






Asociación de genoma completo para el hábito de crecimiento en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.)

Genome-wide association for growth habit in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)

Ana L. Gómez-Espejo¹ ,
Carolina P. Sansaloni² ,
Juan Burgueño² ,
Fernando H. Toledo² ,
M. Humberto Reyes-Valdés^{1*} 

¹Programa de Doctorado en Recursos Fitogenéticos para Zonas Áridas-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

²Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), CP. 56237. Texcoco, México.

*Autor de correspondencia: mathgenome@gmail.com

Artículo científico

Recibido: 02 de marzo 2021

Aceptado: 10 de mayo 2021

Como citar: Gómez-Espejo AL, Sansaloni CP, Burgueño J, Toledo FH, Reyes-Valdés MH (2021) Asociación de genoma completo para el hábito de crecimiento en trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(2): e2912. DOI: 10.19136/era.a8n2.2912

RESUMEN. El hábito de crecimiento de los trigos harineros (primavera e invierno) está determinado primordialmente por el proceso de vernalización, regulado por los genes Vrn. Algunos estudios sugieren la implicación de otros genes en la diferenciación de dicha característica. Por ello, se tiene por objetivo la identificación genómica de regiones con una posible relación funcional al hábito de crecimiento. Se realizó un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) con dos enfoques de análisis: a) FarmCPU (Unificación de Probabilidad Circulante de Modelo fijo y aleatorio) y b) BLINK (Información Bayesiana y Desequilibrio de ligamiento Anidado Iterativamente) implementados en el paquete GAPIT de R. Se utilizaron datos de 25 681 loci de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP's) de 7 757 colectas de *T. aestivum* del banco de germoplasma del CIMMYT clasificadas en cuanto a su hábito de crecimiento. Se identificaron 593 marcadores SNP's con una alta asociación al hábito de crecimiento ($p < 0.01$). Pero solo 70 marcadores formaban bloques de asociación (BA) en 11 cromosomas. Como se esperaba, se identificó un BA cercano al gen Vrn1 en el cromosoma 5A. Adicionalmente se identificaron 20 regiones genómicas (BA) con asociación al hábito de crecimiento, en las que se detectó la presencia de proteínas de respuesta al estrés implicadas en procesos de aclimatación y desaclimatación. Los resultados sugieren la participación de nuevos genes en la determinación del hábito de crecimiento en *Triticum aestivum* y su potencial predictivo en colectas no clasificadas.

Palabras clave: Estrés, GWAS, hábito de crecimiento, SNP's, trigo harinero.

ABSTRACT. The growth habit in bread wheat (spring and winter) is mainly determined by the process of vernalization, regulated by the Vrn genes. Several studies suggest the involvement of other genes in this differential trait. Therefore, the aim of this research was the genomic identification of regions with a possible functional relationship to growth habit. A genome wide association study (GWAS) was performed by using two different approaches: a) FarmCPU (Fixed and random model Circulating Probability Unification) and b) BLINK (Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway), both implemented in the GAPIT package of R. The source was a data set of 25 681 single nucleotide polymorphism loci (SNP's) from 7 757 accessions of *T. aestivum* stored in the CIMMYT germplasm bank and classified according to growth habit. A total of 593 SNP's markers strongly associated to their growth habit was identified ($p < 0.01$). But only 70 markers formed association blocks (BA) within 11 chromosomes. As expected, at least one block was located close to the Vrn1 gene of the 5A chromosome. Additionally, 20 genomic regions (BA) were identified with putative functional relationship to growth habit, with response stress proteins involved in acclimation and de-acclimation processes. The findings suggest of new genes implicated in the growth habit for *Triticum aestivum* and its predictive potential for unclassified genetic accessions.

Key words: Stress, GWAS, growth habit, SNP's, bread wheat.

INTRODUCCIÓN

El trigo harinero, es el cereal más cultivado en el mundo, por su adaptación exitosa a diferentes condiciones agroecológicas (Li *et al.* 2020). Se clasifica en dos hábitos de crecimiento, primavera o invierno, según sus patrones de floración bajo diversos rangos de temperatura ambiental (Trevaskis *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2008). Dicha característica fenológica asociada con el proceso de vernalización, se encuentra determinada por los genes *Vrn*, los cuales en interacción con genes del fotoperíodo (*Ppd*) y genes que controlan la tasa de desarrollo (*Eps*) regulan la floración oportuna bajo condiciones estacionales óptimas (Whittall *et al.* 2018, Khumalo *et al.* 2017).

En algunas especies de plantas de clima templado el requisito de vernalización es indispensable para la expresión de activadores florales después de un periodo prolongado de temperaturas frías (Dixon *et al.* 2019, Li *et al.* 2020). En este sentido, cuatro genes mayores denominados *Vrn1*, *Vrn2*, *Vrn3* y *Vrn4* han sido relacionados con la respuesta a la vernalización en diferentes cultivares de trigo (Yan *et al.* 2004, 2006, Trevaskis *et al.* 2003, Danyluk *et al.* 2003, Kippes *et al.* 2015, Nazim *et al.* 2018). Particularmente, se ha demostrado que variaciones alélicas en el gen *Vrn1*, cuyas copias homologas (*Vrn-A1*, *Vrn-B1* y *Vrn-D1*) se ubican en los cromosomas 5A, 5B y 5D, respectivamente, son las responsables de la supresión del requisito de vernalización, ya que la presencia de alelos dominantes en tan solo un loci es suficiente para conferir el hábito de crecimiento primaveral (Li *et al.* 2020).

La caracterización de los genes *Vrn* ha permitido un avance significativo al entendimiento de la regulación genética del proceso de vernalización de los cereales (Kippes *et al.* 2015). Sin embargo, algunos estudios realizados en líneas endogámicas de cebada (Saisho *et al.* 2011) y mutantes de trigo tetraploide (Chen y Dubcovsky 2012) proporcionan evidencia sobre la contribución de genes desconocidos en la diferenciación de los dos hábitos de crecimiento y en el proceso de floración (Trevaskis 2015). Considerando lo anterior y dada la impor-

tancia de la vernalización en la adaptación a entornos específicos de los cereales (Goncharov 2003), esta investigación tuvo como objetivo estudiar la asociación entre marcadores SNP's y el hábito de crecimiento en colectas de *T. aestivum* a través de un estudio de asociación de genoma completo (GWAS), con la finalidad de localizar regiones que tengan una posible relación funcional con dichos patrones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de datos de hábito de crecimiento

Se utilizaron los datos de pasaporte de 174 553 colectas del banco de germoplasma de CIMMYT, cada entrada de los datos de pasaporte contiene una URL pública que permite acceso a información adicional de cada colecta. A través del desarrollo de código escrito en el lenguaje R y con ayuda del paquete "rvest" v0.3.6 (Wickham 2020), se programó el acceso automático a cada URL para la búsqueda de patrones que indicaran la presencia de información de hábito de crecimiento, y su categoría como cultivo de primavera o de invierno y que fueran *Triticum aestivum*. La búsqueda arrojó un total de 20 380 colectas con información sobre hábito de crecimiento. El proceso automático se validó a través de una búsqueda manual de una muestra de 100 colectas dentro de dicho conjunto, y se verificó una concordancia del 100% en la determinación de las categorías de primavera o invierno.

Obtención y limpieza de datos genotípicos

La información molecular fue obtenida a partir de una tabla de datos en formato HapMap con información de 45 871 colectas del banco de germoplasma de trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), las cuales fueron genotipificadas con tecnología DArTseq con 86 683 loci SNP en el CIMMYT. Los datos se filtraron para incluir solo colectas de *Triticum aestivum* caracterizadas por su hábito de crecimiento. Se seleccionaron solo marcadores informativos (polimórficos para las accesiones seleccionadas) con una tasa de datos perdidos del 10%. Se detectó la ubicación física de cada marcador con datos obtenidos por BLAST, y se

mantuvieron solo aquellos que podían ser localizados de una manera no ambigua en el genoma de trigo. Bajo este filtrado de datos, se obtuvo un conjunto con 7 956 colectas caracterizadas con 25 681 loci de SNP, en un formato HapMap, los cuales dieron cobertura amplia a los 21 cromosomas de *T. aestivum*. Las colectas seleccionadas tienen diverso origen geográfico y son una mezcla con diferente nivel genético, ya que se consideraron desde variedades criollas hasta líneas mejoradas.

Análisis exploratorio

Los datos se exploraron mediante pruebas exactas de Fisher para todos los loci, en cuanto a su asociación con el hábito de crecimiento. Se detectó un número considerable de asociaciones bajo el criterio de Bonferroni para un valor $p = 0.01$, por lo que se procedió a realizar las pruebas adecuadas para el GWAS.

Análisis de asociación

Considerando las dimensiones del conjunto de datos, además del tiempo y demanda computacional que implica realizar un número muy grande de pruebas estadísticas, una por cada SNP's genotificado, los GWAS se ejecutaron con un código de lectura de SNP's fragmentado para múltiples archivos. Mientras que los cálculos de parentesco y componentes principales (CP) se estimaron bajo un esquema de muestreo aleatorio. Para ello, la tabla de datos genotípicos HapMap fue dividida en 21 archivos, uno para cada cromosoma. Los datos fenotípicos de las accesiones fueron incluidos como un archivo independiente con el hábito de crecimiento clasificado en 0 y 1, donde 0 son las accesiones de hábito invernoso y 1 las de primavera.

Se definieron dos enfoques de estudio para determinar la asociación: 1) El de Unificación de Probabilidad Circulante de Modelo fijo y aleatorio (FarmCPU) (Liu *et al.* 2016) y 2) BLINK (Huang *et al.* 2018), el cual está basado en información bayesiana. El procesamiento con estos dos enfoques se realizó con el paquete GAPIT (Herramienta Integrada de Predicción y Asociación del Genoma) versión 3.0 de R (Lipka *et al.* 2012). Estos enfoques se caracterizan

por usar iteraciones para seleccionar un conjunto de marcadores asociados con un rasgo de interés. Los marcadores asociados se ajustan como covariables para probar los marcadores en todo el genoma, uno a la vez.

La estructura poblacional se determinó automáticamente aplicando un análisis de componentes principales (ACP) al ejecutar cada GWAS. Con las gráficas de componentes principales se identificaron colectas fuera de tipo, con posibles errores de clasificación, las cuales fueron depuradas del conjunto de datos genotípicos. Los gráficos de ACP se generaron con el paquete "ggplot2" v3.3.2 de R (Wickham 2009).

Los análisis de asociación bajo los modelos mencionados se ejecutaron nuevamente con los datos depurados (7 757 colectas y 25 681 marcadores SNP's). Para este efecto, la estructura poblacional se ajustó mediante los primeros cinco componentes principales. Los marcadores significativos en cada modelo fueron seleccionados considerando su valor p ajustado por la tasa de falso descubrimiento (FDR) a un alfa de 0.01.

Mapeo de marcadores

Mediante el uso de la herramienta BLAST y las secuencias de nucleótidos de cada SNP significativo se corroboró su ubicación física con base en el genoma de referencia de trigo IWGSC_refseqv1.0 (IWGSC, 2018) publicado en la base de datos de Ensembl Plants (2021). Las posiciones físicas fueron seleccionadas con base en los alineamientos con más altos porcentajes de identidad (> 90%). Con la información obtenida se elaboró una representación esquemática del mapa físico del trigo harinero mediante el paquete "LinkageMapView" v2.1.2 de R (Ouellette *et al.* 2018). En el mapa se incluyeron genes de vernalización, fotoperíodo y precocidad *perse*, reportados en bases de datos. Una vez elaborado el mapa físico se identificaron las regiones genómicas conformadas en bloques de asociación (BA).

Análisis bioinformático

Las regiones genómicas conformadas en BA fueron sometidas a un análisis bioinformático para

conocer las propiedades funcionales de las mismas. Para ello, se exploró a detalle cada región genómica en la base de datos de Ensembl Plants con la finalidad de identificar posibles genes candidatos. La identificación de proteínas funcionales codificadas por genes candidatos se consultó en la base de datos UniProt (2021).

RESULTADOS

Análisis de asociación del genoma completo

Considerando los valores *p* ajustados por la tasa de falso descubrimiento bajo dos enfoques de análisis de asociación (FarmCPU y BLINK) se identificó un conjunto de 593 marcadores SNP's con una asociación altamente significativa (0.01) al hábito de crecimiento. Del conjunto total de marcadores elegidos, el modelo FarmCPU fue el más abundante con respecto al número de marcadores asociados, con un aporte de 518 marcadores SNP's (Figura 1). La mayor presencia de estos marcadores se observa en los cromosomas 2A, 2B, 2D, 3A, 3B y 5A con más de 30 SNP's en cada uno. Por el contrario, el modelo BLINK aportó únicamente 144 marcadores, con una mayor incidencia en los cromosomas 2B y 2D, con 16 SNP's cada uno (Figura 2). Algunos marcadores SNP's fueron coincidentes en los resultados de ambos modelos. En la Tabla 1 se presentan los resultados GWAS para 70 marcadores SNP's conformados en bloques de asociación.

La estructura de la población estimada a través de cinco componentes principales reveló la estrecha base genética de los trigos de tipo invernol con 938 colectas, en comparación con las 6 819 de primavera (Figura 3). El patrón de dispersión puede ser explicado en gran medida por la variabilidad geográfica y genética a la que pertenecen las accesiones bajo estudio. Sin embargo, se puede diferenciar con claridad como las colectas de hábito invernol pertenecen a un conjunto compacto, el cual fue conformado en su mayoría con cultivares y líneas mejoradas.

Mapeo de marcadores

El mapa físico de los marcadores SNP's asociados con el hábito de crecimiento reveló que 70

de estos formaban BA en 11 cromosomas (Figura 4 y 5). De los bloques mencionados, dos comparten cercanía genómica con un gen de vernalización (Vrn-A1) ubicado en el cromosoma 5A y otro con un gen de fotoperíodo (Ppd-D1) del cromosoma 2D. También se observaron 3 marcadores SNP's (109087597|F|0-9:A>T-9:A>T - 2A, 09271053|F|0-12:A>G-12:A>G - 5D y 109533531|F|0-29:A>G-29:A>G - 7B) cercanos a la regiones genómicas de los genes Ppd-A1 (fotoperíodo), Vrn-D1 y Vrn-B3 (vernalización). Los BA con mayor número de marcadores se ubicaron en regiones genómicas presentes en los brazos largos de los cromosomas 1D (468309273-470535989 pb), 2B (748982899-750002913 pb), 2D (615469335-620270385 pb), 4A (658343324-661569447 pb), 4B (649577977-653001877 pb) y 5A (586669360-589287661 pb). El SNP 109372697|F|0-26:C>G-26:C>G (745524854 pb) ubicado en el cromosoma 2A es coincidente con regiones seleccionadas en los BA de los cromosomas 2B y 2D.

Análisis bioinformático

Las regiones genómicas conformadas por los BA en los distintos cromosomas fueron exploradas a detalle en las bases de datos de Ensembl Plants y UniProt. La información bioinformática de cada BA muestra 20 regiones genómicas con información relevante de genes y proteínas con posible funcionalidad en la determinación del hábito de crecimiento (Tabla 2). Estos resultados revelan la abundancia de proteínas de dominio quinasas en muchos BA, como Quinasas de serina y treonina (RSTK), Receptores de serina y treonina (RLK), Quinasas dependiente de ciclina N (RSTK), Diacilglicerol quinasa (DGK) y Tiamina pirofosfoquinasa (TPK). También se notaron algunas proteínas de dominio de caja, como Homeobox, F-box, U-box y MADS-box, esta última vinculada con el gen de vernalización Vrn1 del cromosoma 5A. Se reportan dos genes ortólogos de *Arabidopsis thaliana* (SEP2 y EDA15) coincidentes con BA ubicados en los cromosomas 2B y 5A. En algunos BA se identificaron los genes TthV (1D), DREB2 (2B), GRF4-D1 (2D) y D1-DWARF1 (2D), reportados en bases de datos para *T. aestivum*.

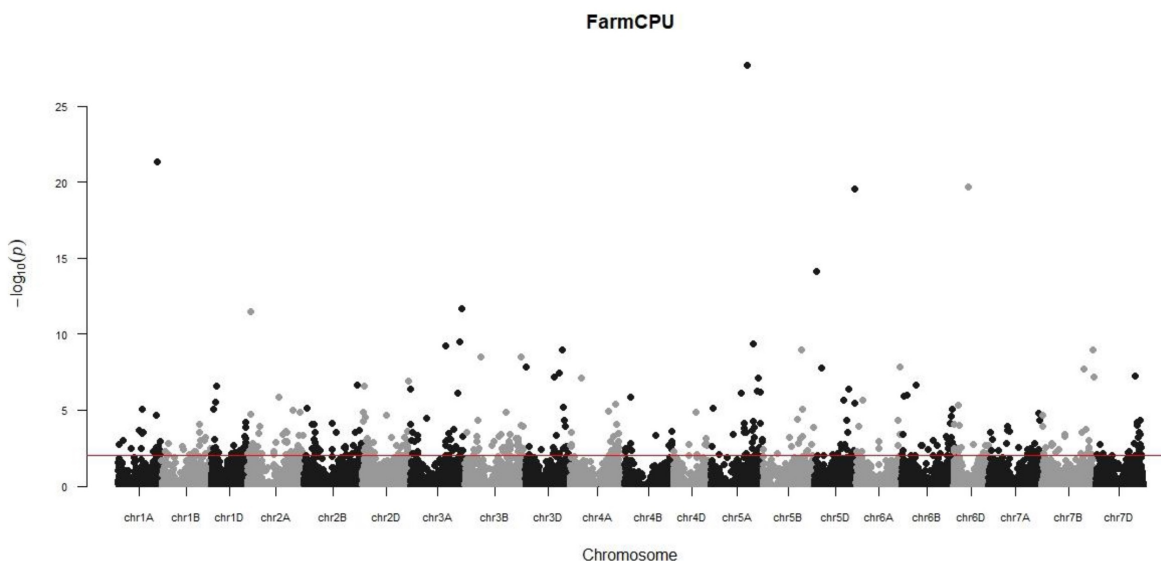


Figura 1. Gráfico de Manhattan del modelo FarmCPU que muestra la asociación de 25 681 marcadores SNP's en 7 757 colectas de *T. aestivum* con el hábito de crecimiento.

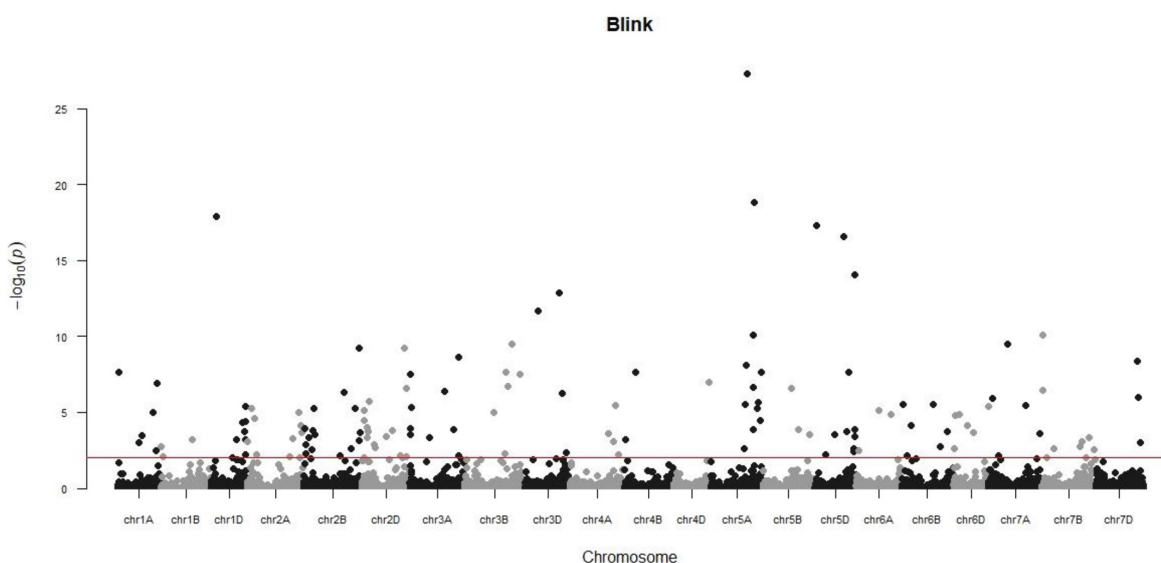


Figura 2. Gráfico de Manhattan del modelo BLINK que muestra la asociación de 25 681 marcadores SNP's en 7 757 colectas de *T. aestivum* con el hábito de crecimiento.

DISCUSIÓN

Algunas de las asociaciones entre marcadores SNP's y el hábito de crecimiento detectadas por el GWAS implican polimorfismos dentro de genes de vernalización documentados en *T. aestivum*, como es el caso del gen *Vrn1*, cuyas copias homologas se localizan en los cromosomas 5A, 5B y 5D (Li et

al. 2020). Este gen posee particular importancia en la diferenciación del hábito de crecimiento, ya que la presencia de variaciones alélicas dominantes causadas por mutaciones en regiones reguladoras confieren el hábito primaveral (Konopatskaia et al. 2016). En este sentido, existe congruencia en los resultados obtenidos, ya que se observó un conjunto de marcadores SNP's formando un marcado BA con el gen

Tabla 1. Resultados GWAS de marcadores significativos pertenecientes a bloques de asociación con el hábito de crecimiento en 7 757 colectas de *T. aestivum*.

Crom	SNP	Valor P	MAF	Posición Física (pb)	BA
1D	109374796 F 0-9:C>T-9:C>T	1.25E-03	1.04E-02	468309273	1
	108513969 F 0-11:G>A-11:G>A	5.74E-03	1.68E-02	469542771	
	108713509 F 0-41:T>C-41:T>C	6.33E-05	4.16E-02	470220690	
	108147322 F 0-16:A>G-16:A>G	7.07E-04	3.73E-02	470523298	
	109349553 F 0-34:C>G-34:C>G	4.27E-06	3.40E-02	470523363	
	109349552 F 0-19:C>A-19:C>A	1.38E-04	3.69E-02	470535921	
2A	108256603 F 0-47:T>G-47:T>G	4.09E-03	4.50E-01	58386894	2
	109340887 F 0-22:C>T-22:C>T	2.01E-03	4.42E-01	59120190	
	108620226 F 0-51:G>A-51:G>A	5.18E-06	2.13E-02	59334130	
	109372697 F 0-26:C>G-26:C>G	5.55E-03	2.13E-01	745524854	
	109118300 F 0-28:T>C-28:T>C	5.79E-03	4.91E-01	150710793	4
	108926834 F 0-68:T>G-68:T>G	1.37E-03	4.91E-01	150985370	
	109302969 F 0-60:C>T-60:C>T	4.85E-03	4.70E-01	151895514	
	108203258 F 0-9:A>G-9:A>G	5.46E-03	2.28E-01	152503627	
2B	108144780 F 0-66:T>C-66:T>C	3.42E-03	1.60E-01	169861838	5
	107873878 F 0-33:A>C-33:A>C	2.73E-03	2.53E-01	170086991	
	108303724 F 0-60:G>C-60:G>C	6.49E-03	2.44E-01	170781731	
2D	108939717 F 0-34:G>T-34:G>T	7.21E-04	4.84E-01	748982898	6
	109318254 F 0-49:A>G-49:A>G	8.43E-03	1.98E-01	749044179	
	109486206 F 0-29:G>C-29:G>C	3.29E-03	1.90E-01	749922381	
	109355990 F 0-35:T>C-35:T>C	2.18E-04	1.92E-01	750002860	7
	109136240 F 0-18:C>T-18:C>T	2.91E-05	1.20E-01	30934992	
	108547082 F 0-63:A>G-63:A>G	2.95E-03	1.26E-01	31502743	
	109067136 F 0-25:T>C-25:T>C	9.70E-03	1.33E-01	31502808	8
	109232275 F 0-40:A>G-40:A>G	9.75E-03	4.38E-03	545940420	
	109545052 F 0-31:C>G-31:C>G	1.99E-03	3.37E-02	547286664	
	109545052 F 0-28:G>T-28:G>T	9.99E-03	3.71E-02	547559641	9
	109235294 F 0-10:G>C-10:G>C	2.90E-03	1.93E-01	615469335	
	109486206 F 0-24:G>C-24:G>C	3.26E-03	1.87E-01	615503378	
	108800261 F 0-24:C>G-24:C>G	2.27E-03	2.24E-01	615943480	10
	109098245 F 0-58:A>G-58:A>G	6.03E-03	1.97E-01	616526082	
	108144213 F 0-30:G>A-30:G>A	1.13E-03	2.07E-01	618071961	
	109137337 F 0-32:C>A-32:C>A	5.22E-03	1.97E-01	618826852	11
	109153060 F 0-47:C>A-47:C>A	6.94E-03	2.13E-01	618828092	
	109068785 F 0-19:C>A-19:C>A	2.51E-04	2.85E-02	620160840	
3B	108145366 F 0-36:G>A-36:G>A	6.41E-03	8.27E-02	620270317	12
	107697013 F 0-24:A>G-24:A>G	3.60E-03	4.25E-01	123356856	
	109241628 F 0-16:A>C-16:A>C	9.99E-03	4.45E-01	124354979	
	108085036 F 0-61:T>G-61:T>G	7.68E-03	4.79E-01	124817091	13
	109256730 F 0-63:C>G-63:C>G	3.77E-03	2.67E-01	795329079	
	108713853 F 0-12:G>C-12:G>C	3.18E-03	2.85E-01	795429435	
	107877816 F 0-46:A>C-46:A>C	1.20E-04	2.87E-01	796008897	14
	108994529 F 0-6:T>C-6:T>C	1.92E-03	9.39E-02	615181053	
	108994530 F 0-37:T>A-37:T>A	3.89E-03	9.08E-02	615181053	
	108476242 F 0-11:G>C-11:G>C	8.39E-03	1.30E-02	616934964	15
	109364118 F 0-8:C>T-8:C>T	4.86E-03	3.68E-01	658343324	
	109193592 F 0-14:A>T-14:A>T	3.22E-04	4.72E-01	659678760	
4A	108434554 F 0-15:T>G-15:T>G	5.74E-03	4.77E-01	660455556	16
	107881764 F 0-40:T>G-40:T>G	1.12E-03	3.26E-01	661569379	

Tabla 1. Continuación.

Crom	SNP	Valor P	MAF	Posición Física (pb)	BA
4B	108998096 F 0-43:C>A-43:C>A	1.67E-03	1.41E-01	649577977	14
	109229236 F 0-17:C>T-17:C>T	2.33E-04	5.52E-02	650880267	
	109229237 F 0-49:T>C-49:T>C	1.19E-03	4.15E-02	650883267	
	109222860 F 0-60:C>T-60:C>T	4.10E-03	3.87E-02	653001809	
5A	109187296 F 0-15:T>C-15:T>C	1.61E-04	1.81E-01	461231162	15
	109208559 F 0-9:T>C-9:T>C	2.99E-04	3.47E-01	461899837	
	108587064 F 0-68:C>A-68:C>A	1.25E-04	4.24E-01	581488583	16
	108957420 F 0-65:G>A-65:G>A	5.72E-05	4.87E-01	582636444	
	108142772 F 0-28:G>T-28:G>T	4.59E-10	3.91E-01	586669360	17
	108440456 F 0-50:C>G-50:C>G	1.60E-19	2.92E-01	588401400	
	109266488 F 0-41:G>A-41:G>A	6.53E-04	1.56E-01	588761898	
	107702923 F 0-64:G>C-64:G>C	1.40E-04	4.64E-01	589287593	
6B	109077677 F 0-39:G>A-39:G>A	3.42E-03	4.13E-03	644135224	18
	109441349 F 0-64:G>A-64:G>A	3.45E-03	8.12E-03	645483651	
	109137306 F 0-50:T>G-50:T>G	1.55E-03	3.74E-03	645537586	
7B	109078487 F 0-20:G>A-20:G>A	9.70E-04	4.90E-01	640866076	19
	109127303 F 0-32:A>C-32:A>C	2.90E-03	4.75E-01	640905664	
	109568141 F 0-23:A>G-23:A>G	3.33E-03	1.31E-01	641806854	
7D	108550833 F 0-50:G>T-50:G>T	4.56E-05	7.59E-02	606323492	20
	108884325 F 0-11:C>G-11:C>G	3.73E-04	6.83E-02	607228637	
	108201673 F 0-12:G>A-12:G>A	1.89E-03	7.33E-02	607297673	

Crom = Cromosoma; P = valor de p al 0.01 ajustado por tasa de falso descubrimiento (FDR); MAF = frecuencia mínima de alelos. El símbolo E en los valores de P y MAF indica $\times 10^n$.

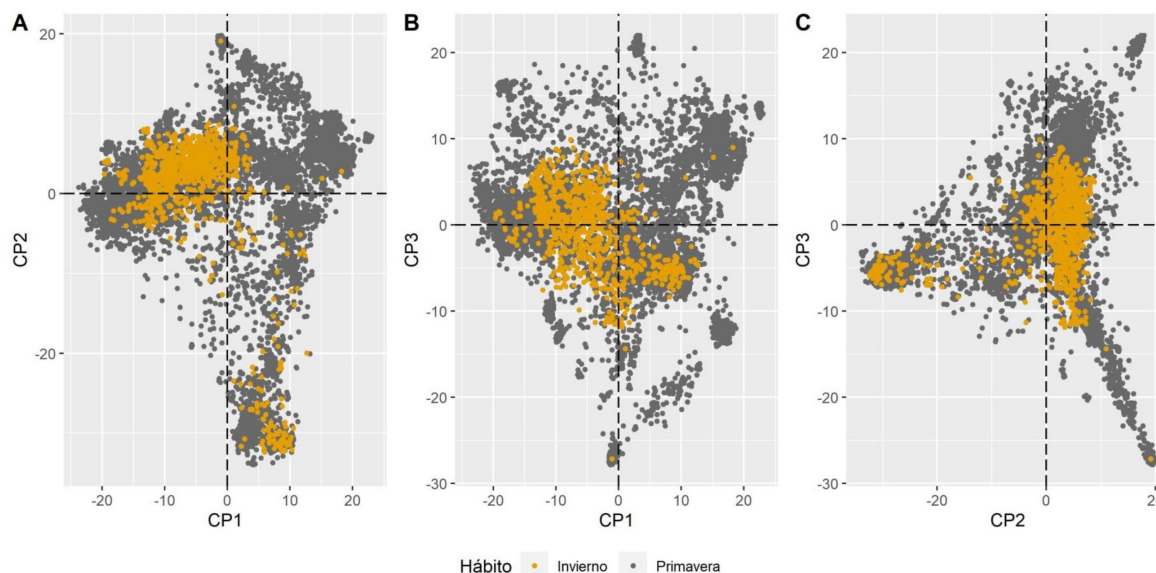


Figura 3. Grafico ACP de 7 757 colectas de *T. aestivum* clasificadas en hábito de crecimiento. A) CP1 vs CP2, B) CP1 vs CP3 y C) CP2 vs CP3.

Vrn1 en el cromosoma 5A.

Los BA revelaron la presencia de proteínas con diversidad de dominios (Tabla 2) entre las que destacan las relacionadas con cambios estructurales

y metabólicos de respuesta al estrés de las plantas. En este sentido Kosová *et al.* (2011) argumentan que los cambios en la acumulación de las proteínas durante un periodo de estrés están estrechamente rela-

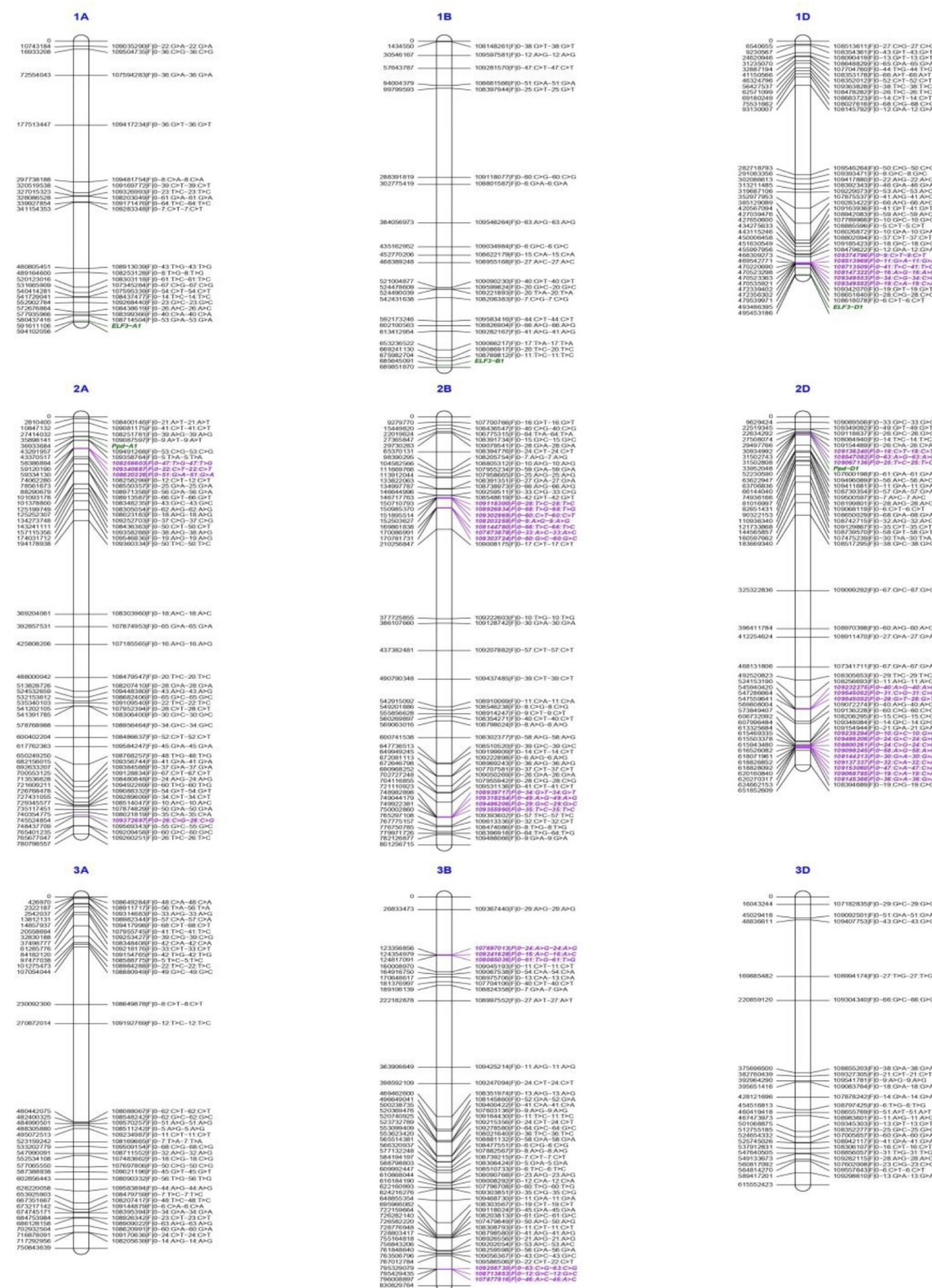


Figura 4. Mapa físico de la ubicación de 593 marcadores SNP's con asociación altamente significativa (0.01) al hábito de crecimiento en 7 757 colectas de *T. aestivum* (cromosomas 1A a 3D).

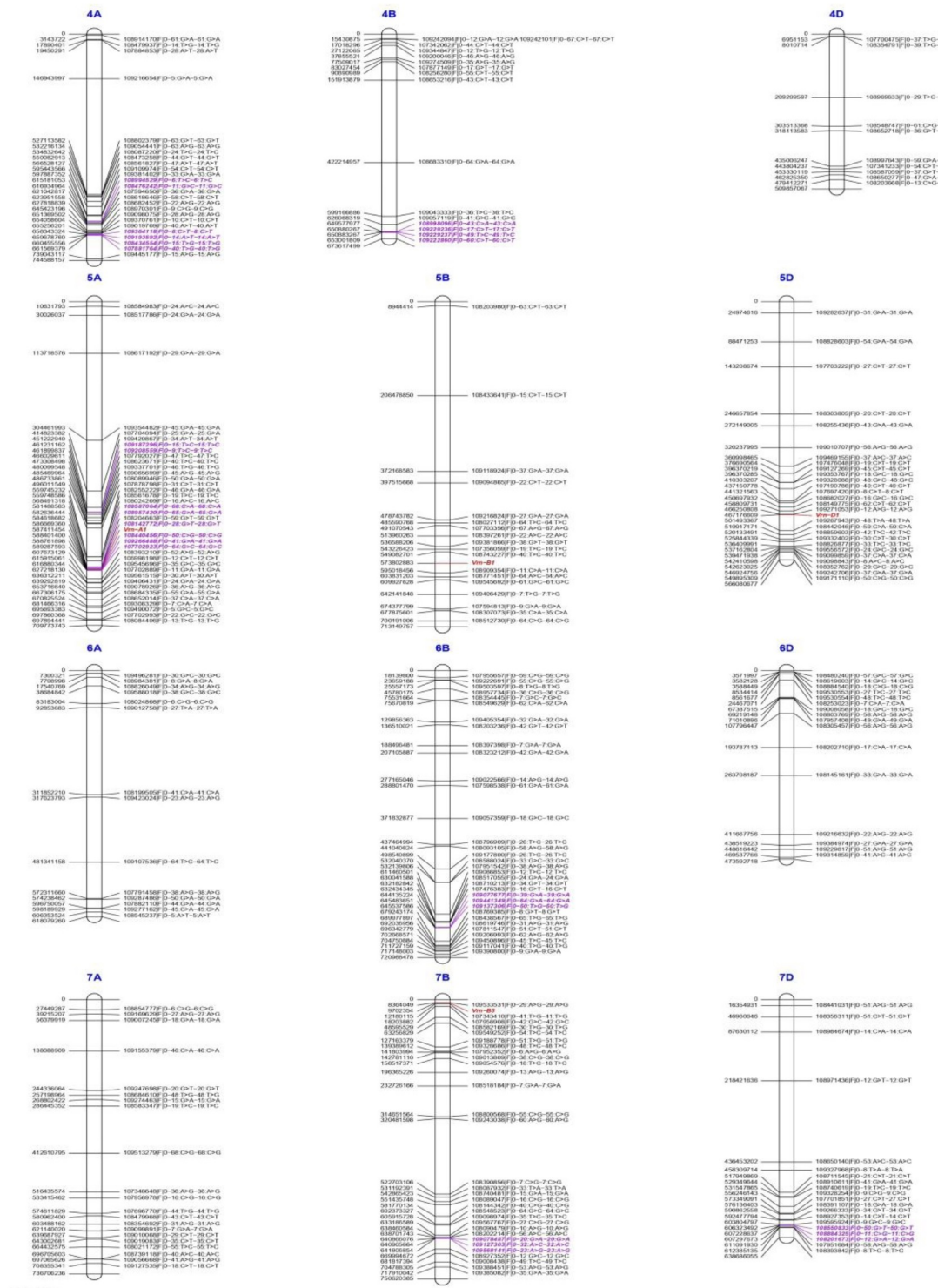


Figura 5. Mapa físico de la ubicación de 593 marcadores SNP's con asociación altamente significativa (0.01) al hábito de crecimiento en 7 757 colectas de *T. aestivum* (cromosomas 4A al 7D).

Tabla 2. Información bioinformática de bloques de asociación al hábito de crecimiento.

BA	Ensembl Plants Genes Asociados	ID	Dominio	UniProt-Proteína Función Biológica
1	TraesCS1D02G404300	Q56TP4	XTH	Pared celular de tejidos en crecimiento.
	TraesCS1D02G405600	Q05806	TTHV	Respuesta de defensa.
	TraesCS1D02G407600	A0A1D5SRX7	CytB ₅₆₁	Respuesta al déficit hídrico y exceso de luz.
	TraesCS1D02G404400	A0A1D6RG09	ARF	Crecimiento y desarrollo celular.
	TraesCS1D02G405100	A0A341PSZ5	F-box	Respuesta de defensa hormonal y estrés abiótico.
	TraesCS1D02G406900	A0A1D5SWV6	Homeobox	Procesos de desarrollo y respuesta hormonal.
2	TraesCS2A02G107000	A0A341PZ27	RSTK	Respuesta a estrés biótico y abiótico.
	TraesCS2A02G106700	A0A1D5TN11	POD	Mecanismos de defensa.
	TraesCS2A02G106800	A0A341PUV9	TPK	Resistencia a estrés biótico y abiótico.
3	TraesCS2A02G525500	W5ASP5	LOX	Crecimiento y desarrollo, estrés, senescencia, etc.
4	TraesCS2B02G176000	A0A1D5UCP9	DIR	Respuesta a sequía, salinidad y estrés oxidativo.
	TraesCS2B02G175800	A0A1D5UFD5	RSTK	Respuesta a estrés biótico y abiótico.
	TraesCS2B02G176200	A0A080YU40	UGT	Desarrollo y crecimiento, resistencia a enfermedades.
	TraesCS2B02G177100	A0A341PYM4	NA	Respuesta al frío, déficit de agua, estrés salino, etc.
5	TraesCS2B02G193500	W5BPC0	RING-E3	Respuesta a estrés abiótico.
	TraesCS2B02G193600	W5BPN4	ALT1,2	Respuesta hipoxia y anoxia.
	TraesCS2B02G193700	A0A1D5U885	F-box	Respuesta de defensa hormonal y estrés abiótico.
6	TraesCS2B02G553600	A0A1D5TZL6	SEP2	Respuesta al estrés lumínico (K-box y MADS-box).
	TraesCS2B02G554500	G3FIP0	DREB2	Respuesta a la deshidratación.
	TraesCS2B02G554600	A0A341QXE7	Hidrotropismo	Reacción al estímulo de agua o humedad.
	TraesCS2B02G554700	A0A341R834	RLK	Respuesta de defensa.
7	TraesCS2D02G073600	A0A341R4Y5	GLP	Respuestas al estrés abiótico, exposición al calor, la sal y el aluminio.
8	TraesCS2D02G435200	A0A1D5UNL9	GRF4-D1	Regulación del crecimiento.
	TraesCS2D02G435300	A0A2X0SA68	D1-DWARF1	Respuesta celular al frío y ácido abscísico
9	TraesCS2D02G528400	A0A1D5UR29	LOX	Crecimiento y desarrollo, estrés, senescencia, etc.
	TraesCS2D02G534400	A0A1D5UH93	RSTK	Respuesta a estrés biótico y abiótico.
	TraesCS2D02G534600	A0A341RJ78	DGK	Respuesta al estrés por congelación.
10	TraesCS3B02G137800	A0A341SBA6	Tudor	Tolerancia al estrés salino.
	TraesCS3B02G138400	A0A1D5VQ05	Homeobox	Procesos de desarrollo y respuesta hormonal.
11	TraesCS3B02G562700	A0A077S8R7	β-1,3-glucanos	División celular, resistencia a estrés abiótico.
12	TraesCS4A02G330400	A0A341TN72	EF-Tu	Acimatación al calor.
	TraesCS4A02G331000	W5DR31	F-box	Respuesta de defensa hormonal y estrés abiótico.
13	TraesCS4A02G381100	A0A341TWL3	RSTK	Respuesta a estrés biótico y abiótico.
	TraesCS4A02G382200	W5DQV3	Homeobox	Procesos de desarrollo y respuesta hormonal.
	TraesCS4A02G382600	A0A341TWM7	F-box	Tolerancia a estrés biótico y abiótico.
	TraesCS4A02G382700	A0A341TUP2	E3-U	Respuesta a estrés abiótico.
14	TraesCS4B02G361500	A0A1D5XNM3	NA	Respuesta de defensa.
	TraesCS4B02G364500	A0A1D5XKM0	UGT	Desarrollo y crecimiento, resistencia a enfermedades.
	TraesCS4B02G363400	A0A1D5XHF3	NA	Ciclo celular (Meiosis), microsporogenesis, etc.
15	TraesCS5A02G247000	A0A1D5YFJ0	RSTK	Ciclo celular (Mitosis), división celular.
16	TraesCS5A02G383800	A0A1D5YRN0	HSF	Respuesta celular al calor.
	TraesCS5A02G384500	A0A1D5YDW0	ARN Helicasa	Respuesta estrés salino, déficit de agua, etc.
17	TraesCS5A02G391700	Q5ETV1	MADS-box WM6	Vernalización (Vrn-A1)
18	TraesCS6B02G370800	A0A1D6ANZ6	U-box	Respuesta estrés abiótico.
	TraesCS6B02G368300	A0A1D6ATD5	XTH	Biogénesis de la pared celular.
19	TraesCS7B02G375600	A0A1D6C5B8	POD	Respuesta estrés oxidativo.
	TraesCS7B02G376400	A0A1D6C2E6	Kinase	Respuesta a estrés biótico y abiótico.
20	TraesCS7D02G500300	A0A341Z6N1	RSTK	Respuesta a estrés biótico y abiótico.

Crom = Cromosoma; BA = Bloque de asociación; XTH = Xiloglucano endoTransglucosilasa-Hidrolasa; TTHV = Tionina tipo 5; CytB₅₆₁ = CitocromoB₅₆₁; ARF = Factores de respuesta a auxinas; RSTK = Quinasas de serina/treonina; POD = Peroxidasas; TPK = Tiaina pirofosfoquinasa; LOX = Lipogenasas; DIR = Proteína dirigente; RSTK = Quinasa de ciclina N; UGT = UDP-glicosiltransferasa; RING-E3 = Ligasas RING tipo E3; ALT1,2 = Alanina aminotransferasa 1 y 2; SEP2 = ortólogo del gen SEPALLATA 2 de *A. thaliana*; DREB2 = Proteína de unión a elementos sensibles a la deshidratación; RLK = Receptor de serina/treonina; GLP = Germinal; GRF4-D1 = Factor de regulación de crecimiento D1; DGK = Diacilglicerol quinasa; β-1,3-glucanos = Glucano endo-1,3-β-D-glucosidasa; EF-Tu = Factores de elongación Tu; E3-U = Ligasas de ubiquitina E3; HSF = Factor de transcripción de choque térmico; ARN Helicasa = ortólogo del gen de EDA15 de *A. thaliana*.

cionados con el proceso de aclimatación. Estos resultados son similares a los encontrados por Kosová *et al.* (2013) quienes observaron la expresión de proteínas de regulación de respuesta al estrés y del desarrollo, además de proteínas de defensa y proteínas involucradas en la restauración de la división celular durante el proceso de aclimatación al frío en trigos de primavera e invierno. Otro estudio realizado por Wójcik-Jagła *et al.* (2021) también mostró la expresión de proteínas de respuesta al estrés, además de proteínas de choque térmico relacionadas con la tolerancia a la congelación y proteínas implicadas en funciones estructurales al estudiar la respuesta a la desaclimatación en cebada. Particularmente, notaron una sobreexpresión de enzimas Peroxidasas en variedades susceptibles, lo que muestra la importancia de dichas proteínas en los mecanismos de respuesta a la desaclimatación al frío.

En este sentido, las proteínas quinasas en sus distintas formas han sido reportadas como elementos clave en la traducción de señales que responden a diversos tipos de estrés en las plantas (Calliste *et al.* 2008, Sinha *et al.* 2011). Un ejemplo de ello, son las quinasas RLK implicadas en la señalización durante el reconocimiento de patógenos y la posterior activación de los mecanismos de defensa (Afzal *et al.* 2008). Otras quinasas denominadas RSTK intervienen en la regulación del desarrollo y las vías de señalización de autoincompatibilidad, así como en procesos de resistencia a enfermedades (Goring y Walker 2004).

En trigo, el gen WPK4 que codifica una proteína RSTK es reconocido por desempeñar funciones de control en el metabolismo del nitrógeno y la asimilación del carbono durante períodos de baja temperatura (Ikeda *et al.* 1999). Por otro lado, el estudio de genes homólogos de WPK4 en maíz y arroz sugieren la expresión diferencial del gen en las distintas especies en respuesta a estímulos ambientales, sobre todo en la exposición a bajas temperaturas (Ohba *et al.* 2000). De igual manera, las proteínas de caja F desempeñan funciones importantes en las respuestas a tensiones bióticas a través de la vía de la ubiquitina (Yee y Goring 2009, Zhou *et al.* 2015). También se ha notado su expresión en pro-

cesos cruciales en las plantas, como la embriogénesis, las respuestas hormonales, el desarrollo de las plántulas, la organogénesis floral y la senescencia (Xu *et al.* 2009). En trigo, algunos genes de caja se asocian con la tolerancia a estrés de tipo oxidativo, hídrico y salino (Zhou *et al.* 2014, Wang *et al.* 2020). Por su parte, los genes homeobox son señalados por intervenir en el desarrollo reproductivo y en la señalización durante estrés abiótico (Tan e Irish 2006, Jain *et al.* 2008). Mientras tanto, a las enzimas Glicosiltransferasas (UGT) se les atribuye procesos de regulación hormonal y de biosíntesis de compuestos secundarios implicados en el crecimiento, desarrollo y resistencia a enfermedades en algodón (He *et al.* 2018).

Algunos marcadores significativos situados en los brazos largos de los cromosomas 2A, 2B y 2D evidencian regiones genómicas coincidentes. Particularmente en los cromosomas 2B y 2D donde se pueden observar BA conformados por varios marcadores. Dichas regiones evidencian la presencia de proteínas Lipogenasas (LOX), las cuales desempeñan un papel fundamental en procesos fisiológicos de las plantas, como la germinación, crecimiento, desarrollo y respuestas al estrés por calor y salinidad (Shaban *et al.* 2018, Viswanath *et al.* 2020). Por otro lado, el BA situado en el cromosoma 2B expresó algunos genes documentados en bases de datos, el primero es un ortólogo del gen SEP2 reportado en *Arabidopsis thaliana*, el cual es un gen perteneciente a la familia de reguladores transcripcionales de caja MADS de tipo II involucrado en la diferenciación y regulación floral (Moore *et al.* 2005). El otro gen es DREB2, cuya expresión es inducida por el frío y la deshidratación (Akbudak *et al.* 2018).

Dado que la mayoría de las proteínas expresadas en los genes pertenecientes a los BA formados por los marcadores significativos apuntan a la expresión de factores de respuesta a diversos tipos de estrés, los cuales dependen en gran medida de factores exógenos y endógenos como la temperatura del ambiente, la disponibilidad de agua, el fotoperíodo, entre otros, se puede denotar su inferencia en la determinación del hábito de crecimiento, que como bien se menciona ha sido atribuida principalmente

a mutaciones genéticas del gen de vernalización Vrn1. Lo anterior, reafirma las teorías de algunos autores (Saisho *et al.* 2011, Chen y Dubcovsky 2012, Shcherban y Salina 2017) sobre la posible acción de genes desconocidos en la expresión de Vrn1 y en el complejo genético regulador de la floración.

CONCLUSIONES

Se proporciona información adicional para comprender las funciones potenciales de nuevos genes en la determinación del hábito de crecimiento en *Triticum aestivum*. Los resultados identifican 20 regiones genómicas ubicadas en 11 cromosomas con posibles genes candidatos, cuyo estudio y caracterización puede ser base en la predicción genómica del hábito de crecimiento en colectas no clasificadas.

La presencia de un abundante bloque de asociación cercano al gen de vernalización Vrn1, que es sumamente importante en la determinación del hábito de crecimiento, es un indicador de la confiabilidad de los métodos utilizados en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el apoyo financiero para el desarrollo de este proyecto. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo a través de una beca de doctorado. Agradecemos al CIMMYT a través de su iniciativa *Seeds of Discovery* por generar y compartir los datos genotípicos de trigo utilizados en la presente investigación.

LITERATURA CITADA

- Afzal AJ, Wood AJ, Lightfoot DA (2008) Plant receptor-like serine threonine kinases: Roles in signaling and plant defense. *Molecular Plant Microbe Interactions* 21: 507-517.
- Akbudak MA, Filiz E, Kontbay K (2018) DREB2 (dehydration-responsive element-binding protein 2) type transcription factor in sorghum (*Sorghum bicolor*): genome-wide identification, characterization and expression profiles under cadmium and salt stresses. *3 Biotech* 8: Article number 426. DOI: 10.1007/s13205-018-1454-1.
- Calliste DJ, Popova OV, Dietz KJ, Gollack D (2008) The SNF1-type serine-threonine protein kinase SAPK4 regulates stress-responsive gene expression in rice. *BMC Plant Biology* 8: Article number 49. DOI: 10.1186/1471-2229-8-49.
- Chen A, Dubcovsky J (2012) Wheat TILLING mutants show that the vernalization gene VRN1 down-regulates the flowering repressor VRN2 in leaves but is not essential for flowering. *PLoS Genet* 8: e1003134. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003134.
- Danyluk J, Kane NA, Breton G, Limin AE, Fowler DB, Sarhan F (2003) TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. *Plant Physiology* 132: 1849-1860.
- Dixon LE, Karsai I, Kiss T, Adamski NM, Liu Z, Ding Y, Allard V, Boden SA, Griffiths S (2019) VERNALIZATION1 controls developmental responses of winter wheat under high ambient temperatures. *Development* 146: dev.172684. DOI: 10.1242/dev.172684.
- Goncharov NP (2003) Genetics of growth habit (spring vs winter) in common wheat: Confirmation of the existence of dominant gene Vrn4. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 768-772.
- Goring DR, Walker JC (2004) Self-rejection - A new kinase connection. *Science* 303: 1474-1475.
- Ensembl Plants (2021) http://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum. Data consulted: January 16, 2021.

- He Y, Ahmad D, Zhang X, Zhang Y, Wu L, Jiang P, Ma H (2018) Genome-wide analysis of family-1 UDP glycosyltransferases (UGT) and identification of UGT genes for FHB resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology* 18: Article number 67. DOI: 10.1186/s12870-018-1286-5
- Huang M, Liu X, Zhou Y, Summers RM, Zhang Z (2018) BLINK: A package for the next level of genome-wide association studies with both individuals and markers in the millions. *GigaScience* 8: gij154. DOI: 10.1093/gigascience/gij154
- Ikeda Y, Koizumi N, Kusano T, Sano H (1999) Sucrose and cytokinin modulation of WPK4, a gene encoding a SNF1-related protein kinase from wheat. *Plant Physiology* 121: 813-820.
- IWGSC (2018) International Wheat Genome Sequencing Consortium. *Science* 361: eaar7191. DOI: 10.1126/science.aar7191
- Jain M, Tyagi AK, Khurana JP (2008) Genome-wide identification, classification, evolutionary expansion and expression analyses of homeobox genes in rice. *FEBS Journal* 275: 2845-2861.
- Khumalo TP, Barnard A, Maphosa L, Tsilo TJ (2017) Impact of growth habit and architecture genes on adaptation and performance of bread wheat. In: Wanyera R (Ed) *Wheat Improvement, Management and Utilization*. IntechOpen. United Kingdom. pp: 77-95.
- Kippes N, Debernardi JM, Vasquez-Gross HA, Akpinar BA, Budak H, Kato K, Chao S, Akhunov E, Dubcovsky J (2015) Identification of the VERNALIZATION 4 gene reveals the origin of spring growth habit in ancient wheats from South Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: E5401-E5410. DOI: 10.1073/pnas.1514883112.
- Konopatskaia I, Vavilova V, Kondratenko EY, Blinov A, Goncharov NP (2016) VRN1 genes variability in tetraploid wheat species with a spring growth habit. *BMC Plant Biology* 16: Article number 244. DOI: 10.1186/s12870-016-0924-z
- Kosová K, Vítámvás P, Prášil IT, Renaut J (2011) Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics* 74: 1301-1322.
- Kosová K, Vítámvás P, Planchon S, Renaut J, Vanková R, Prášil IT (2013) Proteome analysis of cold response in spring and winter wheat (*Triticum aestivum*) crowns reveals similarities in stress adaptation and differences in regulatory processes between the growth habits. *Journal of Proteome Research* 12: 4830-4845.
- Li Y, Xiong H, Guo H, Zhou C, Xie Y, Zhao L, Gu J, Zhao S, Ding Y, Liu L (2020) Identification of the vernalization gene VRN-B1 responsible for heading date variation by QTL mapping using a RIL population in wheat. *BMC Plant Biology* 20: Article number 331. DOI: 10.1186/s12870-020-02539-5.
- Lipka AE, Tian F, Wang Q, Peiffer J, Li M, Bradbury PJ, Gore MA, Buckler ES, Zhang Z (2012) GAPIT: Genome association and prediction integrated tool. *Bioinformatics* 28: 2397-2399.
- Liu X, Huang M, Fan B, Buckler ES, Zhang Z (2016) Iterative usage of fixed and random effect models for powerful and efficient genome - wide association studies. *PLoS Genetics* 12: e1005767. DOI: 10.1186/1471-2156-13-100.
- Moore RC, Grant SR, Purugganan MD (2005) Molecular population genetics of redundant floral-regulatory genes in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Biology and Evolution* 22: 91-103.
- Nazim Ud Dowla MAN, Edwards I, O'Hara G, Islam S, Ma W (2018) Developing wheat for improved yield and adaptation under a changing climate: Optimization of a few key genes. *Engineering* 4: 514-522.

- Ohba H, Steward N, Kawasaki S, Berberich T, Ikeda Y, Koizumi N, Kusano T, Sano H (2000) Diverse response of rice and maize genes encoding homologs of WPK4, an SNF1-related protein kinase from wheat, to light, nutrients, low temperature and cytokinins. *Molecular and General Genetics* 263: 359-366.
- Ouellette LA, Reid RW, Blanchard SG, Brouwer CR (2018) LinkageMapView-rendering high-resolution linkage and QTL maps. *Bioinformatics* 34: 306-307.
- Saisho D, Ishii M, Hori K, Sato K (2011) Natural variation of barley vernalization requirements: Implication of quantitative variation of winter growth habit as an adaptive trait in East Asia. *Plant and Cell Physiology* 52: 775-784.
- Shaban M, Ahmed MM, Sun H, Ullah A, Zhu L (2018) Genome-wide identification of lipoxygenase gene family in cotton and functional characterization in response to abiotic stresses. *BMC Genomics* 19: Article number 599. DOI: 10.1186/s12864-018-4985-2.
- Shcherban AB, Salina EA (2017) Evolution of VRN-1 homoeologous loci in allopolyploids of *Triticum* and their diploid precursors. *BMC Plant Biology* 17: Article number 188. DOI: 10.1186/s12870-017-1129-9.
- Sinha AK, Jaggi M, Raghuram B, Tuteja N (2011) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling and Behavior* 6: 196-203.
- Tan QKG, Irish VF (2006) The Arabidopsis zinc finger-homeodomain genes encode proteins with unique biochemical properties that are coordinately expressed during floral development. *Plant Physiology* 140: 1095-1108.
- Trevaskis B, Bagnall DJ, Ellis MH, Peacock WJ, Dennis ES (2003) MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 13099-13104.
- Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ (2007) The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends in Plant Science* 12: 352-357.
- Trevaskis B (2015) Wheat gene for all seasons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: 11991-11992.
- UniProt (2021) The UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. D480-D489 *Nucleic Acids Research*. 49. <https://www.uniprot.org>. Data consulted: January 22, 2021. DOI: 10.1093/nar/gkaa1100.
- Viswanath KK, Varakumar P, Pamuru RR, Basha SJ, Mehta S, Rao AD (2020) Plant lipoxygenases and their role in plant physiology. *Journal of Plant Biology* 63: 83-95.
- Wang W, Wang W, Wu Y, Li Q, Zhang G, Shi R, Yang J, Wang Y, Wang W (2020) The involvement of wheat U-box E3 ubiquitin ligase TaPUB1 in salt stress tolerance. *Journal of Integrative Plant Biology* 62: 631-651.
- Whittall A, Kaviani M, Graf R, Humphreys G, Navabi A (2018) Allelic variation of vernalization and photoperiod response genes in a diverse set of North American high latitude winter wheat genotypes. *PLoS ONE* 13: e0203068. DOI: 10.1371/journal.pone.0203068.
- Wickham H (2009) ggplot2: Elegant graphics for data analysis. 2th Edition. Vol. 35. Springer. New York, USA. 217p.
- Wickham H (2020) rvest: Easily Harvest (Scrape) Web Pages. R package version 0.3.6. <https://CRAN.R-project.org/package=rvest>. Data consulted: January 22, 2021.

- Wójcik-Jagła M, Daszkowska-Golec A, Fiust A, Kopeć P, Rapacz M (2021) Identification of the genetic basis of response to de-acclimation in winter barley. *International Journal of Molecular Sciences* 22: Article number 1057. DOI: 10.3390/ijms22031057.
- Xu G, Ma H, Nei M, Kong H (2009) Evolution of F-box genes in plants: Different modes of sequence divergence and their relationships with functional diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 835-840.
- Yan L, Loukoianov A, Blechl A, Tranquilli G, Ramakrishna W, SanMiguel P, Bennetzen JL, Echenique V, Dubcovsky J (2004) The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* 303: 1640-1644.
- Yan L, Fu D, Li C, Blechl A, Tranquilli G, Bonafede M, Sanchez A, Valarik M, Yasuda S, Dubcovsky J (2006) The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 19581-19586.
- Yee D, Goring DR (2009) The diversity of plant U-box E3 ubiquitin ligases: From upstream activators to downstream target substrates. *Journal of Experimental Botany* 60: 1109-1121.
- Zhang XK, Xiao YG, Zhang Y, Xia XC, Dubcovsky J, He ZH (2008) Allelic variation at the vernalization genes Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1, and Vrn-B3 in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit. *Crop Science* 48: 458-470.
- Zhou SM, Sun XD, Yin S, Kong X, Zhou S, Xu Y, Luo Y, Wang W (2014) The role of the F-box gene TaFBA1 from wheat (*Triticum aestivum* L.) in drought tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry* 84: 213-223.
- Zhou SM, Kong XZ, Kang HH, Sun XD, Wang W (2015) The involvement of wheat F-box protein gene TaFBA1 in the oxidative stress tolerance of plants. *PLoS ONE* 10: e0122117. DOI: 10.1371/journal.pone.0122117