

COLEGIO DE POSTGRUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* E IDENTIFICACIÓN DE GENES EN TRIGOS DE PRIMAVERA

MARÍA FLORENCIA RODRÍGUEZ GARCÍA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe María Florencia Rodríguez García, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. Julio Huerta Espino, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Genética de la resistencia a roya amarilla causada por Puccinia striiformis f. sp. tritici e identificación de genes en trigos de primavera

y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 14 de Noviembre de 2017



Firma del
Alumno (a)



Dr. Julio Huerta Espino

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Genética de la resistencia a roya amarilla causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* e identificación de genes en trigos de primavera**, realizada por la alumna: **María Florencia Rodríguez García**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



Dra. Reyna Isabel Rojas Martínez

DIRECTOR DE TESIS




Dr. Julio Huerta Espino

ASESOR



Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir

ASESOR



Dr. José Sergio Sandoval Islas

ASESORA



Dra. Emma Zavaleta Mejía

ASESOR



Dr. José Luis Francisco Crossa Hiriart

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre de 2017

GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* E IDENTIFICACIÓN DE GENES EN TRIGOS DE PRIMAVERA

María Florencia Rodríguez García, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

Las royas del trigo causadas por los hongos del género *Puccinia*, son enfermedades de importancia a nivel mundial. La estrategia que más ha apoyado el control de dichos hongos es el mejoramiento genético. En la actualidad existen genotipos que han mostrado resistencia en diferentes años y ambientes por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia e identificar loci de carácter cuantitativo (QTLs) que le confieren resistencia a roya amarilla (RA) y de la hoja (RH) en la variedad de trigo harinero Huites F95 y estimar el número de genes y el tipo de resistencia que poseen los genotipos Glenlea, Romero 73 y Bonza 63 a roya amarilla. La caracterización fenotípica en Huite F95 para roya amarilla y roya de la hoja se realizó en cuatro ambientes durante el 2013, 2014 y 2015; mientras que para los genotipos Bonza 63, Romero 73 y Glenlea solo en un ambiente en 2015. Se crearon epidemias artificiales utilizando una mezcla de diferentes razas del hongo causante de la roya amarilla y de la hoja. Las proporciones fenotípicas, de resistentes y susceptibles observadas se compararon con las proporciones esperadas con una prueba de X^2 . Para la población Avocet-YrA/Huites F95 se construyeron mapas de ligamiento con 12,966 marcadores y utilizando mapeo por intervalo compuesto (ICIM) se realizó el análisis de QTL con el programa QTL IciMapping 4.0. Los análisis genéticos mostraron que Huites F95 posee una resistencia del tipo cuantitativa y que la resistencia a RH está determinada por 2 a 3 genes y para RA de 4 a 5 genes de resistencia en planta adulta. El análisis de QTL indicó que Huites F95 posee tres loci de efecto pleiotropico que

le confieren resistencia a RH y RA localizados en los cromosomas 1AL, 1BL y 5AL. Adicionalmente se mapearon tres QTLs para RH en 2AS, 5A y 6BL y tres para RA en 3B, 4BS y 6BS. Los QTLs en 1AL, 5AL y 6BL son reportados como nuevos; por otra parte, se determinó que de 4 a 5 genes de efectos aditivos controlan la resistencia de la variedad Glenlea y de 2 a 3 genes en las variedades, Romero 73 y Bonza 63; los cuatro genotipos evaluados no poseen resistencia de plántula; sin embargo, pueden ser progenitores valiosos en los programas de mejoramiento, para lograr una resistencia durable a roya amarilla principalmente.

Palabras clave: royas, genes, resistencia, variedades.

GENETICS OF THE RESISTANCE TO YELLOW RUST CAUSED BY *Puccinia striiformis*
f.sp. *tritici* AND IDENTIFICATION OF RESISTANCE GENES IN SPRING WHEAT

María Florencia Rodríguez García, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

Rust diseases of wheat caused by fungi of the genus *Puccinia*, are diseases of global importance. The strategy that has most supported control of these fungi is the breeding. Currently, there are genotypes that have shown resistance in different years and environments for which this work aimed to determine the type of resistance and identify the quantitative traits loci (QTLs) which confers resistance to yellow rust (YR) and leaf (LR) in the bread wheat variety Huites F95 and estimate the number of genes and the type of resistance that Glenlea, Romero 73 and Bonza 63 genotypes possess to yellow rust. In Huites F95 phenotypic characterization for leaf rust and yellow rust was conducted in four environments during 2013, 2014 and 2015; whereas for Bonza 63, Romero 73 and Glenlea genotypes in just one environment in 2015. Artificial epidemics using a mixture of different rust races were created. The phenotypic observed ratios of resistant and susceptible were compared with the expected ratios with an X^2 test. For the Avocet-YrA/Huites F95 population, linkage maps were constructed with 12,966 markers and using composite interval mapping QTL analysis was performed with the IciMapping (ICIM) 4.0 program. Genetic analyses showed that Huites F95 has a resistance of quantitative type and that the LR resistance is determined by 2-3 genes and for YR of 4-5 genes for adult plant resistance. QTL analysis indicated that Huites F95 has three loci of pleiotropic effect which confer rust resistance to LR and YR and localized on chromosomes 1AL, 1BL and 5AL. In addition they mapped three QTLs

for LR on 2AS, 5A and 6BL and three for YR in 3B, 4BS, and 6BS. The QTLs 1AL 5AL, 6BL are new or not previously reported. On the other hand, it was determined that 4 to 5 genes of additive effects control the resistance in Glenlea; whereas, 2 to 3 resistance genes in Romero 73 and Bonza 63. The four genotypes evaluated do not possess seedling resistance genes; however, they might be valuable parents in breeding programs, to achieve a durable resistance to yellow rust mainly.

Key words: rust, genes, resistance, varieties.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme una beca para realizar mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados y al programa de Fitopatología, por darme la oportunidad de seguir con mi formación profesional.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por el apoyo otorgado para continuar con mi formación profesional y al programa de mejoramiento de trigo y avena por el apoyo para realizar la investigación en campo y laboratorio.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y al programa de trigos harineros, por la infraestructura y financiamiento para la realización del trabajo de investigación.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Quilamapu, Chile) por el apoyo otorgado para la realización de la estancia de investigación.

Al Dr. Julio Huerta Espino por todo el apoyo otorgado durante el doctorado, por la excelente conducción del trabajo de investigación; sus valiosas aportaciones, conocimientos transmitidos y por su amistad.

A la Dra. Reyna I. Rojas Martínez por su paciencia, apoyo incondicional y asesoría en los trabajos de investigación y académicos que permitieron llevar a feliz término mis estudios de doctorado y por su amistad brindada.

Al Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir por su confianza, sus acertados consejos y sugerencias, por todo su apoyo que siempre me brinda; por la conducción de los experimentos en campo y excelentes aportaciones durante el trabajo de investigación y tesis.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía por todo su apoyo, paciencia y sugerencias brindadas durante el doctorado y en la revisión de la tesis.

Al Dr. José Sergio Sandoval Islas por todo su apoyo durante el doctorado, así como en la revisión de la tesis.

Al Dr. José Crossa por sus invaluables sugerencias y apoyo brindado para el análisis y revisión de la información estadística y tesis.

Al Dr. Ravi Singh por el apoyo otorgado en la realización del trabajo de investigación y por proporcionar el financiamiento para trabajo de campo y laboratorio.

A la Dra. Caixia Lan por la conducción del trabajo de investigación en laboratorio y campo, por el apoyo otorgado en el análisis de información y estructura de artículo científico.

Al Dr. Ricardo Madariaga por todo el apoyo otorgado en la estancia de investigación, por compartir sus conocimientos, confiar en mí y por su amistad brindada.

Al Dr. Sergio Aranda por el apoyo otorgado y conocimientos brindados durante mis estudios de doctorado.

Al Dr. Daniel Ochoa Martínez por el apoyo otorgado y la buena disponibilidad como sinodal.

Al Dr. Miguel González González por confiar en mí, por las buenas sugerencias, por el apoyo otorgado durante el trabajo de investigación y por esa amistad y afecto.

A la Dra. Dalma Castillo por todos los conocimientos que me compartió, por todo el apoyo otorgado en la estancia de investigación y por su amistad.

A la M. C. Violeta Calvo Salazar por compartir sus conocimientos en el área de biotecnología, por el apoyo otorgado en el trabajo de laboratorio y ser una buena compañera y amiga.

A la Dra. Elizabeth García León por el apoyo otorgado en el trabajo de invernadero en el LANARET y por ese compañerismo y amistad que siempre me brinda.

A la Dr. Daniel Bárcenas Santana por compartir sus conocimientos en el área de biotecnología, por su apoyo en trabajo de campo y por su amistad sincera.

A la M.C. Magda Karina Moedano Mariano por el apoyo otorgado en trabajo de campo y laboratorio y por ser una buena compañera y amiga.

Al Sr. Javier Varela por su apoyo en los trabajos de invernadero y su amistad brindada.

A los trabajadores de campo del programa de Trigo y Avena del INIFAP-CEVAMEX (José, Adrián y Héctor) por el apoyo brindado durante la investigación y por su amistad.

A mis amigos y compañeros del INIFAP (Miguel G. G., Elizabeth, Daniel, Magda, Bertita, Elsa, Bety, René, Eliel y Dr. Limón); CP (Lupita, Priscila, Yoana, Miguel, Manuel, Oly, Carolina, Don Jorge, Yesy, Vivi, Helena, Magdalena, Hernán, Fernando, Gaby, Don Charly, Dimas y Camilo); CIMMYT (Violeta, Rosaura, Silverio, Cintya y Chely); INIA (Ricardo, Dalma, Paty H., Carola, Millaray y Alejandro), por todos esos buenos momentos que juntos compartimos, conocimientos compartidos y por una amistad sincera.

A la familia Buendia Ayala, por todo el aprecio y apoyo incondicional.

A Martha Martínez Ramírez, por todo su apoyo otorgado durante gran parte de mi vida y por su amistad y afecto.



DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.

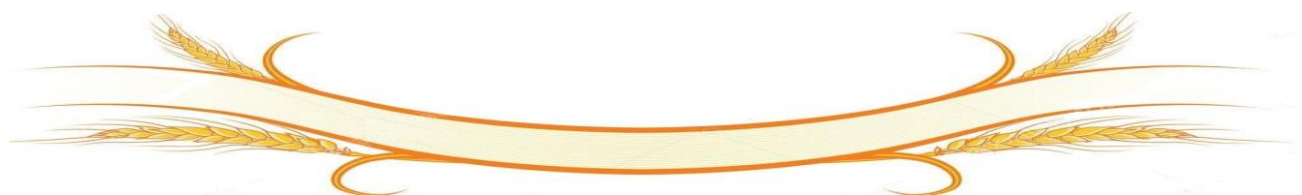
A todos los agricultores de México y el mundo quiénes son el pilar de nuestra existencia como profesionistas.

A mis padres **Pedro** y **Mary** por todo su amor, cariño, comprensión, por apoyarme siempre y estar conmigo en momentos buenos y difíciles; y, especialmente a mi madre que es un ejemplo a seguir, que tiene muchos valores, virtudes y una gran fortaleza para seguir adelante.

A mis hijos **Yarely** y **Pedro Antonio** por ser una fortaleza en mi vida, ser unos grandiosos hijos, por confiar en mí, por todo su amor y cariño que me expresan cada día y por todo el tiempo en el que estoy ausente. Mis triunfos y logros, son también de ustedes mis pequeños hijos.

A mis hermanos **Pepe, Max, Nico, Eli** y **Angélica** por todo su apoyo brindado especialmente en el transcurso de mis estudios, por confiar en mí y por estar conmigo en momentos buenos y difíciles.

A mis sobrinos **Edith, Jairo, Uriel** y **Memito**, por todo el cariño que me tienen y por todo su apoyo en mis estudios de doctorado.



CONTENIDO

	Paginas
LISTA DE CUADROS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I. HERENCIA DE LA RESISTENCIA DEL TRIGO HARINERO HUITES F95 A ROYA AMARILLA.....	10
Resumen.....	11
Abstract.....	12
Introducción.....	13
Materiales y Métodos.....	16
Resultados y Discusión.....	21
Conclusiones.....	31
Literatura citada.....	32
CAPÍTULO II. QTL MAPPING OF ADULT PLANT RESISTANCE TO LEAF RUST AND STRIPE RUST IN MEXICAN WHEAT CULTIVAR “HUITES F95”.....	38
Abstract.....	39
Resumen.....	40
Introduction.....	41
Materials and Methods.....	44

Results.....	47
Discussion.....	59
References.....	65
CAPÍTULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR <i>Puccinia striiformis</i> W. EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	75
Resumen.....	76
Abstract.....	77
Introducción.....	78
Materiales y Métodos.....	81
Resultados y Discusión.....	86
Conclusiones.....	93
Literatura citada.....	94
CONCLUSIONES GENERALES.....	100

LISTA DE CUADROS

Página

CAPÍTULO I. HERENCIA DE LA RESISTENCIA DEL TRIGO HARINERO HUITES F95 A ROYA AMARILLA

Cuadro 1. Porcentaje de severidad y reacción a roya amarilla de Huites F95 y Avocet- <i>YrA</i> evaluados durante los ciclos P-V/2013, 2014 y 2015 en 12 ambientes en México.....	24
Cuadro 2. Estimación del número de genes de resistencia en planta adulta a roya amarilla basado en el análisis de segregación Mendeliana para 198 RIL de la población F ₅ Avocet- <i>YrA</i> /Huites F95.....	27

CAPÍTULO II. QTL MAPPING OF ADULT PLANT RESISTANCE TO LEAF RUST AND STRIPE RUST IN MEXICAN WHEAT CULTIVAR “HUITES F95”

Table S1. Estimated number of resistance genes that confer adult plant resistance (APR) to leaf rust and stripe rust in 139 Avocet- <i>YrA</i> × Huites F95 F ₅ recombinant inbred lines (RILs) based on Mendelian segregation analysis...	48
Table 1. Phenotypic correlations among final leaf rust severities over four environments (Ciudad Obregón LR2013Y, LR2014Y and LR2015Y; El Batán LR2014B) and the same number of environments for final stripe rust severities (Toluca YR2013M, YR2014M and YR2015M; El Batán YR2015B) in the Avocet- <i>YrA</i> x Huites F95 RILs population.....	49
Table 2. Position and effects of quantitative trait loci (QTL) for adult plant resistance (APR) to leaf rust (LR) and stripe rust (YR), area under the disease progress curve (AUDPC), and mean final disease severity over all environments (LRM and YRM) using inclusive composite interval mapping (ICIM) by IciMapping 4.0 in the Avocet- <i>YrA</i> x Huites F95 RIL population.....	52

Table S2. Confirming effect of six unstable resistance QTLs by single marker analysis using area under disease progress (AUDPC) of each crop season...	58
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPÍTULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* W. EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)

Cuadro 1. Número de familias F ₅ clasificadas en tres grupos de las cruzas entre el progenitor susceptible (Avocet- <i>YrA</i>) y los progenitores resistentes (Bonza 63, Romero 73 y Glenlea) frente a la mezcla de las razas MEX96.11, MEX08.13 y CMEX14.25 durante el ciclo P-V/ 2015.....	90
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I. HERENCIA DE LA RESISTENCIA DEL TRIGO HARINERO HUITES F95 A ROYA AMARILLA

Figura 1. Distribución fenotípica de los progenitores y 198 RIL. a) severidad final de roya amarilla Toluca 2013, b) severidad final de roya amarilla Toluca 2014, c) severidad final de roya amarilla Toluca 2015, d) severidad final de roya amarilla El Batán 2015.....	25
Figura 2. Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de la roya amarilla en los progenitores y 198 RIL. a) ABCPE Toluca 2013, b) ABCPE Toluca 2014, c) ABCPE Toluca 2015, d) ABCPE El Batán 2015.....	26

CAPÍTULO II. QTL MAPPING OF ADULT PLANT RESISTANCE TO LEAF RUST AND STRIPE RUST IN MEXICAN WHEAT CULTIVAR “HUITES F95”

Figure 1. Frequency distributions of Avocet- <i>YrA</i> × Huites F95 recombinant inbred lines (RILs) for final leaf rust severity (a) in field trials at Ciudad Obregón during the 2012-2013 (LR2013Y), 2013-2014 (LR2014Y) and 2014-2015 (LR2015Y), El Batán 2014 (LR2014B) and (b) for stripe rust at Toluca during the 2013 (YR2013M), 2014(YR2014M), 2015 (YR2015M) and El Batán during 2015 (YR2015B). Mean values for the parents, Avocet- <i>YrA</i> and Huites F95, are indicated by arrows.....	54
Figure 2. Likelihood plots of quantitative trait loci (QTL) for adult plant resistance (APR) to both rusts on chromosomes 1BL (Fig. 2a), 1AL (Fig.2b), 5AL (Fig.2c) respectively, identified by IciMapping 4.0 in the Avocet- <i>YrA</i> × Huites F95 RIL population. Significant LOD thresholds were detected based on 1,000 permutations. Positions (in cM) of the molecular markers along chromosomes are shown on the <i>vertical axes</i> ; cumulated genetic	

distances of linkage group are also shown. LR2013Y, LR2014Y, LR2015Y and LR2014B are leaf rust field test at Ciudad Obregón during the 2012-2013 , 2013-2014 and 2014-2015 and at El Batán in 2014, respectively, whereas YR2013M, YR2014M, YR2015M and YR2015B are stripe rust field test at Toluca during the 2013 , 2014, 2015 and at El Batán during 2015, respectively. LR2013AY, LR2014AY, LR2015AY, LR2014AB, YR2013AM, YR2014AM YR2015AM and YR2015AB, area under the disease progress curve (AUDPC) of each crop season; LRM and YRM, the mean of final disease severity over LR2013Y, LR2014Y, LR2015Y and LR2014B, and over YR2013, YR2014, YR2015M and YR2015B, for leaf rust and stripe rust, respectively..... 55-57

CAPÍTULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* W. EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)

Figura 1. Distribución continua de familias F₅ basadas en el porcentaje de severidad final de RA de los progenitores y familias: a) Avocet-*YrA*/Bonza 63, b) Avocet-*YrA*/Romero 73 y c) Avocet-*YrA*/Glenlea..... 88

INTRODUCCIÓN GENERAL

El trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) es el cultivo con mayor superficie en el mundo y el volumen de su cosecha es mayor que el de cualquier otro alimento destinado al consumo humano (FAOSTAT, 2015), su cultivo se extiende prácticamente a todo el mundo desde áreas relativamente secas, como la cuenca mediterránea, hasta ambientes lluviosos como el Cono sur de América y Norte de Europa (Villaseñor, 2000). En México las principales regiones trigueras se ubican en el Noroeste, donde se produce 53.3% del total nacional, y en El Bajío que contribuye con 28.3%. En ambas regiones el trigo se produce en el ciclo otoño-invierno (O-I), en condiciones de riego. El 18.4% restante se produce en áreas de temporal, principalmente en los Valles Altos de México (SIAP, 2015).

La producción de trigo a nivel mundial es afectada principalmente por enfermedades fungosas, donde destacan aquéllas causadas por hongos del género *Puccinia*. De estas, la roya amarilla, de la hoja y del tallo, son las enfermedades más destructivas del trigo y las que más pérdidas han causado en el mundo (Line y Chen, 1995; Zwer y Qualset, 1994; Singh *et al.*, 2005). La roya de la hoja ha ocasionado los mayores daños en la producción de trigo en México, la epidemia en el noroeste durante el 2001, 2002 y 2003 en trigos duros, debido a la raza BBG/BN que causó pérdidas de 32 millones de dólares para los agricultores mexicanos (Herrera-Fossel *et al.*, 2005); la roya del tallo que era el factor limitante para la producción del trigo en México durante la década de los 40's se logró controlar con la liberación de la variedad Yaqui 50 en 1950 (Roelfs y McVey, 1972), y desde entonces no han aparecido nuevos focos de infección; sin embargo, existe una amenaza potencial de una raza identificada como Ug99 o TTKSK en Uganda, se ha dispersado en África y parte de Asia y tiene virulencia para muchos genes de resistencia usados en la mayoría de los programas de mejoramiento de México y el mundo (Singh *et al.*, 2006); por otra parte Chen *et al.* (2014) indican que la roya amarilla en la actualidad está considerada como

la principal roya que afecta la producción de trigo de invierno y primavera en todo el mundo, es una enfermedad grave que ocurre en la mayoría de las áreas con climas húmedos y fríos durante la estación de crecimiento.

En México y el mundo en los últimos años se ha trabajado para encontrar resistencia genética a las royas, para ello se han llevado a cabo una diversidad de estudios con el fin de identificar genes que confieran resistencia. Singh *et al.*, (2002 y 2005) indican que el uso de cultivares resistentes es la mejor estrategia de lucha contra las royas del trigo, ya que es la vía más económica para controlar y minimizar las pérdidas, porque no ocasiona un costo adicional para el agricultor y es segura para el medio ambiente. La incorporación acumulada de 3 a 4 genes menores que confieren resistencia duradera a royas continúa siendo el instrumento más utilizado para el control de los patógenos causantes de enfermedades en México, el efecto aditivo de la combinación de genes se puede medir a través de un análisis de interacción, la identificación y el estudio de la interacción de genes ha sido fundamental para la sustentabilidad de la producción de trigo (Singh y Huerta-Espino, 2003).

Singh y Rajaram (1995) encontraron resistencia moderada en planta adulta en Pénjamo 62, Lerma Rojo 64 y Nacozari 76 atribuida al gen *Yr18* que está estrechamente ligado al *Lr34*; mientras que William *et al.*, (2003) identificaron el gen *Yr29* que está ligado al gen *Lr46* y que al igual que el *Yr18* confiere resistencia durable a esta roya. Adicionalmente se ha identificado que el gen *Lr67* está ligado al gen *Yr46* y el gen *Lr68* también podría tener efectos en la roya amarilla. Otros genes de efecto aditivo es *Yr30* ligado al gen de resistencia *Sr2* que confiere resistencia a la roya del tallo.

Navabi *et al.*, (2004) estudiaron la herencia de la resistencia a roya amarilla en cinco cultivares de trigo utilizando la raza MEX96.11; encontraron que la resistencia en planta adulta en las cruces de los padres resistentes con Avocet-*YrA* tiende a ser parcialmente dominante y está

basada en la interacción del gene *Yr18* y tres genes aditivos del mismo padre. La combinación de análisis indica que los genes de efectos aditivos son más importantes que los genes de efectos no aditivos en la herencia de resistencia en planta adulta.

Chen y Line (1993) en estudios para herencia a la resistencia en cultivares de trigo reportaron que en Yamhill se encuentra el gene *Yr2*; *Yr3a* en Campelle, Desprez, Druchamp, Stephens y Nord Desprez; *Yr3c* en Minister; *Yr4a* está en Cappelle Desprez, Vilmorin 23 y Yamhill; *Yr4b* está en Hibrid 46. Singh *et al.*, (2000) indican que con el propósito de encontrar genes de resistencia a la roya amarilla se obtuvo una población recombinante producto de líneas desarrolladas de un sintético (*Triticum turgidum* L “*Aegilops tauschii*” x *T. aestivum* L. “Opata M85”). Un gen previamente identificado de *A. tauschii*, designado como *Yr28*, fue localizado en el cromosoma del brazo 4DS. *Yr28* influencia resistencia a plántula y mostró un efecto fuerte en planta adulta en el sitio más caluroso; un segundo gen mostró alta sensibilidad al ambiente en la prueba en plántula, con resistencia asociada a Opata M85. El gen *Yr18* se sabe que está presente en Opata M85, reduce fuertemente la enfermedad y está ligado con el gen *Lr34* que da resistencia a roya de la hoja.

Villaseñor *et al.*, (2009) determinaron que la resistencia de planta adulta a roya amarilla en Juchi F2000 la confieren tres genes de efectos aditivos, y en Náhuatl F2000 y Tlaxcala F2000 se identificaron cuatro genes de efectos aditivos; también menciona que el gen *Yr18* es uno de los genes de resistencia que poseen estas variedades de trigo harinero de temporal. Por otra parte, Huerta-Espino *et al.*, (2012) indican que las variedades Urbina S2007, Cortázar S94, Bárcenas S2007 y Maya 2007 recomendadas para siembra bajo condiciones de riego en México, poseen de dos a tres genes de efectos aditivos que condicionan la resistencia a roya amarilla.

En la actualidad la mayoría de estudios genéticos involucran el aspecto molecular, ya que es una herramienta rápida y confiable para identificar nuevos genes de resistencia. Hasta la fecha se

han catalogado 67 genes que confieren resistencia a roya amarilla (*Yr*) y 74 para roya de la hoja (*Lr*) (McIntosh *et al.* 2013); y de estos *Lr34/Yr18 /Pm38/Sr57* (Singh *et al.*, 2012), *Lr46/Yr29/Pm39/Sr58* (Singh *et al.*, 2013), y *Lr67/Yr46/Pm46/Sr55* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014); *Lr68* (Herrera-Foessel *et al.*, 2012) tienen efectos pleiotropicos y confieren resistencia en planta adulta (APR) a las royas de la hoja, amarilla, del tallo y cenicilla polvorienta. Rosewarne *et al.*, (2013) indican que se han identificado y reportado más de 140 QTLs que confieren resistencia a roya amarilla.

William *et al.*, (2006) usando AFLP, SRP y RFLP identificaron seis loci que contribuyen a la resistencia de planta adulta tanto de roya amarilla como de la hoja en la cruza Avocet/Pavón F76. Los loci identificados en los cromosomas 1BL, 4BL y 6AL influyen resistencia a roya amarilla y de la hoja, mientras que los loci identificados en los cromosomas 3BS y 6BL solo para roya amarilla, el locus en el cromosoma 7B solo tuvo efecto para roya de la hoja. Por otra parte, Rosewarne *et al.*, (2012) indican que la variedad de trigo “Pastor” posee el gen *Yr31* el cual fue mapeado en el cromosoma 2BS.

El gen de planta adulta *Lr34* localizado en el cromosoma 7DS confiere resistencia de desarrollo lento a todas las razas de roya de la hoja que han existido y que aún existen en México (Huerta-Espino *et al.*, 2002) por lo que es la base de la resistencia de muchas variedades mexicanas (Singh y Rajaram, 1992).

Otro de los genes involucrados que confieren enrollamiento lento a roya de la hoja es el gen de “Pavón 76”, *Lr46*, que se localiza en el cromosoma 1BL(Singh *et al.*, 1998). Este gen tiene un ligamiento con el gen *Yr29* para roya amarilla el cual fue identificado en la cruza “Avocet S/Pavon 76”. William *et al.*, (2003) indicaron que *Yr29* que está ligado *Lr46*, ambos confieren resistencia durable a la enfermedad.

En una población desarrollada a partir de una cruce entre “RL6077” y “Avocet”, el gen *Lr67/Yr46* fue localizado en el cromosoma 4DL teniendo características fenotípicas similares a *Lr34/Yr18*, incluyendo necrosis en la hoja (NH) y resistencia a la roya lineal. Este gen puede ser utilizado en combinación con otros genes de desarrollo lento para alcanzar niveles de durabilidad altos a roya de la hoja y roya lineal del trigo (Herrera-Fossel *et al.*, 2011).

Lr68 es un gen de resistencia de planta adulta (RPA) que confiere resistencia a roya de la hoja causada por *P. triticina*, utilizando una línea recombinante de “Avocet-YrA x Parula” se ubicó el gen en el cromosoma 7B, este gen se asocia con una ligera necrosis de la hoja que podría indicar que *Lr68* y *Lr34* comparten un mecanismo de defensa común (Herrera-Foessel *et al.*, 2012).

Huites F95 es una variedad de trigo harinero liberada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) que ha mostrado resistencia a roya amarilla en años y ambientes, por otra parte Glenlea, Romero 73 y Bonza 63; son genotipos que durante muchos años han sido resistentes a las diversas razas de roya amarilla que se han presentado en diversos ambientes donde se han evaluado; por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia e identificar loci de carácter cuantitativo (QTLs) que confieren resistencia a roya amarilla y de la hoja en la variedad de trigo harinero Huites F95 y estimar el número de genes y el tipo de resistencia que poseen los genotipos Glenlea, Romero 73 y Bonza 63.

LITERATURA CITADA

- Chen X. M., and Line, R. F. 1993. Inheritance of stripe rust resistance in wheat cultivars postulated to have resistance genes at *Yr3* and *Yr4* loci. *Phytopathology* 83:382-388.
- Chen W., C. Wellings, X. Chen, Z. Kang and T. Liu. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Plant Pathol.* 15:433-446.
- FAOSTAT (FAO, 2015); <http://faostat.fao.org>
- Herrera-Foessel S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Yuen, J., Djurle, A. 2005. New genes for leaf rust resistance in CIMMYT durum wheats. *Plant Dis.* 89:809-814.
- Herrera-Foessel S. A., E. S. Lagudah., J. Huerta-Espino., M. J. Hayden., H. S. Bariana., D. Singh., R. P. Singh. 2011. New slow-rusting leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr67* and *Yr46* in wheat are pleiotropic or closely linked. *Theor. Appl. Genet.* 122:239–249.
- Herrera-Foessel S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Rosewarne, G. M., Periyannan, S. K., Viccars, L., Calvo-Salazar, V., Lan, C. X., Lagudah, E. S. 2012. *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 124: 1475–1486.
- Herrera-Foessel S. A., Singh, R. P., Lillemo, M., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Singh, S., Lan, C. X., Calvo-Salazar, V., Lagudah, E. S. 2014. *Lr67/Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 127: 781–789.
- Huerta-Espino J., H. E. Villaseñor M., E. Espitia R., S. G. Leyva M. y R. P. Singh. 2002. Análisis de la resistencia a la roya de la hoja en trigos harineros para temporal. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 25 (2): 161-169.
- Huerta- Espino J., R. Torres G., M. F. Rodríguez G., H. E. Villaseñor M., S. G. Leyva M., y E. Solís M. 2012. Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5:879-891.

- Line R. F. and Chen X. 1995. Successes in breeding for and managing durable resistance to wheat rusts *Plant Dis.* 79:12:1254-1255.
- McIntosh R. A., Yamazaki, Y., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., Morris, C., Appels, R., Xia, X. C. 2013. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013-2014 supplement. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2013.pdf>.
- Navabi, A., R. P. Singh, J. P. Tewari and K. G. Briggs. 2004. Inheritance of High Levels of Adult-Plant Resistance to Stripe Rust in Five Spring Wheat Genotypes. *Crop Sci.* 44:1156-1162.
- Roelfs A. P, and McVey D. V. 1972. Wheat stem rust races in the Yaqui Valley of Mexico during 1972. *Plant Dis. Rep.* 56:1038-1039.
- Rosewarne G. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Herrera-Foessel, S. A., Forrest, K. L., Hayden, M. J., Rebetzke, G. J. 2012. Analysis of leaf and stripe rust severities reveals pathotype changes and multiple minor QTLs associated with resistance in an Avocet 9 Pastor wheat population. *Theor. Appl. Genet.* 124:1283–1294.
- Rosewarne G. M., Herrera-Foessel, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Lan, C. X., He, Z. H. 2013. Quantitative trait loci of stripe rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2427–2449.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2015. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA) México. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Singh R. P, and S. Rajaram. 1995. Genetics of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72:1-7.
- Singh R, P., and Rajaram, S. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in ‘Frontana’ and three CIMMYT wheats. *Genome* 35: 24–31.

- Singh R, P., Mujeeb-Kazi, A., Huerta-Espino J. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88:890–894.
- Singh, R. P., J. C. Nelson and M. E. Sorells. 2000. Mapping *Yr28* and Other Genes for Resistance to Stripe Rust in Wheat. *Crop Sci.* 40:1148-1155.
- Singh, R. P., Huerta-Espino, J., and Roelfs, A. P. 2002. The wheat rusts. In: B.C. Curtis, S. Rajaram, and H. Gomez MacPherson (eds). *Bread Wheat: improvement and production.* pp 227-249. FAO.
- Singh, R. P. y J. Huerta-Espino. 2003. “El esquema de una retrocruza”. Una metodología eficiente de mejoramiento para transferir genes de resistencia basados en efectos menores y aditivos a la roya de la hoja y roya amarilla en variedades de trigo importantes. In: *Resistencia a roya en trigos. Seminario internacional.* INIA La Estansuela, Uruguay. pp: 16.
- Singh R. P., Huerta-Espino, J. and H. M. William. 2005. Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat. *Turk J. Agric. For.* 29: 121-127.
- Singh R. P., Hudson D., Yuen J., Huerta E. J., Kinyua M. G., Wanyera R., Njau P., and Ward R. W. 2006. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race *Ug99* (TTKS) of stem rust pathogen. *CAB reviews: perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources* 2006 1, No. 054.
- Singh R. P., Herrera-Foessel S. A., Huerta-Espino J., Bariana, H., Bansal, U., McCallum, B. C., Bhavani, S., Lan, C., Lagudah, E. 2012. *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Bdv1/Ltn1* confers slow rusting, adult plant resistance to stem rust. In: *Proceedings of the 13th international cereal rusts and powdery mildews conference Beijing, China.* pp. 173.
- Singh R. P., Herrera-Foessel, S. A., Huerta-Espino, J., Lan, C. X., Basnet, B. R., Bhavani, S., Lagudah, E. 2013. Pleiotropic gene *Lr46/Yr29/ Pm39/Ltn2* confers slow rusting, adult

- plant resistance to wheat stem rust fungus *In: Proceedings BGRI 2013 technical workshop*, New Delhi, India. pp: 17.1.
- Villaseñor M. H. E. 2000. Importancia del trigo *In: El Trigo de Temporal en México*. Villaseñor, M. H. E. y R. E. Espitia. (Eds.) SAGAR, INIFAP, CIR-CENTRO, CEVAMEX. México. pp: 7-22.
- Villaseñor E. O. M., J. Huerta E., S. G. Leyva M., H. E. Villaseñor M., R. P. Singh, J. S. Sandoval I. y E. Espitia R. 2009. Genética de la resistencia a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mex.* 32:217-233.
- William M, Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Ortiz Islas, S., Hoisington, D. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93: 153–159.
- William H. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Palacios, G., Suenaga, K. 2006. Characterization of genetic loci conferring adult plant resistance to leaf rust and stripe rust in spring wheat. *Genome* 49:977–990.
- Zwer P. K., Qualset C. O. 1994. Genes for resistance to stripe rust in four spring wheat varieties. *Euphytica* 74:10-115.

**CAPITULO I. HERENCIA DE LA RESISTENCIA DEL TRIGO HARINERO HUITES
F95 A ROYA AMARILLA**

María Florencia Rodríguez-García¹² Julio Huerta-Espino^{2*}, Reyna Isabel Rojas-Martínez¹, Ravi Prakash Singh³, Héctor Eduardo Villaseñor-Mir², Emma Zavaleta-Mejía¹, José Sergio Sandoval-Isas¹, José Crossa³, Caixia Lan³

¹ Fitosanidad, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. 56230. Km 36.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Estado de México.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apartado Postal 10, 56250, Km 13.5 Carretera Los Reyes- Texcoco Coatlinchán, Texcoco Estado de México. (j.huerta@cgiar.org).

³ Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Apartado Postal 6-641, 56237 Km. 45 Carretera México-Veracruz El Batán, Texcoco Estado de México.

Artículo enviado a Agrociencia

RESUMEN

El trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) es uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial, su producción en los últimos años ha sido afectada por la roya amarilla (RA) causada por el hongo *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*; el sembrar variedades resistentes, es una de las estrategias que ha permitido contrarrestar los efectos de la enfermedad en algunas partes del mundo. Huites F95 es una variedad mexicana de trigo harinero que desde su liberación ha mostrado niveles altos de resistencia en planta adulta (RPA) a roya amarilla; por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia y estimar el número de genes que condicionan la resistencia a roya amarilla en Huites F95. Se generó una población de 198 líneas endogámicas recombinantes (RIL) generadas por el cruzamiento de Huites F95 y Avocet-YrA. La caracterización fenotípica se realizó en Toluca, México en los ciclos Primavera-Verano 2013, 2014 y 2015; y en El Batán, Texcoco, Edo. de Méx. en P-V/2015. Se crearon epidemias artificiales utilizando una mezcla de aislamientos de roya amarilla denominadas: MEX96.11, MEX08.13 y MEX14.191. Las condiciones de temperatura y humedad fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad en los cuatro ambientes de evaluación lo que permitió determinar que la resistencia a RA de Huites F95 se debe al efecto de genes menores y es de tipo cuantitativa. Las proporciones fenotípicas de familias resistentes y susceptibles observadas y esperadas y la prueba de X^2 indicó la presencia de cuatro genes que confieren RPA a roya amarilla. Huites F95 no posee genes de resistencia de raza específica a los aislamientos evaluados, pero tiene altos niveles de resistencia en planta adulta a las diversas razas presentes en las principales regiones trigueras de México, y es un progenitor valioso para usarse en los programas de mejoramiento a nivel mundial para lograr resistencia durable a roya amarilla.

Palabras claves: genes, resistencia, roya amarilla, RIL.

ABSTRACT

Bread wheat (*Triticum aestivum* L.), is one of the most important global cereals, its production in recent years has been affected by yellow rust (YR) caused by the fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*; planting resistant varieties, is one of the strategies that has allowed it to offset the effects of the disease in some parts of the world. Huites F95 is a Mexican variety of bread wheat, which since its release has shown high levels of yellow rust resistance in adult plants (APR); so the objective of the present study was to determine the type of resistance and estimate the number of genes affecting the resistance to yellow rust in Huites F95. A mapping population of 198 inbred lines (RIL) recombinant was generated by the crossbreeding of Huites F95 and Avocet-YrA. The phenotypic characterization was performed in Toluca, Mexico in 2013, 2014 and 2015 spring-summer cycles; and in El Batán, Texcoco, Edo. de Mexico, during the P-V/2015. Artificial epidemics have been created using a mixture of isolates of yellow rust called: MEX96.11, MEX08.13 and MEX14.191. The temperature and humidity conditions were favorable for the development of the disease in the four evaluation environments allowing us to determine that the resistance in Huites F95 to YR is due to the effect of minor genes or quantitative type. The phenotypic proportions of resistant and susceptible families observed and expected and X^2 test indicated the presence of four genes that confer APR to yellow rust. Huites F95 has no race specific resistance genes to the isolates tested, but has high levels of resistance in adult plant to different races present in most major regions of Mexico, and is a valuable parent to be used in the worldwide breeding programs to achieve durable resistance to stripe rust.

Key words: genes, resistance, yellow rust, RIL.

INTRODUCCIÓN

La producción de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) de primavera e invierno en México y el mundo, es afectada por varias enfermedades fungosas, dentro de éstas se encuentran la roya amarilla causada por el hongo *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, de la hoja por *P. triticina* y del tallo por *P. graminis* f. sp. *tritici*. Singh *et al.* (2016) indican que, aunque se sabe que muchas enfermedades y plagas del trigo reducen el potencial y la calidad del rendimiento, las tres royas históricamente han causado grandes pérdidas de cosecha y siguen siendo económicamente importantes a pesar del uso generalizado del control genético y químico. Sin embargo, en los últimos años la roya amarilla es la que más daños a causado en todo el mundo, es una de las enfermedades más destructiva de la producción de cereales de invierno (Chen *et al.*, 2014; Wellings, 2011). Por otra parte, Chen *et al.* (2014) y Hovmoller *et al.* (2016) afirman que YR en los últimos años es una enfermedad de gran importancia en áreas con climas húmedos y fríos. Schwessinger (2017) indica que en el siglo XXI la roya amarilla ha evolucionado de forma acelerada y se ha convertido en la limitación biótica más grande la producción global de trigo; mientras que Luck *et al.* (2011) mencionan que la humedad, la temperatura y el viento son los tres factores meteorológicos más importantes que favorecen las epidemias de RA.

Hovmoller *et al.* (2011) indican que las epidemias de mayor impacto desde el año 2000 se han presentado en zonas más cálidas, donde la enfermedad se consideraba anteriormente sin importancia o ausente, la base de este cambio parece ser la tolerancia sin precedente del patógeno a temperaturas más elevadas, junto con la capacidad del patógeno para causar infección en un periodo de tiempo más corto. Schwessinger (2017) indica que los nuevos genotipos del patógeno son más agresivos y tienen la capacidad de infectar a variedades previamente resistentes. Por otra

parte, Singh *et al.* (2016) mencionan que la propagación de razas fisiológicas de royas más virulentas y más agresivas solo han empeorado la situación productiva del trigo en el mundo.

En México hasta el verano del 2000, las variedades recomendadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) para siembras de temporal y riego tenían resistencia a la roya amarilla, a excepción de Temporalera M87, que era moderadamente susceptible (Villaseñor *et al.*, 2007). En el verano del 2003, se observó una nueva raza identificada como MEX03.37 (219MEX0) que se caracterizó por infectar la espiga de diversas variedades resistentes (Rodríguez *et al.*, 2009), y en el verano del 2004, esta nueva raza venció la resistencia de raza específica de las variedades Zacatecas VT74, Salamanca S75, Pavón F76, Saturno S86, Gálvez M87, Cortázar S94 y Batán F96, y como consecuencia provocó pérdidas del 75% en el rendimiento. Rodríguez *et al.* (2009; 2010) han reportado 39 razas fisiológicas de roya amarilla que se han presentado en los últimos años en áreas productoras de trigo de temporal en los Valles Altos y 23 presentes en zonas productoras de trigo de riego en México e identificaron virulencia para los genes *Yr1*, 2, 6, 7, 17, 27, *Poll* y *A*, en casi todas las áreas productoras de temporal y riego del país. Durante los ciclos de cultivo del 2014, se produjo una epidemia identificándose varios aislamientos, entre los que destacan MEX14.141 con su fórmula de avirulencia/virulencia : *Yr1*, 5, 10, 15, 24, 26, *YrSp* y *YrPoll/Yr2*, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31; y MEX14.146 (*Yr5*, 10, 15, 24, 26, *YrSp* y *YrPoll/Yr1*, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31), estas nuevas combinaciones de virulencia de *Yr27* y *Yr31* provocaron pérdidas de resistencia de la variedad Nana F2007, recomendado para siembras de temporal en México, y Luminaria F2012, recomendada para siembras en áreas de riego en El Bajío (Solís *et al.*, 2016).

La estrategia que más ha apoyado el control de las royas en trigo en todo el mundo, es el genético; basado en la utilización de variedades con resistencia a las diversas razas fisiológicas de royas; por lo cual, se requirieren constantemente fuentes de resistencia para dichos hongos y una alternativa para lograr mayor durabilidad, es generar variedades que posean resistencia durable (poligénica, multigénica, horizontal o cuantitativa) basada en genes que confieren resistencia de patogenia lenta (*slow rusting*) (Singh *et al.*, 2001). En el caso de la roya amarilla se deben combinar de 4 a 5 genes de efecto aditivo para reducir el progreso de la enfermedad a niveles tan bajos que sólo se puedan observar porcentajes de severidad mínimos (Singh *et al.*, 2000, 2011). Hasta la fecha se han catalogado 78 genes que confieren resistencia a RA (McIntosh *et al.*, 2017); y de estos *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57* (Singh *et al.*, 2012), *Lr46/Yr29/Pm39/Sr58* (Singh *et al.*, 2013), y *Lr67/Yr46/Pm46/Sr55* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014), tienen efecto pleiotropico y confieren Resistencia de Planta Adulta (RPA) a roya de la hoja, amarilla, del tallo y cenicilla polvorienta. Huites F95 es una variedad de trigo harinero liberada por el (INIFAP) que ha mostrado resistencia a roya amarilla en muchos años y ambientes por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia que posee Huites F95 y estimar el número de genes que condicionan su resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

El germoplasma utilizado como progenitor susceptible fue Avocet-*YrA* (Avocet S) y como progenitor resistente Huites F95, las características de cada uno de ellos se describen a continuación:

Avocet-*YrA*

Es una línea proveniente de una re-selección de la variedad australiana Avocet que carece de genes de resistencia a roya amarilla, también se le conoce como ‘Avocet S’. Huerta-Espino *et al.* (2012) indicaron que Avocet-*YrA* es susceptible en plántula y planta adulta a todas las razas fisiológicas de roya amarilla que se han presentado y existen en México.

Huites F95

Es una variedad mexicana de trigo harinero liberada para condiciones de riego en 1995 por el INIFAP, proviene de la cruce realizada en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) entre los progenitores VEERY/KOEL identificándose con el pedigrí: CM-67395-2H-3E-1E-1E-0E. Es de gluten fuerte extensible, 120 días a madurez fisiológica, altura de planta 100 cm, rendimiento promedio 5, 200 kg/ha, fue caracterizada por poseer resistencia a roya de la hoja y tolerante al carbón parcial (Barrera, 1995); sin embargo, ha presentado niveles altos de resistencia en planta adulta a las diversas razas de roya amarilla que prevalecen en la actualidad.

Obtención de Líneas Endogámicas Recombinantes F₅

Se generaron las líneas (AOC-YR/HUITES F95 CMSS09Y01210S-1F1-099Y-099B-1Y-0B) derivadas de la cruce entre los progenitores Avocet-*YrA* y Huites F95, mediante el método emasculación-polinización manual realizado durante el ciclo O-I/09-10 en el Campo Experimental Norman Ernest Borlaug (CENEB) del CIMMYT, ubicado en Cd. Obregón, Son., a

37 msnm, con coordenadas geográficas 27° 23' 46" N, 109° 55' 23" O. En el ciclo P-V/2011 en CIMMYT El Batán, se sembró la F₁ en forma mateada y se cosecharon cuatro plantas al azar las cuales se identificaron como 1F₁, 2F₁, 3F₁ y 4F₁ para avanzar a la siguiente generación. En el ciclo O-I/11-12 se sembró la generación F₂ en dos surcos dobles de 11 m de largo, en el CENEB. El avance generacional de la F₂ a F₄ se realizó por el método masal con selección y en la F₄ se derivaron familias F₅. De la progenie de cada una de las cuatro plantas F₁, se cosecharon 50 plantas para obtener 200 familias F₅. Se realizó incremento de semilla de 198 RIL F₅ y ambos progenitores; y dicha semilla se utilizó para todos los ensayos.

Evaluación de los progenitores en planta adulta

Durante los ciclos P-V 2013, 2014 y 2015 bajo incidencia natural del patógeno presentada en condiciones de temporal, se evaluó la severidad de roya amarilla del progenitor susceptible (*Avocet-YrA*) y el progenitor resistente (Huites F95), en 12 ambientes donde se siembra trigo de temporal en México; dichos ambientes fueron Toluca, Chapingo, Santa Lucia, El Batán, Amecameca y Juchitepec en el Estado de México; Velasco, Soltepec y Nanacamilpa en Tlaxcala; Yanhuitlán y Nochixtlán en Oaxaca; y El Texcal, en Puebla. El porcentaje de severidad de ambos progenitores fue registrado utilizando la escala de Cobb modificada (Peterson *et al.*, 1948).

Evaluación de las RIL F₅ por su resistencia a RA en plántula

La evaluación se realizó en CIMMYT- El Batán, bajo condiciones de invernadero (T máx. 24°C- T min. 7°C) se evaluó la resistencia de las RIL F₅ de la población *Avocet-YrA/Huites F95* durante el mes de noviembre del 2015. Las semillas de las familias se sembraron en charolas de plástico de 20cm x 30cm x 6 cm conteniendo una mezcla de tierra estéril y peat most en una proporción 60:40, se marcaron pequeños orificios y se colocaron de 8 a 9 semillas por línea. A los

11 d posteriores a la siembra, las plántulas se inocularon con urediniosporas de las razas MEX96.11, MEX08.13 y MEX14. 125 a una densidad de 1×10^{-6} mL. Las plántulas inoculadas se colocaron en una cámara bioclimática con temperaturas de 4 - 7°C por 24 h y roció constante por una hora. Posteriormente se trasladaron al invernadero y después de 15-18 d de inoculación se registró su reacción a la roya amarilla utilizando la escala del 0-9 propuesta por Roelfs *et al.* (1992), donde 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se consideran reacción de resistencia y 7, 8 y 9 reacción de susceptibilidad.

Evaluación en campo de las RIL F₅ por su resistencia en planta adulta a RA

Ambientes de evaluación

La evaluación en campo de las 198 RIL por su reacción a roya amarilla, se realizó en un ensayo no replicado y en tres años (2013, 2014, 2015), dichas evaluaciones se realizaron en estaciones experimentales del CIMMYT; durante los ciclos agrícolas P-V 2013, 2014 y 2015 en Toluca, Mex., y durante el P-V/2015 en El Batán Texcoco Edo. de Méx. El campo experimental en Toluca Mex., Se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas 19° 17' N, y a 99° 40 O a una altura de 2,600 msnm, en dicha estación las condiciones ambientales son muy propicias para el desarrollo de la roya amarilla. Basnet *et al.* (2013) reportan temperaturas máximas mensuales entre 19 y 23°C y precipitaciones mensuales de 65 a 145 mm durante la temporada del cultivo; por otra parte, la estación de El Batán, se localiza en las coordenadas geográficas 19° 31' 46" N y a 98° 51' 9" O, a una altura de 2,240 msnm, con una precipitación media anual de 710.3 mm, con una temperatura de 4 - 24 °C. En los últimos años se han presentado condiciones favorables para el desarrollo de la roya amarilla en El Batán.

Siembra

Las 198 RIL F₅ y los progenitores resistentes y susceptibles (Avocet-YrA, Huites F95) se sembraron en campo en dos filas paralelas de 0.7 m para tener un total aproximado de 70 plantas por línea. A un lado de cada parcela y alrededor del lote experimental se sembró una mezcla de la variedad Morocco, Avocet-Yr31 y seis líneas que poseen el gen Yr27.

Inoculación

Para hacer una eficiente evaluación y clasificación de las RIL F₅ por su reacción a roya amarilla fue necesario crear epidemias artificiales mediante tres inoculaciones, utilizando una mezcla de las razas MEX96.11 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1,4,5,8,10,15,17,24, Sp/2,3,6,7,9,27, A* (William *et al.*, 2003) y MEX08.13 que es avirulenta a Yr27 y virulenta a Yr31 y MEX14.191 tiene virulencia para *Yr1, Yr27, Yr31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015). Las inoculaciones se realizaron mediante suspensión de urediniosporas en aceite mineral (Soltrol[®] 170; Chevron Phillips Chemical Company) usando un atomizador manual.

Toma de datos

La severidad de la enfermedad, se registró cuando el progenitor susceptible alcanzo un 80 % de severidad y posteriormente se registraron dos lecturas más, hasta llegar al 90-100%; para dicha evaluación se utilizó la escala de Cobb modificada (Peterson *et al.*, 1948) y la respuesta del hospedante a la infección se determinó de acuerdo con Roelfs *et al.* (1992), donde: MS= moderada susceptibilidad, uredinios pequeños de tamaño moderado; y S= susceptible, uredinios grandes.

Clasificación de RIL

Con base en la severidad de la enfermedad y la respuesta a la infección, las familias F₅ fueron clasificadas en tres categorías fenotípicas según (Singh y Rajaram, 1993) y se describen a continuación.

LHPTR: líneas homocigotas parentales tipo resistentes.

LHPTS: líneas homocigotas parentales tipo susceptible.

OTROS: líneas con respuesta diferente a los dos padres.

Análisis estadístico

Los experimentos en campo se llevaron a cabo en cuatro ambientes y con una sola repetición; la estimación del número de genes se realizó mediante el análisis de segregación mendeliana tradicional chi-cuadrada (X^2) (Singh y Rajaram 1992). Con las lecturas registradas en intervalos del tiempo se calculó el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) para la severidad de roya amarilla, utilizando la siguiente ecuación según Bjarko y Line (1988).

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{x_i + x_{i+1}}{2} \right) t_i$$

Donde x_i = porcentaje de área foliar afectado en cada lectura; i , t_i = intervalo de tiempo (en días) entre la fecha i y la fecha $i + 1$; y n = número de lecturas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de los progenitores en planta adulta

Durante los ciclos P-V/2013, 2014, 2015 en 12 ambientes donde se siembra trigo bajo condiciones de temporal en México, se evaluaron los niveles de resistencia en planta adulta a roya amarilla del progenitor susceptible y resistente (*Avocet-YrA* y Huites F95) bajo incidencia natural del patógeno. Para *Avocet-YrA* se registraron lecturas entre 90 y 100 % de severidad y una reacción de susceptibilidad en todos los ambientes evaluados (Cuadro 1); para Huites F95 las lecturas fueron desde 0 hasta 15 % de severidad de RA y reacción de moderada susceptibilidad (MS) en Toluca, Méx., y Nochixtlán, Oax., durante el P-V/2013, 2014, se registró la severidad más baja; y los más altos 15MS se registraron en P-V/2014 y 2015 en ambientes de Tlaxcala y Puebla principalmente; dicha diferencia es debida a que en el 2014 y 2015 las razas fisiológicas de roya amarilla que se presentaron fueron más virulentas en comparación del P-V/2013 y anteriores, además que la epidemia de roya amarilla se generalizó en los campos comerciales y la infección ocurrió en las etapas tempranas de desarrollo de la planta. Sin embargo, Huites F95 sigue manteniendo su buena resistencia a RA ante la problemática de roya amarilla que se presentó en los Valles Altos de México como lo indica Huerta-Espino *et al.* (2015).

Evaluación de la resistencia a RA en plántula de las RIL y progenitores

En CIMMYT El Batán, bajo condiciones de invernadero, se evaluaron por su resistencia a roya amarilla en etapa de plántula las 198 RIL y los progenitores, dicha evaluación fue bajo incidencia artificial del patógeno, utilizando las razas fisiológicas de roya amarilla MEX96.11, MEX08.13 y MEX14. 125. A los 15 y 18 d después de la inoculación se tomó la reacción de infección utilizando la escala de 0-9. Con las tres razas evaluadas por separado, *Avocet-YrA* y

Huites F95 tuvieron respuesta de susceptible y muy susceptible (8 y 9), en las 198 RIL se observaron lecturas similares a los progenitores, lo que indicó que Huites F95 no tienen genes de resistencia de raza específica a las razas de roya amarilla evaluadas, y el tipo de resistencia que posee es de planta adulta (RPA) y es de raza no específica; dicha resistencia se caracteriza por expresar susceptibilidad en etapa de plántula y el tipo de reacción en planta adulta también es de tipo compatible (S) (Chen *et al.*, 2014; Niks *et al.*, 2011).

Evaluación de la resistencia a RA en planta adulta de las RIL y progenitores

Las condiciones de temperatura y humedad fueron favorables para el desarrollo de la roya amarilla en los cuatro ambientes donde se evaluaron las 198 RIL y los progenitores (Toluca 2013, Toluca 2014, Toluca 2015 y El Batán 2015). En promedio la severidad final de la enfermedad (SFE) y la reacción de RA en planta adulta para Avocet-*YrA* fue de 90S a 100S y el en progenitor resistente Huites F95 fue desde 1 hasta 5MS (Cuadro 1).

En la Figura 1 se presenta la severidad final de la enfermedad (SFE) de las 198 RIL y los dos progenitores, evaluados en los ambientes denominados Toluca 2013, Toluca 2014 y Toluca 2015 y El Batán 2015, y en la Figura 2 se presenta el ABCPE de los cuatro ambientes, los progenitores y 198 RIL. En ambas Figuras (1 y 2) se muestra el comportamiento de las RIL con respecto a los niveles de infección y a través del tiempo; se observó una distribución continua y aproximadamente normal tanto en SFE y ABCPE y no se observó una distribución discreta de clases que pudiese indicar la presencia de genes de resistencia de efectos mayores. El comportamiento de la población Avocet-*YrA*/Huites F95 fue ligeramente diferente en el primer año de evaluación (Toluca 2013); sin embargo, para los ambientes (Toluca 2014, Toluca 2015 y El Batán 2015) el comportamiento fue similar, dicha diferencia puede deberse a la dominancia de

ciertas razas cuando se usan mezclas, que la infección inicial haya ocurrido en tiempo diferente a la fecha de la estimación de la enfermedad o bien a una clasificación errónea de las familias completamente susceptibles enmascaradas por otras enfermedades foliares como *Septoria tritici* que es común en Toluca durante el ciclo del cultivo como lo indican Velu y Singh (2013).

Estimación del número de genes que condicionan resistencia a RA en Huites F95

La evaluación de la población Avocet-*YrA*/Huites F95 por su resistencia en planta adulta se realizó en cuatro ambientes y con una sola repetición. Tomando el porcentaje de severidad final las 198 RIL fueron clasificadas en tres categorías fenotípicas. En el Cuadro 2 se presenta el análisis de segregación mendeliana (X^2) para los cuatro ambientes, en donde se observa que en los ambientes Toluca 2013, Toluca 2015 y El Batán 2015 las proporciones fenotípicas se ajustaron a cuatro genes y en Toluca 2014 las proporciones se ajustaron a cuatro y cinco genes de resistencia en planta adulta.

Cuadro 1. Porcentaje de severidad y reacción a roya amarilla de Huites F95 y Avocet-YrA evaluados durante los ciclos P-V/2013, 2014 y 2015 en 12 ambientes en México.

Estado	Localidad	Ciclos	Genotipos	
			Avocet-YrA	Huites F95
Estado de Méx.	Toluca	2013	100S	1MS
		2014	90S	1MS
		2015	90S	5MS
	Chapingo	2014	100S	10MS
		2015	100S	5MS
	Sta. Lucia	2014	100S	5MS
		2015	100S	5MS
	El Batán	2015	100S	1MS
	Amecameca	2014	90S	10MS
	Juchitepec	2014	100S	5MS
Tlaxcala	Velasco	2014	100S	15MS
	Soltepec	2014	90S	5MS
	Nanacamilpa	2014	100S	10MS
		2015	100S	10MS
Puebla	El Texcal	2014	100S	10MS
		2015	100S	10MS
Oaxaca	Yanhuitlán	2014	100S	5MS
	Nochixtlán	2014	100S	0

MS= Moderadamente Susceptible

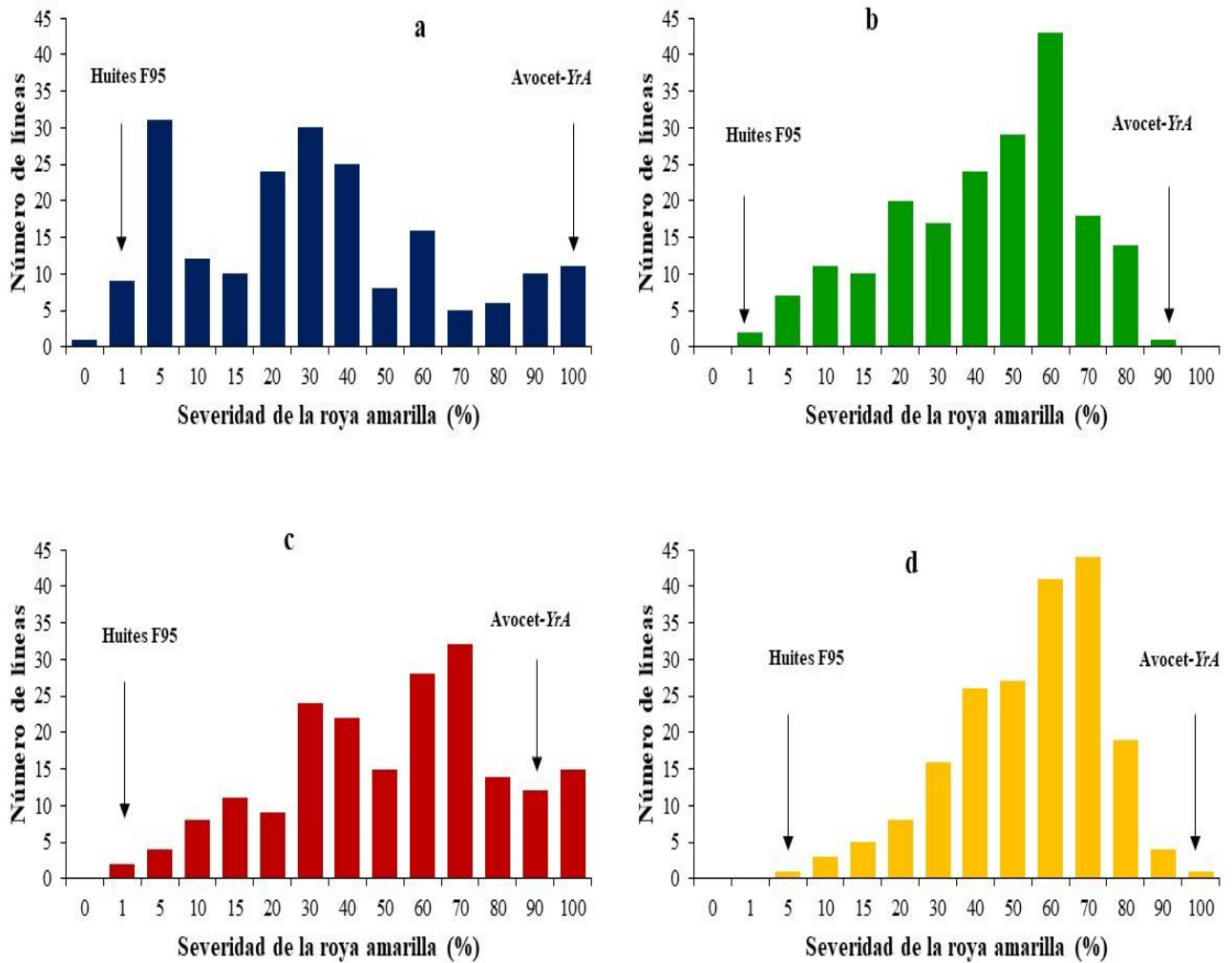


Figura 1. Distribución fenotípica de los progenitores y 198 RIL. a) severidad final de roya amarilla Toluca 2013, b) severidad final de roya amarilla Toluca 2014, c) severidad final de roya amarilla Toluca 2015, d) severidad final de roya amarilla El Batán 2015.

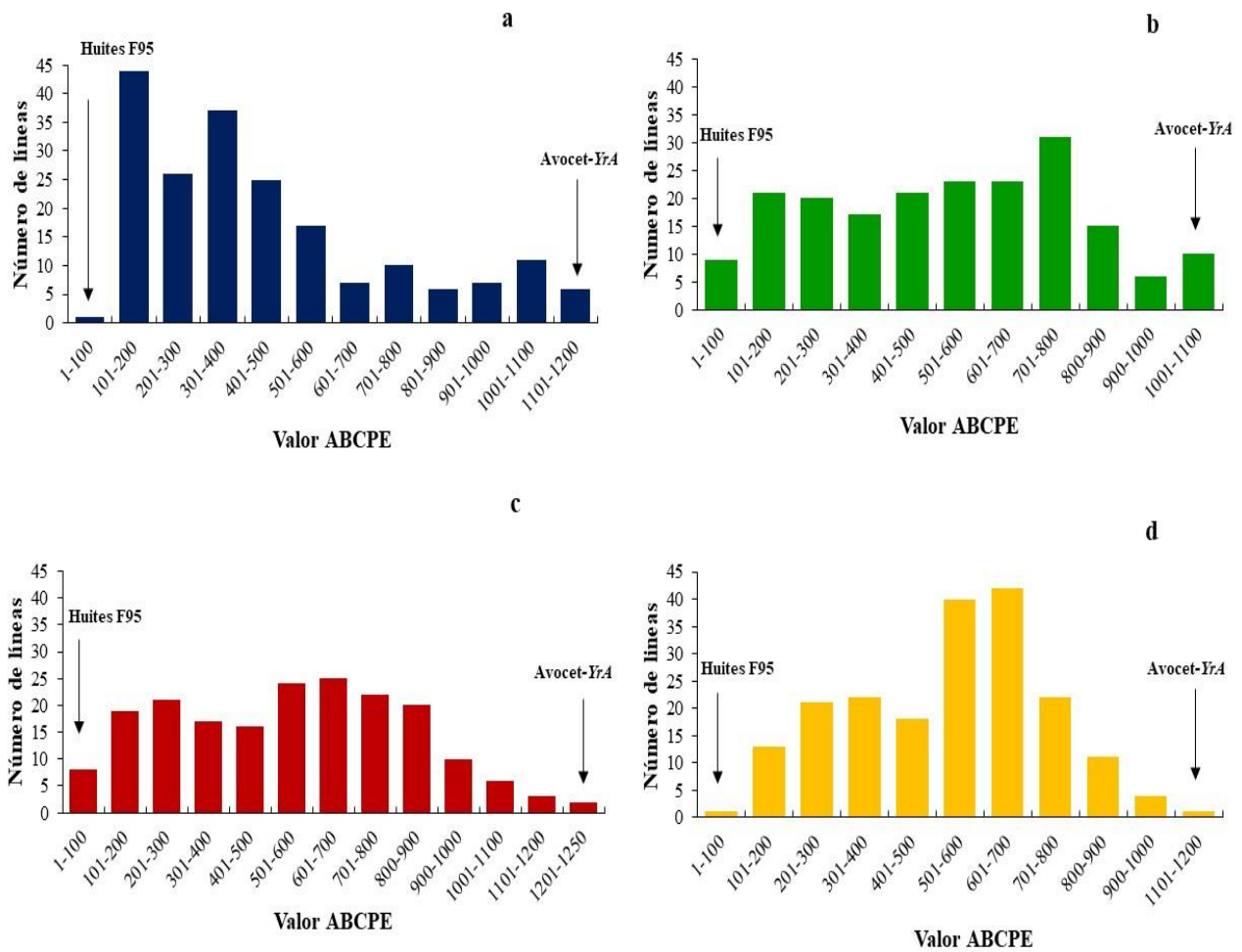


Figura 2. Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de la roya amarilla en los progenitores y 198 RIL. a) ABCPE Toluca 2013, b) ABCPE Toluca 2014, c) ABCPE Toluca 2015, d) ABCPE El Batán 2015.

Cuadro 2. Estimación del número de genes de resistencia en planta adulta a roya amarilla basado en el análisis de segregación Mendeliana para 198 RIL de la población F₅ Avocet-YrA/Huites F95.

Años	Grupos						Núm. de genes	X ²
	Núm. de familias F ₅			Frecuencia relativa				
	Categorías			Categorías				
LHPTR	LHPTS	OTROS	LHPTR	LHPTS	OTROS			
2013 T	9	11	178	4.5	5.6	89.9	4	1.2
2014 T	2	1	193	1	.5	97.5	4	5.0
							5	1.0
2015 T	3	5	188	1.5	2.5	94.9	5	1.7
							4	.06
2015 B	1	4	190	.5	2.0	96	4	3.6

4 gl, $\alpha = 0.05$, $X^2_{t} = 9.488$; LHPTR= líneas homocigotas parentales tipo resistentes; LHPTS= líneas homocigotas parentales tipo susceptible; OTROS= líneas con respuesta diferente a los dos padres; T=Toluca, Méx., B= El Batán Tex. Edo. de Méx.

En los últimos años, la problemática de la roya amarilla en México y el mundo ha propiciado redoblar esfuerzos en la búsqueda de fuentes de resistencia para dicha enfermedad y una estrategia que se ha implementado en los últimos años es la formación y liberación de variedades resistentes basadas en genes con efectividad a las razas fisiológicas existentes en México y el mundo. Villaseñor *et al.* (2009) estudiaron la resistencia a roya amarilla de tres variedades de trigo de temporal encontrando que de tres a cuatro genes de efecto aditivo condicionan la resistencia en Juchi F2000, Náhuatl F2000 y Tlaxcala F2000; por otra parte Huerta-Espino *et al.*

(2012), determinaron que la resistencia a roya amarilla en las variedades recomendadas para siembra de riego (Cortázar S94, Bárcenas S2002, y Maya S2007) está condicionada por dos o tres genes de efecto aditivo, mientras que en Urbina S2007 está condicionada por tres o cuatro genes de la misma naturaleza. Conjuntar resistencia de raza específica y de raza-no-especifica también ha dado buenos resultados y en los últimos años diversos trabajos se han enfocado a identificar genes mayores y menores, Basnet *et al.* (2013) determinaron que la variedad Quaiu 3 posee dos tipos de resistencia (cualitativa y cuantitativa) y que este tipo de resistencia es muy eficaz para el control de la roya amarilla. Por otra parte, Lan *et al.* (2014) identificaron resistencia a roya amarilla y de la hoja en plántula y planta adulta en el genotipo Francolin #1.

Huites F95 al momento de su liberación fue descrita como una variedad con resistente a roya de la hoja y al carbón parcial que era el principal problema fitopatológico en el Norte de Sinaloa; sin embargo, con la aparición de nuevas razas fisiológicas en los últimos años en zonas productoras de temporal y riego (Rodríguez *et al.* 2009; 2010), Huites F95 se ha seguido evaluando por su resistencia a RA en ensayos y viveros nacionales y su resistencia ha permanecido efectiva a través del tiempo.

La distribución fenotípica de las 198 RIL de la población Avocet-YrA/Huites F95 fue aproximadamente normal y continua en los cuatro ambientes evaluados, indicando que la resistencia que posee Huites F95 es debida al efecto de genes menores y es de tipo cuantitativa; esta afirmación coincide con la reportada en otros estudios en términos de distribución fenotípica en poblaciones con resistencia de patogenia lenta a la enfermedad (Singh *et al.*, 2011); por otra parte el análisis mendeliano indicó que la resistencia a roya amarilla en Huites F95 esta conferida entre cuatro y cinco genes.

En la evaluación en campo y en los cuatro ambientes se observó en Huites F95 el marcador morfológico denominado necrosis en la punta de la hoja (*Ltn*=leaf tip necrosis), dicho marcador está asociado con los genes de resistencia en planta adulta y de efecto pleiotropico denominados: *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Ltn1* (Singh, 1992); *Lr46/Yr29/Sr58/Pm39/Ltn2* (Rosewarne *et al.*, 2006); y *Lr67/Yr46/Sr55/Pm39/Ltn3* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014). Sin embargo, Huerta-Espino *et al.* (2003) en un estudio de postulación de genes de resistencia para roya de la hoja, indican que Huites F95 posee el gen de resistencia en planta adulta *Lr34* y dos más de efecto aditivo, dicho gen está asociado con el *Yr18*; esta postulación se hizo al observar la quemadura de la punta de la hoja. Sin embargo este criterio, dejo de ser válido cuando se clonó el gen *Lr34* (Krattinger *et al.* 2009) y se confirmó la asociación de la quemadura de la punta de la hoja no solo con *Lr34*, pero también con *Lr46* (Rosewarne *et al.*, 2006); *Lr67* (Moore *et al.*, 2015) y *Lr68* (Herrera-Foessel, *et al.* 2012); por otra parte Huerta-Espino (2017¹) indica que Huites F95 posee el gen de resistencia en planta adulta a roya del tallo denominados *Sr58* basado en los marcadores tipo SNP denominado *Lr46_SNP1622* y *L46 sf2-2*; dicho gen se encuentra ligado a los genes *Lr46* (Singh *et al.* 1998), *Yr29* (William *et al.* 2003) y *Pm39* (Lillemo *et al.* 2008). Con base en esto, se infiere que Huites F95 no posee el gen *Yr18*. Por otra parte, otro gen de RPA que podría estar presente en Huites F95 es el *Yr30* que está ligado con el *Sr2*, dicho gen está asociado al marcador morfológico denominado pseudo-black chaff (gluma negra) como lo indicaron Kota *et al.* (2006); sin embargo dicho marcador morfológico no fue observado en campo en Huites F95. Tomando como referencia lo anterior es posible que Huites F95 solo posea el gene de efecto pleiotropico denominado *Yr29* y los otros genes que están involucrados en la resistencia a roya amarilla en Huites F95 sean diferentes a los ya encontrados.

¹ Huerta-Espino, J. 2017. Comunicación personal. Investigador Fitopatólogo del INIFAP (j.huerta@cgiar.org).

En Toluca 2013 se observó una línea más resistente que Huites F95 y en Toluca 2015 se observaron líneas más susceptibles que el progenitor susceptible tomando como referencia el porcentaje de severidad, lo que indica que Avocet-*YrA* también posee al menos un gen de efecto pequeño que le condiciona resistencia a RA. Investigaciones recientes han demostrado que “Avocet S” posee regiones genómicas con efecto pequeño para roya amarilla en los cromosomas 2BL, 4BL, 6AL, 7AS y 7AL (Rosewarne *et al.*, 2013; He *et al.*, 2011). Nicks *et al.*, (2011) indican que cuando en la progenie se observan individuos con mayor resistencia o mayor susceptibilidad que los progenitores, se concluye que los dos padres poseen genes que confieren resistencia.

CONCLUSIONES

La resistencia de planta adulta a roya amarilla en la variedad Huites F95 está determinada por cuatro a cinco genes menores y de efecto aditivo. El gen *Yr29* de efecto pleiotropico se encuentra presente en Huites F95. Por su nivel de resistencia a roya amarilla, Huites F95 representa una fuente de resistencia útil para los programas de mejoramiento de trigo en México y el mundo.

LITERATURA CITADA

- Barrera S. M. A. 1995. Huites F95 y Choix M95 nuevas variedades de trigo harinero para Sinaloa. Folleto Técnico No. 12. CIRNO-CEVY-INIFAP 15 p.
- Basnet B. R., R. P. Singh, S. A. Herrera-Foessel, A. M. H. Ibrahim, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar and J. Rudd. 2013. Genetic analysis of adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common spring wheat Quaiu 3. *Plant Dis.* 97:728–736.
- Bjarko M. E. and R. F. Line. 1988. Heritability and number of genes controlling leaf rust resistance in four cultivars of wheat. *Phytopathology* 78:457-461.
- Chen W., C. Wellings, X. Chen, Z. Kang and T. Liu. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Plant Pathol.* 15:433-446.
- He Z. H., C. Lan, X. Chen, Y. Zou, Q. Zhuang and X. Xia. 2011. Progress and perspective in research of adult-plant resistance to stripe rust and powdery mildew in wheat. *Sci. Agric. Sin.* 11:2193-2215.
- Herrera-Foessel S. A., R. P. Singh, M. Lillemo, J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. Singh, C. Lan, V. Calvo-Salazar and E. S. Lagudah. 2014. *Lr67/ Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 127:781–789.
- Herrera-Foessel S. A., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, G. M. Rosewarne, S. K. Periyannan, L. Viccars, V. Calvo-Salazar, C. Lan, E. S. Lagudah. 2012. *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 124:1475–1486.
- Hovmoller M. S., S. Walter, R. A. Bayles, A. Hubbard, K. Flath, N. Sommerfeldt, M. Leconte, P. Czembor, J. Rodriguez–Algaba, T. Thach, J. G. Hansen, P. Lassen, A. F. Justesen, S. Ali and C. de Vallavieille-Pope. 2016. Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the center of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathology* 65:402-411.

- Hovmoller M. S., Ch. K. Sorensen, S. Walter and A. F. Justesen. 2011. Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49:197-217.
- Huerta-Espino J., H. E. Villaseñor Mir, M. F. Rodríguez-García and R. P. Singh. 2015. Emerging new virulence gene combinations in the Mexican *Pst* population. In: The BGRI technical workshop, September 17-20, Sydney Australia.
- Huerta- Espino J., R. Torres G., M. F. Rodríguez G., H. E. Villaseñor M., S. G. Leyva M., y E. Solís M. 2012. Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5:879-891.
- Huerta-Espino J., R. P. Singh, H. E. Villaseñor M., E. Espitia R., y S. G. Leyva M. 2003. Postulación de genes de resistencia a la roya de la hoja (*Puccinia triticina* E.) en plántula y planta adulta en genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) *Rev. Mex. Fitopatol.* 3: 239-247.
- Krattinger S. G., E. S. Lagudah, W. Spielmeier, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. McFadden, E. Bossolini, L. L. Selter, and B. Keller. 2009. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323: 1360-1363.
- Kota R, W. Spielmeier, R. A. McIntosh and E. S. Lagudah. 2006. Fine genetic mapping fails to dissociate durable stem rust resistance gene *Sr2* from pseudo-black chaff in common wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor. Appl. Genet.* 112:492–499.
- Lan C. X., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar and S. A. Herrera-Foessel. 2014. Genetic analysis of resistance to leaf rust and stripe rust in wheat cultivar Francolin#1. *Mol. Breeding* 34:789–803.
- Lillemo M., B. Asalf, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, X. Chen, Z. H. He, A. Bjornstad. 2008. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of

- partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theor. Appl. Genet.* 116:1155–1166.
- Luck J., M. Spackman, A. Freeman, P. Trebicki, W. Griffiths, K. Finlay and S. Chakraborty. 2011. Climate change and diseases of food crops. *Plant Pathol.* 60:113-121.
- McIntosh, R. A., J. Dubcovsky, W. J. Rogers, C. Morris and X. C. Xia. 2017. Catalogue of gene symbols for wheat: 2017 Supplement. 20 p.
- Moore J.W., S. A. Herrera-Foessel, C. Lan, W. Schnippenkoetter, M. Ayliffe, J. Huerta-Espino, M. Lillemo, S. Periyannan, R. Milne, X. Kong, W. Spielmeier, M. Talbot, H. Bariana, J. Patrick, P. Dodds, R. P. Singh and E. Lagudah. 2015. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nat. Genet.* 47: 1494-1498.
- Niks R. E., J. E. Parlevliet, P. Lindhout and Y. Bai. 2011. Breeding crops with resistance to diseases and pests. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. 200 p.
- Peterson R. F., A. B. Campbell and A. E. Hannah. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stem of cereals. *Can. J. Res.* 5:496-500.
- Rodríguez G. M. F., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M., J. S. Sandoval I., y R. P. Singh. 2010. Análisis de virulencia de la roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) del trigo (*Triticum aestivum* L.) en los Valles Altos de México. *Agrociencia* 44:491-502.
- Rodríguez G. M. F., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M. y E. Solís-Moya. 2009. Virulencia de la roya amarilla del trigo en las principales zonas productoras de riego en México. *Agric. Tec. Méx.* 2:179-187.
- Roelfs A. P., R. P. Singh y E. Saari. 1992. Las royas del trigo: conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. México, D. F. CIMMYT. 81 p.

- Rosewarne G. M., S. A. Herrera-Foessel, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, C. Lan and Z. H. He. 2013. Quantitative trait loci of stripe rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2427–2449.
- Rosewarne G. M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. M. William, S. Bouchet, S. Cloutier, H. McFadden and E. S. Lagudah. 2006. Leaf tip necrosis, molecular markers and β 1-proteasome subunits associated with the slow rusting resistance genes *Lr46/Yr29*. *Theor. Appl. Genet.* 112:500-508.
- Schwessinger B. 2017. Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century. *New Phytologist* 213:1625-1631.
- Singh R. P. 1992. Association between gene *Lr34* for leaf rust and leaf tip necrosis in wheat. *Crop Sci.* 32:874–878.
- Singh R. P. and S. Rajaram. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in ‘Frontana’ and three CIMMYT wheats. *Genome* 35: 24–31.
- Singh R. P. and S. Rajaram. 1993. Genetic of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72:1-7.
- Singh R. P., P. K. Singh; J. Rutkoski; D. P. Hodson; X. Lee; L. N. Jorgensen, M. S. Hovmoller and J. Huerta-Espino. 2016. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 54:303-322.
- Singh R. P., S. A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, C. Lan, B. R. Basnet, S. Bhavani, E. Lagudah. 2013. Pleiotropic gene *Lr46/Yr29/ Pm39/Ltn2* confers slow rusting, adult plant resistance to wheat stem rust fungus *In: Proceedings BGRI 2013 technical workshop, New Delhi, India.* pp: 17.1
- Singh R. P., S. A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, H. Bariana, U. Bansal, B. C. McCallum, S. Bhavani, C. Lan and E. Lagudah. 2012. *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Bdv1/Ltn1* confers slow

- rusting, adult plant resistance to stem rust. *In*: Proceedings of the 13th international cereal rusts and powdery mildews conference Beijing, China. pp. 173.
- Singh R. P., J. Huerta- Espino, S. Bhavani, S. A. Herrera-Foessel, D. Singh, P. K. Singh, G. Velu, R. E. Mason, Y. Jin and J. Crossa. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179:175-186.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino and H. M. William. 2001. Resistencia durable a roya de la hoja y roya amarilla del trigo *In*: Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo un enfoque multidisciplinario La Estanzuela, Uruguay. pp:109-117.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino and S. Rajaram. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 35:133-139.
- Singh R. P., A. Mujeeb-Kazi and J. Huerta-Espino. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88:890–894.
- Solís M. E., J. Huerta E., P. Pérez H., H. E. Villaseñor M., A. Ramírez R., y M. de L. de la Cruz G. 2016. Alondra F2014, nueva variedad de trigo harinero para el Bajío, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5:1225-1229.
- Velu G. and R. P. Singh. 2013. Phenotyping in wheat breeding. *In*: Panguluri SK, Kumar AA (eds) *Phenotyping in plant breeding: Applications of Phenotyping methods for Crop Improvement*. Springer, New York, pp 41–71.
- Villaseñor M. H. E., J. Huerta E., E. Espitia R., A. Limón O. y M. F. Rodríguez G. 2007. Variedades de trigo para siembras de temporal en el estado de Tlaxcala. INIFAP-CIRCE. S. E. Tlaxcala, Tlax. Folleto Técnico Núm. 30. 33 p.

- Villaseñor E. O. M., J. Huerta E., S. G. Leyva M., H. E. Villaseñor M., R. P. Singh, J. S. Sandoval I. y E. Espitia R. 2009. Genética de la resistencia a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mex.* 32:217-233.
- Wellings C. R. 2011. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica* 179:129–141.
- William M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, S. Ortiz and D. Hoisington. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93: 53-159.

CAPÍTULO II. QTL MAPPING OF ADULT PLANT RESISTANCE TO LEAF RUST AND STRIPE RUST IN MEXICAN WHEAT CULTIVAR “HUITES F95”

María Florencia Rodríguez-García^{1,2}, Julio Huerta-Espino², Reyna Isabel Rojas-Martínez¹ Ravi P. Singh³, Bhoja R. Basnet³, Héctor Eduardo Villaseñor-Mir², Emma Zavaleta-Mejía¹, José Sergio Sandoval-Islas¹, José Crossa³, Caixia Lan^{3*}

¹ Colegio de Postgraduados-Fitopatología, Campus Montecillo, Km 36.5, Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México C. P. 56230.

² Campo Experimental Valle de México INIFAP, Apdo. Postal 10, 56250, Km 13.5 Carretera Los Reyes- Texcoco Coatlinchán, Texcoco Estado de México

³ International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 México D. F., México.

* Corresponding author e-mail: c.lan@cgiar.org

Article in review to be sent to Plant Disease

ABSTRACT

Huites F95 shows a high level of resistance to leaf rust (LR) and stripe rust (YR) in adult plant. The genetic basis of its resistance was investigated in 139 recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between Avocet-*YrA* and Huites F95. Field experiments in Mexico for LR and YR were carried out over four environments. The population was genotyped with DArT_array, DArT_GBS and SSR markers. The genetic map was constructed using 12,966 polymorphic markers. Genetic analyses carried onto four years phenotype data for each rust, showed that resistance to LR was determined by two to three genes, whereas for YR it was controlled by four genes. Inclusive composite interval mapping (ICIM) detected three co-located adult plant resistance (APR) loci for LR and YR, (*Q_{Lr.cim-1AL}/Q_{Yr.cim-1AL}*, *Q_{Lr.cim-1BL}/Q_{Yr.cim-1BL}* and *Q_{Lr.cim-5AL}/Q_{Yr.cim-5AL}*), respectively. In addition, three LR resistance loci (*Q_{Lr.cim-2AS}*, *Q_{Lr.cim-5A}* and *Q_{Lr.cim-6BL}*) and three YR resistance loci (*Q_{Yr.cim-3B}*, *Q_{Yr.cim-4BS}* and *Q_{Yr.cim-6BS}*) were also mapped for single trait. Among these, *Q_{Lr.cim-1AL}/Q_{Yr.cim-1AL}*; *Q_{Lr.cim-5AL}/Q_{Yr.cim-5AL}*, *Q_{Lr.cim-6BL}* should be new rusts resistance loci in common wheat. All of co-located resistance loci were contributed by Huites F95 those can be used as a new APR to rust source. With available molecular markers of resistance loci, the resistance from Huites F95 can be easily and fast transferred into elite wheat to breed durable rust resistance variety through marker assistant selection.

Key words: APR loci, DArT molecular markers, leaf rust, yellow rust

RESUMEN

Huites F95 ha mostrado altos niveles de resistencia en planta adulta a la roya de la hoja (RH) y roya amarilla (RA). La base genética de su resistencia se investigó en 139 líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas de la cruce entre Avocet-YrA y Huites F95. Los experimentos de campo para RH y RA se llevaron a cabo en cuatro ambientes en México. La población fue genotipada con marcadores DArT_array, DArT_GBS y SSR. El mapa genético se construyó utilizando 12,966 marcadores polimórficos. Los análisis genéticos realizados con información fenotípica de cuatro años de evaluación para cada roya, mostraron que la resistencia a la RH está determinada por dos o tres genes, mientras que para RA por cuatro genes de resistencia en planta adulta (RPA). El mapeo de intervalos compuestos detectó tres loci de resistencia en planta adulta co-localizados para RH y RA (*Q_{Lr.cim-1AL}* / *Q_{Yr.cim-1AL}*, *Q_{Lr.cim-1BL}* / *Q_{Yr.cim-1BL}* y *Q_{Lr.cim-5AL}* / *Q_{Yr.cim-5AL}*), respectivamente. Adicionalmente se detectaron tres loci de resistencia para RH (*Q_{Lr.cim-2AS}*, *Q_{Lr.cim-5A}* y *Q_{Lr.cim-6BL}*) y tres loci de resistencia para RA (*Q_{Yr.cim-3B}*, *Q_{Yr.cim-4BS}* y *Q_{Yr.cim-6BS}*) los cuales fueron mapeados para rasgos únicos. Entre estos, *Q_{Lr.cim-1AL}* / *Q_{Yr.cim-1AL}*; *Q_{Lr.cim-5AL}* / *Q_{Yr.cim-5AL}*, *Q_{Lr.cim-6BL}* son nuevos loci de resistencia para royas en trigo harinero. Todos los loci de resistencia co-localizados fueron aportados por Huites F95, y pueden utilizarse como nuevas fuentes de RPA para roya amarilla y de la hoja. Con los marcadores moleculares disponibles de los loci identificados; la resistencia de Huites F95 puede transferirse de manera fácil y rápida en líneas avanzadas para obtener una variedad con resistencia durable a roya mediante la selección asistida por marcadores moleculares.

Palabras clave: loci RPA, marcadores moleculares DArT, roya de la hoja, roya amarilla.

INTRODUCTION

Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) occupied the largest planting area with biggest production in the world (FAO, 2016). In Mexico, the two major wheat-growing regions are located in the Northwest and El Bajío, which contributes to the 65 and 17 %, of the total production (SIAP, 2017). Leaf rust (LR) and stripe rust (YR), caused by *Puccinia triticina* and *P. striiformis* f. sp. *tritici*, respectively, are the most destructive wheat diseases resulting in the largest losses throughout the world (Singh *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2013). Leaf rust causes wheat yield losses ranging from 10 to 50% (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Recently, stripe rust became an important disease due to the appearance of new aggressive races present in the near-Himalayan region of Asia and infected the host under warmer temperature (Hovmoller *et al.*, 2016). In 2014, a stripe rust epidemic occurred in farm fields of Mexico and the isolates MEX14.141 and MEX14.191 virulent to *Yr2*, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31 and *Yr1*, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31 were identified (Huerta-Espino *et al.*, 2015). These new virulence combinations caused yield losses from 50 to 84% in Mexican highlands cultivar Nana F2007 (Solis *et al.*, 2016). Therefore, growing resistant varieties is the most efficient way to manage these disease resulting in reduction of pathogen growth, minimal damage to the host plant, zero input of pesticides from the farmers and most important the environment friendly (Gururani *et al.*, 2012).

Rust resistance in wheat fall into two broad categories race-specific resistance and non-race specific resistance. The former shows response with hypersensitive in both seedling and adult plant stages with quality inheritance, while the non-race specific resistance usually shows resistance at post-seedling growth stage, partial resistance with different levels of response depending on the genetic background. This type of resistance is also called adult plant resistance (APR) (Chen, 2005; Lagudah, 2011; Khan *et al.*, 2013). Singh *et al.* (2011) indicate that although

the life of effective race-specific resistance genes can be prolonged by using gene combinations, an alternative approach is to deploy varieties that possess APR based on combinations of minor slow rusting genes. However, APR genes do not confer adequate resistance especially under high disease pressure when present alone, whereas a genotype will reach “near-immunity” or a high level of resistance when 4-5 of this type of resistance genes are combined (Singh *et al.*, 2000, Singh *et al.*, 2011).

So far, more than 76 LR and 78 YR genes have been catalogued (McIntosh *et al.*, 2016); of these, a total of 15 genes for LR (*Lr12*, *Lr13*, *Lr22a*, *Lr22a*, *Lr22b*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr46*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr67*, *Lr68*, *Lr74*, *Lr75*) and 17 genes for YR (*Yr11*, *Yr12*, *Yr13*, *Yr14*, *Yr16*, *Yr18*, *Yr29*, *Yr30*, *Yr46*, *Yr48*, *Yr49*, *Yr54*, *Yr59*, *Yr62*, *Yr68*, *Yr71*, *Yr75*) confer APR (McIntosh *et al.*, 2016). Only three of them, *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57* (Singh *et al.*, 2012), *Lr46/Yr29/Pm39/Sr58* (Singh *et al.*, 2013), and *Lr67/Yr46/Pm46/Sr55* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014) show pleiotropic adult plant resistance (PARP) effects to leaf rust, stripe rust, powdery mildew and stem rust in nature. According to quantitative trait locus/loci (QTL) mapping for rusts in wheat, around 80 leaf rust resistance QTL and 140 stripe rust resistance QTL have been reviewed by Li *et al.* (2014) and Rosewarne *et al.* (2013), respectively.

Molecular markers especially PCR based ones have been successfully used in marker-assisted selection to accelerate the process of gene pyramiding (Mallick *et al.*, 2015, Gupta *et al.*, 2010). In the last 10 years, a number of generic DNA fingerprinting methods, such as restriction fragment length polymorphism (RFLP), random amplified polymorphic (RAPD), simple sequence repeat (SSR), and diversity arrays technology (DArT), have been used successfully to map rusts resistance genes/loci in wheat attribute to their stable result, low cost and high

throughput (Yang, 2012, Li *et al.*, 2015, Gupta *et al.*, 2010, Liu and Tsunewaki 1991). DArT can detect and genotype DNA variations at several hundred genomic loci in parallel without relying on sequence information. DArT markers have been successfully applied to genetic maps and diversity analyses of study numerous species (Zhou *et al.*, 2015; Mace *et al.*, 2008; Jaccoud *et al.*, 2001).

Huites F95 is a spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar developed cooperatively by National Research Institute for Forestry, Agriculture and Animal sciences (INIFAP) and the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT). It was released in Mexico by INIFAP in 1995. Huites F95 derived from the cross of VEERY/KOEL (Barrera, 1995). It has shown resistance to LR and YR over last 20 years, whereas the genetic basis of rusts resistances in this cultivar is not clear. The objectives of this study were to (1) investigate the genetic basic resistance to LR and YR in an Avocet-*YrA* × Huites F95 F₅ RIL population, and (2) identify resistance loci for two rusts at the adult plant stage using molecular markers.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

The mapping population used in this study consisted of 139 F₄-derived F₅ recombinant inbred lines (RILs) were derived from a cross between Avocet-*YrA* and Huites F95. Avocet is a reselection from susceptible line ‘Avocet S’ that lacks resistance gene *YrA* and susceptible to both LR and YR at seedling and adult plant stages. Huites F95 (pedigree: VEERY/KOEL) shows susceptible to both rusts in seedlings, but it presents high levels of APR to dominate races of two rusts under Mexican environment. The RIL population generated through single-seed descent, where one random spike was harvested in each generation and advanced to the next generation by sowing as a hill plot. The same-single seed source of the F₅ RILs and parents was used in all experiments.

Field experiments

The RILs and parents were evaluated for APR to LR at four Mexican field sites: CIMMYT Norman E. Borlaug Experimental Station (CENEB), near Ciudad Obregon, in the 2012-2013, 2013-2014 and 2014-2015 (abbreviated LR2013Y, LR2014Y and LR2015Y, respectively) and CIMMYT research station at El Batán in 2014 (LR2014B experiment). The same population and parents were also evaluated for YR responses at the CIMMYT research station near Toluca, Mexico, during the 2013, 2014 and 2015 crop seasons (YR2013M, YR2014M and YR2015M experiments, respectively) at El Batán in 2015 (YR2015B experiment).

Field plots consisted of 0.7 m long paired rows with approximately 60 plants of each line. A mixture of Morocco and the Avocet-*YrA* near-isoline for *Yr24* and *Yr26* (susceptible to LR but resistant to YR), was used as LR spreader, whereas a mixture of Morocco, Avocet for *Yr31*, and six lines possessing *Yr3*, *Yr9* and *Yr27* gene, derived from the cross Avocet/Attila, were used as

YR spreaders. Spreaders were planted around the experimental area and as hill plots in the middle of a 0.3 m pathway on one side of each experimental plot. LR epidemic was initiated by spraying an equal mixture of *P. triticina* races MCJ/SP and MBJ/SP, suspended in Soltrol 170. The avirulence/virulence formulas of MCJ/SP is: *Lr2a, 2c, 3ka, 9, 16, 18, 19, 24, 30/1, 3, 3bg, 10, 11, 13, 15, 17, 23, 26, 27+31* and MBJ/SP is *Lr2a, 2c, 3ka, 9, 16, 18, 19, 24, 26, /1, 3, 3bg, 10, 11, 13, 15, 17, 23, 27+31* (Villaseñor-Espin *et al.*, 2003). The only difference between the two races is that MCJ/SP is completely virulent against *Lr26*, whereas MBJ/SP is partially virulent against this gene. Spreaders for YR studies were sprayed in a similar manner with a mixture of *P. striiformis* isolates Mex96.11, Mex08.13 and Mex14.191. Mex96.11 is virulent to *Yr27* and avirulent to *Yr31* (Wiliam *et al.*, 2003), whereas Mex08.13 is avirulent to *Yr27* and virulent to *Yr31* (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Mex14.191 is virulent to both *Yr27* and *Yr31*.

Disease severity (DS) on parents and RILs was scored based on the modified Cobb scale where the percentage rusted tissues (0-100 %) was visually estimated according to Peterson *et al.* (1948). The first note was recorded when the susceptible parent Avocet-*YrA* displayed approximately 80% severity, and thereafter continued at weekly intervals until severity reached 90 to 100%. For repeated measurement, the area under disease progress curve (AUDPC) was calculated using the method suggested by Bjarko and Line (1988).

Genetic and statistical analysis

The RIL population and their parents were evaluated with a single replication. Based on disease severity and adult plant response, RILs were classified into three different phenotypic categories according to Singh and Rajaram (1992): homozygous parental type resistant (HPTR), homozygous parental type susceptible (HPTS), and lines with different responses from the two

parents (OTHER). The number APR genes for LR and YR in the Avocet-YrA × Huites F95 population was estimated using Mendelian segregation analysis (Knott and Padidam 1988; Singh and Rajaram 1992), where the observed frequencies for each category (HPTR: HPTS: OTHER) were tested against the expected frequencies for different numbers of additive genes using Chi-square (χ^2) analysis.

Molecular markers, linkage map construction, and QTL analysis

The DNA of parents and RILs were extracted using the CTAB method described in the molecular breeding manual by the International Maize and Wheat Improvement Center (Dreisigacker *et al.*, 2016). The parents and 139 RILs selected for homozygosity of phenotypic responses were analyzed in Australia with diversity arrays technology (DArT) array and DArT_GBS. In addition, 48 polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers have been used to genotype the whole population in CIMMYT biotech laboratory, including one cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker, *csLV46G22*. A total of 12,966 polymorphic markers were used to construct the genetic linkage map with Joinmap 4.1 (Van Ooijen, 2006). QTL mapping for FDS and AUDPC from each experiment and mean of FDS (YRM and LRM) across experiments for both LR and YR diseases was carried out using inclusive composite interval mapping (ICIM) (Meng *et al.*, 2015) and the result was confirmed by QTL Cartographer 2.5 (Wang *et al.*, 2012). Linkage maps were graphically visualized with MapChart (Voorrips, 2002). The logarithm of odds (LOD) threshold to declare significant QTL for each trait was determined based on 1,000 permutation tests. Stepwise regression was used for detecting the percentages of phenotypic variance explained (PVE) by individual QTL and additive effects at the LOD peaks.

RESULTS

Phenotypic evaluation in the adult plant stage

The final disease severity (FDS, %) and reaction to LR were '80-100 S' for Avocet-*YrA* and '5-20 MSS' for Huites F95 during the four crop seasons. Mean of final LR severity (LRM) for RILs ranged from 40 to 74% across four experiments (Table S1). The frequency distribution for RILs of LR severities showed continuous and approximately normal distributions over four years (Fig.1a), indicating the quantitative inheritance of APR to LR. Approximately 2 to 3 LR APR genes were estimated based on the Mendelian segregation analysis (Table S1).

The FDS (%) and infection responses to YR were '90-100 S' for Avocet-*YrA* and '1-5 MS' for Huites F95 during the four crop seasons. Mean of final YR severities (YRM) of RILs ranged from 36 to 53% across four years (Table S1). Quantitative inheritance of APR to YR was also observed according to the continuous and approximately normal distributions of RILs for YR severities over four environments (Fig. 1b). In addition, genetic analysis showed that 4 YR genes contributed to APR in Avocet-*YrA* × Huites F95 population based on both quantitative estimates (Table S1).

Table S1. Estimated number of resistance genes that confer adult plant resistance (APR) to leaf rust and stripe rust in 139 Avocet-*YrA* × Huites F95 F₅ recombinant inbred lines (RILs) based on Mendelian segregation analysis.

Response category of RILs	No. of RILs (adult plant) ^a							
	LR13Y	LR14Y	LR14B	LR15Y	YR13M	YR14M	YR15M	YR15B
Avocet- <i>YrA</i>	90S	90S	90S	100S	100S	90S	90S	100S
Huites F95	20MSS	15MSS	5MS	20MSS	1MS	1MS	5MS	1MS
Population mean	74	54	40	61	39	36	53	43
HPTS ^b	33	5	7	16	2	1	4	2
HPTR ^c	17	16	6	11	10	2	3	1
OTHER ^d	89	115	125	110	127	130	131	134
Missing	0	3	1	2	0	6	2	3
Total	139	139	139	139	139	139	139	139
No. of gene(s)	2	3	3	3	4	4	4	4
<i>P</i> value ^e	0.08	0.06	0.07	0.38	0.04	0.07	0.55	0.06

^a Disease severity and host response to infection determined for leaf rust at Ciudad Obregón during the 2012-2013(LR2013Y), 2013-2014 (LR2014Y) and 2014-2015 (LR2015Y), El Batán 2014 (LR2014B) and for stripe rust at Toluca during the 2013 (YR2013M), 2014(YR2014M), 2015 (YR2015M) and El Batán during 2015 (YR2015B) seasons to determine the adult plant response category of RILs.

^b Homozygous parental type susceptible

^c Homozygous parental type resistant

^d Lines with responses different from the two parents

^e *P* value is for the χ^2 test. The expected ratio of RILs grouped under HPTS, HPTR, and OTHER are 0.191:0.191:0.618, 0.084:0.084:0.832, and 0.037:0.037:0.926 for segregation of 2, 3, and 4 independently inherited genes, respectively, in the F₄-derived F₅ generation.

Pearson correlation coefficients (r) of LR severities for 139 RILs were significant correlated among four years ($r = 0.77-0.87$), whereas it was a bit low but significant correlations were observed for YR severities ($r = 0.44-0.87$) (Table 1). The similar significant correlations were also found between LR and YR severities ($r = 0.42- 0.80$) in all environments.

Table 1 Phenotypic correlations among final leaf rust severities over four environments (Ciudad Obregón LR2013Y, LR2014Y and LR2015Y; El Batán LR2014B) and the same number of environments for final stripe rust severities (Toluca YR2013M, YR2014M and YR2015M; El Batán YR2015B) in the Avocet-*YrA* x Huites F95 RILs population.

Environment	LR2013Y	LR2014Y	LR2014B	LR2015Y	YR2013M	YR2014M	YR2015B
LR2014Y	0.86**						
LR2014B	0.82**	0.87**					
LR2015Y	0.77**	0.87**	0.81**				
YR2013Y	0.54**	0.47**	0.46**	0.42**			
YR2014M	0.76**	0.68**	0.68**	0.62**	0.56**		
YR2015B	0.60**	0.55**	0.49**	0.46**	0.44**	0.70**	
YR2015M	0.80**	0.76**	0.75**	0.73**	0.58**	0.87**	0.75**

** $P < 0.0001$

Linkage map construction

In total, 1,113 diversity arrays technology (DArT) array, 7,131 SILICO-DArT, 4,674 single nucleotide polymorphism (SNP) and 48 simple sequence repeat (SSR) markers showed polymorphic between two parents and were used to construct the genetic linkage map with 139 RILs. Finally, 69 groups mapped with representatives from each chromosome. Only the genetic linkage maps related to the location of detected QTL are reported herein.

QTL mapping for co-located APR to LR and YR

Three co-located APR loci against LR and YR were detected in the Avoce × Huites F95 RILs population using ICIM with 1,000 permutations. The most important QTL, *Q_{Lr.cim-1BL}/Q_{Yr.cim-1BL}*, was mapped in the same region as *Lr46/Yr29* based on the near diagnostic marker *csLV46G22*. This locus was located in the interval of markers 3030959_10:G>A and 1862932 on chromosome 1BL (Fig. 2a), explaining 49.3–70.5% and 28.8–56.3% of LR and YR severities variations, respectively (Table 2). This locus had a major effect on both rusts across all field trials and was detected with high LOD scores (24.6–42.5 for LR and 24.6–38.9 for YR).

The second resistance QTL *Q_{Lr.cim-1A}/Q_{Yr.cim-1A}* mapped on the long arm of chromosome 1A and flanked by molecular markers *1109123* and *4005370* (Fig. 2b). It explained 4.0 % of LR and 2.4% of YR variance (Table 2). The third resistance QTL *Q_{Lr.cim-5AL}/Q_{Yr.cim-5AL}* was located in the interval of molecular markers *3022753* and *wPt-730410* on chromosome 5AL (Fig. 2c) and explained 6.7 % of LR and 2.9% of YR variance (Table 2). Although these two minor QTL were only detected in one environment for each rust, their effect on both rusts have been confirmed by single marker analysis (Table S2). These three pleiotropic APR QTL were derived from the resistant parent Huites F95.

QTL mapping for APR to leaf rust

Three additional QTL for LR resistance were detected in the Avocet-*YrA*/Huites F95 population those derived from the susceptible parents Avocet-*YrA*. The first QTL, *Q_{Lr.cim-2AS}*, was located on the chromosome 2AS and flanked by markers *1081450* and *3958592*. This QTL was detected in the LR2015AY and LRM and respectively explained 3.4 to 4.3% of the variation (Table 2). The second QTL, *Q_{Lr.cim-5A}*, detected in LR2014BB and LR2014AB and explained 2.2 to 4.7 % of the variance for LR severity, respectively. It was flanked by markers

1203148_10:A>T and *100510504_47:C>T* (Table 2). The third QTL was mapped on the chromosome 6BL and flanked by markers *4541072* and *1239803*. It was detected in LR2014YB and LR2014AY and respectively explained 5.4% and 4.5 % of the variation (Table 2). These three resistance loci have been detected from the susceptible parent Avocet-*YrA* across two environments. However, single marker analysis confirmed their effect on both rusts and RILs carrying allele-Avocet-*YrA* (allele-A) showed lower disease severity than RILs carrying allele-Huites F95 (allele-B) (Table S2).

QTL mapping for APR to stripe rust

Three YR resistance QTL were detected in the Avocet-*YrA* × Huites F95 population. The first QTL, *QYr.cim-3B*, was flanked by markers *3532697* and *1217990_31:C>G* on chromosome 3B. It explained 31.6% and 34.3% in YR2013MC and YR2013AM, respectively, of the variation (Table 2). This locus only showed highly significant difference between RILs with positive allele (allele B) and RILs with negative allele (allele A) in 2013 (Table S2). The second minor APR QTL derived from Avocet-*YrA*, *QYr.cim-4BS*, was located in interval of molecular markers *4537717* and *4408378* on chromosome 4BS, explaining 3.4 to 8.9% of YR variation over four environments (Table 2). A significant YR resistance QTL derived from the resistant parent *QYr.cim-6BS* was located in markers interval of *3951504* and *3024634* on chromosome 6BS. It explained 3.0 to 20.1% of stripe rust variation over two years.

Table 2 Position and effects of quantitative trait loci (QTL) for adult plant resistance (APR) to leaf rust (LR) and stripe rust (YR), area under the disease progress curve (AUDPC), and mean final disease severity over all environments (LRM and YRM) using inclusive composite interval mapping (ICIM) by IciMapping 4.0 in the Avocet-YrA x Huites F95 RIL population.

	<i>QTL</i> ^a	Env	Position ^b	Left Marker	RightMarker	LOD ^c	PVE(%) ^d	Add ^e
LR-YR	<i>QLr.cim-1AL</i>	LR2013AY	17	1109123	4005370	2.9	4.0	54.2
	<i>QYr.cim-1AL</i>	YR2015AM	17	1109123	4005370	4.8	2.4	58.2
	<i>QLr.cim-1BL</i>	LR2013AY	132	1132278_20:C>T	4911154_14:T>C	24.6	49.3	191.0
		LR2014YB	132	1132278_20:C>T	4911154_14:T>C	29.2	60.4	19.2
		LR2014AY	150	1080616	1862932	29.1	61.2	75.7
		LR2014BB	117	1697802_18:G>A	977077_9:C>G	42.5	63.6	20.4
		LR2014AB	116	3030959_10:G>A	1697802_18:G>A	33.8	61.5	113.4
		LR2015AY	117	1697802_18:G>A	977077_9:C>G	40.8	70.5	176.6
		LRM	150	1080616	1862932	26.6	57.6	16.0
	<i>QYr.cim-1BL</i>	YR2013MC	150	1080616	1862932	29.4	31.4	18.7
		YR2013AM	117	1697802_18:G>A	977077_9:C>G	25.6	28.8	178.5
		YR2014MB	150	1080616	1862932	24.6	42.9	15.2
		YR2014AM	117	1697802_18:G>A	977077_9:C>G	27.1	42.0	93.6
		YR2015MC	150	1080616	1862932	31.1	56.3	20.1
		YR2015AM	117	1697802_18:G>A	977077_9:C>G	38.9	36.2	227.0
		YRM	116	3030959_10:G>A	1697802_18:G>A	24.9	39.8	16.3
	<i>QLr.cim-5AL</i>	LR2014AB	265	3022753	wPt-730410	5.8	6.7	37.9
	<i>QYr.cim-5AL</i>	YR2015MC	260	3022753	wPt-730410	2.7	2.9	4.6
LR	<i>QLr.cim-2AS</i>	LR2015AY	525	1081450	3958592	3.9	3.4	-39.0
		LRM	525	1081450	3958592	3.1	4.3	-4.4
	<i>QLr.cim-5A</i>	LR2014BB	547	1203148_10:A>T	100510504_47:C>T	3.1	2.2	-3.9

		LR2014AB	547	1203148_10:A>T	100510504_47:C>T	4.5	4.7	-31.9
	<i>QLr.cim-6BL</i>	LR2014YB	116	4541072	1239803	4.1	5.4	-6.0
		LR2014AY	116	4541072	1239803	3.3	4.5	-21.7
YR	<i>QYr.cim-3B</i>	YR2013MC	36	3532697	1217990_31:C>G	29.7	31.6	18.8
		YR2013AM	36	3532697	1217990_31:C>G	28.9	34.3	195.6
	<i>QYr.cim-4BS</i>	YR2013AM	11	4537717	4408378	4.2	3.5	-62.9
		YR2013MC	14	4408378	2260614	4.6	3.4	-6.3
		YR2014AM	17	4408378	2260614	7.6	8.9	-45.4
		YR2014MB	20	4398172	1094196	5.9	7.4	-6.6
	<i>QYr.cim-6BS</i>	YR2015MC	19	3951504	100001848	4.2	4.8	5.8
		YR2015AM	37	1079955	3024634	6.0	3.0	65.8
		YR2015BC	38	1079955	3024634	2.7	9.1	15.1
		YR2015AB	38	1079955	3024634	9.7	20.1	105.3
		YRM	38	1079955	3024634	5.6	7.3	7.0

^aQTL that extend across single one-log support confidence intervals were assigned the same symbol, ^b Peak position in centi-Morgans ^c Logarithm of odds (LOD) score based on 1,000 permutations, ^d PVE is the proportion of phenotypic variance explained by the QTL, ^e Additive effect of phenotypic variance for each QTL.

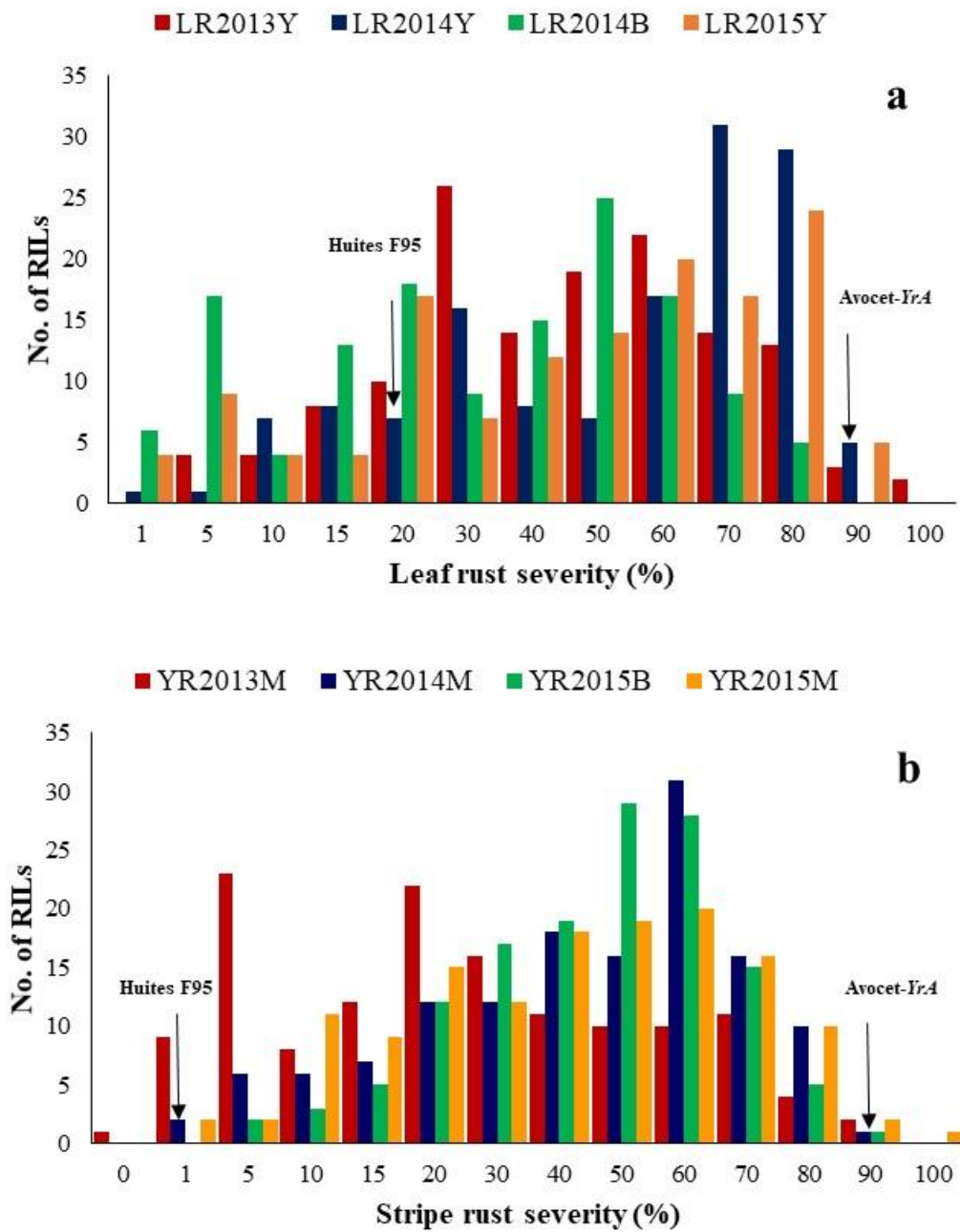
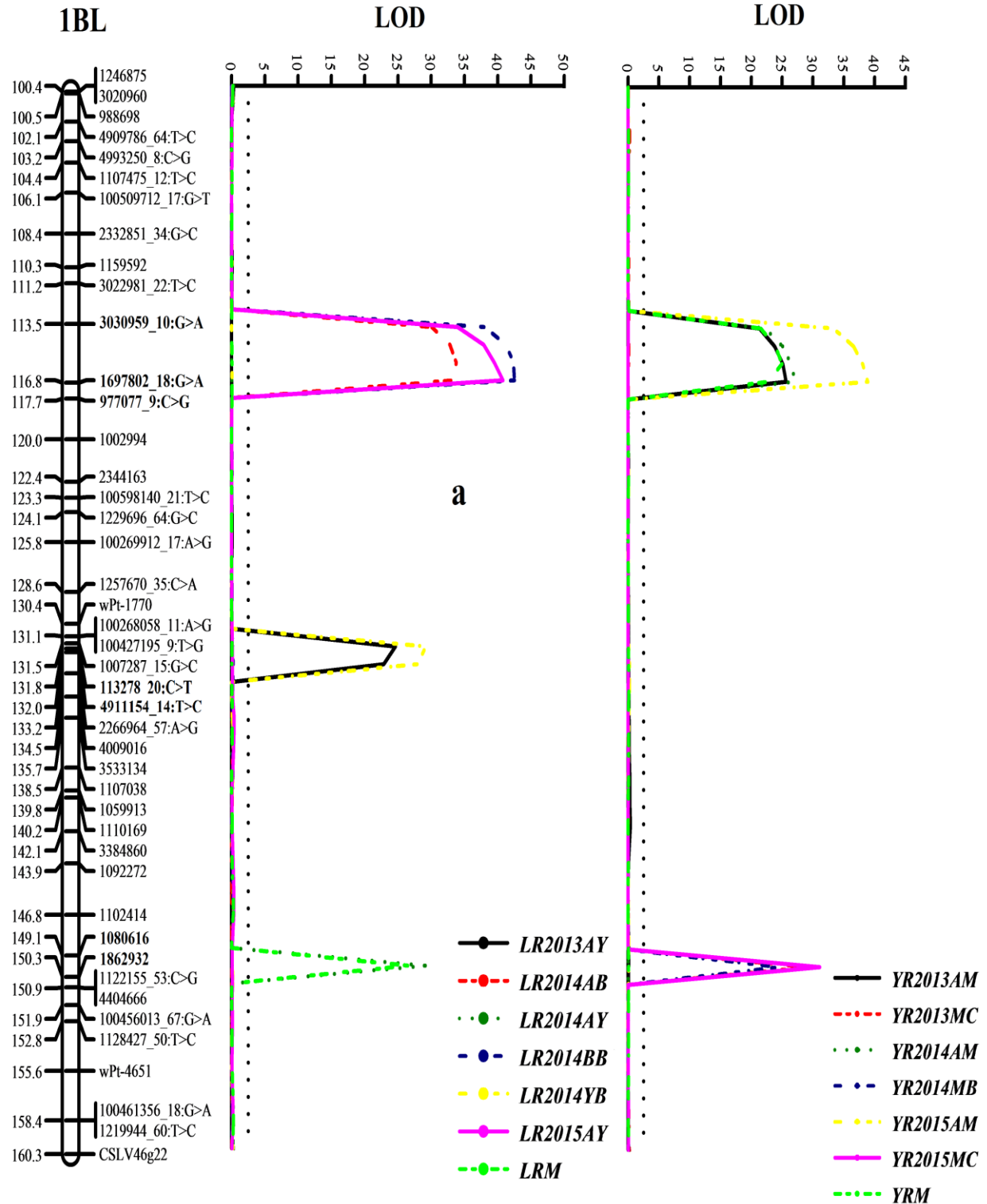
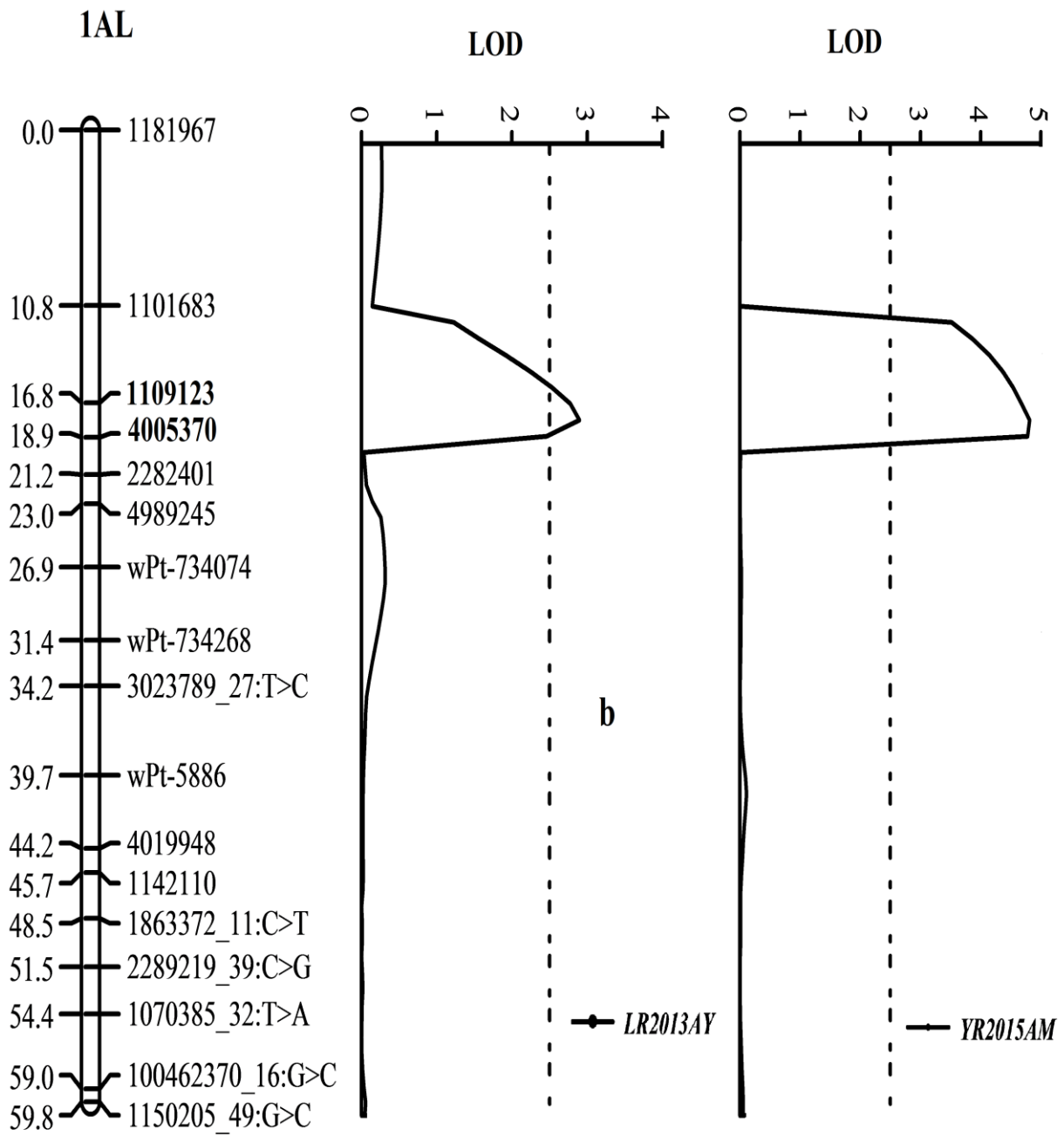


Figure 1. Frequency distributions of Avocet-YrA × Huites F95 recombinant inbred lines (RILs) for final leaf rust severity (a) in field trials at Ciudad Obregón during the 2012-2013 (LR2013Y), 2013-2014 (LR2014Y) and 2014-2015 (LR2015Y), El Batán 2014 (LR2014B) and (b) for stripe rust at Toluca during the 2013 (YR2013M), 2014(YR2014M), 2015 (YR2015M) and El Batán during 2015 (YR2015B). Mean values for the parents, Avocet-YrA and Huites F95, are indicated by *arrows*.





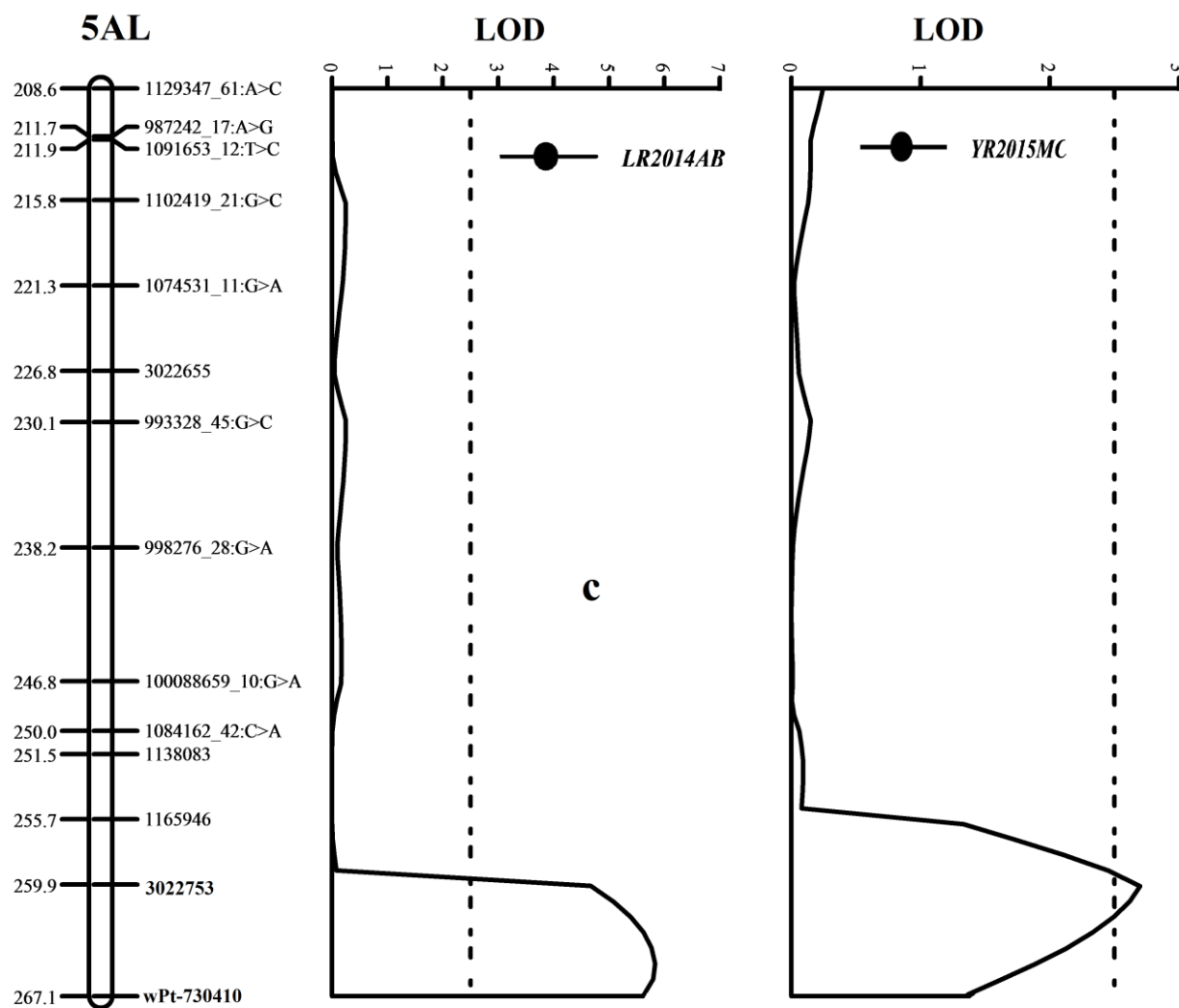


Figure 2. Likelihood plots of quantitative trait loci (QTL) for adult plant resistance (APR) to both rusts on chromosomes 1BL (Fig. 2a), 1AL (Fig.2b), 5AL (Fig.2c) respectively, identified by IciMapping 4.0 in the Avocet-YrA × Huites F95 RIL population. Significant LOD thresholds were detected based on 1,000 permutations. Positions (in cM) of the molecular markers along chromosomes are shown on the vertical axes; cumulated genetic distances of linkage group are also shown. LR2013Y, LR2014Y, LR2015Y and LR2014B are leaf rust field test at Ciudad Obregón during the 2012-2013 , 2013-2014 and 2014-2015 and at El Batán in 2014, respectively, whereas YR2013M, YR2014M, YR2015M and YR2015B are stripe rust field test at Toluca during the 2013 , 2014, 2015 and at El Batán during 2015, respectively. LR2013AY, LR2014AY, LR2015AY, LR2014AB, YR2013AM, YR2014AM YR2015AM and YR2015AB, area under the disease progress curve (AUDPC) of each crop season; LRM and YRM, the mean of final disease severity over LR2013Y, LR2014Y, LR2015Y and LR2014B, and over YR2013, YR2014, YR2015M and YR2015B, for leaf rust and stripe rust, respectively.

Table S2. Confirming effect of six unstable resistance QTLs by single marker analysis using area under disease progress (AUDPC) of each crop season.

Environment	<i>Q_{Lr.cim-1AL}</i> /			<i>Q_{Lr.cim-5AL}</i> /			<i>Q_{Lr.cim-2AS}</i>			<i>Q_{Lr.cim-5A}</i>			<i>Q_{Lr.cim-6BL}</i>			<i>Q_{Yr.cim-3B}</i>		
	<i>Q_{Yr.cim-1AL}</i>																	
	A	B	P-value	A	B	P-value	A	B	P-value	A	B	P-value	A	B	P-value	A	B	P-value
LR2013Y	866	754	0.02	872	716	0.002	757	890	0.006	736	857	0.02	772	903	0.01			
LR2014Y	245	218	0.12	245	205	0.03	208	257	0.005	204	250	0.01	213	667	0.03			
LR2014B	315	259	0.03	321	229	0.0005	254	326	0.005	251	309	0.03	271	323	0.06			
LR2015Y	454	496	0.11	453	383	0.07	373	480	0.003	377	458	0.03	395	484	0.02			
YR2013M	420	384	0.54	461	298	0.005										563	190	0.0001
YR2015B	547	405	0.0003	511	392	0.002										462	502	0.3
YR2015M	627	504	0.02	619	459	0.003										568	561	0.9

A= Avocet-YrA; B= Huites F95; LR2013Y, LR2014Y, LR2015Y=Leaf rust at Ciudad Obregón during the (2012-2013; 2013-2014 and 2014-2015); LR2015B, YR2015B= El Batán 2014, 2015; and for stripe rust at Toluca during the 2013, 2014 and 2015.

DISCUSSION

Huites F95 is a spring wheat cultivar, which has remained resistant to LR and YR at the adult plant stage in Mexico. Qualitative genetic analyses indicated that Huites F95 resistance to LR and YR was controlled by two or three APR genes for LR and four APR gene for YR. Inclusive composite interval mapping mapped six resistance loci for LR and the same number for YR resistance by using FDS, AUDPC and MFDS in Avoce x Huites F95 population. Similar results have been reported previously that qualitative methods normally under-estimate the number of resistance genes in comparison to the number of QTL detected in mapping population. (Basnet *et al.*, 2013; Lan *et al.*, 2014). In addition, although significant correlation was observed between different years, the YR phenotype in 2013 showed lower correlation with other 3 environments, which might due to new YR race has presented since 2014.

QTL for co-located APR to both LR and YR

Three co-located APR loci against LR and YR were detected in the Avocet-YrA x Huites F95 RILs population. The most important QTL, *QLr.cim-1BL/QYr.cim-1BL*, was detected near the distal end of chromosome 1BL. This locus was identified as the known pleotropic APR gene *Lr46/Yr29* based on the tightly linked marker *csLV46G22*. *Lr46/Yr29*, which was first identified in 'Pavon 76' (Singh *et al.*, 1998; William *et al.*, 2003), provides partial adult plant resistance to the three rust diseases and powdery mildew in wheat (Herrera- Foessel *et al.*, 2014; Lillemo *et al.*, 2008). This locus has also been reported in other mapping populations (Basnet *et al.*, 2014; Calvo-Salazar *et al.*, 2015; Lan *et al.*, 2014; Lan *et al.*, 2015; Rosewarne *et al.*, 2008; Rosewarne *et al.*, 2012; William *et al.*, 2006). William *et al.*, (2003) indicates that *Lr46/Yr29* explained phenotypic variation approximately 45 and 25% for leaf rust and yellow rust respectively, when it

presented alone. In case of Huites F95, the effect of this gene increased (49.3–70.5% and 28.8–56.3% of LR and YR severities variations, respectively) in combination with other QTL on the different chromosomes.

The second co-located resistance QTL, *QLr.cim-1AL/QYr.cim-1AL*, was mapped on chromosome 1AL and flanked by molecular markers *1109123* and *4005370*. Bariana *et al.* (2010) mapped *QYr.sun-1A* in wheat variety Janz and flanked by the marker *gwm164*. It explained 6-7% stripe rust variation in the field. On the other hand, Rosewarne *et al.* (2012) identified a YR resistance QTL in Pastor on chromosome 1AL with a LOD of 4.9. In addition, *QYr.caas-1AL* was mapped in Naxos with ad LOD of 3.8 (Ren *et al.*, 2012). According to leaf rust resistance locus in chromosome 1AL, *QLr.hebau 1AL* has been mapped in wheat cultivar Shanghai 3/Catbird and flanked by SSR markers *Xbarc213* and *Xcfa2219*. It explained 5.3-8.2% of the phenotypic variance (Zhou *et al.*, 2014). Gao *et al.* (2016) reports *QLr.umn-1AL* that mapped to position 149.8 cM on chromosome 1AL based on a genome wide association study (GWAS). So far, no co-located/pleiotropic rusts resistance loci have been reported on chromosome 1AL. Therefore, *QLr.cim-1AL/QYr.cim-1AL* from Huites F95 might be a new potential pleiotropic rusts resistance locus in wheat.

The third co-located resistance QTL, *QLr.cim-5AL/QYr.cim-5AL*, was mapped on the long arm of chromosome 5A and flanked by molecular markers *3022753* and *wPt-730410*. It was located to 260-265 cM position based on DArT consensus map (Maccaferri *et al.*, 2015). A QTL in 5A with small effect for yellow rust was identified in Opata M85, in the range of *Fbb209-abg391* markers with a LOD of 2.8 (Boukhatem *et al.*, 2002). On the other hand, Lan *et al.* (2010)

identified a QTL with effect for yellow rust in Pingyuan 50 on chromosome 5AL and flanked by SSR markers *Xwm410* and *Xbarc261* with a LOD of 2.0 to 5.6. Rosewarne *et al.* (2012) mapped one QTL on chromosome 5AL in Pastor and flanking by DArT markers *wPt-0837* and *wPt-5231* at a position of 88.6 cM. Hou *et al.* (2015) mapped *Qyrdr.wpg-5AL* and closely linked to SNP marker *IWA2558* at 19.4 cM position. In addition, Kertho *et al.* (2015) identified a seedling leaf rust resistance QTL in chromosome 5AL in a genome wide association study (GWAS) consists of winter wheat landrace accessions. Therefore, *QLr.cim-5AL/QYr.cim-5AL* should be a new co-located rusts resistance locus in Huites F95.

APR QTL for leaf rust

Three minor QTL conferring resistance to LR were mapped from the susceptible parents “Avocet-*YrA*” and they were located on chromosomes 2AS, 5A and 6BL in the present study which was consistent with the transgressive segregation among the present population over four LR environments (Fig. 1), indicating that both parents contribute leaf rust resistance genes in the population. The similar result has been reported by Niks *et al.* (2011) that both parents carry different partial resistance gene/QTL results in transgressive segregation among progenies. Transgressive segregation also noticed in the Avocet/Chapio population, indicating that QTL derived from Avocet was present (Yang *et al.*, 2013). Rosewarne *et al.* (2012) mapped several QTL in Avocet and located on chromosomes 2A, 2D and 5AL. Thus, two resistance loci identified in the present study should be the same as chromosomes 2A and 5A those mapped by Rosewarne *et al.* (2012).

QLr.cim-6BL was located in the interval of markers *4541072* and *1239803* on the chromosome 6BL and explained 5.4% and 4.5 % of leaf rust variation with a LOD 3.3 to 4.1. Chu

et al. (2009) identified *Q_{Lr.fcu-6BL}* on chromosome 6BL in wheat lines TA4152-60 and ND495. It was flanked by SSR markers *X_{barc5}* and *X_{gwm469.2}*, whereas they were located on wheat chromosome 6D based on the consensus map (Somers *et al.*, 2004). Therefore, *Q_{Lr.cim-6BL}* should be a new leaf rust resistance locus in wheat.

APR QTL for stripe rust

Three additional stripe rust resistance QTL were mapped on chromosomes 3B, 6BS and 4BS in the present population. *Q_{Yr.cim-3BS}* was located in the markers 3532697 and 1217990_31:C>G and explained 31.6% and 34.3% in YR2013MC and YR2013AM, respectively, of the variation. It was closely linked to *wPt-7907* based on DArT consensus map. Stripe rust APR gene, *Yr30* (Singh *et al.*, 2000), a stem rust APR gene, *Sr2* (Spielmeyer *et al.*, 2003) and *Fusarium* head blight resistance gene, *Fhb1* (Cuthbert *et al.*, 2006) were located in the same chromosome region as *Q_{Yr.cim-3B}*. *Yr30* is associated with the pseudo-black chaff (*Pbc*) morphological marker (Kota *et al.* (2006). However, *Pbc* was neither observed in Huites F95 nor in the progeny of Avocet-*YrA* / Huites F95 in the field, which rule out of the possibility of *Sr2* gene exists in the present study. Thus, *Q_{Yr.cim-3BS}* might be a new race specific adult plant resistance gene in Huites F95 due to only presented in 2013 season. In addition, several wheat lines reported carrying YR resistance QTL on chromosome 3BS, such as AGS2000 (Hao *et al.*, 2011), Chapio (Yang *et al.*, 2013), Oligoculm (Suenaga *et al.*, 2003), Opata 85 (Singh *et al.*, 2000), Pawan 76 (William *et al.*, 2006), Renan (Dedryver *et al.*, 2009) and Kukri (Bariana *et al.*, 2010). The relationship between these loci and *Q_{Yr.cim-3BS}* is not clear due to lack of common molecular markers.

The second minor APR QTL derived from Avocet-*YrA*, *Q_{Yr.cim-4BS}*, flanked by molecular markers 4408378 and 2260614 located on chromosome 4BS. So far, only one stripe rust

resistance QTL was mapped on the short arm of chromosome 4B. It was from wheat line Oligoculm and flanked by SSR marker *Xgwm538* (Suenaga *et al.*, 2003). It is hard to confirm the relationship between *QYr.cim-4BS* and QTL from Oligoculm due to absent the common molecular maps.

The third major APR QTL derived from Huites F95, *QYr.cim-6BS*, flanked by molecular markers *3951504* and *100001848*. Several YR resistance QTL have been mapped on chromosome 6BS, such as Bariana *et al.* (2010) mapped *QYr.Sun-6B* in Janz cultivar and flanked by markers *wPt-8183* to *wPt-1700*. Bai *et al.* (2012) identified *QYr.caas-6BS.1* in wheat cultivar Ibis and flanked by SSR markers *Xwmc487* and *Xgwm768*. Santra *et al.* (2008) identified *QYrst.wgp-6BS.1* and *QYrst.wgp-6BS.2* in Stephens and flanked by *Xgwm132* and *Xgdm113*. Lan *et al.* (2010) identified *QYr.caas-6BS.1* in Chinese landrace Pingyuan 50 and it was closely linked to molecular marker *Xgwm361*. The QTL mapped in Ibis and Janz should be the same as *QYr.cim-6BS* based on wheat molecular markers consensus map (Somers *et al.*, 2004).

Continuously rusts epidemics on bread wheat push breeders to identify and utilize durable resistance source which controlled by race non-specific APR genes that presents in the present study. According to this, Huites F95 is a high yielding spring wheat line developed by CIMMYT and can be a promising source of APR to both rusts in wheat breeding. In the present study, three co-located adult plant resistance (APR) loci for LR and YR, *QLr.cim-1AL/QYr.cim-1AL*, *QLr.cim-1BL/QYr.cim-1BL*, and *QLr.cim-5AL/QYr.cim-5AL*, respectively, in combination with three LR resistance loci (*QLr.cim-2AS*, *QLr.cim-5A* and *QLr.cim-6BL*) and three YR resistance loci (*QYr.cim-3B*, *QYr.cim-4BS* and *QYr.cim-6BS*) conferred resistance to both rusts in the

Avocet-*YrA*/Huites F95 population. All of co-located resistance loci were contributed by Huites F95 those can be used as a new APR to rust source. With available molecular markers of resistance loci, the resistance from Huites F95 can be easily and fast transferred into elite wheat to bread durable rust resistance variety through marker assistant selection.

Acknowledgments

This work was supported by the Australian Grains Research and Development Corporation (GRDC), the Australian Cereal Rust Control Program (ACRCP) and FONDO SECTORIAL-SAGARPA-CONACYT (project 146788). We appreciate the technical editing by Julie Mollins.

REFERENCES

- Bai B., Ren, Y., Xia, X. CH., Du, J. Y., Zhou, G., Wu, L., Zhu, H. Z., He, Z. H., and Wang, C. H. 2012. Mapping of quantitative trait loci for adult plant resistance to stripe rust in german wheat cultivar Ibis. *Jour. Integ. Agricul.* 11:4: 528-536.
- Bariana H. S., Bansal, U. K., Schmidt, A., Lehmensiek, A., Kaur, J., Miah, H., Howes, N., and McIntyre, C. L. 2010. Molecular mapping of adult plant stripe rust resistance in wheat and identification of pyramided QTL genotypes. *Euphytica* 176:251-260.
- Barrera S. M. A. 1995. Huites F95 y Choix M95 nuevas variedades de trigo harinero para Sinaloa. Folleto Técnico No. 12. CIRNO-CEVY-INIFAP 15 p.
- Basnet B. R., Singh, R. P., Herrera-Foessel, S. A., Ibrahim, A. M. H., Huerta-Espino, J., Calvo-Salazar, V., and Rudd, J. 2013. Genetic analysis of adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common spring wheat Quaiu 3. *Plant Dis.* 97: 728-736.
- Basnet B. R., Singh, R. P., Ibrahim, A. M. H., Herrera-Foessel, S. A., Huerta-Espino, J., and Lan, C., and Rudd, J. C. 2014. Characterization of *Yr54* and other genes associated with adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common wheat Quaiu 3. *Mol. Breed.* 33:385-399.
- Bjarko M. E. and Line, R. F. 1988. Heritability and number of genes controlling leaf rust resistance in four cultivars of wheat. *Phytopathology* 78: 457-461.
- Boukhatem N., Baret, P. V., Mingeot, D., and Jacquemin, J. M. 2002. Quantitative trait loci for resistance against yellow rust in two wheat-derived recombinant inbred line populations. *Theor. Appl. Genet.* 104:111-118.
- Calvo-Salazar V., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Cruz-Izquierdo, S., Lobato-Ortiz, R., Sandoval-Islas, S., Vargas-Hernández, M., German, S., Silva, P., Basnet, B. R., and Lan, C. X., and

- Herrera-Foessel, S. A. 2015. Genetic analysis of resistance to leaf rust and yellow rust in spring wheat cultivar Kenya Kongoni. *Plant Dis.* 99:1153-1160.
- Chen X. M. 2005. Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 27:314-37.
- Chu C. G., Friesen, T. L., Xu, S. S., Faris, J. D., and Kolmer, J. A. 2009. Identification of novel QTLs for seedling and adult plant leaf rust resistance in a wheat doubled haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 119:263-269.
- Cuthbert P. A., Somers, D. J., Thomas, J., Cloutier, S., and Brule-Babel, A. 2006. Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112:1465-1472.
- Dedryver F. Paillard, S. Mallard, S. Robert, O. Trottet, M. Negre, S. Verplancke, G. Jahier, J. 2009. Characterization of genetic components involved in durable resistance to stripe rust in the bread wheat 'Renan'. *Phytopathology* 99:968-973.
- Dreisigacker S., Sehgal, D., Reyes-Jaimez, A. E., Luna-Garrido, B., Muñoz-Zavala, S., Núñez-Ríos, C., Mollins, J., and Mall, S. (Eds.). 2016. CIMMYT wheat molecular genetics: laboratory protocols and applications to wheat breeding. México, D.F.: CIMMYT.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2016. <http://faostat.fao.org>
- Gao L., Turner, M. K., Chao, S., Kolmer, J., and Anderson, J. A. 2016. Genome wide association study of seedling and adult plant leaf rust resistance in elite spring wheat breeding lines. *PLoS One.* 11(2): 1-25.
- Gupta P. K., Langridge, P., and Mir, R. R. 2010. Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities. *Mol. Breed.* 26:145-161.

- Gururani M. A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C. P., Nookaraju, A., Pandey, S. K., and Park, S. W. 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 78: 51-65.
- Herrera-Foessel S. A., Singh, R. P., Lillemo, M., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Singh, S., Lan, C. X., Calvo-Salazar, V., and Lagudah, E. S. 2014. *Lr67/Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 127: 781-789.
- Hao Y., Chen, Z., Wang, Y., Bland, D., Buck, J., Brown-Guedira, G., Johnson, J. 2011. Characterization of a major QTL for adult plant resistance to stripe rust in US soft red winter wheat. *Theor. Appl. Genet.* 123:1401–1411.
- Hou L., Chen, X., Wang. M., See, D. R., Chao, S., Bulli, P., and Jing, J. 2015. Mapping a large number of QTL for durable resistance to stripe rust in winter wheat Druchamp using SSR and SNP markers. *PLoS One.* 10 (5): 1-24.
- Hovmøller M. S., Waltera, S., Baylesb, R. A., Hubbards, A., Flathc, K., Sommerfeldtc, N., Leconted, M., Czembore, P., Rodriguez-Algabaa, J., Thacha, T., Hansena, J. G., Lassena, P., Justesena, A. F., Aliaf, S., and Vallavieille-Poped, C. 2016. Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the centre of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathol.* 65: 402-411.
- Huerta-Espino J., Singh, R. P., Germán, S., McCallum, B. D., Park, R. F., Chen, W. Q., Bhardwaj, S. C., and Goyeau, H. 2011. Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Euphytica.* 179: 143-160.
- Huerta-Espino J., Villaseñor-Mir, H. E., Rodriguez-Garcia, M. F., and Singh, R. P., 2015. Emerging new virulence gene combinations in the Mexican *Pst* population. In: The BGRI technical workshop, September 17-20, Sydney Australia.

- Jaccoud D., Peng, K., Feinstein, D., and Kilian, A. 2001. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids*. 29:4-25.
- Kertho A., Mamidi, S., Bonman, J. M., McClean, P. E., and Acevedo, M. 2015. Genome-wide association mapping for resistance to leaf and stripe rust in winter-habit hexaploid wheat landraces. *PLoS One*10:6.
- Khan M., Bukhari, A., Dar, Z., and Rizvi, S. 2013. Status and strategies in breeding for rust resistance in wheat. *Agric. Sci.* 4:292-301.
- Knott D. R., and Padidam, M. 1988. Inheritance of resistance to stem rust in six wheat lines having adult plant resistance. *Genome* 30: 283-288.
- Kota R., Spielmeier, W., McIntosh, R. A., and Lagudah, E. S. 2006. Fine genetic mapping fails to dissociate durable stem rust resistance gene *Sr2* from pseudo-black chaff in common wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor. Appl. Genet.* 112:492–499.
- Lagudah E. S. 2011. Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. *Euphytica* 179: 81-91.
- Lan C. X., Liang, S. S., Zhou, X. C., Zhou, G., Lu, Q. L., Xia, X. C., and He, Z. H. 2010. Identification of genomic regions controlling adult-plant stripe rust resistance in chinese landrace Pingyuan 50 through bulked segregant analysis. *Phytopathology*. 100: 313-318.
- Lan C. X., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Calvo-Salazar, V., and Herrera-Foessel, S. A. 2014. Genetic analysis of resistance to leaf rust and stripe rust in wheat cultivar Francolin#1. *Mol Breed.* 34:789-803.
- Lan C., Zhang, Y., Herrera- Foessel, S. A., Bhoja, R. B., Huerta- Espino, J., Lagudah, E. S., and Singh, R. P. 2015. Identification and characterization of pleiotropic and co- located

- resistance loci to leaf rust and stripe rust in bread wheat cultivar Sujata. *Theor. Appl. Genet.* 128:549-561.
- Li C., Bai, G., Chao, S., and Wang, Z. 2015. A high-density SNP and SSR consensus map reveals segregation distortion regions in wheat. *BioMed Res. Int.* 1:10.
- Li Z., Lan, C., He, Z., Singh, R. P., Rosewarne, G. M., Chen, X., and Xia, X. 2014. Overview and application of QTL for adult plant resistance to leaf rust and powdery mildew in wheat. *Crop Sci.* 54:1907-1925.
- Lillemo M., Asalf, B., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Chen, X. M., He, Z. H., and Bjornstad, A. 2008. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theor. Appl. Genet.* 116:1155-1166.
- Liu Y. G., and Tsunewaki, K. 1991. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat. *Jpn. J. Genet.* 66 (5): 617-633.
- Maccaferri M., Ricci, A., Salvi, S., Milner S. G., Noli, E., Martelli, P. L., Casadio R., Akhunov, E., Scalabrin. S., V. Vendramin, Ammar, K., Blanco, A., Desiderio, F., Distelfeld, A., Dubcovsky, J., Fahima, T., Faris, J., Massi, A., Mastrangelo, A. M., Pozniak, C., Diaye, A. N., Xu S., and Tuberosa R. 2015. A high-density, SNP-based consensus map of tetraploid wheat as a bridge to integrate durum and bread wheat genomics and breeding *Plant Biotechnol. J.* 3:648-663.
- Mace E. S., Xia, L., Jordan, D. R., Kirsten, H., Parh, D. K., Huttner, E., Wenzl, P., and Kilian, A. 2008. DArT markers: diversity analyses and mapping in *Sorghum bicolor*. *BMC Genet.* 9:26.

- Mallick N., Vinod, J., Sharma, B., Tomar, R. S., Silvasamy, M., and Prabhu, K. V. 2015. Marker-assisted backcross breeding to combine multiple rust resistance in wheat. *Plant Breeding* 134:172-177.
- McIntosh R. A., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., Morris, C., Appels, R., and Xia, X, C. 2016. Catalogue of gene symbols for wheat: 2015-2016 supplement. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2015.pdf>
- Meng L., Li, H. H., Zhang, L. Y., and Wang, J. K. 2015. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. *The Crop J.* 3:269-283.
- Niks R. E., Parlevliet, J. E., Lindhout, P., and Bai, Y. 2011. Breeding crops with resistance to diseases and pests. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. (Book).
- Peterson R. F., Campbell, A. B., and Hannah, A. E. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Can. J. Res.* 26: 496-500.
- Ren Y., He, Z. H., Li, J., Lillemo, M., Wu, L., Bai, B., Lu, Q. X., Zhu, H. Z., Zhou, G., Du, J. Y., Lu, Q. L., and Xia, X. C. 2012. QTL mapping of adult-plant resistance to stripe rust in a population derived from common wheat cultivars Naxos and Shanghai 3/Catbird. *Theor. Appl. Genet.* 125:1211-1221.
- Rosewarne G. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., and Rebetzke, G. J. 2008. Quantitative trait loci for slow-rusting resistance in wheat to leaf rust and stripe rust identified with multi-environment analysis. *Theor. Appl. Genet.* 116:1027-1034.
- Rosewarne G. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Herrera-Foessel, S. A., Forrest, K. L., Hayden, M. J., and Rebetzke, G. J. 2012. Analysis of leaf and stripe rust severities reveals pathotype

- changes and multiple minor QTLs associated with resistance in an Avocet x Pastor wheat population. *Theor. Appl. Genet.* 124:1283-1294.
- Rosewarne G. M., Herrera-Foessel, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Lan, C. X., and He, Z. H. 2013. Quantitative trait loci of stripe rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2427-2449.
- Santra D. K., Chen, X. M., Santra, M., Campbell, K. G., and Kidwell, K. K. 2008. Identification and mapping QTL for high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Stephens'. *Theor. Appl. Genet.* 117:793-802.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2017. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA) México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do.
- Singh R. P., and Rajaram, S. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in 'Frontana' and three CIMMYT wheats. *Genome* 35: 24-31.
- Singh R. P., Mujeeb-Kazi, A., and Huerta-Espino, J. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88:890-894.
- Singh R. P., Nelson, J. C., and Sorrells, M. E. 2000. Mapping *Yr28* and other genes for resistance to stripe rust in wheat. *Crop Sci.* 44: 1148-1155.
- Singh R. P., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Herrera-Foessel, S. A., Singh, D., Singh, P. K., Velu, G., Mason, R. E., Jin, Y., Njau, P., and Crossa, J. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179:175-186.
- Singh R. P., Herrera-Foessel, S. A., Huerta-Espino, J., Bariana, H., Bansal, U., McCallum, B. C., Bhavani, S., Lan, C., and Lagudah, E. 2012. *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Bdv1/Ltn1* confers

- slow rusting, adult plant resistance to stem rust. *In: Proceedings of the 13th international cereal rusts and powdery mildews conference Beijing, China.* Pp. 173.
- Singh R. P., Herrera-Foessel, S. A., Huerta-Espino, J., Lan, C. X., Basnet, B. R., Bhavani, S., and Lagudah, E. 2013. Pleiotropic gene *Lr46/Yr29/Pm39/Ltn2* confers slow rusting, adult plant resistance to wheat stem rust fungus *In: Proceedings BGRI 2013 technical workshop, New Delhi, India.* pp: 17.
- Solís-Moya E., Huerta-Espino, J., Pérez-Herrera, P., Villaseñor-Mir, H. E., Ramírez-Ramírez, A., y De la Cruz-González, M. L. 2016. Alondra F2014, nueva variedad de trigo harinero para el Bajío, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7:1225-1229.
- Somers D. J., Isaac, P., and Edwards, K. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109:1105–14.
- Spielmeyer W., Sharp, P. J., and Lagudah, E. S. 2003. Identification and validation of markers linked to broad-spectrum stem rust resistance gene *Sr2* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.* 43:333–336.
- Suenaga K., Singh, R. P., Huerta-Espino J., William, H. M. 2003. Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat. *Phytopathology* 93:881-890
- Van Ooijen J. W. 2006. Join Map 4, software for the calculation of genetic linkage maps in experimental population. Plant Research International, Wageningen, Netherlands (Book).
- Villaseñor-Espín O. M., Huerta-Espino, J., Leyva-Mir, S. G., Villaseñor-Mir, H. E., y Espitia-Rangel, E. 2003. Análisis de virulencia de la roya de la hoja (*Puccinia triticina* Eriks.) del trigo (*Triticum aestivum* L.) en los Valles Altos de México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:56-62.

- Voorrips R. E. 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Heredity* 93: 77-78.
- Wang S., Basten, C. J., and Zeng, Z. B. 2012. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>.
- William M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Ortiz-Islas, S., and Hoisington, D. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93: 153-159.
- William H. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Palacios, G., and Suenaga, K. 2006. Characterization of genetic loci conferring adult plant resistance to leaf rust and stripe rust in spring wheat. *Genome* 49:977-990.
- Yang H., Tao, Y., Zheng, Z., Li, Ch., Sweetingham, M. W., and Howieson, J. G. 2012. Application of next-generation sequencing for rapid marker development in molecular plant breeding: a case study on anthracnose disease resistance in *Lupinus angustifolius* L. *BMC Genomics* 13:318.
- Yang E. N., Rosewarne, G. M., Herrera-Foessel, S. A., Huerta-Espino, J., Tang, Z. X., Sun, C. F., Ren, Z. L., and Singh, R. P. 2013. QTL analysis of the spring wheat “Chapio” identifies stable stripe rust resistance despite inter-continental genotype x environment interactions. *Theor. Appl. Genet.* 126:1721-1732.
- Zhou Y., Ren, Y., Lillemo, M., Yao, Z., Zhang, P., Xia, X., He, Z., Li, Z., and Liu, D. 2014. QTL mapping of adult-plant resistance to leaf rust in a RIL population derived from a cross of wheat cultivars Shanghai 3/Catbird and Naxos. *Theor. Appl. Genet.* 127:1873-1883.

Zhou G., Zhang, Q., Tan, C., Zhang, X., and Li, Ch. 2015. Development of genome-wide InDel markers and their integration with SSR, DArT and SNP markers in single barley map. BMC Genomics 16:804.

CAPITULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* W. EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)

María Florencia Rodríguez-García¹², Reyna Isabel Rojas-Martínez¹, Julio Huerta-Espino^{2*}, Héctor Eduardo Villaseñor-Mir², Emma Zavaleta-Mejía¹, José Sergio Sandoval-Islas¹, José Crossa³

¹ Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. ²Campo Experimental Valle de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Km. 13.5 Carr. Los Reyes-Texcoco. 56250, Coatlinchán, Edo. de México. ³Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Km. 45 Carr. México-Veracruz. 56237, El Batán, Texcoco Edo. de México.

*Autor de correspondencia (j.huerta@cgiar.org)

Artículo enviado a Revista Fitotecnia Mexicana

RESUMEN

En los últimos años, la roya amarilla del trigo causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, se ha convertido en una enfermedad de importancia a nivel mundial. La resistencia genética basada en el uso de variedades resistentes es la estrategia más efectiva para el control de esta enfermedad. En la actualidad existen genotipos de trigo que han mostrado resistencia en diferentes años y ambientes de producción por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia y estimar el número de genes que condicionan la resistencia a roya amarilla en los genotipos Glenlea, Romero 73 y Bonza 63. Se utilizó como progenitor susceptible a Avocet-YrA y se generaron tres poblaciones, las cuales se avanzaron hasta obtener familias F₅. Las poblaciones se evaluaron bajo epidemias artificiales del hongo causante de la roya amarilla en la estación experimental del INIFAP-CEVAMEX en Chapingo México, durante el ciclo P-V/2015. La formación de rocío y temperaturas entre 10 a 20 °C fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad lo que permitió determinar que la resistencia de Bonza 63, Glenlea y Romero 73 se debe al efecto de genes menores de tipo cuantitativos. El comportamiento de las familias y el análisis de X^2 indicó la presencia de tres genes que confieren resistencia de planta adulta (RPA) a roya amarilla en los genotipos Bonza 63 y Romero 73. En la variedad Glenlea se determinó que ésta, posee de cuatro a cinco genes de RPA. Bonza 63, Glenlea, y Romero 73 poseen altos niveles de resistencia en planta adulta a las diversas razas presentes en las principales regiones trigueras del país, y pueden ser progenitores valiosos en los programas de mejoramiento para lograr una resistencia durable a roya amarilla.

Palabras claves: *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, resistencia, genes, genotipos, razas, detección.

ABSTRACT

The wheat yellow rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* has become a disease of global importance in the last few years. The genetic resistance based on the use of resistant varieties is the strategy that has best supported the control of this disease. Currently several genotypes exist that have shown resistance during different years and environments, therefore, the objective of this work is to determine the type of resistance and estimate the number of genes that condition the resistance to yellow rust in the Glenlea, Romero 73 and Bonza 63 genotypes. Three populations were generated using the susceptible progenitor Avocet -*YrA*, and were advanced until F₅ families were obtained. The populations were evaluated under artificial yellow rust epidemics at the experimental station of the INIFAP-CEVAMEX in Chapingo Mex., during the P-V/2015 cycle. The temperature and humidity conditions were favorable to the development of the disease which allowed the determination that the resistance of Bonza 63, Glenlea and Romero 73 genotypes are due to the effects of minor genes and of quantitative effect. The families behavior and the analysis of X^2 indicated the presence of three genes that confer the resistance of the adult plant (APR) to yellow rust in the Romero 73 and Bonza 63 genotypes. It was determined that the Glenlea variety possesses from four to five APR genes. Bonza 63, Glenlea and Romero 73 possess high levels of resistance in the adult plant to various races present in the principal wheat regions of the country, and can be valuable progenitors in the wheat improvement programs to create a more durable resistance to yellow rust.

Key words: *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, resistance, genes, genotypes, races, detection.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) es el cultivo que ocupa la mayor área sembrada y el volumen de su producción es mayor que cualquier otro grano (FAO, 2015). Su producción es afectada por factores bióticos y abióticos (Beddow *et al.*, 2015). Entre los factores bióticos, las enfermedades como las royas, ocasionadas por diferentes especies del género *Puccinia*. Fetch *et al.* (2011) indican que las royas son las más devastadores, ya que históricamente han causado pérdidas considerables en rendimiento en este cereal en todo el mundo. La roya amarilla (RA), causada por *P. striiformis* f. sp. *tritici* es una enfermedad que ocurre en la mayoría de las áreas con climas húmedos y fríos, está considerada como la principal limitante que afecta la producción de trigo (Chen *et al.*, 2014; Wellings, 2011). Hovmoller *et al.* (2011) mencionan que las epidemias de mayor impacto desde el año 2000 se han presentado en zonas más cálidas, donde la enfermedad se consideraba sin importancia o ausente, la base de este cambio parece ser la tolerancia del patógeno a temperaturas más elevadas (≥ 25 °C), como ocurre en el Noroeste de México junto con su capacidad para esporular en un periodo de tiempo más corto. Beddow *et al.* (2015) estimaron que se pierden 5.47 millones de toneladas de trigo cada año por roya amarilla lo que equivale a una pérdida económica de US\$ 979 millones por año. Solh *et al.* (2012) indican que se han producido con frecuencia epidemias de roya amarilla en varios países causando pérdidas del 1 al 25%. Sin embargo, en 2010 se registraron pérdidas de hasta un 80% en el Oriente Medio y el Norte de África. En México durante los ciclos de cultivo del 2014, se produjo una epidemia donde se identificaron las razas fisiológicas MEX14.141 con la fórmula de avirulencia/virulencia: *Yr1*, 5, 10, 15, 24, 26, *YrSp* y *YrPoll/Yr2*, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31; y MEX14.146 (*Yr5*, 10, 15, 24, 26, *YrSp* y *YrPoll/Yr1*, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31) la única diferencia entre estas dos razas es la virulencia para el gen *Yr1* en MEX.14.146; estas nuevas

combinaciones de virulencia *Yr27* y *Yr31* provocaron pérdida de resistencia en la variedad Nana F2007, recomendado para siembras de temporal en México, y Luminaria F2012, recomendada para siembras en áreas de riego en El Bajío (Solís *et al.*, 2016).

La estrategia que ha sido más eficaz para el control de las royas, es el uso de variedades resistentes, requiriéndose así constantemente fuentes de resistencia para controlar esta enfermedad. Los genes que confieren resistencia a royas en trigo se clasifican en tres categorías: los que confieren resistencia en todas las etapas de crecimiento y se manifiesta desde plántula y se mantiene durante todo el ciclo de crecimiento en ausencia de virulencia; los genes que solo confieren resistencia en planta adulta (RPA) cuya resistencia se hace más efectiva en la hoja bandera que son de raza-específica, y los genes que confieren resistencia parcial. y a menudo como resistencia de campo y son parciales es decir se expresan fenotipos con diferentes niveles de infección a la enfermedad y este tipo de resistencia es conocida como resistencia de raza no específica (Lagudah, 2011). Existen otros genes que confieren resistencia de raza no especifican como *Yr36* y *Yr39* que son mas efectiva temperaturas altas (≥ 25 °C) y se designan como genes de resistencia de planta adulta a temperatura alta (HTAP) pero su efectividad es dudosa a temperaturas por debajo de los 18 °C (Uauy *et al.*, 2005). Se requieren varios genes que condicionen la resistencia parcial (pirámide de genes) que sean de efecto aditivo para conferir niveles altos o adecuados de resistencia (Singh *et al.*, 2000, 2005). Actualmente, el uso de genes de raza específica y la alta variación genética en las poblaciones del patógeno, aunados a la rápida tasa de selección de nuevas razas virulentas, ha forzado a los mejoradores de trigo a concentrarse en estrategias que combinan varios genes de resistencia específica y/o de raza no-específica para aumentar la durabilidad de la resistencia (Maccaferri *et al.*, 2015). En el caso de la roya amarilla

se deben combinar de 4 a 5 genes de efecto aditivo o de raza no-específica para reducir el progreso de la enfermedad a niveles bajos en donde sólo se puedan observar porcentajes mínimos de severidad (5-10% de infección en hoja bandera)) (Singh *et al.*, 2000, 2011).

Recientemente se ha observado que los trigos denominados como antiguos poseen buenos niveles de resistencia a royas, y en los últimos años autores como Bulli *et al.* (2016) reportan que al realizar un análisis de asociación del genoma completo en accesiones de trigo provenientes de 67 países, han identificado 127 QTL que proporcionan resistencia a roya amarilla, dicho estudio proporciona una visión general de la gran diversidad de fuentes de resistencia para RA que existen en las colecciones de trigo en todo el mundo. Por otra parte, Suaste *et al.* (2015) mencionan que es de gran importancia para los mejoradores, estudiar la variabilidad genética existente en colecciones de trigo con la finalidad de detectar fuentes donadoras de genes que permitan incrementar la expresión de los caracteres de interés agronómico y fitopatológicos.

En la actualidad, las variedades de trigo harinero Bonza 63, Glenlea y Romero 73 han mantenido niveles de resistencia aceptables a las diversas razas de roya amarilla que se han presentado en México y en otras partes del mundo por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue determinar el tipo de resistencia a roya amarilla que poseen y estimar el número de genes que condicionan su resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Para la presente investigación se utilizaron los genotipos de trigo Bonza 63, Glenlea y Romero 73, los cuales, presentan diferentes niveles de resistencia a roya amarilla y el genotipo susceptible Avocet-*YrA*, los cuales se describen a continuación:

Avocet-*YrA*: es una línea proveniente de una re-selección de la variedad australiana Avocet que carece de genes de resistencia a roya amarilla y es susceptible en plántula y planta adulta (100S) a todas las razas fisiológicas de RA que existen en México (Huerta-Espino *et al.*, 2012), su genealogía y pedigrí es: WW119/WW151//EGRET (*YrA*-30Y).

Bonza 63: es una variedad de trigo harinero sin aristas liberada en el año 1963 por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), su genealogía es: RIO NEGRO/2*BONZA 55; su ciclo vegetativo es de 145 días, con una altura de planta de 100 cm, posee buena calidad industrial y recomendable en Colombia, para ambientes de producción ubicados en alturas de 2,400 a 2,700 msnm (Zapata *et al.*, 1967), ha mantenido niveles altos (20MR-MS) de resistencia a roya amarilla desde su liberación.

Glenlea: es un trigo harinero rojo de primavera, sin aristas que fue formado por el Plant Science Department University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba. Fue el primer trigo harinero de primavera utilizado con licencia en Canadá; fue liberado en 1972 y se derivó de la cruce (Pembina² x Bage) x CB100 (Evans *et al.*, 1972). Su ciclo vegetativo en ambientes de temporal

en México es de 135 días, con una altura de 105 cm. Glenlea ha mantenido niveles altos (5-20% de infección en hoja bandera) de resistencia a roya amarilla desde su liberación.

Romero 73: es una variedad de trigo harinero sin aristas liberada en 1973 por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - Estación Experimental Santa Catalina - Ecuador, se derivó de la cruce Frocór-Kenya 58/Newthatch x Bonza³; su ciclo vegetativo es de 150 días, con una altura de planta de 100 cm; en cuanto a reacción a enfermedades Romero 73 fue descrita como moderadamente resistente a roya amarilla (10MR) y a la roya del tallo (10MR), mientras que es moderadamente susceptible a roya de la hoja (20MS) (Lalama, 1974).

Obtención de familias F₅

Se hicieron las cruces mediante el método emasculación-polinización manual descrito por Mellado (2007), durante el ciclo O-I/12-13 en los invernaderos del Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX), perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Chapingo, Texcoco, Edo. de Méx. a 19°53' LN y 99° 53' LO a una altitud de 2,250 msnm. En el ciclo P-V/2013 en INIFAP-CEVAMEX se sembró la F₁ de forma mateada y de cada una de las cruces se cosecharon cinco plantas al azar. De estas cinco plantas se usó la semilla de tres para avanzar a la siguiente generación y las otras dos se mantuvieron como reserva. En el ciclo O-I/13-14 se sembró la generación F₂ en dos surcos dobles de 11 m de largo, en un lote experimental del Campo Experimental Bajío perteneciente al INIFAP, que se encuentra ubicado en Celaya Guanajuato a 20° 34' LN y 100° 49' LO, a 1,768 msnm. De la progenie de cada una de las tres plantas se cosecharon 50 plantas F₂ al azar que dieron origen a 150 familias F₃ por cada cruce y de las cuales se sembraron 118 familias de las

cruzas Avocet-*YrA*/Bonza 63 y Avocet-*YrA*/Romero 73; y 144 familias de la craza Avocet-*YrA*/Glenlea. La generación F₄ se avanzó durante el ciclo O-I/14-15 para dar origen a la generación F₅ en la cual se realizó el presente estudio. El avance generacional de la F₃ a F₅ se realizó por el método de pedigrí.

Evaluación de las familias en plántula

En el Laboratorio Nacional de Royas y Otras Enfermedades del Trigo (LANARET) perteneciente al INIFAP-CEVAMEX, bajo condiciones de invernadero (T máx. 24°C - T mín. 7°C) se evaluó la resistencia de las familias F₅ de las poblaciones Avocet-*YrA*/Bonza 63, Avocet-*YrA*/Romero 73 y Avocet-*YrA*/Glenlea durante el mes de octubre y noviembre del 2015; para lo cual se sembraron las familias en charolas de plástico de 20cm x 30cm x 6 cm a las que se les agregó una mezcla de tierra estéril y peat most en una proporción 60:40, se marcaron pequeños orificios y se colocaron de 8 a 9 semillas por familia y colocando 24 familias por charola, posteriormente a los 11 d después de la siembra las plántulas se inocularon con una suspensión de urediniosporas de las razas MEX96.11, MEX08.13 y CMEX14.25 a una concentración de 1×10^6 urediniosporas/mL. Las plántulas inoculadas se colocaron en una cámara bioclimática con temperaturas de 4°C por 24 horas y roció constante por una hora. Posteriormente se trasladaron al invernadero y después de 15 d de inoculación se registró su reacción a la roya amarilla utilizando la escala propuesta por Roelfs *et al.* (1992), donde lecturas del 1 al 6 se consideran resistentes y del 7 al 9 susceptible.

Evaluación de las familias en planta adulta

Las familias F₅ y los progenitores resistentes y el susceptible (Bonza 63, Glenlea, Romero 73 y Avocet-*YrA*) se evaluaron por su resistencia en planta adulta en un ensayo no replicado, en la estación experimental del INIFAP-CEVAMEX durante el verano del 2015. En campo, se sembraron cada parcela incluyó aproximadamente 70 plantas dispuestas en dos filas paralelas de 1 m. A un lado de cada parcela y alrededor del lote experimental se sembró una mezcla de genotipos susceptibles a roya amarilla (Moroco, Avocet +*Yr31* y seis líneas que poseen los genes *Yr3*, *Yr9* y *Yr27* derivadas de la cruce Avocet/Attila) que actuaron como fuente de inóculo.

Para hacer una eficiente evaluación y clasificación de las familias F₅ por su reacción a roya amarilla fue necesario crear epidemias artificiales mediante tres inoculaciones, utilizando una suspensión de urediniosporas de los aislamientos MEX96.11 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1,4,5,8,10,15,17,24*, *Sp/2,3,6,7,9,27*, *A* (William *et al.*, 2003) y MEX08.13 que es avirulenta a *Yr27* y virulenta a *Yr31*. Las urediniosporas fueron suspendidas en aceite mineral (Soltrol[®] 170; Chevron Phillips Chemical Company) y asperjadas con un atomizador manual. Durante el ciclo del cultivo en forma natural se identificó un aislamiento (CMEX14.25) que combina virulencia para *Yr27* y *Yr31* que estuvo presente en el experimento.

La severidad de la enfermedad, se registró cuando el progenitor susceptible (Avocet-*YrA*) alcanzo niveles de 80-100%; se utilizó la escala de Cobb modificada Peterson *et al.* (1948), y la respuesta del hospedante a la infección se determinó de acuerdo con Roelfs *et al.* (1992), donde: R= resistente, uredinios diminutos; MR= moderada resistencia, uredinios pequeños; MS= moderada susceptibilidad, uredinios pequeños de tamaño moderado; y S= susceptible, uredinios grandes.

Clasificación de familias

Con base en la severidad de la enfermedad y la respuesta a la infección, las familias F₅ fueron clasificadas en tres categorías fenotípicas de acuerdo con Singh y Rajaram (1992), líneas homocigotas parentales tipo resistentes (LHPTR), líneas homocigotas parentales tipo susceptible (LHPTS) y líneas con respuesta diferente a los dos padres (OTROS).

Análisis genético

Los experimentos en campo se llevaron a cabo con una sola repetición; la estimación del número de genes se realizó mediante el análisis de segregación mendeliana tradicional chi-cuadrada (X^2) (Singh y Rajaram 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación fenotípica de la resistencia a roya amarilla en etapa de plántula

Los resultados obtenidos al evaluar en etapa de plántula bajo condiciones de invernadero, las poblaciones Avocet-YrA/Bonza 63, Avocet-YrA/Romero 73 y Avocet-YrA/Glenlea; a los 15 días después de la inoculación se tomó la reacción en el progenitor susceptible y resistente de las tres poblaciones en estudio inoculadas con las tres razas; en dicha evaluación no se encontró diferencia entre el progenitor susceptible y los resistentes, ambos tuvieron una reacción de susceptibilidad, lo que indica que los genotipos Bonza 63, Romero 73 y Glenlea no tienen genes de resistencia de raza específica a roya amarilla para las tres razas y el tipo de resistencia que poseen es de planta adulta, de patogenia lenta u horizontal. Dicha resistencia se caracteriza por expresar susceptibilidad en etapa de plántula (Lagudah, 2011; Niks *et al.*, 2011). Por otra parte Singh *et al.* (2015) indica genotipos con resistencia de planta adulta son ideales para tomarlos como fuente de resistencia a royas.

Evaluación fenotípica de la resistencia a roya amarilla en etapa de planta adulta

La formación de rocío durante el periodo de infección y temperaturas entre 10 a 20°C fueron favorables para el desarrollo de la roya amarilla en la estación experimental INIFAP-CEVAMEX durante el ciclo P-V/2015, lo que permitió realizar la evaluación y clasificación de las familias Avocet-YrA/Bonza 63, Avocet-YrA/Glenlea y Avocet-YrA/Romero 73. La severidad final de la enfermedad (SFE) y la reacción a RA para el progenitor susceptible (Avocet-YrA) fue de 100S, mientras que para los progenitores resistentes fue de 10MS (10 % de severidad) para Bonza 63 y Romero 73 y para Glenlea 5 % de severidad y una reacción de moderada susceptibilidad (MS).

Al analizar el comportamiento de las familias con respecto a los niveles de infección, no se observó una distribución discreta de clases que pudiese indicar la presencia de genes de resistencia de raza específica o de efectos mayores. Lo que se observó, fue una variación continua o distribución aproximadamente normal, lo que indica que la resistencia que poseen los genotipos Bonza 63, Glenlea y Romero 73 es debida al efecto de genes menores y es de tipo cuantitativa como se observa en la Figura 1. Esta afirmación coincide con la reportada por Singh *et al.* (2011), en otros estudios en términos de distribución fenotípica en poblaciones con resistencia lenta a la enfermedad.

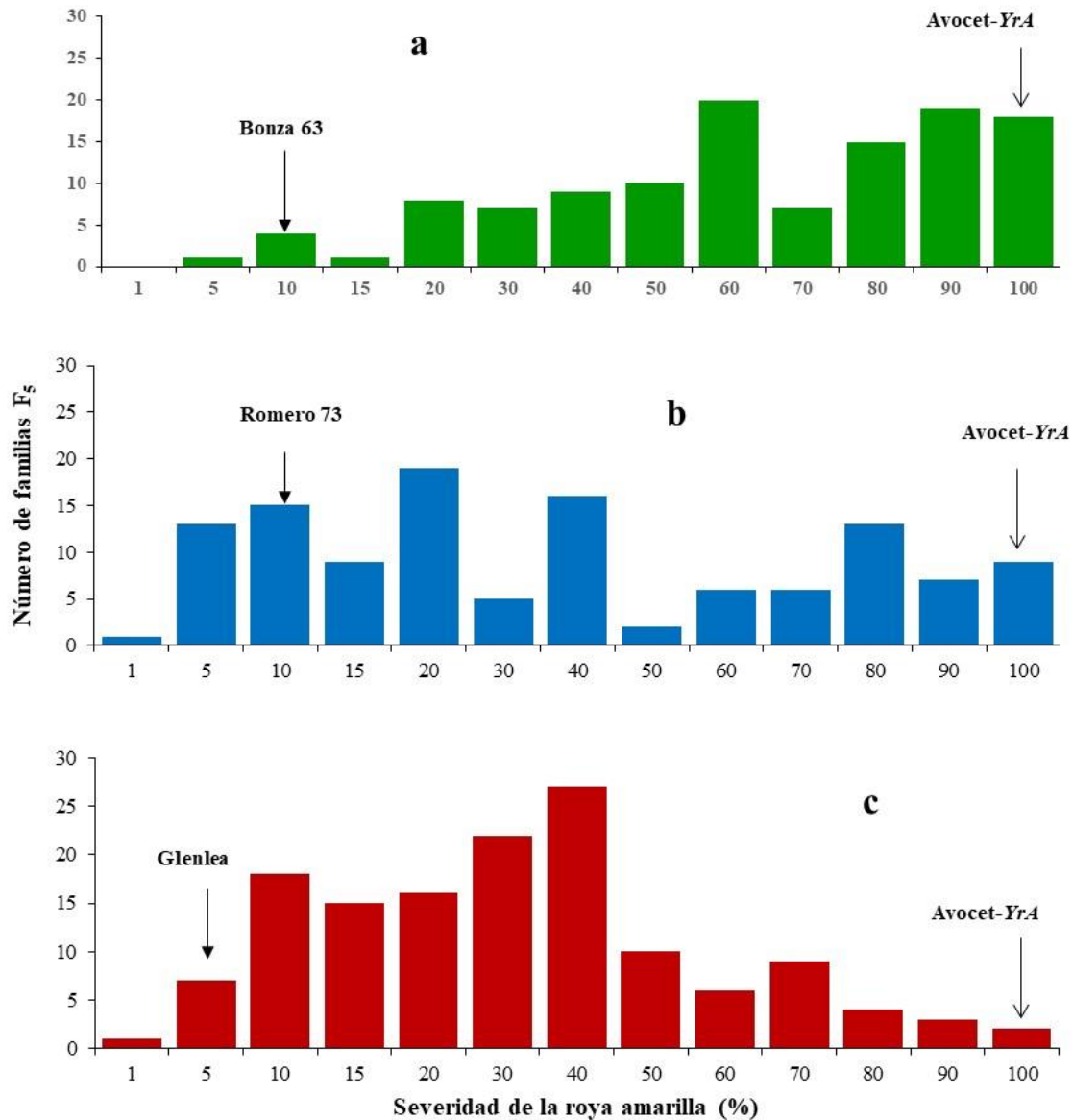


Figura 1. Distribución continua de familias F_5 basadas en el porcentaje de severidad final de RA de los progenitores y familias: a) Avocet-*YrA*/Bonza 63, b) Avocet-*YrA*/Romero 73 y c) Avocet-*YrA*/Glenlea.

Estimación del número de genes que condicionan resistencia a roya amarilla en familias F_5

La evaluación realizada en el ciclo P-V/2015 de las familias de las cruzas Avocet-*YrA*/Bonza 63, Avocet-*YrA*/Romero 73 y Avocet-*YrA*/Glenlea, basándose en el porcentaje de severidad final, las líneas se clasificaron en tres categorías fenotípicas. En el Cuadro 1 se presentan los resultados

de las proporciones fenotípicas de dichas poblaciones donde se indica que en la población Avocet-YrA/Romero 73 y Avocet-YrA/Bonza 63 la resistencia esta conferida por tres genes de efecto aditivo. En la población Avocet-YrA/Glenlea el análisis de X^2 indicó que la resistencia a roya amarilla en Glenlea esta conferida por cuatro y hasta cinco genes de efecto aditivo. Singh *et al.* (2005) indican que la resistencia de patogenia lenta o “slow rusting” es la más utilizada en los programas de mejoramiento genético para el control de las royas y la búsqueda de genes de resistencia para su control es un trabajo constante debido a que ciclo tras ciclo de producción de trigo aparecen nuevas razas fisiológicas que sobrepasan la resistencia de que poseen las variedades de reciente liberación; por lo anterior, una de las actividades preponderantes dentro de los programas de mejoramiento genético de este cereal es la búsqueda de fuentes de resistencia a estas enfermedades en variedades ya liberadas; tal es el caso de Basnet *et al.* (2013), quienes determinaron que la variedad Quaiu 3 posee dos tipos de resistencia (cualitativa y cuantitativa) y que este tipo de resistencia es muy eficaz para el control de la roya amarilla. Villaseñor *et al.* (2009) estimó el número de genes de resistencia a roya amarilla en variedades para la siembra de trigo de temporal, encontrando que de tres a cuatro genes de efecto aditivo condicionan la resistencia en Juchi F2000, Náhuatl F2000 y Tlaxcala F2000; por otra parte Huerta-Espino *et al.* (2012), determinaron que la resistencia a roya amarilla en las variedades recomendadas para siembra de riego (Cortázar S94, Bárcenas S2002, y Maya S2007) está condicionada por dos o tres genes de efecto aditivo, mientras que en Urbina S2007 está condicionada por tres o cuatro genes de la misma naturaleza.

En las familias F₅ de las tres poblaciones estudiadas se observó segregación transgresiva en los dos ciclos evaluados, es decir hubo familias que fueron más resistentes que los progenitores

resistentes (Figura 1); esto indica que *Avocet-YrA* tiene un gen con efecto pequeño para roya amarilla y coincide con lo reportado por Rosewarne *et al.* (2013) quien indica que en *Avocet* se han identificado siete loci de caracteres cuantitativos en investigaciones con enfoque hacia fuentes de resistencia a roya amarilla.

Cuadro 1. Número de familias F₅ clasificadas en tres grupos de las cruzas entre el progenitor susceptible (*Avocet-YrA*) y los progenitores resistentes (Bonza 63, Romero 73 y Glenlea) frente a la mezcla de las razas MEX96.11, MEX08.13 y CMEX14.25 durante el ciclo P-V/ 2015.

Cruza	Número de familias F ₅				No. de genes	X ² Calculada	Probabilidad
	LHPTR	LHPTS	OTROS	Total			
<i>Avocet-YrA</i> /Bonza 63	4	18	95	117	3	7.7	0.05
<i>Avocet-YrA</i> /Romero 73	14	9	95	118	3	1.6	0.40
<i>Avocet-YrA</i> /Glenlea	7	2	130	139	4	1.9	0.40
					5	7.5	0.05

4 gl, $\alpha = 0.05$, $X^2 t=9.488$; LHPTR=líneas homocigotas parentales tipo resistentes; LHPTS=líneas homocigotas parentales tipo susceptible OTROS= líneas con respuesta diferente a los dos padres.

En el presente estudio Glenlea mostró mayor resistencia en planta adulta a roya amarilla, seguida de Romero 73 y Bonza 63, dicha resistencia es debida a que Glenlea tiene un mayor número de genes de efecto aditivo; tal comportamiento coincide con lo indicado por Singh y Rajaram (1993), quienes mencionan que las variedades que llevan sólo un gen de resistencia,

muestran niveles moderados de resistencia. Sin embargo, conforme aumenta el número de genes, los niveles de resistencia también aumentan.

En las tres variedades estudiadas se observó el marcador morfológico denominado necrosis en la punta de la hoja (*Ltn*=leaf tip necrosis), dicho marcador está asociado con la presencia de los genes de resistencia en planta adulta, de patogenia lenta y de efecto pleiotropico denominados: *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Ltn1* (Singh, 1992a) *Lr46/Yr29/Sr58/Pm39/Ltn2* (Rosewarne *et al.*, 2006); y *Lr67/Yr46/Sr55/Pm39/Ltn3* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014). Dyck *et al.* (1985) y Lagudah *et al.* (2006) indican que Glenlea posee el gen de resistencia para roya de la hoja *Lr34*; dicho gen está ligado con el *Yr18* (Singh, 1992b); y fue uno de los primeros trigos harineros canadienses en tener el gen *Lr34* (Kolmer y Liu 2002); en Canadá este gen sigue siendo efectivo para roya de la hoja en dicho cultivar (Fetch *et al.*, 2011) y en cuanto a roya amarilla Glenlea ha mantenido los niveles de resistencia desde su liberación en 1972; dicha resistencia podría deberse a la presencia de *Yr18*. Por otra parte, McCallum *et al.* (2007) reportan que dicho genotipo ha mostrado altos niveles de resistencia a roya amarilla que van desde 0 a 36% de severidad en diversos ambientes en Canadá, Washington, USA y Nueva Zelanda; por otra parte, McCallum *et al.* (2016) indican que la eficacia y la durabilidad de *Lr34/Yr18* hicieron que fuera y siga siendo la base genética de muchos genotipos de trigo en Canadá. Dyck *et al.* (1985) reconocieron que *Lr34* condicionaba resistencia a roya de la hoja y roya del tallo en el cultivar Glenlea, este fue el primer reporte de la naturaleza pleiotrópico de *Lr34* (McCallum *et al.*, 2016).

García *et al.* (2017) indican que Bonza 63 y Romero 73 poseen los genes de resistencia en planta adulta a roya del tallo denominados *Sr58* y *Sr57*, respectivamente; *Sr57* se encuentra

ligado a los genes *Lr34* (Dyck 1987), *Yr18* (Singh 1992a) y *Sr57* (McIntosh *et al.* 2012). Por otra parte, el gen *Sr58* se encuentra ligado a los genes *Lr46* (Singh *et al.* 1998), *Yr29* (William *et al.* 2003) y *Sr58* (McIntosh *et al.* 2013), dichos genes de resistencia aún siguen siendo efectivos en muchas partes del mundo (Singh *et al.* 2015). Los genes *Yr18* y *Yr29* se ha identificado que tienen un efecto similar en la resistencia a roya amarilla y de la hoja (*Lr34* y *Lr46*) (Singh *et al.*, 2011), lo que podría explicar el nivel de resistencia que se observó en los genotipos Bonza y Romero 73.

CONCLUSIONES

Bonza 63, Romero 73 y Glenlea no poseen genes de resistencia de plántula a los aislamientos de roya amarilla MEX96.11 MEX08.13 y CMEX14.25. Glenlea y Bonza 63 poseen cuatro y tres genes de resistencia de efecto aditivo respectivamente, siendo *Yr18* común en ambos genotipos.

Romero 73 posee el gen *Yr29* y dos genes más de efecto aditivo.

Los tres genotipos poseen genes de resistencia de raza no específica, y son fuentes de resistencia valiosa que deben incorporarse en las nuevas líneas generadas por los programas de mejoramiento genético de trigo.

LITERATURA CITADA

- Basnet B. R., R. P. Singh, S. A. Herrera-Foessel, A. M. H. Ibrahim, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar and J. Rudd. 2013. Genetic analysis of adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common spring wheat Quaiu 3. *Plant Dis.* 97:728–736.
- Beddow J. M., P. G. Pardey, Y. Chail, T. M. Hurley, D. J. Kriticos, H. J. Braun, ... T. Yonow. 2015. Research investment implications of shifts in the global geography of wheat stripe rust. *Nature Plants* 1:15132.
- Bulli P., J. Zhang, S. Chao, X. Chen and M. Pumphrey. 2016. Genetic architecture of resistance to stripe rust in global winter wheat germplasm collection. *Genes-Genomes-Genetics* 6:2237-2253.
- Chen W., C. Wellings, X. Chen, Z. Kang and T. Liu. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Plant Path.* 15:433-446.
- Dyck P. L. 1987. The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat. *Genome* 29:467-469.
- Dyck P. L., D. J. Samborski and J. W. Martens. 1985. Inheritance of resistance to leaf rust and stem rust in the wheat cultivar Glenlea. *Can. J. Plant Pathol.* 7:351-354.
- Evans L. E., L. H Shebeski, R. C. McGinnis, K. G. Briggs and D. Zuzens. 1972. Glenlea red spring wheat. *Can. Jour. Plant Scien.* 52:1081-1082.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2015. <http://faostat.fao.org>
- Fetch T., B. McCallum, J. Menzies, K. Rashid and A. Tenuta. 2011. Rust diseases in Canada. *Prairie Soils & Crops Journal* 4:86-96.

- García-León E., J. Huerta-Espino, H. E. Villaseñor-Mir, J. S. Sandoval-Islas, S. G. Leyva-Mir, I. Benítez-Riquelme y S. Cruz-Izquierdo. 2017. Genética de la resistencia a la roya del tallo en planta adulta en genotipos élite de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mex.* (en revisión).
- Herrera-Foessel S. A, R. P. Singh, M. Lillemo, J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. Singh, ... E. S. Lagudah. 2014. *Lr67/Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 127:781–789.
- Hovmoller M. S., Ch. K. Sorensen, S. Walter and A. F. Justesen. 2011. Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49:197-217.
- Huerta- Espino E., R. Torres-García, M. F. Rodríguez-Rodríguez, H. E. Villaseñor-Mir, S. G. Leyva-Mir y E. Solís-Moya. 2012. Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 1:879-891.
- Kolmer J. A. and J. Q. Liu. 2002. Inheritance of leaf rust resistance in the wheat cultivars AC Majestic, AC Splendor, and AC Karma. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24:327-33.
- Lagudah E. S. (2011) Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. *Euphytica* 179:81-91.
- Lagudah E. S., H. McFadden, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. S. Bariana and W. Spielmeyer . 2006. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 114:21-30.
- Lalama H. M. 1974. “Romero 73” y “Cayambe 73” dos nuevas variedades de trigo para la siembra ecuatoriana. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria (INIAP). Estación Experimental “Santa Catalina” Quito-Ecuador. Boletín Divulgativo No. 69.

- Maccaferri M., J. Zhang, P. Bulli, Z. Abate, S. Chao, D. Cantu, ... J. Dubcovsky. 2015. A genome-wide association study of resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in a worldwide collection of hexaploid spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *G3-Genes-Genomes-Genetics* 5:449-465.
- McCallum B. D., C. W. Hiebert, S. Cloutier, G. Bakereen, S. B. Rosa, D. G. Humphreys, ... X. Wang (2016) A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. *Can. J. of Plant Pathol.* 1;1-18.
- McCallum B. D., X. Chen, S. Shorter, R. S. Sadasivaiah and J. P. Tewari. 2007. Stripe rust reaction of 28 Canadian wheat cultivars. *Can. J. Plant Pathol.* 29:401-407.
- McIntosh R. A., J. Dubcovsky, W. J. Rogers, C. Morris, R. Appels and X. C. Xia. 2013. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013-2014 supplement.
- McIntosh R. A., J. Dubcovsky, W. J. Rogers, C. Morris, R. Appels and X. C. Xia. 2012. Catalogue of gene symbols for wheat: 2012 supplement.
- Mellado, Z. M. 2007. El trigo en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán, Chile. 684 p.
- Niks R. E., J. E. Parlevliet, P. Lindhout and Y. Bai. 2011. Breeding crops with resistance to diseases and pests. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. 200 p.
- Peterson R. F., A. B. Campbell and A. E. Hannah. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stem of cereals. *Can. Jour. Res. Sec.* 5:496-500.
- Roelfs A. P., R. P. Singh y E. Saari. 1992. Las royas del trigo: conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. México, D. F. CIMMYT. 81 p.

- Rosewarne G. M., S. A. Herrera-Foessel, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, C. Lan and Z. H. He. 2013. Quantitative trait loci of stripe rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2427–2449.
- Rosewarne G. M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. M. William, S. Bouchet, S. Cloutier, ... E. S. Lagudah. 2006. Leaf tip necrosis, molecular markers and β 1-proteasome subunits associated with the slow rusting resistance genes *Lr46/Yr29*. *Theor. Appl. Genet* 112:500-508.
- Singh R. P. 1992a. Association between gene *Lr34* for leaf rust and leaf tip necrosis in wheat. *Crop Scien.* 32:874–878.
- Singh R. P. 1992b. Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult plant resistance to stripe rust in bread wheat. *Phytopathology* 82:835-838.
- Singh R. P., D. P. Hodson, Y. Jin, E.S. Lagudah, M. A. Ayliffe, S. Bhavani, ... M. S. Hovmoller. 2015. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued thread to dos security and prospects of genetic control. *Phytopathology* 105:872-884.
- Singh R. P., J. Huerta- Espino, S. Bhavani, S. A. Herrera-Foessel, D. Singh, P. K. Singh, ... J. Crossa J. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179:175-186.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino and H. M. William. 2005. Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 29:121-127.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino and S. Rajaram. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 35:133-139.

- Singh R. P., A. Mujeeb-Kazi and J. Huerta-Espino. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88:890–894.
- Singh R. P. and S. Rajaram. 1993. Genetic of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72:1-7.
- Singh R. P. and S. Rajaram. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in “Frontana” and three CIMMYT wheats. *Genome* 35:24-31.
- Solh M, K. Nazari, W. Tadesse and C. R. Wellings. 2012. The growing threat of stripe rust world wide. Borlaug Global Rust Initiative, Beijing, China. pp1-10.
- Solís-Moya E., J. Huerta-Espino, P. Pérez-Herrera, H. E. Villaseñor-Mir, A. Ramírez-Ramírez y M. de L. de la Cruz-González. 2016. Alondra F2014, nueva variedad de trigo harinero para el Bajío, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5:1225-1229.
- Suaste-Franco M. P., V. M. Zamora-Villa, M. H. Reyes-Valdes, H. E. Villaseñor-Mir, A. Santacruz-Varela y E. Solís-Moya. 2015. Agrupamiento de genotipos de la colección nacional de trigo en base a genes de interés agronómico. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6: 695-706.
- Uauy C., J. C. Brevis, X. M. Chen, I. A. Khan, L. F. Jackson, O. Chicaiza, ... J. Dubcovsky. 2005. High-temperature adult plant (HTAP) stripe rust resistance gene *Yr36* from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* is closely linked to the grain protein content locus *Gpc-B1*. *Theor. Appl. Genet.* 1:97-105.
- Villaseñor-Espin O. M., J. Huerta-Espino, S. G. Leyva-Mir, H. E. Villaseñor-Mir, R. P. Singh, J. S. Sandoval-Islas y E. Espitia-Rangel. 2009. Genética de la resistencia a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mex.* 32:217-233.

- Wellings C. R. 2011. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica* 179:129–141.
- William M, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, S. Ortiz, D. Hoisington. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93: 53-159.
- Zapata B. M. y L. López. 1967. El cultivo del trigo. Desplegable de divulgación No. 5. Instituto Colombiano Agropecuario.

CONCLUSIONES GENERALES

Los genotipos Bonza 63, Romero 73, Glenlea y Huites F95 poseen genes de resistencia de raza no específica a roya amarilla.

Bonza 63, Romero 73, Glenlea y Huites F95 poseen genes de efecto aditivo a roya amarilla.

Huites F95 posee tres genes de efecto aditivo a roya de la hoja. Glenlea y Bonza 63 tienen en común el gen *Yr18* mientras que Romero 73 y Huites F95 posee el gen *Yr29*, ambos de efecto pleiotropico.

En Huites F95 se identificaron tres QTL de resistencia y de efecto pleiotropico para roya amarilla y de la hoja en los cromosomas 1AL, 1BL y 5AL (*Q_{Lr.cim-1AL}/Q_{Yr.cim-1AL}*, *Q_{Lr.cim-1BL}/Q_{Yr.cim-1BL}* y *Q_{Lr.cim-5AL}/Q_{Yr.cim-5AL}*), en el QTL identificado en 1BL se mapeo el gen de efecto pleiotropico denominado *Lr46/Yr29/Pm39*. Otros tres QTL que confieren resistencia a roya amarilla fueron mapeados en los cromosomas 3B, 4BS y 6BS (*Q_{Yr.cim-3B}*, *Q_{Yr.cim-4BS}* y *Q_{Yr.cim-6BS}*) y tres más con resistencia para roya de la hoja en 2AS, 5A y 6BL (*Q_{Lr.cim-2AS}*, *Q_{Lr.cim-5A}* and *Q_{Lr.cim-6BL}*).

Los QTL identificados en 4BS y 6BL fueron aportados por el progenitor susceptible Avocet-*YrA*.

Los QTL's con efecto pleiotrópico y de resistencia en planta adulta en los cromosomas 1AL y 5AL para roya amarilla y roya de la hoja y los identificados en Huites F95 son de nuevo reporte.

La resistencia de Huites F95 se puede transferir de manera fácil y rápida, con la ayuda de los marcadores moleculares disponibles y la selección asistida por marcadores moleculares. Bonza 63, Glenlea, Huites F95 y Romero 73 por su nivel de resistencia a roya amarilla, representan una fuente de resistencia útil para los programas de mejoramiento de trigo en México y el mundo.