



UNIVERSIDAD DE TALCA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS
Mención Ingeniería Genética Vegetal

UNIVERSIDAD DE TALCA

Instituto de Ciencias Biológicas

Programa de Doctorado en Ciencia Mención Ingeniería Genética Vegetal

**“Determinantes genéticos del crecimiento y calidad de la madera
de *Eucalyptus cladocalyx*: un enfoque de haplotipo y
asociación de genoma completo”**

“Genetic determinants of growth and stem quality traits in *Eucalyptus cladocalyx*: a genome-
wide association and haplotype approach”

Camilo Eduardo Valenzuela Pinto

Doctor en Ciencias
Mención Biología Vegetal y Biotecnología

2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

Candidato a Doctor : **Camilo Valenzuela Pinto**
Fecha inicio de Tesis : **01/04/2018**
Fecha termino de Tesis : **05/08/2021**

Profesor Guía: Dr. Freddy Mora Poblete
Instituto de Ciencias Biológicas
Universidad de Talca
2 Norte 685, Casilla 747, Talca
[e-mail: fmora@utalca.cl](mailto:fmora@utalca.cl)

Integrantes Comisión de Evaluación

Dr. Carlos Figueroa
Instituto de Ciencias Biológicas
Universidad de Talca
2 Norte 685, Casilla 747, Talca
[e-mail: cfigueroa@utalca.cl](mailto:cfigueroa@utalca.cl)

Dr. Claudio Ramírez
Instituto de Ciencias Biológicas
Universidad de Talca
2 Norte 685, Casilla 747, Talca
[e-mail: cramirez@utalca.cl](mailto:cramirez@utalca.cl)

Dr. Nilo Mejía
Laboratorio de Fisiología y Genómica Postcosecha
Depto. De Mejoramiento Genético y Biotecnología
Instituto de Investigaciones Agropecuarias – CRI La Platina
[e-mail: nmejia@inia.cl](mailto:nmejia@inia.cl)

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer al grupo de investigación, Osvin Arriagada, Carlos Maldonado, Paulina Ballesta y a Freddy Mora Poblete por las enseñanzas y apoyo a través de cada una de las etapas de este proyecto y así poder lograr los resultados buscados.

Al Instituto de Ciencias Biológicas y la Universidad de Talca por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación. Gracias a cada una de las personas que conforman la institución por su amabilidad e incondicional ayuda.

A la comisión de tesis, Dr. Nilo Mejía, Dr. Claudio Ramírez y Dr. Carlos Figueroa por la exhaustiva y constante revisión, por sus recomendaciones y consejos para mejorar significativamente este proyecto de tesis.

Por último, quiero agradecer a todos mis compañeros y a mi familia, por apoyarme aun cuando mis ánimos decaían. En especial, quiero agradecer a mis padres, por su continuo apoyo, entregando sabiduría y experiencia necesaria para renovar energías y cumplir mis metas.

Muchas gracias a todos.

Resumen

La productividad agrícola y forestal de los ecosistemas mediterráneos está siendo fuertemente amenazada por los efectos adversos del cambio climático, en los cuales se incluye el aumento de las sequías severas y cambios en la distribución de las precipitaciones. En la presente tesis, se llevó a cabo un estudio de asociación de genoma amplio (GWAS) para identificar polimorfismos nucleotídicos (SNPs) y bloques de haplotipos asociados con el crecimiento y la calidad de la madera de *Eucalyptus cladocalyx*; una especie arbórea adecuada para ambientes de baja precipitación. El estudio se realizó en un ensayo de progenie-procedencia establecido en un sitio de clima árido de tendencia mediterránea, localizado al sur del desierto de Atacama, Chile. Se aisló ADN desde tejido de hojas de 480 individuos (~10 individuos por familia; de un total de 49 familias de medios hermanos), los cuales posteriormente se genotiparon usando un arreglo de 60 mil SNPs. El genotipaje produjo 3.879 SNPs y 108 bloques de haplotipos. Se encontraron correlaciones fenotípicas significativas entre altura-diámetro, altura-densidad de la madera, y diámetro-densidad de la madera, con una significativa variación entre procedencias. Un total de 87 SNPs, y 3 bloques de haplotipos se asociaron significativamente con caracteres de crecimiento (altura, diámetro a la altura del pecho, y coeficiente de esbeltez) y calidad de la madera (altura de bifurcación, rectitud del fuste y densidad de la madera). Además, mediante una regresión Bayesiana multivariada, se identificaron 11 *loci* en común entre los caracteres de altura, diámetro y densidad de la madera. En general, los análisis revelaron que las asociaciones marcador-característica se localizaron a menos de 3,2 kb de distancia (y dentro) de genes relacionados principalmente con el metabolismo primario, transporte y biosíntesis de pared secundaria. Adicionalmente, se detectaron asociaciones que coincidieron con genes de respuesta a estrés, tales como *GEM-related 5* y *Prohibitin-3*. Los hallazgos aquí presentados proporcionan genes candidatos que podrían estar involucrados en el control genético de características morfológicas que se relacionan con la adaptación de árboles de *Eucalyptus* a ambientes áridos.

Summary

The agricultural and forestry productivity of Mediterranean ecosystems is being strongly threatened by the adverse effects of climate change, including an increase in severe droughts and changes in rainfall distribution. In the present study, we performed a genome-wide association study (GWAS) to identify single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and haplotype blocks associated with the growth and wood quality of *Eucalyptus cladocalyx*, a tree species suitable for low-rainfall sites. The study was conducted in a progeny-provenance trial established in an arid site with Mediterranean patterns located in the southern Atacama Desert, Chile. A total of 87 SNPs and 3 haplotype blocks were significantly associated with growth traits (total height, diameter at breast height, and slenderness coefficient) and stem quality traits (first bifurcation height, stem straightness, and wood density). In addition, eleven loci were identified to be jointly associated between height, diameter and wood density through Bayesian multivariate regression. In general, the GWAS revealed associations with genes related to primary metabolism and biosynthesis of cell wall components. Additionally, associations coinciding with stress response genes, such as *GEM-related 5* and *prohibitin-3*, were detected. The findings of this study provide valuable information regarding genetic control of morphological traits related to adaptation of eucalyptus trees to arid environments.

Tabla de contenidos

Introducción	2
Aspectos generales	2
Selección asistida por marcadores moleculares (SAM) en <i>Eucalyptus</i>	2
Marcadores Microsatelites (SSR) y polimorfismos de nucleótido único (SNP) en <i>Eucalyptus</i>	3
Loci de característica cuantitativa (QTL) en <i>Eucalyptus</i>	4
Estudio de mapeo asociativo de genoma amplio (GWAS) basado en SNP y Haplotipos	4
Mejoramiento de <i>Eucalyptus</i> y tolerancia a la sequia	5
Base genética del desarrollo y crecimiento de la madera en Angiospermas	6
<i>Eucalyptus cladocalyx</i> tolerante a ambientes áridos y semiáridos	7
Diversidad y estructura genética de <i>E. cladocalyx</i>	8
Control genético de características de interés en <i>E. cladocalyx</i>	8
Planteamiento del problema y novedad de la propuesta	10
Hipótesis	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
Materiales y Métodos	12
Material vegetal y fenotipado	12
Evaluación fenotípica de característica cuantitativa	13
Extracción de ADN y genotipado	14
Estructura genética y análisis de parentesco genómico	14
Desequilibrio de ligamiento (LD) en el genoma de <i>E. cladocalyx</i>	14
Formación de bloques de Haplotipos	14
Asociaciones marcador-carácter y caracterización de QTL	15
Resultados	17
Diversidad fenotípica y estructura genética de <i>E. cladocalyx</i>	18
LD en el genoma completo y a nivel cromosómico en <i>E. cladocalyx</i>	19
Mapeo de regiones genómicas en LD en <i>E. cladocalyx</i>	20
Asociaciones marcador-carácter basado en SNP y Haplotipos	21
Genes candidatos para los caracteres de crecimiento y calidad de la madera	24
Discusión	28
Variabilidad fenotípica y genética	28
Estructura genética	29
Estudio de asociación de genoma completo	29
Conclusiones	32
Bibliografía	33
Anexo	48
Glosario	51

Índice de ilustraciones y tablas

Figura 1	Diseño experimental para la búsqueda de genes candidatos	13
Figura 2	Diversidad y correlación fenotípica de <i>E. cladocalyx</i>	17
Figura 3	Regiones de origen (procedencia) y estructura genética de <i>E. cladocalyx</i>	18
Figura 4	Patrón del desequilibrio de ligamiento (LD) en poblaciones de <i>E. cladocalyx</i>	19
Figura 5	GWAS basado en SNPs y Haplotipos para caracteres cuantitativos en <i>E. cladocalyx</i>	21
Figura 6	Mapa físico de las asociaciones marcador-carácter en <i>E. cladocalyx</i>	22
Figura 7	Variabilidad fenotípica de individuos con diferentes combinaciones alélicas de asociaciones marcador-carácter	23
Figura 8	Haplotipo C7HB2 dentro del gen MMT se asocia a altura de bifurcación en <i>E. cladocalyx</i>	26
Tabla 1	Poblaciones de <i>E. cladocalyx</i> presentes en el ensayo Hacienda agrícola Caracas	12
Tabla 2	Desequilibrio de ligamiento (r^2) intracromosomal en <i>E. cladocalyx</i> .	19
Tabla 3	Resumen de Haplotipos determinados en la subpoblación de <i>E. cladocalyx</i>	20
Tabla 4	Marcador asociado a característica ajustados por Bonferroni	24
Tabla 5	Marcador asociado a característica próximo a genes candidatos	25
Tabla 6	Marcador asociado a bi-carácter en <i>E. cladocalyx</i>	27
Tabla S1	SNPs asociados a caracteres según distinto <i>p-value</i>	46
Tabla S2	haplotipo asociados a caracteres según distinto <i>p-value</i>	46
Tabla S3	SNPs asociados en común entre los caracteres de calidad y crecimiento de la madera	46
Tabla S4	87 SNP asociados a 6 caracteres de crecimiento y calidad de la madera	47

Introducción

Aspectos generales

El género *Eucalyptus* L' Hér. comprende alrededor de 700 especies nativas de Australia, las cuales representan los principales recursos de la industria forestal a nivel mundial (Groover y Jansson, 2014). En general, los árboles de *Eucalyptus* son de rápido crecimiento, de buen rendimiento y calidad de madera, lo cual los hace ideales para la obtención de madera aserrada y estructural, papel y bioenergía (Myburg et al., 2014). Además, algunas especies del género son capaces de crecer en diversos ambientes, siendo ampliamente plantadas en climas tropicales y templados (Beech et al., 2017). Debido a esto, los *Eucalyptus* son cultivados en varios lugares del mundo, tales como E.E.U.U., Sudáfrica, Brasil, Portugal, España y Chile, ya sea con fines comerciales u ornamentales (Paine et al. 2011).

Eucalyptus globulus y *Eucalyptus nitens* corresponden a las especies mayormente plantadas en Chile, abarcando el 36% del total de las plantaciones forestales del país (INFOR, 2019). La distribución del *Eucalyptus* se limita principalmente por factores ambientales, tales como bajas temperaturas y disponibilidad hídrica (Kayal et al. 2006; Teixeira et al. 2011). En el contexto nacional, el estudio de especies tolerantes a ambientes áridos se ha tornado cada vez más relevante, debido a que más del 50% del territorio del país posee un clima árido o semiárido (Sanhueza y Poulain, 2007) y se prevé que el cambio climático impactará negativamente en la disponibilidad de los recursos hídricos (Bozkurt et al., 2017).

Selección asistida por marcadores moleculares (SAM) en *Eucalyptus*

La selección asistida por marcadores (SAM) es una práctica habitual en el mejoramiento y aprovechamiento de los recursos genéticos de *Eucalyptus* (Shepherd y Jone, 2005). Esta técnica permite asistir en el proceso de selección mediante la identificación de *loci* que se encuentran asociados con la variación de una característica fenotípica. Se ha reportado la identificación de numerosos *loci* de características cuantitativas (QTL) que afectan la variación fenotípica de caracteres de crecimiento y calidad de la madera en árboles de eucalipto (Thumma et al., 2010; Gion et al., 2011). Para estudios de SAM se utilizan dos tipos de poblaciones de mapeo de QTL: poblaciones de ligamiento basadas en pedigrí (familias), y poblaciones naturales que utilizan enfoques de mapeo de desequilibrio de ligamiento (Semagn et al, 2010; Mackay y Powell 2007). En la primera, las poblaciones de estudio más avanzadas (Por ejemplo: mapeo asociativo anidado) denominadas poblaciones de próxima generación han sido desarrolladas en varios tipos de cultivos y especies forestales para aumentar la diversidad genética y por ende la resolución genética del mapeo (Morrell et al, 2011). Por otro lado, los estudios en poblaciones naturales explotan el hecho de que la recombinación rompe el genoma en pequeños fragmentos que logran correlacionarse con el fenotipo de los árboles (Myles et al., 2009). Actualmente, el mapeo de caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *Eucalyptus* ha convergido con la genómica con estudios de asociación de genoma

completo (GWAS) permitiendo descubrir la base genética detrás de caracteres de interés forestal (Silva- Junior et al., 2015; Grattapaglia et al., 2018).

Marcadores microsatélites (SSR) y polimorfismos de nucleótido único (SNP) en el género *Eucalyptus*

Diferentes tipos de marcadores moleculares han sido usados en estudios de mapeo asociativo, tales como microsatélites o SSR (del inglés: *Simple Sequence Repeat*) y SNP (*single nucleotide polymorphism*) (Contreras Soto et al., 2017). Los SSRs son segmentos de ADN repetitivo en tándems de 1-6 nucleótidos, los cuales expresan su polimorfismo en el número de repeticiones en la secuencia (Gulcher, 2012). Estos marcadores han sido ampliamente utilizados en estudios genéticos de diferentes especies, incluido *Eucalyptus* (Semagn et al., 2010; Morrell et al., 2011; Nadeem et al., 2017; Arriagada et al., 2018). La naturaleza multialélica de los SSRs en el genoma los convierte en los marcadores de ADN más adecuados para los estudios de genética de poblaciones, filogenia y estudios de conservación biológica (Ochieng et al., 2007; Gulher, 2012; Porth et al., 2013). Adicionalmente, los marcadores SSRs han sido de gran utilidad para la elaboración de mapas genéticos y para evaluar la variabilidad y estructura genética en poblaciones de mejoramiento (Ochieng et al., 2007). Asimismo, su alto grado de polimorfismo y herencia codominante los hacen útiles para la identificación de progenitores en individuos, la caracterización de recursos genéticos, la validación de híbridos, la distinción de especies e identificación de parentales (Grattapaglia et al., 2011; Ochieng et al., 2007; Subashini et al., 2013; Wheeler et al., 2013).

Por otra parte, los SNPs son polimorfismos que involucran el cambio de una base en el genoma. Estos marcadores son de naturaleza bialélica, abundantes y están presentes en regiones codificantes y no codificantes (Gupta et al., 2001; Zhang et al., 2005). Por estas propiedades, los SNPs se consideran ideales para la saturación de mapas genéticos, mapeo fino de loci de características cuantitativas (QTL) y SAM (Collard y Mackill, 2008; Khan y Korban, 2012; Silva-Junior et al., 2015). Los avances en las tecnologías de secuenciación de próxima generación a gran escala han posibilitado la obtención de matrices de genotipado de alta densidad en numerosas especies, incluyendo *Eucalyptus* (Silva-Junior et al., 2015; Ren et al., 2016; Bai et al., 2018).

En el año 2014, el genoma de *E. grandis* fue secuenciado y ensamblado, lo cual permitió una gran cantidad de estudios genómicos en diferentes especies del género (Myburg et al., 2014). El tamaño del genoma ha sido estimado en ~ 640 Mb, con 36.376 genes predichos, distribuidos en los 11 cromosomas (Myburg et al., 2014). Recientemente, Silva-Junior et al. (2015) diseñaron un arreglo de aproximadamente 60.000 SNP (EuChip60K) distribuidos en todo el genoma de más de 14 especies de *Eucalyptus*. Estos arreglos de ADN de alta densidad, potencian la selección genómica y el mapeo fino de QTLs por el hecho que una mayor información de sitios genéticos permite una mejor resolución en términos de distancia genética para la asignación de los QTLs y la detección de variantes causales (Sansaloni et al., 2010; Silva-Junior et al., 2015).

Loci de características cuantitativas (QTL) en *Eucalyptus*

Las características de interés en *Eucalyptus* tales como: crecimiento, densidad y calidad de la madera, son controladas por varios genes y elementos reguladores presentes en todo el genoma, los cuales corresponden a regiones denominadas QTLs (Grattapaglia et al., 2009; Mora et al., 2012; Kullán et al., 2012; Freeman et al., 2013). Considerando la naturaleza cuantitativa de las características fenotípicas complejas, numerosos QTLs han sido mapeados en poblaciones naturales y de mejoramiento genético (Grattapaglia et al., 2012; Freeman et al., 2013).

El mapeo de QTLs consiste en identificar una correlación entre la variabilidad del marcador con la variabilidad fenotípica del carácter observado, definiendo así una región genómica responsable de una característica cuantitativa (Grattapaglia et al., 1996). Por ejemplo, Gion et al., (2011) mediante un mapeo de QTLs en una población biparental (híbridos de *E. grandis* × *E. urophylla*), detectaron 117 QTLs asociados a las propiedades de la madera, los cuales explicaron hasta un 15% de la varianza fenotípica. Thumma et al. (2010) identificaron 36 QTL que controlan la variación de características relacionadas a la madera en *E. nitens*. Además, los autores demostraron que dos de estos QTLs controlan la variación en el rendimiento de celulosa y pulpa en *E. nitens* y *E. globulus*. Freeman et al. (2013) identificaron 98 QTLs asociados al crecimiento y calidad de la madera en diferentes familias de *E. globulus* en dos ambientes con diferentes niveles de precipitación. Recientemente, en híbridos de *E. tereticornis* × *E. camaldulensis*, se identificaron 7 QTLs que explicaron entre un 11 y 27% de la variación fenotípica de la densidad estomática, y área y longitud del poro de las estomas (Sumathi et al., 2018). A pesar de las ventajas que posee el mapeo de QTLs utilizando poblaciones biparentales, la baja resolución, en términos de cobertura del genoma, limita la detección de genes candidatos involucrados en la característica de interés (Ukrainetz et al., 2008; Novaes et al., 2009; Thumma et al., 2010; Gion et al., 2011), por lo tanto, el uso de arreglos de ADN de alta densidad y estudios de mapeo asociativo surgen como alternativa valiosa para la investigación de los determinantes genéticos en especies de plantas, incluyendo *Eucalyptus*.

Estudios de mapeo asociativo de genoma amplio (GWAS) basados en SNPs y Haplotipos

GWAS es un enfoque bioestadístico que permite asociar variantes alélicas aleatorias con caracteres cuantitativos de interés, lo cual es sustentado por el modelo infinitesimal que supone que parte del valor fenotípico de un individuo se debe al genotipo que contempla un conjunto de genes independientes con efectos pequeños y acumulativos (Gondro et al., 2013). Los polimorfismos detectados en una población, en conjunto con un genoma de referencia, permiten la identificación de genes candidatos, basado en el desequilibrio de ligamiento (LD) y en las frecuencias alélicas presentes en una población (Thumma et al., 2005; Li et al., 2011; Gondro et al., 2013). De manera similar, la construcción de bloques de haplotipos, correspondiente a grupos de *loci* que se heredan en conjunto, se logra detectar regiones genómicas conservadas (Gabriel et al., 2002). La construcción de haplotipos y su utilización

en GWAS, permite la identificación de regiones en LD con genes candidatos involucrados en diferentes características fenotípicas en una población (Thumma et al., 2005; Gondro et al., 2013; Maldonado et al., 2019). Las asociaciones entre marcador-característica pueden realizarse en poblaciones naturales, explotando eventos de recombinación ancestral que ocurrieron en la población. Con ello, analizando las asociaciones no aleatorias de alelos en *loci* cercanos o en LD, es posible detectar genes candidatos significativamente asociados con un conjunto de marcadores mapeados (Rafiski, 2002; Resende et al., 2001; Kishor et al., 2014). Diversos estudios han validado el mapeo asociativo como un procedimiento apropiado para dilucidar la base genética que subyace a características complejas en especies forestales, tales como *Pinus* spp. (Gonzalez-Martínez et al. 2006, 2008; Lepoittevin et al. 2012) y *Populus* spp. (Ingvarsson et al. 2008; Guerra et al. 2013; Porth et al. 2013). En *Eucalyptus*, los estudios de mapeo asociativo han sido relativamente limitados (Arriagada et al., 2018; Thumma et al., 2005, 2010; Thavamanikumaret al., 2013; Resende 2011; Zhang et al., 2018). Por ejemplo, en un mapeo asociativo de genes candidatos en *E. nitens*, se identificaron dos haplotipos significativamente asociados con el ángulo de microfibrilla de celulosa que explicaron entre el 3 y 6% de la variación total. Interesantemente, en este estudio se demostró que variaciones en la secuencia del gen que codifica para la cinamoil CoA reductasa (CCR) (regula la biosíntesis de ácidos grasos) se relacionaron con la variación en las propiedades de la madera de *E. nitens*, lo cual también fue confirmado en *E. globulus* (Thumma et al., 2005). Por otra parte, Thavamanikumar et al. (2014) identificaron 9 asociaciones estables marcador-característica con una varianza explicada individualmente inferior al 5% para el crecimiento y calidad de madera de *E. globulus*. Recientemente, Zhang et al., (2018) realizaron un estudio de asociación para la resistencia al ataque de *Leptocybe invasa*, un insecto que provoca defoliación en *E. grandis* y *E. tereticornis*. En este estudio, se identificaron 4 marcadores que explicaron entre un 24 y 40% de la variación fenotípica de la resistencia a esta plaga en ambas especies de *Eucalyptus*.

Mejoramiento de *Eucalyptus* y tolerancia a la sequía

Las plantaciones forestales se enfrentan a dos principales desafíos: responder a un aumento en el rendimiento de biomasa de madera y mantener una producción sostenible bajo restricciones ambientales (FAO, 2015). El déficit hídrico es una de las consecuencias del cambio climático, causado por variaciones en los regímenes de lluvia, junto con el aumento de las temperaturas promedio (Way y Oren, 2010; Bartholomé et al., 2015). A nivel de individuos, la baja disponibilidad de agua provoca un estrés hídrico, generando impactos que van desde una reducción en el crecimiento de los árboles (Pita y Pardos, 2001) a la muerte, o bien ocurre una limitación de la superficie de bosques en el caso de sequía severa (Allen et al., 2010, Phillips et al., 2010). Por tal razón, el estrés hídrico es el principal factor ambiental causante de pérdidas de productividad forestal que alteran la calidad y rendimiento maderero (Flexas et al., 2002; Bush et al., 2018).

Los bosques de ciertas especies de *Eucalyptus* se han adaptado a la aridez a través de múltiples vías biológicas, dentro de las cuales se encuentran la reducción de su crecimiento en altura y

diámetro junto a un aumento en la densidad de madera, las cuales se asocian con variaciones de diferentes características vasculares (Pfautsch et al., 2016; Saadoui et al., 2017). En teoría la selección natural de caracteres de crecimiento (altura y diámetro) y de densidad de la madera en *Eucalyptus* se encuentra bajo un compromiso (trade-off) entre eficiencia y seguridad hidráulica (Pfautsch et al., 2016; 2019). Este compromiso se basa principalmente en obtener el máximo consumo de agua posible evitando el riesgo de sufrir embolia. Así en los bosques de *Eucalyptus* más lluviosos se han encontrado arboles de gran altura y baja densidad (ej. *E. globulus*) y en bosques xerófitos se han reportado arboles pequeños en altura y de alta densidad de la madera (ej. *E. cladocalyx*). Dado este compromiso es que los bosques que albergan arboles de gran altura han sido fuertemente afectados por los efectos del cambio climático, producto de la reducción y cambios en las precipitaciones provocando fenómenos de embolia (Pfautsch et al., 2016; Olson et al. 2018).

La tolerancia a la sequía difiere entre árboles del género *Salix*, *Populus* y *Eucalyptus*, los cuales presentan un crecimiento relativo en ambientes con sequía frecuente (Pita et al., 2005; Teulières et al. 2007; Bush et al., 2011). En general, los árboles de *Eucalyptus* resistentes a la sequía muestran una mayor proporción raíz/tallo, menor altura y diámetro del fuste, con diámetro de vasos vasculares más estrechos y mayor densidad de la madera (Susiluoto y Berninger 2007; Saadoui et al., 2017). Además, algunos híbridos presentan una mayor tolerancia a la sequía que sus especies. Por ejemplo, híbridos de *E. grandis* × *E. tereticornis* han mostrado una mayor resistencia a la sequía que *E. grandis*, pero menor que *E. tereticornis* (FAO, 1982). Estas diferencias a nivel de especie también se encuentran a nivel de genotipo, permitiendo con ello identificar y seleccionar aquellos con mayor capacidad para crecer en ambientes con déficit hídrico (Wang et al., 2003; Polle et al., 2006).

Bases genéticas del desarrollo y crecimiento de madera en Angiospermas

La madera es producida por el cambium vascular, cuyos meristemas laterales se dividen para proporcionar células hijas que se diferencian en xilema secundario (madera) hacia el centro del tallo, o floema secundario (corteza interior) hacia el exterior del tallo (Larson, 1994). De acuerdo con la literatura, existen numerosos genes cuya expresión génica es regulada durante el desarrollo de la madera, siendo los procesos moleculares bien conservados entre angiospermas (Schrader et al., 2004; Etienne Paux 2005; Zhao et al. 2005; Hirakawa y Bowman 2015). Los factores de transcripción de dominios NAC y MYB han sido definidos como reguladores maestros del desarrollo y crecimiento de la madera (Brady et al. 2011; Taylor-Teeple et al. 2015; Zhong and Ye 2015). Generalmente, factores de transcripción de dominio NAC ocupan el nivel más alto en esta jerarquía, y regulan a los factores de transcripción relacionados a MYB, quienes a su vez regulan genes que codifican enzimas que participan en la síntesis de los componentes de la madera. En condiciones de sequía, sobre el 25,1% de genes que codifican para factores de transcripción fueron regulados en el álamo del desierto, *Populus euphratica*, indicando una remodelación masiva de la expresión génica (Tang et al., 2013). Interesantemente, los factores de transcripción de dominio NAC y MYB fueron los grupos más representativos con una sobreexpresión génica en respuesta al estrés por

sequía. Adicionalmente, varios estudios han demostrado que ocurre una expresión diferencial de genes asociados con varias fitohormonas, principalmente auxinas, etileno, ácido abscísico y brasinosteroides, siendo estas moléculas claves que regulan y coordinan múltiples procesos de desarrollo y de respuesta a estrés (Cohen et al., 2010; Thumma et al., 2012; Tang et al., 2013). Junto a una inhibición en el crecimiento en *Eucalyptus*, análisis transcriptómicos también han revelado una fuerte inhibición en la expresión de genes relacionados al metabolismo, división celular, expansión de tejidos y propiedades de la pared en condiciones de sequía (Cohen et al., 2010; Thumma et al., 2012; Tang et al., 2015). Por lo tanto, varios genes relacionados a la pared celular (ej. pectina esterasa, o-metiltransferasa, expansinas, celulosa sintasa, lacasas, quinasas asociadas a pared y endoxyloglucano transferasa) están siendo regulados en respuesta al déficit hídrico (Cohen et al., 2010; Thumma et al., 2012; Spieß et al. 2012; Tang et al., 2015). En *E. cladocalyx*, se ha observado que al menos 78 genes expresados en tallo, cuya función es desconocida, están siendo regulados bajo condiciones de estrés hídrico, los cuales podrían jugar un papel clave en caracteres complejos relacionados a la madera (Spokevicius et al., 2017).

***Eucalyptus cladocalyx* tolerante a ambientes áridos y semiáridos**

Para definir la adaptabilidad de especies o genotipos a un determinado ambiente, la generación de ensayos de progenie/procedencia es una práctica ampliamente utilizada en el mejoramiento forestal (Kremer et al., 2014). En estos ensayos, inicialmente se evalúan procedencias o poblaciones representativas de la distribución natural de la especie, y en sitios similares, con el fin de controlar el efecto ambiental como una causa de la variación fenotípica (O'Brien et al. 2007). Posteriormente, a través de la estimación de parámetros genéticos, tales como la heredabilidad, correlaciones genéticas entre características y la predicción de los méritos genéticos, se seleccionan árboles con fenotipos favorables (O'Brien et al. 2007).

Algunas especies de *Eucalyptus* se clasifican como árboles con gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales (Teulières et al. 2007; Bush et al., 2018). *E. cladocalyx*, por ejemplo, endémico del sur de Australia, ha sido clasificado como una especie bien adaptada a ambientes áridos con tolerancia moderada a suelos salinos (Gleadow y Woodrow et al. 2002; Clarke et al. 2009; Mora et al. 2009). La madera de *E. cladocalyx* es dura y pesada, muy resistente a la intemperie y al ataque de insectos, siendo útil para postes de soporte, construcción y uso ornamental (Clarke et al., 2009; Bush et al., 2015). En Australia, esta especie ha sido extensivamente plantada debido a su capacidad de crecer en sitios con baja precipitación, y cuyo destino es la producción de madera, miel, postes y remediación ambiental (Bush et al. 2011; Bush et al. 2018). *E. cladocalyx* posee una de las maderas más resistentes a la biodegradación (clasificación 1 de durabilidad natural, Bush et al. 2011), siendo posible su utilización como postes de soporte agrícola naturalmente durables, en remplazo de postes tratados con metales pesados.

E. cladocalyx fue introducido en Chile con la intención de generar recursos madereros y melíferos en ambientes con baja disponibilidad hídrica (Mora et al., 2009). Con ello, diversos ensayos de progenie/procedencia han sido establecidos en estas condiciones para evaluar e

identificar genotipos tolerantes que presenten fenotipos favorables para el crecimiento y calidad de la madera (Mora et al. 2009; Cané-Retamales et al. 2011; Contreras-Soto et al. 2011; Mora y Saavedra 2012).

Diversidad y estructura genética de *E. cladocalyx*

E. cladocalyx es nativo del sur de Australia, donde crece en forma natural en cuatro áreas separadas en al menos 500 km (Bush y Thumma 2013; Bush et al., 2015). Los árboles que provienen de la zona sur de las montañas Flinders y hacia la parte superior del golfo Spencer exhiben un mejor crecimiento y forma que en otras poblaciones (Clarke, 2009). Otras poblaciones se ubican en la Península de Eyre, alrededor de Cleve y en una serie de pequeñas poblaciones en la Isla Kangaroo (Clarke, 2009; Bush et al., 2015). La precipitación media anual en estas regiones varía entre 242 y 650 mm con una temperatura media anual de 16 a 17,5°C (Bush y Thumma 2013). Se ha observado que las distintas poblaciones de *E. cladocalyx* presentan un alto nivel de endogamia con una baja diversidad genética intrapoblacional (McDonald et al. 2003; Steane et al. 2011; Bush y Thumma 2013). Sin embargo, el distanciamiento geográfico entre poblaciones ha permitido altos niveles de divergencia genética y niveles moderados de variabilidad genética entre poblaciones naturales (Steane et al. 2011; Bush y Thumma 2013; Mora et al., 2017). La divergencia genética entre poblaciones coincide con diferencias a nivel morfológico encontradas entre las poblaciones de *E. cladocalyx* (McDonald et al. 2003; Bush y Thumma 2013). Por ejemplo, en ensayos de progenie establecidos en la Provincia del Choapa, norte de Chile, los individuos que provienen de diferentes poblaciones naturales exhiben diferencias fenotípicas en altura y diámetro de los árboles (Mora et al., 2009), y rectitud del fuste (Vargas-Reeve et al., 2013). Estos resultados sugieren que existe un potencial para la mejora genética de la especie en condiciones áridas a través del mapeo fino de regiones genómicas responsables de las diferencias fenotípicas presentes en la población.

Control genético de características de interés en *Eucalyptus cladocalyx*

La calidad de la madera de *Eucalyptus* se estudia a través del análisis de diversos parámetros dependiendo de sus usos como madera estructural o la producción de pulpa. Dentro de los caracteres estudiados destacan: crecimiento, densidad de la madera, rectitud del fuste, rendimiento de pulpa, contenido de celulosa y lignina (Kullan et al., 2012; Freeman et al., 2013; Mora et al., 2017). En *E. cladocalyx* se han estudiado diferentes caracteres que son clave para su mejoramiento, los cuales se describen a continuación:

Densidad de la madera: la madera de *E. cladocalyx* es una de las más densas dentro del género *Eucalyptus* con excelente rigidez en sus fibras, clasificada como una de las maderas de mayor durabilidad natural, resistente a la biodegradación, con una vida útil de 25 años o más en contacto con el suelo (Bush et al., 2011; Lundqvist et al., 2017). Además, la densidad de la madera usualmente está relacionada con la resistencia a la sequía en coníferas y angiospermas (Sperry et al., 2006; Rosner et al., 2014). En este contexto, los componentes genéticos que

influyen en la densidad de la madera, y por consiguiente en la tolerancia a la sequía, podrían ser factores claves para la mejora de *Eucalyptus*.

Rectitud del fuste y el patrón de bifurcación de los árboles: Corresponden a características que afectan significativamente a los distintos procesos del aprovechamiento maderero, tales como transporte, procesos de elaboración y uso final. La madera de *E. cladocalyx*, gracias a su elevada densidad de la madera y durabilidad natural, es una alternativa para ser utilizada como madera estructural en la agricultura e industria. Por tal motivo, la identificación de genes candidatos que influyen en la rectitud del fuste y bifurcación de *E. cladocalyx* es crucial en el mejoramiento de la especie y sus usos.

Componentes del crecimiento: Las características relacionadas al crecimiento (altura del árbol, diámetro, y esbeltez) son criterios de selección importantes en los programas de mejora de *Eucalyptus*, debido a que están directamente relacionados con el rendimiento maderero. Adicionalmente, la altura y el diámetro de los árboles permite estimar el coeficiente de esbeltez, el cual es un indicador de la capacidad del árbol para resistir tensiones provocadas por fuertes vientos y otros factores ambientales que provocan mermas en la calidad de madera (Jullien et al., 2013; Eguakun y Oyebade, 2015).

Existe una variabilidad genética considerable en caracteres de crecimiento y densidad de la madera con una heredabilidad de sentido estricto baja-moderada para estos caracteres en *E. cladocalyx* (Bush et al., 2011). En poblaciones de *E. cladocalyx* plantadas en el sur del desierto de Atacama, se ha determinado que el control genético de la rectitud del fuste ($h^2=0,40$), diámetro a la altura del pecho ($h^2=0,30$), y altura ($h^2=0,30$) es relativamente moderado. (Mora et al., 2009; Vargas-Reeve et al., 2013). Más aun, caracteres de crecimiento se encuentran positiva y genéticamente correlacionadas, lo cual indica que ambos caracteres son controlados por genes en común (Mora et al., 2009).

La variabilidad reportada a nivel fenotípico entre procedencias ha permitido identificar regiones genómicas que controlan características relacionadas al crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*. Por otro lado, escasos estudios han utilizado los principios del mapeo asociativo o de QTL para este propósito. En un enfoque de mapeo asociativo, Ballesta et al. (2015) identificaron 6 *loci* asociados con el diámetro a la altura del pecho (DAP) mediante el uso de marcadores inter-microsatélites (ISSR), los cuales explicaron entre 10 y 23% de la variación fenotípica de este carácter en 225 individuos de *E. cladocalyx*. Este estudio es consistente con lo reportado por Arriagada et al. (2018), quienes identificaron 4 marcadores microsatélites asociados con el DAP, los cuales explicaron entre un 7 y un 23% de la variación fenotípica. En esta vía las asociaciones entre marcador/haplotipo y carácter, basadas en un genotipado de alta densidad junto a análisis de LD, permitirán una mayor resolución del genoma para detectar genes candidatos involucrados en las diferencias fenotípicas en caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*.

Planteamiento del problema y novedad de la propuesta

La disponibilidad hídrica es el principal determinante del crecimiento, supervivencia y productividad de las plantaciones de *Eucalyptus* (Adams, 1996). Dentro de las especies de

Eucalyptus que son clasificadas como aptas para ambientes de baja precipitación, *E. cladocalyx* se destaca por poseer una excelente densidad de la madera junto a un fuste levemente ramificado (Clarke et al., 2009; Lundqvist et al., 2017). Además, la especie posee una madera resistente a la biodegradación y de excelente durabilidad natural (Bush et al., 2011). Considerando la disminución de los recursos hídricos en los sistemas productivos, principalmente mediterráneos, es fundamental la generación de conocimiento de los componentes genéticos que modulan el crecimiento y la calidad de la madera en *Eucalyptus* en ambientes áridos.

En *Eucalyptus*, la variación de características relacionadas al crecimiento (altura y diámetro de los árboles) y densidad de la madera está guiada por un compromiso (trade-off) entre eficiencia y seguridad hidráulica evidenciando fenotipos integrados bajo selección (Pfautsch et al., 2016; Petino et al., 2018; Blackman et al., 2019). Estudios genéticos en poblaciones representativas de la distribución natural de *E. cladocalyx* establecidas en la Provincia del Choapa, norte de Chile, han evidenciado variación fenotípica significativa, altos niveles de diversidad genética, cambios en la frecuencia alélica y heredabilidad moderada para caracteres relacionados a la calidad y crecimiento de la madera (rectitud del fuste, altura, diámetro a la altura del pecho y bifurcación) (Mora et al., 2009; Cané-Retamales et al. 2011; Vargas-Reeve et al., 2013). Este resultado ha llevado a la posterior identificación de diversos QTL asociados a características de crecimiento y calidad de la madera, basado en marcadores ISSR y SSR en dos ensayos situados al Norte de Chile (Ballesta et al., 2015; Arriagada et al., 2018). En estos estudios, se detectaron 14 ISSR asociados con la altura, diámetro y rectitud del árbol que explicaron entre 9.8% y 23.4% de la varianza fenotípica con marcadores asociados a más de un carácter (Ballesta et al., 2015). Adicionalmente, se detectaron 7 marcadores SSR asociados con caracteres de crecimiento que explicaron entre un 7% y 23%, y 10 SSR asociados a caracteres de calidad de la madera que explicaron entre un 5.9% y 14% de la variación fenotípica (Arriagada et al., 2018). Los marcadores SSR asociados a crecimiento se posicionaron en los grupos de ligamiento (cromosomas) 6, 7, 8 y 10 mientras que los SSR asociados a calidad de la madera se posicionaron en los grupos 2, 4, 6, 9 y 10 con numerosos QTL asociados a más de una característica (Arriagada et al., 2018; Valenzuela et al., 2019).

Considerando las correlaciones genéticas enmarcadas en un compromiso entre eficiencia y seguridad hidráulica como también *loci* asociados en común entre caracteres, se vuelve relevante identificar genes candidatos responsables de la variación fenotípica observada en *E. cladocalyx* en un ambiente árido. Además, los QTLs detectados en estudios anteriores, no involucran caracteres relacionados a la densidad de la madera y su relación genómica con otras características de interés productivo.

Por lo tanto, la identificación de genes candidatos involucrados en la calidad y crecimiento de la madera, así como la identificación de *loci* en común entre características relacionadas, fue un aspecto clave en el desarrollo de este proyecto.

Tomando en cuenta que: (1) existen características relacionadas genéticamente, como las relacionadas al crecimiento y la calidad de la madera, (2) los ensayos de *E. cladocalyx* establecidos en el sur del desierto de Atacama, representan la distribución natural de la

especie, y por lo tanto poseen gran parte de la variabilidad genética; (3) matrices de ADN de alta densidad posibilitan la detección de un gran número de loci polimórficos involucrados en características de interés de la especie; y (4) enfoques de mapeo asociativo de genoma completo permiten inferir variantes genéticas involucradas en la variación fenotípica presente en poblaciones de mejoramiento forestal, se propuso la siguiente hipótesis:

Hipótesis

Diferencias fenotípicas en características de crecimiento (altura, diámetro, e índice de esbeltez) y calidad de la madera (rectitud del fuste, bifurcación, densidad de la madera) de *Eucalyptus cladocalyx*, se asocian a variantes alélicas de nucleótido único y bloques de haplotipos, los cuales segregan junto a genes que participan en el metabolismo celular y la formación de pared celular.

Objetivo general

Identificar *loci* y genes candidatos específicos y comunes responsables de la variación cuantitativa de diversas características relacionadas al crecimiento y calidad de la madera en familias de medios hermanos *Eucalyptus cladocalyx*, basado en un estudio de asociación de genoma completo.

Objetivos específicos

1. Evaluar la diversidad y estructura genética de subpoblaciones de *E. cladocalyx* establecidas en el norte de Chile, mediante el genotipado con un arreglo de SNPs alta densidad.
2. Examinar el desequilibrio de ligamiento en el genoma completo (inter cromosómico) y a nivel cromosómico (intracromosomal) en subpoblaciones de *E. cladocalyx*.
3. Identificar asociaciones marcador-característica mediante GWAS, basado en polimorfismos de nucleótido único y bloques de haplotipos, y el análisis integrado del genotipo, fenotipo y estructura poblacional de *E. cladocalyx*.
4. Determinar genes candidatos para los principales QTLs relacionados al crecimiento y calidad de la madera de *E. cladocalyx*.

Materiales y Métodos

Material vegetal y fenotipado

La población de estudio consistió en un ensayo de progenie-procedencia de *E. cladocalyx* establecido en un ambiente árido al Norte de Chile. El ensayo está conformado por 49 familias de polinización abierta. Los árboles fueron plantados de acuerdo con un diseño de bloques completos al azar, conformado por 30 bloques, y un individuo de cada familia por bloque. Las familias provienen de cinco localidades australianas (procedencias), representativas de las tres principales macro regiones de ocurrencia natural de la especie, junto a 2 familias de fuentes de semillas nacionales (Tabla 1). El ensayo está localizado en la Región de Coquimbo, Hacienda Agrícola Caracas, 31° 55'S, 71°27'O, a una altitud de 167 msnm, y 201,1 mm de precipitación promedio anual. La identificación de QTLs basados en GWAS y la posterior asignación de genes candidatos se realizó en individuos de 17 años (Fig. 1).

Tabla 1. Poblaciones de *E. cladocalyx* presentes en el ensayo localizado en la Provincia del Choapa, Chile.

Región / procedencia	N° de Familias	Latitud S	Longitud	Precipitación media (mm/año)
Isla Kangaroo				
Flinders Chase	8	35°57'	136°42'E	637,9
Península Eyre				
Cowell	10	33°38'	136°40'E	405,0
Marble Range	4	34°30'	135°30'E	485,1
Flinders Ranges				
Mt. Remarkable	16	32°43'	138°06'E	242,8
Wirrabara	9	33°06'	138°14'E	256,6
Chile-Illapel	2	31°40'	71°14'O	240,0

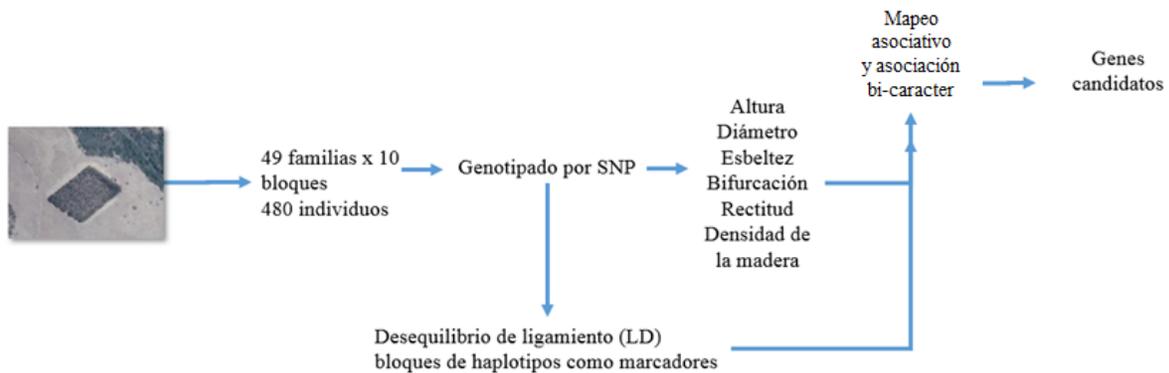


Figura. 1. Diseño experimental para la búsqueda de genes candidatos basado en asociación de genoma completo con marcadores SNPs y bloques de haplotipos. Se utilizaron 47 familias de provenientes de su distribución natural y 2 familias de fuente de semilla local. Se tomaron en promedio 10 individuos por familia, lo cual dio un total de 480 individuos genotipados con un arreglo de SNPs de alta densidad (EUChip60K). Los individuos fueron fenotipados para altura, diámetro a la altura de pecho, coeficiente de esbeltez, altura de la primera bifurcación, rectitud del fuste y densidad de la madera. Asimismo, se evaluó el patrón de desequilibrio de ligamiento (LD) y se detectaron bloques de haplotipos, los cuales también fueron usados como marcadores genéticos en GWAS y posterior búsqueda de genes candidatos.

Evaluación fenotípica de características cuantitativas

Las siguientes características cuantitativas relacionadas al crecimiento y calidad del fuste se consideraron en este estudio:

Densidad de la madera: Estimación indirecta mediante un penetrómetro marca Pilodyn 6J Forest. La profundidad de penetración (en milímetros) se midió considerando 2 a 3 repeticiones por árbol, a la altura del pecho, con una precisión de 2,0 mm entre repeticiones.

Crecimiento: Altura máxima del árbol medida en metros, diámetro a la altura del pecho (DAP; en centímetros) medida al 1,30 m sobre el nivel del suelo. Coeficiente de esbeltez: Relación entre altura y diámetro a la altura del pecho (Jullien et al., 2013).

Rectitud del fuste: Medida en una escala de cuatro niveles: 0, fustes fuertemente torcidos; 1, fustes con niveles moderados de curvatura; 2, fustes ligeramente curvados; y 3, fustes totalmente rectos (Vargas-Reeve et al., 2013; Arriagada et al., 2018).

Altura de la primera bifurcación: Se evaluó en una escala de cinco niveles de acuerdo con Ballesta et. al (2020). Se asignó un valor de 1 a los árboles con una pérdida del eje central en el primer quinto de la altura del árbol, un valor de 2 cuando se produce una pérdida del eje central en el segundo quinto del árbol, un valor de 3 para una pérdida del eje central en el tercer quinto del árbol, un valor de 4 cuando la pérdida del eje central ocurre en la cuarta quinta parte de la altura del árbol y, un valor de 5 implica que los árboles tuvieron una pérdida del eje central en la última quinta parte de la altura del árbol, o bien no mostraron una pérdida del eje apical.

Extracción de ADN y genotipado.

Para los análisis de GWAS en el ensayo de Caracas, se recolectaron hojas de 480 árboles (10 repeticiones en promedio por cada familia), (Fig. 1). El ADN genómico fue aislado de acuerdo con Porebsky et al. (1997) y Doyle y Doyle (1990) en el laboratorio de Epigenética Vegetal de la Universidad de Concepción, Chile. Posteriormente, se genotipó el material genético de los 480 individuos mediante un arreglo de SNP de alta densidad EUChip60K desarrollado para *Eucalyptus* spp. (Silva-Junior et al. 2015). La matriz de genotipado EUChip60K consistió en ~60K SNPs para 14 especies de *Eucalyptus*. La cobertura de este arreglo de SNPs es de 1 SNP/12-20 kb, con una cantidad de 47.069 SNPs a menos de 10 kb de genes descritos para *Eucalyptus*. Un total de 3.879 SNPs ($MAF \geq 0.05$ y $call\ rate \geq 20\%$) se detectaron en el genoma de *E. cladocalyx*, los cuales posteriormente se utilizaron en los análisis de asociación.

Estructura genética y análisis de parentesco genómico

La estructura genética fue definida de acuerdo con un modelo de agrupamiento Bayesiano, el cual se basó en un modelo *admixture* con frecuencias alélicas correlacionadas entre procedencias, considerando como un número probable de grupo (K) entre 1-6. El análisis fue implementando usando 20 simulaciones independientes, las cuales consistieron de 100.000 iteraciones y un periodo de descarte de 10.000 iteraciones en el programa STRUCTURE 2.3.2 (Pritchard et al., 2000). Posteriormente, el valor óptimo de K se determinó de acuerdo con Evanno et al. (2005). Finalmente, los coeficientes de pertenencia de cada individuo en cada grupo fueron usados para construir la matriz Q que se incluyó en los análisis de asociación. Los coeficientes de parentesco se calcularon en el software TASSEL 5.2 (Bradbury et al., 2007), de acuerdo con Loiselle et al. (1995) con 10.000 pruebas de permutación (Hardy y Vekemans, 2002).

Desequilibrio de Ligamiento (LD) en el genoma completo (inter cromosómico) y a nivel cromosómico (intra cromosómico) en subpoblaciones de *E. cladocalyx*

Las medidas de LD entre marcadores SNP se expresaron como la correlación al cuadrado de las frecuencias alélicas (r^2). Este análisis consideró aquellos SNPs con una frecuencia del alelo menor $\geq 0,05$ (MAF) y con una tasa de llamado $\geq 95\%$.

Los valores de r^2 se calcularon en el programa TASSEL 5.2 (Bradbury et al., 2007), con un nivel de significancia de $p < 0,001$, en base a 1.000 permutaciones. El LD crítico se estimó con el percentil 95th de la raíz cuadrada de los valores de r^2 no significativos, cuyo valor fue tomado como umbral por el cual el LD puede ser causado por un ligamiento físico real (Brescghello y Sorrells, 2006; Laidó et al., 2014).

Formación de bloques de haplotipos

La construcción de los bloques de haplotipos se realizó de acuerdo con el método de intervalos de confianza descrito por Gabriel et al. (2002) implementado en Haploview (Barret et al., 2005). Este método toma intervalos de confianza del 95%, y clasifica los LD como: “fuerte LD”, “no concluyente”, o “fuerte recombinación”. Basado en esto, los bloques fueron

definidos sí el 95% de las comparaciones son del tipo “fuerte LD”. Los bloques de haplotipos se transformaron a marcadores multialélicos, para el análisis de asociación haplotipo-característica. La conversión se realizó considerando las combinaciones alélicas (haplotipos) dentro de cada bloque como un alelo independiente.

Asociaciones marcador-característica identificados en *Eucalyptus cladocalyx*.

Se utilizó el estimador lineal insesgado (BLUE; Best Linear Unbiased Estimator) para la corrección de los datos fenotípicos mediante el procedimiento de modelos mixtos (PROC MIXED) de SAS 9.2. Estos valores ajustados se utilizaron posteriormente en el GWAS (pseudo-fenotipos). El análisis de asociación haplotipo-caracter y SNP-caracter, se realizó usando un modelo lineal mixto (MLM; Mixed Linear Model) en TASSEL 5.2 que incluye la matriz de parentesco o kinship (K) y la estructura poblacional (Q) (Yu et al. 2006). El modelo analítico puede ser descrito como:

$$y = S\alpha + Qv + Z\mu + \varepsilon$$

Siendo y el vector de observaciones fenotípicas (ajustadas por el efecto fijo del bloque), α el vector del efecto de marcadores moleculares (SNPs y bloques de haplotipos) de efectos fijos, v el vector del efecto de la estructura poblacional (efecto fijo), μ es el vector del efecto de parentesco (efecto aleatorio), y ε el vector de efectos residuales. S , Q , Z son las matrices de incidencia relacionadas a los vectores α , v y μ (respectivamente).

Se consideró una asociación significativa cuando el valor de probabilidad fue de $p < 0,01$. Adicionalmente, se realizó una prueba de Bonferroni (α / n° SNPs totales) para el ajuste de la probabilidad de asociación, considerando el error tipo I.

Para la determinación de *loci* en común entre características, se realizó una regresión Bayesiana multivariada en SNPTEST (Marchini y Bang, 2016). La probabilidad de que un *locus* esté asociado con dos caracteres se evaluó usando el Factor Bayes (BF) y por la probabilidad a posterior de asociación (PPA). El BF es la relación de probabilidades marginales entre las probabilidades del modelo de asociación (M_1) y un modelo nulo de no asociación (M_0):

$$BF = \frac{P(Data|M_1)}{P(Data|M_0)}$$

Donde las probabilidades marginales para M_1 y M_0 están definidas por:

$$P(Data|M_1) = \int \left(\prod_{i=1}^N \sum_{k=0}^2 P(\Phi|G_{ij} = k, \theta) p_{ijk} \right) P(\theta|M_1) d\theta,$$

θ denota los parámetros de regresión, G_i denota el genotipo del i -ésimo individuo para el j -ésimo marcador, ϕ denota el fenotipo de i -ésimo individuo con N muestras, y

$p_{ijk} = P(G_{ij} = k)$ es la probabilidad de que un genotipo para el j-ésimo marcador en el i-ésimo individuo sea k. La aproximación de Laplace se utilizó para estimar las probabilidades marginales de M1 y M0. La PPA combina la evidencia dada por BF con la probabilidad a priori (π) de que el marcador esté asociado. El valor π y BF se utilizaron para calcular las probabilidades a posteriori (PO):

$$PO = BF \times \frac{\pi}{1 - \pi},$$

Donde π es la probabilidad a priori de que un marcador dado este asociado con un carácter. BF se calculó utilizando un análisis de regresión bayesiano en el software SNPTEST. El PPA se calculó a partir de PO:

$$PPA = \frac{PO}{1 + PO}.$$

Genes candidatos para los QTLs identificados para el crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*.

Se utilizó el genoma de referencia de *E. grandis* (Myburg et al., 2014) para identificar genes candidatos para las características fenotípicas evaluadas, el cual se encuentra disponible en la base de datos EucGenIE (<https://eucgenie.org/>). El gen candidato se asignó a cada asociación marcador-carácter (MTA) por su cercanía basada en el LD crítico (3,2 kb), posicionando el SNP o haplotipo en el centro de la ventana (Maldonado et al., 2019).

Resultados

Diversidad fenotípica y estructura genética de *E. cladocalyx*

Los caracteres de altura, diámetro y densidad de la madera presentaron un patrón contrastante entre las procedencias (Figura 2). Por ejemplo, la densidad de la madera promedio de familias que provienen de Cowell (Península Eyre) fue un 30,15% más densas que familias que provienen de Wirrabara (Flinder Ranges), siendo estos individuos los que presentaron una menor densidad de la madera promedio (20,5 mm).

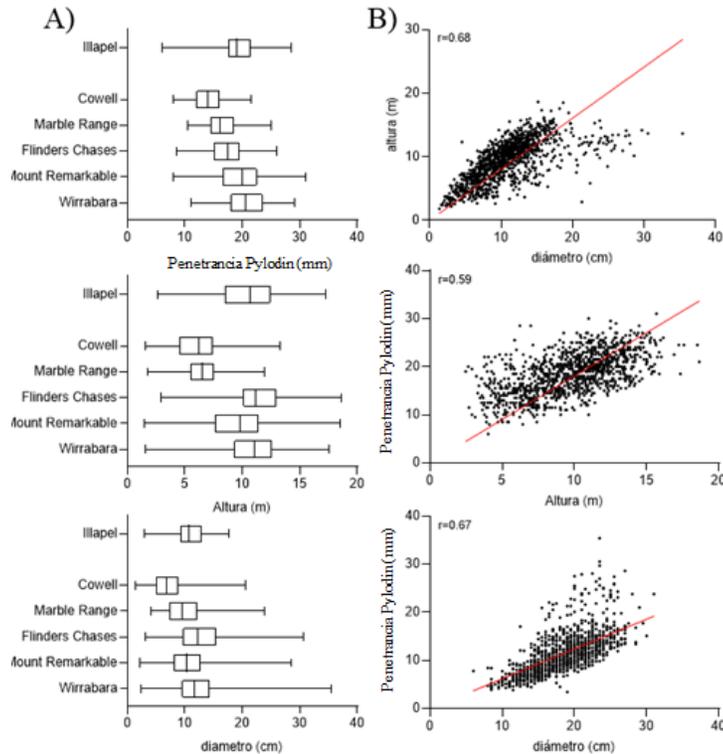


Figura 2: Diversidad y correlación fenotípica de *E. cladocalyx*. A) Gráficos de caja que representan la variabilidad fenotípica entre procedencias. B) Correlación de Pearson entre altura-diámetro, altura-densidad de la madera y densidad de la madera-diámetro. La línea roja corresponde a la regresión lineal entre cada par de caracteres.

Particularmente, las familias que provienen de Cowell y Marble Range que tuvieron mayor densidad de la madera, también tuvieron (en promedio) menor altura y diámetro que las familias de Mt Remarkable y Wirrabara (Figura 2A; Tabla S1). De acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson, el diámetro de los árboles se correlacionó positiva y significativamente con la altura total ($r=0,68$; $p<0,0001$) y con la densidad de la madera ($r=0,67$; $p<0,0001$) (Figura 2B). Consistentemente, la altura de árboles también fue positivamente correlacionada con la densidad de la madera ($r=0,59$; $p<0,0001$). Además, los resultados mostraron que los genotipos de Illapel conservaron un fenotipo similar a familias representativas de la provincia de Flinder Range.

Los 480 individuos de *E. cladocalyx* se agruparon en 3 grupos genéticamente diferenciados, con un índice de fijación (F_{st}) entre grupos que va desde 0.086 a 0.28 (Figura 3 a, b). Las procedencias de la región Flinders Ranges (Mt Remarkable y Wirrabara) e Illapel tuvieron valores de pertenencia al grupo 1 (C1) del 95% (Mount Remarkable), 92% (Wirrabara) y 87% (Illapel), mientras que las procedencias de Cowell y Marble Range (ambas de la región Península de Eyre) tuvieron valores de membresía del 97% y 72%, respectivamente. La procedencia de **Flinders Chase**, de la región Isla Kangaroo, tuvo un valor de pertenencia del 87% al grupo 2 (C2). A nivel individual, el 90% de los individuos que constituyen C1 eran de la región de Flinders Ranges, mientras que solo el 1,6% eran de la Península de Eyre. Noventa y dos por ciento del total de individuos asignados a C2 se originaron en la Península de Eyre (Cowell y Marble Range). El grupo 3 (C3) estuvo compuesto principalmente (94% del total) por individuos de Flinders Chase (Región de la Isla Canguro), mientras que ninguno de los individuos de la Península de Eyre o Illapel fue asignado a este grupo. Los parentescos genómicos están representados por un mapa de calor (Figura 3 c). Los valores de parentesco tuvieron una media de 0 y variaban entre -0,37 y 1,63.

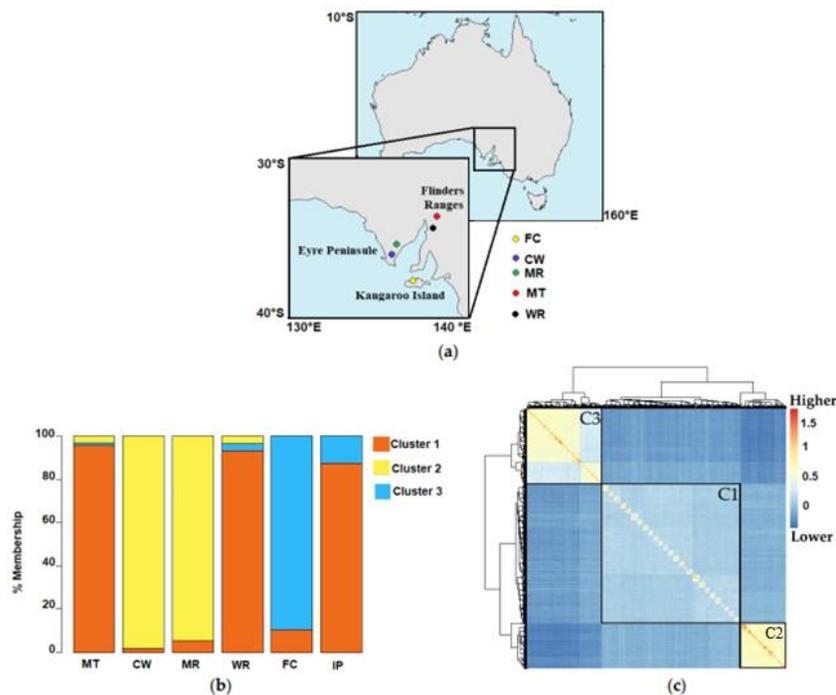


Figura 3. Regiones de origen (procedencia) y estructura genética de *E. cladocalyx*. **A)** Centro de origen natural de *E. cladocalyx* (Sur de Australia). **B)** Estructura genética de las 49 familias de *E. cladocalyx*. Las barras representan el grado de pertenencia (en términos de porcentaje) de cada procedencia a cada uno de los 3 grupos (C1, C2 y C3). C1, C2 y C3 se representan en rojo, amarillo y azul, respectivamente. **C)** Mapa de calor para la matriz de relación genética aditiva (parentesco genómico) entre individuos de *E. cladocalyx*, donde C1, C2 y C3 corresponden a los grupos dados por la estructura genética de la población.

LD en el genoma completo (inter cromosómico) y a nivel cromosómico (intracromosomal) en *E. cladocalyx*

Se estimaron los valores de LD (r^2) entre todas las posibles combinaciones de los 3.879 SNPs transferidos a *E. cladocalyx*, desde el genoma de *E. grandis*, con una ventana de LD de 50 marcadores (135.386 comparaciones). Los pares de SNP con LD estadísticamente significativo ($p_{Diseq} < 0,01$) se consideraron en los análisis de disminución de LD (Figura 4B). El LD promedio a lo largo de todo el genoma de *E. cladocalyx* fue de 0,127, el cual disminuyó dentro de los 3,3 kb. A nivel cromosómico la distancia entre cada SNP varió de 31 pb a ~13 Mb. La máxima distancia a nivel cromosómico de 13 Mb fue encontrada en el cromosoma 10 y la menor distancia de 31 pb en el cromosoma 5 (Tabla 2).

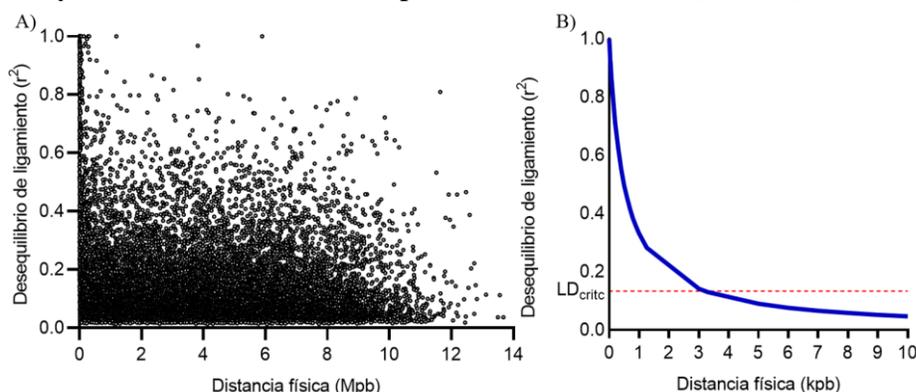


Figura 4. Patrón del desequilibrio de ligamiento (LD) en poblaciones de *E. cladocalyx*. (A) Valores de correlación de la frecuencia alélica (r^2) entre pares de SNPs en función de la distancia genética (Mpb) en todo el genoma. (B) Patrón de LD en función de la distancia genética (kpb). El valor del LD crítico (LD_{crit}) es mostrado por una línea roja (3,2 kb; $r^2 = 0,134$).

El LD promedio fue similar para los 11 cromosomas, con valores entre $r^2 = 0,105$ (cromosoma 3) y $r^2 = 0,157$ (cromosoma 8) a una distancia de 4 y 2,6 kb, respectivamente. Finalmente, el valor crítico del LD con un $r^2 = 0,134$ a los 3,26 kb (Figura 4B) fue utilizado para la asignación de genes candidatos al SNP o haplotipo asociado.

Tabla 2: Desequilibrio de ligamiento (r^2) intracromosomal en los 11 cromosomas de *E. cladocalyx*.

Cromosoma	Distancia menor-mayor (pb)	r^2
1	185-10.517.006	0,114
2	43-9.757.636	0,113
3	32-13.114.192	0,105
4	123-11.184.761	0,123
5	31-10.384.334	0,125
6	63-10.338.152	0,139
7	295-12.437.590	0,126
8	65-8.865.538	0,157
9	43-11.457.357	0,120
10	501-13.675.150	0,149
11	902-11.807.805	0,126

Mapeo de regiones genómicas en desequilibrio de ligamiento (bloques de haplotipos) en *E. cladocalyx*

Se mapeó un total de 109 bloques de haplotipos, considerando los 3.879 SNPs transferidos desde *Eucalyptus grandis* a *E. cladocalyx*. En los 11 cromosomas, los SNPs analizados conformaron entre 5 a 16 bloques de haplotipo conformados principalmente por 2 SNPs (91% del total) (Tabla 3), junto con 7 bloques de haplotipos conformados por 3 SNPs, 1 bloque conformado por 4 SNPs y 1 bloque por 5 SNPs. Los bloques de haplotipos de mayor tamaño

Tabla 3. Resumen de Haplotipos determinados en las subpoblaciones de *E. cladocalyx*. Max (kb) y Min (pb) corresponde a la distancia mayor y menor que abarca el haplotipo en el cromosoma, respectivamente, mientras que Max(SNP) y Min(SNP) corresponde al número máximo y mínimo de SNPs que conforman un haplotipo en cada cromosoma, respectivamente.

Cromosoma	SNPs	Haplotipos	Max (kb)	Min (pb)	Max(SNP)	Min(SNP)
1	246	5	9.5	357	2	2
2	534	16	63.3	319	3	2
3	484	13	7.6	42	2	2
4	233	9	26.5	42	3	2
5	482	15	18.5	123	3	2
6	358	15	175.5	65	5	2
7	312	5	72.5	464	5	2
8	547	12	43.2	81	3	2
9	205	8	10.2	78	2	2
10	215	6	18.7	501	2	2
11	263	5	5.1	1045	2	2
Total	3879	109	450.6	3117	32	-

se presentaron en el cromosoma 6, en el cual se hallaron 15 bloques de Haplotipos (Tabla 3).

Asociaciones marcador-carácter basado en SNP y Haplotipos

El objetivo del mapeo asociativo fue identificar *loci* asociados a la variación fenotípica de caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*. En los análisis de asociación se utilizó la corrección de Bonferroni para considerar el error del tipo I, debido a la multiplicidad de pruebas.

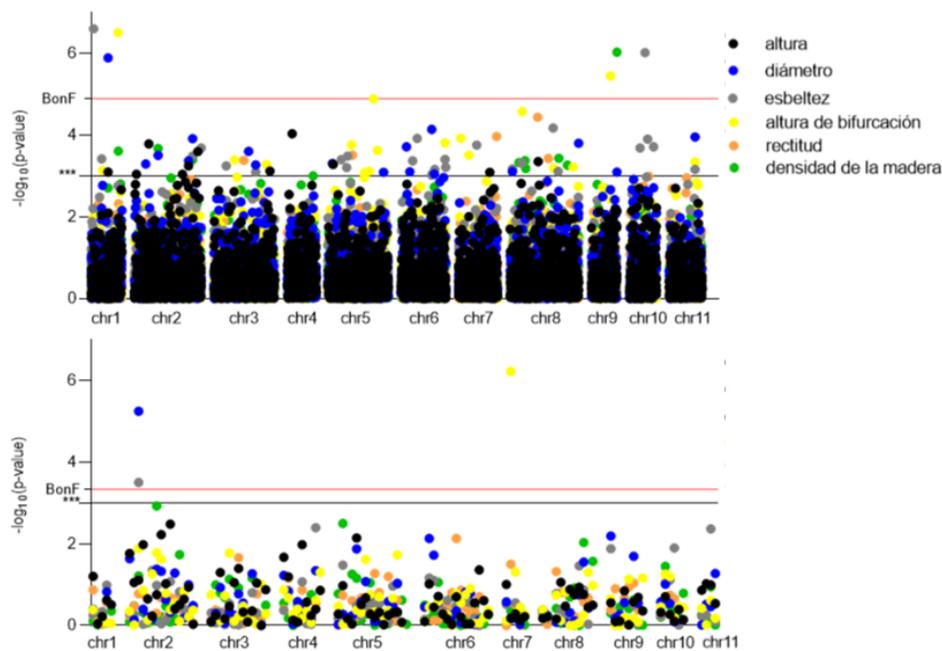


Figura 5. Gráfico de Manhattan de resultados de GWAS basado en SNPs (A) y Haplotipos (B) para caracteres cuantitativos en *E. cladocalyx*. Los puntos en color negro, azul, gris, amarillo, naranja, y verde corresponden a los SNPs y Haplotipos asociados con altura, diámetro, esbeltez, altura de bifurcación, rectitud y densidad de la madera, respectivamente. La línea horizontal en color negro representa al valor p de significancia ($p < 0,001$) y la línea en color rojo corresponde al valor de probabilidad ajustado por Bonferroni (BonF) con un valor p definido como: $-\log_{10}(0,05/3879)$ para SNPs individuales y $-\log_{10}(0,05/109)$ para Haplotipos.

Los análisis mostraron 87 SNPs y 2 haplotipos asociados a los 6 caracteres de crecimiento y calidad de la madera ($p \leq 0.001$) (Figura 5; Figura 6; Tabla S2). Para caracteres de crecimiento (altura, diámetro y esbeltez) 55 SNPs que explicaron entre un 2,4-10,4% de la varianza fenotípica (Tabla S2). Los SNPs asociados se concentraron en regiones genómicas de los cromosomas 1, 2, 6 y 8 de Eucaliptus (Figura 6). Dentro de los MTA, el SNP112 en el cromosoma 1 se asocia a diámetro y altura, mientras que el SNP103 se asocia a esbeltez bajo una estricta prueba de Bonferroni (Tabla 4; Tabla 5). Los individuos que poseen la variante nucleotídica GG del SNP103 son en promedio unos 9,71% más esbeltos en comparación a los individuos que poseen la variante AA (Figura 7). Mientras que aquellos individuos que poseen

la variante AG del SNP112 tienen en promedio un 28,66% más de diámetro que los individuos que poseen la variante GG, siendo el SNP que mayor explica ($R^2= 0,060$) la variación del diámetro (Figura 7; Tabla S4).

Para caracteres de calidad de la madera (rectitud, altura de bifurcación y densidad de la madera) los análisis mostraron 33 SNPs significativamente asociados ($p \leq 0,001$), los cuales explicaron entre el 2,3 y 6,9% de la varianza fenotípica (Figura 5; Tabla S4). Dentro de las MTAs, representadas por los SNPs SNP249 y SNP4880 se asociaron a la altura de bifurcación, considerando la corrección de Bonferroni, y fueron los SNPs que explicaron el mayor porcentaje de la variación fenotípica para el carácter ($R^2= 0,055$ y $0,039$, respectivamente) (Tabla 4). De igual manera, el SNP4981 se asoció a densidad de la madera, siendo el marcador que mayormente explica ($R^2= 0.069$) la variación en la densidad de la madera (Tabla 4). Con ello, desde un punto de vista nucleotídico, aquellos individuos que poseen la variante heterocigota AC del SNP4981 tienen en promedio un 19,86% más densidad de la madera que aquellos individuos que poseen la variante homocigota CC (Figura 7).

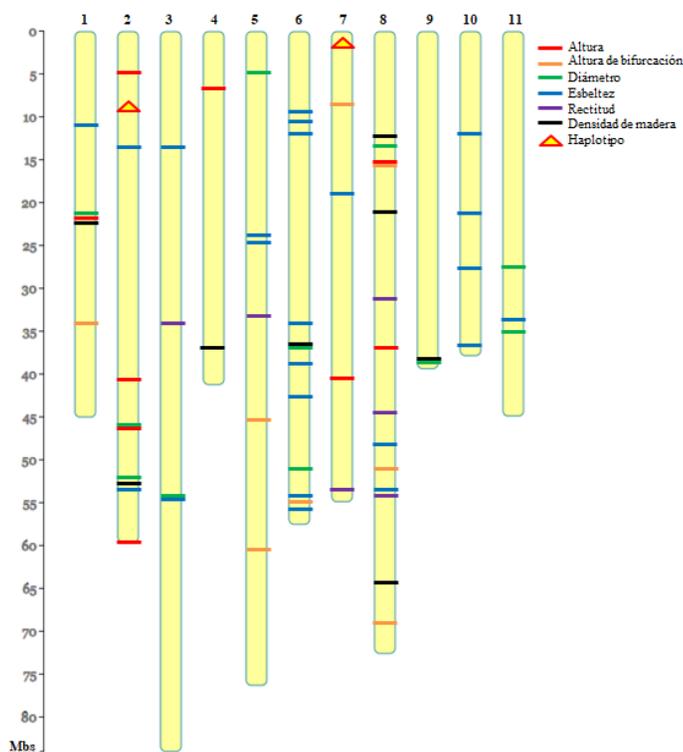


Figura. 6: Mapa físico en Mbs de los 87 SNPs asociados a los 6 caracteres de calidad y crecimiento de la madera distribuidos en los 11 cromosomas de *E. cladocalyx*. Las barras de colores rojo, naranja, verde, azul, morado y negro representan a los caracteres de altura, altura de bifurcación, diámetro, coeficiente de esbeltez, rectitud y densidad de la madera, respectivamente. El triángulo amarillo representa los Haplotipos, siendo C2HB3 asociado a esbeltez y diámetro, y C7HB2 asociado a la altura de bifurcación.

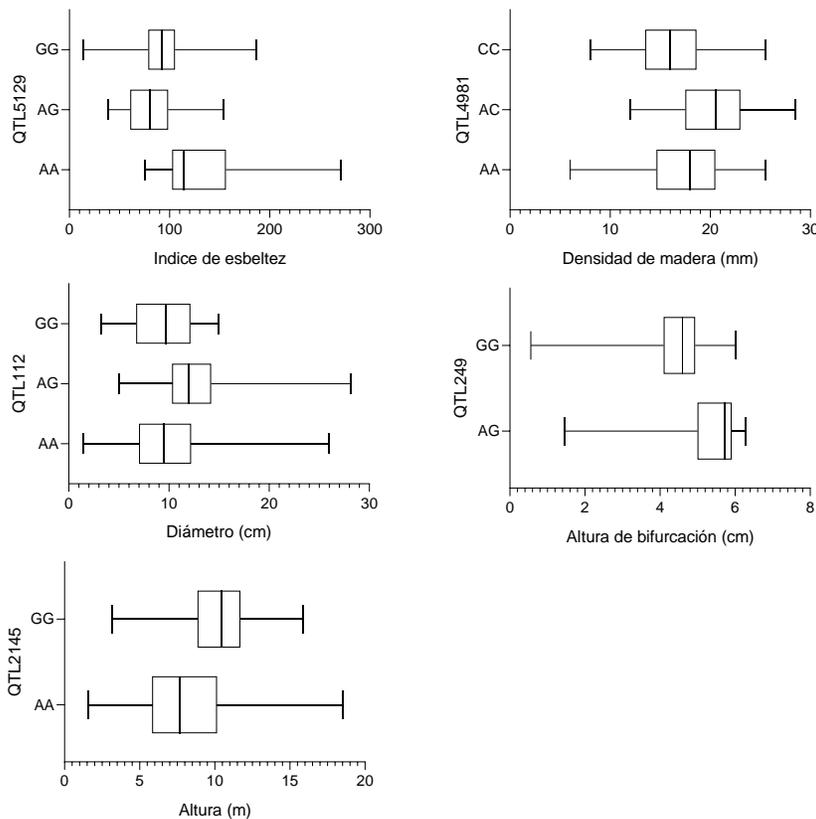


Figura 7: Gráficos de cajas que representan la variabilidad fenotípica de árboles con diferentes combinaciones alélicas en marcadores significativamente asociados con caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*. El recuadro en cada diagrama muestra el cuartil inferior, valor medio y cuartil superior junto a los rangos de la variación fenotípica en la población.

Basados en los 109 marcadores multialélicos (haplotipos mapeados), se detectó un bloque de haplotipo localizado en el cromosoma 7 (C7HB2) significativamente asociado con la bifurcación ($p=6 \times 10^{-7}$), y otro, localizado en el cromosoma 2 (C2HB3) asociado con la esbeltez y el diámetro ($p=3,16 \times 10^{-4}$, $5,66 \times 10^{-6}$, respectivamente) (Figura 5B; Figura 6; Tabla 4). Ambos bloques de haplotipos se asociaron a las 3 características, considerando la corrección de Bonferroni (Tabla 4). El bloque C7HB2 contiene a los marcadores SNP3864 y SNP3865 y explicó un 7.3% de la variación fenotípica de la altura de bifurcación. Cabe destacar que el SNP3865 se asocia de forma individual a la variación en la altura de bifurcación, mientras que el SNP3864 a 91 pb no se asocia a ningún carácter ($p < 0.001$), encontrándose a 91 pb de distancia del SNP3865 con quien conforma el bloque de haplotipo (Figura 8). Por otro lado, el haplotipo C2HB3 se compone de los marcadores SNP456 y SNP457, explicando un 10% y 8% de la variación fenotípica de la esbeltez y diámetro, respectivamente. El haplotipo C2HB3 abarca una región de 10,6 kb y cada SNP que lo conforma no se asocia a ningún carácter de manera individual ($p < 0.001$).

Tabla 4: Los SNP y Haplotipos asociados a la varianza de caracteres de crecimiento y calidad de la madera (MTA) en *E. cladocalyx* de acuerdo al ajuste por Bonferroni.

Caracteres	MTA	Distancia MTA-gen (kb)	R ²	Genes candidatos
Diámetro	QTL1:112	1,117	0,060	Principal súper familia facilitadora (MFS)
Esbeltez	QTL1:103	-	0,068	Sin información
Bifurcación	QTL1:249	10,05	0,057	GOLDEN2-LIKE 1
Bifurcación	QTL9:4880	0,932	0,055	Xiloglucano o-metiltransferasa
Densidad	QTL9:4981	intrón	0,069	LSM motif, RRM_1 domain
Esbeltez	QTLC2HB3	-	0,049	Sin información
Diámetro	QTLC2HB3	-	0,067	Sin información
Bifurcación	QTLC7HB2	exón	0,072	Metionina S-metiltransferasa (MMT)

Identificación de genes candidatos subyacentes a los haplotipos y loci polimórficos asociados significativamente a la calidad de la madera y crecimiento.

Las 87 MTAs se distribuyeron en los 11 cromosomas, principalmente concentrados en los cromosomas 2, 6 y 8, con 2 haplotipos, en los cromosomas 2 y 7 (Figura 6; Tabla 4; Tabla S4). Del total de MTAs, 18 fueron localizadas dentro de regiones codificantes de genes en Eucaliptus, 12 en regiones intergenica, 38 en regiones río arriba o río abajo de genes y 20 regiones genómicas sin una función conocida (Tabla S4). La búsqueda de genes candidatos se realizó considerando una ventana de 3,149 (LD_{critic} ; $r^2 = 0,136$) kb alrededor de los marcadores que fueron significativamente asociados a cada carácter. De acuerdo con esto, los resultados muestran 25 MTAs dentro y a menos de 3,1 kb de genes que codifican para transportadores y enzimas relacionadas al metabolismo de proteínas, ácidos grasos y formación de la pared secundaria (Tabla 5). Primeramente, para caracteres de crecimiento 4 SNPs asociados a altura explicaron de forma individual entre un 2,3-3,8% de la variación fenotípica (Tabla 5).

Tabla 5: Genes candidatos asociados con loci estadísticamente significativos para características de crecimiento y calidad del fuste de *E. cladocalyx*.

Caracter	MTA	R2	posición (kb)	Región	Gen candidato	Posición de gen (kb)	Distancia MTA-gen (kb)	Función
Altura	QTL1:112	0.030	21242	rio arriba	Eucgr.B02728	21243	1,117	súper familia facilitadora (MFS)
Altura	QTL7:3721	0.031	39804	Exón	Eucgr.G02044	39804	0,195	Protoporfirina IX metiltransferasa de magnesio (CHLM)
Altura	QTL2:901	0.026	45971	Intrón	Eucgr.B02601	45969	1,343	Lipoiltransferasa 2
Altura	QTL5:2690	0.025	5978	rio abajo	Eucgr.E00620	5976	2,723	Fosfoglicerato deshidrogenasa 3
Diámetro	QTL1:112	0.030	21242	rio arriba	Eucgr.B02728	21243	1,117	súper familia facilitadora (MFS)
Diámetro	QTL6:3176	0.042	35100	Exón	Eucgr.B00057	35100	0,183	fitanoil-CoA 2-hidroxilasa
Diámetro	QTL11:5601	0.040	32175	intergenica rio abajo	Eucgr.K02411	32176	1,218	Glucosiltransferasa
Esbeltez	QTL7:3526	0.038	18777	rio abajo	Eucgr.G01214	18775	1,618	Familia 10 Glicosil hidrolasa
Esbeltez	QTL10:5245	0.037	35575	Exón	Eucgr.J02998	35574	1,031	Receptor like protein 34
Esbeltez	QTL3:1146	0.033	13113	intergenica, rio arriba	Eucgr.C00778	13114	1,304	B-ketoacil-ACP sintasa 2
Esbeltez	QTL6:2976	0.032	14619	intergenica, rio arriba	Eucgr.F01050	14620	1,222	Proteína quinasa S-locus lectina
Esbeltez	QTL6:3215	0.032	38888	intergenica, rio arriba	Eucgr.F02674	38889	1,336	Laccasa-like 15
Esbeltez	QTL11:5601	0.032	32175	intergenica, rio arriba	Eucgr.K02411	32176	1,218	Glucosiltransferasa
Esbeltez	QTL6:3176	0.031	35100	intergenica, rio arriba	Eucgr.B00057	35100	0,183	Fitanoil-CoA 2-hidroxilasa
Bifurcación	QTL11:5601	0.033	32175	intergenica rio abajo	Eucgr.K02411	32176	1,218	Glucosiltransferasa
Bifurcación	QTL8:4351	0.032	50333	rio abajo	Eucgr.H03660	50332	0,455	proteasa ubiquitin especifica 13
Bifurcación	QTL9:4880	0.055	282160	intergenica rio abajo	Eucgr.I01832.1	28215	0,932	Xiloglucano o-metiltransferasa
Rectitud	QTL3:1382	0.033	34530	Exón	Eucgr.C01907	34529	1,072	GEM-related 5
Densidad	QTL8:3906	0.037	10176	Intrón	Eucgr.H00774	10174	2,37	Acil-ACP tioesterasa
Densidad	QTL8:3991	0.030	18909	intergenica, rio abajo	Eucgr.H01244	18909	0,783	UDP-Glucosil transferasa
Densidad	QTL8:3995	0.028	19101	rio arriba	Eucgr.H01620	19103	1,467	Serina carboxipeptidasa
Densidad	QTL9:4981	0.069	38748507	Intrón	Eucgr.I02798	38747	0,803	LSM motif, RRM_1 domain
Esbeltez	QTLC2HB3	0.101	14584372..14595036	-	-	-	-	Sin información
Diámetro	QTLC2HB3	0.083	14584372..14595036	-	-	-	-	Sin información
Bifurcación	QTLC7HB2	0.073	645762..652876	Exón e intrón	Eucgr.G00060	652125	0,751	Metionina S-metiltransferasa

El QTL1:112 se localizó a 1,17 kb de distancia del gen que codifica para una proteína principal de súper familia facilitadora (MFS) (Eucgr.B02728) (Tabla 5), el QTL2:901 se localizó en el exón de un gen que codifica para una Protoporfirina IX (Eucgr.G02044), el QTL2:901 en un intrón de un gen que codifica para una Lipoiltransferasa (Eucgr.B02601) y el QTL5:2690 a 2,7 kb río debajo de un gen que codifica para una Fosfoglicerato deshidrogenasa (Eucgr.E00620) (Tabla 5). Para el diámetro, 3 MTAs que además de estar en LD con los genes candidatos también fueron los que explicaron el mayor porcentaje de la varianza de diámetro (4-6%). Dentro de estos MTAs, el marcador SNP112 asociado a diámetro y a altura se posiciona a 1,1 kb de distancia del gen que codifica para una proteína MFS (Eucgr.B02728) aportando un 6% a la varianza del diámetro, y 3,1% a la altura total. Además, los resultados mostraron MTAs para el diámetro en un exón del gen que codifica para una Fitanoil-CoA 2-hidroxilasa (Eucgr.B00057) y río abajo (1,2 kb) de un gen que codifica para una glicosiltransferasa de la matriz extracelular (Eucgr.K02411) (Tabla 3). Finalmente, los análisis mostraron 7 MTAs para la esbeltez de los árboles que explicaron de manera individual entre un 3 y 3,8% de la variación fenotípica. Los MTAs se encuentran en LD con genes que codifican para receptores como un receptor quinasa (Eucgr.F01050) a 1,2 kb de distancia del MTA. También se presentaron MTAs a 1,3 kb desde genes que codifican para una b-ketoacil-ACP sintasa (Eucgr.C00778) que participa en el metabolismo de ácidos grasos y una Laccasa-like 15 (Eucgr.F02674) involucrada en la biosíntesis de lignina y flavonoides (Tabla 5).

Para los caracteres de calidad de la madera se observaron 3 MTAs para altura de bifurcación; el QTL11:5601 a 3 kb de una glicosiltransferasa de matriz extracelular, también asociada con el diámetro, el QTL8:4351 a 0,45 kb río abajo de un gen que codifica para un inhibidor de proteasa (Eucgr.H03660) y el QTL9:4880 a 0,932 kb río abajo de una Xiloglucano o-metiltransferasa siendo el segundo mejor valor de R^2 ($R^2= 0,055$) para el carácter (Tabla 5; Tabla S4). Las 4 MTAs de densidad de la madera se presentaron en el cromosoma 8 y 9, más específicamente en un intrón del gen que codifica para una ACP-Tioesterasa (Eucgr.H00774), otro a 1,46 kb río arriba de una serina carboxipeptidasa (Eucgr.H01620), el QTL8:3991 a 0,78 kb de un gen que codifica para una UDP-Glucosil transferasa (Eucgr.H01244) y el QTL9:4981 en un intrón de un gen que participa en el procesamiento de ARN (Eucgr.I02798). Finalmente, los resultados mostraron solo una asociación para rectitud ubicado en el exón de un gen con dominio GER5 (Eucgr.C01907) (Tabla 5).

En los análisis de asociación basados en 108 bloques de Haplotipos, un bloque de haplotipo en el cromosoma 7 (C7HB2) fue significativamente asociado con la bifurcación, y otro bloque de haplotipo localizado en el cromosoma 2 (C2HB3) fue asociado con la esbeltez y el diámetro de los árboles (Tabla 4; Figura 8). En la base de datos de Eucalyptus (Eucgenie), el haplotipo C2HB3 abarcó una región de 10,6 kb no descrita para la especie. De acuerdo con un análisis de *blastn* con *Arabidopsis*, en la región del haplotipo C2HB3 se encontraron varios marcos de lectura abiertos para diferentes proteínas. En otro lugar del cromosoma 7, el haplotipo C7HB2 se asoció con la variación en bifurcación y abarcó el último intrón y exón (91 pb) del gen que codifica para una Metionina S-metiltransferasa (MMT) (Eucgr.G00060) (Figura 8).

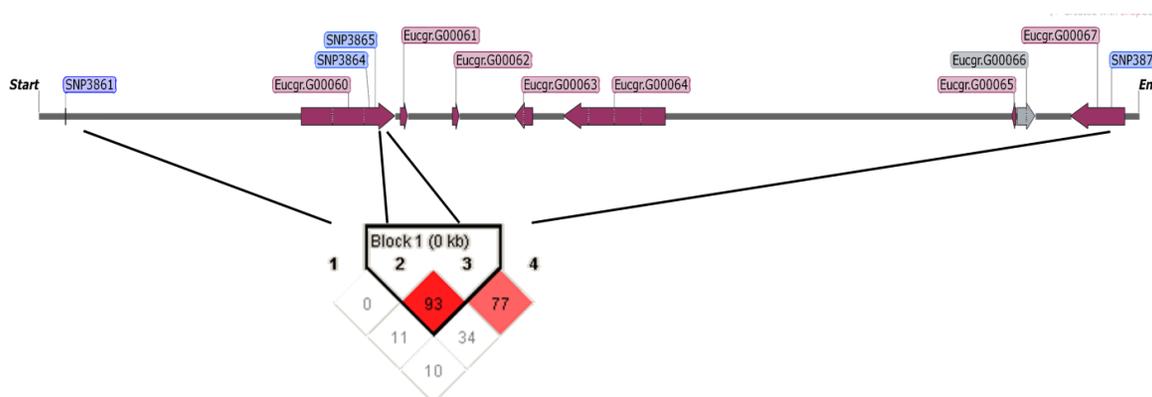


Figura 8. Haplotipo C7HB2 dentro del gen Metionina S-metiltransferasa (MMT; Eucgr.G00060) se asocia a la altura de bifurcación en *E. cladocalyx*.

Finalmente, se identificaron *loci* asociados en común entre caracteres mediante un análisis de regresión Bayesiana multivariada, el cual involucró a aquellos marcadores que previamente fueron asociados para más de un carácter (con un valor de significancia de 0,05). De un total de 94 MTA en común entre característica, solo 14 *loci* fueron identificados ser asociados a más de un carácter, con una moderada ($3 < BF < 10$) y fuerte evidencia ($10 < BF < 30$) de asociación (Tabla 6; Tabla S3). Más específicamente, los análisis mostraron 2 MTA asociados para altura-diámetro, 1 MTA para altura-rectitud, 1 MTA para altura-densidad de la madera, 4 MTA para diámetro-esbeltez, 1 para diámetro-bifurcación y 5 MTA para diámetro-densidad de la madera (Tabla 6). Los *loci* conjuntamente asociados entre características se localizaron a menos de 3,2 kb de genes relacionados principalmente con el metabolismo celular. Interesantemente, se identificó que el SNP3208 asociado para altura-diámetro, diámetro-esbeltez y diámetro-densidad de la madera, el cual se localizó dentro de un exón del receptor de transmembrana de homología RING-H2 (Eucgr.F02605) (Figura 6).

Tabla 6: *Loci* conjuntamente asociados a la variación fenotípica de diferentes características en *E. cladocalyx*. Las siglas dap, esbelt y wd corresponden a diámetro, esbeltez y densidad de la madera respectivamente.

Caracteres	MTA	Posición	BF	PPA	Genes candidatos
Altura-dap	QTL6:3208	38202035	10,3446	0,352	RMR2, metabolismo
Altura-dap	QTL2:901	45970741	7,1649	0,2738	Liposiltransferasa
Altura-rec	QTL5:2482	39238692	6,6771	0,2600	Sin información
Altura-wd	QTL6:2976	14618890	4,8047	0,1661	Quinasa receptora de Lectina
Dap-esbelt	QTL6:3208	38202035	3,7850	0,2145	RMR2, metabolismo
Dap-esbelt	QTL1:32	12815217	5,1890	0,1886	Sin información
Dap-esbelt	QTL10:5177	28037609	4,4170	0,1717	Prohibitin-3, metabolismo
Dap-esbelt	QTL8:4173	3457001	3,9399	0,1494	Sin información
Dap-bif	QTL8:4670	74234258	3,3395	0,2193	Sin información
Dap-wd	QTL1:32	12815217	5,3371	0,4247	Sin información

Dap-wd	QTL6:3208	38202035	14,0289	0,2320	RMR2, metabolismo
	QTL3:1461				Xiloglucano
Dap-wd		43894600	5,7400	0,2041	endotransglicosilasa 6
Dap-wd	QTL2:546	21945603	4,8727	0,1980	Fosfatasa, desfosforilación
Dap-wd	QTL6:3236	41688189	4,6910	0,1461	Ribosoma L39

Discusión

Variabilidad fenotípica y genética

Los resultados indicaron que tanto la altura, el diámetro, la esbeltez, la altura de la primera bifurcación, rectitud del fuste y densidad de la madera variaron significativamente entre las procedencias de *E. cladocalyx* evaluadas. Las variaciones morfológicas en diámetro, altura, rectitud y bifurcación han sido reportadas en edades más tempranas en *E. cladocalyx* (Mora et al., 2009; Vargas-Reeve et al., 2013). En adición, los caracteres de crecimiento y densidad de la madera fueron significativamente correlacionados, lo cual es consistente con varios estudios en *Eucalyptus* (Greaves et al., 1997; Mora et al., 2009; McLean et al., 2014; Pfautsch et al., 2016).

En el presente estudio, se demostró, además, que la esbeltez de los árboles fue positivamente correlacionada con la densidad de la madera, un aspecto no reportado previamente en *E. cladocalyx*. Es importante destacar que la densidad de la madera es un carácter altamente informativo de las propiedades y estado del árbol (Bush et al., 2011). Con ello, diversos estudios han reportado que la densidad de la madera se correlaciona negativamente con la altura y diámetro en árboles de *Eucalyptus*, cuyo fenotipo está asociado con una variación en la tolerancia a la sequía (Dutkowski y Potts, 2012; McLean et al., 2014; Pfautsch et al., 2016; Saadoui et al., 2017). Así, la correlación positiva entre el diámetro de los vasos xilemáticos (carácter hidráulico) y la tasa de crecimiento ha sido observada en varias especies (por ejemplo, Petit et al., 2010; Poorter et al., 2010; Olson et al., 2014), lo cual implica que árboles más altos y de mayor diámetro tienen una menor densidad de la madera. Contrariamente, a medida que la disponibilidad de agua disminuye, los árboles de *Eucalyptus* son de menor altura, y poseen una mayor densidad de madera (Givnish et al., 2014, Pfautsch et al., 2016). Por ejemplo, en *Eucalyptus tricarpa*, se ha reportado que la variabilidad fenotípica presenta una variación a nivel de procedencia con un mayor crecimiento radial y en altura en sitios que presentan una precipitación similar a la de origen (McLean et al., 2014).

A nivel de regiones de procedencia, los árboles de *E. cladocalyx* que exhibieron una menor altura y diámetro provienen de la Península Eyre, y a la vez, estos árboles fueron más esbeltos y con una madera más densa; mientras que árboles que provienen de Isla Kangaroo exhiben fenotipos menos esbeltos, con mejor crecimiento radial y en altura, y su madera es menos densa. De manera similar, Bush et al., (2011) reportaron una correlación negativa entre la densidad de la madera y el diámetro de los árboles de *E. cladocalyx*, siendo los individuos de la Isla Kangaroo los menos densos y de mayor diámetro. La variación de características

relacionadas al crecimiento (altura y diámetro de los árboles) y densidad de la madera probablemente está guiada por un compromiso (*trade-off*) entre eficiencia y seguridad hidráulica (Dutkowski and Potts 2012; Pfautsch et al., 2016), debido a que estos caracteres están estrechamente relacionados en la respuesta adaptativa a la sequía (Hacke et al., 2009; Pratt et al., 2010; Lens et al., 2016; Pfautsch et al., 2016). En este contexto, el compromiso entre la eficiencia y seguridad hidráulica enmarca fenotipos contrastantes en *Eucalyptus* que denotan posibles mecanismos de adaptación a la sequía de la especie (Pfautsch et al., 2016; Petino et al., 2018; Blackman et al., 2019).

Estructura genética

El análisis de estructura genética reveló que la población de *E. cladocalyx* está genéticamente diferenciada en tres grupos homogéneos, lo cual fue consistente con lo reportado por McDonald et al. (2013), Mora et al. (2017), y Arriagada et al. (2018). De esta manera, la mayoría de los individuos fueron agrupados de acuerdo con las tres regiones geográficas de origen (Flinders Range, Eyre Península, e Isla Kangaroo). Las familias de Illapel (F9 y F49) se agruparon junto a familias provenientes de las Montañas Flinders, cuyas familias también presentan caracteres de crecimiento y densidad de la madera similar. Es decir, las familias de Illapel mostraron un fenotipo similar a familias que comparten similitud genética, lo cual podría indicar el posible centro de origen para las familias Illapel y una adaptación local. Por otro lado, a pesar de utilizar un importante número de marcadores para la especie, no se encontró una diferenciación genética entre procedencias cercanas que componen las tres principales regiones de origen, corroborando la proximidad genética de provincias como Mt. Remarkable-Wirrabara y Cowell-Marble Range.

Estudio de asociación de genoma completo

Los primeros estudios de mapeo asociativo que se basaron en genes candidatos lograron identificar alrededor de 20 genes asociados a características de crecimiento y calidad de la madera (Thumma et al., 2005; Sexton et al., 2012). Los avances en la tecnología de secuenciación permitieron pasar de un enfoque reduccionista a uno sistémico, permitiendo encontrar gran parte de la variabilidad genética asociada a los caracteres de interés. Por ejemplo, Thavamanikumar et al. (2014) identificaron 640 SNPs cercanos a 313 genes relacionados con la formación de pared celular, cuya expresión se correlaciona con caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *E. nitens*. Además, utilizando un enfoque de GWAS se ha identificado un SNP (en el cromosoma 6) significativamente relacionado con el volumen de la madera de *E. pellita*, el cual está localizado en una región exónica del gen cuya función esta involucrada en la biosíntesis de celulosa de la pared celular (Müller et al., 2017).

El genoma de *Eucalyptus* presenta un alto grado de diversidad nucleotídica, con las variaciones del tipo SNP principalmente a menos de 10 kb de genes (Silva-Junior et al., 2015). Así se ha demostrado que más del 90% de las asociaciones SNP-carácter se localizan en regiones no codificantes de proteínas (Hrdlickova et al., 2014) donde podrían estar afectando las regiones que controlan la transcripción (promotores, regiones *enhancer*). En *E. cladocalyx*

se identificaron 87 asociaciones SNP-carácter y 3 haplotipo-carácter, de los cuales 50 SNPs y 1 haplotipo se localizaron en regiones no codificantes, con 25 asociaciones a menos de 3,2 kb río arriba o río abajo de genes descritos para *Eucalyptus* (Valenzuela et al., 2021). Por otra parte, 18 SNPs y 1 haplotipo asociado fueron localizados dentro de regiones codificantes, que probablemente podrían estar modificando la estructura de la proteína sintetizada.

De acuerdo con Silva-Junior et al. (2015), los *hotspot* de recombinación se correlacionan positivamente con la diversidad nucleotídica y la densidad de genes relacionados a transportadores de membrana y procesos metabólicos primarios en Eucalipto. En el presente estudio, la mayoría de los marcadores involucrados en las asociaciones se localizaron próximos a genes relacionados con el metabolismo primario, transportadores, y síntesis de la pared secundaria (Valenzuela et al., 2021). Por ejemplo, el SNP112 significativamente asociado con el diámetro y la altura ($R^2 = 0,060$ y $0,031$, respectivamente) se localizó a 1117 pb río arriba de un gen que codifica para un transportador de la superfamilia principal de proteínas facilitadoras (MFS) (Eucgr.B02728), las cuales corresponden a transportadores de múltiples sustratos como azúcares, oligopéptidos y nitratos (Yan, 2015). Incluso, algunos transportadores MFS son transportadores de auxinas, los cuales promueven la tolerancia al estrés por sequía en *Arabidopsis* (Remy et al., 2013). Así, la asociación del SNP112 a diámetro y altura como también su cercanía al gen MFS nos sugiere sobre la existencia de variantes alélicas en sitios regulatorios del gen modificando los niveles de expresión de MFS en la población de *E. cladocalyx* en condiciones de aridez. Consistentemente, un análisis del transcriptoma de *E. cladocalyx* bajo condiciones de sequía reveló que los principales genes que se expresan diferencialmente están relacionados con el metabolismo celular (34%), con la regulación de las MFS y expansin-like B1 (Spokevecious et al., 2017).

En el cromosoma 11, el SNP5601 asociado al diámetro, esbeltez y altura de bifurcación, se encuentra a 1,218 kb de distancia de una glucosiltransferasa (Eucgr.K02411), enzimas que transfieren azúcares a proteínas, lípidos, ácidos nucleicos como también a metabolitos secundarios (Lairson et al., 2008; Weadge y Palcic, 2009). Se encontró gran presencia de MTAs cercanos a enzimas hidroxilasas y metilasas que junto con la glucosilación contribuyen en gran medida en la diversidad del metabolismo primario y secundario en plantas (Tiwari et al., 2016). Asimismo, el bloque de haplotipo C7HB2 significativamente asociado con la bifurcación se encuentra dentro de la región codificante de un gen para metionina S-metiltransferasa (MMT) (Eucgr.G00060), la cual es una enzima que participa en el metabolismo primario de proteínas (Roje, 2006). Interesantemente, la proteína MMT identificada contiene una región adyacente que corresponde a una secuencia de una *heat shock protein* (HSP20), lo cual implica que es una enzima que se activa en condiciones de estrés (Ooijen et al., 2010). Particularmente, este bloque de haplotipo se constituye del SNP3865 y SNP3864 y abarca el último exón e intrón del gen MMT (Valenzuela et al., 2021). En este contexto, es probable que el SNP3865, localizado en el exón del gen MMT sea el causante en parte de la variabilidad fenotípica de la bifurcación, ya que el SNP3864 situado a 91 pb con quien conforma el bloque de haplotipo no fue asociado a ningún carácter.

Considerando el valor de LD crítico como un criterio esencial para la asignación de genes candidatos, en el presente estudio no se identificaron MTAs cercanos a factores de transcripción. No obstante, en el cromosoma 2 se encontraron 15 bloques de haplotipos que evidenciaban regiones genómicas distantes en fuerte LD. Así, el bloque de haplotipo 3 asociado a esbeltez y diámetro (C2HB3) abarca una región de 10,6 kb no descrita en el cromosoma 2. En este mismo cromosoma, el QTL2:1022 que fue significativamente asociado a la altura, está presente a 6,7 kb río arriba de un gen que codifica para un factor de transcripción de dominio LOB (LBD15) (Eucgr.B040190). Siendo los factores de transcripción de dominio LOB reguladores positivos de la expresión de VND7, el cual es un regulador maestro de la diferenciación de células del xilema (Brady et al. 2011; Taylor-Teeples et al. 2015; Zhong and Ye 2015). Por otra parte, el marcador QTL1:249, que supera el umbral de Bonferroni, asociado a la altura de bifurcación, se encuentra a 10 kb de distancia de un gen que codifica para GOLDEN-LIKE 1 (Eucgr.A01857), los cuales son potentes reguladores del desarrollo del cloroplasto y procesos fotosintéticos (Chen et al., 2016). Cabe destacar que 21 de las asociaciones se presentaron en regiones sin una función descrita en *Eucalyptus*, lo cual demuestra el poco conocimiento que se tiene respecto a genes que participan en el crecimiento y calidad de madera en especies del género. Los resultados del GWAS basado en SNP y haplotipos revelaron, desde el punto de vista genético, que las diferencias en crecimiento y calidad de la madera de los árboles de *E. cladocalyx* se deben en parte a variaciones en regiones regulatorias y codificantes en genes que codifican para enzimas que actúan en el metabolismo primario, proteínas transportadoras como MFS y enzimas involucradas en la deposición de la pared secundaria.

El compromiso (*trade-off*) entre la eficiencia y la seguridad hidráulica presente en el género *Eucalyptus* (Pfausch et al., 2016) forma la existencia de fenotipos integrados que condicionan y limitan a los caracteres por interacciones génicas negativas (Lailvaux y Husak, 2014). Según el modelo de adquisición y asignación de recursos (van Noordwijk y de Jong, 1986), este compromiso entre caracteres se debe a la necesidad de distribuir los recursos disponibles entre varias funciones vitales, lo cual imposibilita optimizar todos los caracteres al mismo tiempo (Petino et al., 2018). En *E. cladocalyx*, los caracteres de altura y diámetro fueron significativamente correlacionados con la densidad de madera y presentaron fenotipos contrastantes entre procedencias. En este sentido, 30 SNPs fueron conjuntamente asociados entre caracteres de crecimiento y densidad de la madera. De acuerdo con el análisis multivariado, 14 SNPs resultaron estar conjuntamente asociados. Interesantemente, el SNP3208 (cromosoma 6) fue moderadamente asociado con diámetro y esbeltez, y fuertemente asociado con altura y diámetro, diámetro y densidad de madera. Este SNP fue posicionado en una región exónica del gen RMR2, el cual participa en el tráfico vesicular de múltiples proteínas vacuolares (Occhialini et al., 2016).

Conclusiones

El presente trabajo describe y proporciona anotaciones de genes candidatos individuales y comunes para caracteres de crecimiento y calidad de la madera en *E. cladocalyx*, confirmando la hipótesis de estudio. Los árboles de *E. cladocalyx* cultivados en el sur del desierto de Atacama exhibieron una significativa variación en características relacionadas al crecimiento y calidad de la madera, lo cual permitió identificar 25 genes candidatos únicos y 14 en común entre características. Los marcadores asociados se localizaron dentro y a menos de 3,2 kb de regiones codificantes de genes relacionadas al metabolismo primario, transporte, síntesis de la pared secundaria y señalización frente a condiciones de escases hídrica. De acuerdo con el análisis multivariado, la mayoría de los *loci* en común se asociaron con caracteres de crecimiento y densidad de la madera. Considerando el compromiso entre caracteres de crecimiento y densidad de la madera en *Eucalyptus*, los resultados presentados sugieren que *E. cladocalyx* posee variabilidad genética que permitiría regular procesos relacionados con el metabolismo primario, transporte, síntesis de la pared secundaria y de señalización frente a condiciones de baja disponibilidad hídrica permitiendo eventualmente adaptarse en climas áridos.

Bibliografía

- Adams, M. A. (1996). Distribution of Eucalypts in Australian Landscapes: Landscapes: Landforms, Soils, Fire and Nutrition in 'The Nutrition of Eucalypts'. *The Nutrition of Eucalypts*. 9:61-76
- Aguilar-Martínez, J. A., Poza-Carrón, C., Cubas, P. (2007). Arabidopsis BRANCHED1 Acts as an Integrator of Branching Signals within Axillary Buds. *The Plant Cell*, 19: 458–472.
- Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D. D., Gonzalez, P., Fensham, R., Zhang, Z., Castro, J., Demidova, N., Lim, J. H., Allard, G., Running, S. W., Semerci, A., & Cobb., N. (2010). A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For. Ecol. Manage.* 259: 660–684.
- Arriagada, O., do Amaral Junior, A. T., & Mora, F. (2018). Thirteen years under arid conditions: exploring marker-trait associations in *Eucalyptus cladocalyx*; for complex traits related to flowering, stem form and growth. *Breed. Sci.* 68: 367–374.
- Bai, B., Wang, L., Zhang, Y. J., Lee, M., Rahmadsyah, R., Alfiko, Y., Ye, B. Q., Purwantomo, S., Suwanto, A., Chua, N. H., & Yue, G. H. (2018). Developing genome-wide SNPs and constructing an ultrahigh-density linkage map in oil palm. *Sci. Rep.* 8: 1–7.
- Ballesta, P., Bush, D., Silva, F.F., Mora, F. (2020). Genomic Predictions Using Low-Density SNP Markers, Pedigree and GWAS Information: A Case Study with the Non-Model Species *Eucalyptus cladocalyx*. *Plants (Basel)*. Jan 13;9(1):99.
- Ballesta, P., Mora, F., Ruiz, E., & Contreras-Soto, R. (2015). Marker-trait associations for survival, growth, and flowering components in *Eucalyptus cladocalyx* under arid conditions. *Biol. Plant.* 59: 389–393.
- Bartholomé, J., Mabilia, A., Savelli, B., Bert, D., Brendel, O., Plomion, C., & Gion, J.M. (2015). Genetic architecture of carbon isotope composition and growth in *Eucalyptus* across multiple environments. *New Phytol.* 206: 1437–1449.
- Beech, E., Rivers, M., Oldfield, S., Smith P.P. (2017). Global Tree Search: The first complete global database of tree species and country distributions. *Journal of Sustainable Forestry*, 36(5), 454–489.
- Blackman, C.J., Creek, D., Maier, C., Aspinwall, M.J., Drake, J.E., Pfautsch, S., O'Grady A.P., Delzon, S., Medlyn, B.E., Tissue, D.T., *et al.* (2019). Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology* 39: 910–924
- Blake, S. T., Ricardo, P., Hein, G., Bouvet, J., Mandrou, E., Vigneron, P., & Clair, B. (2012). Age trends of microfibril angle inheritance and their genetic and environmental correlations with growth, density and chemical properties in *Eucalyptus urophylla*. 681–691.

- Bradbury, Zhang, Kroon, Casstevens, Ramdoss y Buckler. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 23: 2633-2635.
- Brady, S. M., Zhang, L., Megraw, M., Martinez, N. J., Jiang, E., Yi, C. S., Liu, W., Zeng, A., Taylor-teeples, M., Kim, D., Ahnert, S., Ohler, U., Ware, D., Walhout, A. J. M., & Benfey, P. N. (2011). A stele-enriched gene regulatory network in the Arabidopsis root. *Mol. Syst. Biol.* 7: 1–9.
- Brewer, P. B., Dun, E. A., Gui, R., Mason, M. G., & Beveridge, C. A. (2015). Strigolactone Inhibition of Branching Independent of Polar Auxin Transport. *Plant Physiology*. 168: 1820–1829.
- Brondani, R. P. V, Williams, E. R., Brondani, C., & D. Grattapaglia. (2006). A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus. *BMC Plant Biol.* 6:1-16.
- Brondani, R.P.V., E.R. Williams, C. Brondani and D. Grattapaglia (2006) A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus. *BMC Plant Biol.* 6: 20.
- Brunner, I., Herzog, C., Dawes, M. A., Arend, M., & Sperisen, C. (2015). How tree roots respond to drought. *Front. Plant Sci.* 6: 1–16.
- Buchanan, B., Holmgren, A., Jacquot, J. y Scheibe, R. (2012). Fifty years in the thioredoxin field and a bountiful harvest. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820, 1822-1829.
- Bush, D., & Thumma, B. (2013). Characterising a *Eucalyptus cladocalyx* breeding population using SNP markers. *Tree Genet. Genomes*. 9: 741–752.
- Bush, D., D. Kain, P. Kanowski and C. Matheson (2015) Genetic parameter estimates informed by a marker-based pedigree: a case study with *Eucalyptus cladocalyx*
- Bush, D., Harwood, C. & Pinkard, E. (2018). Species for changing climates–Australian dryland forestry opportunities. *Aust. For.* 81: 102–115.
- Bush, D., McCarthy, K., & Meder, R. (2011). Genetic variation of natural durability traits in *Eucalyptus cladocalyx* (sugar gum). *Ann. For. Sci.* 68: 1057–1066.
- Bozkurt, D., M. Rojas, J. P. Boisier y J. Valdivieso (2017). «Climate change impacts on hydroclimatic regimes and extremes over Andean basins in central Chile». *Hydrology and Earth System Sciences*. doi: 10.5194/ hess-2016-690.
- Byrne M. E.(2006). Shoot meristem function and leaf polarity: the role of class III HD-ZIP genes. *PLoS Genet.* 2(6):0785–90

- Cané-Retamales, C., Mora, F., Vargas-Reeve, F., Perret, S., & Contreras-Soto, R. (2011). Bayesian threshold analysis of breeding values, genetic correlation and heritability of flowering intensity in *Eucalyptus cladocalyx* under arid conditions. *Euphytica*. 178: 177–183.
- Chen, M., Ji, M., Wen, B., Liu, L., Li, S., Chen, X., Gao, D. y Li, L. (2016). Chen, M., Ji, M., Wen, B., Liu, L., Li, S., Chen, X., Gao, D., & Li, L. (2016). GOLDEN 2-LIKE Transcription Factors of Plants. *Frontiers in plant science*, 7, 1509.
- Clarke, B., McLeod, I., & Vercoe, T. (2009). Trees for Farm Forestry: 22 Promising Species. 232.
- Cohen, D., Bogeat-Triboulot, M.B., Tisserant, E., Balzergue, S., Martin-Magniette, M.L., Lelandais, G., Ningre, N., Renou, J.P., Tamby, J.P., Le Thiec, D., Hummel, I. (2010). Comparative transcriptomics of drought responses in *Populus*: a meta-analysis of genome-wide expression profiling in mature leaves and root apices across two genotypes. *BMC Genomics*.11:630.
- Collard, B. C. Y., & Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 363: 557–572.
- Contreras-Soto, R. I., Mora, F., De Oliveira, M. A. R., Higashi, W., Scapim, C. A. & Schuster, I. (2017). A genome-wide association study for agronomic traits in soybean using SNP markers and SNP-Based haplotype analysis. *PLoS One*. 12: 1–22.
- Contreras-Soto, R., Mora, F., Perret, S., Vargas-Reeve, F., & Cané-Retamales, C. (2011). Predicción bayesiana del comportamiento poblacional de *Eucalyptus cladocalyx* para características binarias de componentes de florecimiento y supervivencia en zonas áridas de Chile. *Interciencia*. 36: 644–649.
- Corrêa, T. R., Augusto, E., Picoli, D. T., De Souza, G. A., Alves, S., Machado, N., Lucas, K., Lopes-mattos, B., Deon, M., De Resende, V., Angelo, E., Zauza, V., & Oda, S. (2017). Industrial Crops & Products Phenotypic markers in early selection for tolerance to dieback in *Eucalyptus*. *Ind. Crop. Prod.* 107: 130–138.
- Corrêa, T.R., Picoli, E.A.T., de Souza, G.A., Condé, S.A., Silva, N.M., Lopes-Mattos, K.L.B., de Resende, M.D.V, Zauza, E.A.V., Oda, S. (2017). Phenotypic markers in early selection for tolerance to dieback in *Eucalyptus*. – *Industrial Crops and Products*, 107:130–138.
- Doeschl-Wilson, B., Vagenas, D., Kyriazakis, I., & Bishop, S. C. (2008). Exploring the assumptions underlying genetic variation in host. *Genet. Sel. Evol.* 40: 241–264.
- Druet, T., & Farnir, F. (2013). Genome-Wide Association Studies and Genomic Prediction, *Methods Mol. Biol.*
- Dutkowski, G. W., & Potts, B. M. (2012). Genetic variation in the susceptibility of *Eucalyptus globulus* to drought damage. *Tree Genet. Genomes*. 8: 757–773.

Eguakun, F.S., & Oyebade, B.A. (2015). Linear and nonlinear slenderness coefficient models for *Pinus caribaea* (Morelet) stands in Southwestern Nigeria. *J. Agri. Vet. Sci.* 8:26–30.

Eilmann, B., Zweifel, R., Buchmann, N., Graf Pannatier, E., & Rigling, A. (2011). Drought alters timing, quantity, and quality of wood formation in Scots pine. *J. Exp. Bot.* 62: 2763–2771.

Eksteen, A. B., Grzeskowiak, V., Jones, N. B., & Pammenter, N. W. (2013). Characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress Stomatal characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress. *South. For.* 1–7.

Etienne Paux, V.C., Marques, C., Mendes de Sousa, A., Borralho, N., Sivadon, P., & Grima Pettenati, J. (2005). Transcript profiling of *Eucalyptus* xylem genes during tension wood formation. *New Phytol.* 167(1):89–100.

Evanno, C., Regnaut, R., & Goudet T. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-262.

Eyles, A., Pinkard, E. A., O’Grady, A. P., Worledge, D., & Warren, C. R. (2009). Role of cortical photosynthesis following defoliation in *Eucalyptus globulus*. *Plant, Cell Environ.* 32: 1004–1014.

FAO, (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy

Fehrmann, R. S., Jansen, R. C., Veldink, J. H., Westra, H. J., Arends, D., Bonder, M. J., Fu J., Deelen, P., Groen, H. J., Smolonska, A., Weersma, R. K., Hofstra, R. M., Buurman, W. A., Rensen, S., Wolfs, M. G., Platteel, M., Zhernakova, A., Elbers, C. C., Festen E. M., Trynka, G., Hofker, M. H., Saris, C. G., Ophoff, R. A., van den Berg, L. H., van Heel, D. A., Wijmenga, C., Te Meerman, G. J., Franke, L. (2011) Trans-eQTLs reveal that independent genetic variants associated with a complex phenotype converge on intermediate genes, with a Major role for the HLA. *PLoS Genetics*.7: e1002197.

Flexas, J., & Medrano, H. (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C3plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann. Bot.* 89: 183–189.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). Global Forest Resources Assessment. 15-34.

Freeman, J. S., Potts, B. M., Downes, G. M., Pilbeam, D., Thavamanikumar, S., & Vaillancourt, R. E. (2013). Stability of quantitative trait loci for growth and wood properties across multiple pedigrees and environments in *Eucalyptus globulus*. *New Phytol.* 198: 1121–1134.

Gabriel, J., Schaffner, R., Nguyen, A., Moore, H., Roy, T., Blumenstiel, S., Higgins, T., DeFelice, D., Lochner, J., Faggart, L., Liu-Cordero, N., Rotimi, A., Adeyemo, K., Cooper, W., Ward, F., Lander, E., Daly N., & Altshuler C. (2002). The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science.* 296(5576); 2225-2229.

- Gion, J. M., Carouché, A., Deweer, S., Bedon, F., Pichavant, F., Charpentier, J. P., Baillères, H., Rozenberg, P., Carocha, V., Ognouabi, N., Verhaegen, D., Grima-Pettenati, J., Vigneron, P., & Plomion, C. (2011). Comprehensive genetic dissection of wood properties in a widely-grown tropical tree: *Eucalyptus*. *BMC Genomics*. 12.
- Givnish, T.J., Wong, S.C., Stuart-Williams, H., Holloway-Phillips, M., Farquhar, G. (2014) Determinants of maximum tree height in *Eucalyptus* species along a rainfall gradient in Victoria, Australia. *Ecology* 95(11):2991–3007
- Gleadow, R. M., & Woodrow, I. E. (2002). Defense chemistry of cyanogenic *Eucalyptus* cladocalyx seedlings is affected by water supply. *Tree Physiol.* 22: 939–945.
- Gondro, C., Werf, J., & Hayes, B. (2013). *Genome-wide association studies and genomic prediction*. Clifton, New Jersey: Humana Press.
- González-Martínez, S. C., Huber, D., Ersoz, E., Davis, J. M., & Neale, D. B. (2008). Association genetics in *Pinus taeda* L. II. Carbon isotope discrimination. *Heredity* (Edinb). 101: 19–26.
- Gonzalez-Matinez, S. C., Wheeler, N. C., Ersoz, E., Nelson, C. D., & Neale, D. B. (2007). Association genetics in *Pinus taeda* L. I. wood properties traits. *Genetics*. 175: 399–409.
- Granda, V., Delatorre, C., Cuesta, C., Centeno, M. L., Fernández, B., Rodríguez, A., & Feito, I. (2014). Physiological and biochemical responses to severe drought stress of nine *Eucalyptus globulus* clones: A multivariate approach. *Tree Physiol.* 34: 778–786.
- Grattapaglia, D., & Resende, M. D. V. (2011). Genomic selection in forest tree breeding. *Tree Genet. Genomes*. 7: 241–255.
- Grattapaglia, D., Bertolucci, F. L., Penchel, R., & Sederoff, R. R. (1996). Genetic mapping of quantitative trait loci controlling growth and wood quality traits in *Eucalyptus grandis* using a maternal half-sib family and RAPD markers. *Genetics*. 144: 1205–1214.
- Grattapaglia, D., Plomion, C., Kirst, M., & Sederoff, R. R. (2009). Genomics of growth traits in forest trees. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 148–156.
- Grattapaglia, D., Vaillancourt, R. E., Shepherd, M., Thumma, B. R., Foley, W., Külheim, C., Potts, B. M., & Myburg, A. A. (2012). Progress in Myrtaceae genetics and genomics: *Eucalyptus* as the pivotal genus. *Tree Genet. Genomes*. 8: 463–508.
- Greaves, B. L., N. M. G. Borralho, C. A. Raymond, and A. Farrington. (1996). Use of pilodyn for the indirect selection of basic density in *Eucalyptus nitens*. *Can. J. For. Res.* 26: 1643-1650.
- Greco, M., Chiappetta, A., Bruno, L., & Bitonti, M. B. (2012). In *Posidonia oceanica* cadmium induces changes in DNA methylation and chromatin patterning. *J. Exp. Bot.* 63: 695–709.

Groover A., Jansson S. (2014) Comparative and Evolutionary Genomics of Forest Trees. In: Fenning T. (eds) Challenges and Opportunities for the World's Forests in the 21st Century. Forestry Sciences, vol 81. Springer, Dordrecht.

Groover, A., & Jones, A. M. (1999). Tracheary Element Differentiation Uses a Novel Mechanism Coordinating Programmed Cell Death and Secondary Cell Wall Synthesis 1. 119: 375–384.

Groover, A., Cronk, Q. (2017). Comparative and Evolutionary Genomics of Angiosperm Trees. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models. 21:6-379.

Guerra, F.P., Wegrzyn, J.L., Sykes, R., Davis, M.F., Stanton, B.J., Neale, D.B. (2013). Association genetics of chemical wood properties in black poplar (*Populus nigra*). New Phytol. Jan; 197(1):162-176.

Guet, J., Fichot, R., Lédée, C., Laurans, F., Cochard, H., Delzon, S., Bastien, C., & Brignolas, F. (2015). Stem xylem resistance to cavitation is related to xylem structure but not to growth and water-use efficiency at the within-population level in *Populus nigra* L. J. Exp. Bot. 66: 4643–4652.

Gulcher J. (2012) Microsatellite markers for linkage and association studies. Cold Spring Harb Protoc. 2012 1;2012(4):425-32.

Gupta, P. K., Roy, J. K., & Prasad, M. (2001). Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. Curr. Sci. 80: 524–535.

Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 4: 97–115.

Hardy, C., & Vekemans, F. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol Ecol Notes. 2: 618-620.

Hirakawa, Y., Bowman, J. L., & Ambrose, B. (2015). A Role of TDIF Peptide Signaling in Vascular Cell Differentiation is Conserved Among Euphyllphytes. Frontiers in Plant Science. 6: 1–10.

Hrdlickova, B., Kumar, V., Kanduri, K., Zhernakova, D.V., Tripathi, S., Karjalainen, J., Lund, R.J., Li, Y., Ullah, U., Modderman, R., Abdulahad, W., Lähdesmäki, H., Franke, L., Lahesmaa, R., Wijmenga, C., Withoff, S. (2014). Expression profiles of long non-coding RNAs located in autoimmune disease-associated regions reveal immune cell-type specificity. Genome Med;6(10):88.

Hudson, C. J., Freeman, J. S., Kullán, A. R. K., Petroli, C. D., Sansaloni, C. P., Kilian, A., Detering, F., Grattapaglia, D., Potts, B. M., Myburg, A. A., & Vaillancourt, R. E. (2012). A reference linkage map for *Eucalyptus*. BMC Genomics. 13: 240.

INFOR. (2019). Anuario forestal 2019. Instituto forestal. Boletín Estadístico N° 168.

- Ingvarsson, P. K., Garcia, M. V., Luquez, V., Hall, D., & Jansson, S. (2008). Nucleotide polymorphism and phenotypic associations within and around the phytochrome B2 locus in European aspen (*Populus tremula*, Salicaceae). *Genetics*. 178: 2217–2226.
- Jullien, D., Widmann, R., Loup, C., & Thibaut, B. (2013). Relationship between tree morphology and growth stress in mature European beech stands. *Ann. For. Sci.* 70:133–142.
- Kayal, W. E., Navarro, M., Marque, G., Keller, G., Marque, C., & Teulieres, C. (2006). Expression profile of CBF-like transcriptional factor genes from *Eucalyptus* in response to cold. *J. Exp. Bot.* 57: 2455–2469.
- Kishor, K., Bandopadhyay, R., and Suravajhala, P. (2014). *Agricultural Bioinformatics*. 3:12-28
- Kozłowski, T.T., & Pallardy, S.G. (2002). Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *Bot Rev.*68:270–334.
- Kremer, A., Potts, B. M., & Delzon, S. (2014). Genetic divergence in forest trees: Understanding the consequences of climate change. *Funct. Ecol.* 28: 22–36.
- Lailvaux, S.P., Husak, J.F. (2014) The life history of wholeorganism performance. *Quart. Rev. Biol.* 89: 285-318
- Lairson, L.L., Henrissat, B., Davies, G.J., Withers, S.G. (2008). Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annu Rev Biochem.* 2008; 77:521-55.
- Lamara, M., Raheison, E., Lenz, P., Beaulieu, J., Bousquet, J., & Mackay, J. (2015). Genetic architecture of wood properties based on association analysis and co-expression networks in white spruce.
- Larson, P. R. (1994). *The Vascular Cambium Development and Structure*. Springer Series in Wood Science. 1:30-120.
- Lei, Y., Yin, C., & Li, C. (2006). Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. 182–191.
- Lepoittevin, C., Harvengt, L., Plomion, C., & Garnier-Géré, P. (2012). Association mapping for growth, straightness and wood chemistry traits in the *Pinus pinaster* Aquitaine breeding population. *Tree Genet. Genomes*. 8: 113–126.
- Lin, L., De Lucas, M., Turco, G., Toal, T. W., Gaudinier, A., Young, N. F., & G. M. Trabucco, N. F. (2014). An *Arabidopsis* gene regulatory network for secondary cell wall synthesis. *Nature*. 517: 571–575.
- Lundqvist, S.O., Grahn, T., Olsson, L., & Seifert, T. (2017). Comparison of wood, fibre and vessel properties of drought-tolerant eucalypts in South Africa. *Southern For.* 79: 215–225.

Mackay, I., Powell, W. (2007). Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. *Trends Plant Sci* 12(2):57–63

Marchini, J. & Band, G. (2016). SNPTEST. Disponible en línea: https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics_software/snptest/snptest.html

McLea EH, Prober SM, Stock WD, Steane DA, Potts BM, Vaillancourt RE, Byrne M. (2014). Plasticity of functional traits varies clinally along a rainfall gradient in *Eucalyptus tricarpa*. *Plant Cell Environ.* 2014 Jun;37(6):1440-51.

Miles T., & Wayne, J. (2008). Quantitative trait locus (QTL) analysis. *Nature Education.* 1(1), 1-6.

Mora, F., & Saavedra, J. (2012). Combining genetic gain and diversity under an individual selection method in a selected provenance of *Eucalyptus cladocalyx*. *Cienc. e Investig. Agrar.* 39: 177–184.

Mora, F., Arriagada, O., Ballesta, P., & Ruiz, E. (2017). Genetic diversity and population structure of a drought-tolerant species of *Eucalyptus*, using microsatellite markers. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 26: 274–281.

Mora, F., Gleadow, R., Perret, S., & Scapim, C. A. (2009). Genetic variation for early flowering, survival and growth in sugar gum (*Eucalyptus cladocalyx* F. Muell) in southern Atacama Desert. *Euphytica.* 169: 335–344.

Mora, F., Perret, S., Scapim, C. A., & Martins, E. N. (2007). Variabilidad en el crecimiento de procedencias de *Eucalyptus* x en la Región de Coquimbo. *INFOR.* 34: 131–139.

Morrell, P.L., Buckler, E.S., Ross-Ibarra, J. (2011). Crop genomics: advances and applications. *Nat Rev Genet* 13(2):85–96

Müller, B. S. F., Neves, L. G., de Almeida Filho, J. E. , Resende, M. F. R., Muñoz, P. R. , dos Santos, P. E. T., Filho, E. P., Kirst, M., & Grattapaglia, D. (2017). Genomic prediction in contrast to a genome-wide association study in explaining heritable variation of complex growth traits in breeding populations of *Eucalyptus*. *BMC Genomics.* 18: 1–17.

Myburg, A. A., Grattapaglia, D., Tuskan, G. A., Hellsten, U., Hayes, R. D., Grimwood, J., Jenkins, J., Lindquist, E., et al. (2014). The genome of *Eucalyptus grandis*. *Nature.* 510: 356–362.

Myles, S., Peiffer, J., Brown, P.J., Ersoz, E.S., Zhang, Z., Costich, D.E., Buckler, E.S. (2009). Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. *Plant Cell Online* 21(8):2194–2202

Nabais, C., Hansen, J.K., David-Schwartz, R., Klisz, M., López, R., & Rozenberg, P. (2018). The effect of climate on wood density: What provenance trials tell us? *For. Ecol. Manag.* 408; 148–156.

Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Qasim, M., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., Azhar, M., Nawaz, M. A., Qasim, M., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., & Ahmad, F. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. 2818.

Niklas, K. J., & Spatz, H. (2004). Growth and hydraulic (not mechanical) constraints govern the scaling of tree height and mass. 101: 15661–15663.

Novaes, E., Osorio, L., Drost, D. R., Miles, B. L., Boaventura-Novaes C. R. D., Benedict C., et al. (2009). Quantitative genetic analysis of biomass and wood chemistry of *Populus* under different nitrogen levels. *N. Phytol.* 182, 878–890.

O'Brien, E. K., Mazanec, R. A. & Krauss, S. L. (2007). Provenance variation of ecologically important traits of forest trees: Implications for restoration. *J. Appl. Ecol.* 44: 583–593.

Occhialini, A., Gouzerh, G., Di Sansebastiano, G. P., & Neuhaus, J. M. (2016). Dimerization of the Vacuolar Receptors AtRMR1 and -2 from *Arabidopsis thaliana* Contributes to Their Localization in the trans-Golgi Network. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1661.

Ochieng, J. W., D. A. Steane, P. Y. Ladiges, P. R. Baverstock, R. J. Henry, M. Shepherd. (2007). Microsatellites retain phylogenetic signals across genera in *Eucalypts* (Myrtaceae). *Genetics & Molecular Biology* 30 (4): 1125-1134

Olson, M.E., Anfodillo, T., Rosell, J.A., Petit, G., Crivellaro, A., Isnard, S. et al. (2014). Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecol. Lett.*, 17, 988–997.

Ooijen V., Lukasik G., Van Den Burg E., Vossen H. A., Cornelissen J. H., Takken B. J. (2010). The small heat shock protein 20 RSI2 interacts with and is required for stability and function of tomato resistance protein I-2. *Plant J.* 63, 563-572

Paine, T. D., Steinbauer, M. J., & Lawson, S. A., (2011). Native and Exotic Pests of *Eucalyptus*: A Worldwide Perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 56: 181–201.

Pallardy, S. G. (2002). Acclimation and Adaptive Responses of Woody Plants to Environmental Stresses. 68: 270–334.

Paux, E., Carocha, V., Marques, C., De Sousa, A. M., Borralho, N., Sivadon, P., Grima-pettenati, J., & Grima-pettenati, J., (2001). Transcript profiling of *Eucalyptus* xylem genes during tension wood formation. 89–100.

Petino Zappala, M. A., Fanara, J.J. (2018). Genetic architecture as an analysis tool of the genotype-phenotype map. *Journal of Basic and Applied Genetics Vol XXVIV* (1): 25-36;

Petit, G., Pfautsch, S., Anfodillo, T., Adams, M.A. (2010). The challenge of tree height in *Eucalyptus regnans*: when xylem tapering overcomes hydraulic resistance. *New Phytologist* 187: 1146–1153.

Pfautsch, S., Harbusch, M., Wesolowski, A., Smith, R., Macfarlane, C., Tjoilker, M.G., Reich, P.B., Adams, M.A. (2016). Climate determines vascular traits in the ecologically diverse genus *Eucalyptus*. *Ecology Letters*, 19:240–248.

Phillips, O. L., van der Heijden, G., Lewis, S. L., López-González, G., Aragão, L. E. O. C., Lloyd, J., Malhi, Y., Monteagudo, A., Almeida, S., Dávila, et al. (2010). Drought-mortality relationships for tropical forests. *New Phytol.* 187: 631–646.

Pita, P., & Pardos, J. A. (2001). Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiol.* 21: 599–607.

Pita, P., Cañas, I., Soria, F., Ruiz, F., & Toval, G. (2005). Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. *Investig. Agrar. Sist. y Recur. For.* 14: 383.

Polle, A., Altman, A., & Jiang, X., (2006). Towards Genetic Engineering for Drought Tolerance in Trees. *13:275-295*

Poorter, L., McDonald, I., Alarcon, A., Fichtler, E., Licona, J.-C., Peña-Carlos, M. et al. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytol.*, 185, 481–492

Porth, I., Klapšte, J., Skyba, O., Hannemann, J., Mckown, A. D., Guy, R. D., Difazio, S. P., Muchero, W., Ranjan, P., Tuskan, G. A., Friedmann, M. C., Ehling, J., Cronk, Q. C. B., El-Kassaby, Y. A., Douglas, C. J., & Mansfield, S. D. (2013). Genome-wide association mapping for wood characteristics in *Populus* identifies an array of candidate single nucleotide polymorphisms. *New Phytol.* 200: 710–726.

Pritchard, M., Stephens R., & Donnelly V. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155: 945-959.

Rafalski, A. (2002). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 94–100.

Rashid, A. A., & Sahebi, M. (2015). Understanding the shoot apical meristem regulation : A study of the phytohormones , auxin and cytokinin , in rice. *Mech. Dev.* 135: 1–15.

RDevelopment, C. O. R. E. (2012). *TEAM 2009: R: A language and environment for statistical computing.* Vienna, Austria.

Remy, E., Cabrito, T.R., Baster, P., Batista, R.A., Teixeira, M.C., Friml, J., Sa´ -Correia, I., and Duque, P. (2013). A major facilitator superfamily transporter plays a dual role in polar auxin transport and drought stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25: 901–926

- Ren, X., J. Wang, L. Liu, G. Sun, C. Li, H. Luo, and D. Sun. (2016). SNP-based high density genetic map and mapping of *btwd1* dwarfing gene in barley. *Sci. Rep.* 6: 1–7.
- Resende, M. D. V., Resende Jr, M. F. R. , Sansaloni, C. P., Petrolí, C. D., Missiaggia, A. A., Aguiar, A. M., Abad, J. M., Takahashi, E. K., Rosado, A. M., Faria, D. A., Pappas, G. J., Kilian, A., & Grattapaglia, D. (2012). Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: Capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. *New Phytol.* 194: 116–128.
- Roje, S. (2006). S-Adenosyl-L-methionine: Beyond the universal methyl group donor. *Phytochemistry* 67 (15): 1686-98.
- Rosner, S., Světlík, J., Andreassen, K., Børja, I., Dalsgaard, L., Evans, R., Solberg, S. (2014). Wood density as a screening trait for drought sensitivity in Norway spruce. *Canadian Journal of Forest Research*, 44(2); 154–161
- Saadaoui, E., Ben Yahia, K., Dhahri, S., Lahbib, M. Jamaa, B., & Khouja, M. L. (2017). An overview of adaptative responses to drought stress in *Eucalyptus* spp. 67: 86–96.
- Sanhueza, J. E. & Poulain, M. (2007). Mitigación del cambio climático por medio de actividades forestales en zonas áridas y semiáridas de Argentina, Bolivia, Perú y Chile: rol del MDL. Santiago, Chile, septiembre de 2007
- Sansaloni, C. P., Petrolí, C. D., Carling, J., Hudson, C. J., Steane, D. A., Myburg, A. A., Grattapaglia, D., Vaillancourt, R. E., & Kilian, A. (2010). A high-density Diversity Arrays Technology (DArT) microarray for genome-wide genotyping in *Eucalyptus*. *Plant Methods.* 6: 1–11.
- Schrader, J., Nilsson, J., Mellerowicz, E., Berglund, A., Nilsson, P., & Hertzberg, M. (2004). A High-Resolution Transcript Profile across the Wood-Forming Meristem of Poplar Identifies Potential Regulators of Cambial Stem Cell Identity. 16: 2278–2292.
- Semagn, K., Bjornstad, A., Xu, Y. (2010). The genetic dissection of quantitative traits in crops. *Electron J Biotechnology* 13(5)
- Shepherd, M., & Jones, M. E. (2005). Molecular markers in tree improvement: Characterization and use in eucalyptus. *Biotechnol. Agric. For.* 55: 399–412.
- Silva-Junior, O. B., Faria, D. A., and Grattapaglia, D. (2015). A flexible multi-species genome-wide 60K SNP chip developed from pooled resequencing of 240 *Eucalyptus* tree genomes across 12 species. *New Phytol.* 206; 1527–1540.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., & Pittermann, J. (2006). Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *Am J Bot.* 93:1490–500.
- Spieß, N., Oufir, M., Matušíková, I., Stierschneider, M., Kopecky, D., Homolka, A., Burg, K., Fluch, S., Hausman, J.F., & Wilhelm, E. (2012). Ecophysiological and transcriptomic

responses of oak (*Quercus robur*) to long-term drought exposure and rewatering. *Environ Exp Bot.*77:117–26.

Spokevicius, A. V, Tibbits, J., Rigault, P., Nolin, M., Müller, C., & Merchant, A. (2017). Medium term water deficit elicits distinct transcriptome responses in *Eucalyptus* species of contrasting environmental origin. *BMC genomics.*18: 1–17.

Staiger D., Brown J. W. S. (2013). Alternative splicing at the intersection of biological timing, development, and stress responses. *Plant Cell*, 25, 3640–3656

Sumathi, M., Bachpai, V. K. W., Deeparaj, B., Mayavel, A., Dasgupta, M. G., Nagarajan, B., Rajasugunasekar, D., Sivakumar, V., & Yasodha, R. (2018). Quantitative trait loci mapping for stomatal traits in interspecific hybrids of *Eucalyptus*. *J. Genet.* 97: 323–329.

Sykes, R. W., Stanton, B. J., Guerra, F. P., Wegrzyn, J. L., Sykes, R., Davis, M. F., Stanton, B. J., & Neale, D. B. (2012). Association genetics of chemical wood properties in black poplar (*Populus nigra*) Association genetics of chemical wood properties in black poplar (*Populus nigra*).

Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*, 3rd ed. *Annals of Botany* 91: 750-751

Tang, S., Dong, Y., Liang, D., Zhang, Z., Ye, C.Y., Shuai, P., Han, X., Zhao, Y., Yin, W., Xia, X. (2015). Analysis of the drought stress-responsive transcriptome of black cottonwood (*Populus trichocarpa*) using deep RNA sequencing. *Plant Mol Biol Report.* 33:424–38.

Tang, S., Liang, H., Yan, D., Zhao, Y., Han, X., Carlson, J.E., Xia, X., Yin, W. (2013). *Populus euphratica*: the transcriptomic response to drought stress. *Plant Mol Biol.*83:539–57.

Taylor-Teeple, M., Lin, L., de Lucas, M., Turco, G., Toal, T.W., Gaudinier, A., Young, N.F., Trabucco, G.M., Veling, M.T., Lamothe, R., Handakumbura, P.P., Xiong, G., Wang, C., Corwin, J., Tsoukalas, A., Zhang, L., Ware, D., Pauly, M., Kliebenstein, D.J., Dehesh, K., Tagkopoulos, I., Breton, G., Pruneda-Paz, J.L., Ahnert, S.E., Kay, S.A., Hazen, S.P., & Brady, S.M. (2015). An Arabidopsis gene regulatory network for secondary cell wall synthesis. *Nature.* 2015; 517(7536):571–5.

Teixeira, J., Missiaggia, A., Dias, D., Scarpinati, E., Viana, J., Paula, N., Paula, R., & Bonine, C. (2011). QTL analyses of drought tolerance in *Eucalyptus* under two contrasting water regimes. *BMC Proc.* 5: P40.

Teulier, C., Bossinger, G., Moran, G., & Marque, C. (2007). Stress studies in *Eucalyptus*. *Plant Stress.* 1: 197–215.

Thavamanikumar, S., Southerton, S. G., Bossinger, G., & Thumma, B. R. (2014). Dissection of complex traits in forest trees - opportunities for marker-assisted selection. *Tree Genet. Genomes.* 9: 627–639.

- Thumma, B. R., Baltunis, B. S., Bell, J. C., Emebiri, L. C., Moran, G. F., & Southerton, S. G. (2010). Quantitative trait locus (QTL) analysis of growth and vegetative propagation traits in *Eucalyptus nitens* full-sib families. *Tree Genet. Genomes*, 6: 877–889.
- Thumma, B. R., Nolan, M. F., Evans, R., & Moran, G. F. (2005). Polymorphisms in cinnamoyl CoA reductase (CCR) are associated with variation in microfibril angle in *Eucalyptus* spp. *Genetics*, 171: 1257–1265.
- Torres-Dini, D., Bennadji, Z., Lima-Aliano, L., Nikichuk, N., Resquin, F. y Balmelli, G. (2011). Selección de marcadores SSR para estudios poblacionales en huertos semilleros de *Eucalyptus globulus*. *Procedimientos de BMC*, 5 (Suppl 7), P59.
- Traas, J., & Vernoux, T. (2002). The shoot apical meristem: the dynamics of a stable structure. 737–747.
- Tsuchiya, M., Satoh, S., & Iwai, H. (2015). Distribution of XTH, expansin, and secondary-wall-related Cesa in floral and fruit abscission zones during fruit development in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Frontiers in plant science*, 6, 323.
- Ukrainetz, N., Ritland, K., Mansfield, S. (2008). Identification of quantitative trait loci for wood quality and growth across eight full-sib coastal Douglas-fir families. *Tree Genet. Genomes* 4, 159–170.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K., Kyojuka, J., Yamaguchi, S. (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 455 (7210): 195–200.
- Valenzuela, C.E., Ballesta, P., Maldonado, C., Baettig, R., Arriagada, O., Sousa Mafra, G., Mora, F. (2019). Bayesian Mapping Reveals Large-Effect Pleiotropic QTLs for Wood Density and Slenderness Index in 17-Year-Old Trees of *Eucalyptus cladocalyx*. *Forests*, 10, 241
- Valenzuela, C. E., Ballesta, P., Ahmar, S., Fiaz, S., Heidari, P., Maldonado, C., & Mora-Poblete, F. (2021). Haplotype- and SNP-Based GWAS for Growth and Wood Quality Traits in *Eucalyptus cladocalyx* Trees under Arid Conditions. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(1), 148.
- van Noordwijk, A.J., de Jong, G. (1986). Acquisition and allocation of resources: Their influence on variation in Life History tactics. *Am. Nat.* 128: 137-142.
- Vargas-Reeve, F., Mora, F., Perret, S., & Scapim, C. A. (2013). Heritability of stem straightness and genetic correlations in *Eucalyptus cladocalyx* in the semi-arid region of Chile. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 13: 107–112.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 218: 1–14.

- Way, D. A., & Oren, R. (2010). Differential responses to changes in growth temperature between trees from different functional groups and biomes: a review and synthesis of data. *Tree Physiol.* 30: 669–688.
- Weadge, J.T., Palcic, M.M., (2009). *Chemistry of Glycosyltransferases*. Vol. 2. Wiley Encyclopedia of Chemical Biology, pp. 198–211.
- Wesolowski, A., Tjoelker, M. G., & Reich, P. B. (2016). Climate determines vascular traits in the ecologically diverse genus *Eucalyptus*. 240–248.
- Xu, B., Ohtani, M., Yamaguchi, M., Toyooka, K., Wakazaki, M., Sato, M., Kubo, M., Nakano, Y., Sano, R., Hiwatashi, Y., Murata, T., Kurata, T., Yoneda, A., Kato, K., Hasebe, M., & Demura, T. (2014). Contribution of NAC Transcription Factors to Plant Adaptation to Land. 343: 1505–1509.
- Yan, N. (2015). Structural biology of the major facilitator superfamily transporters. *Ann Rev Biophys* 44:257–283.
- Yu L., & Buckler, M. (2006). Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current opinion in biotechnology*. 17(2);155-160.
- Zhang, D., & Zhang, Z. (2005). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) discovery and linkage disequilibrium (LD) in forest trees. *For. Stud. China*. 1: 1–14.
- Zhang, M., Zhou, C., Song, Z., Weng, Q., Li, M., Ji, H., Mo, X., Huang, H., Lu, W., Luo, J., Li, F., & Gan, S. (2018). The first identification of genomic loci in plants associated with resistance to galling insects: A case study in *Eucalyptus L'Hér.* (Myrtaceae). *Sci. Rep.* 8: 1–10.
- Zhang, W., Gianibelli, M. C., Rampling, L. R., & Gale, K. R. (2004). Characterization and marker development for low molecular weight glutenin genes from Glu-A3 alleles of bread wheat (*Triticum aestivum*. L). *TAG Theor. Appl. Genet.* 108: 1409–1419.
- Zhao, C., Craig, J. C., Petzold, H. E., Dickerman, A. W., & Beers, E. P. (2005). The Xylem and Phloem Transcriptomes from Secondary Tissues of the *Arabidopsis* Root-Hypocoty. *Plant Physiology*. 138: 803–818.
- Zhong, R., & Ye, Z., (2015). Secondary Cell Walls: Biosynthesis, Patterned Deposition and Transcriptional Regulation. *Plant Cell Physiol.* 56(2): 195–214 (2015)
- Zhu Y., Song D., Sun J., Wang X., Li L. (2013). *PtrHB7*, a class III HD-Zip gene, plays a critical role in regulation of vascular cambium differentiation in *Populus*. *Mol Plant.* 6(4):1331–43
- Zhu, J. K. (2002). Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 247–273.

ANEXOS

Tabla S1: SNPs asociados a caracteres según distinto *p-value*. Corrección de Bonferroni al 0,05 (dando un valor final de $\alpha=1,3e^{-5}$).

Caracteres	<0,01	<0,001	Bonferroni (0,05)
Altura	84	11	0
Diámetro	84	16	1
Esbeltez	81	26	4
Bifurcación	76	17	2
Rectitud	43	6	0
Densidad	58	10	1

Tabla S2: Haplotipos asociados a caracteres según distinto *p-value*. Corrección de Bonferroni al 0,05 (dando un valor final de $\alpha=1,4e^{-4}$).

Caracteres	<0,01	<0,001	Bonferroni (0,05)
Altura	9	0	0
DAP	1	1	1
Esbeltez	3	1	1
Bifurcación	1	1	1
Rectitud	0	0	0
WD	2	0	0

Tabla S3: SNPs asociados en común entre los caracteres de calidad y crecimiento de la madera en *E. cladocalyx*. *p-value* 0,001.

	Altura	DAP	Esbeltez	Bifurcación	Rectitud	Densidad
Altura	-	20	3	0	3	6
Diámetro		-	18	6	0	19
Esbeltez			-	14	0	5
Bifurcación				-	0	0
Rectitud					-	0
Densidad						-

Table S4. SNP de mayor efecto, considerando la varianza fenotípica (R^2), evaluados en diversas características de *E. cladocalyx*. Mapeo usando un umbral de al menos 10 kb río arriba o río abajo del SNP o haplotipo asociado.

Carácter	Posición de SNP	R^2	Localización de SNP	Modelo génico	Mejor hit <i>Arabidopsis</i>	Función anotada
Altura	14514639	0.038017154	intergenica	Eucgr.J02681	AT2G04700.1	FERREDOXIN/THIOREDOXIN REDUCTASE CATALYTIC SUBUNIT, metabolismo
Altura	59325838	0.03608099	upstream	Eucgr.B04019	AT2G40470.1	LOB DOMAIN-CONTAINING, diferenciación del xilema, regulador de VND7
Altura	31946257	0.033571988	codificante	Eucgr.H02447	AT5G65540.1	transcription initiation factor TFIID subunit, polimerasa
Altura	5867352	0.033304263	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Altura	74139500	0.031230372	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Altura	21241977	0.030992677	upstream	Eucgr.B02728	AT4G19450.1	Major facilitator superfamily protein, transporte, osmotic regulation
Altura		0.030919284	exon	Eucgr.G02044	AT4G25080.3	MAGNESIUM-PROTOPORPHYRIN IX METHYLTRANSFERASE, magnesio fotosíntesis
Altura	40411688	0.030446611	downstream	Eucgr.B02140	AT2G39840.1	YPE ONE SERINE/THREONINE PROTEIN PHOSPHATASE 4
Altura	45970741	0.026118452	intron	Eucgr.B02601	AT1G04640.1	LIPOYLTRANSFERASE 2
Altura	5978231	0.025805406	downstream	Eucgr.E00620	AT3G19480.1	PHOSPHOGLYCERATE DEHYDROGENASE 3
Altura	4328319	0.023890368	upstream	Eucgr.B00450	AT5G43730.1	RESISTANCE SILENCED GENE 2, RSG2
Bifurcación	33622818	0.057645457	downstream	Eucgr.A01857	AT2G20570.2	GOLDEN2-LIKE 1, transcription factor, función diversa
Bifurcación	28216051	0.055104453	intergenica	Eucgr.I01832.1	AT3G28150.1	Xiloglucano o-metiltransferasa, TBL, síntesis deposición pared secundaria
Bifurcación	15960534	0.046131682	exon CDS	Eucgr.H01520	AT2G48110.1	metabolismo Fenilpropaioide, requerido genes en oscuridad
Bifurcación	55739017	0.041504813	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Bifurcación	649727	0.039371571	exon CDS	Eucgr.G00060.1	AT5G49810.1	METHIONINE S-METHYLTRANSFERASE
Bifurcación	52971844	0.038280937	downstream	Eucgr.F04224	AT5G43730.1	RESISTANCE SILENCED GENE 2, resistencia a enfermedades
Bifurcación	30817343	0.037739891	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Bifurcación	60081533	0.036366716	upstream	Eucgr.E03400	AT4G15760.1	MONOOXYGENASE 1
Bifurcación	23406003	0.033975732	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Bifurcación	32174755	0.033495873	intergenica, upstream	Eucgr.K02411	AT3G10020	exotosina, señalización
Bifurcación	71162847	0.032770887	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Bifurcación	67069888	0.032188662	upstream	Eucgr.H04806	AT1G48580.1	nuclear localized protein, unknow
Bifurcación	50332910	0.03192311	downstream	Eucgr.H03660	AT3G11910.1	UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE 13, regulador de crecimiento, inhibidor de proteasa
Bifurcación	52153075	0.031186781	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Bifurcación	45744986	0.030752544	upstream	Eucgr.E02902	AT1G17020.1	SENESCENCE-RELATED GENE 1, oxidasa
Bifurcación	10383458	0.028266237	upstream	Eucgr.G00693	AT2G04170.1	TRAF-like family protein, señalización celular
Bifurcación	12815217	0.02469128	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Diámetro	21241977	0.060332633	upstream	Eucgr.B02728	AT4G19450.1	Major facilitator superfamily protein, transporter, osmotic regulation
Diámetro	35100085	0.042016949	exon	Eucgr.B00057	AT2G01490.1	PHYTANOYL-COA 2-HYDROXYLASE, oxidación
Diámetro	32174755	0.04010342	intergenica downstream	Eucgr.K02411	AT5G03795.1	Exostosin family protein, glicosiltransferasa, matriz extracelular, pared celular
Diámetro	52267060	0.039697017	upstream	Eucgr.B03191	AT1G69430.1	Son of sevenless protein
Diámetro	8323281	0.037612507	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Diámetro	43894600	0.036453419	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Diámetro	54266726	0.03339465	upstream	Eucgr.B02965	AT4G13550.1	HEAT INDUCIBLE LIPASE1
Diámetro	4988869	0.033026507	downstream	Eucgr.E00526	AT4G22990.2	PHT5;3, phosphate transporter
Diámetro	74234258	0.031347331	revisar	revisar		
Diámetro	3457001	0.031339547	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Diámetro	50544209	0.031242709	exon	Eucgr.F03976	AT1G22660.1	Polynucleotide adenyltransferase family protein, trasfiriendo nucleótidos con P
Diámetro	69516287	0.031209345	upstream	Eucgr.E04138	AT1G61430.1	S-locus lectin protein kinase family protein
Diámetro	38202035	0.030774868				
Diámetro	21945603	0.028447754	upstream	Eucgr.K01713	AT2G41530.1	S-FORMYLGLUTATHIONE HYDROLASE
Diámetro	45970741	0.027175243	intron	Eucgr.B02601	AT1G04640.1	LIPOYLTRANSFERASE 2
Diámetro	13001270	0.026450246	intron	Eucgr.H01123	AT2G12190.1	Cytochrome P450 superfamily protein
Diámetro	38748507	0.024701924	exon	Eucgr.I02798	AT4G24270.2	EMB140
Esbeltez	37354562	0.103640548	downstream	Eucgr.F02525	AT3G04500.1	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family protein
Esbeltez	10372953	0.085833303	exon	Eucgr.F00721	AT3G20420.1	RNASE THREE-LIKE PROTEIN 2
Esbeltez	2023556	0.068009882	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Esbeltez	21474173	0.061822055	downstream	Eucgr.J01708	AT2G24592.1	DUF247 family
Esbeltez	49509155	0.0424545	upstream	Eucgr.H03589	AT4G26420.1	GIBBERELLIN METHYLTRANSFERASE 1

Esbeltez	26725843	0.039647171	downstream	Eucgr.J02148	AT3G28580.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases
Esbeltez	18776513	0.038145652	downstream	Eucgr.G01214	AT4G33840.1	Glycosyl hydrolase family 10 protein
Esbeltez	35574770	0.037709895	exon	Eucgr.J02998	AT3G11010.1	RECEPTOR LIKE PROTEIN 34
Esbeltez	11607595	0.037398988	exon	Eucgr.J01062	AT3G54870.1	ARMADILLO REPEAT-CONTAINING KINESIN 1
Esbeltez	52267060	0.035351369	intergenica,upstream	Eucgr.B03191	AT1G69430.1	Son of sevenless protein
Esbeltez	25819550	0.035331633	downstream	Eucgr.E01956	AT5G57580.1	Calmodulin-binding protein
Esbeltez	11592814	0.034643723	downstream	Eucgr.A00877	AT2G38640.1	LURP-one-like protein
Esbeltez	52971844	0.034512301	downstream	Eucgr.F04224	AT5G43730.1	RESISTANCE SILENCED GENE 2
Esbeltez	16021200	0.034426512	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Esbeltez	12753331	0.034156028	intron	Eucgr.F00890	AT3G15180.2	ARM repeat superfamily protein
Esbeltez	15311748	0.033590401	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Esbeltez	13112790	0.032874928	intergenic, upstream	Eucgr.C00778	AT1G74960.2	BETA-KETOACYL-ACP SYNTHETASE 2
Esbeltez	14618890	0.032541659	intergenic, upstream	Eucgr.F01050	AT4G27300	S-locus lectin protein kinase
Esbeltez	53584540	0.032530648	upstream	Eucgr.F04280	AT1G77020.1	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
Esbeltez	24289367	0.032492318	downstream	Eucgr.E01885	AT4G06608.1	pseudogene of myosin heavy chain-like protein
Esbeltez	38887951	0.031966525	intergenic, upstream	Eucgr.F02674	AT5G48100.1	LACCASE-LIKE 15
Esbeltez	32174755	0.03196284	intergenic, upstream	Eucgr.K02411	AT5G03795.1	Exostosin family protein
Esbeltez	54266726	0.031345228	upstream	Eucgr.B02965	AT4G13550.1	HEAT INDUCIBLE LIPASE1
Esbeltez	35100085	0.030540094	intergenic, upstream	Eucgr.B00057	AT2G01490.1	PHYTANOYL-COA 2-HYDROXYLASE
Esbeltez	3457001	0.025362483	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Esbeltez	53246128	0.02480006	upstream	Eucgr.H03887	AT2G35060.2	K+ UPTAKE PERMEASE 11
Rectitud	51691340	0.039303119	downstream	Eucgr.G03051	AT3G47570.1	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
Rectitud	31533109	0.036702488	upstream	Eucgr.H02411	AT4G37990.1	CINNAMYL-ALCOHOL DEHYDROGENASE 8
Rectitud	31598709	0.034706391	downstream	Eucgr.K01958	AT5G11720.1	ALPHA-GLUCOSIDASE
Rectitud	43160334	0.033916228	upstream	Eucgr.H03053	AT5G13270.1	RARE1
Rectitud	34529670	0.033411669	exon	Eucgr.C01907	AT5G13200.1	GEM-RELATED 5
Densidad	38748507	0.06919163	intron	Eucgr.I02798	AT4G24270	LSM motif, RRM_1 domain
Densidad	34164038	0.04087252	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Densidad	53736774	0.03882118	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
Densidad	52267060	0.03842449	intergenic, upstream	Eucgr.B03191	AT1G69430	Son of sevenless protein
Densidad	10176498	0.03763159	intron	Eucgr.H00774	AT4G13050	Acyl-ACP thioesterase
Densidad	62265244	0.03687059	upstream	Eucgr.H04568	AT4G31985	Ribosomal protein L39
Densidad	35966544	0.0345083	upstream	Eucgr.F02410	AT4G08850	MDIS1-INTERACTING RECEPTOR LIKE KINASE2
Densidad	36356857	0.03383981	exon	Eucgr.D02305	AT2G46020	CHROMATIN REMODELING 2
Densidad	21945603	0.03362101	downstream	Eucgr.B01596	AT4G25810	XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLYCOSYLASE 6
Densidad	18909332	0.03044694	intergenic, downstream	Eucgr.H01244	AT3G50740.1	UDP-GLUCOSYL TRANSFERASE 72E1
Densidad	19101354	0.02836361	upstream	Eucgr.H01620	AT1G73310	SERINE CARBOXYPEPTIDASE-LIKE 4

ANEXO PUBLICACIONES RELACIONADAS AL TRABAJO DE TESIS

Valenzuela, C. E., Ballesta, P., Maldonado, C., Baettig, R., Arriagada, O., Sousa Mafra, G., Mora, F. (2019). Bayesian mapping reveals large-effect pleiotropic QTLs for wood density and slenderness index in 17-year-old trees of *Eucalyptus cladocalyx*. *Forests*, 10(3), 241.

<https://www.mdpi.com/1999-4907/10/3/241>



Article

Bayesian Mapping Reveals Large-Effect Pleiotropic QTLs for Wood Density and Slenderness Index in 17-Year-Old Trees of *Eucalyptus cladocalyx*

Camilo E. Valenzuela ¹, Paulina Ballesta ¹, Carlos Maldonado ¹, Ricardo Baettig ²,
Osvin Arriagada ¹, Gabrielle Sousa Mafra ³ and Freddy Mora ^{1,*}

Valenzuela, C. E., Ballesta, P., Ahmar, S., Fiaz, S., Heidari, P., Maldonado, C., & Mora-Poblete, F. (2021). Haplotype- and SNP-based GWAS for growth and wood quality traits in *Eucalyptus cladocalyx* trees under arid conditions. *Plants*, 10(1), 148.

<https://www.mdpi.com/2223-7747/10/1/148>



Article

Haplotype- and SNP-Based GWAS for Growth and Wood Quality Traits in *Eucalyptus cladocalyx* Trees under Arid Conditions

Camilo E. Valenzuela ¹, Paulina Ballesta ², Sunny Ahmar ³, Sajid Fiaz ⁴, Parviz Heidari ⁵, Carlos Maldonado ⁶
and Freddy Mora-Poblete ^{1,*}

ANEXO GLOSARIO/ABREVIATURAS

BF: Factor Bayes
BonF: prueba de Bonferroni
C2HB3: bloque de haplotipo 3 en el cromosoma 2
C7HB2: bloque de haplotipo 2 en el cromosoma 7
CCR: cianoyl -coa reductasa
CDS: región genómica codificante
DAP: diámetro a la altura del pecho
FDR: *false discovery rate*
F_{st}: índice de fijación
GWAS: genome-wide association mapping
HSP20: *heat shock protein 20*
IN-SSR: *inter short sequence repeat*
LBD15: factor de transcripción de dominio LOB
LD: Desequilibrio de ligamien
MAF: *minor allele frequency*
MFS: *major facilitator superfamily*
MMT: Metionina S-metiltransferasa
MTA: asociación marcador-caracter
QTL: locus de carácter cuantitativo
SNP: *Single Nucleotide Polimorphism*
SSR: *short secuencia repeat*, microsatelite
VND7: *vascular related nac-domain 7*
PPA: *posterior likelihood of association*
PO: *posterior odds*