

6
B

ROSA RESISTENTE AL MILDIU POLVOROSO

Descripción

La presente invención se relaciona con plantas de rosa como rosas cortadas, rosas de jardín, rosas de maceta y rizomas de rosa que comprenden por lo menos dos efectos que proporcionan resistencia a un patógeno causante del mildiu polvoroso. Específicamente, la presente invención se relaciona con plantas de rosa resistentes al patógeno causante del mildiu polvoroso *Podosphaera pannosa* también conocido como *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. La presente invención además se relaciona con métodos para seleccionar las presentes plantas de rosa con mildiu polvoroso.

El mildiu polvoroso (PM) es una grave enfermedad foliar que ataca a las rosas cortadas, de maceta y de jardín y es causada por el ascomiceto biotrófico obligado *Podosphaera pannosa* también conocido como *Sphaerotheca pannosa*. Los síntomas de la infección de mildiu polvoroso incluyen retardo de crecimiento de las plantas y deformación de las hoja debida a la formación de conidios blancos pulverulentos que aparecen sobre las superficies de la planta como hojas, flores, tallos y capullos. No existen cifras oficiales de las pérdidas de producción de rosas como resultado del mildiu polvoroso, pero el control del mildiu polvoroso en tres grandes cultivos de invernadero, cohombro, tomate y rosa, cuesta C\$6.000/hectárea en Canadá.

La enfermedad del mildiu polvoroso puede ser controlada con sustancias químicas, pero el uso de fungicidas es costoso, laborioso y dañino para el ambiente. Los gobiernos de todo el mundo están imponiendo regulaciones cada vez más estrictas al uso de sustancias químicas en horticultura, lo cual, en combinación con los factores arriba mencionados, significa que desarrollar variedades de rosa resistentes al mildiu polvoroso resulta fundamental para el manejo y la prevención de las pérdidas financieras debidas a brotes de mildiu polvoroso.

Aunque el patógeno *Podosphaera pannosa* es capaz de infectar una amplia gama de huéspedes, incluidos *Prunus cerasus* y *Prunus avium*, la interacción entre la *Podosphaera pannosa* y la rosa se caracteriza por un alto grado de especificidad. Por ejemplo, se describieron varios patotipos del hongo hace medio siglo y en época más reciente un ensayo que examinó la compatibilidad entre 8 aislados monoconidiales y 18 genotipos de huésped reveló un elevado nivel de especificidad y diversidad racial.

Las rosas cortadas son susceptibles al mildiu polvoroso (MP). Con el fin de cultivar rosas cortadas resistentes al MP existe la necesidad de identificar los genes de la resistencia. Varias publicaciones han mostrado evidencia de una base genética para la resistencia al mildiu polvoroso en el genus *Rosa*, en donde la resistencia varía de resistencia cualitativa a cuantitativa. Con todo, las rosas cortadas comercialmente importantes (*Rosa hybrida*) suelen ser tetraploides y los loci de rasgo cuantitativo (QTL) para la resistencia al mildiu

polvoroso han sido demostrados en su mayor parte en especies o variedades distintas de la *Rosa hybrida*.

Por ejemplo, con el uso de una población diploide de *Rosa multiflora* híbrida BC1 (n=117) obtenida mediante el cruce de una línea resistente (88/124-46) con una línea susceptible (82/78-1) y el cruce retrógrado del híbrido F1 95/13-90 con 82/78-1, se encontró que el gen Rppl es un gen de efecto mayor sobre el grupo de enlace 3 que confiere resistencia al MP hasta 10 días después de la inoculación con un modo de acción monogénico dominante. Usando una población diploide diferente de *R. multiflora* híbrida F1 (n=270) obtenida mediante el cruce de una línea resistente (95/13-39) con una línea susceptible (Sp3 o 82/78-1) del mismo programa de reproducción polinizado abierto que pretendía introgresar genes de rosas de jardín tetraploides dentro de *Rosa multiflora*, los QTL fueron cartografiados para la resistencia en seis ambientes diferentes. En total, se encontraron 28 QTL diferentes sobre los grupos de enlace 1, 2, 3, 4, 6 y 7, con una fuerte aglomeración de QTL sobre los grupos de enlace 3 y 4, lo cual es un indicativo absoluto de una mecanismo de resistencia poligénico. Una proporción sustancial de la variación fenotípica observada para la resistencia (31) fue heredada del progenitor susceptible, y es interesante anotar que el efecto arriba mencionado del gen Rppl no se demostró en esta población.

En un cruce diploide (n=90) entre la variedad de cultivo de rosa "Yesterday" y *Rosa wichurana* se encontraron 9 QTL para resistencia hasta 10 días post inoculación contra 2 razas sobre los grupos de enlace 2, 3, 5 y 6, cada uno de los cuales explica entre 15% y 74% de la variación fenotípica. De los 9 QTL, solo uno fue detectado usando las dos razas. Aunque la mayoría de los alelos de resistencia tuvo su origen en la *Rosa wichurana*, los dos progenitores contribuyeron a la variación de la resistencia.

El único ejemplo de resistencia que proporciona QTL en rosas cortadas tetraploides, los tallos de la población K5, se obtuvo una población F1 mediante el cruce de dos variedades de cultivo: P540 y P867, ambas las cuales eran solo parcialmente resistentes. Se usaron dos aislados monospóricos diferentes del hongo, y la resistencia se calificó usando tres puntuaciones de enfermedad diferentes: Puntuación de enfermedad 11 días post inoculación (dpi), periodo de latencia y tasa de desarrollo de síntomas. Para cada una de las tres puntuaciones de enfermedad, se demostró que entre 16 y 28 marcadores, que cubrieron los 7 grupos de enlace, estaban asociados con el mildiu polvoroso, aunque no se da un soporte estadístico exacto. Aunque varios de marcadores fueron asociados con diferentes puntuaciones de enfermedad, ninguno de los marcadores fue detectado para los dos aislados. Entonces se llevaron a cabo múltiples regresiones para cada una de las seis combinaciones de aislado y puntuación de enfermedad, usando 4 o 5 de los marcadores más significativos. La variación fenotípica explicada por las múltiples regresiones fluctuó entre 10,4 y 22,3%, lo cual indica que la resistencia en este cruce es cuantitativa y controlada por múltiples efectos cada uno de los cuales tiene apenas un efecto menor.

Así las cosas, aunque varios estudios han publicado QTL para resistencia al mildiu polvoroso en la rosa, un tema dominante es que existe poca coherencia y acuerdo entre los resultados publicados. Por ejemplo, la resistencia varió de monogénica a cuantitativa. Adicionalmente, no se compartieron QTL entre estudios, lo cual hace pensar que podría haber heterogeneidad en los mecanismos genético que subyacen el reconocimiento de proteínas de los hongos y por ende resistencia al mildiu polvoroso. En parte esta heterogeneidad podría ser el resultado de la diversidad genética entre e incluso dentro de aislados, lo cual, en combinación con el hipotético modelo de interacción gen por gen explica que las localizaciones y tamaños de efecto de QTL pueden depender del aislado empleado. Como alternativa, la ausencia de confirmación pone en duda la solidez de las conclusiones extraídas, ya sea debido al a menudo reducido tamaño de la muestra, la baja cobertura de marcadores, o una combinación de los anteriores. Una población diploide F1 de *Rosa roxburghii* (cv. Guinong no. 6 x cv. Guinong no. 5) fue evaluada bajo presiones naturales de enfermedad, 4 análogos de efecto de resistencia (RGA) que no pudieron ser asignados a un grupo de enlace fueron asociados con CRPM1, un locus R principal, el cual no fue asignado a un LG, explicando 72% de la variación fenotípica en la resistencia al mildiu polvoroso.

La resistencia basada en el locus de resistencia al mildiu (MLO) se identificó primero en la cebada (*Hordeum vulgare*) como un alelo recesivo que proporciona resistencia duradera contra todos los mildius (*Blumeria graminis* f. sp. horde) aislados. La resistencia basada en el MLO no es peculiar de la cebada por cuanto desde ese entonces se han descubierto ortólogos del MLO en muchos otros géneros de plantas como *Pisum*, *Arabidopsis* y *Solanum*, en donde se ha demostrado que las mutaciones de pérdida de la función de los genes de MLO conduce a resistencia de amplio espectro al mildiu polvoroso. La familia de las proteínas del MLO consta de 7 clados, y aunque extendida en plantas terrestres, la función de la mayoría de los genes de MLO es desconocida, y todos los genes de MLO de los que se ha demostrado que están asociado con la resistencia al mildiu polvoroso se encuentran en el Clado V. En la manzana (*Malus domestica*), un miembro de la familia de las rosáceas, de 21 genes de MLO solo tres homólogos de MLO, dos de los cuales pertenecían al clado V, se regularon hacia arriba después de la infección con mildiu polvoroso. Esto hace pensar que la detección de homólogos de MLO por sí sola no basta para identificar un gen que va a estar involucrado en la resistencia al mildiu polvoroso.

Sin embargo, a pesar de su durabilidad, la resistencia basada en MLO suele tener efectos nocivos pleotrópicos como manchas necróticas de las hojas y reducción del vigor, imponiendo de esta suerte barreras a la hora de diseñar una estrategia de reproducción. En la rosa (híbridos diploides de *Rosa multiflora* y *Rosa hybrida* tetraploide cv. Pariser Charme) se han identificado cuatro genes de MLO, designados como RhMLO 1 a 4, han identificado con base en su homología de secuencia a secuencias bien caracterizadas obtenidas en la cebada y *Arabidopsis*). Cada gen albergó entre dos y seis alelos, constó de 15 exones, y la longitud total de la secuencia de codificación en todos los casos fue de

9
8

aproximadamente 1.700 bp. Los genes de MLO se distribuyeron en varios grupos de enlace, con aglomeración rhML03 y rhML04 junto on LG1 (entre 40 y 45 cM), se encontró rhML02 sobre LG3(cerca de 35 cM) y rhMLOI alrededor de 60 cM en LG5.

En la actualidad no se conocen mutantes de pérdida de función en la rosa, pero se demostró que los cuatro homólogos de MLO pertenecen al clado V, el único clado del cual se sabe que los genes de MLO pueden desempeñar un papel en la resistencia al MP. Solo uno de los cuatro genes de MLO encontrados en la rosa ha sido vinculado funcionalmente a la resistencia al mildiu polvoroso como transformación de la *Rosa multiflora* "Baiyu" en donde el rhMLO1 no codificador les da a las plantas niveles aumentados de resistencia (pero no absolutos) al mildiu polvoroso (hasta 15 días post inoculación) comparadas con las plantas de control no transgénicas.

Teniendo en consideración lo anterior, existe la necesidad en el estado de la técnica de más genes que confieran resistencia al mildiu polvoroso. Uno de los objetos de la presente invención, entre otros, es satisfacer la necesidad mencionada del estado de la técnica.

De acuerdo con la presente invención, el anterior objeto, entre otros objetos, es satisfecho al proporcionar plantas de rosa como las que se describen en las reivindicaciones que se anexan.

Específicamente, el anterior objeto, entre otros objetos, se logra al proporcionar plantas de rosa que son resistentes al mildiu polvoroso y que comprenden en su genoma nuclear por lo menos una secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID No. 1 y por lo menos una secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID No. 2 que se caracteriza porque la presencia combinada de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 en el mencionado genoma nuclear proporciona resistencia al mildiu polvoroso.

Los presentes inventores han encontrado de forma sorprendente que la combinación de la SEQ ID No. 1 y la SEQ ID No. 2 proporciona una fuerte resistencia al mildiu polvoroso. De acuerdo con la invención, es esencial que los dos genes de la resistencia se combinen porque la SEQ ID No. 1 en ausencia de la SEQ ID No. 2 no proporciona resistencia detectable al mildiu polvoroso en la rosa en tanto que la SEQ ID No. 2 en ausencia de la SEQ ID No. 1 proporciona resistencia menor al mildiu polvoroso. Los presentes inventores además han descubierto de forma sorprendente que los presentes genes de la resistencia son genes dominantes, es decir, la presencia de una única copia de los dos genes basta para conferir resistencia al mildiu polvoroso.

De acuerdo con una modalidad preferida, la presente invención se relaciona con resistencia al mildiu polvoroso contra el ascomiceto patógeno de las plantas *Podosphaera pannosa* también conocido como *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. En la rosa, el ascomiceto patógeno de las plantas *Podosphaera pannosa* es el principal patógeno causante del mildiu polvoroso.

De acuerdo con otra modalidad preferida, las presentes plantas de rosa son plantas de *Rosa hybrida* y el presente genoma nuclear es un genoma tetraploide. Especialmente en

10
21

genomas multiploides como los genomas diploides, triploides, tetraploides, hexaploides u octaploides, la disponibilidad de genes dominantes de la resistencia al mildiu polvoroso ofrece una gran ventaja que evita una multitud de fenotipos intermedios del mildiu polvoroso dependiendo del número de copias de los genes de la resistencia presentes. Los presentes genomas multiploides como genomas triploides, tetraploides, hexaploides u octaploides pueden ser obtenidos de manera adecuada directa o indirectamente a través de la duplicación del genoma que comprende las SEQ ID Nos. 1 y 2. Por ejemplo, un genoma tetraploide, hexaploide y octaploide puede ser fácilmente obtenido de un genoma diploide que comprende las SEQ ID Nos. 1 y 2 y un genoma hexaploide también puede ser obtenido por duplicación del genoma de una planta triploide.

De acuerdo con otra modalidad preferida adicional, la presente invención se relaciona con plantas de rosa resistentes al mildiu polvoroso que comprenden en su genoma nuclear por lo menos una, de preferencia dos, más de preferencia tres, aún más de preferencia cuatro, secuencias de nucleótidos representadas por la SEQ ID No. 1 como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide y/o por lo menos una, de preferencia dos, más de preferencia tres, aún más de preferencia cuatro, secuencias de nucleótidos representadas por la SEQ ID No. 2, como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide.

De acuerdo con todavía otra modalidad preferida, la presente invención se relaciona con plantas de rosa resistentes al mildiu polvoroso que comprenden en su genoma nuclear por lo menos una, de preferencia tres, más de preferencia cuatro, secuencias de nucleótidos, como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide, representadas por la SEQ ID No. 1 o por lo menos una, de preferencia dos, más de preferencia tres y aún más de preferencia cuatro, secuencias de nucleótidos representadas por la SEQ ID No. 2 como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide.

De acuerdo con todavía otra modalidad preferida, la presente invención se relaciona con plantas de rosa resistentes al mildiu polvoroso que comprenden en su genoma nuclear por lo menos una, de preferencia dos, más de preferencia tres y aún más de preferencia cuatro secuencias de nucleótidos representadas por la SEQ ID No. 1, como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide y por lo menos una, de preferencia dos, más de preferencia tres y todavía más de preferencia cuatro secuencias de nucleótidos representadas por la SEQ ID No. 2, como 2, 3, 4, 5 o 6 en el caso de un genoma hexaploide o como 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 en el caso de un genoma octaploide.

De acuerdo con una modalidad especialmente preferida, las presentes plantas de rosa resistentes al mildiu polvoroso se seleccionan de entre el grupo compuesto por rosas

11
10

cortadas, rosas de maceta, rizomas de rosa y rosas de jardín, de preferencia rosas cortadas.

De acuerdo con todavía otra modalidad especialmente preferida, las presentes plantas de rosa resistentes al mildiu polvoroso exhiben un fenotipo dominante.

Considerando las propiedades beneficiosas de la resistencia al mildiu polvoroso arriba descrita proporcionada por un gen epistático sinérgico entre dos genes dominantes, la presente invención además se relaciona con métodos para seleccionar una planta de rosa resistente al mildiu polvoroso como se definió arriba, el cual método comprende las etapas de:

- a) aislar el ADN genómico nuclear de una planta de rosa;
- b) establecer la presencia de la SEQ ID No. 1 y la SEQ ID No. 2 en el ADN genómico nuclear aislado;
- c) establecer el fenotipo del mildiu polvoroso de la mencionada planta de rosa que se caracteriza porque la presencia de la SEQ ID No. 1 y la SEQ ID No. 2 indica un fenotipo resistente al mildiu polvoroso.

La presente invención se detallará aún más en el siguiente ejemplo. En los ejemplos se hace referencia a figuras que se caracterizan porque: la Figura 1 muestra un diagrama de cajas que presenta los genes de los alelos de resistencia SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 por separado y en tándem. La presencia del alelo de resistencia es indicada por un "+" y la ausencia del alelo de resistencia es mostrada por el signo "-". Las plantas que tienen los dos alelos de resistencia son altamente resistentes;

La Figura 2 muestra el número de copias de la SEQ ID No. 1 y la SEQ ID No. 2 requeridas para proporcionar la presente resistencia al mildiu polvoroso en las plantas de rosa.

Ejemplo

Introducción

Aquí investigamos el número, los tamaños de efecto y las posiciones genéticas de QTL que subyacen la resistencia al MP en una población tetraploide de rosa F1 (*Rosa hybrida*). Presentamos nuestros hallazgos que muestran un claro y grande efecto QTL sobre el grupo de enlace 1 y el grupo de enlace 5 que explica 20% y 90% de la variación fenotípica en la resistencia al MP respectivamente. También demostramos que el efecto del QTL solo se observa cuando los alelos de resistencia en ambos QTL están presentes, por cuanto las plantas que albergan alelos de resistencia en los dos QTL son altamente resistente hasta 15 semanas post inoculación, en tanto que las plantas con solo uno o ningún alelo de resistencia desarrollan síntomas de MP dentro de este marco temporal.

Método

12
A

Una población tetraploide F1 de *Rosa hybrida* fue creada polinizando a mano las rosas tetraploides cortadas RS-1183 ("Avalanche", en lo sucesivo denominada PI) con polen de una rosa de jardín tetraploide. Uno de los descendientes F1 resultantes fue autopolinizado para crear una población F2. Los progenitores, 235 descendientes F1 y 42 plantas F2 fueron tamizadas para detectar la resistencia contra MP (*Podosphaera pannosa*). El aislado se aisló originalmente de rosas infectadas en un invernadero de horticultura, y el inóculo se obtuvo de un ensayo previo de MP. La inoculación se realizó en un diseño de bloques, y seis esquejes de cada variedad fueron asignados al azar a 6 bloques. El bioanálisis se llevó a cabo en condiciones de día largo con temperaturas de 20°C y 23°C para la noche y el día respectivamente. La humedad relativa alternó entre 60% durante el día y 85% por la noche. Para cada planta de la población F1 los niveles de infección se calificaron 1, 3, 6, 9, 12 y 15 semanas post infección, para cada planta de la población F2 los niveles de infección fueron calificados 6 y 12 semanas post infección, y los niveles de infección de las plantas de las dos poblaciones fueron calificados en una escala de entre 1 y 9, en donde 1 representa los individuos susceptibles y 9 representa los individuos totalmente resistentes.

Todas las plantas fueron genotipificadas usando el organizador WagRhSNP Axiom SNP. Este chip contiene 68.893 SNP que son enfocadas por dos sondas desde cada dirección. El control de calidad se hizo usando el paquete R FitPoly y se retuvieron 67.779 marcadores para 51.685 SNP. Después de eliminar los SNP con más de 5% de datos faltantes quedaron 42.143 marcadores. Un total de 232 individuos F1 fueron genotipificados con éxito, 3 de los cuales fueron eliminados porque eran valores genéticos atípicos, y uno porque carecía de datos fenotípicos. El control de calidad adicional se realizó verificando la reproducibilidad de los genotipos de los progenitores, segregación no esperada, valores atípicos genotípicos, marcadores descentrados y alelos nulos así como diferencias entre placas.

Un mapa genético obtenido previamente (usando la población K5) se usó para cartografiar estos SNP correlacionados con el grupo de enlace (LG) y la posición genética. Todos los SNP asociados segregados siguiendo un escenario en el cual el progenitor resistente fue simplex y el progenitor susceptible fue nulliplex. Para cromosomas en los cuales se encontraron QTL, se construyeron mapas de enlace en JoinMap usando marcadores que fueron simplex en P2 y nulliplex en PI, y se hicieron análisis de QTL en MapQTL.

Para cada región genómica que se asoció significativamente con resistencia al MP, se designaron cebadores KASP dirigidos a los SNP asociados más significativamente así como un SNP a cada lado. Los cebadores KASP fueron designados usando las secuencias de flanqueo de las sondas que se dirigen a los SNP asociados en el organizador WagRhSNP Axiom SNP.

Los progenitores y un total de 48 plantas F1 seleccionadas al azar fueron genotipificadas en todos los SNP usando ensayos KASP. Los genotipos fueron calificados como el

13
12

número de alelos de resistencia albergados por un individuo. Como el progenitor resistente tenía una copia del alelo de resistencia en cada SMP asociado y el progenitor susceptible tenía cero, la dosificación del genotipo en F1 se limitó a 0 (nulliplex para el alelo de resistencia) y 1 (simplex para el alelo de resistencia).

Resultados

Un total de 267 marcadores tuvo una correlación con resistencia al MP de $>0,35$. Todos los marcadores altamente correlacionados se encontraron sobre el grupo de enlace 1 y 5 sobre el mapa genético obtenido usando la población K5. Para los marcadores que fueron incluidos en nuestro mapa genético así como el mapa obtenido usando la población K5, el orden se conservó, confirmando que la construcción del mapa de enlace para estos dos grupos de enlace fue exitosa.

Tres semanas post inoculación, el SNP M23333_428 en el homólogo 5.2 explicó hasta 90% de la variación fenotípica ($LOD = 114,2$). un segundo SNP, G54183_559 fue encontrado 15 semanas post inoculación en LG1 en el homólogo 1.1 ($LOD = 23,1$) en 60.5 cM, el cual explicó 20,3% de la variación fenotípica. El análisis conjunto de QTL usando un modelo Multiple QTL mostró que los QTL en los homólogos 5.2 y 1.1 se necesitan para la resistencia absoluta después de 15 semanas. En total 86 plantas con datos de resistencia al MP fueron genotipificadas usando ensayos KASP, 48 de las cuales fueron descendientes F1, 29 fueron plantas F2 (el hermano completo de una planta F1 reproducida vegetativamente) y 4 fueron PI y P2 (incluidos duplicados de las dos).

Primero analizamos la asociación entre los genotipos SNP y la resistencia al MP en la población FI. La tasa de genotipificación tasa varió entre 87% (para G8670_490) y 100%. Al mirar la asociación entre los genotipos KASP y la resistencia al MP, la presencia de alelos de resistencia en los SNP más fuertemente asociados en ambos homólogos fue claramente indicativa de resistencia al MP 15 semanas post inoculación. Todas las plantas con esta combinación de genotipos mostraron una puntuación de MP mayor de 8 (altamente resistente, Fig. 1), en tanto que las plantas con genotipos resistente en un locus, o ninguno, nunca fueron altamente resistentes y de predominio fueron altamente susceptibles (Fig. 2). Un análisis con ANOVA mostró que el gen epistático sinérgico fue fuertemente significativo (Tabla 1). Un análisis genómico adicional de las plantas de rosa arrojó SEQ ID Nos 1 y 2 directamente relacionadas con los genes de la resistencia que subyacen la presente resistencia.

Tabla 1: Estimativos de los parámetros para los efectos de la SEQ ID No. 1:

TTTGTTC A TTA TAAA CTCA TTCCTCGCTTCCTCAA CCTTCTCTGAAA CGA CC) y la
SEQ ID No. 2: GGCTTTTCGCCCTGCGTCTTGCTCTCCAAAA CTCA CTA CTAA
TTTGTCA

Sobre la resistencia al mildiu polvoroso (15 semanas post inoculación) a partir de un modelo lineal. Los estimativos de parámetros positivos indican que los genotipos resistentes son más resistentes que los genotipos susceptibles. El término de interacción positiva indica un gen epistático sinérgico: El efecto de albergar un genotipo resistente en

14
13

un homólogo es más fuerte si un genotipo resistente también está presente en el otro homólogo.

Variables	Estimativo del parámetro	Error estándar	P
Intecepto	2,02	0,42	<0,0001
SEQ ID No. 1	1,93	0,6	0,002
SEQ ID No. 2	-0,26	0,75	0,73
Interacción entre SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2	5,18	0,99	<0,0001

Después de mostrar que la presencia de genes de la resistencia en ambos loci es necesaria para conferir la resistencia, examinamos si el modo de acción en cada locus fue totalmente dominante, en otras palabras, no existe diferencia en la resistencia al MP entre las plantas que tienen un alelo de resistencia en cada locus y las plantas que tienen múltiples alelos de resistencia en cada locus. Para hacer esto, combinamos datos de una población F2 con los datos de los progenitores y la población F1. Las poblaciones F2 fueron una población autopolinizada obtenida mediante la autopolinización de una planta F1 con 1 alelo de resistencia en cada locus. Asumiendo de esta manera la herencia polisómica esperamos plantas con 0, 1 y 2 copias en cada locus en el conjunto de datos resultante. La resistencia al MP en la población F2 solo se ensayó hasta las 12 semanas post inoculación. La resistencia al MP 12 semanas post inoculación guardó una fuerte correlación con la resistencia al MP 15 semanas post inoculación ($r= 0,98$), es decir, que restringir nuestros análisis a datos de 12 semanas post inoculación no afectó en grado significativo nuestras conclusiones. y en realidad, se demostró claramente que un alelo de resistencia en cada locus es suficiente para conferir resistencia absoluta 12 semanas post inoculación, y la presencia de múltiples genes de resistencia por locus no confiere resistencia adicional significativa (Fig. 2), lo cual es clara evidencia de que los alelos de resistencia son dominantes sobre los alelos susceptibles.