevar asociado consigo otros tipos de estreses (Hu y Xiong, 2014). Comprender el funcionamiento de las redes génicas y moleculares implicadas, así como el descubrimiento de nuevos recursos genéticos, es de vital importancia para el desarrollo de variedades con una resistencia a la sequía incrementada, siendo entendida esta como un mantenimiento del rendimiento ante condiciones de déficit hídrico (Sallam *et al.*, 2019). Actualmente, numerosos países y asociaciones internacionales están realizando grandes esfuerzos para el desarrollo de nuevas variedades altamente tolerantes a la sequía, haciendo usos de las técnicas de edición genética y transgénesis, pero ninguna de ellas ha llegado al mercado todavía (Ayala *et al.*, 2019).

A continuación, se expondrán las líneas actuales de fitomejoramiento más prometedoras. La mayoría de ellas se basan en la modificación o introgresión transgénica de factores de transcripción, pues es la manera más sencilla de abordar esta problemática, ya que la alteración de solo uno de ellos afecta a todos los genes de acción coordinada implicados en la respuesta a un determinado estímulo, en este caso el estrés por sequía (Guérin *et al.*, 2019; Mao *et al.*, 2020). Cabe destacar que, la mayoría de los avances realizados solo han sido testados en condiciones de cultivos controladas, en invernaderos, por lo que algunos autores consideran que pueden no ser suficientes en campo e incluso ir en detrimento del rendimiento del propio cultivo (Dunn *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2019).

##### **4.8.1.3.1. Primera estrategia: reducción de la densidad estomática**

Los estomas son aberturas epidérmicas que regulan el intercambio gaseoso y la transpiración (Facette y Smith, 2012). A través de ellos se obtiene el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) necesario para la producción fotosintética de materia orgánica, y se genera el potencial hídrico que permite la absorción radicular de agua y los solutos en ella disuelta (Dunn *et al.*, 2019; Sallam *et al.*, 2019).

La formación de estomas en *Arabidopsis thaliana* ha sido muy estudiada, y se sabe que los factores de transcripción del motivo hélice-bucle-hélice (bHLH), como los SPEECHLESS, MUTE, FAMA y SCRM/SCRM2, regulan la diferenciación de las células estomáticas. Dichos factores de transcripción están bajo control de la triple quinasa activada por mitógeno, regulada a su vez por la disponibilidad de luz y CO<sub>2</sub>, y por la familia génica de los factores del patrón



epidérmico (EPF), dentro de los cuales se incluyen los reguladores negativos EPF1 y EPF2, y los reguladores positivos EPFL9/STOMAGEN (Zoulias *et al.*, 2018).

Mediante un análisis de ligamiento entre el genoma del trigo y las secuencias conocidas EPF de *A. thaliana*, se han conseguido identificar en el trigo tres genes similares a *EPF1* (*TaEPF1A*, *TaEPF1B* y *TaEPF1D*) y tres similares a *EPF2* (*TaEPF2A*, *TaEPF2B* y *TaEPF2D*). Mediante ensayos posteriores, se determinó que el gen *TaEPF1B*, localizado en el cromosoma B, es el que presenta un efecto mayor, y por ello fue introducido mediante *A. tumefaciens* en embriones de *T. aestivum* cultivados *in vitro*. Las plantas transgénicas resultantes presentaban una resistencia acrecentada a la sequía, pues la reducción del 50% de la densidad estomática en las hojas supuso un aumento en la eficiencia del uso del agua, al disminuir la transpiración y mantener rendimientos idénticos a los trigos no transformados (Dunn *et al.*, 2019).

#### **4.8.1.3.2. Segunda estrategia: factores de transcripción NAC**

Las proteínas NAC constituyen una amplia familia de factores de transcripción implicados en el desarrollo de la planta y en las respuestas a múltiples estreses bióticos y abióticos (Saad *et al.*, 2013; Shao *et al.*, 2015; Mao *et al.*, 2020). Dicha familia está constituida por proteínas que contienen el dominio de unión a ADN denominado dominio NAC, el cual está presente en tres grupos de proteínas cuya letra inicial dan nombre a esta familia, las proteínas NAM (“no apical mesitem”), ATAF-1,2 (factor de activación de *Arabidopsis thaliana*) y CU2 (“cup-shaped cotyledon”) (Saad *et al.*, 2013).

El trigo presenta una enorme diversidad de este tipo de factores ligados al estrés por sequía (Saad *et al.*, 2013; Guérin *et al.*, 2019). Su implicación en la mejora se basa, o bien en la optimización de los promotores de los genes que los codifican, haciéndoles más sensibles al ácido abscísico, una fitohormona implicada en diversos estreses abióticos, o bien en la integración de un promotor constitutivo (Guérin *et al.*, 2019; Sallam *et al.*, 2019). Su sobreexpresión provoca el aumento de las proteínas de los genes a los que controla, las cuales están involucradas en las vías de señalización del ácido abscísico, incrementándose de esta manera la sensibilidad celular a dicha fitohormona (Saad *et al.*, 2013; Mao *et al.*, 2020).

De la enorme diversidad de proteínas NAC existentes, destacan los programas de mejora genética focalizados en el *TaNAC69* y en el *TaSNAC8-6A* (Khan *et al.*, 2019; Mao *et al.*, 2020). Tras su identificación en landraceas altamente resistentes a la sequía, sus genes fueron aislados e introducidos mediante *A. tumefaciens* en cultivares élites junto con promotores,

interespecíficos u optimizados, que provocaban su sobreexpresión (Xue *et al.*, 2011a; Mao *et al.*, 2020). Otro de los enfoques prometedores es la introgresión interespecífica de genes NAC, como el gen *SNAC1* del arroz, el cual fue transferido con éxito al trigo junto con el promotor ubiquitina de maíz (Saad *et al.*, 2013).

Ante condiciones de sequía, las plantas transgénicas resultantes presentan un incremento en los niveles de auxinas y en su transporte polar hacia las raíces, dando lugar a una mayor captación de agua debido al desarrollo del sistema radicular. También se produce una disminución del área foliar, y consecuentemente del número de estomas, y un incremento en la intensidad de su cierre, lo cual se traduce en una menor tasa de transpiración, pero que no supone una disminución del rendimiento debido al aumento del contenido en clorofila y de la movilización de nutrientes a las semillas. Además, se produce un aumento en las síntesis de enzimas oxidativas y moléculas osmoprotectoras, incrementándose la tolerancia a los estreses osmótico y oxidativo (Xue *et al.*, 2011a; Saad *et al.*, 2013; Mao *et al.*, 2020).

#### **4.8.1.3.3. Tercera estrategia: factor de transcripción TaWRKY2**

La proteína TaWRKY2 es un factor de transcripción que fue identificado en la variedad *Xifeng20*, un trigo con alta tolerancia a la sequía, el cual pertenece a la amplia familia WRKY, caracterizada por la presencia del dominio de unión a ADN “W” (Khan *et al.*, 2019).

El gen que codifica para dicho factor de transcripción, fue transferido junto con un promotor de ubiquitina mediante *Agrobacterium* al cultivar élite *Fielder*, dando lugar a trigos transgénicos que ante condiciones de sequía presentan niveles incrementados de TaWRKY2, proporcionando una tolerancia aumentada a dicho estrés debido a que este factor activa la expresión de varios genes relacionados con los estreses abióticos, tales como los genes *DREB1* y *DREB3*, los cuales codifican para unos factores de transcripción denominados elementos de unión en respuesta a la deshidratación; el gen *GST6*, que codifica para una glutatión-S-transferasa, la cual elimina las ROS; el gen *ERF5a*, que codifica para factores de respuesta a etileno; el gen *TIP2*, que codifica para las proteínas intrínsecas del tonoplasto, regulando la salida o entrada de agua y solutos de la vacuola; y el gen que codifica para el factor de transcripción WRKY19. Esto confiere al trigo modificado una mayor tolerancia, no solo al déficit hídrico, sino también a los estreses osmótico y oxidativo asociados (Niu *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2018).

Además, también se observó un aumento en el contenido de clorofila, prolina y azúcar, y un incremento del rendimiento, pues ante condiciones de sequía prolongada dicho trigo

transgénico era capaz de proseguir con el ciclo vital, sin inhibir ni el espigado, ni la antesis, lo cual en el trigo control sí tuvo lugar. Cabe destacar que, ante condiciones normales, se observó una mayor longitud de panícula, más granos por espiga y mayor biomasa aérea, lo cual indica que dicho factor proporciona un efecto aditivo para el rendimiento. (Gao *et al.*, 2018).

#### 4.8.1.3.4. Cuarta estrategia: tecnología HB4

La tecnología HB4 consiste en la transgénesis del gen *HaHB4* (*Helianthus annuus* homeobox 4), un gen del girasol (*Helianthus annuus* L.) que codifica para un factor de transcripción perteneciente a la familia de las cremalleras homeodominio-leucina I, una amplia familia de factores de unión a ADN implicados en la tolerancia a los estreses abióticos (Arce *et al.*, 2011; González *et al.*, 2019).

El girasol es un cultivo muy tolerante a la sequía, por lo que ha sido muy estudiado con el objetivo de entender sus mecanismos, descubriéndose por ello el gen *HaHB4* (Arce *et al.*, 2011). Dicho gen fue clonado, y como consecuencia sufrió una serie de mutaciones que dieron lugar al gen *HaHB4.2*, el cual tras análisis posteriores fue determinado como el más apto para la transgénesis y fue introducido en el plásmido *pIND-HB4*, junto con un promotor de ubiquitina de maíz (*Zea mays* L.) y el terminador nopalina sintasa de *A. tumefaciens*. Dicho plásmido, fue transferido mediante biobalística al cultivar *Cadenza* junto con el plásmido *pIND4-Bar*, similar al anterior, pero en vez del gen *HB4*, portaba el gen selectivo *Bar* de *Streptomyces hygroscopicus*, el cual codifica para la enzima fosfinotricina-N-acetil transferasa, capaz de inhibir el efecto del herbicida glufosinato de amonio (González *et al.*, 2019).

El trigo transgénico resultante, denominado IND-ØØ412-7 (trigo HB4<sup>®</sup>), presenta una mayor eficiencia en el uso del agua, lo cual le otorga una gran tolerancia a la sequía y un aumento del rendimiento debido al incremento del número de granos (González *et al.*, 2019). También muestra un fenotipo con alta tolerancia a la salinidad y al daño producido por los animales herbívoros, además de resistencia al herbicida antes mencionado (Ayala *et al.*, 2019). Dicho cultivar transgénico se encuentra en una fase muy avanzada, pues ya ha sido testado en ensayos de campo en Argentina, y actualmente está siendo evaluado en España (Comisión Nacional de Bioseguridad, 2017). También se ha llevado a cabo el examen de su composición nutricional, observándose que es equivalente a la del trigo no transgénico y que no presenta ningún compuesto que atañe riesgo para la salud. Esta variedad transgénica se cree que en un par de años pueda llegar al mercado, siendo por tanto la primera variedad de trigo altamente tolerante a la sequía (Ayala *et al.*, 2019).

## 5. Conclusiones

Ante el aumento de la población mundial, incrementar la productividad del trigo es una tarea primordial, pues se trata del cereal más consumido y el principal alimento para una gran parte de la población mundial. Este aumento del rendimiento se debe conseguir mediante el empleo de la mejora genética vegetal, desarrollándose variedades más resistentes a los estreses bióticos y abióticos a los que está sometido el cultivo, pues estos son causantes de pérdidas millonarias a nivel mundial cada año en términos de productividad.

Actualmente se están produciendo grandes avances con este objetivo, pero la mayoría de ellos se basan en la metodología de la mejora genética tradicional, la cual presenta ciertas limitaciones que hacen que su potencial sea menor que el de la mejora molecular avanzada, pues pese al desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, las herramientas de edición génica y las técnicas de transgénesis, que permiten el uso de una mayor amplitud de recursos genéticos y la generación de variedades más óptimas debido a su alta precisión, hoy en día es muy poco empleada como consecuencia de las restricciones legislativas presentes en la mayoría de los países, y al rechazo social hacia los OMG. Con el objetivo de alcanzar una producción de trigo suficiente para suplir la demanda mundial futura, se hace necesario el aumento del conocimiento acerca del genoma que presenta, así como sus complejas redes génicas, y el empleo de las herramientas genéticas avanzadas. Para ello, se debe producir una modificación de la legislación existente que permita el cultivo de las variedades transgénicas en la agricultura, siendo erradicadas de esta manera las trabas burocráticas y potenciando que tanto el sector público como el privado apliquen dicha tecnología al volverse económicamente rentable.

Otro aspecto importante es la brecha socioeconómica entre los países desarrollados y subdesarrollados, pues en estos últimos la agricultura es una actividad económica primordial y socialmente esencial, pero carecen de la capacidad para realizar investigaciones que involucren esta tecnología. Por ello, los investigadores de los países desarrollados deben empatizar con su situación, desarrollando las variedades transgénicas necesarias en sus territorios y hacer en la medida de lo posible que su acceso sea libre.

## REFERENCIAS

- Abbate, P. E., Cardós, M. J. y Campaña L. E. (2017) "Capítulo I: El trigo, su difusión, importancia como alimento y consumo" en Divito, G. A. y García, F. O. (eds.) *Manual del cultivo del trigo*. 1ª ed. Acaassuso: Instituto Internacional de Nutrición de Plantas, pp. 7-22.
- Arce, A. L., Raineri, J., Capella, M., Cabello, J. V. y Chan, R. L. (2011) "Uncharacterized conserved motifs outside the HD-Zip domain in HD-Zip subfamily I transcription factors; a potential source of functional diversity", *BMC Plant Biology*, 11(42). doi:10.1186/1471-2229-11-42.
- Ayala, F., Fedrigo, G. V., Burachik, M. y Miranda, P. V. (2019) "Compositional equivalence of event IND-ØØ412-7 to non-transgenic wheat", *Transgenic Research*, 28(2), pp. 165–176. doi:10.1007/s11248-019-00111-y.
- Balfourier, F., Bouchet, S., Robert, S., De Oliveira, R., Rimbart, H., Kitt, J., Choulet, F. y Paux, E. (2019) "Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity", *Science Advances*, 5(5). doi:10.1126/sciadv.aav0536.
- Borisjuk, N., Kishchenko, O., Eliby, S., Schramm, C., Anderson, P., Jatayev, S., Kurishbayev, A. y Shavrukov, Y. (2019) "Genetic modification for wheat improvement: from transgenesis to genome editing", *BioMed Research International*. doi:10.1155/2019/6216304.
- Cheng, S., Zhang, Y., Bie, T., Gao, D. y Zhang, B. (2012) "Damage of heat *Fusarium* head blight (FHB) epidemics and genetic improvement of wheat for scab resistance in China", *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 28(5), pp. 938–942.
- Chetouhi, C., Bonhomme, L., Lasserre-Zuber, P., Cambon, F., Pelletier, S., Renou, J. P. y Langin, T. (2016) "Transcriptome dynamics of a susceptible wheat upon *Fusarium* head blight reveals that molecular responses to *Fusarium graminearum* infection fit over the grain development processes", *Functional & Integrative Genomics*, 16(2), pp. 183–201. doi:10.1007/s10142-016-0476-1.
- Ciscar, J. C., Feyen, L., Soria, A., Lavalle, C., Raes, F., Perry, M., Nemry, F., Demirel, H., Rozsai, M., Dosio, A., Donatelli, M., Srivastava, A., Fumagalli, D., Niemeyer, S., Shrestha, S., Ciaian, P., Himics, M., Van Doorslaer, B., Barrios, S., Ibáñez, N., Forzieri, G., Rojas, R., Bianchi, A., Dowling, P., Camia, A., Libertà, G., San Miguel, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Barredo, J. I., Paci, D., Pycroft, J., Saveyn, B., Van Regemorter, D., Revesz, T., Vandyck, T., Vrontisi, Z., Baranzelli, C., Vandecasteele, I., Batista e Silva, F. y Ibarreta, D. (2014) *Climate Impacts in Europe-The JRC PESETA II project*. Report EUR 26586EN. Luxembourg: Publications Office of the European Union. doi:10.2791/7409.
- Comisión Nacional de Bioseguridad (2017) "Notificación B/ES/17/15, ensayo de campo con un trigo modificado genéticamente (INDØØ412-7) tolerante al estrés hídrico y resistente al glufosinato de amonio, de la empresa Iden Biotechnology ", *Acta de la 130ª reunión de la Comisión Nacional de Bioseguridad*, 18 de octubre de 2017. Madrid: Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural.
- Cuthbert, P. A., Somers, D. J. y Brulé-Babel, A. (2007) "Mapping of *Fhb2* on chromosome 6BS: a gene controlling *Fusarium* head blight field resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 114(3), pp. 429–437. doi:10.1007/s00122-006-0439-3.
- Cuthbert, P. A., Somers, D. J., Thomas, J., Cloutier, S. y Brulé-Babel, A. (2006) "Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling *Fusarium* head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 112(8), pp. 1465–1472. doi:10.1007/s00122-006-0249-7.
- Daryanto, S., Wang, L. y Jacinthe, P. A. (2016) "Global synthesis of drought effects on maize and wheat production", *PLoS One*, 11(5). doi:10.1371/journal.pone.0156362.
- Dinh, H. X., Singh, D., Periyannan, S., Park, R. F. y Pourkheirandish, M. (2020) "Molecular genetics of leaf rust resistance in wheat and barley", *Theoretical and Applied Genetics*, 133(7), pp. 2035-2050. doi:10.1007/s00122-020-03570-8.

Duba, A., Goriewa-Duba, K. y Wachowska, U. (2018) "A review of the interactions between wheat and wheat pathogens: *Zymoseptoria tritici*, *Fusarium* spp. and *Parastagonospora nodorum*", *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), pp. 1138-1159. doi:10.3390/ijms19041138.

Dunn, J., Hunt, L., Afsharinafar, M., Al Meselmani, M., Mitchell, A., Howells, R., Wallington, E., Fleming, A. J. y Gray, J. E. (2019) "Reduced stomatal density in bread wheat leads to increased water-use efficiency", *Journal of Experimental Botany*, 70(18), pp. 4737–4747. doi:10.1093/jxb/erz248.

Dwivedi, S. L., Scheben, A., Edwards, D., Spillane, C. y Ortiz, R. (2017) "Assessing and exploiting functional diversity in germplasm pools to enhance abiotic stress adaptation and yield in cereals and food legumes", *Frontiers in Plant Science*, 8(1461). doi:10.3389/fpls.2017.01461.

El Baidouri, M., Murat, F., Veyssiere, M., Molinier, M., Flores, R., Burlot, L., Alaux, M., Quesneville, H., Pont, C. y Salse, J. (2016) "Reconciling the evolutionary origin of bread wheat (*Triticum aestivum*)", *New Phytologist*, 213(3), pp. 1477-1486. doi:10.1111/nph.14113.

Eldakak, M., Das, A., Zhuang, Y., Rohila, J. S., Glover, K. y Yen, Y. (2018) "A quantitative proteomics view on the function of *Qfhb1*, a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat", *Pathogens*, 7(3), pp. 58-85. doi:10.3390/pathogens7030058.

Facette, M. R. y Smith, L. G. (2012) "Division polarity in developing stomata", *Current Opinion in Plant Biology*, 15(6), pp. 585–592. doi:10.1016/j.pbi.2012.09.013.

Fang, Y. y Xiong, L. (2015) "General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants", *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4), pp. 673–689. doi:10.1007/s00018-014-1767-0.

Fischer, T., Byerlee, D. y Edmeades, G. (2014) "Wheat" en McGillion T. y Hawkins K. (eds.) *Crop yields and global food security: will yield increase continue to feed the world?*. N° 158. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, pp. 65-133.

Food and Agriculture Organization (2018) *The impact of disasters and crises on agriculture and food Security*. Roma: Food and Agriculture Organization. ISBN: 978-92-5-130359-7.

Food and Agriculture Organization (2020) *FAOSTAT*. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (Accedido: 15 de enero de 2020).

Gao, H., Wang, Y., Xu, P. y Zhang, Z. (2018) "Overexpression of a WRKY transcription factor TaWRKY2 enhances drought stress tolerance in transgenic wheat", *Frontiers in Plant Science*, 9(997). doi:10.3389/fpls.2018.00997.

González, F. G., Capella, M., Ribichich, K. F., Curín, F., Giancomelli, J. I., Ayala, F., Watson, G., Otegui, M. E. y Chan, R. L. (2019) "Field-grown transgenic wheat expressing the sunflower gene *HaHB4* significantly outyields the wild type", *Journal of Experimental Botany*, 70(5), pp. 1669-1681. doi:10.1093/jxb/erz037.

Guérin, C., Roche, J., Allard, V., Ravel, C., Mouzeyar, S. y Bouzidi, M. F. (2019) "Genome-wide analysis, expansion and expression of the NAC family under drought and heat stresses in bread wheat (*T. Aestivum* L.)", *PLoS One*, 14(3). doi:10.1371/journal.pone.0213390.

Guo, J., Zhang, X., Hou, Y., Cai, J., Shen, X., Zhou, T., Xu, H., Ohm, H. W., Wang, H., Li, A., Han, F., Wang, H. y Kong, L. (2015) "High-density mapping of the major FHB resistance gene *Fhb7* derived from *Thinopyrum ponticum* and its pyramiding with *Fhb1* by marker-assisted selection", *Theoretical and Applied Genetics*, 128, pp. 2301–2316. doi:10.1007/s00122-015-2586-x.

Haas, M., Schreiber, M. y Mascher, M. (2019) "Domestication and crop evolution of wheat and barley: Genes, genomics, and future directions", *Journal of Integrative Plant Biology*, 61(3), pp. 204–225. doi:10.1111/jipb.12737.

Hao, Y., Rasheed, A., Zhu, Z., Wulff, B. B. H. y He, Z. (2020) "Harnessing wheat *Fhb1* for *Fusarium* resistance.", *Trends in Plant Science*, 25(1), pp. 1–3. doi:10.1016/j.tplants.2019.10.006.

Hatfield, J. L. y Beres, B. L. (2019) "Yield Gaps in Wheat: Path to Enhancing Productivity", *Frontiers in Plant Science*, 10(1603). doi:10.3389/fpls.2019.01603.

Hernández Barrera, S. (2017) *Impacto de la variabilidad y cambio climático en la productividad de trigo de invierno mediante modelos agroclimáticos*. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca.

He, Y., Zhang, Y., Ahmad, D., Wu, L., Jiang, P. y Ma, H. (2018) "Molecular characterization and expression of PFT, an FHB resistance gene at the *Fhb1* QTL in wheat", *Phytopathology*, 108(6), pp. 730–736. doi:10.1094/PHYTO-11-17-0383-R.

Hoekstra, A. Y. y Mekonnen, M. M. (2012) "The water footprint of humanity", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(9), pp. 3232–3237. doi:10.1073/pnas.1109936109.

Hu, H. y Xiong, L. (2014) "Genetic engineering and breeding of drought-resistant Crops", *Annual Review of Plant Biology*, 65(1), pp. 715–741. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-040000.

International Wheat Genome Sequencing Consortium (2014) "A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome", *Science*, 345(6194). doi:10.1126/science.1251788.

International Wheat Genome Sequencing Consortium (2018) "Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome", *Science*, 361(6403). doi:10.1126/science.aar7191.

Kamran Khan, K., Pandey, A., Athar, T., Choudhary, S., Deval, R., Gezgin, S., Hamurcu, M., Topal, A., Atmaca, E., Santos, P. A., Omay, M. R., Suslu, H., Gulcan, K., Inanc, M., Akkaya, M. S., Kahraman, A. y Thomas, G. (2020) "*Fusarium* head blight in wheat: contemporary status and molecular approaches", *3 Biotech*, 10(4), pp. 172–189. doi:10.1007/s13205-020-2158-x.

Keller, B., Wicker, T. y Krattinger, S. G. (2018) "Advances in wheat and pathogen genomics: implications for disease control", *Annual Review of Phytopathology*. Annual Reviews, 56(1), pp. 67–87. doi:10.1146/annurev-phyto-080516-035419.

Khan, S., Anwar, S., Yu, S., Sun, M., Yang, Z. y Gao, Z. Q. (2019) "Development of drought-tolerant transgenic wheat: Achievements and limitations", *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13). doi:10.3390/ijms20133350.

Koch, A., Biedenkopf, D., Furch, A., Weber, L., Rossbach, O., Abdellatef, E., Linicus, L., Johannsmeier, J., Jelonek, L., Goesmann, A., Cardoza, V., McMillan, J., Mentzel, T. y Kogel, H. (2016) "An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery" *PLoS Pathogens*, 12(10). doi:10.1371/journal.ppat.1005901.

Koch, A., Kumar, N., Weber, L., Keller, H., Imani, J. y Kogel, K. H. (2013) "Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterol C14 $\alpha$ -demethylase-encoding genes confers strong resistance to *Fusarium* species", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(48), pp. 19324–19329. doi:10.1073/pnas.1306373110.

Koch, A., Schlemmer, T., Höfle, T., Werner, B. T., Preuber, C., Hardt, M., Möbus, A., Biedenkopf, D., Claar, M., Perlet, C., Jelonek, L., Goesmann, A., Garikapati, V., Spengler, B., Busche, T. y Kalinowski, J. (en prensa) "Host-induced gene silencing involves transfer of dsRNA-derived siRNA via extracellular vesicles", *bioRxiv*. doi:10.1101/2020.02.12.945154.

Koch, A., Stein, E. y Kogel, K. H. (2018) "RNA-based disease control as a complementary measure to fight *Fusarium* fungi through silencing of the azole target Cytochrome P450 Lanosterol C-14  $\alpha$ -Demethylase", *European Journal of Plant Pathology*, 152, pp. 1003-1010. doi:10.1007/s10658-018-1518-4.

Kumar Singh, A., Singh, N., Kumar, S., Kumari, J., Singh, R., Gaba, S., Yadav, M. C., Grover, M., Chaurasia, S. y Kumar, R. (2020) "Identification and evolutionary analysis of polycistronic miRNA clusters in domesticated and wild wheat", *Genomics*, 112(3), pp. 2334-2348. doi:10.1016/j.ygeno.2020.01.005.

Lagudah, E. S. y Krattinger, S. G. (2019) "A new player contributing to durable *Fusarium* resistance", *Nature Genetics*, 51(7), pp. 1070-1071. doi:10.1038/s41588-019-0454-3.

Lawlor, D. W. (2013) "Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities", *Journal of Experimental Botany*, 64(19), pp. 83–108. doi:10.1093/jxb/ers326.

Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E. y Luis, M. (eds.) (2010) *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. 2.<sup>a</sup> ed. Argetina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Li, G., Zhou, J., Jia, H., Jia, h., Gao, Z., Fan, M., Luo, Y., Zhao, P., Xue., S., Li, N., Yuan., Y., Ma, S., Kong, Z., Jia, L., An, X., Jiang, G., Liu, W., Cao, W., Zhang, R., Fan, J., Xu, X., Liu, Y., Kong, Q., Zheng, S., Wang, Y., Qin, B., Cao, S., Ding, Y., Shi, J., Yan., H., Wang, X., Ran, C. y Ma, Z. (2019a) "Mutation of a histidine-rich calcium-binding-protein gene in wheat confers resistance to *Fusarium* head blight", *Nature Genetics*, 51(7), pp. 1106–1112. doi:10.1038/s41588-019-0426-7.

Li, W., Zhang, Q., Wang, S., Langham, M. A., Singh, D., Bowden, R. L. y Xu, S. S. (2019b) "Development and characterization of wheat–sea wheatgrass (*Thinopyrum junceiforme*) amphiploids for biotic stress resistance and abiotic stress tolerance", *Theoretical and Applied Genetics*, 132(1), pp. 163–175. doi:10.1007/s00122-018-3205-4.

Liu, S., Zhang, X., Pumphrey, M. O., Stack, R. W., Gill, B. S. y Anderson, J. A. (2006) "Complex microcolinearity among wheat, rice, and barley revealed by fine mapping of the genomic region harboring a major QTL for resistance to *Fusarium* head blight in wheat", *Functional & Integrative Genomics*, 6(2), pp. 83–89. doi:10.1007/s10142-005-0007.

Lobell, D. B., Cassman, K. G. y Field, C. B. (2009) "Crop yield gaps: their importance, magnitudes, and causes", *Annual Review of Environment Resources*, 34(1), pp. 179-204. doi:10.1146/annurev.enviro.041008.093740.

Luo, L. J. (2010) "Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China", *Journal of Experimental Botany*, 61(13), pp. 3509–3517. doi:10.1093/jxb/erq185.

Mandalà, G., Tundo, S., Francesconi, S., Gevi, F., Zolla, L., Ceoloni, C. y D'Ovidio, R. (2019) "Deoxynivalenol Detoxification in Transgenic Wheat Confers Resistance to *Fusarium* Head Blight and Crown Rot Diseases", *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 32(5), pp. 583–592. doi:10.1094/MPMI-06-18-0155-R.

Mao, H., Li, S., Wang, Z., Cheng, X., Li, F., Mei, F., Chen, N. y Kang, Z. (2020) "Regulatory changes in TaSNAC8-6A are associated with drought tolerance in wheat seedlings", *Plant Biotechnology Journal*, 18(4), pp. 1078–1092. doi:10.1111/pbi.13277.

Marcussen, T., Sandve, S. R., Heier, L., Pfeifer, M., Kugler, K. G., Zhan, B., Spannagl, M., Pfeifer, M., Jakobsen, K. S., Wulff, B. B. H., Steuernagel, B. y Olsen, O. A. (2014) "Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat", *Science*, 345(6194), pp. 1250092. doi: 10.1126/science.1250092.

Mattera, M. G. (2017) *Introgresión de *Hordeum chilense* en trigo para la mejora del contenido de pigmentos carotenoides en grano*. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba.

McGoverin, C. M., Snyders, F., Muller, N., Botes, W., Fox, G. y Manley, M. J. (2011) "A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality", *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 91(7), pp. 1155-65. doi:10.1002/jsfa.4338.

Messmer, M., Wilbois, K., Baier, C., Schäfer, F., Arneken, C., Drexler, D. y Hildermann, I. (2015) *Técnicas de Mejora Vegetal. Una valoración desde la Agricultura Ecológica*. 2.<sup>a</sup> ed. Alemania: Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL).

Mitchell, C., Brennan, R. M., Graham, J., y Karley, A. J. (2016) "Plant Defense against Herbivorous Pests: Exploiting Resistance and Tolerance Traits for Sustainable Crop Protection", *Frontiers in Plant Science*, 7(1132). doi: 10.3389/fpls.2016.01132.

Niu, C. F., Wei, W., Zhou, Q. Y., Tian, A. G., Hao, Y. J., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q., Zhang, Z. B., Zhang, J. S. y Chen, S. Y. (2012) "Wheat WRKY genes TaWRKY2 and TaWRKY19 regulate abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants", *Plant, Cell & Environment*, 35(6), pp. 1156–1170. doi:10.1111/j.1365-3040.2012.02480.x.



Olmstead, L. y Rhode, P. W. (2011) "Adapting North American wheat production to climate challenges, 1839-2009", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(2), pp. 480-485. doi: 10.1073/pnas.1008279108.

Parlamento Europeo (2001) "Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de marzo de 2001 sobre la liberación intencional en el medio ambiente organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE del Consejo", *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, serie L 106/1, 17 de abril de 2001, pp. 1-39.

Pascual, L., Ruiz, M., López-Fernández, M., Pérez-Peña, H., Benavente, E., Vázquez, J. F., Sansaloni, C. y Giraldo, P. (2020) "Genomic analysis of Spanish wheat landraces reveals their variability and potential for breeding", *BMC Genomics*, 21(1), pp. 122. doi:10.1186/s12864-020-6536-x.

Perochon, A., Váry, Z., Malla, K. B., Halford, N. G., Paul, M. J. y Doohan, F. M. (2019) "The wheat SnRK1 $\alpha$  family and its contribution to *Fusarium* toxin tolerance", *Plant Science*. doi:10.1016/j.plantsci.2019.110217.

Qi, L. L., Pumphrey, M. O., Friebe, B., Chen, P. D. y Gill, B. S. (2008) "Molecular cytogenetic characterization of alien introgressions with gene *Fhb3* for resistance to *Fusarium* head blight disease of wheat", *Theoretical and Applied Genetics*, 117(7), pp. 1155–1166. doi:10.1007/s00122-008-0853-9.

Rasheed, A., Mujeeb-Kazi, A., Ogonnaya, F. C., He, Z. y Rajaram, S. (2018) "Wheat genetic resources in the post-genomics era: Promise and challenges", *Annals of Botany*, 121(4), pp. 603–616. doi:10.1093/aob/mcx148.

Rawat, N., Pumphrey, M. O., Liu, S., Zhang, X., Tiwari, V. K., Ando, K., Trick, H. N., Bockus, W. W., Akhunov, E., Anderson, J. A. y Gill, B. S. (2016) "Wheat *Fhb1* encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to *Fusarium* head blight", *Nature Genetics*, 48(12), pp. 1576-1580. doi:10.1038/ng.3706.

Saad, A. S. I., Li, X., Li, H. P., Huang, T., Gao, C. S., Guo, M. W., Cheng, W., Zhao, G. Y. y Liao, Y. C. (2013) "A rice stress-responsive *NAC* gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses", *Plant Science*, 203–204, pp. 33–40. doi:10.1016/j.plantsci.2012.12.016.

Sallam, A., Alqudah, A. M., Dawood, M. F. A., Baenziger, P. S. y Börner, A. (2019) "Drought stress tolerance in wheat and barley: Advances in physiology, breeding and genetics research", *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13). doi:10.3390/ijms20133137.

Senapati, N. y Semenov, M. A. (2020) "Large genetic yield potential and genetic yield gap estimated for wheat in Europe", *Global Food Security*, 24. doi:10.1016/j.gfs.2019.100340.

Shao, H., Wang, H. y Tang, X. (2015) "NAC transcription factors in plant multiple abiotic stress responses: progress and prospects", *Frontiers in Plant Science*, 6(902). doi:10.3389/fpls.2015.00902.

Shewry, P. R. (2009) "Wheat", *Journal of Experimental Botany*, 60(6), pp. 1537–1553. doi:10.1093/jxb/erp058.

Singh, R. P., Singh, P. K., Rutkoski, J., Hodson, D. P., He, X., Jorgensen, L. N., Hovmoller, M. S. y Huerta-Espino, J. (2016) "Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control", *Annual Review of Phytopathology*, 54, pp. 303-322. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-095835.

Sivasankar, S., Williams, R. W., y Greene, T. W. (2012) "Abiotic stress tolerance in plants: an industry perspective" en Tuteja, N., Singh Gill, S., Tiburcio, A.F. y Tuteja, R. (eds.) *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*. Weinheim, Germany: Wiley-Blackwell, Vol. 1, pp. 27-47.

Stokstad, E. (2020) "Help for a wheat fungal disease comes from a surprising source", *Science*, 368(6487), pp. 122. doi:10.1126/science.368.6487.122.

Stout, M. J. (2013) "Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance", *Insect Science*, 20(3), pp. 263-272. doi:10.1111/1744-7917.12011.

Su, Z., Bernardo, A., Tian, B., Chen, H., Wang, S., Ma, H., Cai, S., Liu, D., Zhang, D., Li, T., Trick, H., Amand, P., Yu, J., Zhang, Z. y Bai, G. (2019) "A deletion mutation in TaHRC confers *Fhb1* resistance to *Fusarium* head blight in wheat", *Nature Genetics*, 51(7), pp. 1099-1105. doi:10.1038/s41588-019-0425-8.

United States Department of Agriculture (2020) *Food Data Central*. Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/download-datasets.html> (Accedido: 23 de enero de 2020).

Van Ittersum, M. K., Cassman, K. G., Grassini, P., Wolf, J., Tittone, P. y Hochman, Z. (2013) "Yield gap analysis with local to global relevance-A review", *Field Crops Research*, 143, pp. 4-17. doi:10.1016/j.fcr.2012.09.009.

Wang, J., Luo, M. C., Chen, Z., You, F. M., Wei, Y., Zheng, Y. y Dvorak, J. (2013) "Aegilops tauschii single nucleotide polymorphisms shed light on the origins of wheat D-genome genetic diversity and pinpoint the geographic origin of hexaploid wheat", *New Phytologist*, 198(3), pp. 925-937. doi:10.1111/nph.12164.

Wang, H., Sun, S., Ge, W., Zhao, L., Hou, B., Wang, K., Lyu, Z., Chen, L., Xu, S., Guo, J., Li, M., Su P., Li, X., Wang, G., Bo, C., Fang, X., Zhuang, W., Cheng, X., Wu, J., Dong, Luhao, D., Chen, W., Li, W., Xiao, G., Zhao, J., Hao, Y., Xu, Y., Gao, Y., Liu, W., Liu, Y., Yin, H., Li, J., Li, X., Zhao, Y., Wang, X., Ni, F., Ma, X., Li, A., Xu, S. S., Bai, G., Nevo, E., Gao, C., Ohm, H. y Kong, L. (2020) "Horizontal gene transfer of *Fhb7* from fungus underlies *Fusarium* head blight resistance in wheat", *Science*, 368(844). doi:10.1126/science.aba5435.

Wulff, B. B. H. y Dhugga, K. S. (2018) "Wheat—the cereal abandoned by GM", *Science*, 361(6401), pp. 451-452. doi: 10.1126/science.aat5119.

Wulff, B. B. H. y Moscou, M. J. (2014) "Strategies for transferring resistance into wheat: From wide crosses to GM cassettes", *Frontiers in Plant Science*, 5(692). doi:10.3389/fpls.2014.00692.

Xu, X. y Nicholson, P. (2009) "Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight", *Annual Review of Phytopathology*, 47, pp. 83-103. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081737.

Xue, G. P., Way, H. M., Richardson, T., Drenth, J., Joyce, P. A. y McIntyre, C. L. (2011a) "Overexpression of TaNAC69 leads to enhanced transcript levels of stress up-regulated genes and dehydration tolerance in bread wheat", *Molecular Plant*, 4(4) pp. 697-712. doi:10.1093/mp/ssr013.

Xue, S., Li, G., Jia, H., Xu, F., Lin, F., Tang, M., Wang, Y., An, X., Xu, H., Zhang, L., Kong, Z. y Ma, Z. (2010) "Fine mapping *Fhb4*, a major QTL conditioning resistance to *Fusarium* infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 121(1), pp 147-156. doi:10.1007/s00122-010-1298-5.

Xue, S., Xu, F., Tang, M., Zhou, Y., Li, G., An, X., Lin, F., Xu, H., Jia, H. y Zhang, L. (2011b) "Precise mapping *Fhb5*, a major QTL conditioning resistance to *Fusarium* infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 123(6), pp. 1055-1063. doi:10.1007/s00122-011-1647-z.

Zhao, M., Wang, G., Leng, Y., Wanjugi, H., Xi, P., Grosz, M. D., Mergoum, M. y Zhong, S. (2018) "Molecular mapping of *Fusarium* head blight resistance in the spring wheat line ND2710", *Phytopathology*, 108(8), pp. 972-979. doi:10.1094/PHYTO-12-17-0392-R.

Zhu, Z., Chen, L., Zhang, W., Yang, L., Zhu, W., Li, J., Liu, Y., Tong, H., Fu, L., Liu, J., Rasheed, A., Xia, X., He, Z., Hao, Y. y Gao, C. (2020) "Genome-wide association analysis of *Fusarium* head blight resistance in chinese elite wheat lines", *Frontiers in Plant Science*, 11(206). doi:10.3389/fpls.2020.00206.

Zoulias, N., Harrison, E. L., Casson, S. A. y Gray, J. E. (2018) "Molecular control of stomatal development", *The Biochemical Journal*, 475(2), pp. 441-454. doi:10.1042/BCJ20170413.



Fdo.: Francisco Paniagua Gallego