



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

ESTUDIO DE RESISTENCIA A LA ROYA DEL TALLO CAUSADA POR *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* EN TRIGOS CRISTALINOS

DANIEL BÁRCENAS SANTANA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2016

La presente tesis titulada: **ESTUDIO DE RESISTENCIA A LA ROYA DEL TALLO CAUSADA POR *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* EN TRIGOS CRISTALINOS**, realizada por el alumno: **Daniel Bárcenas Santana**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

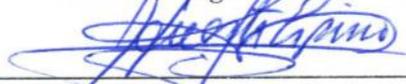
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



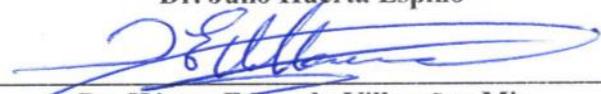
Dr. José Sergio Sandoval Islas

DIRECTOR DE TESIS:



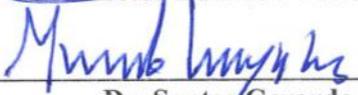
Dr. Julio Huerta Espino

ASESOR:



Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir

ASESOR:



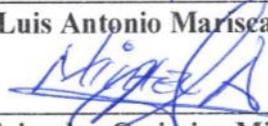
Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

ASESOR:



Dr. Luis Antonio Mariscal Amaro

ASESOR:



Dr. Alejandro Casimiro Michel Aceves

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto, 2016.

ESTUDIO DE RESISTENCIA A LA ROYA DEL TALLO CAUSADA POR *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* EN TRIGOS CRISTALINOS

**Daniel Barcenás Santana, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2016**

RESUMEN

La roya del tallo causada por *Puccinia graminis* f.sp *tritici* es una enfermedad importante actualmente debido a que el 80% del germoplasma es susceptible a las variantes de Ug99. En México solo se tienen reportadas seis razas, de las cuales, la de mayor importancia es la raza RTR, la cual se tiene control desde 1960. Sin embargo, con la presión de selección que se ha sometido durante este tiempo y con el posible ingreso de las variantes de Ug99, la agricultura mexicana se ve amenazada. Por ello, se determinó la genética de la resistencia de cuatro cultivares de trigo cristalino ('Atil C2000', 'Cirno C2008', 'Samayoa C2004' y 'Movas C2009') predominantes en los campos mexicanos. Así mismos, se determinó la introgresión del gen *Sr47* mediante selección asistida con los marcadores *Wms501*, *Xgwm47*, *Xrwgs38* y *Xgpw4165*, de una población F3BC1 de la retrocruza IIA2310/'Cirno C2008'. Del germoplasma portador del gen *Sr47* se evaluó la genética de su resistencia ante la raza mexicana de la roya del tallo RTR. Los resultados obtenidos muestran que las variedades 'Atil C2000' y 'Cirno C2008' poseen tres genes de resistencia, 'Samayoa C2004' un gen dominante y 'Movas C2009' cuatro genes dominantes complementarios. La introgresión del gen *Sr47* se insertó en 63 familias de acuerdo al análisis molecular. Los genotipos de introducción con el gen *Sr47* son resistentes a la raza RTR, los cuales poseen el gen *Sr47* de resistencia para Ug99 y RTR.

Palabras clave: introgresión, retrocruza, raza, RTR, Ug99.

**STUDY OF RESISTANCE CAUSED BY STEM RUST *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* IN
DURUM WHEATS**

**Daniel Barcenas Santana, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2016**

ABSTRACT

Stem rust caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* is an important disease because currently 80% of germplasm is susceptible to Ug99 variants. In Mexico only have reported six races, of which the most important is the RTR race, which has control since 1960. However, the selection pressure that has undergone during this time and with the possible entry Ug99 variants, Mexican agriculture is threatened. Therefore, genetic resistance four cultivars of durum wheat (Atil C2000 ', Cirno C2008 ", Samayoa C2004 'and Movas C2009 ') prevailing in Mexican fields was determined. Themselves, the introgression of *Sr47* gene was determined by the *Wms501* assisted selection, *Xgwm47*, *Xrwgs38* and *Xgpw4165* markers, a backcross population F3BC1 IIA2310 / 'C2008 Cirno'. *Sr47* carrier germplasm gene genetics of resistance to the Mexican race of stem rust was evaluated RTR. The results show that the varieties 'Atil C2000' and 'C2008 Cirno' have three resistance genes, 'Samayoa C2004' a dominant gene and 'Movas C2009' four complementary dominant genes. *Sr47* introgression of the gene was inserted into families 63 according to molecular analysis. Introduction genotypes with *Sr47* gene are resistant to RTR race, which have resistance gene is *Sr47* to Ug99 and RTR.

Key words: introgression, backcross, race, RTR, *Ug99*.

DEDICATORIA

A mis padres:

Antonio Bárcenas Castro y Ma. Félix Santana Trejo

Ellos son el principal cimiento en la construcción de mi vida profesional, las bases de responsabilidad y deseos de superación. Por su sacrificio, comprensión, confianza y amor. Porque sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de esta etapa profesional, por lo que ha sido y será

Gracias

A mis hermanos

(Ofelia, Lorenzo, Reynaldo, Roberto, María y Antonio)

Por el apoyo incondicional que me brindaron día a día en el transcurso de mi formación académica. Por estar ahí, cuando los necesite y sabiendo que ahí estarán siempre.

Gracias

Familiares y amigos

Quiero expresar un profundo agradecimiento a quienes con su ayuda, apoyo y comprensión me alentaron a lograr escalar un peldaño más en mi vida profesional.

Gracias

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada durante mis estudios doctorales.

Al Colegio de Postgraduados (Campus Montecillo), por brindarme la maravillosa oportunidad de poder realizar mis estudios de Doctorado en Ciencias.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), por el apoyo logístico y capacitación para la realización de las pruebas moleculares. Así mismo, por todas las facilidades otorgadas en el Laboratorio de Biociencias.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias- Campo Experimental Valle de México (INIFAP-CEVAMEX) por los materiales proporcionados y por las facilidades prestadas para la realización del presente trabajo.

En general a todas escuelas públicas, que contribuyeron a mi formación académica.

Al Dr. Julio Huerta Espino, por su amistad, por su confianza y por su brillante desempeño como director de mi tesis. Así mismo, le agradezco el haberme brindado la oportunidad de realizar mi tesis doctoral en el trigo.

Al Dr. José Sergio Sandoval Islas, por su amistad y confianza, así como por su gran apoyo como consejero.

Al Dr. Eduardo Villaseñor Mir, por su amistad, por su gran apoyo como asesor y en especial por todas sus sugerencias durante la ejecución de los experimentos.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, por su amistad, y por todo su valioso apoyo como asesor de tesis, así como, por todas sus excelentes y puntuales revisiones a los diversos resúmenes que se prepararon durante mis estudios doctorales.

Al Dr. Luis Antonio Mariscal Amaro, por su amistad y por su gran apoyo como asesor de tesis.

Al Dr. Alejandro Michel Aceves, por su amistad y por su valiosa asesoría para realizar la tesis.

A la Dra. Susanne Dreisigacker, por ser ese gran ser humano que te guía con paciencia entrega y dedicación en la formación profesional y por su amistad.

En general a todas las personas que de alguna u otra manera aportaron su granito de arena para poder llevar a cabo con éxito la presente investigación.

Finalmente, quiero expresar toda mi gratitud a tod@s l@s maestr@s extraordinari@s que me transmitieron la tan noble, pero invaluable filosofía de prepararse en forma integral, mediante la búsqueda y el actuar por ser cada día mejor, y no solo académicamente, sino también como ser humano.

En general a todos mis familiares y amig@s. Pedro Figueroa, Elizabeth García, Florencia Rodríguez, Bacilisa Luna, Claudia Núñez, Adriana Reyes.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. HIPÓTESIS.....	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Importancia del trigo cristalino en México.....	4
4.2 Importancia de la roya del tallo	5
4.3 Principales razas de la roya del tallo.....	7
4.4 Genes mayores que confieren resistencia a la roya del tallo en trigos	8
4.5 Vigilancia epidemiológica de Ug99 ante la posible entrada a México.....	10
4.6 Manejo de la roya del tallo.....	11
5. Literatura citada.....	13
CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A LA ROYA DEL TALLO EN CUATRO GENOTIPOS DE TRIGOS DUROS	166
Resumen.....	166
Abstract	177
1.1 Introducción	188
1.2 Materiales y Métodos	20
1.2.1 Material genético	20
1.2.2 Obtención de generaciones F ₁ , segregantes F ₂ y familias F ₃	211
1.2.3 Evaluación de familias F ₃ en plántula.....	21
1.2.4 Clasificación de las familias.....	23
1.2.5 Análisis estadístico.....	25
1.3 Resultados y Discusión	266
1.3.1 Pruebas de plántula en invernadero.....	26
1.4 Conclusiones.....	30
1.5 Literatura citada.....	311
CAPÍTULO II. DETECCIÓN DE LA INTROGRESIÓN DEL GEN Sr47 EN LA VARIEDAD CIRNO C2008 DE TRIGO MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES.....	36
Resumen.....	366

Abstract	377
2.1 Introducción	388
2.2 Materiales y Métodos.....	40
2.2.1 Material vegetal.....	40
2.2.2 Análisis de marcadores moleculares.....	41
2.2.3 Evaluación de la enfermedad y resistencia.....	42
2.3 Resultados y Discusión	433
2.3.1 Análisis de virulencia de las plantas.....	46
2.4 Conclusiones	488
2.5 Agradecimientos.....	49
2.6 Literatura citada.....	499
CAPÍTULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A LA RAZA RTR DE ROYA DEL TALLO EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO CRISTALINO RESISTENTES A UG99.....	522
Resumen	522
Abstract	533
3.1 Introducción	544
3.2 Materiales y Métodos.....	56
3.2.1 Obtención de generaciones F ₁ , segregantes F ₂ y familias F ₃	57
3.2.2 Evaluación de familias F ₃ en plántula.....	57
3.2.3 Clasificación de las familias.....	58
3.3.4 Análisis estadístico.....	58
3.3 Resultados y discusiones.....	59
3.4 Conclusiones.....	60
3.5 Literatura citada.....	62
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	64

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Razas fisiológicas que constituyen la población de la roya del tallo de trigo (<i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>).....	9
Cuadro 2. Genealogía y pedigrí de las cuatro variedades de trigo cristalino resistentes a la roya del tallo y el susceptible 'Noio'.....	22
Cuadro 3. Cruzas de cinco variedades de trigo cristalino para determinar la genética de la resistencia a <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> raza RTR.....	22
Cuadro 4. Descripción de reacciones de infección en plántula de trigo para <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	25
Cuadro 5. Número de plantas F ₃ resistentes y susceptibles observadas frente a la raza RTR de la roya del tallo.	30
Cuadro 6. Distribución y frecuencias relativas de las familias F ₃ en plántula de las cruzas NOIO/Sr47.....	61

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Evaluación de familias F₃ en plántula con la raza RTR de la roya del tallo: a) preparación de la tierra; b) tipos de siembra (10 y de 48 familias por familia por charola); c) emergencia y cuidados de las plántulas; d) fertilización; e) preparación del inoculo (suspensión de urediniosporas); f) inoculación; g) cámara de rocío; h) plantas en el invernadero después de la inoculación a 24°C; i) plantas lista para tomar las notas de reacción de infección..... 24
- Figura 2.** Escala de reacción de infección de la roya del tallo *P. graminis* f. sp. *tritici*.....26
- Figura 3.** Clasificación de las familias de las cruzas resistentes x susceptibles: a) Familias resistentes como los progenitores, b) Familias segregantes, c) Familias susceptibles como el Progenitor 'NOIO' 30
- Figura 4.** Técnica de emasculación-polinización manual simple para cruzas: a) emasculación; b) espigas cubiertas con bolsas de glassine después de la polinización; c) semilla F₁ obtenida de las cruzas..... 40
- Figura 5.** Esquema de cruzamientos para la introgresión del gen *Sr47* de resistencia a la roya del tallo a la variedad 'Cirno C2008'..... 41
- Figura 6.** Análisis molecular: a) población *Sr47* sembrada en campo; b) cosecha de hojas para la extracción de ADN; c) d) liofilizado del tejido; e) tejido molido; f) extracción de ADN por el método CTAB; g)cuantificación; h) Preparación del mix para la PCR; i) placa de PCR con las muestras; J) programa SSR para la PCR; k) gel de agarosa 2.5% para la amplificación de las muestras; l) amplificación de las muestras..... 44

Figura 7. Amplificación de los marcadores moleculares *Xwms501*, *Xgwm47*, *Xrwgs38* y *Xgpw4165* en 22 plantas de la población F3BC1. Las flechas indican el fragmento buscado que representa la presencia o ausencia del gen *Sr47*. El marcador *Xwms501* presenta una banda de 109 pb en plantas portadoras del gen. Con el marcador dominante de repulsión (*Xgwm47*) las plantas sin el gen presentan dos bandas ubicadas a 165 pb, con el *Xrwgs38* y *Xgpw4165* se logra diferenciar las plantas homocigotas y heterocigotas con la presencia de las bandas ubicadas a 194 y 120 pb respectivamente. 47

Figura 8. Signos de la reacción de infección de la raza RTR de *P. graminis* f. sp. *tritici* en las plantas F3BC1 inoculadas; las plantas resistentes mostraron las reacciones: 0 (A), Fleck (B), 1 (C) y el susceptibles NOIO reacción de infección 4 (D)..... 48

INTRODUCCIÓN GENERAL

El trigo (*Triticum aestivum* L.) lo introdujeron los españoles a México en el siglo XVI, a principios de la década de los veinte, desde entonces ha sido uno de los principales cultivos alimenticios domesticados en el mundo. El trigo se mantiene como el único cereal procesado para la elaboración de pan, y en el caso del trigo duro, cristalino o camarronero (*T. durum*) es utilizado para la elaboración de pastas (Villaseñor y Espitia, 2000). Fue así como las áreas temporeras de los Valles Altos de México y de la región de El Bajío se convirtieron en las principales zonas productoras durante el tiempo de la colonización (Villaseñor y Espitia, 1994).

Antes de iniciar el mejoramiento genético del trigo en México, las variedades que los agricultores sembraban eran mezclas de diferentes tipos muy susceptibles a las roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) y de la hoja (*Puccinia triticina*). El mejoramiento genético se inició formalmente en 1945 y para 1948 los agricultores ya disponían de variedades mejoradas, tales como Gabo 48 y Supremo 211, las cuales fueron introducidas de otros países (Hernández, 1984). A partir de 1951, se comenzaron a usar en la producción comercial las variedades Kentana 48, Yaqui 48 y Mayo 48, que resultaron más rendidoras y resistentes a las royas (Stakman *et al.*, 1969).

El progreso logrado en el mejoramiento genético del trigo durante la década 1950-1960, fue factor muy importante en la producción, debido a que las variedades mejoradas resultaron más eficientes para producción grano. Sin embargo, el potencial de rendimiento de las variedades de esa década (Lerma Rojo, Huamantla Rojo y Nainari 60) no se podía explotar totalmente, debido a que se acamaban con aplicaciones mayores de 60 kg ha⁻¹ de nitrógeno. Esa limitación, al aumento del rendimiento impuesta por el acamado, por ello la decisión de

obtener variedades semi-enanas era necesario (Borlaug, 1969). Hasta 1960, el incremento en el rendimiento promedio nacional fue lento; sin embargo, con la obtención y uso de variedades semi-enanas tales como Pitic S62, Pénjamo 62, Lerma Rojo 64, Mayo 64 y Sonora 64 y la aplicación de cantidades mayores de fertilizantes y el uso de mejores prácticas de cultivo, la producción total aumentó al grado en que el país empezó a ser autosuficiente en la producción de este cereal (Hewitt, 1982), y en 1985 la cosecha record que sobre paso los 5 millones de toneladas (Rodríguez, 1992).

La roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) es una enfermedad que afecta tanto a trigos harineros como a trigos duros, este patógeno causa pérdidas en el rendimiento, lo cual causa un desbalance en su explotación disminuye el rendimiento cuando afecta en edad temprana puede ocasionar pérdidas de hasta el 100% en plantas susceptibles (Herrera-Foseell, 2007)

El uso de variedades resistentes es el principal método de control para la roya del tallo (*P. graminis* f. sp. *tritici*), roya de la hoja (*P. triticina*), roya amarilla (*P. striiformis*). Sin embargo, este método es efectivo por unos cuantos años. Por lo que, se debe tener un programa de mejoramiento constante ante la evolución del patógeno.

La raza RTR de la roya del tallo es la más predominante de las seis razas (GFC, MCC, QFC, RKQ, RTQ y RTR) que se encuentran en México. Hasta la fecha desde 1950 no se han tenido problemas con este patógeno (Huerta *et al.*, 2014). Sin embargo, a nivel mundial con la aparición de la nueva raza TTKSK (Ug99) en 1999 en Uganda, las zonas productoras están en alerta ante el ingreso, debido a su agresividad y movilidad, en el 2002 fue reportada en Kenia, posteriormente en 2003 se detectó en Etiopía, en 2006 en Yemen y Sudan, y en el 2007 fue

detectada en Irán. La cual, a ocasiona pérdidas significativas, por su habilidad en mutar, ha sido difícil obtener un control genético (SENASICA, 2013).

2. OBJETIVOS

Bajo este contexto de acuerdo al impacto que tienen las razas fisiológicas de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* en la productividad del trigo; se planteó la presente investigación fundamentada con los siguientes objetivos:

- Determinar la herencia de la resistencia a la roya del tallo en cuatro genotipos de trigo cristalino a la raza RTR de la roya del tallo *P. graminis* f. sp. *tritici*.
- Evaluar la expresión de la introgresión del gen *Sr47* en la variedad Cirno C2008 mediante la selección asistida por marcadores moleculares y de manera tradicional mediante la reacción de infección de la raza RTR.
- Determinar la resistencia genética a la raza RTR de roya del tallo en tres genotipos de trigo cristalino resistentes a Ug99.

3. HIPÓTESIS

- La resistencia se hereda de forma mendeliana, los progenitores resistentes poseen al menos un gen diferente de resistencia.
- Se logrará la introgresión del gen *Sr47* en al menos una familia Cirno C2008 en al menos una familia.
- Los genotipos RWG35.1, RWG35.2 y RWG35.3 posee al menos un gen de resistencia en común para ambas razas (RTR y Ug99).

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia del trigo cristalino en México

El trigo se clasifica dentro del género *Triticum*, que tuvo su origen en las tierras fértiles de Mesopotamia. La especie *Triticum turgidum* var *durum* Desf. ($2n=4X=28$), conocido como trigo duro, macarrónero o cristalino, es el resultado del cruzamiento natural de dos diploides. Esta especie probablemente se originó en Egipto o cualquier otro país del mediterráneo (Villaseñor y Espitia, 1994).

En México el trigo duro es importante en el Noroeste, donde es cultivado bajo condiciones de riego, específicamente en los Valles del Yaqui y del Mayo, en el Estado de Sonora y en los Valles del Carrizo y del Fuerte, en el Estado de Sinaloa. En esta región se siembran durante el ciclo otoño invierno cerca de 250 mil hectáreas. En el periodo 1999–2000 el consumo nacional industrial fue de 370 mil toneladas, para la exportación se dedicaron 530 mil y la industria porcina demandó 490 mil toneladas, mientras que en los periodos 2000-2003 el consumo nacional aumentó a 420,000 toneladas, se exportaron 360 mil y para la industria porcina fueron destinadas 220,000 (Villaseñor y Espitia, 2000). La producción de trigos harineros en el sur de Sonora fue importante hasta la década de los ochenta, ya que por la aparición de la enfermedad conocida como carbón parcial (*Tilletia indica* Mit), este cultivo fue cuarentenado en esta región mediante la Norma Oficial Fitosanitaria NOM-001-FITO-2001, dando paso a la siembra de trigos duros, especie que es resistente a este hongo.

En México, el trigo cristalino ocupa el segundo lugar de importancia después del maíz, se caracteriza por tener un tipo de grano muy duro, un endospermo con alto contenido de pigmento amarillo (carotenoides), un gluten fuerte y tenaz (no extensible). Se usa en la

industria para elaboración de pastas alimenticias, tales como espagueti, macarrones, sopas secas (Hernández, 1984).

4.2 Importancia de la roya del tallo

Puccinia graminis f. sp. *tritici* es una roya macrocíclica heteroica, debido a que presenta las cinco fases en su ciclo biológico (0 (espermagonios), I (ecios), II (uredinios), III (telios), IV (basidios)) y para completar su ciclo necesita de dos hospedantes (*Berberis vulgare* y *Triticum* sp) (Luig y Rajaram 1972). Las urediniosporas son las estructuras de reproducción asexual, que tienen la capacidad que tiene la capacidad de generar la enfermedad en el trigo, así como la de generar variación genética por mutación al ser sometida a un alta presión de selección (Huerta-Espino *et al.*, 2014)

La roya del tallo causada por *P. graminis* f. sp. *tritici* está constituido por generaciones continuas de uredinios. El hongo se propaga de una planta de trigo a otra y de un campo a otro mediante urediniosporas transportadas por el viento. El inóculo puede ser local (endémico), originado en plantas voluntarias, o ser transportado a grandes distancias (exodémico) por el viento y depositado por la lluvia (Roelfs, *et al.*, 1992). Las condiciones necesarias para que se propague la enfermedad son temperatura, humedad en forma de rocío y horas luz, requiere de temperaturas de 15 a 20 °C, de 6 a 8 h de agua en forma de rocío, para que la urediniospora germine produzca un tubo germinativo en búsqueda de un estoma, para posteriormente desarrollar un apresorio. En el estadio de apresorio, se detiene el desarrollo visible hasta que el apresorio recibe por lo menos 10,000 lux (la cantidad óptima es 16,000 lux). La luz estimula la formación de una púa de penetración que ingresa en un estoma cerrado. Si el esporofito se seca durante el período de germinación, el proceso se interrumpe en forma irreversible. El proceso de penetración toma unas tres horas a medida que la temperatura se eleva de 18 a

30°C (Rowell, 1982), ocurre la penetración y la instalación del micelio del hongo dentro de la planta. Una vez en el interior el micelio crece entre las células y para obtener su alimento desarrolla haustorios. Cuando la hifa intercelular se encuentra con una célula su posición terminal se delimita en un septo la cual da origen a la célula madre haustorial, ocurre la infección y la colonización, lo cual podemos observar los signos en la planta (uredias) las cuales produce urediniosporas para nuevamente producir inóculo. A medida que madura el hospedante, se generan telios directamente desde la infección por urediniosporas, o se pueden producir teliosporas en una pústula de uredinios maduros. Las teliosporas son dicarióticas ($N + N$) y permanecen en la paja hasta la primavera. Durante este período, se produce la cariogamia y las teliosporas se vuelven diploides ($2N$). Con las lluvias primaverales y temperaturas favorables, la teliospora germina, sufre un proceso de meiosis y produce un basidio de cuatro células. Cada célula origina un esterigma con una sola basidiospora haploide ($1 N$). La basidiospora hialina es transportada por el viento a cortas distancias (unos metros) hasta el hospedante alterno *Bérberis*. Las basidiosporas germinan y penetran directamente. Para que se produzca la infección máxima, el tejido foliar del *Bérberis* debe tener menos de dos semanas de edad. La infección por una basidiospora da como resultado la generación de un picnidio ($1N$) que produce un solo tipo de sexo (+ o -), hifas receptoras y picnidiosporas que sirven como gametos masculinos y femeninos. Las picnidiosporas de un sexo deben ser transferidas a las hifas receptoras del sexo opuesto para que se inicie el desarrollo de aeciosporas. Con frecuencia la transferencia de las picnidiosporas es efectuada por insectos atraídos por el néctar que emana del picnidio. El apareamiento de los tipos + y - puede también ser facilitado por la salpicadura de la lluvia, el roce de las hojas, animales más grandes e infecciones vecinas que se unen. Las aeciosporas son dicarióticas ($N + N$) y se

producen en los aecios, generalmente en el reverso de las hojas del *Bérberis*, de 7 a 10 días después de la fecundación. Las aeciosporas son productos de la recombinación genética y difieren en cuanto a su virulencia y agresividad. El grado de variación depende de las diferencias entre los aislamientos progenitores. *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* ha sido cruzado con otras formas especiales (Johnson, *et al.*, 1972).

Las aeciosporas son liberadas del aecio por un proceso higroscópico y son transportadas por el aire hasta el trigo a distancias que fluctúan entre unos metros y tal vez algunos kilómetros. Para la infección, las aeciosporas requieren condiciones similares a las de las urediniosporas. La infección por aeciosporas provoca la producción de uredinios dicarióticos (N + N) con urediniosporas. En el ciclo asexual repetido participan urediniosporas que producen uredinios en un período de aproximadamente 14 días, cuando las condiciones son óptima (Singh *et al.*, 2002)

4.3 Principales razas de la roya del tallo

La roya del tallo estaba compuesta por seis razas fisiológicas (Singh, 1991) en el caso de México (Cuadro 1). Sin embargo, la presencia de los linajes y la aparición de la raza Ug99 en Uganda han mantenido a los programas de mejoramiento genético de todo el mundo en la búsqueda de fuentes de resistencia. La raza TTKSK es un patógeno muy agresivo debido a la habilidad que tiene para mutar, tanto que el linaje Ug99 está compuesto por 13 razas en tan solo siete años. La primera raza reportada como Ug99 fue la raza TTKSK reportada en Uganda (1998/9), en Kenia (2001), en Etiopía (2003), en Sudán (2006), en Yemen (2006), en Irán (2007), en Tanzania (2009), en Eritrea (2012), en Ruanda (2014) y en Egipto (Singh *et al.*, 2016). A partir de la mutación de esta raza se generaron nuevas variantes a las que se les llamo el linaje Ug99, que hasta hoy está compuesto por 13 (TTKSK, TTKSF (Sur de África

(2000), Zimbabwe (2009), Uganda (2012)), TTKST (Kenia (2006), Tanzania (2009), Eritrea (2010), Uganda (2012), Egipto (2014), Ruanda (2014), TTTSK (Kenia (2007), Tanzania (2009), Etiopia (2010), Uganda (2012), Ruanda (2014)), TTKSP (South África (2007)), PTKSK (Uganda (1998/9)?], Kenia (2009), Etiopía (2007), Yemen (2009)), PTKST (Etiopia (2007), Kenia (2008), South África (2009), Eritrea (2010), Mozambique (2010), Zimbabwe (2010)), TTKSF(South África (2010), Zimbabwe (2010)), TTKTT (Kenia (2014)), TTKTK (Kenia (2014), Egipto (2014), Eritrea (2014), Ruanda (2014), Uganda (2014)), TTHSK (Kenia (2014)), PTKTK (Kenia (2014)), TTHST(Kenia (2013))). En el Cuadro 1 se presenta la fórmula de avirulencia/virulencia las razas importantes para México.

4.4 Genes mayores que confieren resistencia a la roya del tallo en trigos

Vanderplank (1963) define la resistencia específica como la relación efectiva a alto nivel contra alguna raza de algún patógeno, la resistencia específica a raza está condicionada por la interacción de genes específicos en el hospedante con los del patógeno. Se detecta fácilmente con razas fisiológicas de un patógeno y es controlada por genes de efecto mayor (Roelfs *et al.*, 1992). La resistencia de raza específica (resistencia vertical, resistencia de plántula, resistencia de genes mayores, respuesta de hipersensibilidad, resistencia monogénica o resistencia cualitativa) depende típicamente de la expresión de genes de resistencia (R), que la planta utiliza para el reconocimiento específico del patógeno invasor que expresa un gen de avirulencia (avr) (Nimchuk *et al.*, 2001).

Cuadro1. Razas fisiológicas que constituyen la población de la roya del tallo de trigo (*P. graminis* f. sp. *tritici*).

Raza	Formula avirulencia/virulencia
GFC*	5,6,7a,7b,8b,9b,10,11,14,36,(Dp2),H/8a,9a,9d,17,21
MCC*	6,8a,9a,9b,9d,11,(14),21,36,Dp2/5,7a,7b,8b,10,17,H
QFC*	6,7a,7b,9b,10,11,14,36,(Dp2),H/5,8a,8b,9a,9d,17,21
RKQ*	7a,10,11,(14),17,Dp2,H/5,6,7b,8a,8b,9a,9d,21,36
RTQ*	7a,10,(14),17,Dp2,H/5,6,7b,8a,8b,9a,9b,9d,11,21,36
RTR*	7a,10,14,Dp2,H/5,6,7b,8a,8b,9a,9b,9d,11,17,21,36
TTKSK (Ug99)	Sr22,24,36,35,SrTmp/5,6,7b,8a,9a,9b,9d,9e,9g,10,11,17+13,21,24,30,31,38 Mcn
TTKSF	-Sr31
TTKST	+Sr31, +Sr24
TTTSK	+Sr31, +Sr36
TTKSP	-Sr31, +Sr24
PTKSK	+Sr31, -Sr21
PTKST	+Sr31, +Sr24, -Sr21
TTKSF	-Sr31, +Sr9h
TTKTT	+Sr31, +Sr24, +SrTmp
TTKTK	+Sr31, +SrTmp
TTHSK	+Sr31, -Sr30
PTKTK	+Sr31, -Sr21, +SrTmp
TTHST	+Sr31, -Sr30, +Sr24

* Todas las razas son avirulentas a los genes *Sr9e*, *12*, *13*, *22*, *23*, *24*, *25*, *26*, *27*, *29*, *30*, *31*, *32*, *33*, *35*, *37*, *Gt*, *Wld*, *W3560* y *Agi*. Son virulentas a los genes *Sr9f*, *9g*, *15*, *28*, *34* y *SrPl*. Genes entre paréntesis indican avirulencia parcial (Singh, 1991). + genes que conservan resistencia, - genes que venció el patógeno. Fuente: Huerta *et al.*, 2014; Rouse and Jin, 2011.

Existe diversos genes que confieren resistencia a la roya del tallo a nivel mundial y los reportados son: *Sr2*, *9h*, *web*, *13*, *21*, *22*, *24*, *25*, *26*, *28*, *32*, *33*, *35*, *36*, *38*, *39*, *43*, *44*, *45*, *47*, *49*, *52*, *55*, *56* y *Cad*, la mayoría confieren resistencia a Ug99 (MAS WHEAT, 2016 (<http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stemrust/index.htm>); McIntosh, 1973, los genes efectivos para las seis razas de *P. graminis* f. sp. *tritici* en México son: *Sr9e*, *12*, *13*, *22*, *23*, *24*, *25*, *26*, *27*, *29*, *30*, *31*, *32*, *33*, *35*, *37*, *47*, *Gt*, *Wld*, *W3560* y *Agi* (Huerta-Espino, *et al.*, 2014).

4.5 Vigilancia epidemiológica de Ug99 ante la posible entrada a México

La introducción, establecimiento y diseminación de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* raza TTKSK (Ug99) en México, representaba una seria amenaza para el cultivo de trigo, este cultivo se establece en 24 estados, los cuales suman una superficie de 689,206 ha, con una producción mayor a los 3, 449 millones de toneladas, y un valor de producción superior a 11 mil millones de pesos (SIAP, 2015).

De acuerdo con la NIMF No. 6, Directrices para la Vigilancia, del 2010 al 2016 se implementaron actividades de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria para la detección temprana y oportuna de la roya negra del tallo del trigo TTKSK (Ug99), a través de las acciones de exploración y parcelas centinelas. Del 2010 al 2013 se exploraron 249,559 ha., con cultivos hospedantes para ésta plaga y se instalaron 270 parcelas centinela, las cuales se revisaron 2,429 veces. En el 2015, la vigilancia de Ug99 se lleva a cabo en los estados de Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala y Zacatecas (SAGARPA-SENASICA-PVEF, 2015a), donde se tiene programada la exploración de 20,145 hectáreas con cultivos hospedantes ubicadas en sitios de riesgo de introducción (SAGARPA-SENASICA-PVEF, 2015b). Derivado de estas acciones a la fecha no se han detectado muestras positivas de esta enfermedad, por lo que en base en lo anterior y de acuerdo con la Norma Internacional de Medidas Fitosanitarias (NIMF) No. 8 de la CIPF el estatus de la roya negra del tallo del trigo es ausente en el territorio nacional. Se ponen a disposición los siguientes medios de comunicación: teléfono (01)-800-98-79-879 y el correo electrónico alerta.fitosanitaria@senasica.gob.mx, ante cualquier detección.

El lunes 13 de junio del 2016 la DGSV-PNVEF, el Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) y el INIFAP-CEVAMEX, arrancaron la campaña de vigilancia y detección de la raza Ug99 con el establecimiento de viveros trampa en las zonas productoras de trigo a través de las instituciones de vigilancia y seguridad alimentaria de cada estado productor de trigo en México.

En el caso de las razas presentes en México se realizan constantes estudios de identificación de razas fisiológicas de *P. graminis* f. sp. *tritici* en la detección de síntomas en las parcelas, y se trabaja en la piramidación de genes de resistencia en las nuevas variedades que se liberan.

4.6 Manejo de la roya del tallo

En México solo son efectivos dos tipos de controles para las royas de trigo:

Genético. El mejoramiento genético es el principal mecanismo para controlar a las royas de los cereales, mediante el empleo de variedades resistentes (Johnson, 1981). En general, las variedades resistentes duran en promedio cinco años en explotación comercial donde la roya es endémica, periodo que equivale a la duración de la vida agronómica de una variedad cuando existe un programa de mejoramiento activo. En algunos países, la roya puede presentarse en algunas variedades que se han sembrado por primera vez y en la mayoría de los casos los fracasos de las variedades resistentes han obedecido al inadecuado conocimiento previo de las razas o virulencias presentes en la población del patógeno. En algunos otros casos se han producido mutaciones o quizás recombinaciones de los factores de virulencia existentes que superaron la resistencia del hospedante (Singh *et al.*, 2000).

Algunos programas de mejoramiento genético para tener resistencia a la roya han funcionado por varios años, la resistencia se expresa como una reacción de infección leve y

otras, con un periodo de latencia más prolongado. Con los estudios de la herencia de la resistencia en trigo, al cruzar una variedad susceptible por una resistente en su progenie, es posible determinar tanto el tipo de acción génica como el número de genes que confiere la resistencia (Zhang y Knott, 1990; Singh *et al.*, 2000). En este tipo de control tiene ventajas sobre el químico, porque no implica costos extra para el productor, y algo muy importante, no causa daño al ambiente (Huerta, *et al.*, 2014).

Químico. Este tipo de control se utiliza cuando se siembra variedades susceptibles; consiste en realizar al menos una aplicación de fungicidas, lo que dependerá de la etapa fenológica en la cual se presente ya que en ocasiones, cuando inicia antes del embuche, será necesario realizar hasta dos aplicaciones. Los productos químicos recomendados para el control de las royas son: Folicur® 250 EW (tebuconazole) a dosis de 0.5 L ha⁻¹, Opus (epoxiconazole) de 0.75 a 1.0 L ha⁻¹, Quilt (azoxystrobin y propiconazole) a dosis de 0.75 a 1.0 L ha⁻¹ (Huerta, *et al.*, 2014).

5. LITERATURA CITADA

- Borlaug N. E. (1969)** Mejoramiento del Trigo: Su impacto en el abastecimiento mundial de alimentos. Sobretiro, el Batán, México, CIMMYT, No.2, 1-40.
- Herrera-Fossel S. (2007)** Enhancing the genetic diversity and durability of leaf rust resistance in durum wheat. Doctoral Thesis. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences.19p.
- Hernández S. A. (1984)** Antecedentes del mejoramiento genético del trigo en México. En: Germen, Bol. Intercambio Científico SOME F J MEXICO. No. 2, 32-45.
- Hewitt de Alcántara C., (1982)** La modernización de la agricultura mexicana 1940-1970. Ed. Siglo Veintiuno. 3a. Edición. México. 31-56.
- Huerta E. J., Rodríguez, G. M. F., Villaseñor M. H. E., R. P. Singh, Martínez, C. E. Hortelano S. R. R., Espitia R. E. (2014)** Descripción de las royas de trigo. Folleto Tec. No. 64. INIFAP-CEVAMEX. 32p.
- Johnson R., R. W. Stubbs, E. Fuchs and N. H. Chamberlain (1972)** Nomenclature for physiological races of *Puccinia striiformis* infecting wheat. Trans. Br. Mycol. Soc. 58 475-480.
- Johnson R. (1981)** Durable disease resistance. (eds) J. F. Jenkyn y R. T. Plumb, Strategies for control of cereal Diseases. Backwell Oxford. 55-63 p.
- Luig N. H. and S. Rajaram (1972)** The effect of temperature and genetic background on host gene expression and interaction to *Puccinia graminis tritici*. Phytopathology. 62: 1171-1174.
- MAS WHEAT (2016).** Marker Assisted Selection in wheat. <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/sr47/> (consultada 21 de Julio de 2016).
- McIntosh R. (1973)** Chromosome location of genes conditioning stem rust resistance transferred from diploid to hexaploid wheat. Nature New Biology. 241: 256.
- Nimchuk Z., Rohmer, L., Chang, J. H., and Dangl, J. L. (2001)** Knowing the dancer from the dance: R gene products and their interactions with other proteins from host and pathogen. Curr. Opin. Plant Biol. 4, 288–294.
- Rodríguez V., J. (1992)** Importancia de trigo en la producción de alimentos en México. In: “I Conferencia Nacional Sobre la Producción de Trigo en México”. Cd. Obregon,

Son., Mexico, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, INIFAP-CIRNO.
P. 9-34.

Roelfs A. P., R.P. Singh y E.E. Saari (1992) Las royas del trigo: Conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. México, D.F.: CIMMYT. 81 pp.

Rouse M. N. and Y. Jin (2011). Genetics of de resistance to race TTKSK of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in *Triticum monococcum*. The American Phytopathological Society. 101:1418-1423.

Rowell J. B. (1982) Control of wheat stem rust by low receptivity to infection conditioned by a single dominant gene. *Phytopathology*. 72: 297-299.

SAGARPA-SENASICA-PVEF (2015a) Manual Operativo para la Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria 2015. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)-Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF).

SAGARPA-SENASICA-PVEF (2015b) Programa de trabajo de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria en los estados de Baja California (PVEF 20), Baja California Sur (PVEF 27), Coahuila (PVEF 03), Chihuahua (PVEF 19), Durango (PVEF 26), Guanajuato (PVEF 05), Hidalgo (PVEF 15), Jalisco (PVEF 31), México (PVEF 22), Michoacán (PVEF 25), Nuevo León (PVEF 18), Oaxaca (PVEF 10), Puebla (PVEF 16), Querétaro (PVEF 06), Sinaloa (PVEF 13), Sonora (PVEF 01), Tlaxcala (PVEF 23) y Zacatecas (PVEF 07). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)-Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF).

SENASICA (2013) Roya del tallo del trigo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici* raza Ug99). Dirección General de Sanidad Vegetal Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica No. 25. 16 p.

SIAP (2015) Anuarios de producción agrícola 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. En línea: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> Fecha de consulta: 06 Mayo de 2015.

- Singh R. P. (1991)** Pathogenicity variations of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. graminis* f. sp. *tritici*. In: wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989. Plant Disease. 75: 790-794.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino y 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., J. Huerta-Espino y A. P. Roelfs (2002)** The wheat rusts. In: Bread wheat. Improvement and production. FAO. Plant production and protection. Series No.30 Rome, Italy.
- Singh, R. P., P. K. Singh, J. Rutkoski, D. P. Hodson, X. He, L. N. Jørgensen, M. S. Hovmøller, and J. Huerta-Espino (2016)** Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. Annual. Review of Phytopathology. 54:1-11
- Stakman E. C., Bradfield R., Mangelsdorf P. C. (1969)** Campaña contra el hambre. Traducido por Rafael Castillo Dibildox. Ed. Uteha (Union Tipográfica Editorial Hispano-americana). México.
- Vanderplank J. E. (1963)** Plant Diseases: Epidemics and Control. Academic Press, New York. 349 pp.
- Villaseñor M., H. E. y E. Espitia R. (1994)** La producción de trigo y la investigación en México. In: Bauer, M., I. Chong, E. Moreno, J. Quintanilla y F. Torres. (eds). "foro de consulta permanente. El Agua y la Energía de la Cadena Alimenticia". México. D.F., Universidad Nacional Autónoma de México. P. 91-104.
- Villaseñor M., H. E. y E. Espitia R. (2000)** El trigo de temporal en México. In: Villaseñor M., H. E. y E. Espitia R (eds). Chapingo Edo. Méx. SAGARPA, INIFAP, CIRCE, Campo Experimental Valle de México.315p.
- Zhang H. and D. R. Knott (1990)** Inheritance of leaf rust resistance in durum wheat. Crop Science 30:1218-1222.

CAPÍTULO I. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A LA ROYA DEL TALLO EN CUATRO GENOTIPOS DE TRIGOS DUROS

Resumen

Se determinó la genética de la resistencia en cuatro genotipos de trigo cristalino (*Triticum durum*) liberados para su siembra en el noroeste de México. Los genotipos 'Atil C2000', 'Samayoa C2004', 'Cirno C2008', y 'Movas C2009' son resistentes a la raza RTR de la roya del tallo, causada por *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; sin embargo, se desconoce el número de genes que les confieren la resistencia. La determinación de la genética de su resistencia fue mediante el análisis de progenies derivadas de las cruzas con la variedad susceptible 'Noio'. La segregación en las generaciones F₃, de la progenie 'Atil C2000' y 'Cirno C2008', se ajustó a tres genes dominantes, dos de los cuales fueron complementarios y uno independiente. Para 'Samayoa C2004' con 'NOIO' la relación fenotípica en la generación F₃ fue 1:2:1 de familias resistentes, segregantes y susceptibles lo cual, indicó la presencia de un gen dominante. La progenie de la craza de 'Movas C2009' con 'NOIO', segregó en la proporción fenotípica 67:176:13 de familias resistentes, segregantes y susceptibles, lo que indicó que éste progenitor posee cuatro genes dominantes complementarios. La ausencia de familias susceptibles entre las cruzas de las variedades resistentes indicaron la existencia de al menos un gen de resistencia en común.

Palabras clave: *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, raza, genes de resistencia, , *Triticum durum*.

GENETICS OF RESISTANCE IN FOUR TO STEM RUST IN DURUM WHEAT GENOTYPES

Abstract

Genetic resistance was determined in four durum wheat genotypes (*Triticum durum*) released for planting in northwest Mexico. The genotypes 'Atil C2000', 'Samayoa C2004', 'Cirno C2008' and 'Movas C2009' are resistant to RTR stem rust race, caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; however, the number of genes that confer resistance is unknown. The determination of genetic resistance was evaluated by analyzing an F₃ progeny derived from crosses between these resistant genotypes and the susceptible variety 'Noio'. The segregation in F₃ generations of 'Cirno C2008' and 'Atil C2000' progeny, was adjusted to three dominant genes, two of which were complementary and one independent. For Noio x 'Samayoa C2004', phenotypic ratio in the F₃ generation was 1:2:1 for resistant, segregant and susceptible families, which indicates the presence of a dominant gene. The progeny of the cross between Noio and 'Movas C2009', segregated with the frequencies 67:176:13, respectively for resistant, segregant and susceptible families, indicating that 'Movas C2009' has four complementary dominant genes. The absence of susceptible families among the crosses derived from resistant varieties indicated the existence of at least one resistance gene in common.

Key words: *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*, race, resistance genes, *Triticum durum*

1.1 Introducción

Las royas son las enfermedades más destructivas en los cereales y pueden afectar desde la etapa de plántula hasta el llenado del grano, ocasionan pérdidas de 51% hasta 100 % bajo alta presión del patógeno (Herrera-Foessel *et al.*, 2006). El mejoramiento genético es el principal mecanismo para controlar a las royas de los cereales, mediante el empleo de variedades resistentes (Johnson, 1981). En general, las variedades resistentes duran en promedio cinco años en explotación comercial donde la roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) es endémica, periodo que equivale a la duración de la vida agronómica de una variedad cuando existe un programa de mejoramiento activo. En México, esta enfermedad ha sido controlada mediante liberación de variedades resistentes y desde 1960 no ha sido un problema en México (Huerta-Espino *et al.*, 2011). En algunos países, la roya del tallo puede presentarse en algunas variedades que se han sembrado por primera vez y en la mayoría de los casos los fracasos de las variedades resistentes han obedecido al inadecuado conocimiento previo de las razas o virulencias presentes en la población del patógeno. En algunos otros casos se han producido mutaciones o quizás recombinaciones de los factores de virulencia existentes que superaron la resistencia del hospedante (Singh *et al.*, 2000).

Algunos programas de mejoramiento genético para tener resistencia a la roya han funcionado por varios años, la resistencia se expresa como una reacción de infección leve y otras, con un periodo de latencia más prolongado a la infección. Con los estudios de la herencia de la resistencia en trigo, al cruzar una variedad susceptible por una resistente en su progenie, es posible determinar tanto el tipo de acción génica como el número de genes que confiere la resistencia (Zhang y Knott, 1990; Singh *et al.*, 2000).

La herencia monogénica se observa de la respuesta de los híbridos F₁; la cual puede ser una respuesta resistente similar a la del progenitor resistente, una respuesta intermedia o susceptible como el progenitor susceptible. En la generación F₂ la proporción de plantas resistentes en relación con las susceptibles indican el número de genes segregantes de resistencia en el cruzamiento de acuerdo a las leyes de Mendel (Singh *et al.*, 2000). Sin embargo, Hanson (1958), menciona que se pueden interpretar proporciones más complejas las cuales dependen del número de familias. Algunas proporciones son difíciles de establecer aun cuando el tamaño de las poblaciones sea grande. Las familias F₃ son útiles para determinar la resistencia a más de una enfermedad, siempre que el progenitor sea susceptible a más de una enfermedad en este caso el progenitor es susceptible a la roya del tallo (Singh *et al.*, 2000). Las interacciones génicas pueden incluir casos que enmascaren o interfieran en un par de genes (interacciones epistáticas) (Strickberger, 1988).

En un estudio realizado por Tais *et al.* (2010), al determinar la resistencia a la pregerminación antes de la cosecha en trigos harineros en las cruzas CD0545 x 'Frontana', encontraron una relación de 57:7, la cual indica la presencia de dos genes dominantes complementarios y un gen dominante independiente. Herrera-Foessel *et al.* (2005), observaron frecuencias en familias de trigos cristalinos de 1:2:1 en las cruzas de Guayacan 2, Guayacan INIA, Storlom, Camayo, Llaretta INIA y Somateria al cruzar con el susceptible 'Atil C2000', las cuales indican que la resistencia a la raza BBG/BN de la roya de la hoja se debe a un solo gen.

La roya del tallo (*P. graminis* f. sp. *tritici*), en el noroeste de México en 1950 fue una de las enfermedades más destructivas y de mayor importancia económica, esta puede ocasionar pérdidas significativas en variedades susceptibles (Singh *et al.*, 2011). En México, las

variedades permanecen resistentes a la roya de tallo. Sin embargo, existe la amenaza continua de la evolución del patógeno ante las condiciones climáticas cambiantes, por lo que, es necesario contar con material genético avanzado en la resistencia de posibles mutaciones del patógeno.

Recientemente no se han realizado estudios de resistencia genética en trigos cristalinos, la falta de ello se debe a que desde 1950 con el efecto de los genes *Sr2*, *Sr7a*, *Sr11*, *Sr13*, *Sr36* entre otros se logró el control en México a la roya del tallo (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Por lo que, se tiene que trabajar en la resistencia en variedades, para contrarrestar la posible evolución del patógeno por la presión de selección que se ha sometido por estos años. Sin embargo, existe la amenaza del ingreso de la raza TTKSK (Ug99), la cual ha sido devastadora en el continente africano y puede llegar a México (Villaseñor, 2006).

Actualmente se desconoce la genética de la resistencia en las variedades de 'Atil C2000', Samayoa C2004', 'Cirno C2008' y 'Movas C2009', consideradas variedades de alto potencial en México por sus altos rendimientos y resistencia a la roya del tallo. Por tanto, se planteó la presente investigación con el objetivo de determinar la herencia de la resistencia a la roya del tallo en 'Atil C2000', 'Samayoa C2004', 'Cirno C2008', y 'Movas C2009'.

1.2 Materiales y Métodos

1.2.1 Material genético

Se utilizaron las variedades de trigo cristalino 'Atil C2000', 'Samayoa C2004', 'Cirno C2008' y 'Movas C2009', estas variedades han sobresalido por su rendimiento, resistencia a las royas del trigo y por la superficie sembrada en el noroeste de México. En el Cuadro 2 se presenta la genealogía de las variedades resistentes y del genotipo susceptible 'NOIO', este

genotipo es susceptible en plántula y planta adulta a todas las razas fisiológicas de la roya del tallo existentes en México, pero en particular a la raza RTR y alcanza una severidad de hasta el 100% en planta adulta y de 4 en la escala del 0-4 en estado de plántula (Roelfs *et al.*, 1992).

1.2.2 Obtención de generaciones F₁, segregantes F₂ y familias F₃

Los progenitores se sembraron en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones en ciclo Otoño-Invierno 2012 en el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) del INIFAP ubicado en Chapingo, México. En marzo de 2013 se efectuaron las cruza de las variedades resistentes con el progenitor susceptible ('NOIO'), y entre las variedades resistentes x resistentes mediante el método emasculación-polinización manual simple (González *et al.*, 2005) (Cuadro 3), de donde se obtuvo la generación filial F₁. Del total de las semillas F₁ provenientes de tres espigas de cada cruza, se sembraron 60 semillas en el ciclo Primavera-Verano/2013 en el CEVAMEX; de cada cruza se cosecharon 150 semillas, las cuales dieron origen a la generación F₂. En diciembre de 2014 se sembraron en el INIFAP Campo Experimental Bajío (CEBAJ) las 10 poblaciones F₂ en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones. Cada población se sembró en una parcela de 5 metros de longitud con una separación de 10 cm entre plantas. Para obtención de las familias F₃ se cosecharon individualmente todas las plantas F₂ de cada cruza.

1.2.3 Evaluación de familias F₃ en plántula

Las familias F₃ y los progenitores se evaluaron en plántula durante el ciclo Primavera-Verano/2015 bajo condiciones de temperatura controladas de invernadero en el Laboratorio Nacional de Royas y otras Enfermedades de Trigo (LANARET) del INIFAP-CEVAMEX. Las familias de cada cruza se sembraron en charolas de plástico (20 x 30 x 6 cm) a las cuales se

Cuadro 2. Genealogía y pedigrí de las cuatro variedades de trigo cristalino resistentes a la roya del tallo y el susceptible 'Noio.'

Variedad	Genealogía/pedigrí
'Atil C2000'	ALTAR 84/SRN_2/3/ALTAR 84/CMH82A.1062//RISSA = SOOTY-9/RASCON-37
'Cirno C2008'	ATIL/CAMAYO
'Samayoa C2004'	SOMAT_4/INTER_8, CDSS95B00181S-0M-1Y-0B-1Y-0B-0Y-0B-14EY-0Y
'Movas C2009'	[(Pinto Mestizo/Pinto Saltillo)-7-4]
'NOIO'	SRRES-SR26/5/2*1A.1D5+106/3*MOJO//RCOL/4/ARMENT//SRN_3/NIGRIS_4 /3/CANELO_9.1

Cuadro 3. Cruzas de cinco variedades de trigo cristalino para determinar la genética de la resistencia a *P. graminis* f. sp. *tritici* raza RTR.

Cruzas	
Resistente x Susceptible	Resistente x Resistente
1.- 'Atil C2000 x 'NOIO'	5.- 'Atil C2000' x 'Cirno C2008'
2.- 'Cirno C2008' x 'NOIO'	6.- 'Atil C2000' x 'Samayoa C2004'
3.- 'Samayoa C2004' x 'NOIO'	7.- 'Atil C2000' x 'Movas C2009'
4.- 'Movas C2009' x 'NOIO'	8.- 'Cirno C2008' x 'Samayoa C2004'
	9.- 'Cirno C2008' x 'Movas C2009'
	10.- 'Samayoa C2004' x 'Movas C2009'

les agregó una mezcla de tierra preparada y peat moss (60:40) se marcaron pequeños surcos y orificios con una plancha de acero(Figura 1). La siembra se efectuó de dos formas: 1) para las cruzas resistentes x susceptibles se sembró en charolas con dos hileras y cinco columnas (capacidad para 10 familias, se colocaron 30 semillas por familia), 2) para las cruzas resistentes x resistentes se sembró en charolas de ocho hileras y seis columnas (capacidad para 48 familias, se colocaron 8 semillas por familia) (Figura 1). Se agregó tierra para tapar las

semillas y se dio un riego ligero. Las charolas se acomodaron en un diseño de bloques completamente al azar con dos repeticiones, las cuales se mantuvieron en invernadero a 20-25°C (Figura 1), se realizó una fertilización a los 5 días después de la emergencia (Figura 1). Se utilizó la raza de roya del tallo RTR (fórmula de avirulencia/virulencia: *Sr7a, 9e, 10, 12, 13, 14, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 32, Dp2, H, Gt, W3560, Agi/Sr5, 6, 7b, 8a, 8b, 9a, 9b, 9d, 9f, 9g, 11, 15, 17, 21, 28, 34, 36 y Pl*) (Singh, 1991), la cual se colectó en Ciudad Obregón, Sonora y se almacenó en un frasco a -80 °C. Para rehabilitar las urediniosporas se dió un tratamiento térmico con agua a 60°C por 5 min (baño María) y luego se rehidrató por 4 h en una cámara húmeda (Mariscal *et al.*, 2009). Plántulas de 10 días de edad se inocularon con aspersiones de urediniosporas de la raza RTR suspendidas en aceite mineral Sotrol®170 (Chevron Phillips Chemical Company LP) a una concentración de $1 \times 10^{-6} \text{ mL}^{-1}$ (Figura 1). Una vez que se inocularon las plántulas se colocaron en cámara de rocío por 9 h y 3 h de luz a 20°C (Figura 1), y después de 16 h, se trasladaron a invernadero a 24°C durante el día y aproximadamente 12°C durante la noche (Figura 1).

1.2.4 Clasificación de las familias

A los 12 días después de la inoculación se registraron los tipos de infección, para la cual, se usó la escala de 0 a 4, de acuerdo con Roelfs *et al.*, (1992) (Figura 2, Cuadro 4). En la escala, las plantas con tipos de infección 0, “;”, 1, 2 y X se consideran resistentes, los tipos de infección 3 y 4 fueron para las plantas consideradas susceptibles. Las familias se clasificaron en tres grupos de acuerdo a la reacción de infección (Singh y Rajaram, 1994). Grupo 1: familias homocigotas con una respuesta de resistencia similar a la del progenitor resistente, grupo 2: familias homocigotas con una respuesta similar a la del progenitor susceptible y

grupo 3: familias heterocigotas segregantes en las que se agrupan familias con plantas resistentes y susceptibles.

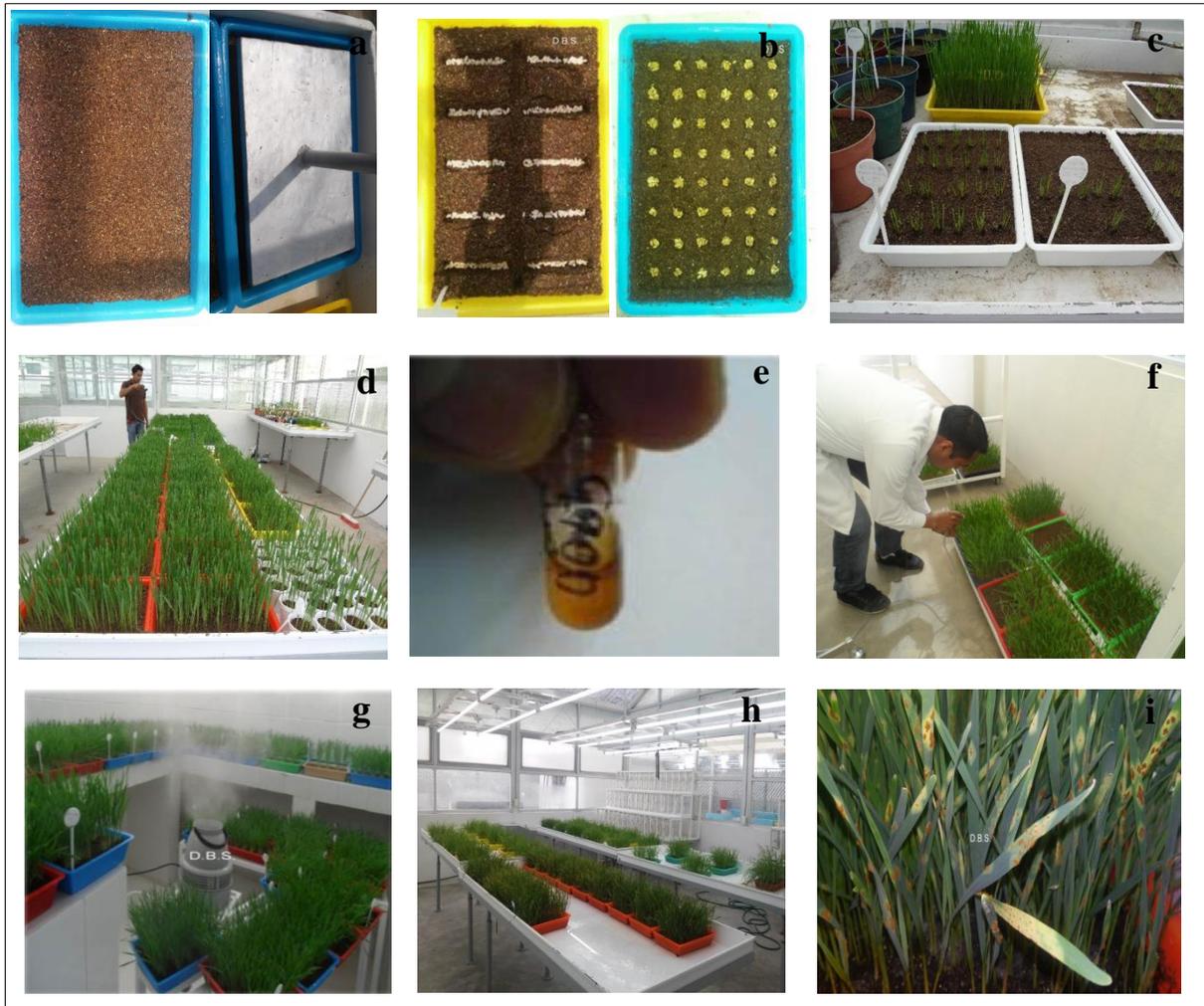


Figura 1.- Evaluación de familias F₃ en plántula con la raza RTR de la roya del tallo: a) preparación de la tierra; b) tipos de siembra (10 y de 48 familias por familia por charola); c) emergencia y cuidados de las plántulas; d) fertilización; e) preparación del inóculo (suspensión de urediniosporas); f) inoculación; g) cámara de rocío; h) plantas en el invernadero después de la inoculación a 24°C; i) plantas lista para tomar las notas de reacción de infección.

1.2.5 Análisis estadístico

Las frecuencias observadas y esperadas se compararon mediante la prueba de Ji-cuadrada (X^2), el valor de tablas y la significancia fue determinada de acuerdo a la X^2 que se obtuvieron de las proporciones de las familias de cada cruce. Para el valor de tablas se usaron n-1 grados de libertad, donde n es el número de grupos de clasificación de familias F_3 (Infante-Gil y Zárate de Lara, 1990).

Cuadro 4. Descripción de reacciones de infección en plántula de trigo para *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*.

Clase	Reacción de infección*	Signos
0	Inmune	Ningún uredinio presente.
; (Fleck)	Casi inmune	Manchas cloróticas o necróticas, sin uredinios presentes.
1	Muy resistente	Uredinios pequeños, rodeadas por necrosis.
2	Resistente	Uredinios pequeños a medianos, rodeadas por una isla verde.
X	Heterogénea	Uredinios de varios tamaños distribuidos aleatoriamente en la hoja.
Y	Heterogénea	Uredinios de varios tamaños distribuidos ordenadamente; estos más grandes en el ápice de las hojas.
Z	Heterogénea	Uredinios de varios tamaños distribuidos ordenadamente; estos más grandes en la base de las hojas.
3	Susceptible	Uredinios de mediano a grande, rodeadas de clorosis.
4	Muy susceptible	Uredinios grandes sin clorosis

*Las reacciones de infección se ajustan de la siguiente manera: =, uredinios muy pequeños en la reacción de infección; -, uredinios algo pequeños en la reacción de infección; +, uredinios grandes en la reacción de infección; ++, uredinios muy grandes en la reacción de infección; C, indica más clorosis de lo normal; N, presencia de necrosis en la reacción de infección.

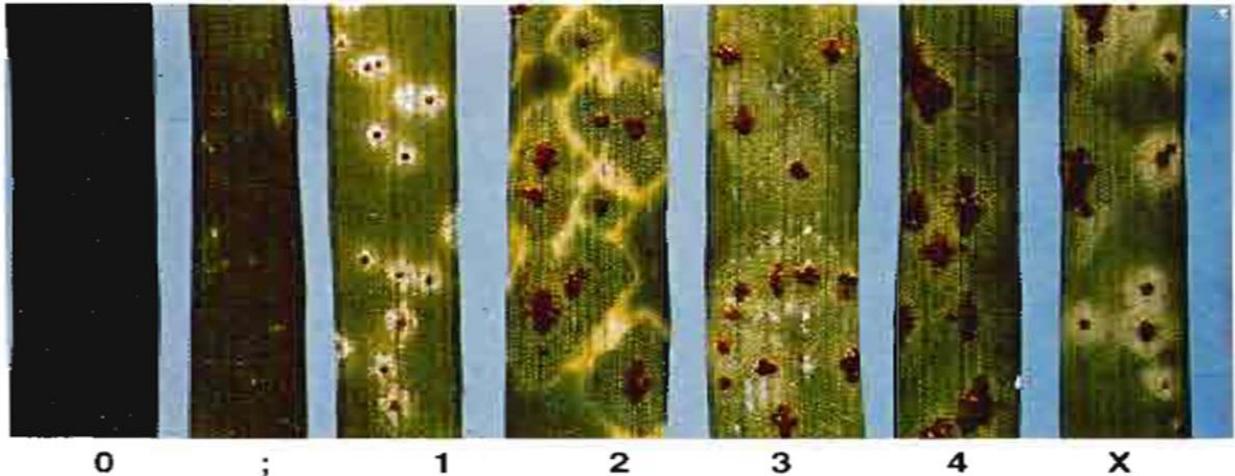


Figura 2.- Escala de reacciones de infección de la roya del tallo *P. graminis* f. sp. *tritici* (Singh y Rajaram, 1994).

1.3 Resultados y Discusión

1.3.1 Pruebas de plántula en invernadero

En la determinación del número de genes se tomó como referencia el número de familias homocigotas susceptibles, bajo el supuesto de que la virulencia del patógeno es recesiva y la resistencia en planta es dominante (Singh *et al.*, 2001). En la mayoría de las cruzas las familias se clasificaron en resistentes, segregantes y susceptibles (Figura 3).

Las frecuencias observadas y esperadas de las familias en plántula de las cruzas resistente x susceptible se muestran en el Cuadro 4. En las cruzas 'Atil C2000' x 'NOIO' y Cirno C2008' x 'NOIO' las frecuencias observadas fueron 29:110:20 y 23:137:19 resistentes: segregantes: susceptibles respectivamente. Para el análisis, se agruparon las familias resistentes y las segregantes las cuales se compararon con la susceptibles; ambas frecuencias se ajustaron a la relación fenotípica 57:7 lo que indica que 'Atil C2000' y 'Cirno C2008' poseen tres genes, dos genes dominantes complementarios de resistencia y un tercer gene con dominancia completa e independiente. Huerta *et al.* (2010), determinaron que la resistencia a roya de la hoja en la

cruza de trigo cristalino Altar + *Lr14a* con Jupare C2001 estuvo condicionada por tres genes de resistencia, dos genes complementarios provenientes de Jupare C2001 y el gen *Lr14a* transferido a la variedad Altar C84, al inocular con la raza BBG/BN. Boskovic *et al.* (2008), al evaluar la progenies F₂, encontraron la frecuencia fenotípica 57:7 al realizar la cruza de los cultivares NS-66/5 x *Lr24*, NS-66/2 x *Lr9* y NS77/2 x *Lr19*; NS-26/2 x *Lr19*, NS-32/1 x *Lr9* y NS-46/3 x *Lr24*; NS-77/3 x *Lr24*, NS-26/1 x *Lr9* y NS-32/3 x *Lr24* e inoculados con los patotipos de la roya de la hoja B.g.s.1289, Is.w.889 y Chl.w.1489, respectivamente. Prijic *et al.* (2010), en un estudio realizado en la base genética de la resistencia duradera a *Puccinia triticina* con las variedades Anastasia y Selektal al cruzarlas con *Lr1*, *Lr2a*, *Lr3*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr16* y *Lr26* las frecuencias se ajustaron a 57:7 al evaluar las poblaciones en F₂. Soleiman *et al.* (2014), al evaluar cultivares de trigo cristalino y variedades locales de España contra la raza DBB/CN de roya de la hoja, en las cruza con el susceptible Somateria y los resistentes Don Valentín y Don Ricardo, el susceptible Jupare (*Lr27+31*) y los resistentes Don Jaime, Don Javier, Don Juan y Colosseo las frecuencias fenotípicas obtenidas fueron de 57:7. Por lo tanto, la segregación en las poblaciones derivadas de las cruza entre los padres resistentes (Atil C2000' y Cirno C2008) con el susceptible ('NOIO') indican un control genético diferenciado de la resistencia a la raza RTR, por lo que, en este estudio la segregación observada para ambos fue de 57:7. Sin embargo, las familias segregantes se incluyeron dentro de las categorías resistentes para facilitar la determinación de la relación fenotípica. Algunas de las causas de la agrupación se deben a la clasificación equivocada de las familias por la considerable variación en la intensidad de la infección, por lo cual es difícil identificar un nivel moderado de resistencia. En este caso es difícil distinguir las familias heterocigotas de las familias homocigotas resistentes, y la tendencia es clasificarlas como resistentes, como lo

hicieron McKenzie y Martens (1968), con las líneas F₃ de las retrocruzas C.I.3034 x Rodney 02 y C. I. 3034 x Rodney ABD2, quienes juntaron las familias en dos clases y obtuvieron frecuencias que se ajustaron a la relación fenotípica para F₂.

En la cruce 'Movas C2009' x 'Noio' las frecuencias observadas en plántula se ajustaron a una proporción 67:176:13, de familias resistentes, segregantes y susceptibles lo que indicó que la resistencia en 'Movas C2009' está condicionada por cuatro genes dominantes complementarios. Cuatro genes de resistencia *SH1*, *SH2*, *SH4* y *SH5* en un solo genotipo se han reportado en *Coffea arabica* contra la roya del café *Hemileia vastatrix* en café silvestre de Etiopia y cultivares comerciales (Castillo y Leguizamon, 1992).

Para la cruce 'Noio' x 'Samayoa C2004' se obtuvieron las frecuencias 48:84:38, resistentes: segregantes: susceptibles, proporción que se ajustó a una relación 1:2:1, que indica que 'Samayoa C2004' posee un gen de resistencia dominante. Esto concuerda con lo reportado con Olivera *et al.* (2008), al realizar estudios de la adhesión en los materiales 1644 y 229 de *Aegilops sharonensis* e inocular con la raza TTTT de *P. graminis* f. sp. *tritici*. Mariscal *et al.* (2007), encontraron la misma relación fenotípica al evaluar trigos duros contra la roya de la hoja al cruzar a 'Atil C2000' x 'Cresso' e inocular con la raza BBG/BN. Herrera-Foessel *et al.* (2005), encontraron que la resistencia a la raza BBG/BN en familias F₃ de las cruces con los progenitores 'Guayacan 2' y 'Guayacan INIA' está condicionada por la presencia de un solo gen. Loladze *et al.* (2014), obtuvieron la misma relación fenotípica 1:2:1 en un estudio de análisis genético de resistencia en seis genotipos de trigo cristalino al realizar la cruce de Amria, Geromtel_3, Tunsyr_2 y Byblos con los susceptibles 'Atil C2000' y Atil*2Local Red e inculados con la raza BBG/GP. Mariscal *et al.* (2009), observaron las mismas frecuencias en familias de avena, en las cruces de Opalo x Avemex y Chihuahua x Avemex al evaluar con el

aislamiento PagMex99.13 y Adhikari *et al.* (1999), observaron en familias F₃ de la cruce Culgoa x Swan la misma frecuencia al evaluar con *Puccinia graminis avenae*. En particular en la cruce de 'NOIO' x Movas C2004' y por las variedades resistentes se observó la presencia de la quemadura de la punta de la hoja lo que se podría indicar la presencia del gen *Lr46/Sr58* (William *et al.*, 2003; Rosewarne *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2008).

Los resultados que se muestran en el Cuadro 5 de las familias F₃ indican que 'Movas C2009' tiene mayor número de genes que le confieren resistencia a la raza RTR, por lo que se puede utilizar para realizar futuras cruces para la obtención de variedades con mayor número de genes de resistencia para la raza RTR.

En el caso de las cruces resistentes x resistentes no se encontraron familias susceptibles lo que indica que las variedades tienen al menos un gen en común. Adhikari *et al.* (1999), al hacer un estudio genético en avena de las colecciones de Australia y Brasil observaron familias resistentes homocigotas y mencionan que la falta de segregantes susceptibles se debió a que los progenitores compartían al menos un gen. Mariscal *et al.* (2010), mencionan que la similitud de los genes de resistencia que se pueden observar al evaluar progenitores de cereales resistentes, es evidente cuando no se observan familias homocigotas susceptibles. En este estudio la evaluación se realizó solo en plántula por los altos niveles de resistencia de los progenitores misma que se expresa en planta adulta, debido a que los genes de resistencia específica en plántula como en planta adulta se conserva (Hanson, 1958; Hsam y Zeller, 2002).

Cuadro 5.-Número de plantas F₃ resistentes y susceptibles observadas frente a la raza RTR de la roya del tallo

Cruza	Total de plantas	Número de plantas observadas			Proporción fenotípica	X ²	Probabilidad
		Resistentes	Susceptibles	Segregantes			
'Atil C2000'/'NOIO'	159	139	20		57:7	0.44	0.5
'Cirno C2008'/'NOIO'	179	160	19		57:7	2.27	0.1
'Movas C2009' /'NOIO'	178	44	6	131	67:176:13	2.99	0.2
'Samayoa C2004' /'NOIO'	170	48	38	84	1:2:1	1.20	0.5

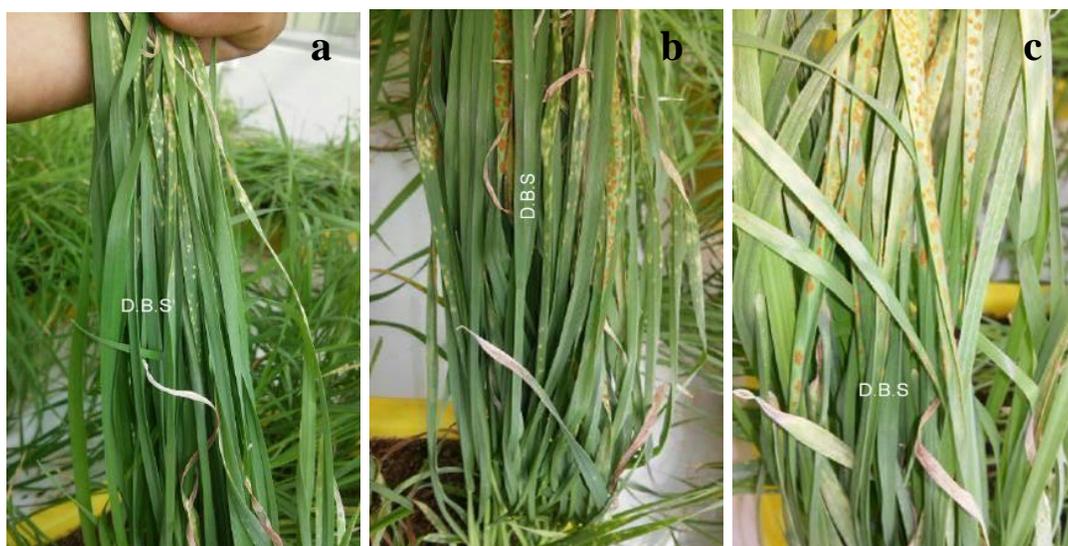


Figura 3.- Clasificación de las familias de las cruzas resistentes x susceptibles: a) Familias resistentes como los progenitores, b) Familias segregantes, c) Familias susceptibles como el Progenitor 'NOIO'.

1.4 Conclusiones

En los cuatro genotipos resistentes, la resistencia a la roya del tallo está condicionada por uno, tres y cuatro genes. La ausencia de familias susceptibles en las cruzas de las variedades resistentes indican la existencia de al menos un gen de resistencia en común.

'Movas C2009' tiene un número mayor de genes y dos genes diferentes a los presentes en 'Atil C2009' y 'Cirno C2008' que le confiere mayor nivel de resistencia.

1.5 Literatura citada

- Adhikari K. N., R. A. McIntosh and J. D. Oates (1999)** Inheritance of the stem rust resistance phenotype *Pg-a* in oats. *Euphytica* 105:143-154.
- Boskovic J., M. Boskovic and Z. Prijic (2008)** Accumulations of genes for durable resistance to wheat leaf rust pathogen. *Journal of Agricultural Sciences* 53:163-172.
- Castillo J. and J. Leguizamon (1992)** Virulencia de *Hemileia vastatrix* determinada por plantas diferenciales de café en Colombia. *CENICAFE-Colombia* 43:114-124.
- González E. A., E. Solís M. y S. Wood (2005)** Impacto Económico del Mejoramiento Genético del Trigo en México: Variedad Salamanca S75. Publicación Técnica No. 16 INIFAP-SAGARPA. México. 62 p.
- Hanson W. D. (1958)** Minimum family sizes for the planning genetic experiments. *Agronomy Journal* 51:711-715.
- Herrera-Foessel S. A., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, J. Yuen, A. Djurle (2005)** New genes for leaf rust resistance in CIMMYT durum wheat. *Plant Disease* 89:809-814.
- Hsam S. L. K. and J. Zeller F. (2002)** Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) In: The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. R. R. Belanger, W. R. Bushnell, A. J. Dik, and T. L. w. Carver (Eds). American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp:219-238.
- Huerta-Espino J. and R. P. Singh. (2000)** Las royas del trigo. In: El Trigo de Temporal en México. Villaseñor M., E. Espitia R (eds). SAGAR, INIFAP, CIR-CENTRO CEVAMEX. México. pp:231-251.

Huerta E. J., R. P. Singh, H. E. Villaseñor, M., E. Solis M., E. Espitia R. y S. G. Leyva M.

(2010) Transferencia del gen Lr14a de trigos harineros a trigos cristalinos y expresión de la resistencia a roya de la hoja. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:1-8.

Huerta-Espino J., H. E. Villaseñor-Mir, E. Espitia R., E. Solís-Moya and M. Van Ginkel

(2011) The history of wheat breeding in Mexico. In: The wheat book V2 history of wheat breeding. Alain P. Bonjean, William J. Angus, Maarten van Ginkel (eds). Londres, Paris-New York. pp:275-308.

Infante-Gil. S., y G. P. Zárate de Lara (1990) Métodos estadísticos: un enfoque interdisciplinario. 2ª ed. Trillas. México, D.F. 643 p.

Johnson R. (1981) Durable disease resistance: Definition of, Genetic Control, and Attainment in Plant Breeding. *The American Phytopathological society* 71:567-568.

Loladze A., D. Kthiri, C. Poniak and K. Ammar (2014) Genetic analysis of leaf rust resistance in six durum wheat genotypes. *Phytopathology* 104:1322-1328.

Mariscal A. L. A., S. J. Leyva M., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M. (2007) Genética de la resistencia a roya de la hoja (*Puccinia triticina* E.) en líneas elite de trigos duro. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30:33-38.

Mariscal A. L. A., J. Huerta-Espino, H. E. Villaseñor M., S. J. Leyva M., S. Sandoval I y I. Benítez R. (2009) Genética de la resistencia a roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *ave-nae* Erikss. & Henning) en tres genotipos de avena (*Avena sativa* L.). *Agrociencia* 43: 869-879.

Mariscal A. L. A., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M., S. G. Leyva, M., J. S. Sandoval I y I. Benítez R. (2010) Prueba de similitud de genes con resistencia a roya del tallo en genotipos de avena. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 1:541-554.

- McKenzie R. I. H. and J. W. Martens (1968)** Inheritance in the oat strain C. I. 3034 of adult plant resistance to race C10 of stem rust. *Crop Science* 8:625-627.
- Olivera P. O., E. Millet, Y. Anikster, and B. J. Steffenson (2008)** Genetics of resistance to wheat leaf rust, stem rust, and powdery mildew in *Aegilops sharonensis*. *Phytopathology* 98:353-358.
- Prijic Z. and Z. Jerkovic (2010)** Genetic base of durable resistance to *Puccinia triticina* of two Serbian varieties. *Genetika* 42:307-312.
- Roelfs A. P., and J. V. Groth (1989)** *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* black stem rust of *Triticum* spp. In: Advances in Plant Pathology. Ingram D. S. and Williams P. H (eds). *Genetics of Plant Pathology* 6:345-361.
- Roelfs A. P., R. P. Singh y E. E. Saari (1992)** Las royas del trigo: conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y trigo (CIMMYT). El Batán, Texcoco, Estado de México. 81p.
- Rosewarne G. M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. M. William, S. Bouchet, H. Cloutier, H. McFadden, and E. S. Lagudah (2006)** Leaf tip necrosis, molecular Markers and 1-proteasome subunits associated with the slow rusting resistance genes Lr46/Yr29. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 500-508.
- Singh R. P. (1991)** Pathogenicity variation of *Puccinia recóndita* f. sp. *tritici* and *P. graminis* f. sp. *tritici* in wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989. *Plant Disease* 75:790-794.
- Singh R. P. and S. Rajaram (1994)** Genetics of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72: 1-7.

- 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 Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 35: 133-139.
- Singh R. P., J Huerta-Espino., M. William (2001)** Slow rusting genes based resistance to leaf and yellow rust in wheat: Genetics and Breeding at CIMMYT. In: Wheat Breeding Society of Australia, Inc. 10th Assembly Proc. R. Eastwood, G. Hollamby, T. Rathjen, N. Gororo (eds). 16-21 Sep 2001. Mildura, Australia. pp:103-108.
- Singh R. P., J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. Herrera-Fossel, D. Singh, P. Singh, G. Velu, R. Mason, Y. Jin, P. Njau and J. Crossa (2011)** Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179: 175-186.
- Soleiman N. H., I. Solis, K. Ammar, S. Dreisigacker, M. H. Soleiman and F. Martinez (2014)** Resistance to leaf rust in a set of durum wheat cultivars and landraces in Spain. *Journal of Plant Pathology* 96:353-362.
- Strickberger M. W. (1988)** Genética. Traducción de Genetics de la 3 (ed). 1985. Barcelona: omega.869 p.
- Tais D. S. L., R. J. Barth P., F. De Asis F. and I. Schuster (2010)** Inheritance and potential use of grain color in the identification in wheat. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 10:218-224.
- Villaseñor M. H. E (2006)** Estrategia para la liberación de variedades de trigo en México. In: Memoria de resúmenes del XXI Congreso Nacional y I Internacional de Fitogenética. Del 3 al 8 de septiembre del 2006 Tuxtla Gutiérrez, Chis. P-46.

Zhang J. X., R. P. Singh, J. A. Kolmer, J. Huerta-Espino, Y. Jin and J. A. Anderson

(2008) Genetics of leaf rust resistance in Brambling wheat. *Plant Disease* 92: 1111-1118.

Zhang H. and D. R. Knott (1990) Inheritance of leaf rust resistance in durum wheat. *Crop*

Science 30:1218-1222.

William M. R., R. P. Singh, J. Huerta E., I. Ortiz, J. and Hoisington (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.

**CAPÍTULO II. DETECCIÓN DE LA INTROGRESIÓN DEL GEN *Sr47* EN LA
VARIEDAD CIRNO C2008 DE TRIGO MEDIANTE MARCADORES
MOLECULARES**

Resumen

La raza TTKSK de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* es una amenaza en la producción de trigo, en las variedades de alto rendimiento que se producen en México. Un gen de resistencia *Sr47* identificado en *Aegilops speltoides* y transferido en trigos duros confiere resistencia a esta raza. Se puede determinar la introgresión del gen *Sr47* mediante el uso de marcadores moleculares polimorficos, monogénicos dominantes (*Xwms501*), dominante de repulsión (*Xgwm47*) y co-dominantes (*Xrwgs38*, *Xgpw4165*), y de manera tradicional mediante la reacción a la inoculación de la raza RTR en el caso de México. El análisis molecular de 141 familias de F3BC1, provenientes de la cruce IIA.2342/Cirno C2008; y de la retrocruza IIA.2342/2*Cirno C2008 basado en los marcadores *Xwms501*, *Xgwm47*, *Xrwgs38* y *Xgpw4165* permitió la identificación de la inserción del gen *Sr47* en 63 plantas. Las 141 familias mostraron resistencia a la raza presente en México.

Palabras clave: *Aegilops speltoides*, *Puccinia graminis*, marcadores moleculares.

**DETECTION OF GENE INTROGRESSION *Sr47* IN WHEAT VARIETY CIRNO
C2008 BY MOLECULAR MARKERS**

Abstract

The stem rust race TTKSK of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* is a threat to wheat production in high-yielding varieties produced in Mexico. *Sr47*, a resistance gene identified in one of the wheat ancestors *Aegilops speltoides* (Tausch) and transferred into durum wheat gives resistance to this race. The introgression of the *Sr47* gene can be depicted using a set of polymorphic molecular markers: a dominant monogenic marker (*Xwms501*), a dominant repulsive marker (*Xgwm47*) and two co-dominant markers (*Xrwgs38*, *Xgpw4165*) and in a traditional manner by testing the infection type to the RTR race in the case of Mexico. Molecular analysis of 141 F3BC1 families allowed the identification of 63 families with the *Sr47* gene insertion based on the different markers (*Xwms501*, *Xgwm47*, *Xrwgs38* and *Xgpw4165*). The 141 families showed resistance to the RTR race in Mexico.

Key words: *Aegilops speltoides*, *Puccinia graminis*, molecular markers.

2.1 Introducción

La roya del tallo, causada por *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, es una enfermedad que disminuye el rendimiento del trigo (*Triticum aestivum* L.) hasta 70 %. Esta enfermedad incrementó su importancia ante la presencia de la raza TTKSK, debido a su virulencia al gen de resistencia *Sr31* de trigos usados en muchos programas de mejoramiento genético (Pretorius *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2006). El control químico en este caso, es caro y no sustentable, por lo que se recomienda sembrar variedades resistentes (Huerta-Espino y Singh, 2000). La resistencia a la roya del tallo se basa en la relación gen-por-gen y la sostenibilidad de la resistencia depende de la disponibilidad y manejo cuidadoso de genes de resistencia, por lo que, el mejoramiento genético es continuo. Sin embargo, la constante liberación de variedades resistentes va a la par con la pérdida de resistencia por la evolución del patógeno, y en consecuencia, disminuye la vigencia del germoplasma resistente en los campos de los productores.

Un método tradicional de mejoramiento es la incorporación de genes de resistencia dentro de un área geográfica particular, lo que generalmente es poco durable debido a que se manejan uno o dos genes con efectividad total hacia las razas presentes en el área. La combinación de un mayor número de diferentes genes de resistencia a *P. graminis* f. sp. *tritici* con efectividad parcial y total, proporciona una resistencia durable y estable (Anderson, 1998). En el trigo esto se logra con el uso de estrategias como la piramidación de genes.

Los materiales silvestres de trigo son fuentes de genes de resistencia a plagas y enfermedades, tales como las royas. Se han identificado cerca de 45 genes de resistencia a la roya del tallo, de los cuales se reportan la transferencia de 20 genes procedentes de parientes silvestres transferidos a trigos cultivados (McIntosh *et al.*, 2003). La mayoría de los genes *Sr*

se han caracterizado por sus reacciones a la raza TTKSK en plántula (Pretorius *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2006; Wanyera *et al.*, 2006).

La adopción de herramientas moleculares que complementen el mejoramiento genético tradicional del cultivo puede facilitar la selección de variedades resistentes especialmente a piramidación de genes. El uso de estrategias de selección asistida por marcadores moleculares en el mejoramiento genético de la resistencia a la roya del tallo es una alternativa que permite tener una respuesta rápida y efectiva de caracteres cuantitativos.

La variedad Cirno C2008 de trigo se caracteriza por su alto rendimiento (7.7 a 12.0 t ha⁻¹); desde 1950 no se había obtenido una variedad con estos rendimientos y características agronómicas. Esta variedad presenta una altura de 65 a 87 cm, su ciclo es de 136 a 145 d, el grano es semielíptico de color ámbar, presenta resistencia a la roya de la hoja (*P. triticina*) y moderadamente resistente a la roya lineal (*P. striiformis* f. sp. *tritici*) (Félix *et al.*, 2010), y resistente a las razas de roya del tallo que existen en México e inclusive es resistente a Ug99.

El gen de resistencia *Sr47* se deriva de una adhesión (PI 369590) de *Aegilops speltoides* hacia trigos cultivados a través de la recombinación homóloga inducida *ph1b* a un fondo de trigo duro (línea DAS15). La introgresión está situada en el cromosoma T2BL-2SL-2SS, el telómero 2BL compone al menos 10 % del brazo (Faris *et al.*, 2008). Se ha encontrado que en realidad el segmento de *Ae. speltoides* lleva dos genes de resistencia, el *Sr39* y el *Sr9*, el segundo gen ha sido asignado como gen *Sr47* (Klindworth *et al.*, 2012), el cual es altamente eficaz contra la raza TTKSK (Faris *et al.*, 2008), por ello la importancia de la introgresión del gen *Sr47* hacia la variedad Cirno C2008 para darle una mayor resistencia contra la roya del tallo.

El objetivo de este estudio fue determinar la introgresión del gen *Sr47* en la variedad Cirno C2008, mediante el uso de selección asistida por marcadores moleculares y de manera tradicional mediante la reacción a la inoculación de la raza RTR.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal

En el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) ubicado en Chapingo, Méx., se sembró la variedad Cirno C2008 y la línea donadora del gen *Sr47* IIA.2342 (Langdon/Minda*Carlenton*Khapli*Ld 308/Stewart*Carleton); se realizó la cruce de tres espigas entre ambos genotipos. La semilla F_1 se sembró en diciembre de 2012 en el CEVAMEX. En marzo de 2013 se hicieron las retrocruzas IIA.2342/2*Cirno C2008 con 25 espigas, mediante la técnica de emasculación-polinización manual simple (González *et al.*, 2005) (Figura 4), para obtener la semilla F_1 de la retrocruza (F1BC1). Esta semilla se sembró en surcos de 1 m de forma mateada en el ciclo V-O/2013; se obtuvo un total de 141 plantas en F1BC1; la cosecha de las espigas fue individual, obteniéndose la generación F2BC1, la que se sembró en el ciclo O-I/2013 en Roque, Guanajuato. Las plantas se cosecharon como F3BC1 (Figura 5).



Figura 4. Técnica de emasculación-polinización manual simple para cruces: a) emasculación; b) espigas cubiertas con bolsas de glassine después de la polinización; c) semilla F_1 obtenida de las cruces.

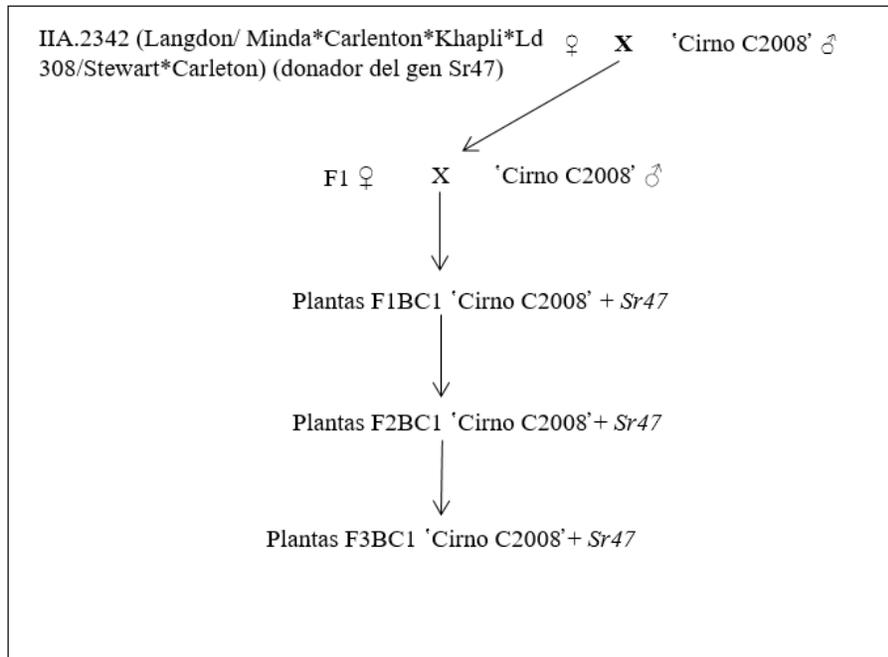


Figura 5. Esquema de cruzamientos para la introgresión del gen *Sr47* de resistencia a la roya del tallo a la variedad 'Cirno C2008'.

2.2.2 Análisis de marcadores moleculares

Para la extracción del ADN se sembró las 141 familias F3BC1 y los controles 'Cirno C2008' (-) y IIA.2342 con el gen *Sr47* (+) de forma mateada en surcos de 1 m en el ciclo V-O/2014; las hojas se cosecharon el 21 de julio de 2014, en bolsas de glassine y en tubos (Micro Tube Strips of 8 Attached 1.1 mL de la marca Micro Pack) colocados en placas de 96 (coleccion Microtubes Cracked 10 x 96), de las cuales se procedió a mantener en congelación durante 2 d, para posteriormente liofilizar y realizar la extracción de ADN; mediante la técnica de extracción ADN-CTAB descrita por Saghai-Marooof *et al.* (1984), pero modificada en los Protocolos del Laboratorio de Mejoramiento Molecular del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (<http://repository.cimmyt.org/xmlui/handle/10883/3221>). Se realizó una cuantificación de

ADN en el NanoDrop 8000 (Thermo Scientific), se colocó 1 μ L de la muestra a cuantificar y se corrió el programa.

La verificación de la introgresión del gen *Sr47* se realizó mediante la técnica de reacción de cadena de la polimerasa (PCR); se utilizó los marcadores: *Xwms501* (dominante), *Xgwm47* (dominante de repulsión) (Faris *et al.*, 2008) y *Xrwgs38*, *Xgpw4165*, *Xwmc332* y *Xwmc627* (co-dominantes) (Klindworth *et al.*, 2012). Se procedió a realizar la mezcla de reacción para la PCR con los siguientes componentes: 2.05 μ L ddH₂O, 2.0 μ L buffer 5 \times T6, 0.6 μ L MgCl₂ 25 mM, 0.8 μ L de dNTPs, 2.5 μ L de cada Primer, 0.05 μ L Taq polimerasa y 3 μ L de ADN de cada muestra, se obtuvo un total 10 μ L de cada muestra, la cual se colocó en microplacas de PCR de 384 pozos de la marca Midsci, para introducirlas en un termociclador (Applied Biosystems 9700). Para realizar el acondicionamiento de los marcadores moleculares se realizaron las pruebas con los programas SSR50 (1 ciclo: 94°C \times 2 min, 30 ciclos: 94°C \times 2 min, 55°C \times 1min, 72°C \times 1min, y 1ciclo: 72°C \times 5 min), SSR52, SSR54, SSR55, SSR56 y SSR60, se describen en los protocolos de CIMMYT (<http://repository.cimmyt.org/xmlui/handle/10883/3221>), con variación en la temperatura dependiendo del marcador. Se usó las diluciones de 1 y 2 μ molar de los marcadores. Concluida la reacción se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 2 % y acrilamida al 12 %, se visualizó en el foto-documentador para verificar la generación de los productos esperados (Figura 6).

2.2.3 Evaluación de la enfermedad y resistencia

Las semillas de las 141 familias, y los progenitores ('Cirno C2008' y IIA.2342) y 'NOIO' (trigo duro susceptible) se sembraron en charolas de plástico de 20 x 30 x 5 cm, se agregó una mezcla de tierra preparada y Peat Moss (60 y 40 %), se marcó con una plancha de acero 48

orificios de aproximadamente 1 cm de profundidad por charola, en donde se colocó 8 semillas y se dio un riego ligero. Las charolas se mantuvieron en un invernadero, entre 20 y 25°C. La inoculación se efectuó a los 9 d, se asperjó una suspensión en aceite mineral (Sotrol® 170) con esporas de 1×10^{-1} de la raza RTR (cuya fórmula de avirulencia/virulencia a los genes es: 7a, 9e, 10, 12, 13, 14, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 32, Dp2, H, Gt, w3560, Agl/5, 6, 7b, 8a, 8b, 9a, 9b, 9d, 9f, 9g, 11, 15, 17, 21, 28, 34, 36 y Pl (Singh, 1991)), en la lámina foliar de las plántulas con boquillas finas conectadas a un compresor. Se colocaron en una cámara de humedad, sometidas a 12 h de rocío y posteriormente se llevó a un invernadero a una temperatura de 20 a 24°C.

La evaluación se realizó cuando el testigo susceptible 'NOIO' presentó un grado infección de 4, de acuerdo con la escala de la roya del tallo en trigo propuesta por McIntosh *et al.* (1995).

2.3 Resultados y Discusión

La concentración del ADN fue de 430 ng ml⁻¹ en promedio, y la pureza del ADN fue de 1.87 en relación A260/A280 lo que indica que el ADN extraído es de buena calidad e integridad (Valadez, 2000) pues Tapia-Tussell *et al.* (2006) consideran un rango aceptable a los valores de 1.8 -2.0.

Las amplificaciones seleccionadas fueron con los programas SSR50, SSR52 y SSR55. Con los marcadores dominantes (*Xwms501* y *Xgwm47*) se permite diferenciar las plantas con y sin la inserción del gen *Sr47*. Con el marcador dominante *Xwms501* se observa la amplificación de una banda de 109 pares de bases (pb) en aquellas plantas en las que se logró insertar el gen *Sr47* (Figura 7); sin embargo, con el marcador *Xgwm47* dominante de repulsión, se aprecian dos bandas de aproximadamente 165 pb en aquellas plantas sin el gen

Sr47 (Figura 7); los marcadores *Xwms501* y *Xgwm47* son complementarios en la verificación de la presencia del gen *Sr47*. Estos resultados coinciden con los reportados por Faris, *et al.* (2008) y Klindworth *et al.* (2012) al reportar las mismas amplificaciones obtenidas de los marcadores *Xwms501* y *Xgwm47*. Sin embargo, el comportamiento del gen *Sr47* puede ser diferente entre los genotipos *Sr47-1*, *Sr47-2* y *Sr47-3*.

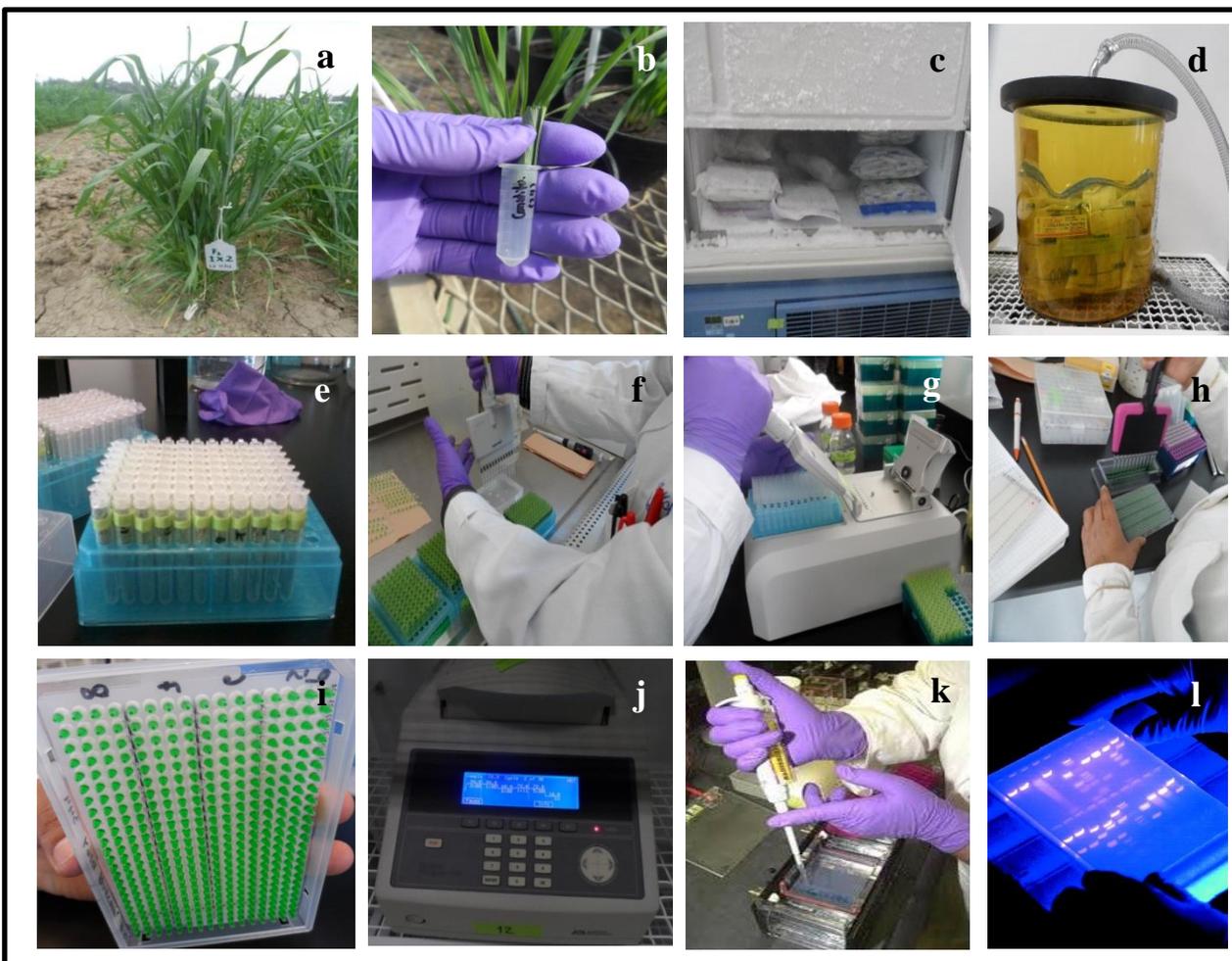


Figura 6. Análisis molecular: a) población *Sr47* sembrada en campo; b) cosecha de hojas para la extracción de ADN; c) d) liofilizado del tejido; e) tejido molido; f) extracción de ADN por el método CTAB; g)cuantificación; h) Preparación del mix para la PCR; i) placa de PCR con las muestras; J) programa SSR para la PCR; k) gel de agarosa 2.5% para la amplificación de las muestras; l) amplificación de las muestras.

Klindworth *et al.* (2012), proponen los controles *Sr47-1*, *Sr47-2* y *Sr47-3* para diferenciar las plantas que poseen el gene *Sr47* en esas tres regiones del cromosoma; en este caso, se utilizó *Sr47-1*.

La amplificación de los marcadores co-dominantes polimórficos *Xrwgs38* y *Xgpw4165* permite separar plantas homocigotas y heterocigotas; en este caso, se tomó como referencia a los controles ('Cirno C2008' y *Sr47-1*) para la separación en la Figura 7 se observa que con el marcador *Xrwgs38*, la banda que presentó 'Cirno C2008' (de 194 pb) se logró diferenciar las plantas en las categorías: AA, Aa y aa: con el marcador polimórfico *Xgpw4165* se obtuvo una amplificación de una banda clave a 120 pb, que está ligada al gen *Sr47*, por lo que se tomó como referencia para descartar a las plantas heterocigotas de las plantas homocigotas, separándolas de acuerdo con las bandas presentadas por el control *Sr47-1* (Figura 7). Klindworth *et al.* (2012) encontraron las mismas amplificaciones con estos marcadores en la diferenciación de plantas receptoras del gen *Sr47*.

Con los cuatro marcadores se logró separar las plantas homocigotas con el gen *Sr47* como es el caso de las plantas 1, 3, 8, 12 y 14 en donde presentaron una banda 109 pb con el marcador *Xwms501* y con el marcador *Xgwm47* ausencia de bandas. Sin embargo, con el *Xgpw4165* hay presencia de una banda de 120 pb, pero ausencia de la banda de 194 pb en el marcador *Xrwgs38* (Figura 7). Sin embargo, las plantas homocigotas sin el gen (2, 5, 7, 9, 10, 13, 15, 17, 18, 19 y 21) solo amplificó para *Xgwm47* las dos bandas ubicadas a 165 pb en los marcadores dominantes y la banda de 120 pb en *Xgpw4165*, pero no hubo presencia de la banda de 194 pd del marcador *Xrwgs38* (Figura 7). Las plantas hetrocigotas 4, 6, 11, 16, 20 y 22 amplificaron con los marcadores *Xwms501* (banda de 109 pb) y *Xgpw4165* (banda de 120 pb), pero no para *Xgwm47* (ausencia de las bandas 165 pb) y *Xrwgs38* (ausencia de la banda

de 194 pb) (Figura 7). Con los marcadores Xwmc332 y Xwmc627 no se obtuvieron amplificaciones para diferenciar la variación genética de las familias F3BC1.

De acuerdo con las leyes mendelianas el comportamiento de la población para una retrocruza la relación fenotípica es 5:3, lo que equivale a 88.12 familias AA, y 52.87 familias aa (*Sr47*). Esta ley se cumple debido a que progenitor donador del gen *Sr47* proviene de una población de varias retro-cruzas con Langdon poseedor del gen *Sr47* (Langdon/Minda*Carlenton*Khapli*308 /Stewart*Carleton). En este caso se obtuvieron 63 familias receptoras del gen *Sr47* y 78 sin el gen *Sr47*.

2.3.1 Análisis de resistencia de las plántulas

El análisis de virulencia mostró que las familias inoculadas (141), y los progenitores ('Cirno C2008' y IIA.2342) fueron resistentes a la raza RTR, pues de acuerdo con la escala de Singh (1991) mostraron reacciones de infección 0 (ningún uredinio existente), Fleck ((;)) manchas cloróticas o necróticas, sin uredinios presentes) y 1 (uredinios pequeños, rodeados por necrosis) (Figura 8 A, B y C). Por lo contrario, el testigo susceptible 'NOIO' presentó una reacción de infección 4 (uredinios grandes sin clorosis) (Figura 8 D). Esto se debe a que ambos progenitores tienen un gen distinto que les confiere resistencia a la raza RTR.

Singh (1991) reportó que la raza RTR presenta avirulencia al gen *Sr9e*, por lo que, a este gen se le atribuye la resistencia. Sin embargo, en el caso de la variedad 'Cirno C2008' se desconoce el gen que le confiere la resistencia a la raza RTR.

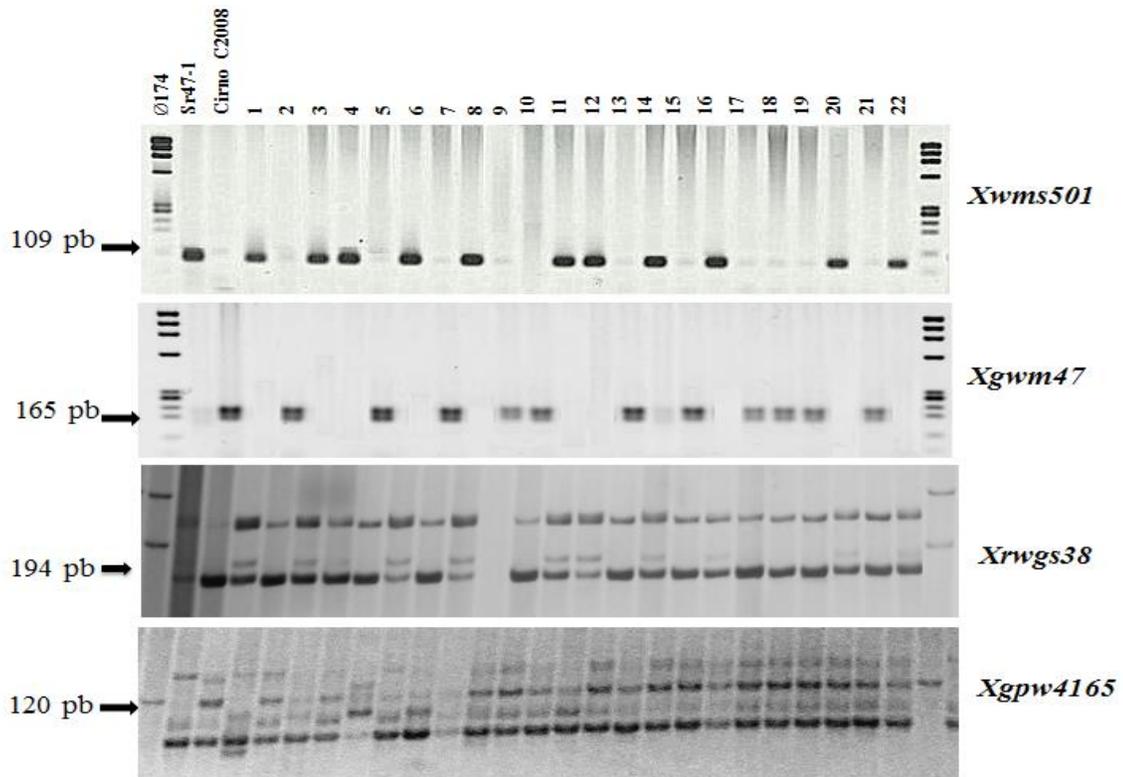


Figura 7. Amplificación de los marcadores moleculares *Xwms501*, *Xgwm47*, *Xrws38* y *Xgpw4165* en 22 plantas de la población F3BC1. Las flechas indican el fragmento buscado que representa la presencia o ausencia del gen *Sr47*. El marcador *Xwms501* presenta una banda de 109 pb en plantas portadoras del gen. Con el marcador dominante de repulsión (*Xgwm47*) las plantas sin el gen presentan dos bandas ubicadas a 165 pb, con el *Xrws38* y *Xgpw4165* se logra diferenciar las plantas homocigotas y heterocigotas con la presencia de las bandas ubicadas a 194 y 120 pb respectivamente.

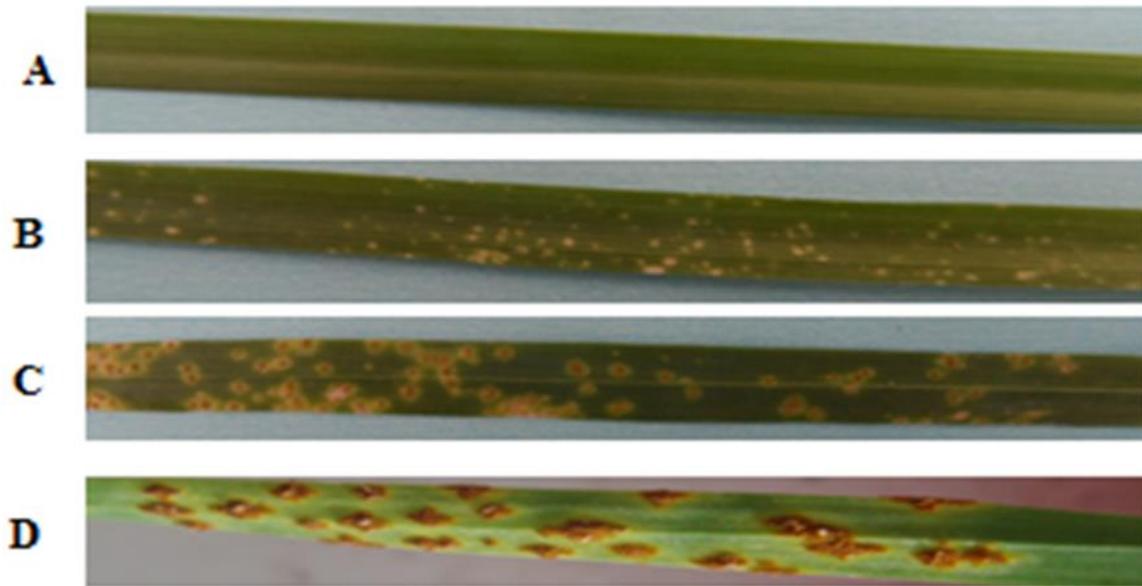


Figura 8. Signos de la reacción de infección de la raza RTR de *P. graminis* f. sp. *tritici* en plantas de familias F₃ (F3BC1) inoculadas; las plantas resistentes mostraron las reacciones: 0 (A), Fleck (B), 1 (C) y el testigo susceptibles 'NOIO' reacción de infección 4 (D).

2.4 Conclusiones

El análisis molecular de 141 familias F3BC1, basado en los loci de los marcadores (*Xwms501*, *Xgwm47*, *Xrwgs38* y *Xgpw4165*) permitió la identificación de la inserción del gen *Sr47* en 63 familias. Las 141 familias fueron resistentes a la raza presente en México RTR. Para preservar la resistencia a la roya de tallo, se recomienda continuar con la inserción del gen *Sr47* a trigos harineros, para obtener resistencia más amplia (piramidación de genes) a la raza TTKSK en los trigos cultivados en México.

2.5 Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado que hizo posible la realización de los estudios de Doctorado del primer autor, al Colegio de Postgraduados, al CIMMYT y al INIFAP por el financiamiento de esta investigación.

2.6 Literatura citada

- Anderson J. A. (1998)** Marker assisted selection of disease resistance genes in wheat. In: Application of Biotechnologies to Wheat Breeding. M. M. Kohli and M. Francis. Eds. INIA. La Estanzuela. Uruguay. pp 71-88.
- Faris J. D., S. S. Xu, X. Cai, T. L. Friesen, and Y. Jin. (2008)** Molecular and cytogenetic characterization of a durum wheat-*Aegilops speltoides* chromosome translocation conferring resistance to stem rust. *Chromosome Res.* 16: 1097–1105.
- Félix F. J. L., P. Figueroa L., G. Fuentes D., V. Valenzuela H., G. Chávez V., y J. A. Mendoza L. (2010)** CIRNO C2008: variedad de trigo cristalino para el noroeste de México. INIFAP-CIRNO-CEVY. 20 p.
- González E. A., E. Solís, M., y S. Wood (2005)** Impacto Económico del Mejoramiento Genético del Trigo en México: Variedad Salamanca S75. Publicación Técnica No. 16 INIFAP-SAGARPA. 62 p.
- Huerta-Espino J. y R. P. Singh (2000)** Las royas del trigo. In: El Trigo de Temporal en México. Villaseñor, M. H. y R. E: Espitia. Eds. SAGARPA, INIFAP, CIR-Centro y CEVAMEX. México. pp: 231-251.
- Klindworth D. L., J. D. Miller, and S. S. Xu (2006)** Registration of rusty durum wheat. *Crop Sci.* 46: 1012–1013.

- Klindworth L. D., Z. Niu, S. Chao, T. L. Friesen, Y. Jin, J. D. Faris, X. Cai, and S. S. Xu. (2012)** Introgression and characterization of a Goatgrass gene for a high level of resistance to Ug99 stem rust in tetraploid wheat. *G3*. 2: 665-673.
- McIntosh R. A., R. C. Wellings, F. R. Park (1995)** Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. Plant Breeding Institute. The University of Sydney. Ed. CSIRO. Australia. 200 p.
- McIntosh R. A., Y. Yamazaki, K. M. Devos, J. Dubcovsky, W. J. Rogers, and R. Appels (2003)** Catalogue of gene symbols for wheat. *In*: Tenth International Wheat Genetics Symposium. N. P. Pogna, M. Romano, E. A. Pogna, and G. Galterio. Eds. Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura. Paestum, Italy. 47 p.
- Pretorius Z. A., R. P. Singh, W. W. Wagoire, and T. S. Payne (2000)** Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant Dis.* 84: 203.2-203.2.
- Saghai-Marouf M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen, and R. W. Allard (1984)** Ribosomal DNA sepaer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:8014-8019.
- Singh R. P (1991)** Pathogenecity variations of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. graminis* f. sp. *tritici* in wheat-growing areas of de México during 1988 and 1989. *Plant Dis.* 75:790-794.
- Singh R. P., D. P. Hodson, Y. Jin, J. Huerta-Espino, M. G. Kinyua, R. Wanyera, P. Njau, and R. W. Ward (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.* CABI.54: 1-13.

Tapia-Tussell R., P. Lappe, M. Ulloa, A. Quijano-Ramayo, M Cáceres-Farfán, A.

Larqué-Saavedra, and D. Pérez-Brito (2006) A rapid simple method for DNA extraction from yeast and fungi isolated from *Agave fourcroydes*. Mol. Biotechnol. 33: 67-70.

Valadez M. E., y G. Kahl (2005) Huellas del ADN en Genomas de Plantas (Teoría y Protocolos de Laboratorio). Mundi-Prensa, México. 147 p

Wanyera R., M. G. Kinyua, P. O. Njoro, Y. Jin, and R. P. Singh (2006) The spread of stem rust caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, with virulence on *Sr31* in wheat in Eastern Africa. Plant Dis. 90:113.

**CAPÍTULO III. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A LA RAZA RTR DE ROYA
DEL TALLO EN TRES GENOTIPOS DE TRIGO CRISTALINO RESISTENTES A
UG99**

Resumen

Este estudio se realizó durante el ciclo primavera-verano 2016 en condiciones controladas del Laboratorio Nacional de Royas y otras Enfermedades de Trigo (LANARET) del INIFAP-CEVAMEX con la finalidad de determinar la resistencia de tres genotipos de trigos cristalinos (*Triticum turgidum* var. *durum*) de los cuales se desconoce su comportamiento a la raza RTR de roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) presente en México. La raza RTR es la más predominante de las seis razas (GFC, MCC, QFC, RKQ, RTQ y RTR) que se encuentran en México. Para determinar la resistencia de los genotipos RWG35.1, RWG35.2 y RWG35.3 se hicieron cruces con el genotipo susceptible 'NOIO'. Se evaluó la segregación de la progenie en la generación F₃. Los resultados sugieren que la resistencia en plántula a la raza RTR en la progenie de estas cruces está condicionada por un gen dominante, la cuál puede ser debido a la presencia del gen *Sr47* determinada molecularmente lo que les confiere la resistencia no solo a la raza RTR, pero también a la raza TTKSK (Ug99). La ausencia de familias susceptibles entre la progenie de las cruces de las variedades resistentes indicó la existencia del gen *Sr47* en común.

Palabras claves: *Triticum turgidum* var. *durum*, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Sr47*.

**GENETICS OF RESISTANCE TO RTR RACE OF STEM RUST IN THREE
GENOTYPES OF DURUM WHEAT RESISTANT TO Ug99**

Abstract

This study was conducted during the spring-summer 2016 cycle under controlled conditions National Laboratory Rusts and other diseases of wheat (LANARET) INIFAP-CEVAMEX in order to determine the strength of three genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*) of which their behavior is unknown to the RTR race of stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) present in Mexico. The RTR race is the most dominant of the six races (GFC, MCC, QFC, RKQ, RTQ and RTR) found in Mexico. To determine the resistance of RWG35.1, RWG35.2 and RWG35.3 genotypes were you cross with the susceptible genotype Noio. Progeny segregating F₃ generation was evaluated. The results suggest that seedling resistance to the RTR race in the progeny of these crosses is conditioned by a dominant gene, which may be due to the presence of certain *Sr47* gene molecularly which gives them the strength not only to race RTR also to TTKSK (Ug99) race. The absence of susceptible families among the progeny of the crosses of resistant varieties indicated the existence of *Sr47* gene in common.

Key words: *Triticum turgidum* var. *durum*, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Sr47*.

3.1 Introducción

La roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) afecta principalmente al trigo, aunque también puede afectar a cebada, centeno y plantas silvestres como agracejo europeo. En México se han reportado seis razas (Singh, 1991). La raza RTR es la de mayor importancia, la cual ocasionó pérdidas importantes de hasta el 80%. Sin embargo, en 1999 en Uganda surge una nueva raza más virulenta, debido a su gran capacidad para mutar y de dispersión. La mayoría del germoplasma mundial presenta susceptibilidad ante esta nueva raza, por lo que se considera una enfermedad de importancia económica a nivel mundial.

Nazari *et al* (2009), mencionan que en el 2002 fue reportada en Kenia, posteriormente en 2003 se detectó en Etiopía, en 2006 en Yemen y Sudan, y en el 2007 fue detectada en Irán. Por otro lado, Pretorius *et al.* (2010) indican que la raza Ug99 fue detectada en Sudáfrica en el año 2009. Ninguna otra raza de la roya del tallo se ha observado para superar tantos genes de resistencia de trigo, incluyendo el gen *Sr31* muy importante. Para el año 2007, Ug99 (raza TTKSK) se había extendido a través de los movimientos del viento fuera de África Oriental, en Yemen y hasta Irán (Singh *et al.*, 2016).

TTKSK (Ug99) fue la primera raza conocida de *P. graminis* f. sp. *tritici* con virulencia al gen resistencia *Sr31*. Sin embargo, dada la habilidad que tiene el patógeno de mutar, tanto que en siete años sean identificadas trece variantes dentro del linaje Ug99 (Singh *et al.*, 2016). Las variantes muestran una huella de ADN idéntica, pero difieren en los patrones de virulencia. Genes de resistencia importantes adicionales, por ejemplo, *Sr24* y *Sr36* ahora han sido vencidos por las variantes de Ug99. El grupo de la raza Ug99 está presente en 13 países, siendo Egipto el más reciente país en el que se detectó el grupo de raza Ug99 (Rouse y Jin, 2011).

Las últimas variantes son: TTKSF +, detectado en Sudáfrica y Zimbabwe a partir de muestras colectadas en 2010 (Pretorius *et al* 2012); TTHST (colectadas en Kenia 2013); TTKTT, TTKTK. PTKTK y TTHSK (Patpour *et al* 2015, Fetch *et al*, 2016). Todas las colectas en Kenia en 2014. Todas las variantes se consideran mutaciones de un solo paso, virulencia adquirida a los genes adicionales importantes *Sr*, sobre todo *Sr24* y *Sr36*, se sabe de Kenia (*Sr24*, *Sr36*), Egipto (*Sr24*), Eritrea (*Sr24*), Etiopía (*Sr24*, *Sr36*), Mozambique (*Sr24*), Ruanda (*Sr36*, *Sr24*), Sudáfrica (*Sr24*), Tanzania (*Sr24*, *Sr36*), Uganda (*Sr24*, *Sr36*) y Zimbabwe (*Sr24*). La raza TTKST, cambia la virulencia en *Sr31* + *Sr24*, causado epidemias en Kenia en 2007. Las cepas de Ug99 que llevan combinado virulencia *Sr31* + *Sr24* se están extendiendo rápidamente por toda África y se considera probable que se extienda aún más en el futuro. Además, la virulencia al gen *SrTmp* ahora ha sido adquirida por las últimas variantes detectadas en Kenia (es decir, la raza TTKTT, TTKTK y PTKTK). Al menos una de estas variantes (TTKTK) parece propagarse rápidamente, también se detectó en 2014 en Egipto, Eritrea, Ruanda y Uganda (Patpour *et al.*, 2015).

La distribución de las variantes Ug99 es por el viento o asistida por el hombre, a otros países de África, Asia, y más allá es evidente. Proyección en Kenia y Etiopía ha identificado una baja frecuencia de las variedades de trigo resistentes y materiales de reproducción. Identificación y transferencia de nuevas fuentes de resistencia a la raza específica de varios familiares de trigo está en marcha para mejorar la diversidad de la resistencia. Aunque las nuevas variedades resistentes a Ug99 que rinden más que las variedades populares actuales están siendo liberados y promovidos, hay que realizar grandes esfuerzos para desplazar a las variedades susceptibles a Ug99 actuales con las variedades que tienen resistencia a la diversa raza específica o durable y mitigar la amenaza Ug99.

El gen de resistencia a *Sr47* fue transferido de *Aegilops speltoides* (PI 369590) a través de la recombinación homóloga *ph1b* inducida a un fondo de trigo duro que resulto en la línea DAS15. Este gen se encuentra en T2BL-2SL-2SS del cromosoma, y confiere resistencia a un gran número de razas fisiológicas de *P. graminis* f. sp. *tritici*, incluyendo a TTKSK (Ug99).

En México se implementan actividades de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria para la detección oportuna de esta plaga, a través de áreas de exploración en 18 Entidades del país. Derivado de estas acciones, a la fecha no se han detectado muestras positivas, por lo que con base en lo anterior, y de acuerdo a lo establecido en la NIMF No. 8, el estatus de la roya negra del trigo es Ausente: no hay registro de la plaga. Por lo tanto, de acuerdo a la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias NIMF No. 5, Glosario de términos fitosanitarios, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, cumple con la definición de plaga cuarentenaria, ya que se encuentra ausente en el país y puede potencialmente causar pérdidas económicas en cultivos hospedantes.

Los programas de mejoramiento genético de México deben introducir nuevo germoplasma con resistencia a las variantes Ug99 pero evaluar a ante las razas existentes en México, por ello se planteó la presente investigación con el objetivo de determinar la resistencia de tres genotipos de trigos cristalinos (*Triticum turgidum* var. *durum*) de los cuales se desconoce su comportamiento a la raza RTR de roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) presente en México pero poseen el gen *Sr47* de resistencia a Ug99.

3.2 Materiales y Métodos

Se estudiaron tres genotipos invernales (RWG35.1, RWG35.2 y RWG35.3) de trigo cristalino resistentes a la raza Ug99 de la roya del tallo *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Estos genotipos la fuente de resistencia de *Sr47* efectivo en contra de la razas provenientes del linaje

de Ug99. El genotipo susceptible 'NOIO' es susceptible en plántula y planta adulta a las razas fisiológicas de la roya del tallo existentes en México, pero en particular a la raza RTR y alcanza una severidad de hasta el 100% en planta adulta y de 4 en la escala del 0-4 en estado de plántula (Roelfs *et al.*, 1992).

3.2.1 Obtención de generaciones F₁, segregantes F₂ y familias F₃

Los progenitores se sembraron en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones en ciclo Otoño-Invierno 2013 en el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) del INIFAP ubicado en Chapingo, México. En marzo de 2014 se efectuaron las cruza de las variedades resistentes con el progenitor susceptible ('NOIO') por el método emasculación-polinización manual simple (González *et al.*, 2005) para obtener la generación filial F₁. Del total de las semillas F₁ provenientes de tres espigas de cada cruza, se sembraron 60 semillas en el ciclo Primavera-Verano/2015 en el CEVAMEX; de cada cruza se cosecharon 150 semillas, las cuales dieron origen a la generación F₂. En diciembre de 2015 se sembraron en el INIFAP Campo Experimental Bajío (CEBAJ) las poblaciones F₂ en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones. Cada población se sembró en una parcela de 5 metros de longitud con una separación de 10 cm entre plantas. Para obtención de las familias F₃ se cosecharon individualmente todas las plantas F₂ de cada cruza.

3.2.2 Evaluación de familias F₃ en plántula

Las familias F₃ y los progenitores se evaluaron en plántula durante el ciclo Primavera-Verano/2016 bajo condiciones de temperatura controladas de invernadero en el Laboratorio Nacional de Royas y otras Enfermedades de Trigo (LANARET) del INIFAP-CEVAMEX. Las familias de cada cruza se sembraron en charolas de plástico de 48 entradas, también se sembraron las diferenciales de la roya del tallo que se utilizan en México.

Las charolas se acomodaron en un diseño de bloques completamente al azar con dos repeticiones, las cuales se mantuvieron en invernadero a 20-25°C. Se utilizó la raza de roya del tallo RTR cuya fórmula de avirulencia/virulencia: *Sr7a, 9e, 10, 12, 13, 14, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 32, Dp2, H, Gt, W3560, Agi/Sr5, 6, 7b, 8a, 8b, 9a, 9b, 9d, 9f, 9g, 11, 15, 17, 21, 28, 34, 36* y *Pl* (Singh, 1991), se colectó en Ciudad Obregón, Sonora. Plántulas de 10 días de edad se inocularon con aspersiones de urediniosporas de la raza RTR suspendidas en aceite mineral Sotrol®170 (Chevron Phillips Chemical Company LP) a una concentración de 1×10^6 mL⁻¹. Posteriormente se colocaron en una cámara de rocío por 9 h y 3 h de luz a 20°C, y después de 16 h, se trasladaron a invernadero a 24°C durante el día y aproximadamente 12°C durante la noche.

3.2. 3 Clasificación de las familias

A los 12 días después de la inoculación se registraron los tipos de infección, para la cual, se usó la escala de 0 a 4, de acuerdo con Roelfs *et al.*, (1992). En la escala, las plantas con tipos de infección 0, “;”, 1, 2 y X se consideran resistentes, los tipos de infección 3 y 4 fueron para las plantas consideradas susceptibles. Las familias se clasificaron en tres grupos de acuerdo a la reacción de infección (Singh y Rajaram, 1994). Grupo 1: familias homocigotas con una respuesta de resistencia similar a la del progenitor resistente, grupo 2: familias homocigotas con una respuesta similar a la del progenitor susceptible y grupo 3: familias heterocigotas segregantes en las que se agrupan familias con plantas resistentes y susceptibles.

3.2.4 Análisis estadístico

Las frecuencias observadas y esperadas se compararon mediante la prueba de Ji-cuadrada (X^2), el valor de tablas y la significancia fue determinada de acuerdo a la X^2 que se obtuvieron de las proporciones de las familias de cada cruce. Para el valor de tablas se usaron n-1 grados

de libertad, donde n es el número de grupos de clasificación de familias F_3 (Infante-Gil y Zárate de Lara, 1990).

3.3 Resultados y discusiones

Los resultados sugieren que la resistencia en plántula a la raza RTR en la progenie de estas cruzas (NOIO/RWG35.1, NOIO/RWG35.2 y NOIO/RWG35.3) está condicionada por un gen dominante, debido a las frecuencias observadas 51:100:58; 52:93:54 y 61:111:46 de resistentes:segregante:susceptibles, se ajustaron a la relación fenotípica 1:2:1, lo que indica que la resistencia se debe a un gen dominante (Cuadro 6). Esta relación fenotípica es reportada por Herrera-Foessel *et al.* (2005), observaron frecuencias en familias de trigos cristalinos de 1:2:1 en las cruzas de Guayacan 2, Guayacan INIA, Storlom, Camayo, Llaretta INIA y Somateria al cruzar con el susceptible 'Atil C2000', las cuales indican que la resistencia a la raza BBG/BN de la roya de la hoja se debe a un solo gen.

Mariscal *et al.* (2007), encontraron la misma relación fenotípica en otro patosistema al evaluar trigos duros contra la roya de la hoja al cruzar a 'Atil C2000' x 'Cresso' e inocular con la raza BBG/BN. Al igual Olivera *et al.* (2008), al realizar estudios de la adhesión en los materiales 1644 y 229 de *Aegilops sharonensis* e inocular con la raza TTTT de *P. graminis* f. *sp. tritici*. Mariscal *et al.* (2009), observaron las mismas frecuencias en familias de avena, en las cruzas de Opalo x Avemex y Chihuahua x Avemex al evaluar con el aislamiento PagMex99.13. Loladze *et al.* (2014), determinaron que la resistencia se debe a un gen dominante en un estudio de análisis genético de resistencia en seis genotipos de trigo cristalino al realizar la cruce de Amria, Geromtel_3, Tunsyr_2 y Byblos con los susceptibles 'Atil C2000' y Atil*2Local Red e inculados con la raza BBG/GP.

La resistencia en los genotipos RWG35.1, RWG35.2 y RWG35.3 en plántula es conferida por el gen *Sr47*, el cual, les confiere la resistencia no solo a la raza RTR, también a la raza TTKSK (Ug99). La ausencia de familias susceptibles entre la progenie de las cruza de las variedades resistentes indicó la existencia de *Sr47* en común.

El gen *Sr47* en plántula posee resistencia “;” en los tres genotipos de acuerdo a la escala de tipos de infección propuesta Roelfs *et al.* (1992), estos mismos autores reportan que los genes *Sr13*, *Sr24* y *Sr29* están involucrados en la reducción del tamaño de las uredinios en la resistencia a la roya del tallo.

La introducción de nuevo germoplasma con genes de resistencia a Ug99 y a las razas locales existentes en México, representa una buena alternativa para lo mejoradores al proporcionales nuevas fuentes de resistencia que puede introducir al germoplasmas mediante la piramidación de genes para la obtención de variedades con más de dos genes de resistencia a las royas de trigo en México.

3.4 Conclusiones

Ninguno de los genotipos RWG35.1, RWG35.2 y RWG35.3 fue susceptible a la raza RTR de la roya del tallo. Sus resistencia se basó en reacciones de hipersensibilidad “;”. Los tres trigos cristalinos poseen el gen de resistencia *Sr47* en común; el cual, les confiere resistencia a las razas RTR y Ug99 (TTKSK). Este gen confiere resistencia tanto en plántula como en planta Adulta.

Cuadro 6.- Distribución y frecuencias relativas de las familias F₃ en plántula de las cruzas NOIO/Sr47.

Cruza	Grupo										
	No. de familias F ₃				Frecuencia relativa				No. de genes	TABLA-X ²	CAL X ²
	Resis (1)	Seg (2)	Suscep (3)	T	1	2	3	Relación			
NOIO/ RWG35.1	51	100	58	209	52.3	104.5	52.3	1:2:1	1	5.99	0.8564
NOIO/ RWG35.2	52	93	54	199	49.8	99.5	49.8	1:2:1	1	5.99	0.889
NOIO/ RWG35.3	61	111	46	218	54.5	109	54.5	1:2:1	1	5.99	2.137
NOIO/Total	164	331	131	626	156.5	313	156.5	1:2:1	1	5.99	5.54

Resis (resistentes); Seg (segregantes), Suscep (susceptibles); T (total); TABLA-X² (X² de tablas); CAL(X² calculada); 2 gL, α 0.05.

3.4 Literatura consultada

- González E. A., E. Solís M. y S. Wood (2005)** Impacto Económico del Mejoramiento Genético del Trigo en México: Variedad Salamanca S75. Publicación Técnica No. 16 INIFAP-SAGARPA. México. 62 p.
- Herrera-Foessel S. A., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, J. Yuen, A. Djurle (2005)** New genes for leaf rust resistance in CIMMYT durum wheat. *Plant Disease* 89:809-814.
- Infante-Gil S., y G. P. Zárata de Lara (1990)** Métodos estadísticos: un enfoque interdisciplinario. 2ª ed. Trillas. México, D.F. 643 p.
- Kolmer J. A., Jin Y, Long D. L. (2007)** Wheat leaf and stem rust in the United States. *Australian Journal of Agricultural Research* 58: 631-638.
- Loladze A., D. Kthiri, C. Poniak and K. Ammar (2014)** Genetic analysis of leaf rust resistance in six durum wheat genotypes. *Phytopathology* 104:1322-1328.
- Mariscal A. L. A., S. J. Leyva M., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M. (2007)** Genética de la resistencia a roya de la hoja (*Puccinia triticina* E.) en líneas elite de trigos duro. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30:33-38.
- Mariscal A. L. A., J. Huerta-Espino, H. E. Villaseñor M., S. J. Leyva M., S. Sandoval I y I. Benítez R. (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.
- Nazari K., Mafi, M., Yahyaoui., Singh, R. P. and Park, R. F. (2009)** Detection of Wheat steam Rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) Race TTKSK (Ug99) in Iran. *Plant disease*, 93(3): 317.

- Olivera P. O., E. Millet, Y. Anikster, and B. J. Steffenson (2008)** Genetics of resistance to wheat leaf rust, stem rust, and powdery mildew in *Aegilops sharonensis*. *Phytopathology* 98:353-358.
- Pretorius Z. A., L. J. Szabo, W. H. P. Boshoff, L. Herselman and B. Visser (2012)** First Report of a New TTKSF Race of wheat stem rusts (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in South Africa and Zimbabwe. *Plant Disease*. 100: 1495.
- Pretorius Z. A., C. M. Bender, and B. Visser (2010)** First Report of a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Race Virulent to the Sr24 and Sr31 Wheat Stem Rust Resistance Genes in South Africa. *Plant Sciences* .94: 784.
- Roelfs A. P., R. P. Singh y E. E. Saari (1992)** Las royas del trigo: conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y trigo (CIMMYT). El Batán, Texcoco, Estado de México. 81p.
- Rouse M. N. and Y. Jin (2011).** Genetics of de resistance to race TTKSK of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in *Triticum monococcum*. The American Phytopathological Society. 101:1418-1423.
- Singh R. P. (1991)** Pathogenicity variation of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. graminis* f. sp. *tritici* in wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989. *Plant Disease* 75:790-794.
- Singh R. P. and S. Rajaram (1994)** Genetics 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. He, L. N. Jørgensen, M. S. Hovmøller, and J. Huerta-Espino (2016)** Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. *Annual. Review of Phytopathology*. 54:1-11

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

4.1 Conclusiones generales

- Las variedades de trigo cristalino que se siembran en México su resistencia genética a la roya del tallo *P. graminis* f. sp. *tritici* está condicionada por un, tres y cuatro genes, todas comparten al menos un gen de resistencia en común. La variedad 'Movas C2009' tiene un mayor número de genes de resistencia por lo tanto tiene un mayor nivel de resistencia.
- De las 141 familias obtenidas de la F3BC1 de la cruce Cirno C2008, con los marcadores moleculares se identificaron 63 plantas con el gen *Sr47*. Los marcadores que nos ayudaron en esta población fueron *Wms501* y *Xgwm47* (dominantes) y los Co-dominantes *Xrwns 38* y *Xgpn4165*.
- Los tres genotipos RWG35.1, RWG35.2 y RWG35 presentaron resistencia a la raza RTR de la roya del tallo. Poseen el gen de resistencia *Sr47* en común; el cual, les confiere resistencia a las razas RTR y Ug99 (TTKSK). Este gen confiere resistencia tanto en plántula como en planta Adulta.

4.2 Recomendaciones

- Utilizar la variedad 'Movas C2009' como fuente de resistencia en los programas de mejoramiento genético. Analizar las cuatro variedades con marcadores moleculares para identificar los genes que le confieren resistencia a la roya del tallo, si fueran diferentes, hacer piramidación de genes.
- Se recomienda continuar con la inserción del gen *Sr47* a trigos harineros, para obtener resistencia a la raza TTKSK en los trigos cultivados en México. Utilizar los marcadores moleculares de diagnóstico *Wms501* y *Xgwm47*, *Xrwns 38* y *Xgpn4165* para el gen *Sr47*.

- Se recomienda introducir el gen *Sr47* en la mayoría del germoplasma mexicano para tener resistencia a las variantes de Ug99, para tener resistencia ante el ingreso de la raza TTKSK.