

HERENCIA DE LA RESISTENCIA DEL TRIGO (*Triticum aestivum* L.) HUITES F95 A ROYA AMARILLA CAUSADA POR *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* W.

INHERITANCE OF RESISTANCE TO YELLOW RUST CAUSED BY *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* ON HUITES F95 WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

María F. Rodríguez-García^{1,2}, Julio Huerta-Espino^{2*}, Reyna I. Rojas-Martínez¹, Ravi Prakash-Singh³, Héctor E. Villaseñor-Mir², Emma Zavaleta-Mejía¹, Sergio Sandoval-Islas¹, Francisco Crossa³, Caixia Lan³

¹Fitosanidad. Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Apartado Postal 10, 56250, Km 13.5 Carretera Los Reyes-Texcoco, Coatlinchán, Texcoco, Estado de México. (j.huerta@cgiar.org). ³Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Apartado Postal 6-641, 56237 Km. 45 Carretera México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Estado de México.

RESUMEN

El trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) es uno de los cereales más importantes en el mundo, su producción en años recientes fue afectada por la roya amarilla (RA), causada por el hongo *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. La siembra con variedades resistentes ha permitido contrarrestar los efectos de la enfermedad en algunas partes del mundo. Las plantas adultas de la variedad mexicana de trigo harinero Huites F95 han mostrado resistencia a la roya amarilla (RPA) desde su liberación. La hipótesis de este estudio fue que genes menores confieren la resistencia a roya amarilla en la variedad Huites F95. El objetivo fue determinar el tipo de resistencia y estimar el número de genes que la condicionan. Para ello se generó una población de 198 líneas endogámicas recombinantes (RIL) por el cruzamiento entre Huites F95 y Avocet-YrA. La caracterización fenotípica se realizó en Toluca, México, en los ciclos primavera-verano de 2013, 2014 y 2015; y en El Batán, Texcoco, México, en primavera-verano de 2015. Epidemias artificiales se crearon utilizando una mezcla de razas de *P. striiformis* f. sp. *tritici* denominadas MEX96.11, MEX08.13, CMEX14.25 y MEX14.191. Temperatura y humedad fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad en los cuatro ambientes de evaluación. La resistencia de Huites F95 a RA se comprobó que se debe al efecto de genes menores y es de tipo cuantitativa. El análisis de X^2 indicó la presencia de cuatro a cinco genes que confieren RPA a roya amarilla. Huites F95 no posee resistencia de raza específica a las razas evaluadas, pero en planta adulta tiene resistencia alta a varias razas en las principales regiones trigueras del país, y es un progenitor que se puede incorporar en los programas de

ABSTRACT

Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important cereals in the world, its production in recent years was affected by yellow rust (RA), caused by the *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* fungus. Planting resistant varieties has allowed to counteract the effects of the disease in some parts of the world. Adult plants of the Mexican variety Huites F95 bread wheat have shown resistance to yellow rust (RPA) since their release. The hypothesis of this study was that minor genes confer resistance to yellow rust in the Huites F95 variety. The objective was to determine the type of resistance and estimate the number of genes that condition it. To that end, a population of 198 recombinant inbred lines (RIL) was generated by crossing Huites F95 and Avocet-YrA. The phenotypic characterization was carried out in Toluca, Mexico State, in the Spring-Summer cycles of 2013, 2014 and 2015, and in El Batán, Texcoco, Mexico State, during Spring-Summer 2015. Artificial epidemics were created using a mixture of MEX96.11, MEX08.13, CMEX14.25 and MEX14.191 races of *P. striiformis* f. sp. *tritici*. Temperature and humidity were favorable for the development of the disease in the four evaluation environments. The resistance of Huites F95 to RA was found to be quantitative and caused by the effect of minor genes. The X^2 analysis indicated the presence of four to five genes that confer RPA to yellow rust. Huites F95 does not have race-specific resistance to the races evaluated, but the adult plant has high resistance to several races in the main wheat regions of the country, and it is a parent that can be incorporated into global breeding programs and contribute to achieving durable resistance to yellow rust.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2018. Aprobado: mayo, 2019.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 765-780. 2019.

Key words: *Triticum aestivum*, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, yellow rust, resistance genes, recombinant inbred lines, RIL.

mejoramiento mundial y contribuir a lograr resistencia durable a roya amarilla.

Palabras claves: *Triticum aestivum*, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, roya amarilla, genes para resistencia, líneas endogámicas recombinantes, RIL.

INTRODUCCIÓN

Enfermedades fungosas afectan la producción de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) de primavera e invierno en México y el mundo. Una de estas enfermedades es la roya amarilla causada por el hongo *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, de la hoja por *P. triticina* y del tallo por *P. graminis* f. sp. *tritici*. Singh *et al.* (2016) indicaron que varias enfermedades y plagas del trigo, reducen el potencial y la calidad del rendimiento, pero las tres royas han causado pérdidas de cosechas y son importantes económicamente a pesar de los controles genético y químico, de acuerdo con datos históricos. La roya amarilla (RA) es la enfermedad que más daño ha causado a los cereales de invierno en el mundo y se le cataloga como la más destructiva (Wellings, 2011; Chen *et al.*, 2014). De acuerdo con Chen *et al.* (2014) y Hovmoller *et al.* (2016) la RA ha sido una enfermedad relevante en áreas con climas húmedos y fríos en años recientes. Schwessinger (2017) indicó que en el siglo XXI la roya amarilla evolucionó de forma acelerada, hasta convertirse en la limitación biótica más grande de la producción global de trigo. Para Luck *et al.* (2011) la humedad, la temperatura y el viento son los tres factores meteorológicos más importantes que favorecen las epidemias de RA.

Hovmoller *et al.* (2011) indicaron que desde el 2000 las epidemias de mayor impacto se han presentado en zonas más cálidas, donde la enfermedad se consideraba anteriormente sin importancia o ausente. La base de este cambio parece ser la tolerancia sin precedente del patógeno a temperaturas más elevadas, junto con su capacidad para causar infección en un periodo de tiempo más corto. Según Schwessinger (2017) los nuevos biotipos del patógeno son más agresivos y tienen la capacidad de infectar a variedades previamente resistentes. Singh *et al.* (2016) mencionaron que la propagación de razas fisiológicas de royas más virulentas y más agresivas solo ha empeorado la situación productiva del trigo en el mundo.

INTRODUCTION

Fungal diseases affect the production of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in spring and winter in Mexico and the world. One of these diseases is the yellow rust, caused by the *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* fungus; leaf rust by *P. triticina* and stem rust by *P. graminis* f. sp. *tritici*. Singh *et al.* (2016) stated that several wheat diseases and pests reduce the potential and quality of yield, but the three rusts have caused crop losses and are economically important despite genetic and chemical controls, according to historical data. Yellow rust (RA) is the disease that has caused the most damage to winter cereals worldwide and it is classified as the most destructive (Wellings, 2011; Chen *et al.*, 2014). According to Chen *et al.* (2014) and Hovmoller *et al.* (2016) RA has been a relevant disease in areas with wet and cold weathers in recent years. Schwessinger (2017) indicated that, in the 21st century, yellow rust evolved rapidly, until it became the largest biotic limitation of global wheat production. For Luck *et al.* (2011) humidity, temperature and wind are the three most important meteorological factors that favor the epidemics of RA.

Hovmoller *et al.* (2011) indicated that since 2000, the epidemics with greater impact have occurred in warmer areas, where the disease was previously considered unimportant or absent. The basis of this change seems to be the unprecedented tolerance of the pathogen to higher temperatures, along with its ability to cause infection in a shorter period. According to Schwessinger (2017), the new biotypes of the pathogen are more aggressive and have the ability to infect previously resistant varieties. Singh *et al.* (2016) mentioned that the spread of more virulent and aggressive physiological rust races has only worsened the productive situation of wheat in the world.

Until the summer of 2000, the varieties in Mexico recommended by the National Institute of Agricultural, Livestock and Forestry Research (INIFAP) for rainfed and irrigation areas had resistance to the prevalent races of yellow rust (14E14 and MEX96.11), with the exception of Temporalera M87, which was moderately susceptible (Villaseñor *et al.*, 2007). The race MEX96.11 was the most frequent in the high valleys of Mexico and was

En México hasta el verano del 2000, las variedades recomendadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) para siembras de temporal y riego tenían resistencia a las razas presentes de roya amarilla (14E14 y MEX96.11), excepto Temporalera M87, que era moderadamente susceptible (Villaseñor *et al.*, 2007). La raza MEX96.11 era la más frecuente en Los Valles Altos de México y se caracterizó por tener virulencia para el gen *Yr9* como lo indicaron Huerta-Espino y Singh (2000). En el verano del 2003, se observó una nueva raza identificada como MEX03.37 (219MEX0) que se caracterizó por infectar la espiga de diversas variedades resistentes (Rodríguez *et al.*, 2009), y en el verano del 2004, esta raza venció la resistencia de las variedades Zacatecas VT74, Salamanca S75, Pavón F76, Saturno S86, Gálvez M87, Cortázar S94 y Batán F96, y como consecuencia provocó pérdidas del 75% en el rendimiento. Huerta-Espino *et al.* (2011) afirmaron que durante el año 2008 apareció la raza MEX08.11, caracterizada por su virulencia para el gen *Yr31*, la cual causó la ruptura de la resistencia de la variedad Rebeca F2000 y Pastor, y provocó pérdidas en el rendimiento de 40 a 50%.

Rodríguez *et al.* (2009; 2010) reportaron 39 razas fisiológicas de roya amarilla que se presentaron en los últimos años en áreas productoras de trigo de temporal en los Valles Altos, y 23 razas presentes en zonas productoras de trigo de riego. Estas razas del patógeno se identificaron con virulencia para los genes *Yr1*, *2*, *6*, *7*, *17*, *27*, *Poll* y *A*, en casi todas las áreas productoras de temporal y riego de México. Durante los ciclos de cultivo del 2014, se produjo una epidemia y se pudieron identificar varios aislamientos, entre los que destacan MEX14.191 con su fórmula de avirulencia/virulencia: *Yr1*, *5*, *10*, *15*, *24*, *26*, *YrSp* y *YrPoll* // *Yr2*, *3*, *6*, *7*, *8*, *9*, *17*, *27* y *31*; y MEX14.146 (*Yr5*, *10*, *15*, *24*, *26*, *YrSp* y *YrPoll* // *Yr1*, *2*, *3*, *6*, *7*, *8*, *9*, *17*, *27* y *31*) (Huerta-Espino *et al.*, 2015); las nuevas combinaciones de virulencia de *Yr27* y *Yr31* provocaron pérdidas de resistencia en la variedad Nana F2007, recomendada para siembras de temporal en México, y Luminaria F2012, recomendada para siembras en áreas de riego en El Bajío (Solís *et al.*, 2016).

La estrategia que mejor combate las royas del trigo en todo el mundo es el control genético, basado en utilizar variedades con resistencia a las diversas razas fisiológicas de royas. Por esta razón, se busca generar

caracterizado by its virulence for the *Yr9* gene, as indicated by Huerta-Espino and Singh (2000). In the summer of 2003, a new race identified as MEX03.37 (219MEX0) that was characterized by infecting the spike of various resistant varieties (Rodríguez *et al.*, 2009) was observed, and in the summer of 2004, this race defeated the resistance of Zacatecas VT74, Salamanca S75, Pavón F76, Saturno S86, Gálvez M87, Cortázar S94 and Batán F96 varieties, and as a consequence caused yield losses of 75%. Huerta-Espino *et al.* (2011) stated that during the year 2008 the race MEX08.11 appeared, characterized by its virulence for the *Yr31* gene, which caused the resistance breakdown of the Rebeca F2000 and Pastor varieties, and caused a yield loss of 40 to 50%.

Rodríguez *et al.* (2009; 2010) reported 39 physiological races of yellow rust that occurred in recent years in rainfed wheat producing areas in the High Valleys, and 23 races in irrigated wheat producing areas. These races of the pathogen were identified with virulence for the *Yr1*, *2*, *6*, *7*, *17*, *27*, *Poll* and *A* genes, in almost all the rainfed and irrigated areas of Mexico. During the 2014 crop cycles, an epidemic occurred and several isolates could be identified, among which MEX14.191 stands out for its avirulence/virulence formula: *Yr1*, *5*, *10*, *15*, *24*, *26*, *YrSp* and *YrPoll* // *Yr2*, *3*, *6*, *7*, *8*, *9*, *17*, *27* and *31*, and MEX14.146 (*Yr5*, *10*, *15*, *24*, *26*, *YrSp* and *YrPoll* // *Yr1*, *2*, *3*, *6*, *7*, *8*, *9*, *17*, *27* and *31*) (Huerta-Espino *et al.*, 2015); the new virulence combinations of *Yr27* and *Yr31* caused resistance losses in the Nana F2007 variety, recommended for rainfed planting in Mexico, and Luminaria F2012, recommended for planting in irrigated areas in El Bajío (Solís *et al.*, 2016).

The most effective strategy to combat wheat rust worldwide is genetic control, based on using varieties with resistance to the various physiological races of rust. For this reason, it is sought to generate varieties that have durable resistance (polygenic, multigenic, horizontal or quantitative) based on genes that confer resistance to slow pathogenesis (*slow rusting*; Singh *et al.*, 2001). In the case of yellow rust, four to five genes of additive effect should be combined to reduce disease progression to minimum severity levels (Singh *et al.*, 2000; 2011).

To date, 78 genes that confer resistance to RA have been cataloged (McIntosh *et al.*, 2017); and of these, *Lr34* / *Yr18* / *Pm38* / *Sr57* (Singh *et al.*, 2012),

variedades que posean resistencia durable (poligénica, multigénica, horizontal o cuantitativa) basada en genes que confieren resistencia de patogenia lenta (*slow rusting*; Singh *et al.*, 2001). En el caso de la roya amarilla se deben combinar de cuatro a cinco genes de efecto aditivo para reducir el progreso de la enfermedad a niveles de severidad mínimos (Singh *et al.*, 2000; 2011).

Hasta la fecha se han catalogado 78 genes que confieren resistencia a RA (McIntosh *et al.*, 2017); y de estos *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57* (Singh *et al.*, 2012), *Lr46/Yr29/Pm39/Sr58* (Singh *et al.*, 2013), y *Lr67/Yr46/Pm46/Sr55* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014), tienen efecto pleiotrópico y confieren Resistencia de Planta Adulta (RPA) a roya de la hoja, amarilla, del tallo y cenicilla polvorienta. Huites F95 es una variedad de trigo harinero liberada por el INIFAP que ha mostrado resistencia a roya amarilla en muchos años y ambientes. El objetivo de este estudio fue determinar el tipo de resistencia de Huites F95 y estimar el número de genes que la condicionan. La hipótesis es que genes menores confieren la resistencia a roya amarilla en la variedad Huites F95.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

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

Avocet-*YrA*

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

Huites F95

Huites F95 es una variedad mexicana de trigo harinero liberada para condiciones de riego por el INIFAP en 1995, proviene de la cruce realizada en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) entre los progenitores VEERY/KOEL con el historial de selección: CM-67395-2H-3E-1E-1E-

Lr46 / Yr29 / Pm39 / Sr58 (Singh *et al.*, 2013), and *Lr67 / Yr46 / Pm46 / Sr55* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014) have pleiotropic effect and confer Resistance of Adult Plant (RPA) to leaf rust, yellow rust, stem rust and powdery mildew. Huites F95 is a variety of bread wheat released by INIFAP that has shown resistance to yellow rust in many years and environments. The objective of the study was to determine the type of resistance of Huites F95 and estimate the number of genes that condition it. The hypothesis is that minor genes confer resistance to yellow rust in the Huites F95 variety.

MATERIALS AND METHODS

Genetic material

The germplasm used as a susceptible parent was Avocet-*YrA* (Avocet S) and as a resistant parent, Huites F95. The characteristics of each of them are described below.

Avocet-*YrA*

Avocet-*YrA* is a line that comes from a re-selection of the Avocet Australian variety that lacks yellow rust resistance genes; it is also known as 'Avocet S'. Huerta-Espino *et al.* (2012) indicated that Avocet-*YrA* is susceptible in seedling and adult plant to all physiological races of yellow rust that have occurred and exist in Mexico.

Huites F95

Huites F95 is a Mexican variety of bread wheat released by INIFAP for irrigated conditions in 1995, it comes from a International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) cross made between the VEERY/KOEL parents with the selection history: CM-67395-2H-3E-1E-1E-0E; it is characterized by resistance to leaf rust and karnal bunt tolerance (Barrera, 1995). However, it has presented high levels of resistance in adult plants to the various races of yellow rust that currently prevail in Mexico.

Obtaining F₅ recombinant inbred lines (RIL)

The lines (AOC-YR / HUITES CMSS09Y01210S-1F1-099Y-099B-1Y-0B) derived from the crossing between the Avocet-*YrA* and Huites F95 parents were generated using the manual emasculation-pollination method performed during the OI/09-10 cycle in the Norman Ernest Borlaug Experimental

0E; se caracteriza por poseer resistencia a roya de la hoja y tolerante al carbón parcial (Barrera, 1995). Sin embargo, ha presentado niveles altos de resistencia en planta adulta a las diversas razas de roya amarilla que prevalecen en la actualidad en México.

Obtención de líneas endogámicas recombinantes (RIL) F₅

Las líneas (AOC-YR/HUITES CMSS09Y01210S-1F1-099Y-099B-1Y-0B) derivadas de la cruce entre los progenitores Avocet-YrA y Huites F95, se generaron mediante el método emasculación-polinización manual realizado durante el ciclo O-I/09-10 en el Campo Experimental Norman Ernest Borlaug (CENEB) del CIMMYT, Cd. Obregón, Sonora, México. (27° 23' 46" N, 109° 55' 23" O a una altitud de 37 m). En el ciclo primavera-verano 2011 en CIMMYT El Batán, se sembró la F₁ en forma mateada y se cosecharon cuatro plantas al azar las cuales se identificaron como 1F₁, 2F₁, 3F₁ y 4F₁ para avanzar a la siguiente generación. En el ciclo otoño-invierno del 2011-2012 se sembró la generación F₂ en dos surcos dobles de 11 m de largo, en el CENEB. El avance generacional de la F₂ a F₄ se realizó por el método masal con selección y en la F₄ se derivaron líneas F₅. De la progenie de cada una de las cuatro plantas F₁, se cosecharon 50 plantas individuales para obtener 198 líneas F₅; se realizó incremento de semilla de 198 RIL F₅ y ambos progenitores, y dicha semilla se utilizó para todos los ensayos.

Evaluación de los progenitores en planta adulta

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

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

La evaluación se realizó en CIMMYT- El Batán, bajo condiciones de invernadero (T máx. 24 °C - T mín. 7 °C). La resistencia de las RIL F₅ de la población Avocet/Huites F95 se evaluó durante noviembre del 2015. Las semillas de las líneas se sembraron en charolas de plástico de 20 x 30 x 6 cm que contenían una mezcla de tierra estéril y Peat Moss en una proporción 60:40, se realizaron pequeños orificios y se colocaron de 8 a 9 semillas de

Field (CENEB) under CIMMYT, Cd. Obregón, Sonora, Mexico (27° 23' 46" N, 109° 55' 23" W at 37 m altitude). In the spring-summer 2011 cycle at CIMMYT El Batán, F₁ generation was planted in a spaced manner and four random plants were harvested, which were identified as 1F₁, 2F₁, 3F₁ and 4F₁ to advance to the next generation. In the autumn-winter cycle of 2011-2012, the F₂ generation was planted in two double 11 m long furrows in the CENEB. The generational advance from F₂ to F₄ was carried out by the mass method with selection, and from the F₄ generation F₅ lines were derived. From the progeny of each of the four F₁ plants, 50 individual plants were harvested to obtain 198 F₅ lines; there was an increase of seed of 198 F₅ RIL and both parents, and said seed was used for all essays.

Evaluation of parents in adult plant

During the spring-summer cycles of 2013, 2014 and 2015, under the natural incidence of the pathogen presented in rainfed conditions, the severity of yellow rust of the susceptible parent (Avocet-YrA) and the resistant parent (Huites F95) was evaluated in 12 environments where rainfed wheat is planted in Mexico. These environments were Toluca, Chapingo, Santa Lucía, El Batán, Amecameca and Juchitepec in the Mexico State; Velasco, Soltepec and Nanacamilpa in Tlaxcala State; Yanhuilán and Nochixtlán in Oaxaca State, and El Texcal, in Puebla State. The severity percentage of both parents was recorded with the modified Cobb scale (Peterson *et al.*, 1948).

Evaluation of F₅ RIL for its resistance to RA in seedling

The evaluation was carried out at CIMMYT- El Batán under greenhouse conditions (max. T 24° C - min. T 7° C). The resistance of the F₅ RIL of the Avocet/Huites F95 population was evaluated during November 2015. The seeds of the lines were planted in 20 x 30 x 6 cm plastic trays containing a mixture of sterile soil and peat moss in a 60:40 ratio, small holes were made, and 8 to 9 seeds of each of the lines were placed in an orderly manner. At 11 days after planting, the seedlings were inoculated with a suspension of urediniospores in mineral oil (Soltrol® 170; Chevron Phillips Chemical Company) administered through a hand sprayer connected to an electric compressor. The races in the suspension were MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 and CMEX14.25 at a density of 1 x 10⁶ mL. The inoculated seedlings were placed in a bioclimatic chamber with temperatures of 4 - 7° C for 24 h and irrigation with 100% relative humidity for 12 h. They were then transferred to the greenhouse and after 15-18 d after inoculation their reaction to yellow rust was recorded on the 0-9 scale proposed by Roelfs *et al.* (1992), where the values 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 are considered as resistance reactions and 7, 8 and 9, susceptibility reactions.

cada una de las líneas en forma ordenada. A los 11 d después de la siembra, las plántulas se inocularon con una suspensión de urediniosporas en aceite mineral (Soltrol® 170; Chevron Phillips Chemical Company) con un atomizador conectado a un compresor eléctrico. Las razas en la suspensión fueron MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 y CMEX14.25 en una densidad de 1×10^6 mL. Las plántulas inoculadas se colocaron en una cámara bioclimática con temperaturas de 4 - 7 °C por 24 h y rocío al 100% de humedad relativa por 12 h. Después se trasladaron al invernadero y después de 15-18 d de inoculación se registró su reacción a la roya amarilla en la escala del 0 - 9 propuesta por Roelfs *et al.* (1992), donde los valores 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se consideran como reacciones de resistencia y 7, 8 y 9, reacciones de susceptibilidad.

Evaluación en campo de las RIL F_5 por su resistencia en planta adulta a RA

Ambientes de evaluación

Las evaluaciones en campo de progenitores y las 198 RIL en su reacción a la roya amarilla se realizaron en un ensayo no replicado, en estaciones experimentales del CIMMYT; durante los ciclos agrícolas primavera-verano del 2013, 2014 y 2015 en Toluca, México, y durante el primavera-verano del 2015 en El Batán Texcoco, México. El campo experimental en Toluca, México está ubicado en 19° 17' N, y a 99° 40' O a una altura de 2600 m, donde las condiciones ambientales son propicias para el desarrollo de la roya amarilla. Basnet *et al.* (2013) reportaron temperaturas máximas mensuales entre 19 y 23 °C y precipitaciones mensuales de 65 a 145 mm durante la temporada del cultivo. El Batán se localiza en 19° 31' 46" N y a 98° 51' 9" O, a una altura de 2240 m, con una precipitación media anual de 710.3 mm, con una temperatura que fluctúa entre 4 - 24 °C. Durante los últimos años Huerta-Espino (2017⁴) indicó que se han presentado condiciones favorables para el desarrollo de la roya amarilla en El Batán Texcoco.

Siembra

Las 198 RIL F_5 y los progenitores resistente y susceptible (Avocet-*YrA*, Huites F95) se sembraron en campo en dos surcos paralelos de 0.7 m y se obtuvo un total aproximado de 70 plantas por línea. A un lado de cada parcela y alrededor del lote experimental se sembró una mezcla de genotipos susceptibles denominado como bordo susceptible y que actuaron como fuente de dispersión del inóculo.

Field evaluation of F_5 RIL for its resistance to RA in adult plant

Evaluation environments

The field evaluations of parents and the 198 RILs in their reaction to yellow rust were carried out in a nonreplicated essay at the experimental stations of CIMMYT during the spring-summer agricultural cycles of 2013, 2014 and 2015 in Toluca, Mexico State, and during the spring-summer of 2015 in El Batán Texcoco, Mexico State. The experimental field in Toluca, Mexico State, is located at 19° 17' N, and 99° 40' W at 2600 m altitude, where environmental conditions are conducive to the development of yellow rust. Basnet *et al.* (2013) reported maximum monthly temperatures between 19 and 23° C and monthly rainfall of 65 to 145 mm during the growing season. El Batán is located at 19° 31' 46" N and at 98° 51' 9" W, at 2240 m altitude, with an average annual rainfall of 710.3 mm, and a temperature that fluctuates between 4 - 24° C. During the last years, Huerta-Espino (2017⁴) indicated that favorable conditions for the development of yellow rust have been present in El Batán Texcoco.

Sowing

The 198 F_5 RILs and the resistant and susceptible parents (Avocet-*YrA*, Huites F95) were sown in the field in two parallel furrows of 0.7 m; a total of approximately 70 plants per line was obtained. On one side of each plot and around the experimental lot, a mixture of susceptible genotypes called a susceptible spreader row was sown and acted as a source of inoculum dispersion.

Inoculation

To guarantee the presence of the disease and make an efficient evaluation and classification of the F_5 RILs due to their reaction to yellow rust, it was necessary to create artificial epidemics by means of three inoculations in stage 3.0 to 3.9 according to the scale of Zadoks *et al.* (1974), using a mixture of the races MEX96.11 with its avirulence/virulence formula *Yr1*, 4, 5, 8, 10, 15, 17, 24, *Spl* 2, 3, 6, 7, 9, 27, *A* (William *et al.*, 2003) and MEX08.13 which is avirulent to *Yr27* and virulent to *Yr31*. In addition, during the spring-summer 2014 cycle, two isolates (CMEX14.25) that combined virulence for *Yr27* and *Yr31* were identified, and MEX14,191 that has virulence for *Yr1*, *Yr27*, *Yr31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015); both isolates were present

⁴Huerta-Espino, J. 2017. Comunicación personal. Investigador Fitopatólogo del INIFAP (j.huerta@cgiar.org).

Inoculación

Para garantizar la presencia de la enfermedad y hacer una eficiente evaluación y clasificación de las RIL F₅ por su reacción a roya amarilla fue necesario crear epidemias artificiales mediante tres inoculaciones en la etapa 3.0 a 3.9 según la escala de Zadoks *et al.* (1974), con el uso de una mezcla de las razas MEX96.11 con su fórmula de avirulencia/virulencia *Yr1,4,5,8,10,15,17,24, Sp/2,3,6,7,9,27, A* (William *et al.*, 2003); MEX08.13 que es avirulenta a *Yr27* y virulenta a *Yr31*. Además, durante el ciclo primavera-verano 2014 se identificaron dos aislamientos (CMEX14.25) que combinaron virulencia para *Yr27* y *Yr31*; y MEX14.191 que tiene virulencia para *Yr1, Yr27, Yr31* (Huerta-Espino *et al.*, 2015); ambos aislamientos estuvieron presentes en el experimento durante el año 2014 y 2015. Las inoculaciones se realizaron mediante suspensión de urediniosporas en aceite mineral (Soltrol® 170; Chevron Phillips Chemical Company) a una densidad de 1 x 10⁶ mL con un atomizador manual.

Registro de datos

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

Clasificación de RIL

Con base en la severidad de la enfermedad y la respuesta a la infección, las líneas F₅ se clasificaron en tres categorías fenotípicas según (Singh y Rajaram, 1993): LHTPR: Líneas Homocigóticas Tipo Parental Resistente, LHTPS: Líneas Homocigóticas Tipo Parental Susceptible, y OTROS: líneas con respuesta diferente a los dos padres.

Análisis estadístico

Los experimentos en campo se realizaron en cuatro ambientes y con una sola repetición; la estimación

en el experimento durante 2014 and 2015. The inoculations were carried out with suspension of urediniospores in mineral oil (Soltrol® 170; Chevron Phillips Chemical Company) administered through a hand sprayer at a density of 1 x 10⁶ mL.

Data registry

The severity of the disease was recorded when the susceptible parent (*Avocet-YrA*) reached levels of 80 to 100%; the modified Cobb scale (Peterson *et al.*, 1948) and the host response to infection (type of infection, TI) was determined according to Roelfs *et al.* (1992), where: R: resistant, tiny uredinios; MR: moderate resistance, small uredinios; MS: moderate susceptibility, small uredinios of moderate size and S: susceptible, large uredinios.

Classification of RIL

Based on the severity of the disease and the response to infection, the F₅ lines were classified into three phenotypic categories according to Singh and Rajaram (1993): LHTPR: Parental Resistant Type Homozygous Lines LHTPS: Parental Susceptible Type Homozygous Lines and OTHERS: lines with a different response to both parents.

Statistical analysis

Field experiments were carried out in four environments and with a single repetition; the number estimated of genes was performed using the traditional Chi-square (χ^2) Mendelian segregation analysis (Singh and Rajaram 1992). The readings were recorded in time intervals and the Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) for the severity of yellow rust was calculated with the following equation according to Bjarko and Line (1988):

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

where y = percentage of foliage affected in each reading; t = time of each reading; n = number of readings.

RESULTS AND DISCUSION

Evaluation of parents in adult plant

During the spring-summer cycles of 2013, 2014, 2015, the resistant (Huites F95) and susceptible (*Avocet-YrA*) parents were evaluated in 12 environments where wheat was planted under rainfed

del número de genes se realizó mediante el análisis de segregación mendeliana tradicional Chi-cuadrada (X^2) (Singh y Rajaram 1992). Con las lecturas registradas en intervalos del tiempo se calculó el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) para la severidad de roya amarilla, con la siguiente ecuación según Bjarko y Line (1988).

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

donde y = porcentaje de follaje afectado en cada lectura; t = es el tiempo de cada lectura; n = número de lecturas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de los progenitores en planta adulta

Durante los ciclos primavera-verano de 2013, 2014, 2015, en 12 ambientes donde se sembró trigo en condiciones de secano en México, se evaluaron los progenitores, resistente (Huites F95) y susceptible (Avocet-YrA), bajo incidencia natural del patógeno causante de la roya amarilla para determinar su nivel de resistencia en planta adulta. Para Avocet-YrA se registraron lecturas entre 90 y 100% de severidad y una reacción de susceptibilidad en todos los ambientes evaluados (Cuadro 1); para Huites F95 las lecturas fueron desde 0 hasta 15% de severidad de RA y reacción de moderada susceptibilidad (MS) en Toluca y Nochixtlán; durante primavera-verano 2013 y 2014, se registró la severidad más baja; y la más alta (15MS) se registró en primavera-verano 2014 y 2015 en ambientes de Tlaxcala y Puebla; dicha diferencia se debió a que en el 2014 y 2015 las razas fisiológicas de roya amarilla que se presentaron fueron más virulentas en comparación con las de primavera-verano 2013 y anteriores (Huerta-Espino, 2017⁵); además, la epidemia de roya amarilla se generalizó en los campos comerciales y la infección ocurrió en las etapas tempranas de desarrollo de la planta. Sin embargo, Huites F95 aún mantiene resistencia a RA ante el ataque de roya amarilla ocurrió en los Valles Altos de México, donde una epidemia causada por las

conditions in Mexico, with a natural incidence of the pathogen that causes yellow rust in order to determine its resistance level in adult plant. For Avocet-YrA, readings between 90 and 100% severity and a susceptibility reaction in all the environments evaluated were recorded (Table 1); for Huites F95 the readings were from 0 to 15% RA severity and moderate susceptibility reaction (MS) in Toluca and Nochixtlán; during spring-summer 2013 and 2014, the lowest severity was recorded and the highest (15MS) was recorded in spring-summer 2014 and 2015 in Tlaxcala and Puebla environments; this difference was due to the fact that, in 2014 and 2015, the physiological races of yellow rust that occurred were more virulent compared to those of spring-summer 2013 and earlier (Huerta-Espino, 2017⁵);

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

Table 1. Percentage of severity and reaction to yellow rust of Huites F95 and Avocet-YrA, evaluated during the 2013, 2014 and 2015 spring-summer cycles in 12 environments in Mexico.

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

S=susceptible; MS=moderada susceptibilidad bajo invernadero ♦ S=susceptible; MS=moderate susceptibility.

⁵Huerta-Espino, J. 2017. Comunicación personal. Investigador Fitopatólogo del INIFAP (j.huerta@cgjar.org).

razas CMEX14.25, MEX14.141 y MEX14.146 causó pérdida de resistencia en Nana F2007, una variedad ampliamente sembrada en los Valles Altos, como lo indicaron Huerta-Espino *et al.* (2015).

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

En la estación experimental de El Batán-CIMMYT, bajo condiciones de invernadero, las 198 RIL y los progenitores se evaluaron por su resistencia a roya amarilla en etapa de plántula. La evaluación fue bajo incidencia artificial del patógeno, con las razas fisiológicas de roya amarilla MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 y CMEX14. 25. A los 15 y 18 d después de la inoculación se tomó la reacción de infección en escala de 0 a 9. Con las cuatro razas evaluadas por separado, *Avocet-YrA* y Huites F95 tuvieron respuesta de susceptible y muy susceptible (8 y 9), las 198 RIL presentaron lecturas similares a los progenitores. Huites F95 no tiene, entonces, genes de resistencia de raza específica a las razas de roya amarilla evaluadas; el tipo de resistencia que posee es de planta adulta (RPA) y es de raza no específica. Esta resistencia se caracteriza por expresar susceptibilidad en etapa de plántula y un desarrollo reducido de la enfermedad en etapa adulta, a pesar de un tipo de infección compatible (S) (Niks *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2014).

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

Las condiciones de temperatura y humedad fueron favorables para el desarrollo de la roya amarilla en los cuatro ambientes donde se evaluaron las 198 RIL y los progenitores (Toluca 2013, Toluca 2014, Toluca 2015 y El Batán 2015). En promedio la severidad final de la enfermedad (SFE) y la reacción de RA en planta adulta para *Avocet-YrA* fue de 90S a 100S y en el progenitor resistente Huites F95 fue de 1 hasta 5MS (Cuadro 1). En la respuesta de las RIL (193) y los progenitores evaluados en los ambientes Toluca 2013, Toluca 2014 y Toluca 2015 y El Batán 2015 con respecto a severidad se observó una distribución continua y casi normal tanto en SFE (Figura 1) como en ABCPE (Figura 2) y no se observó una distribución discreta de clases que indicara la presencia de genes de resistencia de efectos mayores, lo cual

besides the yellow rust epidemic became widespread in commercial fields and the infection occurred in the early stages of plant development. However, Huites F95 still maintains resistance to RA against the attack of yellow rust that occurred in the high valleys of Mexico, where an epidemic caused by the races CMEX14.25, MEX14.141 and MEX14.146 caused resistance loss in Nana F2007, a variety widely planted in the High Valleys, as indicated by Huerta-Espino *et al.* (2015).

Evaluation of resistance to RA in RIL seedling and parents

Under greenhouse conditions, the 198 RILs and the parents were evaluated for their resistance to yellow rust in the seedling stage at the experimental station of El Batán-CIMMYT. The evaluation was made based on the artificial incidence of the pathogen with the physiological races of yellow rust MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 and CMEX14. 25. At 15 and 18 d after inoculation, the infection reaction was measured on a scale of 0 to 9. With the four races evaluated separately, *Avocet-YrA* and Huites F95 had a susceptible and very susceptible response (8 and 9), the 198 RILs presented similar readings to the parents. Thus, Huites F95 does not have race-specific resistance genes to the races of yellow rust evaluated; the type of resistance it possesses is adult plant type (RPA) and is a non-specific race. This resistance is characterized by expressing susceptibility in the seedling stage and a reduced development of the disease in the adult stage, despite a compatible type of infection (S) (Niks *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2014).

Evaluation of resistance to RA in RIL adult plant and parents

The temperature and humidity conditions were favorable for the development of yellow rust in the four environments where the 198 RILs and parents were evaluated (Toluca 2013, Toluca 2014, Toluca 2015 and El Batán 2015). On average, the final severity of the disease (SFE) and the reaction of RA in adult plant for *Avocet-YrA* was 90S to 100S and in the Huites F95 resistant parent was 1 to 5MS (Table 1). In the response of the RILs (193) and the parents evaluated in the Toluca 2013, Toluca 2014, Toluca 2015 and El Batán 2015 environments with respect to

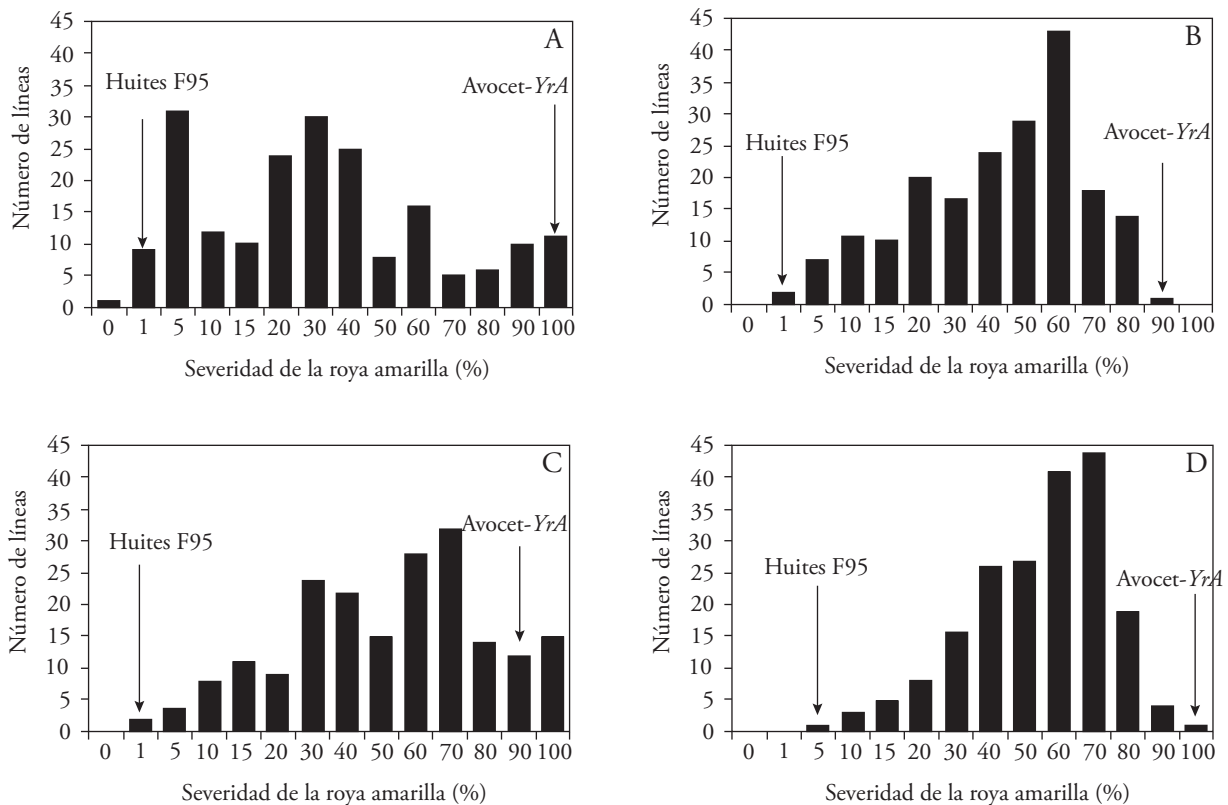


Figura 1. Distribución fenotípica de los progenitores y 198 RIL. A) severidad final de roya amarilla Toluca 2013, B) severidad final de roya amarilla Toluca 2014, C) severidad final de roya amarilla Toluca 2015, D) severidad final de roya amarilla El Batán 2015.
Figure 1. Phenotypic distribution of parents and 198 RILs. A) final severity of yellow rust Toluca 2013, B) final severity of yellow rust Toluca 2014, C) final severity of yellow rust Toluca 2015, D) final severity of yellow rust El Batán 2015.

corroboró la información obtenida en plántula bajo invernadero.

El comportamiento de la población Avocet/Huites F95 fue ligeramente diferente en el primer año de evaluación en el ambiente Toluca 2013, pero en los ambientes Toluca 2014, Toluca 2015 y El Batán 2015, el comportamiento fue similar. Dicha diferencia pudo deberse a la dominancia de ciertas razas cuando se usan en mezclas, o a que la infección inicial haya ocurrido en un tiempo diferente a la fecha de la estimación de la enfermedad, o bien, a una clasificación errónea de las familias completamente susceptibles enmascaradas por otras enfermedades foliares como *Zymoseptoria tritici* que es común en Toluca durante el ciclo del cultivo como lo indicaron Velu y Singh (2013).

severity, a continuous and almost normal distribution was observed in both SFE (Figure 1) and AUDPC (Figure 2) and there was no discrete distribution of types indicating the presence of resistance genes with major effects, which corroborated the information obtained from seedlings under greenhouse.

The behavior of the Avocet/Huites F95 population was slightly different in the first year of evaluation in the Toluca 2013 environment, but in the Toluca 2014, Toluca 2015 and El Batán 2015 environments, the behavior was similar. This difference could be due to the dominance of certain races when used in mixtures, or because the initial infection occurred at a different time than the date of the disease estimate, or, due to an erroneous classification of completely susceptible families disguised as other foliar diseases

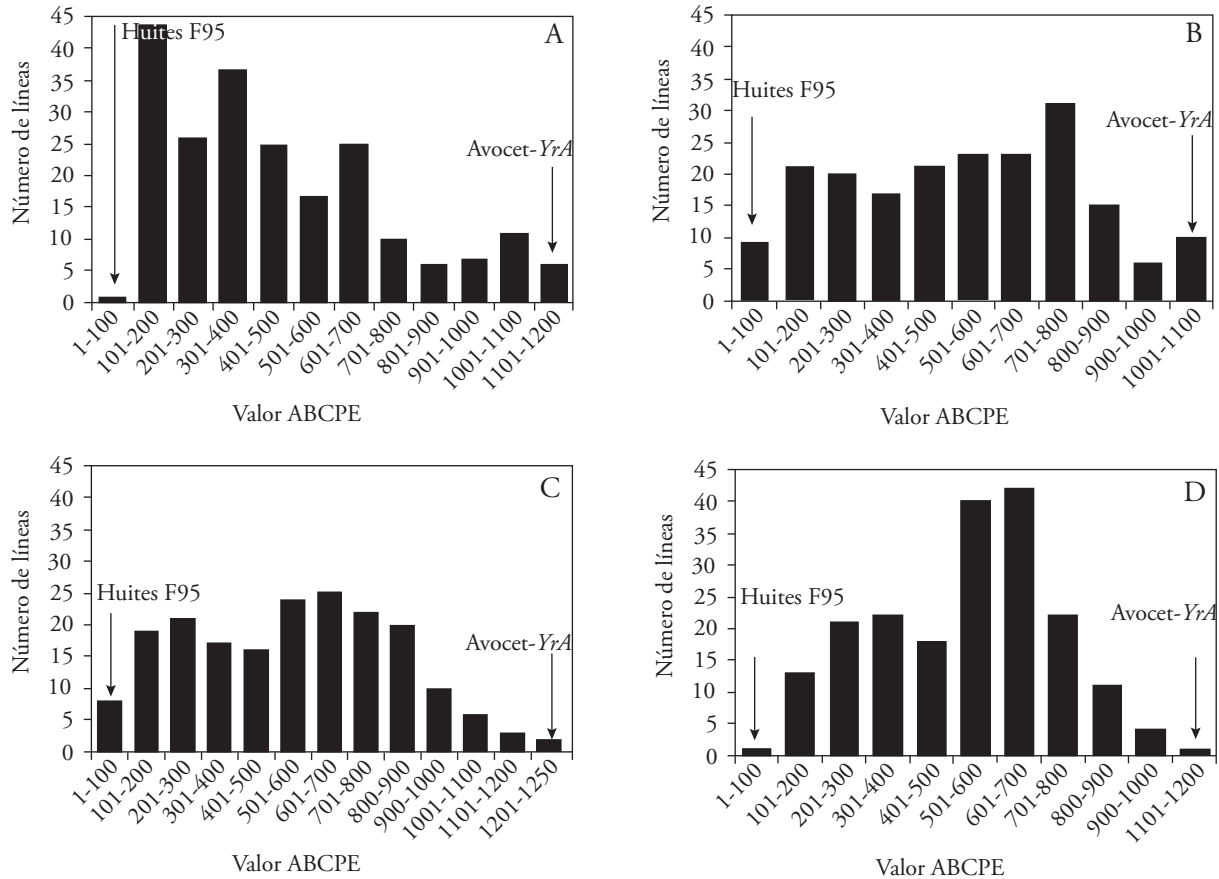


Figura 2. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de la roya amarilla en los progenitores y 198 RIL. A) ABCPE Toluca 2013, B) ABCPE Toluca 2014, C) ABCPE Toluca 2015, D) ABCPE El Batán 2015.

Figure 2. Area under the disease progress curve (AUDPC) of yellow rust in parents and 198 RILs. A) ABCPE Toluca 2013, B) ABCPE Toluca 2014, C) ABCPE Toluca 2015, D) ABCPE El Batán 2015.

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

La evaluación de la población Avocet/Huites F95 por su resistencia en planta adulta se realizó en cuatro ambientes y con una sola repetición. Las 198 RIL se clasificaron en tres categorías fenotípicas por porcentaje de severidad final. El análisis de segregación mendeliana (X^2) para los cuatro ambientes (Cuadro 2), mostró que las proporciones fenotípicas se ajustaron a cuatro genes en los cuatro ambientes de evaluación; además en Toluca 2014 y 2015 las proporciones también se ajustaron a cinco genes de resistencia en planta adulta.

Huites F95 al momento de su liberación se describió como una variedad con resistencia a roya de la hoja y al carbón parcial, que era el principal problema fitopatológico en el Norte de Sinaloa. Sin embargo,

such as *Zymoseptoria tritici*, which is common in Toluca during the crop cycle, as indicated by Velu and Singh (2013).

Number estimate of genes that condition resistance to RA in Huites F95

Given its resistance in adult plants, the evaluation of the Avocet/Huites F95 population was carried out in four environments and with a single repetition. The 198 RILs were classified into three phenotypic categories by percentage of final severity. The Mendelian segregation analysis (X^2) of the four environments (Table 2) showed that the phenotypic ratios were adjusted to four genes in the four evaluation environments; in addition, in Toluca 2014 and 2015 the proportions were also adjusted to five resistance genes in the adult plant.

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

Table 2. Number estimate of resistance genes in adult plant to yellow rust based on the Mendelian segregation analysis for 198 RILs of the F₅ Avocet/Huites F95 population.

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

4 gl, $\alpha=0.05$, $X^2 t=9.488$; LHTPR= Líneas Homocigóticas Tipo Parental Resistente; LHTPS= Líneas Homocigóticas Tipo Parental Susceptible; OTROS= Líneas con respuesta diferente a los dos padres; T=Toluca, B= El Batán Texcoco ♦ 4 gl, $\alpha=0.05$, $X^2 t=9.488$; LHTPR: Parental Resistant Type Homozygous Lines, LHTPS: Parental Susceptible Type Homozygous Lines and OTHERS: lines with a different response to both parents; T=Toluca, B= El Batán Texcoco.

con la aparición de nuevas razas fisiológicas de royas en años recientes en zonas productoras de temporal y riego (Rodríguez *et al.*, 2009; 2010), continuó la evaluación de Huites F95 por su resistencia a RA en pruebas y viveros nacionales. La resistencia de la variedad ha permanecido efectiva a través del tiempo, por lo cual es una fuente de resistencia efectiva para roya amarilla y se suma a las investigaciones de años recientes debido a la problemática de esa infección en México y el mundo que ha propiciado redoblar esfuerzos en la búsqueda de fuentes de resistencia.

La estrategia implementada en los años recientes es la formación y liberación de variedades resistentes basadas en genes con efectividad a las razas fisiológicas existentes en México y el mundo. Villaseñor *et al.* (2009) estudiaron la resistencia a roya amarilla de tres variedades de trigo de temporal y encontraron que de tres a cuatro genes de efecto aditivo condicionan la resistencia en Juchi F2000, Náhuatl F2000 y Tlaxcala F2000. Huerta-Espino *et al.* (2012) determinaron que la resistencia a roya amarilla en las variedades recomendadas para siembra de riego (Cortázar S94, Bárcenas S2002, y Maya S2007) está condicionada por dos o tres genes de efecto aditivo, mientras que en Urbina S2007 está condicionada por tres o cuatro genes de la misma naturaleza.

At the time of its release, Huites F95 was described as a variety with resistance to leaf rust and karnal bunt, which was the main phytopathological problems in North Sinaloa. However, with the appearance of new physiological races of rust in recent years in rainfed and irrigation areas (Rodríguez *et al.*, 2009; 2010), the evaluation of Huites F95 continued given its resistance to RA in national nurseries. The resistance of the variety has remained effective over time, which is why it is a source of effective resistance to yellow rust and adds to the research of recent years in light of this infection in Mexico and the world that has led to redouble efforts in the search for sources of resistance.

The strategy implemented in recent years consists of the creation and release of resistant varieties based on genes with effectiveness to existing physiological races in Mexico and the world. Villaseñor *et al.* (2009) studied the resistance to yellow rust of three varieties of rainfed wheat and found that three to four genes of additive effect condition resistance in Juchi F2000, Náhuatl F2000 and Tlaxcala F2000. Huerta-Espino *et al.* (2012) determined that resistance to yellow rust in the varieties recommended for irrigated planting (Cortázar S94, Bárcenas S2002, and Maya S2007) is conditioned by two or three genes of additive effect,

Rodríguez *et al.* (2019) comprobaron que los genotipos Bonza63 y Romero 73 y Glenlea, poseen resistencia de raza no específica y que su resistencia se basa en 3 a 4 genes, respectivamente. Conjuntar resistencia de raza específica y de raza-no-específica también ha dado buenos resultados, y en años recientes diversos experimentos se enfocaron en identificar genes mayores y menores. Basnet *et al.* (2013) identificaron que la variedad Quaiu 3 posee los dos tipos de resistencia (cualitativa y cuantitativa) y que este tipo de resistencia es muy eficaz para el control de la roya amarilla. Lan *et al.* (2014) encontraron resistencia a roya amarilla y de la hoja en plántula y planta adulta en el genotipo Francolin #1.

La distribución fenotípica de las 198 RIL de la población Avocet/Huites F95 fue casi normal y continua en los cuatro ambientes evaluados; ello indica que la resistencia que posee Huites F95 se debe al efecto de genes menores y es de tipo cuantitativa. La afirmación coincide con la reportada en otros estudios en términos de distribución fenotípica en poblaciones con resistencia de patogenia lenta a la enfermedad (Singh *et al.*, 2011). El análisis mendeliano indicó que la resistencia a roya amarilla en Huites F95 la confieren cuatro a cinco genes de efectos aditivos.

En la evaluación en campo y en los cuatro ambientes se observó en Huites F95 el marcador morfológico denominado necrosis en la punta de la hoja (*Ltn*=leaf tip necrosis). Este marcador se asocia con los genes de resistencia en planta adulta y de efecto pleiotrópico *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Ltn1* (Singh, 1992); *Lr46/Yr29/Sr58/Pm39/Ltn2* (Rosewarne *et al.*, 2006); y *Lr67/Yr46/Sr55/Pm39/Ltn3* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014). Sin embargo, Huerta-Espino *et al.* (2003) en un estudio de postulación de genes de resistencia para roya de la hoja manifestaron que, Huites F95 posee el gen de resistencia en planta adulta *Lr34* y dos más de efecto aditivo, dicho gen está asociado con el *Yr18*; esta postulación se hizo al observar la quemadura de la punta de la hoja. El criterio dejó de ser válido cuando se clonó el gen *Lr34* (Krattinger *et al.*, 2009) y se confirmó que la asociación de la quemadura de la punta de la hoja no solo se verifica con *Lr34* sino también con *Lr46* (Rosewarne *et al.*, 2006); *Lr67* (Moore *et al.*, 2015) y *Lr68* (Herrera-Foessel *et al.*, 2012). Huerta-Espino (2017⁶) indicó

while in Urbina S2007 it is conditioned by three or four genes of the same nature.

Rodríguez *et al.* (2019) noted that the Bonza 63, Romero 73 and Glenlea genotypes have resistance and that their resistance is based on 3 to 4 genes, respectively. Combining race-specific and non-race-specific resistance has also given good results, and in recent years various studies were focused on identifying major and minor genes. Basnet *et al.* (2013) identified that the Quaiu 3 variety has both types of resistance (qualitative and quantitative), which are very effective for the control of yellow rust. Lan *et al.* (2014) found resistance to yellow rust and leaf rust in seedling and adult plant in the Francolin #1 genotype.

The phenotypic distribution of the 198 RILs of the Avocet/Huites F95 population was almost normal and continuous in the four environments evaluated; this indicates that the resistance that Huites F95 possesses is quantitative and by the effect of minor genes. The statement coincides with that reported in other studies in terms of phenotypic distribution in populations with slow pathogenic resistance to the disease (Singh *et al.*, 2011). Mendelian analysis indicated that four to five genes of additive effects confer yellow rust resistance in Huites F95.

In the field evaluation and in the four environments, the morphological marker called leaf tip necrosis (*Ltn*) was observed in Huites F95. This marker is associated with the resistance genes in adult plant and pleiotropic effect of *Lr34 / Yr18 / Sr57 / Pm38 / Ltn1* (Singh, 1992); *Lr46 / Yr29 / Sr58 / Pm39 / Ltn2* (Rosewarne *et al.*, 2006); and *Lr67 / Yr46 / Sr55 / Pm39 / Ltn3* (Herrera-Foessel *et al.*, 2014). However, in a study of postulation of resistance genes for leaf rust, Huerta-Espino *et al.* (2003) stated that Huites F95 has the *Lr34* resistance gene in adult plant and two more of additive effect, said gene is associated with *Yr18*; this postulation was made by observing the burning of the leaf tip. The criterion ceased to be valid when the *Lr34* gene was cloned (Krattinger *et al.*, 2009) and it was confirmed that the association of the leaf tip necrosis not only is associated to *Lr34* but also with *Lr46* (Rosewarne *et al.*, 2006), *Lr67* (Moore *et al.*, 2015) and *Lr68* (Herrera-Foessel *et al.*, 2012). Huerta-Espino (2017⁶) also indicated

⁶Huerta-Espino, J. 2017. Comunicación personal. Investigador Fitopatólogo del INIFAP (j.huerta@cgiar.org).

también que Huites F95 posee el gen de resistencia en planta adulta a roya del tallo denominado *Sr58* basado en los marcadores tipo SNP, *Lr46_SNP1622* y *L46sf2-2*. Dicho gen se encuentra ligado a los genes *Lr46* (Singh *et al.*, 1998), *Yr29* (William *et al.*, 2003) y *Pm39* (Lillemo *et al.*, 2008). Con base en esta información, se confirmó que Huites no posee el gen *Yr18*. Es posible entonces que, Huites F95 solo posea el gen de efecto pleiotrópico denominado *Yr29* y los otros genes que están involucrados en la resistencia a roya amarilla en Huites sean diferentes a los ya encontrados.

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

CONCLUSIONES

La resistencia de planta adulta a roya amarilla en la variedad Huites F95 la determinan cuatro a cinco genes menores y de efecto aditivo. La variedad no posee genes de resistencia de plántula a los asilamientos MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 y CMEX14.25. El gen *Yr29* de efecto pleiotrópico está en Huites F95.

Es importante continuar con el análisis molecular de la población para identificar los otros genes o *loci* para caracteres cuantitativos (QTLs, por sus siglas en inglés) presentes en Huites F95 que le confieren resistencia a las principales razas de roya amarilla que existen en México.

Por su nivel de resistencia a roya amarilla, Huites F95 una fuente de resistencia útil para los programas de mejoramiento de trigo en México y el mundo.

that Huites F95 has the stem rust resistance in adult plant called *Sr58* based on SNP, *Lr46_SNP1622* and *L46sf2-2* type markers. This gene is linked to the genes *Lr46* (Singh *et al.*, 1998), *Yr29* (William *et al.*, 2003) and *Pm39* (Lillemo *et al.*, 2008). Based on this information, it was confirmed that Huites does not possess the *Yr18* gene. It is possible then that Huites F95 only possesses the pleiotropic effect gene called *Yr29* and the other genes that are involved in yellow rust resistance in Huites are different from those already found.

In Toluca 2013, a more resistant line than Huites F95 was observed and in Toluca 2015, more susceptible lines than the susceptible parent were observed, taking as a reference the percentage of severity, which indicates that Avocet-*YrA* also has at least one gene with minor effect that conditions resistance to RA. Another researchs showed that "Avocet S" has genomic regions with a minor effect for yellow rust on chromosomes 2BL, 4BL, 6AL, 7AS and 7AL (He *et al.*, 2011; Rosewarne *et al.*, 2013). Nicks *et al.* (2011) stated that, when individuals with greater resistance or greater susceptibility than the parents are observed in the progeny, it can be concluded that the two parents have genes that confer resistance.

CONCLUSIONS

The resistance of the adult plant to yellow rust in the Huites F95 variety is determined by four to five minor genes of additive effect. The variety does not have seedling resistance genes against isolates MEX96.11, MEX08.13, MEX14.191 and CMEX14.25. The *Yr29* gene of pleiotropic effect is present in Huites F95.

It is important to continue with the molecular analysis of the population to identify the other genes or *loci* for quantitative trait (QTLs) present in Huites F95 that confer resistance to the main races of yellow rust existing in Mexico.

Because of its yellow rust resistance level, Huites F95 is a useful source of resistance for wheat breeding programs in Mexico and the world.

—End of the English version—

-----*-----

AGRADECIMIENTOS

Al Programa Global de Trigos Harineros del CIMMYT. FONDO SECTORIAL-SAGARPA-CONACYT (Proyecto No. 146788).

LITERATURA CITADA

- Barrera, S. M. A. 1995. Huites F95 y Choix M95 nuevas variedades de trigo harinero para Sinaloa. Folleto Técnico No. 12. CIRNO-CEVY-INIFAP. 15 p.
- Basnet, B. R., R. P. Singh, S. A. Herrera-Foessel, A. M. H. Ibrahim, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar, and J. Rudd. 2013. Genetic analysis of adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common spring wheat Quaiu 3. *Plant Dis.* 97: 728 - 736.
- Bjarko, M. E., and R. F. Line. 1988. Heritability and number of genes controlling leaf rust resistance in four cultivars of wheat. *Phytopathology* 78: 457 - 461.
- Chen, W., C. Wellings, X. Chen, Z. Kang, and T. Liu. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Plant Pathol.* 15: 433 - 446.
- He, Z. H., C. Lan, X. Chen, Y. Zou, Q. Zhuang, and X. Xia. 2011. Progress and perspective in research of adult-plant resistance to stripe rust and powdery mildew in wheat. *Sci. Agric. Sin.* 11: 2193 - 2215.
- Herrera-Foessel, S. A., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, G. M. Rosewarne, S. K. Periyannan, L. Viccars, V. Calvo-Salazar, C. Lan, and E. S. Lagudah. 2012. *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 124: 1475 - 1486.
- Herrera-Foessel, S. A., R. P. Singh, M. Lillemo, J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. Singh, C. Lan, V. Calvo-Salazar, and E. S. Lagudah. 2014. *Lr67/Yr46* confers adult plant resistance to stem rust and powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 127: 781 - 789.
- Hovmoller, M. S., Ch. K. Sorensen, S. Walter, and A. F. Justesen. 2011. Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49: 197 - 217.
- Hovmoller, M. S., S. Walter, R. A. Bayles, A. Hubbard, K. Flath, N. Sommerfeldt, M. Leconte, P. Czembor, J. Rodriguez-Algaba, T. Thach, J. G. Hansen, P. Lassen, A. F. Justesen, S. Ali, and C. de Vallavieille-Pope. 2016. Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the center of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathology* 65: 402 - 411.
- Huerta-Espino, J. y R. P. Singh. 2000. Las royas del trigo. In: Villaseñor M., H. E. y E. Espitia (eds.) El trigo de temporal en México. SAGAR-INIFAP. Campo Experimental Valle de México. Chapingo, Méx. Libro Técnico No. 1. pp: 231 - 251.
- Huerta-Espino, J., R. P. Singh, H. E. Villaseñor M., E. Espitia R., y S. G. Leyva M. 2003. Postulación de genes de resistencia a la roya de la hoja (*Puccinia triticina* E.) en plántula y planta adulta en genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) *Rev. Mex. Fitopatol.* 3: 239 - 247.
- Huerta-Espino, J., R. Torres G., M. F. Rodríguez G., H. E. Villaseñor M., S. G. Leyva M., y E. Solís M. 2012. Resistencia a roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) en variedades de trigo harinero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5: 879 - 891.
- Huerta-Espino, J., H. E. Villaseñor Mir, M. F. Rodríguez-García, and R. P. Singh. 2015. Emerging new virulence gene combinations in the Mexican *Pst* population. In: 2015 BGRI Workshop, 17 - 20 September. Sydney, Australia. https://www.globalrust.org/sites/default/files/2015_BGRI_Plenary_abstracts.pdf pp: 16.
- Krattinger, S. G., E. S. Lagudah, W. Spielmeier, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. McFadden, E. Bossolini, L. L. Selter, and B. Keller. 2009. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323: 1360 - 1363.
- Lan, C. X., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar, and S. A. Herrera-Foessel. 2014. Genetic analysis of resistance to leaf rust and stripe rust in wheat cultivar Franconin#1. *Mol. Breeding* 34: 789 - 803.
- Lillemo, M., B. Asalf, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, X. Chen, Z. H. He, and A. Bjornstad. 2008. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theor. Appl. Genet.* 116: 1155 - 1166.
- Luck, J., M. Spackman, A. Freeman, P. Trebicki, W. Griffiths, K. Finlay, and S. Chakraborty. 2011. Climate change and diseases of food crops. *Plant Pathol.* 60: 113 - 121.
- McIntosh, R. A., J. Dubcovsky, W. J. Rogers, C. Morris, and X. C. Xia. 2017. Catalogue of gene symbols for wheat: 2017 Supplement. 20 p.
- Moore, J.W., S. A. Herrera-Foessel, C. Lan, W. Schnippenkoetter, M. Ayliffe, J. Huerta-Espino, M. Lillemo, S. Periyannan, R. Milne, X. Kong, W. Spielmeier, M. Talbot, H. Bariana, J. Patrick, P. Dodds, R. P. Singh, and E. Lagudah. 2015. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nat. Genet.* 47: 1494 - 1498.
- Niks, R. E., J. E. Parlevliet, P. Lindhout, and Y. Bai. 2011. Breeding Crops with Resistance to Diseases and Pests. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. 200 p.
- Peterson, R. F., A. B. Campbell, and A. E. Hannah. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stem of cereals. *Can. J. Res.* 5: 496 - 500.
- Rodríguez, G. M. F., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M., y E. Solís-Moya. 2009. Virulencia de la roya amarilla del trigo en las principales zonas productoras de riego en México. *Agric. Tec. Méx.* 2: 179 - 187.
- Rodríguez, G. M. F., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M., J. S. Sandoval I., y R. P. Singh. 2010. Análisis de virulencia de la roya amarilla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) del trigo (*Triticum aestivum* L.) en los Valles Altos de México. *Agrociencia* 44: 491 - 502.
- Rodríguez, G. M. F., R. Rojas M., J. Huerta E., H. E. Villaseñor M., E. Zavaleta M., J. S. Sandoval I., y J. F. Crossa H. 2019. Genética de la resistencia a roya amarilla causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* W. en tres genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* 42: 31 - 38.
- Roelfs, A. P., R. P. Singh, y E. Saari. 1992. Las royas del trigo: conceptos y métodos para el manejo de esas enfermedades. México, D. F. CIMMYT. 81 p.
- Rosewarne, G. M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, H. M. William, S. Bouchet, S. Cloutier, H. McFadden, and E. S. Lagudah. 2006. Leaf tip necrosis, molecular markers and 1-

- proteasome subunits associated with the slow rusting resistance genes *Lr46/Yr29*. *Theor. Appl. Genet.* 112: 500 - 508.
- Rosewarne, G. M., S. A. Herrera-Foessel, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, C. Lan, and Z. H. He. 2013. Quantitative trait loci of stripe rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2427 - 2449.
- Schwessinger, B. 2017. Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century. *New Phytologist* 213: 1625 - 1631.
- Singh, R. P. 1992. Association between gene *Lr34* for leaf rust and leaf tip necrosis in wheat. *Crop Sci.* 32: 874- 878.
- Singh, R. P., and S. Rajaram. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in 'Frontana' and three CIMMYT wheats. *Genome* 35: 24 - 31.
- Singh, R. P., and S. Rajaram. 1993. Genetic of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72: 1 - 7.
- Singh, R. P., A. Mujeeb-Kazi, and J. Huerta-Espino. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88: 890 - 894.
- Singh, R. P., J. Huerta-Espino, and S. Rajaram. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 35: 133 - 139.
- Singh, R. P., J. Huerta-Espino, and H. M. William. 2001. Resistencia durable a roya de la hoja y roya amarilla del trigo *In: Estrategias y metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo un enfoque multidisciplinario La Estanzuela, Uruguay.* pp: 109 - 117.
- Singh, R. P., J. Huerta-Espino, S. Bhavani, S. A. Herrera-Foessel, D. Singh, P. K. Singh, G. Velu, R. E. Mason, Y. Jin, and J. Crossa. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179: 175 - 186.
- Singh, R. P., S. A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, H. Bariana, U. Bansal, B. C. McCallum, S. Bhavani, C. Lan, and E. Lagudah. 2012. *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38/Bdv1/Ltn1* confers slow rusting, adult plant resistance to stem rust. *In: Proceedings of the 13th international cereal rusts and powdery mildews conference Beijing, China.* pp. 173.
- Singh, R. P., S. A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, C. Lan, B. R. Basnet, S. Bhavani, and E. Lagudah. 2013. Pleiotropic gene *Lr46/Yr29/Pm39/Ltn2* confers slow rusting, adult plant resistance to wheat stem rust fungus *In: Proceedings BGRI 2013 technical workshop, New Delhi, India.* pp: 17.1
- Singh, R. P., P. K. Singh, J. Rutkoski, D. P. Hodson, X. Lee, L. N. Jorgensen, M. S. Hovmoller, and J. Huerta-Espino. 2016. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 54: 303 - 322.
- Solis, M. E., J. Huerta E., P. Pérez H., H. E. Villaseñor M., A. Ramírez R., y M. de la Cruz G. 2016. Alondra F2014, nueva variedad de trigo harinero para el Bajío, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5: 1225 - 1229.
- Velu, G., and R. P. Singh. 2013. Phenotyping in wheat breeding. *In: Panguluri S K, and A. A. Kumar AA (eds). Phenotyping in Plant Breeding: Applications of Phenotyping Methods for Crop Improvement.* Springer, New York, pp: 41 - 71.
- Villaseñor, M. H. E., J. Huerta E., E. Espitia R., A. Limón O., y M. F. Rodríguez G. 2007. Variedades de trigo para siembras de temporal en el estado de Tlaxcala. INIFAP-CIRCE. S. E. Tlaxcala, Tlax. Folleto Técnico Núm. 30: 33 p.
- Villaseñor, E. O. M., J. Huerta E., S. G. Leyva M., H. E. Villaseñor M., R. P. Singh, J. S. Sandoval I., y E. Espitia R. 2009. Genética de la resistencia a roya amarilla en plantas adultas de trigo harinero. *Rev. Fitotec. Mex.* 32: 217 - 233.
- Wellings, C. R. 2011. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica* 179: 129 - 141.
- William, M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, S. Ortiz, and D. Hoisington. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93: 53 - 159.
- Zadoks, J., Chang, T., Konzak, C. 1974. A decimal code for growth stages of cereals. *Weed Res.* 14: 415 - 421.