



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

**GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A
Puccinia striiformis W. EN PROGENITORES
RESISTENTES DE TRIGO EN PLÁNTULA
Y PLANTA ADULTA**

MARIANA RODRÍGUEZ FLORES

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A *Puccinia striiformis* W. EN PROGENITORES RESISTENTES DE TRIGO EN PLÁNTULA Y PLANTA ADULTA**; realizada por la alumna: Mariana Rodríguez Flores; bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



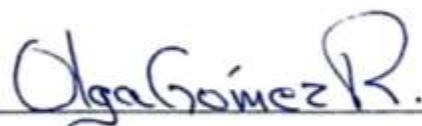
Dr. José Sergio Sandoval Islas

ASESOR



Dr. Julio Huerta Espino

ASESORA



Dra. Olga Gómez Rodríguez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2021.

GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A *Puccinia striiformis* W. EN PROGENITORES RESISTENTES DE TRIGO EN PLÁNTULA Y PLANTA ADULTA

Mariana Rodríguez Flores, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Se determinó la genética de la resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en los genotipos de trigo harinero ‘PI250413’ y ‘C591’, mediante el análisis de las progenies F₃, F₄ y F₅ provenientes de las cruzas ‘Apav’ x ‘PI250413’, en respuesta a la infección en contra de la raza MEX14.191 de roya amarilla *P. striiformis*. El número de genes se estimó mediante pruebas de Ji-cuadrada. Las distribuciones de la F₃ se ajustan a la segregación de tres genes. En F₃ las familias homocigotas similares al progenitor resistente o susceptible fueron en frecuencia muy baja, lo que indicó resistencia condicionada por más de un gen. En F₄, se observó una proporción 27:115:23 resistentes, segregantes y susceptibles respectivamente. Para el análisis de F₄, se agruparon las familias resistentes y segregantes porque en campo no fue clara la diferenciación de familias segregantes de las familias con un porcentaje de infección intermedia las cuales se compararon con las susceptibles, las distribuciones se ajustaron a la segregación de dos genes. La F₅ resultó en las proporciones 39:101:25, para el análisis los grupos segregantes 3 y 4 se agruparon y se compararon con los resistentes y los susceptibles. Las distribuciones de la F₅ siguieron ajustándose a la segregación de dos genes. Las frecuencias de las familias F₄ en estado de plántula 67:50:49 resistentes: segregantes: y susceptibles respectivamente. En el análisis en plántula se agruparon las familias resistentes y segregantes las cuales se compararon con las susceptibles, las distribuciones observadas se ajustaron a la segregación de un gen. Estos resultados y la ausencia de segregación en la F₃ de la cruce PI250413 x C591 indicarían que tanto PI250413 y C591 comparten el mismo gen de resistencia en plántula. El análisis molecular confirmó la presencia de los genes *Yr47* y *Yr67* en los progenitores PI250413 y C591. Los resultados del presente estudio indican que la combinación *Yr46/Yr67* es efectiva tanto en plántula como en planta adulta y disminuye considerablemente los niveles de infección a casi inmunidad por lo menos en PI250413 y C591.

Palabras clave: Resistencia, gen, segregación y *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*.

GENETICS OF THE RESISTANCE TO *Puccinia striiformis* W. IN RESISTANCE PROGENITORS OF WHEAT IN PLANTS AND SEEDLING PLANTS.

Mariana Rodríguez Flores, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

The genetics of resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in the bread wheat genotypes 'PI250413' and 'C591' were determined by analyzing F₃, F₄ and F₅ progenies from the 'Apav' x 'PI250413' crosses in response to infection with race MEX14.191 of *P. striiformis*. Gene numbers were estimated by Chi-square tests. The F₃ distributions are adjusted to the segregation of three genes. In F₃, homozygous families similar to the resistant or susceptible parent were very low in frequency, indicating very resistance conditioned by more than one gene. In F₄, a proportion of 27:115:23 resistant, segregants and susceptibles was observed, respectively. For the analysis of F₄, resistant and segregating families were grouped because in the field it was not clear the differentiation of segregating families from families with an intermediate infection percentage, which were compared with susceptible ones, the distributions were adjusted to the segregation of two genes. The F₅ resulted in the proportions 39:101:25, for the analysis the segregating groups 3 and 4 were grouped and compared with the resistant and susceptible ones. The F₅ distributions continued to adjust to the two-gene segregation. The frequencies of the F₄ families at seedling stage 67:50:49 resistant: segregants: and susceptible respectively. In the seedling analysis, the resistant and segregating families were grouped and compared with the susceptible ones; the observed distributions were adjusted to the segregation of one gene. These results and the absence of segregation in F₃ of the PI250413 x C591 cross would indicate that PI250413 and C591 share the same seedling resistance gene. Molecular analysis confirmed the presence of genes *Yr47* and *Yr67* in the PI250413 and C591 parents. The results of the present study indicate that the combination of *Yr46/Yr67* is effective in seedling and adult plants and significantly decreases infection levels to near immunity at least in PI250413 and C591.

Key words: resistance, gene, segregation and *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**, por la beca otorgada que me permitió concluir mis estudios de posgrado.

Al **Colegio de Postgraduados** especialmente el programa de **Fitopatología**, por proporcionarme las herramientas necesarias y así continuar con mi preparación profesional.

Al **Dr. Julio Huerta Espino**, por darme la oportunidad de seguir aprendiendo de él, porque en todo momento me ha brindado su apoyo, su valioso conocimiento y sobre todo el tiempo que ha dedicado durante este proyecto. Gracia por toda la confianza que ha depositado en mí.

Al **Dr. J. Sergio Sandoval Islas** y la **Dra. Olga Gómez Rodríguez**, miembros de mi consejo particular, por todo su tiempo invertido en mí, los consejos, sugerencias y observaciones, así como su participación en las diferentes etapas de este proyecto.

Al **Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir**, por brindarme su apoyo en todo momento desde que lo conozco, sus consejos y enseñanzas han contribuido a mi formación profesional.

A la **Dra. Ma. Florencia Rodríguez García**, por su apoyo y todas las facilidades prestadas dentro del **Laboratorio Nacional de Royas y otras Enfermedades de Cereales (LANAREC)**, sus consejos, disposición y tiempo invertido durante la realización de la fase experimental de este proyecto.

Al **Dr. René, Don Chepe, Gigo, Ericka y Alan**, trabajadores del **programa de trigo y avena del CEVAMEX-INIFAP**, por todo su apoyo en la fase experimental de campo.

En general a todos los profesores que compartieron su valioso conocimiento conmigo durante mi paso por el posgrado, sus consejos me permitieron ver una nueva perspectiva y me ayudaron a crecer profesionalmente y como persona.

A mi familia, que me ha apoyado incondicionalmente todo este tiempo, por todos los sacrificios y todo el tiempo que me han dedicado.

DEDICATORIA

A mi Rufis

Quien me vio iniciar, pero desafortunadamente, ya no pudo verme concluir este proyecto.
Porque siempre viste por nuestro bienestar, por tanto cariño y amor.
Seguimos aprendiendo a estar sin ti mi Rufis.

A Evita, mi madre

A quien he visto siempre buscar lo mejor para mi hermana y para mí.
Quien se ha privado de algunas cosas con tal de darnos todo a nosotras.
Por siempre estar para mí, por siempre confiar en mí. Má, te amo.

A May mi hermana y Mario mi padre

Quienes siempre han estado ahí para apoyarme.
Me han tendido la mano en más de una ocasión.
Familia quizá no lo digo muy seguido, pero los amo

A la familia Flores

Mi abuelito Victor, tíos Lili, Benja, Robert, mis primos Andrés, Anita y Carlos
Quien de alguna u otra forma siempre estamos pendientes unos de los otros.
Que, a la ausencia de nuestra Rufis, nos hicimos más fuertes y unidos.

A la familia que elegí

Mis gorditas Mich y Titina, con quiénes he vivido tantas aventuras y desventuras.
Quienes me han tendido su mano infinitas veces y que se han convertido en personas muy
importantes en mi vida.
Compartir el campo con ustedes fue, y sigue siendo, lo mejor que me ha pasado.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVO.....	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen e importancia del trigo.....	4
Royas del trigo.....	5
Importancia de la roya amarilla en México y a nivel mundial	5
Resistencia genética.....	8
Genes que confieren resistencia a roya amarilla en trigos	10
Origen de PI250413 Y C591	11
CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA (<i>Puccinia striiformis</i> f. sp <i>tritici</i>) EN LOS PROGENITORES DE TRIGO PI20413 Y C591	12
1.1 RESUMEN	12
1.2 ABSTRACT	13
1.3 INTRODUCCIÓN.....	14
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Material genético	16
Obtención de las generaciones F ₁ , F ₂ y familias F ₃ , F ₄ y F ₅	16
Evaluación y clasificación de familias F ₄ en plántula	16
Análisis de datos y pruebas estadísticas en plántula.....	17

Evaluación y clasificación de familias F ₃ , F ₄ y F ₅ en planta adulta en el campo	17
Análisis estadístico	18
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
1.6 CONCLUSIONES	26
1.7 LITERATURA CITADA	26
DISCUSION GENERAL	29
CONCLUSIONES GENERALES	31
LITERATURA CITADA	32

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Frecuencias observadas y esperadas de las familias F3 de las cruzas entre el progenitor susceptible y el progenitor resistente durante el ciclo PV-2019. 20
- Cuadro 2.** Distribución y frecuencias observadas y esperadas en familias F4 en planta adulta de la craza de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’ sembradas en Nanacamilpa, Tlaxcala. 21
- Cuadro 3.** Distribución y frecuencias observadas y esperadas en familias F5 en planta adulta de la craza de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’ sembradas en Chapingo CEVAMEX-INIFAP. 22
- Cuadro 4.** Distribución y frecuencias observadas y esperadas de familias F4 en plántula de la craza de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’, frente a la raza MEX14.191 de roya amarilla bajo condiciones controladas. 23
- Cuadro 5.** Resultados de los marcadores en los progenitores y los testigos Sujata.y RL607. 25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo biológico de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (Huerta-Espino *et al.*, 2014). 6
- Figura 2.** Lamina foliar de trigo con signos de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. 7
- Figura 3.** Frecuencia de las familias F3 de las familias procedentes de la cruza ‘Apav’ x ‘PI250413’, de acuerdo con la clasificación de cada grupo con base en la respuesta a la infección de roya amarilla (Singh y Rajaram 1994). 20

INTRODUCCIÓN GENERAL

La producción y la demanda de los principales productos básicos agrícolas registran un crecimiento medio de alrededor de 1.6 % anual, o sea un 0.3 % por habitante. Se estima que 80 millones de agricultores en el mundo en desarrollo dependen de la producción de trigo para obtener su sustento y generar ingresos. En México, el trigo destaca como el segundo cereal en importancia en cuanto a superficie sembrada. En promedio, entre 2008 y 2013 se sembraron 733 mil hectáreas (FIRA, 2014). Se prevé que para el 2050, la demanda de trigo aumentará un 70% debido al crecimiento de la población y los cambios en sus hábitos alimentarios; los problemas que afectan la producción de este cereal son graves y van en aumento (FAO, 2004). Dentro de los riesgos que enfrenta el trigo están los provocados por la escasez de agua, la limitada extensión de tierra cultivable y las inestables condiciones meteorológicas originadas por el cambio climático y, por otro lado, plagas y enfermedades más virulentas. Un ejemplo de estas últimas son las royas, enfermedades causadas por hongos del género *Puccinia* (Fetch *et al.*, 2011). Estas enfermedades se encuentran ampliamente distribuidas al rededor del mundo y son un factor importante en la merma de la producción en trigo.

Haciendo énfasis sobre *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, es la enfermedad más limitante en las regiones de producción de trigo con climas húmedos y fríos (Chen *et al.*, 2014; Wellings, 2011), como algunas regiones de temporal en los Valles Centrales de México. Sin embargo, Hovmøller *et al.* (2011) refirió que desde el año 2000 las epidemias de esta enfermedad se presentaron en regiones con climas más cálidos, con temperaturas que oscilan entre los 12 y 28°C, esto se debió a la tolerancia del patógeno a temperaturas más altas y a la capacidad de este de esporular en periodos más cortos de tiempo. Aunado a esto, *P. striiformis* ha desarrollado nuevas formas de virulencias capaces de vencer la resistencia de variedades, que a su momento de liberación eran resistentes lo cual representa un reto importante en el manejo de la enfermedad.

La producción nacional de trigo en México históricamente se ha basado en el control genético contra *P. striiformis* (Hortelano *et al.*, 2016), principalmente porqué representa el control más económico y ambientalmente seguro. De tal forma que a través de la liberación de variedades ha sido posible minimizar los daños ocasionados por las enfermedades para lograr una mayor

productividad y hacer mejor uso de los insumos. Los retos del mejoramiento genético se vislumbran más adversos, la alta variación genética y la rápida tasa de selección de nuevas razas virulentas han presionado a los mejoradores a buscar estrategias que permitan obtener variedades de trigo resistentes, basadas en la combinación de varios genes de resistencia específica y de raza no-específica para aumentar la durabilidad de la resistencia (Maccaferri *et al.*, 2015).

Cuando aparecen nuevas razas y las variedades presentan un único gen de resistencia específico para la raza, éstas se ven rebasadas por las nuevas razas dando paso a que dichas variedades, se vuelvan susceptibles años después de haber sido cultivadas comercialmente (Wellings y McIntosh, 1990). La resistencia del trigo a *P. striiformis* está determinada por una interrelación gen por gen, la cual implica que por cada gen de resistencia en el hospedante existe un gen de avirulencia en el patógeno (Huerta-Espino *et al.*, 2002). Singh *et al.* (2000; 2011), mencionan que una opción para lograr a futuro variedades con resistencia durable es el conjunto de 4 a 5 genes de efectos menores de acción genética aditiva o de raza no específica, que permitan reducir el progreso de la enfermedad a niveles bajos con porcentajes mínimos de severidad (entre el 5 al 10% en hoja bandera).

A inicios del siglo XX se realizaban los primeros estudios relacionados con la herencia de la resistencia, Biffen en 1905, describió la herencia mendeliana de la resistencia en variedades de trigo y su progenie. Una década después Stakman reportaba la existencia de diferentes razas fisiológicas morfológicamente iguales pero cuya capacidad de infectar a distintas variedades de un mismo hospedante era diferencial, esto permitió explicar por qué unas variedades eran susceptibles en algunas regiones geográficas y en otras no, porque la resistencia se perdía con el paso del tiempo (Agrios, 2005). No fue hasta mediados de siglo XX, gracias a los estudios realizados por Flor y Vanderplank, que se comprendió mejor la resistencia genética a enfermedades por parte de las plantas (Blanco, 2017).

Desde los años 40's en que se introdujo el mejoramiento genético en México, este ha mostrado ser el método de control más rentable, instituciones como el INIFAP y CIMMYT han intensificado esfuerzos que han dado como resultado la producción de numerosas variedades de trigo resistentes a royas de alto rendimiento y alta calidad (Hortelano *et al.* 2016). El constante estudio sobre el número de genes que condicionan y el tipo de herencia permite hacer un uso más eficiente de la fuente de resistencia del germoplasma del trigo,

dando como resultado la obtención de variedades capaces de resistir ante la presencia de un patógeno. Diversos estudios sobre el control genético de roya amarilla han permitido la postulación de genes de resistencia en planta adulta, en roya amarilla se ha encontrado resistencia en planta adulta gracias a los genes *Yr18* (Singh y Rajaram, 1995), *Yr28* (Singh *et al.*, 2000) y *Yr29* (William *et al.*, 2003).

Conforme al marco anteriormente descrito, sobre el impacto de *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* sobre la producción del trigo, la presente investigación se sustenta bajo el siguiente objetivo:

Objetivo

- Determinar la herencia de la resistencia en las progenies de las cruzas APAV/PI250413 y PI250413/C591 a *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* en plántula y planta adulta

Hipótesis

Los progenitores PI250413 y C591 poseen genes en común que les confieren resistencia a *P. striiformis* f. sp. *tritici*, y se heredan de forma mendeliana. Dichos genes de resistencia confieren casi inmunidad a la roya amarilla en trigo harinero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen e importancia del trigo

La FAO predijo en 2009 que para 2050, la población mundial aumentará en aproximadamente 2.3 millones de personas, lo que supondrá un gran reto para la agricultura porque la producción debe incrementarse para satisfacer la demanda. En la producción mundial, los cereales han sido el alimento más importante en la dieta de las personas. Desde la antigüedad, varias culturas se han basado en los cereales. Maíz en América Central y del Sur, sorgo en África y Asia, arroz en Oriente Medio y trigo, centeno y cebada en Europa.

El trigo es un cultivo que se originó en la civilización mesopotámica, entre el Tigris y el Éufrates en el Medio Oriente. Bonjean y Angus (2001), informaron que hace unos ocho mil años, los cruces y mutaciones entre el trigo silvestre produjeron una planta con tres o más conjuntos de cromosomas. El origen de esta planta tiene los componentes genéticos necesarios para comenzar a cultivar granos, por lo que se ha convertido en uno de los alimentos básicos de la humanidad (Ruiz, 1981).

En la actualidad la demanda a nivel mundial de este cereal ha ido en aumento no solo por el consumo per cápita sino por su uso industrial y el consumo forrajero. En el ciclo económico de 2017-2018, se informó que la producción mundial alcanzó un récord de 763.2 millones de toneladas con un rendimiento de 3.47 toneladas por hectárea. A nivel mundial, los cinco principales países productores de trigo: la Unión Europea, China, India, Rusia y los Estados Unidos representan el 67.7% de la producción total, con un rendimiento promedio de 4 a 5.5 toneladas por hectárea, mientras que la posición de 0.5 de México lo ubica en el vigésimo primer lugar. A nivel nacional, el trigo ocupa el séptimo lugar en el área sembrada, solo superado por los granos de maíz, pastos y pastizales, frijoles, sorgo, caña de azúcar y café. Con 13 289 millones de pesos, ocupa el décimo lugar en el valor de la producción agrícola total del país. Las exportaciones mexicanas de trigo duro se dirigen principalmente a Venezuela, Argelia y Suiza, mientras que las importaciones de trigo harinero son de Estados Unidos, Rusia, Canadá y Ucrania.

El Servicio de Información Agrícola, Alimentaria y Pesquera (SIAP) reportó que en el ciclo otoño-invierno 2017/18 se sembraron 467 319 hectáreas a nivel nacional. En este ciclo agrícola, el consumo alcanzó un máximo histórico de 7.47 millones de toneladas, de las cuales

el 84.3 por ciento correspondió a trigo harinero y el 15.7 por ciento a trigo cristalino (FIRA, 2019). El trigo harinero o panificable (*Triticum aestivum* L.) tiene una mayor superficie y rendimiento. Las principales áreas de producción de temporal están ubicadas en los valles altos de México, incluyendo Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y México (Villaseñor y Espitia., 2000). La Agencia de Servicios de Desarrollo y Comercialización Agropecuaria (ASERCA) con base en la información del Registro del Programa de Promoción Agropecuaria, señaló que un total de 42 957 productores en el país se dedican al cultivo de trigo, representando así, gran parte de la economía mexicana no solo por sus ventas en el mercado, sino por la creación de fuentes de empleo para la comercialización, distribución e industrialización.

Royas del trigo

Dado que este cultivo es de gran importancia para nuestro país, es necesario prestar atención a todos los posibles riesgos que pudieran mermar la producción. Los problemas que enfrenta el trigo incluyen escasez de agua, condiciones climáticas inestables provocadas por el cambio climático y el impacto de plagas y enfermedades. Un ejemplo de esto último son las royas, enfermedades causadas por hongos del género *Puccinia*. Singh *et al.* (2000), mencionaron que estas enfermedades han causado pérdidas considerables en todo el mundo durante cientos de años y están ampliamente distribuidas en México. Las condiciones climáticas en nuestro país permiten el desarrollo de las tres especies de hongo que causan las royas: la roya del tallo o roya negra, causada por el hongo *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, roya de la hoja o roya café por *Puccinia triticina* y la roya lineal o amarilla causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (Huerta-Espino *et al.*, 2014). Estas enfermedades ocasionan bajo peso hectolítrico, traducido en una mala calidad del grano.

Importancia de la roya amarilla en México y a nivel mundial

El patógeno que causa la roya amarilla fue descrito por primera vez por Eriksson y Henning, con el paso del tiempo se ha extendido a las áreas templadas de cultivo de trigo (Ali *et al.*, 2014; Chen, 2005). Kolmer (2005) refirió que la gran capacidad de diseminación a larga distancia se debe a su capacidad de causar infecciones continuas de una zona a otra, y su particularidad como enfermedad policíclica (Figura 1). Así mismo, posee gran variabilidad y diversidad genética, plasticidad para generar razas virulentas y una adaptación a diferentes ambientes agroecológicos.

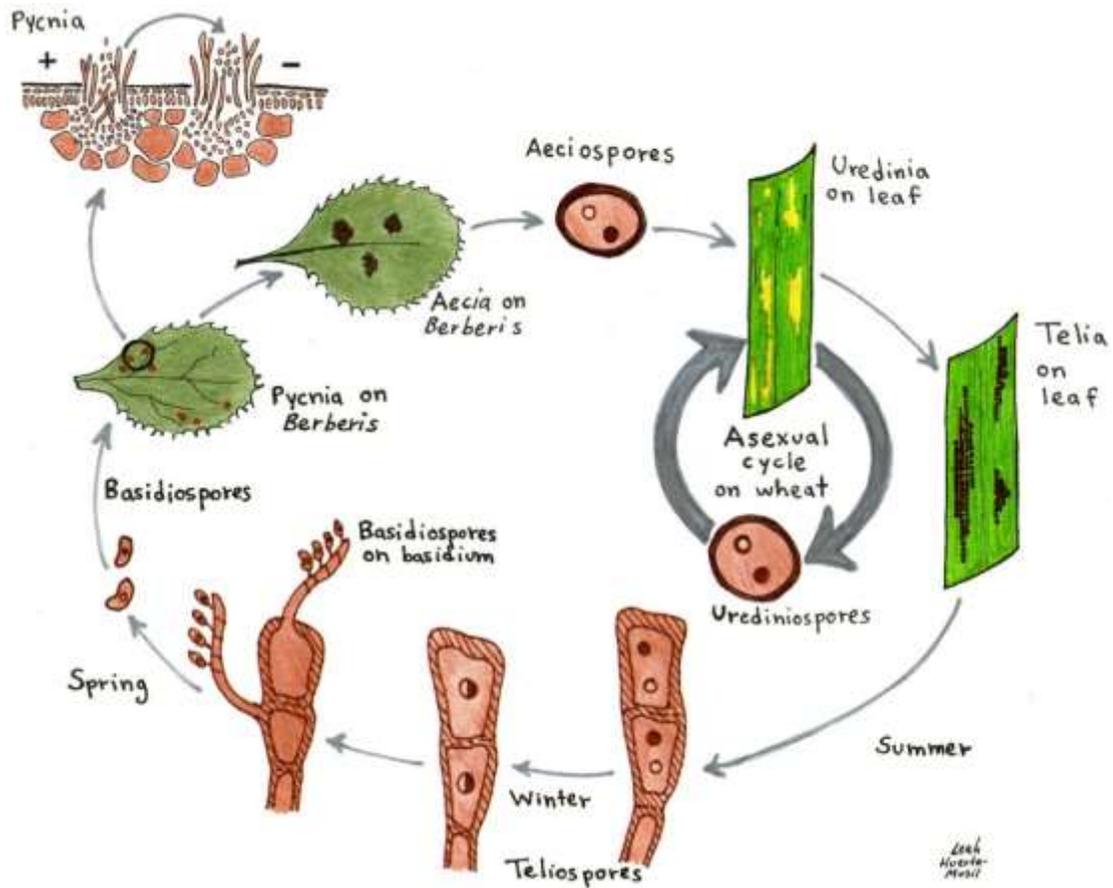


Figura 1. Ciclo biológico de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (Huerta-Espino *et al.*, 2014)

A pesar de la capacidad de adaptarse al cambio climático, cuando se dan las siguientes condiciones óptimas: temperatura de 15 a 20 ° C y una humedad superior al 70%, los daños pueden llegar a disminuir en un 100% el rendimiento en variedades susceptibles (Chen, 2005; Lan *et al.*, 2017). Esta enfermedad se desarrolla a lo largo de la lámina foliar (Figura 2) y cuando la infección es muy severa, se pueden observar los signos en las espigas. Las lesiones se desarrollan en forma de líneas amarillas, las cuales crecen siguiendo los haces vasculares dando la impresión de formar líneas lo que en realidad son una serie de uredinias dispuestas en una fila hasta invadir finalmente toda la lámina de la hoja.



Figura 2.- Lámina foliar de trigo con signos de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*

Sobre la importancia de la gran variabilidad y diversidad genética que tiene este patógeno, Chen (2005), mencionaba la existencia de 109 razas encontradas solamente en Estados Unidos, hasta la fecha de la publicación, así como la existencia de 78 genes de virulencia distintos con la facultad de infectar variedades de trigo. Posteriormente, Sørensen *et al.* (2014), referían la existencia de 89 genes de resistencia en trigo, que serían equivalentes a otros tantos genes de virulencia del patógeno. Existen suficientes pruebas para apuntar que el incremento en la agresividad de las nuevas poblaciones de *P. striiformis* a partir del 2000, se debió en gran parte a su adaptación a condiciones más cálidas (Milus *et al.*, 2009).

En las últimas dos décadas se han producido epidemias muy importantes de roya amarilla en todo el mundo. Tan sólo en el oeste y centro de Europa, los cambios en la dinámica poblacional del hongo provocaron una variación en las proporciones relativas de los genes de virulencia, haciendo que gran parte de las variedades cultivadas perdieran su resistencia. En el 2000 se describieron dos nuevas razas en Estados Unidos, Australia, Europa, zona este de África y zonas centrales y oeste de Asia, que manifestaron una mayor agresividad, aumentando así, la severidad de las epidemias incluso en zonas más cálidas y no comunes para este patógeno (Hovmøller *et al.*, 2008). Una de las razas fue Warrior/Ambition, la cual se extendió a lo largo del continente europeo. Por otro lado, China, ha sido señalada como la región con mayores epidemias de roya amarilla en el mundo, causando grandes pérdidas económicas cuando la enfermedad es grave (Wan *et al.*, 2007). Tan sólo en 2002, la epidemia causada por la nueva raza PST CYR32 dio lugar a pérdidas de 1.31 millones de toneladas en rendimientos (Wan *et al.* 2004).

En nuestro país la situación no difiere, año con año se identifican nuevas razas fisiológicas. En el 2000, Huerta-Espino y Singh reportaron la presencia de la raza MEX96.11 en zonas de trigo de temporal y el Bajío. Dicha raza se caracterizó por su virulencia para los genes *Yr2*, *3*, *6*, *7*, *9*, *Sk (27)* y *A*. Por otro lado, estos mismos autores mencionan la importancia de tres razas en las áreas de temporal, una venciendo la resistencia de Temporalera M87, Gálvez M87 y Verano S91; la segunda de Batán F96 y de variedades que posean el gen *Yr9*; y la tercera diferencia plantas resistentes y susceptibles en la variedad de triticale Secano TCL96 (Huerta-Espino y Singh, 2000).

En el verano del 2002, se tenían variedades desarrolladas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) para siembras de temporal, con resistencia a la roya lineal, para el verano del siguiente año se observó una nueva raza: MEX03.37 (219MEX0), caracterizada por infectar la espiga de las diversas variedades que se habían desarrollado (Rodríguez *et al.*, 2008). Rodríguez *et al.* (2004) cuantifican las pérdidas de rendimiento causadas por la raza MEX96.11 y concluyeron que dichas pérdidas están en función del grado de tolerancia y/o resistencia a la enfermedad; en variedades susceptibles las pérdidas en el rendimiento fueron hasta 75%, en las moderadamente susceptibles del 30% y en variedades resistentes del 4%.

Se han identificado más de 18 razas fisiológicas que infectan tanto a variedades de temporal como de riego, aunque en la actualidad sólo prevalecen nueve con mayor frecuencia, provocando además de pérdidas importantes en el rendimiento, al aumento de los costos de producción que provoca el uso de químicos para su manejo (Rodríguez *et al.*, 2011).

Resistencia genética

El mejoramiento genético para lograr resistencia a la roya amarilla ha sido el método más eficiente en su control no sólo en cuestiones económicas sino porque resulta ser ambientalmente más seguro. Genes de resistencia efectivos reportados en Europa para 2010-2011 han resultado ser ineficaces para las nuevas razas. Se estima que estas nuevas razas de *P. striiformis* f. sp. *tritici* son originarias de la región del Himalaya, y que probablemente se han diseminado a largas distancias a través del viento (Carmona y Sautua, 2018).

Los genes que confieren resistencia a royas en trigo están clasificados en tres categorías: 1) los que confieren resistencia en todas las etapas de crecimiento, la cual se va manifestar desde

plántula y se mantiene durante todo el ciclo de crecimiento en ausencia de virulencia; 2) los genes que sólo confieren resistencia en planta adulta (RPA: Resistencia de Planta Adulta), cuya resistencia se hace más efectiva en la hoja bandera, que son de raza-específica, y 3) los genes que confieren resistencia parcial, a menudo como resistencia de campo y son de efecto parcial (Rodríguez. *et al.*, 2019).

Los genes con efectos mayores que confieren resistencia desde el estado plántula, se heredan como un carácter cualitativo y resulta específica a las diferentes razas del patógeno, sin embargo, este tipo de resistencia es poco durable. Por otro lado, los genes que proporcionan resistencia en planta adulta son tanto de raza específica como de raza no específica (Johnson, 1981); de tal forma que los efectos individuales son menores, con la preeminencia de que cuando se conjuntan tres o más, estos genes suman sus efectos y se heredan como si fuera un carácter cuantitativo.

Al recombinar una variedad susceptible por una resistente es posible determinar el tipo de acción génica que se presenta, ya que se puede observar si los genes actúan en forma dominante o en forma recesiva (Huerta-Espino *et al.*, 2012). Villaseñor-Espín *et al.* (2009), mencionan que una alternativa para obtener mayor durabilidad de la resistencia es mediante la generación de variedades que posean genes que confieren resistencia de enroscamiento lento. 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, donde sólo se puedan observar porcentajes mínimos de severidad (Singh *et al.*, 2000; 2011).

Infecciones de roya amarilla con una baja severidad comúnmente se asocia a una reducción del tipo de infección, sin embargo, Singh *et al.* (2001) observaron que en el caso de cultivares con resistencia potencialmente durable y de enroscamiento lento, la primera lesión o estría que se manifiesta es moderadamente susceptible o susceptible.

El desarrollo y liberación de variedades con resistencia de enroscamiento lento permiten a los mejoradores un control eficaz de la enfermedad a largo plazo, permitiendo así aumentar potencialmente el rendimiento y las características agronómicas del grano. El retrocruzamiento combinado con un esquema de selección de plantas resistentes y cosechadas en masa, permiten la incorporación de genes que condicionan resistencia de enroscamiento lento en variedades con amplia adaptación (Singh *et al.*, 2004).

Genes que confieren resistencia a roya amarilla en trigos

Liu *et al.* (2020) mencionan la existencia de 82 genes con nombre oficial y 67 designados provisionalmente como *Yr* (roya amarilla), así como la existencia de más de 300 loci de rasgos cuantitativos (QTL) para la resistencia a la roya amarilla. Entre los genes formalmente designados para la resistencia de la roya (*Yr*) se encuentran: *Yr1, Yr2, Yr3, Yr3-a, Yr3-b, Yr3-c, Yr4, Yr4-a, Yr4-b, Yr5a, Yr5b, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr10, Yr11, Yr12, Yr13, Yr14, Yr15, Yr16, Yr17, Yr18, Yr19, Yr20, Yr21, Yr22, Yr23, Yr24, Yr25, Yr26, Yr27, Yr28, Yr29, Yr30, Yr31, Yr32, Yr33, Yr34, Yr35, Yr36, Yr37, Yr38, Yr39, Yr40, Yr41, Yr42, Yr43, Yr44, Yr45, Yr46, Yr47, Yr48, Yr49, Yr50, Yr51, Yr52, Yr53, Yr54, Yr55, Yr56, Yr57, Yr58, Yr59, Yr60, Yr61, Yr62, Yr63, Yr64, Yr65, Yr67, Yr68, Yr69, Yr70, Yr71, Yr72, Yr73, Yr74, Yr75, Yr76, Yr77, Yr78, Yr79, Yr80, Yr81, Yr82 y Yr83* (Feng *et al.*, 2018; Gessese *et al.*, 2019; Jamil S. *et al.*, 2020; Wang y Chen, 2017).

La resistencia específica, también llamada de plántula (ASR), suele conferir un alto nivel de resistencia contra determinadas razas de la roya a lo largo de todas las etapas de crecimiento, pero a menudo es superada por las razas virulentas al cabo de unos años (Chen, 2013). La resistencia no específica o de planta adulta (APR) suele ser duradera (Chen, 2005), pero el nivel de resistencia puede no ser adecuado en ciertas condiciones. El combinar genes ASR y APR resulta ser la mejor estrategia para lograr una resistencia de alto nivel y duradera (Liu *et al.*, 2018).

Existen genes de resistencia en planta adulta también conocidos como “slow rusting” y con un efecto pleiotrópico, es decir, que confieren resistencia a más de una enfermedad, tales como; roya del tallo, roya de la hoja, roya amarilla y cenicienta polvorienta. Dentro de los genes pleiotrópicos están los denominados *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Ltn1, Lr46/Yr29/Sr58/Pm39/Ltn2* (Singh *et al.*, 2012:2013) y *Lr67/Yr46/Sr55Pm389/Ltn3* (Herrera-Fossel *et al.*, 2014).

Origen de PI250413 Y C591

PI250413 es un trigo común originalmente recolectado en Pakistán. En 1979, los autores Dyck P. L. y Samborski D. J. informaban sobre un gen adicional que confiere resistencia a varios aislamientos de roya de la hoja en la etapa de planta adulta de PI250413. El gen de resistencia identificado fue *Lr67* (Herrera-Foessel *et al.*, 2011). Moore *et al.* (2015), concluyeron que tanto *Lr67* como *Yr46* son el mismo gen solo después de haber clonado *Lr67*.

El cultivar de trigo C591 tiene su origen lo que ahora es Pakistán, está reportada su resistencia tanto en plántula como en planta adulta a las razas de roya amarilla predominantes en China (Li *et al.*, 2009). Se postuló la presencia de *Yr67* como el gen que confiere la resistencia a roya amarilla recientemente en la variedad C591 (muy probablemente el mismo que *YrC591* basado en el origen de la resistencia y la posición cromosómica (Xu *et al.*, 2014), sin embargo, no se ha determinado la presencia de *Lr67/Yr46* en C591.

CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A ROYA AMARILLA (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) EN LOS PROGENITORES DE TRIGO PI20413 Y C591

1.1 RESUMEN

Puccinia striiformis f. sp. *tritici*, agente causal de la roya amarilla del trigo, es un patógeno que en los últimos años ha adquirido gran importancia a nivel mundial. El uso del mejoramiento genético para lograr resistencia genética a este patógeno representa el control más eficaz y rentable. La liberación de variedades resistentes ha permitido minimizar los daños ocasionados por enfermedades, mayor productividad y un mejor uso de los insumos. La alta variación genética y la rápida tasa de selección de nuevas razas fisiológicas virulentas se han convertido en un reto para los mejoradores. El objetivo del presente estudio fue determinar la herencia de la resistencia y estimar el número de genes que condicionan dicha resistencia a roya amarilla en los genotipos de trigo harinero ‘PI250413’ y ‘C591’, mediante el análisis de las progenies F₃, F₄ y F₅ provenientes de las cruzas ‘Apav’ x ‘PI250413’, en respuesta a la infección en contra de la raza MEX14.191 de roya amarilla *P. striiformis*. El número de genes se estimó mediante pruebas de X^2 . Las distribuciones observadas de la F₃ señalaron que se ajustan a la segregación de tres genes. Las distribuciones de la F₄ y la F₅ se ajustaron a la segregación de dos genes. Las frecuencias de las distribuciones observadas de la F₄ en plántula se ajustaron a la segregación de un gen. Los resultados indican que tanto PI250413 y C591 comparten el mismo gen de resistencia en plántula. El análisis molecular confirmó la presencia de *Yr47* y *Yr67* en los progenitores PI250413 y C591. Los resultados del presente estudio indican que la combinación *Yr46/Yr67* es efectiva tanto en plántula como en planta adulta, y disminuye considerablemente los niveles de infección a casi inmunidad por lo menos en PI250413 y C591.

Palabras clave: *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, resistencia genética, raza fisiológica y segregación.

GENETICS OF YELLOW RUST (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) RESISTANCE IN WHEAT PROGENITORS PI20413 AND C591.

1.2 ABSTRACT

Puccinia striiformis f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat stripe rust, is a pathogen that in recent years has acquired great importance worldwide. The use of genetic improvement to achieve genetic resistance to this pathogen represents the most efficient and economical control. The liberation of resistant varieties has made it possible to minimize the damage caused by diseases, increase productivity and make better use of resources. The high genetic variation and the rapid variation in the rate of selection of new virulent races have become a challenge for breeders. The objective of the present study was to determine the heritability of resistance and to estimate the number of genes conditioning resistance to stripe rust in the bread wheat genotypes 'PI250413' and 'C591' by analyzing F₃, F₄ and F₅ progenies from 'Apav' x 'PI250413' crosses in response to infection with race MEX14.191 of *P. striiformis*. The number of genes was estimated by X² tests. The observed distributions of F₃ indicated that they conform to segregation of three genes. The distributions of F₄ and F₅ conformed to the segregation of two genes. The frequencies of the observed distributions of F₄ in seedling were adjusted to the segregation of one gene. The results indicate that PI250413 and C591 share the same seedling resistance gene. Molecular analysis confirmed the presence of genes *Yr47* and *Yr67* in PI250413 and C591 parents. The results of the present study indicate that the *Yr46/Yr67* combination is effective in seedling and adult plants and reduces significantly the levels of infection to near immunity at least in PI250413 and C591.

Key words: *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, genetic resistance, physiological race and segregation.

1.3 INTRODUCCIÓN

El cultivo del trigo en México ocupa el segundo lugar en importancia solo después del Maíz. En 2017 el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), reportó una producción de 3 millones 236 mil toneladas con un rendimiento de 5,300 kg/ha. Con el incremento de la producción de trigo en México se vuelve un reto para los productores, el disminuir o controlar los factores que merman la producción del cultivo. *Puccinia striiformis* agente causal de la roya amarilla del trigo, por ejemplo, es un patógeno obligado que posee una alta variación genética para virulencia, debido a mutaciones y recombinación genética (Singh *et al.*, 2011). El mejoramiento genético sigue siendo la forma más eficiente y ambientalmente más segura para el control de las royas o enfermedades causadas por el hongo del género *Puccinia* (Huerta-Espino *et al.*, 2020).

El conocimiento basado en las leyes genéticas de la herencia y el descubrimiento de que la resistencia a royas es un carácter de herencia simple, dieron lugar a considerables investigaciones sobre la herencia de la resistencia a roya amarilla, principalmente para identificar genes mayores (Villaseñor-Espín *et al.*, 2009). Singh *et al.* (2000; 2011), mencionan que para alcanzar una resistencia durable a la roya es esencial conjuntar de cuatro a cinco genes de efectos menores con acción génica aditiva, y así obtener una resistencia cercana a la inmunidad.

Con *P. striiformis* se vuelve necesario estar un paso adelante, puesto que la resistencia de las variedades que se liberan comercialmente perdura poco tiempo y al cabo de 3 a 5 años se vuelven susceptibles por la evolución del patógeno en nuevas formas de virulencia. De tal forma que, buscar alternativas en el manejo y fuentes de resistencia para recombinar diferentes genes nos permite alcanzar una resistencia más estable en los diferentes ambientes.

Los estudios genéticos permiten identificar genes y el tipo de resistencia que estos generan, lo que resulta en una herramienta valiosa para tomar decisiones, por ejemplo, sobre el tipo de resistencia más conveniente a utilizar, es decir resistencia de plántula o resistencia de planta adulta (APR), siendo ésta última la que se considera como la más efectiva y conveniente dentro del control genético ya que se establece una relación de convivencia entre la especie hospedante y el patógeno, presumiblemente de tipo durable (Huerta-Espino *et al.*, 2010). Sin embargo, y en ciertos ambientes de producción la combinación de ambos tipos de resistencia resulta la mejor opción.

El gen de resistencia que ahora se conoce como *Lr67* fue identificado por primera vez en un trigo proveniente de Pakistán identificado como PI250413 y transferido a Thatcher para producir la línea RL6077 (Thatcher*6/PI250413) (Dyck y Samborski 1979). Hiebert *et al.* (2010) mapeó *Lr67* de RL6077 en el brazo largo del cromosoma 4D. Sin embargo, este gen de resistencia ha estado presente en cultivares liberados desde la década de los 50's (Huerta-Espino *et al.*, 2020). Así, *Lr67* se puede encontrar en las variedades de trigo como Sujata (Lan *et al.* 2015) y New Pusa 876 (Ponce-Molina *et al.* 2018). *Lr67* también se ha reportado en las variedades mexicanas Yaqui 48, Yaqui 50, Yaqui 53, Chapingo 48, Chapingo 53 y Mayo 54 entre otras (Moore *et al.*, 2015; Huerta-Espino *et al.*, 2020). Pero en ninguna de estas variedades a la fecha se ha indicado la presencia de *Yr67*. Se ha determinado que existe una asociación o un efecto pleiotrópico entre *Lr67* con *Yr46* (Herrera-Foessel *et al.*, 2011), llegándose a determinar que tanto *Lr67* como *Yr46* son el mismo gen solo después de haber clonado *Lr67* (Moore *et al.*, 2015). *Yr67* por otra parte es un gen de resistencia a roya amarilla efectivo en todas las etapas de desarrollo de la planta; se localiza en el cromosoma 7BL y se ha identificado primeramente en la variedad C591 y a la fecha no se ha reportado su presencia en ninguna otra variedad de trigo.

PI250413 que es uno de los progenitores de RL6077 que confiere resistencia a la roya de la hoja por el gen *Lr67* un gen de resistencia de raza no específica y más efectivo en planta adulta a roya de la hoja y *Sr55* que confiere resistencia a la roya del tallo (Herrera-Foessel *et al.*, 2014). RL6077 es susceptible en plántula a roya amarilla (Herrera *et al.*, 2011), pero PI250413 el progenitor que le confiere resistencia en planta adulta a RL6077 es resistente en estado de plántula. Sin embargo, en el caso de roya del tallo PI250413 es susceptible en plántula (Spielmeyer *et al.*, 2013). La resistencia en PI250413 a la roya amarilla en plántula, no ha sido reportada a la fecha y aparentemente es una resistencia efectiva en todas las etapas de crecimiento de la planta. C591 es una variedad de trigo harinero liberada en Pakistán en 1934 y es producto de la cruce de dos trigos criollos denominados T9 y 8B. T9 fue producto de una colecta hecha en 1911 (CIMMYT, 1989). Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la herencia de la resistencia a *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* en las progenies de las cruces APAV/PI250413 y PI250413/C591.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Se utilizaron los genotipos de trigo harinero resistentes a la roya amarilla: PI250413 y C591. Como progenitor susceptible, se utilizó APAV, línea proveniente de la cruce de Avocet-YrA/Pavon76 (Herrera-Foessel *et al.*, 2012).

Obtención de las generaciones F₁, F₂ y familias F₃, F₄ y F₅

Se realizaron las cruces entre el progenitor susceptible APAV y el resistente PI250413 para obtener la cruce APAV/PI250413 y los progenitores resistentes PI250413/C591 mediante el método emasculación-polinización manual simple (Mellado, 2007). Se obtuvo la primera generación filial, la cual se sembró para avanzar a la generación F₂. En un lote experimental ubicado en Chapingo, México, en el ciclo primavera-verano 2019 se sembraron las poblaciones F₂ para la obtención de las familias F₃. Se seleccionaron plantas individuales y se obtuvo un total de 182 familias de la cruce APAV/PI250413 y 134 de la cruce PI250413/C591.

De la cruce APAV/PI250413 sembradas en Chapingo durante el ciclo de cultivo Verano 2019, se seleccionaron 166 familias. Una espiga por familia se sembró en el Campo Experimental de INIFAP Bajío en Roque, Guanajuato, para obtener la F₄. Las parcelas fueron de un suco de 1 m por espiga. Esta se cosechó en masa como F₄ y además se seleccionó una espiga para obtener la F₅. La F₄ se sembró en un lote en Nanacamilpa, Tlaxcala y la F₅ en un lote experimental en el CEVAMEX-INIFAP en Chapingo. Ambos en surcos de un metro y bordes de las variedades Nana y Morocco, esto con la finalidad de propiciar la infección natural por *P. striiformis* en campo.

Evaluación y clasificación de familias F₄ en plántula

Las familias y los progenitores se evaluaron en plántula bajo condiciones de temperatura controladas de invernadero en el Laboratorio Nacional de Royas y otras Enfermedades de Cereales (LANAREC) del INIFAP-CEVAMEX. Las familias de cada cruce se sembraron en charolas de plástico (20 x 30 x 6 cm). A cada charola se realizaron orificios con una plancha de acero. Se sembró en charolas de ocho hileras y seis columnas (9 semillas por familia). Se agregó tierra para tapar las semillas y se dio un riego ligero. Se realizó una fertilización a los

5 días después de la emergencia. Así mismo, se sembró un juego con un set de las líneas diferenciales de roya amarilla con el fin de determinar la pureza de la raza usada en el estudio.

Plántulas de 14 días de edad se inocularon con aspersiones de urediniosporas de la raza de roya amarilla, proporcionada por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, MEX14.191 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1, 5a, 5b, 10, 15, 24, 26, YrPoll/Yr2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015). Para rehabilitar las urediniosporas se dio un tratamiento de rehidratación por 4 h en una cámara húmeda (Mariscal *et al.*, 2009). Posteriormente, se suspendieron en aceite mineral Sotrol@170 a una concentración de 1mg de urediniosporas x 10 ml. Una vez que se inocularon las plántulas se colocaron en cámara de rocío a 7°C, con 3 h de rocío continuo y después de 16 h se trasladaron al invernadero. Cuya temperatura osciló entre los 18 y 20°C.

Análisis de datos y pruebas estadísticas en plántula

Trece días después de la inoculación se evaluaron los tipos de infección de las 166 familias procedentes de la cruce 'Apav' x 'PI250413' y los progenitores. Se clasificaron en tres grupos de acuerdo con la reacción de infección en: resistentes, segregantes y susceptibles (Singh y Rajaram, 1994) y se contrastaron con las frecuencias esperadas y se utiliza la frecuencia de las familias homocigóticas susceptibles para determinar el número de genes de resistencia. Para esto se realizó la prueba de Ji-cuadrada (X^2), el valor de tablas y la significancia fue determinada de acuerdo con la X^2 que se obtuvieron de las proporciones de las familias. Para el valor de tablas se usaron $n-1$ grados de libertad, siendo n el número de grupos de clasificación de familias (Infante-Gil y Zárate de Lara, 1998).

Evaluación y clasificación de familias F₃, F₄ y F₅ en planta adulta en el campo

Generación F₃. La evaluación de las familias F₃ y progenitores se realizó por respuesta a la infección por roya amarilla. Para esto se estableció una epidemia artificial con el fin de asegurar que la infección se estableciera a tiempo. Se utilizó la raza de roya amarilla MEX14.191 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1, 5a, 5b, 10, 15, 24, 26, YrPoll/Yr2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015). Para llevar a cabo la inoculación, las urediosporas se suspendieron en aceite mineral de bajo peso molecular (Sotrol® 170), con ayuda de atomizadores manuales se asperjó directamente la superficie de las hojas de las plantas.

La toma de datos se realizó dos veces, una vez que el progenitor susceptible alcanzó de 80 a 100 % de infección en la hoja bandera, la primera evaluación permitió identificar a las familias homocigóticas susceptibles mientras que con la segunda se corroboraron los datos y observaron las familias homocigóticas resistentes. En las plantas de cada una de las familias se registró el porcentaje de infección por la enfermedad en la hoja bandera. En las familias heterocigóticas identificadas por su segregación, se utilizó la misma escala y se registró el dato promedio de infección. Una vez realizada la toma de datos de las familias F₃ de cada cruce, las familias se clasificaron en cuatro grupos; Grupo 1 conformado por las familias homocigóticas con una respuesta similar a la del progenitor resistente, Grupo 2 por las familias homocigóticas con una respuesta similar a la del progenitor susceptible, Grupo 3 incluye las familias heterocigóticas segregantes, hasta un porcentaje intermedio y finalmente el Grupo 4 que comprende las familias heterocigóticas segregantes en las que se agrupan todas las categorías, de plantas tan resistentes como el progenitor resistente, intermedias y tan susceptibles como el progenitor susceptible (Singh y Rajaram, 1994).

Al evaluar la F₃ de la cruce PI250413/C591 tanto en plántula como en planta adulta no se observó segregación por lo que ya no se avanzó a la siguiente generación. Por lo tanto, solo la F₄ en plántula y la F₄ y F₅ de la cruce APAV/ PI250413 se siguieron evaluado en planta adulta.

Generación F4 y F5. Las familias F4 de la cruce APAV/ PI250413 se evaluaron bajo la incidencia natural de roya amarilla en un lote de Nanacamilpa en Tlaxcala; mientras que en Chapingo se evaluó la F5 mediante el establecimiento de una epidemia artificial con la raza MEX14.191 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1, 5a, 5b, 10, 15, 24, 26, YrPoll/Yr2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 27 y 31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015). Para llevar a cabo la inoculación, las urediniosporas se suspendieron en aceite mineral de bajo peso molecular (Sotrol® 170), con ayuda de atomizadores manuales se asperjo directamente la superficie de las hojas de las plantas. La evaluación y clasificación de las familias se realizó igual que en la generación F₃.

Análisis estadístico

Los datos tomados de las frecuencias observadas tanto en la F₃ como en la F₄ y F₅, se compararon con las esperadas en cada una de las generaciones segregantes mediante la prueba de Ji-cuadrada (X^2), el valor de tablas y la significancia fue determinada de acuerdo

con la X^2 que se obtuvieron de las proporciones de las familias de cada cruce (Infante-Gil y Zárate de Lara, 1998).

La frecuencia de familias susceptibles similares al progenitor susceptible es la que sirve de base para determinar el número de genes de acuerdo con las proporciones esperadas (Villaseñor-Espín et al., 2009).

Análisis molecular de los progenitores.

El análisis molecular se realizó en el laboratorio de Biotecnología del CIMMYT ubicado en El Batán Texcoco, México. Se analizaron los progenitores PI25043, C591 y Apav, y se utilizaron como testigos RL6077 y Sujata. Los cinco genotipos fueron sembrados en charolas de plástico que contenían suelo estéril, 15 días posteriores a la siembra se hizo la extracción de ADN, usando la técnica CTAB siguiendo los protocolos de Dreisigacker *et al.* (2013). La cuantificación y valoración de la calidad del ADN se realizó de acuerdo con los protocolos de laboratorio para trigo descritos por Dreisigacker *et al.* (2016).

La caracterización génica se realizó con los marcadores moleculares tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism) Kukri_c18011_732/IWB41869 y Tdurum_contig28598_245/IWB69562 para detectar la presencia del gen *Yr67* y el marcador TM4 para el gen *Yr46*.

Se incluyeron muestras control VIC y FAM correspondientes a los alelos positivos y negativos. El programa para la PCR (Kompetitive Allele Specific PCR genotyping system-KASPar) se ejecutó con la temperatura de amplificación más favorable de acuerdo con los protocolos del CIMMYT (Dreisigacker et al., 2016). La lectura de las placas del producto de PCR se realizó en lector de placas fluorescentes BMG Pherastar Plus (BMG LABTECH, 30 Ortenberg, Alemania); para la visualización geográfica de datos genotípicos se utilizó el Software KlusterCallerTM.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de genes se estimaron mediante un análisis en el que las frecuencias observadas para cada categoría se contrastaron con las frecuencias esperadas para diferentes números de genes mediante un análisis de Ji-cuadrada (X^2). Los datos obtenidos de las respuestas a la infección a *P. striiformis* en las familias F₃ de cruce del progenitor resistente 'PI250413' por el susceptible 'Apav', señalaron que las distribuciones observadas se ajustan a la segregación

de tres genes (Cuadro 1). La frecuencia de familias F₃ homocigotas similares al progenitor resistente o susceptible fueron en frecuencia muy baja lo que indica que la resistencia fue compleja, condicionada por más de un gen. Singh y Rajaram (1994), indican que la genética de la resistencia cuantitativa puede ser controlada por uno o varios genes, con tipo de acción génica aditiva y parcialmente dominante

Cuadro 1. Frecuencias observadas y esperadas de las familias F₃ de las cruzas entre el progenitor susceptible y el progenitor resistente durante el ciclo PV-2019

Cruza	Grupos de familias						No. De genes	X ²
	Observadas			Esperadas				
	1	3+4	2	1	3+4	2		
APAV/PI250413	1.7	97.2	1.1	6.3	87.5	6.3	2	8.7261
				1.6	96.9	1.6	3	0.1634

X²t=5.9915, gl= 2, α=0.05

En la Figura 3 se muestra la frecuencia de las familias F₃, de acuerdo con la clasificación de cada grupo con base en la respuesta a la infección de roya amarilla.

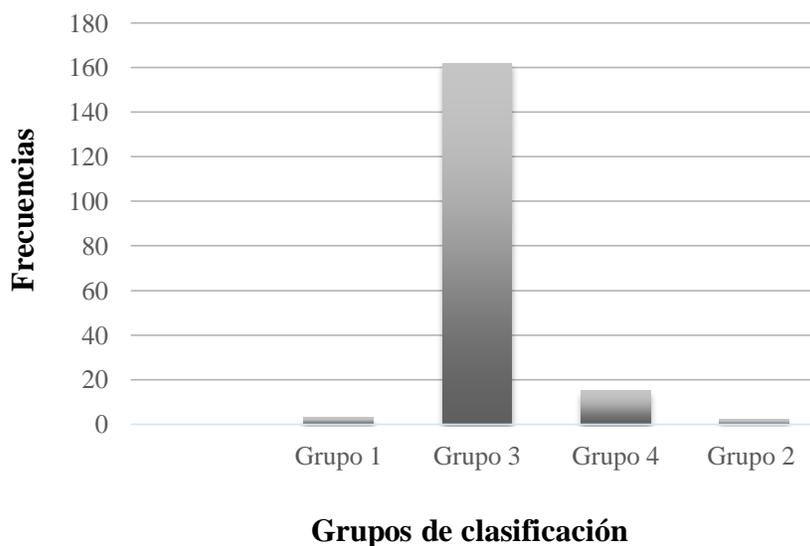


Figura 3. Frecuencia de las familias F₃ de las familias procedentes de la cruza ‘Apav’ x ‘PI250413’, de acuerdo con la clasificación de cada grupo con base en la respuesta a la infección de roya amarilla (Singh y Rajaram 1994).

En algunas de las familias F₃ de la cruce Apav x PI250413, se identificó la presencia de la necrosis de la punta de la hoja (Ltn = *Leaf tip necrosis*), carácter morfológico asociado con los genes de resistencia a roya amarilla *Yr18*, *Yr29* y *Yr46* (Huerta-Espino *et al.*, 2020). PI250413 es el progenitor de RI6077 en el cual se identificó el gen de planta adulta *Lr67/Yr46* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014) por lo que la presencia de Ltn en este caso se puede asociar con la presencia del gen *Lr67/Yr46*.

Así mismo las generaciones F₄, F₅ y sus progenitores evaluadas sobre la respuesta a la infección, se clasificaron en tres categorías fenotípicas siguiendo a Singh y Rajaram (1994): resistente (R), susceptible (S) y líneas segregantes (Seg). En la generación F₄, se observó una proporción 27:115:23; resistentes, segregantes y susceptibles respectivamente. En la F₅ las proporciones resultaron en 39:101:25. Para realizar el análisis de la F₄ (Cuadro 2) se agruparon las familias resistentes y segregantes porque en campo no fue clara la diferenciación de familias segregantes de las familias con un porcentaje de infección intermedia las cuales se compararon con las susceptibles, las distribuciones observadas comparadas con las esperadas se ajustaron a la segregación de dos genes.

Cuadro 2. Distribución y frecuencias observadas y esperadas en familias F₄ en planta adulta de la cruce de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’ sembradas en Nanacamilpa, Tlaxcala

Cruza	Total de familias	Grupos de familias				No. De genes	X ²
		Observadas		Esperadas			
		1+3+4	2	1+3+4	2		
APAV/PI250413	165	142	23	141.79	23.2	2	0.00203516

X²t=3.8415, gl= 1, α=0.05

Por otro lado, el análisis de la F₅ (Cuadro 3) implicó agrupar los grupos segregantes 3 y 4 y se compararon con los resistentes y los susceptibles. Las distribuciones de la F₅ en observadas y esperadas, siguieron ajustándose a la segregación de dos genes.

Cuadro 3. Distribución y frecuencias observadas y esperadas en familias F₅ en planta adulta de la cruda de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’ sembradas en Chapingo CEVAMEX-INIFAP.

Cruza	Total de familias	Grupos de familias						No. De genes	X ²
		Observadas			Esperadas				
		1	3+4	2	1	3+4	2		
APAV/PI25041 3	165	39	101	25	31.58	101.8	31.58	2	3.1207

X²t=5.9915, gl= 2, α=0.05

La presencia de un solo gen de resistencia del tipo permite de una pequeña a moderada reducción en el progreso de la enfermedad, sin embargo, cuando se logra combinar entre cuatro a cinco genes de efecto aditivo se obtienen altos niveles de resistencia. En 2009 Villaseñor-Espín demostró que la disposición de más de tres genes de efecto aditivo en royas es atractiva para los mejoradores.

Genes que confieren resistencia que puede ser expresada desde el estado plántula y durante las siguientes etapas de desarrollo de la planta, es un tipo de resistencia que puede ser heredada como un carácter cualitativo y es específica a las diferentes razas del patógeno. En el Cuadro 4 se muestran las frecuencias de las familias F₄ en estado de plántula cuando se evaluaron en contra de la raza MEX14.191 de roya amarilla bajo condiciones controladas.

Las familias se clasificaron en resistentes, segregantes y susceptibles. En la determinación del número de genes se tomó como referencia el número de familias homocigotas susceptibles (Singh *et al.*, 2001). Las frecuencias observadas en plántulas de familias F₄ fueron 67:50:49, resistentes: segregantes: susceptibles, respectivamente. Para el análisis en plántula se agruparon las familias resistentes y segregantes las cuales se compararon con las susceptibles, las distribuciones observadas se ajustaron a la segregación de un gen.

Cuadro 4. Distribución y frecuencias observadas y esperadas de familias F₄ en plántula de la cruza de los progenitores ‘Apav’ x ‘PI250413’, frente a la raza MEX14.191 de roya amarilla bajo condiciones controladas.

Cruza	Total de familias	Grupos						No. De genes	X ²
		Observados			Esperados				
		1	3+4	2	1	3+4	2		
APAV/PI250413	166	67	50	49	62.25	41.5	62.25	1	4.9237

X²t=5.9915, gl= 2, α=0.05

Existen variedades que pueden presentar genes de resistencia similar, por lo que es necesario determinar esta posible similitud a través de la prueba de la segregación, en este caso se realizó la cruza resistente por resistente. Mariscal *et al.* (2010) mencionan que la similitud de genes de resistencia se puede observar al evaluar progenitores de cereales resistentes.

Los autores Li *et al.* (2009) y Xu *et al.* (2014), indicaron que el gen presente en C591, es muy efectivo en contra de las poblaciones de *P. striiformis* en China, tanto en la etapa de plántula como en planta adulta. Estos mismos autores corroboraron que en la cruza C591 x Taichung 29 las progenies en la F₃ segregaron 33 líneas homocigotas resistentes; 64 fueron heterocigotas y 30 susceptibles, proporciones que se ajustaron a una proporción 1:2:1 cuando se probaron con la raza de China CYR32 (Xu *et al.*, 2014). Estos resultados y la ausencia de segregación en la F₃ de la cruza PI250413 x C591 indicarían que tanto PI250413 y C591 comparten el mismo gen de resistencia en plántula; además por el origen no es de sorprender ya que ambos progenitores son de origen Pakistani (Dyck y Samborski 1979; CIMMYT 1989).

El análisis de la F₄ en estado plántula indicaron que no existió una segregación normal al encontrarse un mayor número de familias resistentes que las esperadas lo que podría indicar que uno de los genes de planta adulta este influenciado el comportamiento de las familias en estado de plántula; aun así, las distribuciones y frecuencias se ajustan a la segregación de un gen.

La combinación de genes efectivos desde las primeras etapas de crecimiento de las plantas y la expresión de la resistencia de otros genes en planta adulta, ayudaran a tener una mayor

protección de las variedades en contra de la roya amarilla, en particular en aquellas regiones donde las condiciones para el desarrollo de la enfermedad son propicias desde las primeras etapas de crecimiento de la planta de trigo. Desde el punto de vista de Singh *et al.* (2015), los genotipos con resistencia de planta adulta son excelentes para su uso como fuentes de resistencia, sin embargo, diversificar las fuentes de resistencia que permitan recombinar diferentes genes permitiría alcanzar la casi inmunidad al patógeno y así obtener una resistencia más estable en diferentes ambientes.

El análisis molecular de los progenitores implicados en el estudio, indicaron una asociación positiva de los marcadores en los progenitores PI250413 y C591 con los marcadores asociados a los genes *Yr46* y *Yr67* lo que confirma la presencia de *Yr46* y *Yr67* en PI250413 y C591 (Cuadro 5). Por lo tanto, si *Yr46* y *Yr67* están presentes en ambos progenitores, esto explica la ausencia de segregación cuando se analizó la progenie de la F₃ de la cruce PI250413/C591.

La presencia de *Yr46* y *Yr67* en Sujata se puede atribuir a la presencia de C591 en su pedigrí al ser también positiva para ambos marcadores. Los resultados del presente estudio indican que la combinación *Yr46/Yr67* es efectiva tanto en plántula como en planta adulta y disminuye considerablemente los niveles de infección a casi inmunidad por lo menos en PI250413 y C591 y lo mismo ocurre en otras variedades con la misma combinación como en el caso de Sujata (Lan *et al.*, 2014). C591 aparece dos veces como uno de los progenitores de Sujata (pedigrí: Regent/Checoslovaquia-3//2*C-591/3/C-217/Niphad-4//C-591/NP) (Jain 1994; Lan *et al.*, 2015) que posee resistencia de Planta Adulta (RPA) a las razas mexicanas predominantes de *P. triticina* (LR) y muestra un tipo intermedio de infección en plántula a roya amarilla. Sin embargo, *Yr67*, el gen de resistencia a roya amarilla recientemente designado en la variedad C591 (y muy probablemente el mismo que *YrC591*) con base en el origen de la resistencia y la posición cromosómica (Xu *et al.*, 2014), puede ser el mismo gen que el designado temporalmente como *YrSuj*, porque tanto Sujata como C591 mostraron un tipo de infección similar en plántula contra la raza Mex96.11 en pruebas de invernadero (Lan *et al.*, 2015).

Sin embargo, no se ha determinado la presencia de *Lr67/Yr46* en C591, aunque lo más probable es que este progenitor sea el que le confiere el gen *Lr67/Yr46* a Sujata. Otra variedad que también posee *Lr67* es New Pusa 876; pero no se tienen evidencias si New Pusa posee

Yr67, o por lo menos no se ha reportado y podría ser que ocurrió algo similar como en la cruza Thatcher*6/PI250413 (RL6077) que se mantuvo *Yr46*, pero se perdió *Yr67* en el proceso de obtención de la línea (Ponce-Molina *et al.*, 2018) pero en su pedigrí, New Pusa 876 (C591/Gaza//2*C591) comparte C591 como progenitor (Zeven y Zeven-Hissink, 1976; Ponce-Molina *et al.*, 2018).

Cuadro 5. Producto de amplificación de los genotipos resistentes PI250413 y C591, usando los marcadores Lr67_TM4, Kukri_c18011_732/IWB41869, YrV2_Yr67_YrC591 y Tdurum_contig28598_245/IWB69562. Y los testigos Sujata y RL6077

CIMMYT ID	CIMwMAS0071	CIMwMAS0651	CIMwMAS0652
Gen	Lr67	YrV2_Yr67_YrC591	YrV2_Yr67_YrC591
Nombre del Marcador	Lr67_TM4	Kukri_c18011_732/IWB41869	Tdurum_contig28598_245/IWB69562
Herencia	Co-dominante	Co-dominante	Co-dominante
Call 1 (FAM)	C:C - Lr67+	A:A - Yr67-	A:A - Yr67-
Call 2 (VIC)	G:G - Lr67-	G:G - Yr67+	C:C - Yr67+
PI250413	Lr67/Yr46+	Yr67+	Yr67+
C-591	Lr67/Yr46+	Yr67+	Yr67+
SUJATA	Lr67/Yr46+	Yr67+	Yr67+
RL6077	Lr67/YR46+	Yr67-	Yr67-
Apav	Lr67/Yr46-	Yr67-	Yr67-

La presencia de los marcadores Kukri_c18011_732/IWB41869 y Tdurum_contig28598_245/IWB69562 se pueden usar para la detección de *Yr67* en un proceso de selección asistida para incorporar resistencia a la roya amarilla en trigo.

Las grandes pérdidas provocadas por la roya amarilla y su constante evolución que le permiten romper la resistencia nos obligan a buscar nuevas fuentes de resistencia tanto en parientes silvestres como en variedades ancestrales. Contar con un alto grado de diversidad genética en genotipos resistentes en los campos de los agricultores permite disminuir las posibilidades de una aparición imprevista de nuevas razas fisiológicas, con la capacidad de vencer la resistencia de las variedades comerciales sembradas y causar pérdidas económicas a los productores.

1.6 CONCLUSIONES

Con base en los resultados del presente estudio, se concluye que la población derivada de los cruzamientos ‘Apav’ y ‘PI250413’, de acuerdo al ajuste de las distribuciones de frecuencias observadas, se delimitó a la segregación de dos genes que confieren resistencia. El gen de resistencia que se expresa en estado de plántula en la población es *Yr67*, mientras que en planta adulta los dos genes identificados en las progenies F₄ y F₅ fueron *Yr46* y *Yr67* de acuerdo con los marcadores moleculares. Así mismo, tanto el progenitor PI250413 como C591 fueron positivos para los marcadores asociados con los genes *Yr46* y *Yr67*.

La resistencia identificada en PI250413 y C591 puede ser útil en el desarrollo de variedades con resistencia a la roya amarilla causada por *P. striiformis*, ya que al combinar *Yr67* (efectivo en plántula) con *Yr46* (eficaz en planta adulta) reducen los niveles de infección a casi inmunidad (0). Lo anterior indica que sí es posible conjuntar un gen de raza específica como *Yr67* con otro más efectivo en planta adulta como *Yr46*, y así obtener una mayor protección en todas las etapas de desarrollo de la planta y en especial para aquellas zonas de producción donde las condiciones para el establecimiento y desarrollo del patógeno son propicias desde las etapas iniciales del cultivo como en los Valles Altos.

1.7 LITERATURA CITADA

- CIMMYT. 1989. Wheat Research and Development in Pakistan. Mexico, D.F.: CIMMYT, ISBN 968-6127-31-3. 129pp.
- Dyck, P. L. and Samborski, D. J. 1979. Adult-plant leaf rust resistance in PI250413, an introduction of common wheat. *Can J. Plant Sc.* 59: 329-332.
- Dreisigacker S, Tiwari R, Sheoran S. 2013. Laboratory manual: ICAR-CIMMYT molecular breeding course in wheat. ICAR/BMZ/CIMMYT, Haryana, India, p 36
- Dreisigacker S., D. Sehgal, A. E. Reyes J., B. Luna G., S. Muñoz Z., C. Núñez R. and S. Mall. 2016 CIMMYT Wheat Molecular Genetics: Laboratory Protocols and Applications to Wheat Breeding. CIMMYT. Mexico, D. F. 142 p.
- Herrera-Foessel S. A., Singh R. P., Huerta-Espino J., Rosewarne G. M., Periyannan S. K., Viccars L., Calvo-Salazar V., Lan C. and Lagudah E. S. 2012. *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theor Appl Genet.* 124(8):1475-86. doi: 10.1007/s00122-012-1802-1. PMID: 22297565.

- Herrera-Foessel, S. A., Lagudah, E. S., Huerta-Espino, J. *et al.* 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., Lillemo, M., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Sukhwinder, 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.
- Hiebert C. W., Thomas J. B., McCallum B. D., Humphreys G. D., DePauw R. M., Hayden M. J., Mago R., and Schnipenkoetter W. 2010. An introgression on wheat chromosome 4DL in RL6077 (Thatcher*6/PI 250413) confers adult plant resistance to stripe rust and leaf rust (*Lr67*). *Theor Appl Genet* **121**, 1083–1091.
- Huerta-Espino J., Singh R., Crespo-Herrera L. A., Villaseñor-Mir H. E., Rodríguez-García M. F., Dreisigacker S., Barcenas-Santana D. and Lagudah E. 2020. Adult Plant Slow Rusting Genes Confer High Levels of Resistance to Rusts in Bread Wheat Cultivars from Mexico. *Front. Plant Sci.* 11:824.
- 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: 2015 BGRI Workshop, 17 - 20 September. Sydney, Australia. [https://www.globalrust.org/sites/default/files/2015 BGRI Plenary abstracts.pdf](https://www.globalrust.org/sites/default/files/2015%20BGRI%20Plenary%20abstracts.pdf) pp: 16.
- Infante G. S. y Zárate de Lara G. P. 1998. Métodos Estadísticos: Un Enfoque Interdisciplinario. 2^{da} ed. Editorial Trillas. México, D. F. 643 p.
- Jain K. B. L. 1994. Wheat Cultivars in India: Names, Pedigrees, Origins, and Adaptations. Research Bulletin No.2, Directorate of Wheat Research, Kamal, Haryana, India.
- 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. *Plant Dis*.doi:10.1094/PDIS-07-13-0707-RE
- Lan, C., Zhang, Y., Herrera-Foessel, S. A., Basnet, B. R., 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 Y., Niu Y. C. & Chen X. M. 2009. Mapping a stripe rust resistance gene *YrC591* in wheat variety C591 with SSR and AFLP markers. *Theor Appl Genet* 118, 339.
- Mariscal-Amaro L. A., Huerta Espino, J.; Villaseñor Mir, H., E.; Leyva Mir, S. G.; Sandoval Islas, S.; Benítez Riquelme, I. 2010. Prueba de similitud en genes con resistencia a roya del tallo en genotipos de avena Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, vol. 1, núm. 4, octubre-diciembre, pp. 541-554.
- Mariscal-Amaro, L. A., J. Huerta-Espino, E. E. Villaseñor-Mir, S. J. Leyva-Mir., S. Sandoval-Islas y I. Benítez-Riquelme. 2009. Genética de la resistencia a roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. & Henning) en tres genotipos de avena (*Avena sativa* L.). *Agrociencia* 43: 869-879.

- Mellado Z. M. 2007. El Trigo en Chile: Cultura, Ciencia y Tecnología. Centro Regional de Investigación Quilamapu, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chillán, Chile. 684 p.
- Moore J. W., S. Herrera-Foessel, C. Lan, W. Schnippenkoetter, M. Ayliffe, J. Huerta-Espino, M. Lillemo, L. Viccars, R. Milne, S. Periyannan, X. Kong, W. Spielmeyer, M. Talbot, H. Bariana, J. W. Patrick, P. Dodds, R. Singh, R. and E. Lagudah. 2015. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nature Genetics* 47:1494-1498.
- Ponce-Molina L. J., Huerta-Espino J., Singh R. P., Basnet B. R., Lagudah E., Aguilar-Rincón V. H., Alvarado G., Lobato-Ortiz R., García-Zavala J. J., Lan C. 2018. Characterization of adult plant resistance to leaf rust and stripe rust in Indian wheat cultivar New Pusa 876. *Crop Science*. 58(2): 630-638.
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2017. Boletín del avance de la producción de trigo grano. México. pp. 1
- Singh R. P., Huerta-Espino J., and Rajaram S. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 35: 133-139.
- Singh R. P., Huerta-Espino J., and William M. 2001. Resistencia durable a roya de la hoja y roya amarilla: genética y mejoramiento en el CIMMYT. In: Seminario Internacional: Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo. CIMMYT. INIA La Estanzuela, Colonia Uruguay. pp. 80.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. A. Herrera-Foessel D., Singh P. K., Velu G., Mason R., Jin Y., Njau P. and Crossa J. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179:175-186, <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0322-9>.
- Singh, R. P and S Rajaram.1994. Genetics of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica*. 72:1-7.
- Spielmeyer, W., Mago, R., Wellings, C. *et al.* 2013. *Lr67* and *Lr34* rust resistance genes have much in common – they confer broad-spectrum resistance to multiple pathogens in wheat. *BMC Plant Biol* 13, 96.
- Villaseñor-Espín, O. M, J. Huerta-Espino, S. G. Leyva-Mir, H.E. Villaseñor-Mir, R. Singh, S. Sandoval-Islas y E. Espitia-Rangel. 2009. Genética de la resistencia a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32: 217-223.
- Xu H. X., Zhang J., Zhang P., Qie Y. M., Niu Y. C., Li H. J., Ma P.T.; Xu Y. F. and An D.G. 2014. Development and validation of molecular markers closely linked to the wheat stripe rust resistance gene *YrC591* for marker-assisted selection. *Euphytica* 198, 317–323.
- Zeven, A.C. and N. CH. Zeven-Hissink 1976. Genealogies of 14,000 Wheat Varieties. Netherlands Cereals Centre (NGC), Wageningen, Netherlands, and International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT, Mexico. 119 pp.

DISCUSION GENERAL

Las pérdidas en producción y rendimiento que los hongos del género *Puccinia* han ocasionado a través del tiempo, anteponen un reto en la búsqueda de estrategias que permitan obtener variedades de trigo resistentes a estos patógenos. Diversos estudios sobre el control genético de roya amarilla han permitido la postulación de genes de resistencia en planta adulta, es así que, el constante estudio sobre el número de genes que condicionan la resistencia y el tipo de herencia, permite hacer un uso más eficiente de la fuente de resistencia del germoplasma del trigo.

Existen variedades que pueden presentar genes de resistencia similar, por lo que es necesario determinar esta posible similitud a través de pruebas de segregación, en este caso se realizó la cruce resistente por resistente. Mariscal *et al.* (2010) mencionan que la similitud de genes de resistencia se puede observar al evaluar progenitores de cereales resistentes. Al evaluar la F₃ de la cruce PI250413/C591 tanto en plántula como en planta adulta no se observó segregación. La falta de segregación en las cruces de los progenitores resistentes sugiere la presencia de genes en común en estos genotipos.

La población derivada de los cruzamientos ‘Apav’ y ‘PI250413’, de acuerdo al ajuste de las distribuciones de frecuencias observadas, se delimitó a la segregación de dos genes que confieren resistencia. Liu *et al.* (2020) enlista la existencia de 82 genes para la resistencia a la roya amarilla, entre los cuales se encuentran: *Yr46* y *Yr67*. *Yr46* tiene efecto pleiotrópico con *Lr67* (Herrera-Fossil *et al.*, 2014), el cual fue identificado en PI250413 por Dyck P. L. y Samborski D. J. en 2011. Por otro lado, se postuló la presencia de *Yr67* como el gen que confiere la resistencia a roya amarilla en el cultivar de trigo C591, pero no se tenían reportes sobre la presencia de *Lr67/Yr46* en C591. El gen de resistencia que se expresa en estado de plántula en la población es *Yr67*, mientras que en planta adulta los dos genes identificados en las progenies F₄ y F₅ fueron *Yr46* y *Yr67* de acuerdo con los marcadores moleculares. Así mismo, tanto el progenitor PI250413 como C591 fueron positivos para los marcadores asociados con los genes *Yr46* y *Yr67*.

La resistencia específica, también llamada de plántula (ASR), suele conferir un alto nivel de resistencia contra determinadas razas de la roya a lo largo de todas las etapas de crecimiento, pero a menudo es superada por las razas virulentas al cabo de uno o dos años (Chen, 2013). La

resistencia no específica o de planta adulta (APR) suele ser duradera (Chen, 2005), pero el nivel de resistencia puede no ser adecuado en ciertas condiciones. Conjuntar genes ASR y APR resulta ser la mejor estrategia para lograr una resistencia de alto nivel y duradera (Liu et al., 2018). La resistencia identificada en PI250413 y C591 puede ser útil en el desarrollo de variedades con resistencia a la roya amarilla causada por *P. striiformis*, ya que al combinar *Yr67* (efectivo en plántula) con *Yr46* (eficaz en planta adulta) reducen los niveles de infección a casi inmunidad (0).

Maccaferri *et al.* (2015), menciona que la combinación de varios genes de resistencia específica y de raza no-específica permiten aumentar la durabilidad de la resistencia. Lo anterior indica que sí es posible conjuntar un gen de raza específica como *Yr67* con otro más efectivo en planta adulta como *Yr46*, y así obtener una mayor protección en todas las etapas de desarrollo de la planta. Por su parte Singh *et al.* (2000; 2011), refieren que el conjuntar de 4 a 5 genes de efectos menores de acción genética aditiva o de raza no específica, permitan reducir el progreso de la enfermedad y obtener porcentajes de severidad mínimos.

Desde el punto de vista de Singh *et al.* (2015), los genotipos con resistencia de planta adulta son excelentes para su uso como fuentes de resistencia, sin embargo, diversificar las fuentes de resistencia que permitan recombinar diferentes genes permitiría alcanzar la casi inmunidad al patógeno y así obtener una resistencia más estable en diferentes ambientes.

CONCLUSIONES GENERALES

- En plantas adultas de las generaciones filiales F₄ y F₅ derivadas de los cruzamientos ‘Apav’y ‘PI250413’, de acuerdo a ajuste de las distribuciones de frecuencias de familias observadas, se delimito la segregación de dos genes que confieren resistencia.
- En plántula la generación filial F₄ derivada del cruzamiento ‘Apav’y ‘PI250413’, de acuerdo a ajuste de las distribuciones de frecuencias observadas, se delimito la segregación de un gen que confieren resistencia.
- El gen que se expresa en estado de plántula corresponde al gene *Yr67*.
- Tanto el progenitor PI250413 como C591 fueron positivos para los marcadores asociados con los genes *Yr46* y *Yr67* que confieren resistencia a roya amarilla. Lo que sugiere que genes implicados en las progenies F₄ y F₅ son *Yr46* y *Yr67*
- La resistencia identificada en PI250413 y C591 puede ser útil en el desarrollo de variedades con resistencia a la roya amarilla causada por *P. striiformis*.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. 2005. Fitopatología. 5th edition. Elsevier Academic Press, Nueva York. 922 p.
- Ali S. P., Gladieux M., Leconte A., Gautier A. F., Justesen M. S., Hovmøller J., Enjalbert and C. de Vallavieille-Pope. 2014. Origin, Migration Routes and Worldwide Population Genetic Structure of the Wheat Yellow Rust Pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. PLoS Pathog 10(1): e1003903.
- Blanco Fuentes, Rubén. 2017. Genética de la resistencia de las plantas a factores bióticos: un informe. 10.13140/RG.2.2.16383.10400.
- Bonjean A. P. and Angus W. J. 2001. The World Wheat Book: a history of wheat breeding. Lavoisier Publ., Paris. 1131 pp.
- Carmona, M., and Sautua, F. 2018. Epidemias de roya amarilla del trigo. Nuevas razas en el mundo, monitoreo y decisión de uso de fungicidas. Agron. Ambiente. Rev. Facult. Agron. UBA38, 37–58.
- Chen W., Wellings C., Chen X., Kang Z. and Liu T. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Plant Pathology* 15:433-446, <https://doi.org/10.1111/mpp.12116>.
- Chen X. M. 2005. Epidemiology and control of stripe rust *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* on wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 27: 314-337.
- Chen, X. M. 2013. Review article: High-temperature adult-plant resistance, key for sustainable control of stripe rust. *Am. J. Plant Sci.* 4:608-627.
- Dyck P. L. and Samborski D J. 1979. Adult-plant leaf rust resistance in PI250413, an introduction of common wheat. *Can J. Plant Sc.* 59: 329-332.
- FAO. 2004. Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas al año 2010. FAO. Roma. pp: 6-26. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5143s/y5143s00.pdf>.
- Feng, J., Wang, M., See, D. R., Chao, S., Zheng, Y., and Chen, X. 2018. Characterization of novel gene *Yr79* and four additional quantitative trait loci for all-stage and high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat PI 182103. *Phytopathology* 108:737-747.
- Fetch T., McCallum B., Menzies J., Rashid K. and Tenuta A. 2011. Rust diseases in Canada. *Prairie Soils and Crops Journal.* 4:86-96.
- FIRA. 2014. Panorama Agroalimentario, Trigo. Dirección de Investigación Económica y Sectorial. Subdirección de evaluación Sectorial. México. pp: 29.
- FIRA. 2019. Panorama Agroalimentario. Trigo 2019. Dirección de Investigación Y Evaluación Económica y Sectorial. México. 25 pp.
- Gessese, M., Bariana, H., Wong, D., Hayden, M., and Bansal, U. 2019. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr81* in a common wheat landrace Aus27430. *Plant Dis.* 103:1166-1171.

- Herrera-Foessel S. A., Lagudah E. S., Huerta-Espino J. *et al.* 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., Lillemo, M., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Sukhwinder, 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.
- Hortelano R., Martínez E., Villaseñor H. E. y Morales V. 2016. Mejoramiento genético de trigo en México. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias.* 3-6: 25-31.
- Hovmøller M. S, Yahyaoui A. H, Milus E. A, Justesen A F. 2008. Rapid global spread of two aggressive strains of a wheat rust fungus. *Molecular Ecology* 17: 3818–3826.
- Hovmøller M. S., Sørensen C. K., Walter S. and Justesen A. F. 2011. Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annual Review of Phytopathology* 49:197-217.
- Huerta-Espino J. y Singh R. P. 2000. Las royas de trigo. In: *El Trigo de Temporal en México.* H. E. Villaseñor M. y E. Espitia R. (eds.). SAGARPA, INIFAP. CIP-CENTRO y CEVAMEX, México. pp: 231- 251.
- Huerta-Espino J., Rodríguez G. Ma. F., Villaseñor M. H. E., Singh, R. P. *et al.* 2014. Descripción de las royas del trigo. INIFAP-CEVAMEX. Folleto Técnico Núm. 64. México. pp: 29.
- Huerta Espino J., Torres G. R., Rodríguez-García M. F., Villaseñor Mir H. E., Leyva M., y Solís M. E. 2012. Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(5), 879-891.
- Huerta-Espino, J., R. P. Singh, and A. P. Roelfs. 2014. RUSTS FUNGI OF WHEAT. In: pp 217-259 (Chapter 11) J. K. Misra, J. P. Tewari, S. K. Deshmukh and C. Vágvölgyi (Eds.) *Fungi from Different Substrates.* CRC Press, USA, Taylor & Francis Group.
- Jamil S., Shahzad R., Ahmad S., Fatima R., Zahid R., Anwar M., Iqbal M. Z. and Wang X. 2020. Role of Genetics, Genomics, and Breeding Approaches to Combat Stripe Rust of Wheat. *Front. Nutr.* 7:580715.
- Johnson R. 1981. Durable resistance: Definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71:567-568.
- Kolmer J. A. 2005. Tracking wheat rust on a continental scale. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 8, pp. 441-449.
- Lan C.; Randhawa M. S.; Huerta-Espino J. and Singh R. P. 2017. Genetic Analysis of Resistance to Wheat Rusts. In: Periyannan S. (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (New York, NY: Humana Press). pp 137-149.
- Li Y., Niu Y. C. & Chen X. M. 2009. Mapping a stripe rust resistance gene *YrC591* in wheat variety C591 with SSR and AFLP markers. *Theor Appl Genet* 118, 339.

- Line, R. F., and X. Chen 1995. Successes in breeding for and managing durable resistance to wheat rusts. *Plant Dis.* 79(12):1254-1255.
- Liu L., Wang M. N., Feng J. Y., See D. R., Chao S. M., Chen X. M. 2018. Combination of all-stage and high-temperature adult-plant resistance QTL confers high-level, durable resistance to stripe rust in winter wheat cultivar Madsen. *Theor. Appl. Genet.* 131, 1835–1849. 10.1007/s00122-018-3116-4.
- Liu L., Wang M., Zhang Z., See D. R., Chen X. 2020. Identification of Stripe Rust Resistance Loci in U.S. Spring Wheat Cultivars and Breeding Lines Using Genome-Wide Association Mapping and *Yr* Gene Markers. *Plant Dis.* Aug; 104(8):2181-2192.
- Maccaferri M., Zhang J., Bulli P., Abate Z., Chao S., Cantu D., Bossolini E., Chen X., Pumphrey M. and Dubcovsky J. 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.
- Milus E. A., Kristensen K. y Hovmøller M. S. 2009. Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* causing stripe rust of wheat. *Phytopathology* 99: 89-94.
- Moore J. W., Herrera-Foessel S., Lan C., Schnippenkoetter W., Ayliffe M., Huerta-Espino J., Lillemo M., Viccars L., Milne R., Periyannan S., Kong X., Spielmeier W., Talbot M., Bariana H., Patrick J. W., Dodds P., Singh R., and Lagudah E.. 2015. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nature Genetics* 47:1494-1498.
- Rodríguez G. M. F., J. Huerta E, y H. E. Villaseñor M. 2008. Virulencia de *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* en los Valles Altos de México en 2005. In: XXIII Congreso Nacional y II Internacional de Fitogenética. Chapingo, México. pp: 217.
- Rodríguez-García Ma. F. 2004. Pérdidas en el rendimiento en trigo de Temporal (*Triticum aestivum* L.) causado por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico Agropecuario No. 29. Xocoyucan Tlax. 67 p.
- Rodríguez-García Ma. F., Rojas-Martínez R. I., Huerta-Espino J., Villaseñor-Mir E. H., Zavaleta-Mejía E., Sandoval-Islas J. S. y Crossa-Hiriart J. F. 2019. Genética de la resistencia a roya amarilla causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* W. en tres genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 42 (1): 31 – 38.
- Rodríguez-García. Ma. F., Huerta-Espino J., Villaseñor M. H. E., Martínez C. E., Hortelano S. R. R. y Mariscal A. L. A. 2011. Análisis de virulencia de la roya amarilla del trigo en México. Memoria de resúmenes de la VI Reunión Nacional de Innovación Agrícola. León, Guanajuato. 273 p.
- Ruiz Camacho R. 1981. Cultivo del Trigo y la Cebada. Temas de Orientación Agropecuaria, Bogotá. ISBN 00493333. 9-12 pp.
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2019. Boletín mensual del avance de la producción de trigo grano. México. pp. 1

- Singh R. P., Herrera-Foessel S. A., Huerta-Espino J., Bariana H., Bansal U., McCallum B. C., *et al.* 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), 173.
- Singh R. P., Herrera-Foessel S. A., Huerta-Espino J., Lan C., Basnet B. R., Bhavani S., *et al.* 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), 17.1.
- Singh R. P., Huerta-Espino J., and Rajaram S. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 35: 133-139.
- Singh R. P., Huerta-Espino J., and Roelfs A. P. 2002. The wheat rusts In Curtis, B. C.; Rajaram, S.; Gomez, S., and MacPherson, L. (Eds.). Bread wheat: improvement and production. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 227-249 pp.
- Singh R. P., Huerta-Espino J., Bhavani S., Herrera-Foessel S. A., Singh D., Singh P. K., Velu G., Mason R., 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. and Huerta-Espino J. 2004. The use of 'single backcross, selected-bulk' breeding approach for transferring minor genes based rust resistance into adapted cultivars. In: C.K. Black, J.F. Panozzo and G.J. Rebetzke (Eds.) CEREALS 2004. Proceedings of 54th. Australian Cereal Chemistry Conference and 11th Wheat Breeders Assembly, 21-24 September. Canberra Australia.
- Singh, R. P. and Rajaram, S. 1995. Genetics of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica*. 72:1-7.
- Singh, R. P.; Huerta, E. J. and William, H. M. 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*. Man, M. K.; Díaz, A. M. and Castro, M. (Eds.). La estanzuela Uruguay 8-11 de Octubre. 109-117 pp.
- Singh, R. P.; Nelson, J. C. and Sorells, M. E. 2000. Mapping Yr28 and others genes for resistance to stripe rust in wheat. *Crop Sci.* 40:1148-1155.
- Sørensen C. K., Hovmøller M. S., Leconte M., Dedryver F. y de Vallavieille-Pope C. 2014. New races of *Puccinia striiformis* found in Europe reveal race specificity of long-term effective adult plant resistance in wheat. *Phytopathology* 104: 1042-1051.
- Villaseñor M. H. E. y Espitia R. E. 2000. Variedades de trigo recomendadas para siembras de temporal en México. In: el trigo de temporal en México. INIFAP, CIR-Centro, CEVAMEX. 151-176 pp.
- Villaseñor-Espín Óscar M., Huerta-Espino Julio, Leyva Mir S. Gerardo, Villaseñor-Mir Héctor E., Singh Ravi P., Sandoval-Islas J. Sergio *et al.* 2009 Genética de la resistencia

- a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mexicana*. 32(3):217-223.
- Wan A. M., Chen X. M. and He Z. H. 2007. Wheat stripe rust in China. *Aust J. Agric Res.* 58, 605–619. doi: 10.1071/AR06142.
- Wan A., Zhao Z., Chen X., He Z., Jin S., Jia Q., *et al.* 2004. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002. *Plant Dis.* 88, 896–904. doi:10.1094/PDIS.2004.88.8.896.
- Wang, M. N. and Chen, X. M. 2017. Stripe rust resistance. Pages 353-558 in: *Stripe Rust*. X. M. Chen and Z. S. Kang, eds. Springer, Dordrecht, Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1111-9_5 Crossref, Google Scholar.
- Wellings C. R. 2011. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica* 179:129-141, <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0360-y>.
- Wellings C. R. and McIntosh R. A. 1990. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Australasia: pathogenic changes during the first 10 years. *Plant Pathology*, 39: 316-325.
- William, M.; Singh, R. P.; Huerta, E. J.; Ortiz, I. J. 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.
- Xu H. X., Zhang J., Zhang P., Qie Y. M., Niu Y. C., Li H. J., Ma P.T.; Xu Y. F. and An D.G. 2014. Development and validation of molecular markers closely linked to the wheat stripe rust resistance gene *YrC591* for marker-assisted selection. *Euphytica* 198, 317–323.